



Nutrition, mode de vie et prévention du vieillissement cérébral : caractérisation de combinaisons, mécanismes et groupes à risque au moyen de l'épidémiologie moléculaire

Jeanne Neuffer

► To cite this version:

Jeanne Neuffer. Nutrition, mode de vie et prévention du vieillissement cérébral : caractérisation de combinaisons, mécanismes et groupes à risque au moyen de l'épidémiologie moléculaire. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux, 2023. Français. ⟨NNT : 2023BORD0282⟩. ⟨tel-04390888⟩

HAL Id: tel-04390888

<https://theses.hal.science/tel-04390888v1>

Submitted on 12 Jan 2024

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.



HAL Authorization

THÈSE PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Ecole Doctorale Sociétés, politique, santé publique

Spécialité Santé publique - Option Epidémiologie

Par Jeanne NEUFFER

Nutrition, mode de vie et prévention du vieillessement cérébral

Caractérisation de combinaisons, mécanismes et groupes à risque au moyen de l'épidémiologie moléculaire

Sous la direction de : Cécilia SAMIERI

Soutenue le 6 novembre 2023

Membres du jury :

M. Galéra, Cédric	PUPH, Université de Bordeaux	Président
Mme. Vohl Marie-Claude	PR, Université de Laval	Rapportrice
Mme. Coley Nicola	DR, INSERM, université Toulouse III	Rapportrice
Mme. Berr Claudine	DR, INSERM, université de Montpellier	Examinatrice
Mme. Leffondré Karen	PR, INSERM, université de Bordeaux	Examinatrice
Mme. Samieri Cécilia	DR, INSERM, université de Bordeaux	Directrice de thèse

Résumé

La démence est la première pathologie associée au vieillissement cognitif. Il s'agit d'un syndrome d'étiologie complexe résultant de facteurs génétiques et environnementaux. Les facteurs de mode de vie, notamment la nutrition, ont montré des associations robustes avec le vieillissement cognitif dans les études d'observation, d'autant plus lorsqu'ils étaient considérés en combinaison (profils alimentaires ou de nutriments, profils de mode de vie plus généralement). Pour autant, les études d'intervention testant une supplémentation en nutriments, une modification du comportement alimentaire, ou intégrant plus généralement d'autres domaines du mode de vie, ont jusqu'à présent été décevantes. Une des raisons potentielles à l'échec relatif de ces études est une incapacité à considérer des cibles en combinaison (dans le domaine de la nutrition notamment) ou une mauvaise spécification des combinaisons optimales (en prévention dite « multi-domaine »). De plus, souvent, les populations les plus susceptibles de bénéficier de l'intervention n'ont pas été caractérisées et le concept de prévention « universelle » reste la référence. L'objectif général de cette thèse était de mettre à profit de riches données d'épidémiologie observationnelle, notamment moléculaires, pour affiner la caractérisation de stratégies préventives des pathologies du vieillissement cérébral par la nutrition et le mode de vie. Les données proviennent de l'étude des 3 Cités (3C), une grande cohorte multicentrique en population générale âgée. Un premier axe de recherche avait pour objectif d'identifier des combinaisons nutritionnelles optimales pour la prévention. Nous avons d'abord ciblé les 3 familles de nutriments les plus prometteuses pour la prévention sur la base des connaissances antérieures (acides gras polyinsaturés oméga-3, caroténoïdes totaux et vitamine D) et élaboré un indice de statut biologique multi-micro-nutritionnel intégrant les niveaux circulants de leurs biomarqueurs, associé au risque de démence. Cet indice pourrait permettre, en pratique, d'identifier et de prendre en charge en prévention les individus avec une déficience nutritionnelle qui sont à risque de développer une démence. Nous avons ensuite ciblé un profil alimentaire préventif de la démence développée par la communauté scientifique, le profil MIND, et recherché une signature dans le métabolome alimentaire de l'adhésion à ce profil. Dans un deuxième axe de recherche, nous avons exploré de nouvelles cibles préventives en décryptant les mécanismes reliant la nutrition au vieillissement cérébral, avec un intérêt particulier pour l'axe intestin-cerveau. Parmi 72 métabolites dérivés du microbiote intestinal, seul l'acide

propionique était significativement associé au déclin cognitif, avec réplique dans un échantillon indépendant. Il s'agit d'un acide gras à chaîne courte produit par le microbiote à partir des fibres alimentaires mais qui est également utilisé comme conservateur alimentaire, et sa relation délétère au vieillissement cognitif nécessite de plus amples explorations. Enfin, dans un dernier axe, nous avons interrogé l'existence de potentiels groupes à vulnérabilité spécifique qui pourraient étayer l'implémentation d'une prévention de précision dans le vieillissement cognitif. Nous avons choisi ici d'élargir aux facteurs de mode de vie dans leur ensemble en ciblant un score combinant 12 facteurs modifiables validé dans la littérature, le LIBRA (Lifestyle for Brain health risk score), et montré que le LIBRA était associé au risque de démence et au déclin cognitif, quel que soit le niveau de susceptibilité génétique des individus (reflétée par l'allèle APOE4 et un score de risque génétique). Ce dernier travail suggère que la prévention par une modification du mode de vie pourrait être efficace chez tous, y compris chez les individus dont le profil génétique prédispose à développer une démence, ce qui constitue certainement un message encourageant pour ces personnes.

Mots clés : Vieillissement cérébral, Prévention, Epidémiologie moléculaire, Nutrition, Mode de vie, Profils

Abstract

Dementia is the leading pathology of cognitive ageing. This complex syndrome results from genetic and environmental factors. Lifestyle factors, in particular nutrition, have shown robust associations with cognitive ageing in observational studies, especially when considered in combination (in the form of dietary or nutrient patterns, or lifestyle patterns more generally). However, intervention studies on nutrient supplementation, dietary or behavioral changes more generally, have been disappointing so far. One of the potential reasons for the relative failure of these studies may have been their inability to consider preventive targets in combination (particularly in the field of nutrition) or use of poorly-specified combinations (e.g., in so-called "multi-domain" prevention). In addition, the populations most likely to benefit from the intervention have often not been well characterized and the concept of "universal" prevention remains the benchmark. The general aim of this thesis was to take advantage of rich observational epidemiological data, specifically in molecular epidemiology, to help the characterization of preventive strategies for brain ageing pathologies through nutrition and lifestyle. The data comes from the 3-City (3C) study, a large multicentric cohort of elderly people in the general population. In this thesis, the first line of research aimed at identifying optimal nutritional combinations for prevention. We first targeted 3 of the most promising families of nutrients for prevention on the basis of previous knowledge (omega-3 polyunsaturated fatty acids, total carotenoids and vitamin D) and we developed a multi-micro-nutritional biological status index incorporating circulating levels of their biomarkers, associated with the risk of dementia. In practice, this index could be used to identify and provide preventive care for individuals with nutritional deficiencies who are at high risk of developing dementia. We then targeted a dementia-preventive diet developed by the scientific community, the MIND diet, and looked for a signature of the adherence to this diet in the food metabolome. The second line of research of the thesis was to explore new preventive targets by deciphering the mechanisms linking nutrition to cerebral ageing, with a particular interest in the gut-brain axis. Among 72 metabolites derived from the gut microbiota, only propionic acid was significantly associated with cognitive decline, with replication in an independent sample. Propionic acid is a short-chain fatty acid produced by the microbiota from dietary fibers, but it is also used as a food preservative, and the deleterious relationship to cognitive ageing evidenced in this work requires further investigation. Finally, in a

third line of research, we investigated potential group of individuals with specific vulnerabilities that could benefit from the implementation of precision prevention in cognitive ageing. Here, we chose to broaden the scope of exposures to include, beyond nutrition, lifestyle factors as a whole. We focused on a risk score validated in the literature combining 12 modifiable factors, the LIBRA (Lifestyle for Brain health risk score), and we showed that this score was associated with the risk of dementia and cognitive decline, whatever the individual's level of genetic susceptibility (as reflected by the APOE4 allele and a genetic risk score). This latest study suggests that prevention through lifestyle modification could be effective for everyone, including among individuals who are genetically predisposed to developing dementia, which is certainly an encouraging public health message for these persons.

Keywords : Brain aging, Prevention, Molecular epidemiology, Nutrition, Lifestyle, Patterns

Remerciements

Voilà quelques lignes pour remercier les personnes qui m'ont accompagné ces trois années de thèse, cette aventure si particulière, constituée de son lot de péripéties, dure à résumer en seulement quelques pages. A toutes les personnes que j'ai pu rencontrer ou qui m'ont accompagné, merci.

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de thèse. **Cécilia**, merci de m'avoir offert cette opportunité et de m'avoir encadré aussi parfaitement que tu l'as fait. Tu m'as guidé pendant ces trois années avec bienveillance, exigence et pédagogie. J'admire ton excellence, ta rigueur et ton don d'encadrement, et j'espère qu'un grand nombre de futurs chercheurs(ses) auront la chance, comme moi, d'être supervisé(e)s par tes soins.

Je tiens également à remercier mon jury de thèse. **Cédric Galera** pour avoir accepté de présider ce jury, **Marie-Claude Vohl** et **Nicola Coley** pour vos commentaires à la lecture de ma thèse, et **Claudine Berr** pour l'examen de ma thèse. **Karen**, je voulais te remercier également d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, mais aussi pour tes enseignements durant le master, ainsi que pour la bienveillance et la convivialité dont tu peux faire preuve. Merci aussi de m'avoir donné le goût de l'enseignement. J'espère un jour arriver à être aussi pédagogue que toi, et à inspirer la passion de l'épidémiologie à autant d'étudiants que tu as pu le faire.

Merci à **l'équipe ELEANOR** de m'avoir accueilli il y a maintenant 5 ans, pour mon premier stage en master 1. Même si je n'ai pas toujours tout compris aux sujets pointus de génétique qu'elle aborde, j'ai toujours été traitée avec bienveillance et j'ai pu me former à des sujets dont j'ignorais toute l'existence avant de l'intégrer. Je tiens particulièrement à remercier mes copines d'équipe, **Ilana**, **Blandine**, **Coralie** et **Constance**. Sans vous, l'aventure aurait été bien plus triste ! **Ilana**, l'expérience aurait été toute autre si je n'avais pas osé t'envoyer ce premier message, timide, pour m'incruster pendant vos pauses déjeuners. Merci d'être si rayonnante, pour ces moments papotages (pas toujours sérieux mais si précieux), les séances d'escalade et tous les moments où j'ai retrouvé le sourire juste parce que tu étais toi. **Coralie** et **Blandine**, j'ai appris à vous connaître après un petit moment, mais pareillement, cette expérience aurait été bien morne sans vous. Merci pour votre bonne humeur, vos rires si communicatifs, nos discussions, et les pas de danse partagés au CAM ou en soirée.

Constance, tu étais déjà là à mon arrivée dans l'équipe, merci d'avoir été une si bonne voisine de bureau, toujours là pour papoter et rigoler entre deux séances de travail !

J'en viens tout de suite à remercier **Jeanne B et Morgane**, qui ont commencé cette aventure avec moi. **Jeanne**, qu'est-ce que j'ai aimé partager l'expérience des congrès avec toi, que ce soit en visitant Lille la nuit ou Montréal le jour (aurait-on vieilli au cours de ces trois ans ?). Tu as toujours été là quand il le fallait, et je pense que tout doctorant devrait avoir une Jeanne B. pour partager l'expérience de la thèse. Ton calme, ta positivité et ta douceur ont rendu l'expérience bien plus plaisante. **Morgane**, me voilà devenir Docteure juste après toi. En fait, nous nous connaissons depuis maintenant presque 10 ans (aïe !), mais je crois que j'ai appris à te connaître qu'au cours de la thèse. Dire qu'on partageait le même bureau, au début de la thèse, sans même le savoir ! Merci pour nos échanges fatigués et stressés en fin de thèse, mais aussi nos conversations et nos pauses bien méritées. Il est rare de rencontrer des personnes aussi gentilles, douces et attentives que toi, et cela n'a pas de prix.

Je voudrais aussi remercier les anciens doctorants qui m'ont épaulé et inspiré. **Sophie** et **Aline**, la team Cécilia, merci pour tous vos conseils et votre disponibilité. Vous m'avez toujours aidé, avec entrain, quand j'en ai eu besoin, et vous avez surtout été une source d'inspiration pour moi. **Maude**, je n'avais entendu parler de toi que de loin en commençant ma thèse, et ça a été un réel plaisir d'apprendre à te connaître aux différents AAIC, merci de m'avoir toujours intégrée et j'ai vraiment apprécié les moments en ta compagnie. **Bénédicte**, je me souviens quand je t'ai vu de loin la première fois en L3, lors des tables rondes MIASHS. Je n'exagère pas, je pense, si je dis que c'est grâce à toi, en partie, que j'ai intégré l'ISPED. De la relecture de ma lettre de motivation, aux cours que j'ai pu avoir avec toi et nos moments partagés pendant ma thèse, je ne peux que te remercier pour tout ça. **Marie P.** et **Soufiane**, vous m'avez intégré dès les premiers jours, et votre expérience m'a été très précieuse.

Je veux remercier **tous les doctorants et jeunes chercheurs du BPH** que j'ai pu rencontrer, merci d'avoir fait vivre le séminaire des doctorants devenu MJC, merci pour les échanges, les soirées, et j'espère pour les nouveaux que l'ambiance entre jeunes chercheurs sera toujours aussi bienveillante et conviviale.

Aux personnes qui ont pu me porter conseil, sur 3C, la nutrition ou les biostatistiques, merci. **Cécile Proust-Lima**, merci de m'avoir guidé dans l'univers des biostatistiques avec ta bonne humeur et ta pédagogie, tu as rendu l'exercice des biostatistiques, tant

redouté par l'épidémiologiste que je suis, presque agréable. **Catherine F**, merci d'avoir toujours été là, ta gentillesse et ta bienveillance ont rendu l'aventure bien plus lumineuse !

Je tiens aussi à remercier tout particulièrement **l'équipe pédagogique de l'ISPED**. Je me souviens de ma rentrée à l'ISPED il y a maintenant 5 ans, quand j'ai intégré la cette grande famille. Je me suis tout de suite sentie accueillie, aidée et portée vers l'excellence scientifique dont fait preuve cet institut. **Gaëlle C, Mélanie P, Marianne**, merci de m'avoir donné le goût de l'épidémiologie, mais aussi de m'avoir aussi bien intégré au sein de l'équipe pédagogique quand je suis passée de l'autre côté des salle des cours. Je tiens aussi à remercier tous les autres enseignants que j'ai pu avoir durant mes études.

Tout cela n'aurait pas été possible sans mes amis. Comme on dit, les amis sont la famille que l'on choisit, et je n'y changerais rien si je devais la choisir à nouveau. Je ne peux que commencer par **Iman**, 18 ans qu'on se connaît, et malgré toutes ces années, ta présence réconfortante n'a jamais failli. Pour ça, merci. **Apolline et Lauriane**, mes jumelles, qui serais-je aujourd'hui si nos chemins ne s'étaient pas croisés en classe de seconde ? Je garde un précieux souvenir de tous les instants passés en votre compagnie durant toutes ces années, nos voyages, nos repas rue d'Alembert, nos soirées films un peu nuls, nos lendemains de soirée des fois difficiles... J'espère que ces moments seront encore nombreux dans le futur. **Justine**, mon rayon de soleil, merci de m'avoir redonné le sourire dans toutes les circonstances, de m'avoir tant fait rire, réfléchir sur les questions de la vie et surtout d'avoir autant dansé ! A mes copines de PACES, merci aussi. **Anne**, meilleure coloc de l'univers, il m'arrive parfois d'être nostalgique de notre cohabitation, tu fais partie des personnes qui me connaissent le mieux, je pense, et j'en suis là aujourd'hui en partie grâce à toi. Tu as toujours cru en moi, trouvé les mots justes, et j'aime toujours autant nos discussions qui durent des heures. **Alexandra et Manon**, même si on ne se voit pas toujours régulièrement, je sais que je peux compter sur vous à n'importe quel moment, merci pour votre présence. Mes copains de MIASHS, merci de m'avoir apporté tant de légèreté pendant cette aventure. **Sam et Ben**, le S, merci pour ces soirées confessions et vos oreilles attentives quand ça n'allait pas. **Maëva**, ma parisienne, ne chang jamais, ta douceur n'a pas d'égal. **Isa**, merci pour ta sensibilité, et pour ta présence sans faille. Merci à mes **autres copains de MIASHS**, les soirées en votre compagnie gardent de leur superbe, les années passant.

Il m'en vient maintenant de remercier ma famille, quel exercice difficile ! **Papa et maman**, je ne vous remercierai jamais assez. Vous avez été d'un soutien sans égal, votre gentillesse, votre originalité, votre humour et votre amour m'accompagnent en chaque instant et font de moi qui je suis aujourd'hui. J'espère que je vous rendrai toujours fiers. **Clara**, ma petite Clarounette, merci d'avoir supporté ta grande sœur thésarde avec la patience et la finesse qui te caractérisent. Merci pour ton sens artistique qui vient contrecarrer mon esprit scientifique, restes comme tu es ! **Mamie et Papy**, je n'en serais pas là sans vous non plus, cette aventure a été parsemée de confinements, au final très agréables, en votre compagnie à Angles. Vous êtes une source d'inspiration sans limite, merci.

Yoann, merci d'avoir été à mes côtés durant cette aventure ; tu me permets d'être une meilleure version de moi-même, en chaque instant. Grâce à tes mots, ton sourire, ta gentillesse, ta musicalité et tout simplement l'ensemble de ta personnalité, je suis allée au bout de cette aventure avec une légèreté que beaucoup de personnes m'envieraient. Merci pour ton accompagnement quotidien, dans les bons moments, ainsi que dans les plus difficiles. Il est dur de qualifier les choses de la vie comme évidentes, surtout pour une scientifique comme moi, mais je suis plutôt sûre de moi quand je dis que tu es mon évidence.

Table des matières

Valorisation scientifique.....	12
Liste des Figures	16
Liste des Tableaux	18
Liste des Annexes	19
Abréviations.....	19
Introduction.....	21
Chapitre 1 – Etat des connaissances	24
1.1. Vieillessement cérébral et démence	25
1.1.1. Le continuum du vieillissement cérébral	25
1.1.2. Physiopathologie de la maladie d’Alzheimer	27
1.1.3. Symptômes des sous-types de démence	28
1.1.4. Epidémiologie de la démence.....	31
1.1.5. Traitements de la maladie d’Alzheimer	34
1.1.6. Facteurs de risque et facteurs protecteurs du vieillissement cognitif ...	36
1.2. Nutrition et vieillissement cérébral	44
1.2.1. Approche par aliments et nutriments candidats	45
1.2.2. Approche par profils.....	57
1.2.3. L’axe intestin-cerveau : une voie mécanistique clé sous-tendant le lien entre nutrition et vieillissement cérébral	78
1.3. Santé cardiométabolique, mode de vie et vieillissement cérébral	88
1.3.1. Approche par facteur isolé	88
1.3.2. Combinaison de facteurs de risque du vieillissement cérébral	98
1.3.3. Interaction entre susceptibilité génétique et combinaison de facteurs de risque modifiables du vieillissement cognitif	104
1.4. Bilan de l’état des connaissances et objectifs spécifiques	112
1.4.1. Bilan de l’état des connaissances	112
1.4.2. Objectifs	115
Chapitre 2 – Méthodes	117
2.1. Données épidémiologiques.....	118
2.1.1. Recueil des données	118
2.1.2. Evènements d’intérêt : données cognitives et diagnostic de démence	120

2.1.3.	Expositions d'intérêt : données nutritionnelles et autres facteurs modifiables	123
2.1.4.	Facteurs d'ajustement : données sociodémographiques	129
2.1.5.	Potentiels modificateurs d'effet : facteurs génétiques	130
2.2.	Méthodologie statistique	132
2.2.1.	Stratégies d'analyse relatives à la structure des expositions d'intérêt principal	132
2.2.2.	Modélisation de l'association entre expositions et variable d'intérêt	135
Chapitre 3 - Résultats		147
3.1.	Identification de combinaisons nutritionnelles optimales pour la prévention	148
3.1.1.	Elaboration d'un indice de statut biologique multi-micro-nutritionnel associé au risque de démence (Article 1)	148
3.1.2.	Identification d'une signature du profil alimentaire MIND au sein du métabolome alimentaire	167
3.1.3.	Discussion du premier axe sur l'identification de combinaisons nutritionnelles optimales pour la prévention	194
3.2.	Identification de nouvelles cibles préventives en décryptant l'axe intestin-cerveau par la métabolomique	197
3.2.1.	Introduction	197
3.2.2.	Article (publié, <i>Nutrients</i> , 2022)	198
3.2.3.	Résultats complémentaires	213
3.2.4.	Discussion du deuxième axe sur l'identification de nouvelles cibles préventives par la métabolomique de l'axe intestin-cerveau	217
3.3.	Identification de groupes à risque et populations vulnérables avec des polymorphismes génétiques particuliers (article 3)	220
3.3.1.	Introduction	220
3.3.2.	Article (soumis)	221
3.3.3.	Résultats complémentaires	249
3.3.4.	Discussion de l'axe sur la recherche de populations vulnérables pour la prévention à travers la susceptibilité génétique	250
Chapitre 4 - Discussion		254
4.1.	Synthèse des résultats	255
4.2.	Perspectives de recherche et en santé publique	260
4.3.	Conclusion	266
	Références bibliographiques	267
	Annexes	307

Valorisation scientifique

Articles scientifiques

Articles publiés

- **Neuffer J**, Gourru M, Thomas A, Lefèvre-Arbogast S, Foubert-Samier A, Helmer C, Delcourt C, Féart C, Samieri C. A Biological Index to Screen Multi-Micronutrient Deficiencies Associated with the Risk to Develop Dementia in Older Persons from the Community. *J Alzheimers Dis.* 2021 Nov 18. doi: 10.3233/JAD-215011
- **Neuffer, J.**; González-Domínguez, R.; Lefèvre-Arbogast, S.; Low, D.Y.; Driollet, B.; Helmer, C.; Du Preez, A.; de Lucia, C.; Ruigrok, S.R.; Altendorfer, B.; et al. Exploration of the Gut–Brain Axis through Metabolomics Identifies Serum Propionic Acid Associated with Higher Cognitive Decline in Older Persons. *Nutrients* 2022, 14, 4688. <https://doi.org/10.3390/nu14214688>

Articles en cours de publication

- **Jeanne Neuffer**; Maude Wagner; Elisa Moreno; Quentin Le Grand; Aniket Mishra; David-Alexandre Trégouët; Karen Leffondre; Cécile Proust-Lima; Alexandra Foubert-Samier; Claudine Berr; Christophe Tzourio; Catherine Helmer; Stéphanie Debette; Cécilia Samieri. Association of lifestyle for brain health risk score and genetic susceptibility with incident dementia and cognitive decline, soumis

Articles en cours de préparation

- **Jeanne Neuffer**; Raúl González-Domínguez; Sophie Lefèvre-Arbogast; Dorraïn Y Low; Alba Tor Roca ;Catherine Helmer; Andrea Du Preez; Chiara de Lucia; Silvie R. Ruigrok, Barbara Altendorfer; Ludwig Aigner; Prof. Paul J Lucassen, Aniko Korosi; Sandrine Thuret; Claudine Manach; Mercè Pallàs; Mireia Urpi-Sardà; Alex Sánchez-Pla; Cristina Andres-Lacueva; Cécilia Samieri ; Metabolomic signature of the MIND Diet and cognitive decline

Autres publications :

- Alba Tor-Roca, Alex Sánchez-Pla, Aniko Korosi, Mercè Pallàs, Paul J. Lucassen, Pol Castellano-Escuder, Ludwig Aigner, Raúl González-Domínguez, Claudine Manach, Francisco Carmona, Esteban Vegas, Catherine Helmer, Catherine Feart, Sophie Lefèvre-Arbogast, **Jeanne Neuffer**, Hyunah Lee, Sandrine Thuret, Cristina Andres-Lacueva, Cécilia Samieri, Mireia Urpi-Sarda, A Mediterranean Diet-Based Metabolomic Score and Cognitive Decline in Older Adults: A Case–Control Analysis Nested within the Three-City Cohort Study, *Mol Nutr Food Res.* 2023 Oct 24:e2300271, 10.1002/mnfr.202300271

Communications scientifiques

Communications orales

- Communication dans le cadre du symposium « Les sciences omiques pour l'étude de la cognition : exemples tirés des cohortes NuAge et Trois Cités » : Métabolites dérivés du microbiote intestinal et déclin cognitif : une exploration de l'axe intestin-cerveau. **Congrès international francophone de gériatrie et gérontologie (CIFGG), Montréal (2023)**
- **Journée des jeunes chercheurs, Bordeaux (BPH) :** Ma thèse en 180 secondes (2022)
- **Jeanne Neuffer**, Raúl González-Domínguez, Sophie Lefèvre-Arbogast, Dorrain Y Low, Bénédicte Driollet, Catherine Helmer, Andrea Du Preez, Chiara de Lucia, Silvie R. Ruigrok, Barbara Altendorfer, Ludwig Aigner, Paul J. Lucassen, Aniko Korosi, Sandrine Thuret, Claudine Manach, Mercè Pallàs, Mireia Urpi-Sardà, Alex Sánchez-Pla, Cristina Andres-Lacueva, Cécilia Samieri, Métabolites dérivés du microbiote intestinal et déclin cognitif : une exploration de l'axe intestin-cerveau, **Journée de l'école doctorale, Bordeaux (EDSP2), 2022**

- **J. Neuffer**, M. Gourru , A. Thomas , S. Lefèvre-Arbogast , A. Foubert-Samier, C. Helmer , C. Delcourt , C. FéartCouret , C. Samieri : Elaboration d'un indice biologique pour dépister les déficiences en micronutriments associées au risque de démence chez les personnes âgées, **Journées francophones de la nutrition, Lille** : (2021)
- **J. Neuffer**, R. Gonzalez-Dominguez, S. Lefèvre-Arbogast , D. Y. Low , B. Driollet , C. Helmer , A. Du Preez, C. De Lucia , S. ruigrok , B. Altendorfer, L. Aigner, P. J. Lucassen, A. Korosi , S. Thuret, C. Manach , M. Pallas, M. UrpiSarda, A. Sanchez-Pla, C. Andres-Lacueva, C. Samieri : Métabolites dérivés du microbiote intestinal et déclin cognitif : une exploration de l'axe intestin-cerveau, **Journées francophones de la nutrition, Lille** (2021)
- **J. Neuffer**, R. Gonzalez-Dominguez, S. Lefèvre-Arbogast , D. Y. Low , B. Driollet , C. Helmer , A. Du Preez , C. De Lucia , S. ruigrok , B. Altendorfer, L. Aigner, P. J. Lucassen, A. Korosi, S. Thuret, C. Manach , M. Pallas, M. UrpiSarda, A. Sanchez-Pla, C. Andres-Lacueva, C. Samieri : Metabolites derived from the microbiota and cognitive decline, **Alzheimer Association International conference (AAIC) Nutrition, Metabolism an Dementia Personal interest area, en ligne (NMD PIA)** (2021)
- **J. Neuffer**, M. Gourru, A. Thomas , S. Lefèvre-Arbogast , A. Foubert-Samier, C. Helmer , C. Delcourt , C. FéartCouret , C. Samieri : Elaboration d'un indice biologique pour dépister les déficiences en micronutriments associées au risque de démence chez les personnes âgées, **Journée de l'école doctorale, Bordeaux (EDSP2)** (2021)

Communications affichées en congrès

- **J. Neuffer**; M. Wagner, E. Moreno; Q. Le Grand; A. Mishra; DA. Tregouët; K. Leffondre; C. Proust-Lima; A. Foubert-Samier; C. Berr; C. Tzourio; C. Helmer; S. Debette; C. Samieri : Association of lifestyle for brain health risk score and genetic susceptibility with incident dementia an cognitive decline,

Alzheimer's association international conference, Amsterdam (AAIC) (2023)

- **J. Neuffer**, R. Gonzalez-Dominguez, S. Lefèvre-Arbogast , D. Y. Low , B. Driollet , C. Helmer , A. Du Preez , C. De Lucia , S. ruigrok , B. Altendorfer, L. Aigner, P. J. Lucassen, A. Korosi, S. Thuret, C. Manach , M. Pallas, M. UrpiSarda, A. Sanchez-Pla, C. Andres-Lacueva, C. Samieri : : Metabolites derived from the microbiota and cognitive decline, ***Alzheimer's association international conference, San Diego (AAIC) (2022)***

Bourses et prix scientifiques

- Juil. 2023 – **Martha Clare Morris best poster award in nutrition, metabolism and dementia**, Alzheimer's association international conference, Amsterdam (AAIC), Lifestyle for Brain Health Score, Genetic Risk and Incidence of Dementia
- Avr. 2023 – **Bourse de mobilité de l'association France Alzheimer & maladies apparentées** (Alzheimer Association International Conference, Amsterdam, Pays-Bas)
- Avr. 2023 – **Bourse de voyage de l'Alzheimer Association** (Alzheimer Association International Conference, Amsterdam, Pays-Bas)
- Oct. 2022 – **Prix des jeunes chercheurs**, journée des jeunes chercheurs, Bordeaux population health center, for the best “my thesis in 180s”
- Nov. 2021 – **Prix de communication Nutrients**, Journées francophones de la nutrition, « Un indice biologique pour dépister les carences multi-micro-nutritionnelles associé au risque de développer la démence chez la population générale âgée ».

Liste des Figures

Figure 1 : Continuum de la maladie d'Alzheimer, de ses différents stades et des symptômes	30
Figure 2 : Prévalence globale de la démence par groupe d'âge et par sexe en 2019 (Panel A) et prévalence chez les hommes et chez les femmes, entre 1990 et 2050 (Panel B).....	32
Figure 3 : Décomposition du pourcentage de changement dans le nombre d'individus vivant avec la démence entre 2019 et 2050 globalement et dans chaque région du globe.	33
Figure 4 : Agents en cours d'essais cliniques pour le traitement de la maladie d'Alzheimer en 2021.	36
Figure 5 : Historique de la découverte des variants génétiques en lien avec la maladie d'Alzheimer entre 1980 et 2021.....	39
Figure 6 : Relation entre le statut biologique en nutriment et les fonctions physiologiques	65
Figure 7 : Description des composantes alimentaires des scores d'adhésion au profil de consommation méditerranéens, DASH et MIND.	68
Figure 8 : Représentation schématique de l'axe intestin-cerveau.....	80
Figure 9 : Représentation schématique des voies métaboliques des différentes classes de métabolites dérivés du microbiote et de l'alimentation.	87
Figure 10 : Schéma représentatif du recueil des données de la cohorte 3C mise à profit dans ce travail de thèse.....	119
Figure 11 : Tests cognitifs effectués par les participants de la cohorte 3C à l'inclusion et durant les visites de suivi et utilisés dans le cadre de cette thèse (469–472)	122
Figure 12 : Représentation schématique du suivi des sujets (traits bleus) en fonction de l'axe du temps, l'âge et le délai depuis l'inclusion, ainsi que les groupes à risque à certains temps donnés, $R(t)$	138
Figure 13 : Représentation schématique de la médiation	144
Figure 14 : Profils alimentaires identifiés par la méthode PLS expliquant au mieux le niveau d'indice MNBS : Cercle de corrélation du premier plan factoriel, centre Bordelais de la cohorte 3C, $n=629$	164
Figure 15 : Qualité de prédiction de l'indice MNBS estimée grâce à la courbe ROC du modèle intégrant l'indice (modèle complet) et le modèle n'intégrant que les covariables (modèle restreint)	165

Figure 16 : Premier plan factoriel issu de l'analyse en composantes principales de tous les métabolites puis de chaque famille de métabolites, échantillon de découverte, centre Bordelais de 3C, n=418..... 216

Figure 17 : « Manhattan plot » représentant les p-valeurs d'interaction entre chaque composante du LIBRA (en abscisse) et les 68 variants du GRS..... 250

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Sources alimentaires principales et apports recommandés en France des nutriments d'intérêt dans la prévention de la démence	46
Tableau 2 : Etudes d'observation de profils de nutriments estimés a posteriori et vieillissement cognitif chez les sujets âgés	61
Tableau 3 : Etudes d'observation caractérisant des signatures métabolomique des profils alimentaires Medi et MIND (avec un effectif n>100)	75
Tableau 4 : Différents scores de risque de démence et leurs composantes	101
Tableau 5 : Etudes de cohorte investiguant l'interaction entre combinaison de facteurs de risque modifiables et susceptibilité génétique sur l'incidence de la démence et le déclin cognitif en population âgée	109
Tableau 6 : Caractéristiques des modèles de régression de Cox et Cox cause-spécifique utilisés dans ce travail de thèse	141
Tableau 7 : Association entre les scores factoriels issus des ACP réalisées sur tous les métabolites et par famille de métabolites, dans les deux échantillons cas-témoins nichés au sein de la cohorte 3C, n=418 et n=420	215

Liste des Annexes

Annexe 1 : Diagramme de flux des populations des différentes études réalisées au cours de cette thèse, cohorte 3C	308
Annexe 2 : Liste des 206 métabolites liés à l'alimentation quantifiés dans le sérum par la plateforme métabolomique multi-métabolites.....	309
Annexe 3 : Variants génétiques inclus dans le GRS incluant les SNPs identifiés dans la dernière GWAS	313
Annexe 4 : Informations supplémentaires de l'article 1, <i>A Biological Index to screen Multi-Micronutrient Deficiencies associated with the risk to develop dementia in older persons from the community</i> (2022)	315
Annexe 5 : Distribution du score d'adhésion au régime MIND et choix de catégorisation pour la description des caractéristiques de l'échantillon, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C issue du centre bordelais, n=337.....	322
Annexe 6 : Distributions des concentrations plasmatiques des métabolites sélectionnés dans la signature du régime métabolomique MIND, dans l'échantillon de découverte (en beige) et l'échantillon de validation (en bleu), cas-témoin niché dans la cohorte 3C, n=418.....	323
Annexe 7 : Informations supplémentaires de l'article 2, <i>Exploration of the Gut Brain Axis Through Metabolomics Identifies Serum Propionic Acid Associated with Higher Cognitive Decline in Older Persons</i> (2022).....	324
Annexe 8 : Distribution des scores factoriels des issus de l'analyse en composantes principales de tous les métabolites puis de chaque famille de métabolites dans l'échantillon de découverte, cas-témoin niché dans la cohorte 3C, n=418	336
Annexe 9 : Distribution des scores factoriels issus de l'analyse en composantes principales sélectionnés pour réplication de l'analyse d'association, échantillon de validation, cas-témoin niché dans la cohorte 3C, n=420	337
Annexe 10 : Informations supplémentaires de l'article 3, <i>Association of lifestyle for brain health risk score and genetic susceptibility with incident dementia and cognitive decline</i>	338
Annexe 11 : Activités pendant la thèse	349

Abréviations

3C : étude des trois cités
ACP : Analyse en composantes principales
AGM : acides gras mono-insaturés
AGPI : Acides gras polyinsaturés
AGS : acides gras saturés
ANU-ADRI : Australian national university alzheimer's disease risk
APOE4 : allèle ε4 du gène APOE
ARIA : amyloid-related imaging abnormalities
AVC: accident vasculaire cerebral
BHE : barrière hémato-encéphalique
BVRT : Benton Visual Retention test
CAIDE : Cardiovascular risk factors, aging and incidence of dementia
DCA : acide désoxycholique
Dcogplast : identification of dietary modulators of cognitive ageing and brain Plasticity and proof of concept of efficacy for preventing/reversing cognitive decline
DHA : acide docohecaénoïque
DSM-IV : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
eGFR : taux de filtration glomérulaire estimé
EPA : acide eicosapentanoïque
FDA : food and drug administration
FFQ : fréquentiel alimentaire
GDCA : acide glycodésoxycholique
GLCA : acide glycolithocholique
GUDCA : acide glycoursodésoxycholique
GWAS : études d'association pangénomique (genome wide association study)
HDHL : Healthy diet for a healthy life
HR : Hazard ratio
IADL : Instrumental Activities of daily Living
IRM : Imagerie à resonance magnétique
IST : Isaac's set test
JPI : joint programming initiative
LCA : acide lithocholique
LIBRA : Lifestyle for brain health
MA : maladie d'Alzheimer
MAPT : Multidomain alzheimer preventive trial
MMSE : Mini mental state examination
MMSE : Mini-Mental state examination
OMS : Organisation mondiale de la santé
PLS : partial Least Square
ROS : Reactive oxygen species
SNP : polymorphisme mono-nucléotidique (single nucleotide polymorphism)
TCL : Troubles cognitifs légers
TDCA : acide taurodésoxycholique
TEP : Tomographie à emission de positrons
TMAO : triméthyl-n-oxide
TMT: Trail making test

Introduction

Avec l'avancée en âge, le vieillissement cérébral s'accompagne d'un déclin progressif des fonctions cognitives, qui se définissent comme les habilités cérébrales telles que l'apprentissage, le raisonnement, la mémoire, la résolution de problème ou encore la prise de décision. Le déclin cognitif observé de façon normale avec l'avancée en âge peut être accéléré par des maladies cérébrales, dont la démence est la principale forme (1). La démence est un syndrome chronique et évolutif, se traduisant par une altération de la mémoire avec la perturbation d'au moins une autre fonction cognitive (parmi le langage, les praxies, la perception, ou les fonctions exécutives), dont l'ampleur est suffisamment importante pour retentir sur les activités de la vie quotidienne (2). La démence résulte de différentes pathologies dont la plus commune, la maladie d'Alzheimer (MA), représente 60 à 80% des cas (3). Il a été estimé que le nombre de personnes touchées par la démence a plus que doublé entre 1990 et 2016 (4,5) et cette augmentation devrait s'intensifier dans les années à venir. En effet, le nombre de cas prévalents de démence devrait passer de 57 millions en 2019 à 153 millions en 2050 dans le monde, du fait notamment de l'allongement de l'espérance de vie.

La démence est un syndrome multifactoriel complexe, dont l'étiologie reste encore partiellement méconnue. Certains mécanismes sont maintenant bien décrits pour certaines étiologies, notamment la MA, qui résulte de l'accumulation anormale dans le cerveau de protéine β -amyloïde sous la forme de plaques extracellulaires et d'enchevêtrements de la protéine tau dans les neurones, accompagnée de mécanismes inflammatoires, d'un stress oxydatif, et, très fréquemment pour les formes sporadiques de démence (celles du sujet âgé, près l'âge de 65 ans), d'anomalies vasculaires. Cependant, la cascade des dysfonctionnements cellulaires conduisant à ces anomalies biologiques ainsi que leur cause, sont encore l'objet d'intenses recherches. De ce fait, aucun traitement curatif empêchant le développement de la MA et la progression des symptômes cognitifs associés n'a encore été validé. La démence résulte à la fois de facteurs de risque génétiques et environnementaux, et il a été estimé que près de 40% des cas pourraient être attribuables à des facteurs environnementaux (5), en théorie évitables. Par ailleurs, on sait aujourd'hui que les mécanismes biologiques conduisant à la démence et sa principale forme, la MA, évoluent pendant des dizaines d'années

avant l'apparition des symptômes. La recherche sur la prévention est donc primordiale pour limiter l'apparition de la démence, ou du moins la retarder.

Les facteurs de mode de vie sont d'un intérêt majeur dans la recherche de pistes préventives de la démence et du déclin cognitif, car il influence de nombreux facteurs de risque biologiques maintenant bien caractérisés, notamment sur le plan de la santé cardiométabolique. De plus, le mode de vie des individus est en théorie modifiable ce qui le rend implémentable en pratique pour la prévention. La nutrition est une cible préventive particulièrement prometteuse, du fait des effets pléiotropiques des nutriments sur de nombreux mécanismes impliqués dans la santé cérébrale (inflammation, stress oxydatif, dysfonction vasculaire), et de l'implication de certaines molécules (notamment les lipides) dans la structure et le fonctionnement des neurones et des autres cellules du système nerveux. Dans les études d'observation, l'apport en plusieurs familles de nutriments par l'alimentation habituelle a été mis en lien avec l'incidence de la démence et le déclin cognitif. Des apports plus élevés en acides gras polyinsaturés omega-3 à longue chaîne (n-3 AGPI), en vitamines des groupes B et D, ou encore en polyphénols et en caroténoïdes, ont été associés, dans beaucoup d'études, avec un moindre risque de démence et un déclin cognitif ralenti (6). Cependant, toutes les études d'observation ne s'entendent pas sur ces associations, et il est à noter que les résultats des essais cliniques de supplémentation sont décevants. L'alimentation étant une exposition multi-dimensionnelle, une approche plus globale s'intéressant non seulement aux nutriments individuels mais aussi, à leur combinaison dans l'alimentation sous la forme de profils (d'aliments, de nutriments) pourrait être plus pertinente. Dans cette approche par profils, les aliments (ou les nutriments) sont considérés en association, ce qui permettrait de mieux prendre en compte l'exposition nutritionnelle dans son ensemble ainsi qu'approcher l'effet biologique complexe, fait d'effets additifs, antagonistes ou synergétiques des composés alimentaires, sur le cerveau vieillissant.

A l'échelle du nutriment, des profils en lien avec la démence et le déclin cognitif ont été identifiés, de manière exploratoire. Bien que généralement plus associés à la maladie que les nutriments considérés individuellement, les profils caractérisés restent très différents d'une étude à l'autre, leur identification dépendant entièrement des données à partir desquelles ils ont été estimés. Ils sont donc peu reproductibles en pratique, et une combinaison optimale reste encore à déterminer. A l'échelle de

l'aliment, une approche classique en épidémiologie nutritionnelle repose sur l'identification de profils alimentaires construits *a priori* en fonction de critères spécifiques, qui peuvent être construits selon la typologie alimentaire particulière d'une région (profil méditerranéen par exemple), ou encore selon la relation supposée de leurs composantes à la santé ou les recommandations nationales en vigueur (comme le Programme national Nutrition Santé – Guidelines Score 2 [PNNS-GS2] par exemple, reflétant les recommandations alimentaires françaises de 2017) (7). Même si toutes les études ne convergent pas, il est suggéré que ces profils alimentaires sont associés à un moindre risque de démence et de déclin cognitif accéléré. Cependant, il est difficile de faire la part des choses sur la meilleure approche car de nombreux profils différents ont été étudiés dans la littérature. Une approche prometteuse concerne le profil alimentaire *Mediterranean-DASH intervention for neurodegenerative delay* (MIND), spécifiquement développé pour la prévention du vieillissement cognitif, mais la recherche est émergente et on manque encore de connaissances sur les effets biologiques de ce profil. Enfin, à l'échelle du mode de vie au sens large, la nutrition est indissociable d'un ensemble de comportements et de facteurs de santé dont l'implication dans le développement de la démence a été démontrée. Au-delà des profils nutritionnels stricto sensu, les profils de mode de vie au sens large, qui combinent les différents facteurs de risque sont l'une des approches les plus prometteuses pour la prévention du vieillissement cérébral pathologique (5,8). Les études d'intervention multi-domaines (combinant le changement de plusieurs habitudes de vie et la gestion de la santé de manière simultanée) montrent des résultats encourageants mais le niveau de preuve reste encore modeste. Les analyses post-hoc stratifiées suggèrent l'existence des groupes à risque (par exemple génétiques) chez qui les interventions semblent plus efficaces (9,10), et la détermination de ces populations plus vulnérables dans les études d'intervention doit encore être affinée.

Ce travail de thèse met à profit de nouveaux outils en épidémiologie moléculaire pour affiner la connaissance des relations entre la nutrition, le mode de vie et le vieillissement cérébral. Diverses mesures moléculaires seront utilisées, comme les biomarqueurs nutritionnels plasmatiques classiques, des mesures du métabolome alimentaire, mais aussi des données génomiques, afin d'intégrer au mieux la complexité de la nutrition et du mode de vie et leur implication dans le vieillissement cognitif, avec comme objectif d'affiner la caractérisation de stratégies préventive des pathologies du vieillissement cérébral par la nutrition et le mode de vie.

Chapitre 1

-

Etat de des connaissances

1.1. Vieillessement cérébral et démence

1.1.1. Le continuum du vieillissement cérébral

Le vieillissement se définit comme le produit de l'accumulation d'un vaste éventail de dommages moléculaires et cellulaires avec l'avancée en âge (11). Il s'accompagne de 9 signes distinctifs : l'instabilité génomique, les altérations épigénétiques, l'attrition des télomères, la perte de protéostase, la dérégulation de la gestion des nutriments, le dysfonctionnement mitochondrial, la sénescence cellulaire, l'épuisement des cellules souches et l'altération de la communication cellulaire (12). Ce vieillissement est associé à des changements cérébraux de types morphologiques, structuraux ou fonctionnels. La morphologie cérébrale, la forme et l'anatomie du cerveau évoluent avec l'âge, avec notamment une perte progressive de volume tissulaire (13). Il a été montré que le volume du cerveau et son poids déclinaient avec l'âge à hauteur de 5% par décennie à partir de 40 ans, ce déclin pouvant augmenter particulièrement après l'âge de 70 ans (14).

Ces changements morphologiques et structuraux s'accompagnent de déficits au niveau des fonctions cognitives, renvoyant à une multitude d'habiletés cérébrales, telles que l'apprentissage, le raisonnement, la mémoire, la résolution de problèmes, ou encore la prise de décisions. La mémoire est la première fonction cognitive à être touchée, et plus particulièrement la mémoire épisodique (événements autobiographiques, situation spatio-temporelle et projection dans le futur) et la mémoire sémantique (mots et idées, indépendante du contexte spatio-temporel). Le vieillissement cérébral s'accompagne alors d'un déclin cognitif, traduit par une baisse des performances cognitives progressive avec l'avancée en âge. Ce déclin peut être accéléré par des maladies cérébrales liées à l'âge, telle que la démence (1). En épidémiologie, étudier le déclin cognitif renseigne sur l'ampleur de l'atteinte des fonctions cognitives, possiblement sous-tendues la démence ou d'autres maladies cérébrales liées à l'âge.

La démence est un syndrome chronique et évolutif, résultant de différentes pathologies, et se traduit par une altération des fonctions cognitives plus rapide que celle que l'on pourrait observer lors du vieillissement normal. Elle se définit selon les

critères du DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) par l'altération de la mémoire avec la perturbation d'au moins une autre fonction cognitive (langage, praxie,gnosie, fonctions exécutives) suffisamment importante pour retentir sur les activités de la vie quotidienne (2).

Il existe plusieurs types de démence ; la maladie d'Alzheimer (MA), la démence vasculaire et la démence à corps de Lewy représentant les formes les plus communes. La MA représente 60 à 80% des cas de démence (3). C'est une maladie neurodégénérative (liée à la perte progressive de la structure et des fonctionnalités des neurones), et les premiers symptômes se traduisent par une difficulté à se souvenir de conversations récentes, des noms ou des événements, ainsi qu'une apathie et possiblement une dépression. Plus tardivement dans l'évolution de la maladie, d'autres symptômes apparaissent, comme des difficultés à communiquer, une désorientation, une confusion, des changements comportementaux ou même des difficultés à avaler ou à marcher. La démence vasculaire, elle, représente jusqu'à 20% des démences et se produit à la suite de l'obstruction de vaisseaux sanguins dans le cadre d'un accident vasculaire cérébral (AVC) ou d'autres complications vasculaires cérébrales (3). Plus de la moitié des individus souffrant de la MA présentent des changements cérébraux liés à un autre type de démence, traduisant une pathologie mixte appelée démence mixte (15,16). Enfin, la démence à corps de Lewy représente environ 5% des cas de démence (3). En épidémiologie, il est intéressant de se concentrer sur la démence comme événement d'intérêt, afin de d'étudier l'incidence de ce syndrome et de ses différents sous-type sous-tendus par des processus neuropathologiques différents. Dans cette thèse, seront considérés dans le vieillissement cérébral pathologique le déclin cognitif accéléré et la démence comme deux événements d'intérêt complémentaires.

Il existe deux formes de MA, les formes dites familiales et les formes dites sporadiques. Les formes familiales, autosomales dominantes (héréditaires), sont des formes précoces, arrivant avant l'âge de 65 ans. Elles sont causées par des mutations sur le gène de la protéine précurseur amyloïde, le gène *présélinine 1 (PSEN1)* ou le gène *présélinine 2 (PSEN2)* (17,18). Ces formes génétiques sont rares, représentant moins de 1% des cas (19). La MA sporadique, quant à elle, apparaît plus tardivement (après 65 ans) et représente 99% des cas. Cette forme résulte d'une susceptibilité génétique complexe et de facteurs environnementaux. Nous nous concentrerons sur cette dernière forme de MA dans le reste de ce travail.

1.1.2. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer

La démence résulte d'un endommagement des cellules du cerveau limitant le fonctionnement et les communications cellulaires et affectant la ou les fonction(s) cognitive(s) de la zone touchée (20). Dans cette partie, seront détaillés les mécanismes physiopathologiques de la MA, principale forme de démence.

Au sein du cerveau, les neurones sont des cellules spécialisées dans la communication et le traitement de l'information. Ils sont constitués d'un corps cellulaire d'où partent deux types de prolongements : les dendrites (nombreuses et courtes) qui conduisent l'influx nerveux (signal de nature électrique) de leurs extrémités au corps cellulaire, et l'axone, unique et long, conduisant l'influx du corps cellulaire vers ses différentes ramifications (terminaisons de l'axone) afin qu'il soit transmis à la cellule cible. La structure de l'axone est maintenue par des éléments du cytosquelette (architecture interne des cellules), notamment les microtubules dont l'un des rôles est d'apporter les nutriments à la cellule. A l'extrémité des terminaisons axonales se trouvent les synapses, zones de jonctions fonctionnelles entre deux neurones ou entre un neurone et une autre cellule. L'échange de signaux entre les circuits neuronaux forme la base cellulaire des souvenirs, des pensées, des émotions et des sensations.

Les lésions cérébrales caractéristiques de la MA sont la présence de plaques formées par le dépôt extracellulaire, entre les neurones, de la protéine bêta-amyloïde, ainsi que l'agrégation intracellulaire de formes anormales de la protéine Tau, impliquée dans la stabilisation des microtubules (20,21). Il a été suggéré que les plaques amyloïdes pourraient contribuer à la mort cellulaire en altérant la communication neuronale au niveau des synapses, tandis que les enchevêtrements de la protéine tau bloqueraient le transport des nutriments à l'intérieur des neurones (3). Même si la séquence complète des événements est encore méconnue, il semblerait que l'accumulation de bêta-amyloïde commencerait avant les formations anormales de la protéine tau, et que cette accumulation serait associée à une augmentation ultérieure d'enchevêtrements de la protéine tau (4,22).

L'étiologie exacte de la MA n'est pas encore parfaitement connue, mais des mécanismes complémentaires impliqués dans cette maladie résultant d'un processus multi-pathogénique complexe ont été décrits.

L'inflammation, représentée par un réseau complexe de cellules, molécules signal et médiateurs moléculaires, est un mécanisme impliqué dans la MA et sa progression, et contribue à la pathogénèse amyloïde et Tau (23). Des gènes codant pour des fonctions immunitaires, dont *TREM2* et *CD33*, ont été associés avec la MA (24,25) et il a été démontré que les patients souffrant de MA voyaient leur cellules microgliales plus actives (notamment les astrocytes), induisant une production accrue de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires (26).

Aussi, il a été montré que chez les patients atteints de MA, le cerveau montrait un degré important de dommages oxydatifs associés à une accumulation de β -amyloïde et d'enchevêtrements de la protéine tau (27,28). A l'état normal, le métabolisme génère des radicaux libres d'oxygène et d'autres espèces réactives (ROS, *reactive oxygen species*) impliqués dans de nombreux processus physiologiques (29). Le stress oxydatif réfère à l'état pathologique dans laquelle la production de ROS est augmentée, ce qui est le cas lors de l'inflammation. Quand le stress oxydatif dépasse les capacités du complexe ROS, les dommages oxydatifs apparaissent, touchant les cellules et les organes, ainsi que l'ADN.

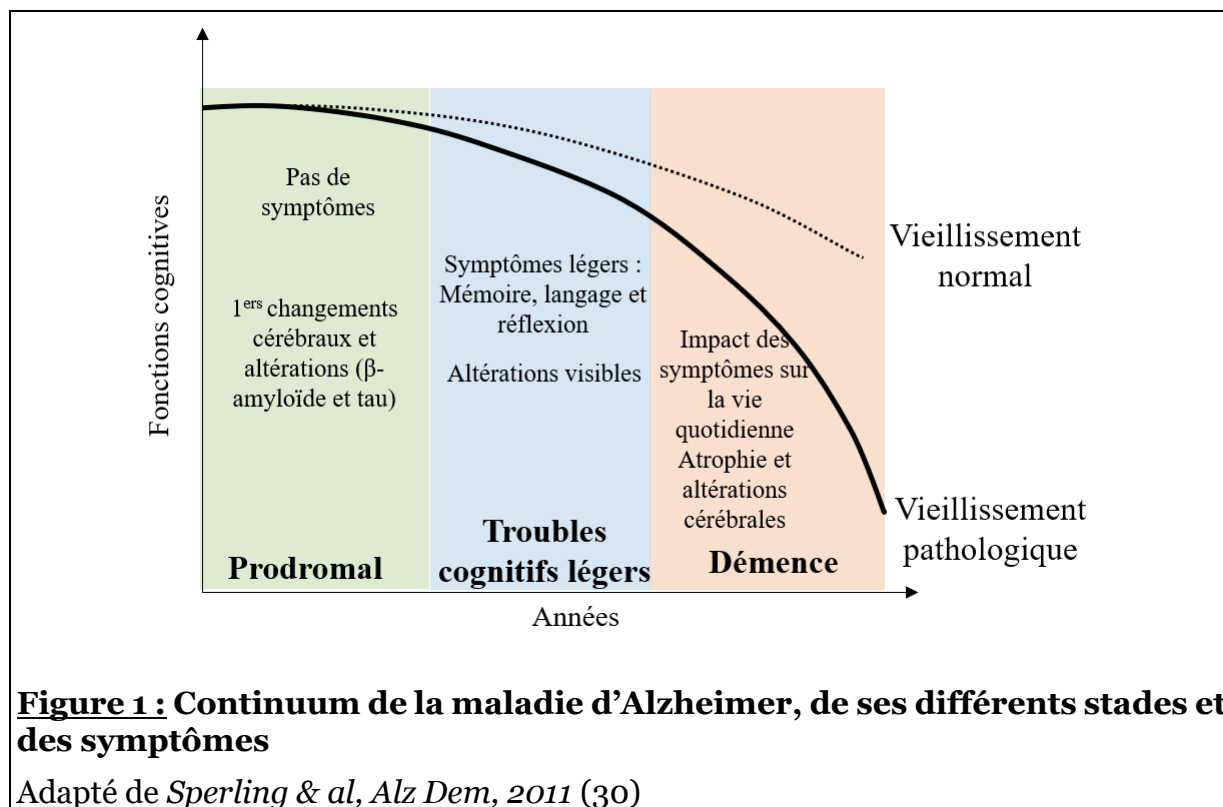
1.1.3. Symptômes des sous-types de démence

La maladie d'Alzheimer et ses symptômes évoluent dans un continuum qui peut être découpé en trois stades (3) (**Figure 1**) :

- 1) Le stade prodromal : des changements cérébraux ont lieu mais les premiers symptômes tels que la perte de mémoire ne sont pas encore détectables. Par exemple, il peut être observé à ce stade des taux anormaux de β -amyloïde (visible à l'imagerie) (20), ainsi que des changements dans les niveaux de protéine Tau dans les analyses du liquide céphalo-rachidien ou du plasma (21). Au moment où ces changements surviennent, le cerveau met en place des mécanismes de compensation, permettant aux individus de vivre normalement malgré les atteintes.
- 2) Le stade des troubles cognitifs légers (TCL) : les biomarqueurs de la MA sont visibles, mais les symptômes apparents restent légers. Des troubles modérés de la mémoire, du langage et du raisonnement apparaissent. Ces troubles cognitifs n'interfèrent pas avec la réalisation des activités quotidiennes du patient, et ne

sont détectables que par le patient et ses proches. Ces légers troubles de mémoire et de réflexion apparaissent quand les mécanismes du cerveau mis en place pour compenser la dégradation et la mort neuronale ne suffisent plus. Les TCL ne sont pas toujours sous-tendus par une démence, et parmi les personnes atteintes, 15% développent une démence en moins de deux ans, et un tiers des patients en moins de cinq ans, la majorité d'entre eux ne développant pas de démence (22).

- 3) Le stade de démence : les patients subissent différents symptômes évoluant au cours de cette période. Les symptômes reflètent le degré de sévérité des atteintes neuronales dans les différentes régions cérébrales, le rythme auquel les symptômes de la démence passent de légers à modérés à graves variant d'une personne à l'autre. Dans le stade léger, la majorité des individus restent indépendants dans beaucoup de domaines, mais peuvent avoir besoin d'assistance dans certaines activités complexes. S'ensuit le stade modéré, qui est celui qui dure en général le plus longtemps. La mémoire et le langage sont les domaines les plus touchés, et les individus ont plus de risque d'être confus et trouvent de plus en plus de difficultés à faire des actions multi-tâches telles que la toilette ou le fait de s'habiller. S'ensuit le stade de MA sévère, où les individus ne sont plus capables de communiquer verbalement et requièrent des soins de tout instant. Tous les aspects de la vie peuvent être nettement impactés, la maladie pouvant à ce stade entraîner le décès.



En ce qui concerne la démence vasculaire, la localisation, le nombre et la taille des lésions cérébrales dues à des accidents cérébrovasculaires, déterminent comment la démence s'exprime, et comment le raisonnement et le fonctionnement physique de la personne sont affectés (3). Les personnes atteintes peuvent montrer comme premiers symptômes des pensées ralenties et éprouver des difficultés à prendre des décisions, à planifier, et à s'organiser. La mémoire peut aussi être touchée, surtout lorsque la démence est de forme mixte. En plus de changements des fonctions cognitives, les patients peuvent devenir moins émotifs et rencontrer des difficultés de fonctions motrices tels qu'une démarche lente et un équilibre diminué.

La plupart des symptômes dus à la démence à corps de Lewy sont communs à ceux de la MA, mais les patients ont cependant plus de risque de souffrir de troubles du sommeil aux premiers stades, ainsi que de souffrir d'hallucinations visuelles et de troubles visuospatiaux. La gravité des symptômes et leur fréquence d'apparition peuvent être différentes d'une heure à une autre, ou d'un jour à l'autre. Les problèmes moteurs sont aussi communs. Tous ces symptômes peuvent exister sans trouble cognitifs majeurs, mais la perte de mémoire peut apparaître à un certain stade de la maladie, surtout si un autre type de démence s'ajoute (3).

Le diagnostic de démence et de ses sous-types peut-être complexe : il se base sur différents critères, et se fait de manière différentielle, sont écartés un à un les différents sous-types selon les signes cliniques. Des tests cognitifs, réalisés par un neurologue, permettent d'estimer les performances cognitives et l'évolution des symptômes dans le temps. Des critères biologiques (dosages sanguins et céphalorachidiens) peuvent s'ajouter afin de rechercher des biomarqueurs potentiels. Enfin, l'imagerie peut servir au diagnostic, comme l'imagerie par résonance magnétique (IRM), vérifiant la présence d'AVC, saignements ou de tumeur, et la tomographie à émission de positrons (TEP), évaluant l'activité cérébrales et permettant de détecter la présence de plaques amyloïdes ou de pathologie Tau (2).

1.1.4. Epidémiologie de la démence

La prévalence de la démence dans le monde en 2019 était estimée à environ 57 millions de personnes, avec 1,2 millions de cas en France (4,31,32). La prévalence augmente avec l'âge, avec en France 2 à 4% des personnes de plus de 65 ans atteintes, ce chiffre passant à plus de 15% chez les plus de 80 ans (31). Le nombre de personnes touchées par la démence aurait augmenté de 117% entre 1990 et 2016 dans le monde selon les estimations (4,5), et cette augmentation devrait s'intensifier dans les années à venir. Les personnes âgées de plus de 65 ans représentant 9.3% de la population mondiale en 2020, cette proportion devrait doubler d'ici 2050 (33) et le nombre de cas de démence pourrait tripler, avec une estimation de 153 millions de cas prévalents en 2050 (4) (**Figure 2**).

Dans le monde, un nouveau cas de démence apparaît toutes les 3 secondes, et l'incidence mondiale (le nombre de nouveaux cas diagnostiqués) s'élève à 10 millions par an (225 000 en France) (4,31,32,34).

Les femmes sont plus touchées que les hommes, cette différence s'intensifiant avec l'âge. Le sexe-ratio, c'est-à-dire le nombre de cas de femmes divisé par le nombre de cas d'hommes, était estimé à 1.69 (95% CI 1.64-1.73) en 2019 et augmentera d'ici 2050 à 1.76 (**Figure 2**) (4).

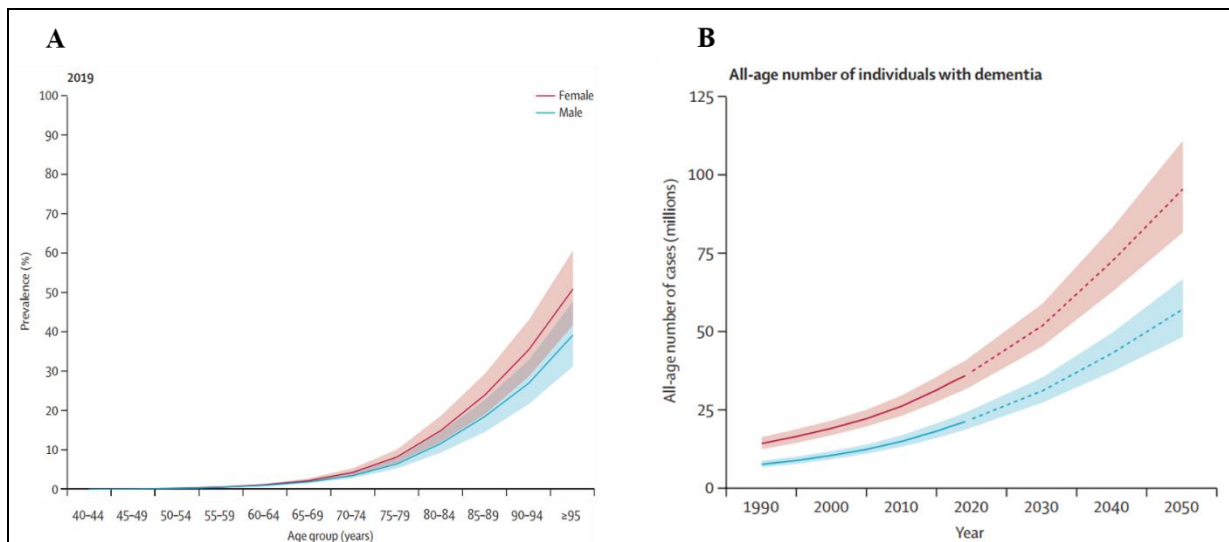


Figure 2: Prévalence globale de la démence par groupe d'âge et par sexe en 2019 (Panel A) et prévalence chez les hommes et chez les femmes, entre 1990 et 2050 (Panel B).

Issue de Nichols & al, *Lancet Public health*, 2022 (4)

Il existe des disparités géographiques dans la prévalence et l'incidence de la démence. En Europe et en Amérique du Nord, l'incidence semble stagner voire diminuer, probablement du fait de l'amélioration globale de la qualité de la vie, d'une meilleure hygiène de vie et d'une meilleure prise en charge des facteurs de risque cardiovasculaires, même si la prévalence augmente du fait de la baisse de fertilité et l'allongement de l'espérance de vie dans ces pays (**Figure 3**) (35). Cependant, 60% des cas de démence dans le monde se trouvent dans les pays à revenus moyens ou faibles, où la prévalence devrait augmenter très rapidement (36,37). Une grande partie de cette augmentation pourrait être attribuable au vieillissement de la population ainsi qu'à l'explosion démographique et non aux changements de mode de vie dans ces pays. En effet, il a été montré que l'augmentation de la prévalence de la démence standardisée sur l'âge due à l'augmentation de la prévalence de certains facteurs de risque tels que l'obésité, le diabète ou bien même le tabagisme, était contrebalancée par un niveau d'éducation amélioré dans la plupart des régions du globe (**Figure 3**) (4).

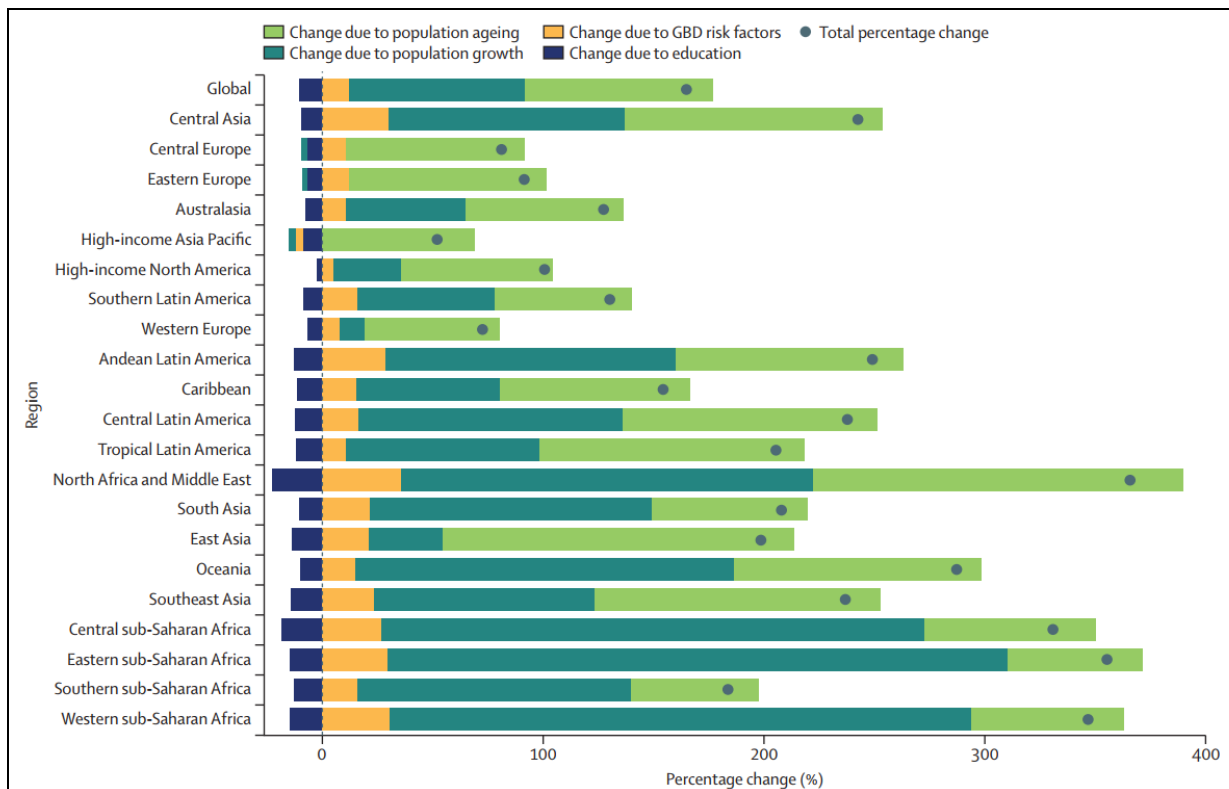


Figure 3: Décomposition du pourcentage de changement dans le nombre d'individus vivant avec la démence entre 2019 et 2050 globalement et dans chaque région du globe.

GBD = Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study. Issue de Nichols & al, *Lancet Public health*, 2022 (4)

En plus de sa forte prévalence, la démence s'avère en plus être un syndrome grave, affectant de manière considérable la vie du patient, et pouvant entraîner le décès à un stade avancé. La démence représente 11.9% des années vécues avec une incapacité due à des maladies non-transmissibles (38) et 6.3% des années de vie en bonne santé perdue chez les plus de 70 ans (39). Il a été dénombré en 2019 que 1.6 millions de décès pouvaient être attribués à la démence, la plaçant comme 7^e cause de décès au niveau mondial et 2^e après les cardiopathies ischémiques dans les pays à revenus élevés (40). Aussi, l'impact de la démence sur l'espérance de vie serait similaire à celui des maladies cardiovasculaires (41).

En plus de bouleverser la vie du patient, la démence entraîne des conséquences importantes sur l'entourage, très sollicité pour la gestion de la vie quotidienne mais aussi financièrement. Il a été démontré que les aidants présentaient des risques plus élevés de dépression, d'anxiété et de mortalité (42,43). Les aidants passeraient en

moyenne 5h par jour pour les soins et la supervision, et 50% des coûts sociétaux dus à la démence seraient attribuables aux soins prodigués par les proches (36).

Au niveau mondial, la démence aurait engendré un coût de 1 000 milliards de dollars américains en 2018, et pourrait aller jusqu'à 2 000 milliards de dollars en 2030 (34). En France, le coût global de la démence représentait environ 23 milliards d'euros en 2020 et pourrait aller jusqu'à 41 milliards en 2050 (44). Seulement 20% de ces coûts seraient attribuables aux soins médicaux, tels que les traitements et les soins hospitaliers, alors que 40% seraient impliqués dans les coûts sociaux directs tels que les soins professionnels à domicile, les résidences et les institutions personnalisées, et jusqu'à 40% seraient des dépenses indirectes et informelles faites par les aidants (45,46). Cette augmentation des dépenses peut être observée des années avant le diagnostic de la démence (45).

1.1.5. Traitements de la maladie d'Alzheimer

Pour l'instant, seulement 5 médicaments ont reçu l'autorisation de mise sur le marché pour le traitement de la MA en France (*donepezil*, *rivestigmine*, *galantamine*, *mémantine* et *donepezil + mémantine*). Ils traitent temporairement les symptômes mais ne modifient pas les changements cérébraux associés à la MA. La mémantine agit en corrigeant l'hyperactivité des récepteurs N-méthyl-D-aspartate, empêchant la stimulation excessive de ces récepteurs par le glutamate, un neurostimulant qui endommage les neurones quand il est produit en trop grande dose. Les autres traitements améliorent les symptômes en augmentant le nombre de neurotransmetteurs (3). Du fait de leur efficacité modérée et de leur mauvaise tolérance (nausées et migraines peuvent apparaître), ils ne sont plus remboursés par la sécurité sociale depuis le 1^{er} août 2018.

En 2021, un nouveau traitement est approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) aux États-Unis, l'*Aducanumab*. Il s'agit du premier traitement ciblant les mécanismes biologiques plutôt que les symptômes (3). Cet anticorps monoclonal réduit les plaques amyloïdes chez les patients atteints au stade prodromal ou léger de MA, et il est encore trop tôt pour avoir des résultats concernant son efficacité à des stades plus tardifs de la pathologie. Le principal effet secondaire est représenté par les anomalies de l'imagerie amyloïde (ARIA, *amyloid-related imaging*

abnormalities), pouvant entraîner des œdèmes cérébraux ou même des hémorragies (30), et sont détectables à l'IRM. Ce traitement a reçu un avis négatif de l'agence européenne du médicament, jugeant que ce médicament n'avait pas encore montré son bénéfice clinique dans les populations testées (les résultats des études cliniques n'étaient pas tous concordants). Il en est de même pour le médicament *Lecanumab*, qui a une action similaire et qui a été approuvé par la FDA cette année, et l'agence européenne du médicament ne s'est pas encore prononcée (47). Malgré les refus de l'agence européenne, ces nouveaux traitements sont en voie d'être acceptés en Europe, à condition que les résultats obtenus, jugés encore peu robuste en Europe, notamment pour l'*Aducanumab*, soient validés par des études cliniques supplémentaires. Enfin, dans les formes sévères de la démence, des antipsychotiques peuvent être prescrits pour traiter les hallucinations, les agressions et l'agitation, mais ils sont associés à un plus grand risque d'AVC et de décès (3,48,49).

Il existe aussi des traitements non médicamenteux ne changeant pas la biologie sous-tendant la MA, qui sont utilisés dans le but de maintenir ou d'améliorer la cognition, la qualité de la vie, et la capacité à faire des activités de la vie quotidienne. Parmi ces traitements, peuvent être cités la stimulation cognitive, la musicothérapie, ou les traitements psychologiques tels que la thérapie cognitivo-comportementale.

Actuellement, 143 nouveaux médicaments sont testés dans des essais cliniques, beaucoup ciblant l'amyloïde (n=20), tau (n=13), l'inflammation (n=23), et la plasticité synaptique (n=19) (**Figure 4**). Un intérêt croissant est également apporté aux traitements multi-cibles (combinant des actions anti-amyloïde et anti-tau) (50). Cependant, le développement de nouvelles thérapies pour les maladies du système nerveux est difficile, avec un taux d'échec très important et des temps de développement très long entraînant une perte d'intérêt des industries pharmaceutiques dans ce domaine (50).

MA augmente de façon très importante avec l'avancée en âge : dans le monde, plus de 30% des personnes de plus de 85 ans en sont atteintes, contre 13% des adultes âgées de 75 à 84 ans, et seulement 5% des personnes âgées de 65 à 75 ans (3).

Il est à noter aussi que les femmes semblent plus touchées par la MA que les hommes : à 45 ans, la probabilité de développer la maladie avant de décéder est de 20% chez les femmes, et de 10% chez les hommes (51). Cette différence est en partie due au fait que les femmes aient une plus longue espérance de vie que les hommes, induisant un biais de survie sélective, mais aussi au fait que certains facteurs de risques sont plus présents chez les femmes (un faible niveau d'éducation par exemple), ou que certains facteurs de risque ont un effet plus fort chez les femmes que chez les hommes, comme la présence de l'allèle $\epsilon 4$ du gène APOE (APOE4) (51,52). Enfin, les femmes sont sujettes à certains facteurs de risque propres à leur sexe, tels que les troubles hypertensifs liés à la grossesse, la chute d'œstrogène à la ménopause ou encore une moindre réserve cérébrale en raison d'un volume intracrânien plus faible que les hommes (53–56). Enfin, il pourrait exister des différences entre les sexes dans les mécanismes biologiques sous-tendant la MA qui restent encore à élucider (57,58).

1.1.6.2. Génétique

Pour rappel, un gène est une séquence de nucléotides composé de quatre bases nucléotidiques : l'adénine (A), la guanine (G), la thymine (T) et la cytosine (C). Ces séquences codent pour des protéines, dont le rôle est essentiel au bon fonctionnement de l'organisme, que ce soit d'ordre structurel ou dans les différents processus biologiques. Un gène peut avoir plusieurs versions, appelées variants alléliques et conduire à la formation de protéines structurellement et fonctionnellement différentes.

De nombreuses études se sont intéressées ces dernières années aux facteurs de risque génétiques de la MA. En population générale, l'héritabilité de la MA est comprise entre 60 et 80%, c'est-à-dire qu'entre 60 et 80% de la variabilité de la MA observée entre les individus serait imputable à la génétique (59).

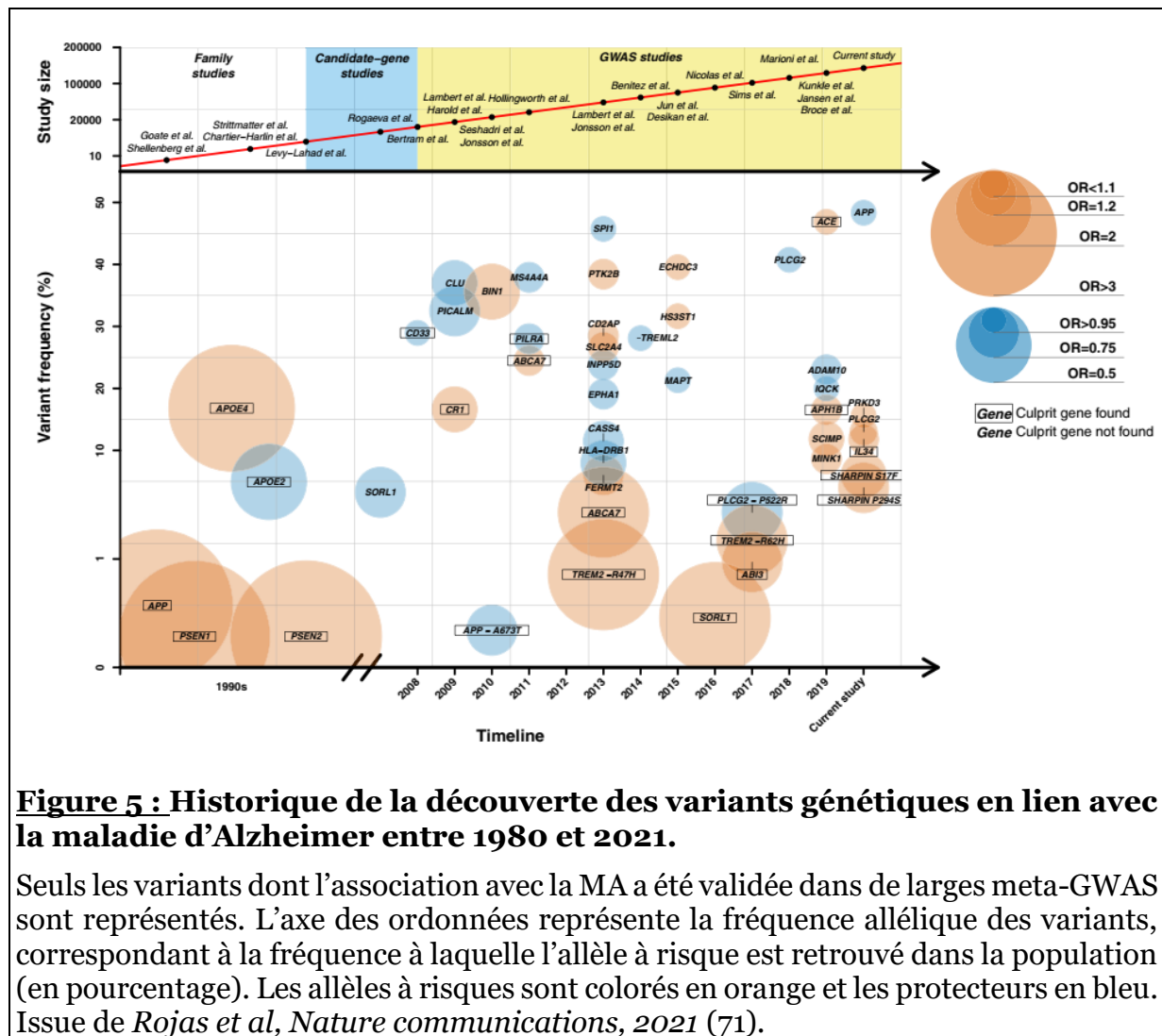
Le variant de loin le plus fortement associé au risque de maladie d'Alzheimer est le polymorphisme ϵ du gène codant pour l'apolipoprotéine E (APOE) (60,61) . Cette protéine joue un rôle dans le métabolisme lipidique, participant à la distribution et redistribution de lipides entre les différents tissus et cellules du corps humain, mais les

mécanismes par lesquels elle contribue au risque de survenue de la MA sont multiples et encore mal connus. Il existe trois différentes formes de protéines, ayant chacune des effets différents dans l'homéostasie lipidique et neuronale, du fait d'une structure biochimique différente (65). Chacune est codée par différents variants alléliques. L'allèle $\epsilon 3$ (APOE3) est le plus commun, avec une prévalence allant de 48 à 98% selon les ethnies. L'allèle $\epsilon 2$ (APOE2) est considérée comme la forme protectrice pour la démence, avec 1 à 5% de porteurs, et l'allèle $\epsilon 4$ (APOE4) est la forme considérée à risque pour la démence, avec une prévalence allant de 3 à 41% selon les ethnies (66,67). Il a été démontré que les personnes porteuses d'un seul allèle APOE4 avaient un risque de développer la MA multiplié par 3 par rapport aux personnes non porteuses, et que les porteuses de deux allèles voyaient leur risque de démence multiplié par 15 (68).

Même si l'allèle APOE4 a été montré comme le principal facteur de risque génétique de la démence, la maladie d'Alzheimer est une maladie polygénique, n'impliquant pas qu'un seul gène. L'outil préférentiel des investigations génétiques pour ce type de maladie est l'étude d'association pangénomique (GWAS, *Genome Wide Association Study*) qui étudie l'association de variants génétiques distribués sur l'ensemble du génome avec le risque de survenue de maladie, sans émettre d'hypothèse préalable sur la nature des gènes impliqués (69). La fréquence allélique de centaines de milliers de variants est comparée entre un groupe de cas atteints de la maladie et un groupe de témoins. Les variants généralement utilisés dans ces études sont les polymorphismes mono-nucléotidiques (SNPs, *single nucleotide polymorphism*) qui sont des variations d'un seul nucléotide à un locus donné (position précise sur le génome d'un individu). Les SNPs sont bi-alléliques, c'est-à-dire qu'il y a, à leur position, deux possibilités de variations nucléotidiques, l'une héritée du père, l'autre de la mère. L'allèle dit « à risque » est celui plus fréquemment présent chez les personnes atteintes et une association est dite significative à échelle pangénomique pour une valeur de $p < 1 \times 10^{-8}$, tenant compte des tests multiples effectués (basé sur environ 1 millions de SNPs indépendants sur l'ensemble du génome).

Plusieurs GWAS de la MA ont été publiées depuis 2009, avec une augmentation du nombre de cas et témoins inclus à chaque nouvelle GWAS, et donc du nombre de loci identifiés du fait de l'augmentation de la puissance statistique (**Figure 5**). La dernière GWAS en date a été publiée en 2022, incluant 111 326 cas de MA (défini par le diagnostic chez le participant ou par l'atteinte d'un parent) et 677 663 témoins, et 75

polymorphismes ont été identifiés comme associés à la MA de façon significative à l'échelle pangénomique dans cette étude (70).



En plus de ces facteurs immuables ou difficilement modifiables, des facteurs de risque environnementaux ont été identifiés, et ils sont pour la plupart évitables. Dans cette thèse, les facteurs environnementaux seront considérés au sens large, comprenant tous les facteurs sociodémographique, de mode de vie, cardiométaboliques, et liés à la santé.

1.1.6.3. Facteurs environnementaux

Ces dernières années, plusieurs facteurs de risque environnementaux ont été identifiés, et ensemble, ils représenteraient 40% des cas de démence dans le monde

(5). Ainsi, théoriquement, presque la moitié des cas de démence pourraient être évités ou tout du moins retardés en agissant sur les facteurs modifiables.

Statut socioéconomique et niveau d'éducation

Le niveau d'éducation représente un des principaux facteurs de risque de la démence, les personnes ayant un faible niveau d'étude voyant leur risque de développer une démence doublé par rapport aux personnes avec un niveau d'études plus élevé (72). A l'échelle mondiale, 40% de la population à risque de démence aurait un niveau d'étude inférieur au lycée, et la part de risque attribuable à un bas niveau d'étude dans la démence atteindrait 20% (73). L'effet protecteur d'un haut niveau d'étude pourrait être expliqué par la capacité cognitive globale qui augmenterait au fur et à mesure des études jusqu'à la fin de l'adolescence, au moment où la plasticité cérébrale connaît son apogée (74) : c'est ce qu'on appelle la réserve cognitive. Cependant, après l'apparition des premiers symptômes de démence, les individus avec un haut niveau d'éducation montrent un déclin cognitif plus accéléré (72), potentiellement expliqué par le fait que leur plus grande réserve cognitive leur permettrait de compenser les lésions cérébrales de manière efficace pendant une longue période, jusqu'à une certaine charge critique correspondant à l'apparition des symptômes (72). Autrement dit, à même niveau de lésions cérébrales, un individu avec une plus grande réserve (du fait notamment d'un plus haut niveau d'études) déclinera plus tard d'un point de vue cognitif, mais lorsque le déclin sera amorcé, celui-ci sera important du fait de la charge pathologique plus élevée.

Le statut socioéconomique au sens large, mesuré généralement par le niveau d'éducation, le niveau de revenu et la profession a été reconnu comme un facteur de risque de la démence, un haut niveau socio-économique étant associé à un risque plus faible de démence (75–79). A côté de l'hypothèse de la réserve cognitive, cette association peut aussi potentiellement être expliquée par d'autres facteurs étroitement en lien avec le statut socio-économique mais aussi associés avec le vieillissement cognitif, comme le mode de vie, l'environnement de vie, le niveau de littératie en santé ou encore l'accès aux soins (80).

Mode de vie et santé cardiométabolique

Il est suggéré que plusieurs facteurs de mode de vie seraient associés à l'incidence de la démence et au déclin cognitif. Par exemple, le manque de sommeil, l'isolement social, le tabagisme et une consommation excessive d'alcool seraient

chacun associés à un risque accru de développer une démence, alors qu'une alimentation saine, la pratique d'une activité physique ou d'activités cognitivement stimulantes seraient associés à un moindre risque de développer une démence (5). La santé cardiométabolique semble exercer également une influence non négligeable sur le vieillissement cérébral. L'obésité, le diabète, l'hypercholestérolémie, l'hypertension et les antécédents de maladies cardiovasculaires tels que les AVC, infarctus et autres ont été identifiés comme significativement associés à l'incidence de la démence et au déclin cognitif (81). Ces facteurs et leur lien avec le vieillissement cérébral seront développés de manière plus approfondie dans la partie **1.3. Santé cardiométabolique, mode de vie et vieillissement cérébral.**

Pollution

La pollution de l'air est également un facteur de risque de la démence (5). En effet, il a été démontré qu'une plus haute concentration en dioxyde de nitrogène (NO₂), et de particules fines (PM_{2.5}) dans l'air, provenant des gaz d'échappement du trafic routier et du chauffage résidentiel au bois, étaient associés à une plus grande incidence de la démence, ces polluants semblant avoir un effet additif (82–84). De plus, les modèles animaux suggèrent que ces particules polluantes en suspension dans l'air accélèreraient les processus neurodégénératifs via leur implication dans les maladies cardio et cérébrovasculaires, les dépôts β -amyloïdes et le métabolisme de la protéine précurseur de l'amyloïde (85,86). Cette pollution aérienne et son effet sur le vieillissement cérébral sont extrêmement en lien avec le niveau socioéconomique, la charge attribuable de la démence et de la surmortalité due au PM_{2.5} se trouvant particulièrement élevée dans les communautés désavantagées (87). De surcroît, les études toxicologiques suggèrent que la pauvreté et le lieu de vie pourraient affaiblir les mécanismes de défense du cerveau face à la neurotoxicité, rendant les personnes défavorisées plus vulnérables à l'effet nocif de la pollution de l'air (88).

Traumatismes crâniens

Un intérêt est porté depuis peu sur les traumatismes crâniens, généralement causés par les accidents de voiture, moto ou vélo, la pratique de sports tels que la boxe ou l'équitation, ou bien même les chutes (89). Les commotions cérébrales caractérisent les traumatismes crâniens modérés, alors que les fractures du crâne, les œdèmes et lésions cérébrales ainsi que les hémorragies caractérisent les traumatismes crâniens sévères. Des études menées au Danemark et en Suède sur de très gros échantillons de

personnes âgées de plus de 50 ans suggèrent un risque accru de démence chez les personnes ayant subi au moins un traumatisme crânien (90,91). Le risque de démence augmenterait encore plus après un traumatisme crânien sévère par rapport à un modéré, et aussi avec le nombre de traumatismes crâniens. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer cette association, comme la pathologie d'hyperphosphorylation de tau (92), la neuroinflammation persistante (93) et la pathologie β -amyloïde (94).

Dépression

Il a été démontré qu'il existait un lien entre la dépression et la démence. En effet, une méta-analyse regroupant 32 études et incluant plus de 60 000 participants montre que les personnes ayant souffert d'épisodes dépressifs au cours de leur vie avaient un risque doublé de démence par rapport aux personnes n'en ayant pas souffert (95), mais ce lien était plus faible quand l'épisode dépressif et le développement de la démence se voyaient séparés de plusieurs dizaines d'années. Comme la dépression représente également un symptôme du stade prodromal de la démence, le risque de causalité inverse ne peut être exclu, les symptômes dépressifs pouvant résulter de la neuropathologie de la démence des années avant le diagnostic clinique (5). Une hypothèse serait donc que la dépression à des âges jeunes serait associée à un risque accru de développer une démence et représenterait donc un facteur de risque, alors que la dépression à un âge avancé reflèterait plutôt un symptôme de la phase prodromale de la démence (96). Les mécanismes biologiques sous-tendant cette relation sont complexes, incluant possiblement l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénal, l'atrophie hippocampique, la neuroinflammation, la pathologie amyloïde et enfin les maladies cérébrovasculaires (97).

Dysfonctionnement rénal

La maladie rénale chronique et la démence partagent des facteurs de risque en commun tels que l'hypertension, le diabète ou l'hyperlipidémie, et on retrouve chez les patients atteints de ces maladies une haute prévalence de maladies cardiovasculaires (98–103). Le dysfonctionnement de la fonction rénale a ainsi été proposé comme facteur de risque de la démence, avec plusieurs marqueurs tels qu'un bas taux de filtration glomérulaire estimé (eGFR, qui mesure la quantité de sang filtré par minute par les néphrons fonctionnels du rein), l'albuminurie ou la protéinurie (quantité anormale d'albumine ou de protéines dans les urines), un trop haut niveau de cystatine

C (filtrée sous forme libre par les glomérules) ou enfin un trop haut niveau de créatinine (déchet de la créatine phosphate dans les muscles) (104). Plusieurs études ont montré un lien entre dysfonctionnement rénal et incidence de la démence : deux méta-analyses réalisées en 2012 et 2017 ont montré un risque de démence plus élevé de 39% chez les patients atteints de maladie rénale chronique, et un risque de démence 35% plus élevé chez les patients atteints d'albuminurie, respectivement (104,105). Enfin, une étude récente a montré une association robuste entre un faible eGFR et le risque de démence (106). En plus du partage de certains facteurs de risques en communs entre la maladie rénale chronique et la démence, le potentiel effet neurotoxique direct de l'urémie pourrait également sous-tendre cette association (103,107).

Troubles auditifs

Il a été montré à plusieurs reprises que la perte auditive était associée à l'incidence de la démence, et représentait donc un potentiel facteur de risque modifiable (5,108,109), cette association semblant être d'autant plus importante quand les personnes ne bénéficiaient pas d'aide auditive (110,111). Chez les personnes souffrant de troubles auditifs, l'utilisation d'aides auditives rendrait le risque de démence au niveau de ceux n'ayant pas de troubles de l'audition (112). Plusieurs mécanismes pourraient sous-tendre cette relation : la détérioration cognitive due au manque d'entrée auditive (113), des processus neurodégénératifs communs (113) ou même l'effet de l'isolement social causé à la fois par le déclin cognitif et par la perte de l'audition (114).

Même si de nombreux facteurs ont été identifiés à l'heure actuelle, le niveau de preuve est encore considéré comme modéré en ce qui concerne le rôle de la nutrition, du mode de vie et de la gestion des facteurs cardiovasculaires ou d'autres facteurs de risque dans la prévention de la démence, alors que ce sont des leviers primordiaux et facilement implémentables en pratique pour diminuer le risque individuel de démence, ou du moins le retarder. Cette thèse étant centrée sur le rôle du mode de vie avec un intérêt particulier pour la nutrition, nous proposons un état de l'art approfondi du rôle de ces facteurs dans le vieillissement cérébral dans la suite de ce document.

1.2. Nutrition et vieillissement cérébral

Tout au long de la vie, nous exposons notre organisme et notre cerveau aux aliments que nous ingérons, composés de plus petits éléments, les nutriments. Les macronutriments représentent le substrat énergétique primordial, les constituants fondamentaux de la matière des tissus et sont essentiels aux fonctions physiologiques de base : il s'agit des protéines (impliquées dans la croissance, développement et réparation des tissus), des lipides (essentiels à la production hormonale, à la croissance cellulaire, au stockage de l'énergie et à l'absorption des vitamines) et des glucides (principale source d'énergie, indispensables au bon fonctionnement musculaire). Le cerveau, même s'il ne représente que 2 à 3% du poids du corps humain, consomme près de 20 % de l'apport énergétique total (principalement sous forme de glucides) (115). Les micro-nutriments, essentiels aux réactions métaboliques élémentaires et aux différentes voies de synthèse cellulaires, proviennent soit de la digestion enzymatique des macronutriments, soit directement de l'alimentation : ils n'apportent pas d'énergie à l'organisme à proprement parler, mais ils jouent un rôle essentiel dans notre physiologie, et dans le fonctionnement cérébral.

La nutrition est impliquée dans le vieillissement cérébral, de par son lien avec les affections chroniques qui prédisposent à la démence (tels que le diabète et les maladies cardiovasculaires) (116), mais aussi par des mécanismes directs affectant le fonctionnement cérébral et la pathophysiologie de la démence. Mais la nutrition est un facteur de mode de vie difficile à étudier en épidémiologie, car c'est une exposition complexe comprenant plusieurs niveaux d'intégration, du simple nutriment isolé, à l'aliment composé d'un ensemble de nutriments (matrice alimentaire), au repas (ensemble d'aliments) jusqu'au profil alimentaire (typologie d'habitudes alimentaires) considéré dans sa globalité. Plusieurs approches complémentaires doivent donc être envisagées pour étudier le lien entre la nutrition et le vieillissement cérébral en épidémiologie : l'approche par aliment ou nutriment candidat (étude de manière individuelle de chaque composé) d'une part, l'approche par profils (considérant les aliments ou nutriment de manière simultanée, en combinaison), d'autre part.

1.2.1. Approche par aliments et nutriments candidats

Dans la recherche préclinique, les travaux sont abondants et étayent la plausibilité biologique de l'implication de la nutrition dans le vieillissement cérébral. En effet, la nutrition est impliquée dans différents mécanismes associés au vieillissement cognitif, comme le surpoids et l'obésité, le microbiote intestinal, le stress oxydatif, ou même l'inflammation (117).

Un intérêt particulier a été porté dans la recherche, qu'elle soit préclinique ou épidémiologique, sur plusieurs grandes familles de nutriments en lien avec la démence et le déclin cognitif : les acides gras, et plus particulièrement les acides gras poly-insaturés oméga-3 (n-3 AGPI), les vitamines B, dont la carence à un jeune âge conduirait à des troubles neurologiques (118), mais aussi la vitamine D, les caroténoïdes, les vitamines C et E et les polyphénols (6). Le **Tableau 1** présente les principales sources alimentaires et les apports recommandés en France. La partie qui suit dresse un état de l'art non exhaustif de l'implication des composés d'intérêt dans le vieillissement cognitif. Nous avons détaillé en particulier les études épidémiologiques prospectives d'une taille suffisamment importante (N>500) et/ou les méta-analyses d'études d'observation s'il y en avait de disponibles, avec le déclin cognitif ou la démence comme évènement d'intérêt.

Tableau 1 : Sources alimentaires principales et apports recommandés en France des nutriments d'intérêt dans la prévention de la démence

	Nutriment	Sources alimentaires principales ¹	Référence nutritionnelle pour la population Française ²
Acides gras	Acide eicosapentaénoïque (EPA) (n-3 AGPI)	Huiles et œufs de poisson, poissons gras, coquillages et crustacés	250 mg
	Acide docohexaénoïque (DHA) (n-3 AGPI)	Huiles et œufs de poisson, poissons gras, coquillages et crustacés	250 mg
	Acide alpha-linolénique (Précurseur n-3 AGPI)	Certaines huiles végétales (lin, noix, colza, soja...), oléagineux (noix, lin, chia...), condiments (mayonnaise) et margarines végétales	1% de l'AE total
	Acide linoléique (Précurseur n-3 AGPI)	Certaines huiles végétales (lin, noix, colza, soja...), oléagineux (noix, lin, chia...), condiments (mayonnaise) et margarines végétales	4% de l'AE total
	Acide Arachidonique (n-6 AGPI)	Œufs, abats, volaille, viande	-
	Acide oléique (n-9 AGM)	Huile d'olive, oléagineux, avocat	15-20% de l'AE total
Caroténoïdes	Carotènes		-
	α-carotène	Certains légumes tels que les carottes, poivrons ou même les courges	-
	β-carotène	Fruits et légumes de couleur orange et jaunes (carottes, patate-douce, pomme de terre, courges, mangue, melon), légumes verts à feuille (épinards, salade, chou frisé)	-
	Lycopènes	Tomates	-
	Xanthophylles		-
	Lutéine	Épinards, œufs, tomates, produits laitiers allégés en matière grasse	-
	Zéaxanthine	Épinards, œufs, tomates, produits laitiers allégés en matière grasse	-
	β-cryptoxanthine	Épices (paprika, chili), courges, persil, papaye, agrumes	-
Vitamines	Vitamines B		
	B6 (pyridoxine)	Céréales complètes, herbes aromatiques séchées, levure, pistache, abats	1.7mg/j pour les hommes

Nutriment	Sources alimentaires principales¹	Référence nutritionnelle pour la population Française²
		1.6 mg/j pour les femmes
B9 (folates)	Légumes vert, levure, abats, algues, légumineuses, herbes aromatiques séchées	330 µg/j
B12 (cobalamine)	Abats, algues, œufs, huitres, poissons gras,	4 µg/j
Autres vitamines		
Vitamine A (Rétinol)	Huile de foie de morue, abats, anguille, beurre, fromage et matières grasses végétales	750 µg ER/j ³ pour les hommes 650 µg ER/j ³ pour les femmes
Vitamine C	Fruits exotiques, cassis, herbes aromatiques, poivron, chou, agrumes, brocoli...	110 µg/j
Vitamine D	Huile et œufs de poisson, poissons gras, œufs,	15 µg/j
Vitamine E	Huiles végétales, huile de poisson, matières grasses végétales, oléagineux	10 mg/j pour les hommes 9 mg/j pour les femmes

¹Sources alimentaires majeures selon la table de composition Ciquel et fooddatabase

²Rapport ANSES 2010,2016 et 2021 (119–121)

³« équivalent rétinol (ER) » selon la formule 1µg rétinol = 1 µg ER, et 1µg β-carotène = 1/12 µg ER

Les cases « Référence nutritionnelle pour la population française » sont vide pour les composés n'ayant pas encore de recommandation de consommation établies,

AE : Apport énergétique ; n-3 AGPI : acides gras poly-insaturés oméga-3 ; n-6 AGPI : acides gras poly-insaturés oméga-6 ; n-9 AGM : acides gras monoinsaturés oméga-9

Dans les études en épidémiologie, l'exposition nutritionnelle peut être estimée de deux façons :

- (i) En estimant les consommations alimentaires (en aliment ou en nutriments) au moyen de questionnaires type fréquentiel alimentaire (FFQ) ou rappel des 24h, se basant sur les déclarations des individus, et des tables de composition alimentaire qui apportent les teneurs moyennes en chaque nutriment pour les principaux aliments et permettent ainsi de quantifier les apports individuels en nutriments,
- (ii) En dosant les biomarqueurs directement dans le sang, sous forme de dosage plasmatique ou érythrocytaire.

L'estimation de l'exposition nutritionnelle au moyen de questionnaires alimentaires présente des biais, tels qu'une sous-estimation de l'apport énergétique, des biais de mémorisation ou de désirabilité sociale, ou même des erreurs dans l'estimation des proportions consommées selon le type d'aliment rapporté (122,123). Par exemple, il a été montré que la consommation de fruits et légumes étaient souvent surestimée quand les participants déclaraient eux-mêmes leur consommation (124). Ces erreurs de classement pourraient biaiser l'estimation de l'association entre l'exposition nutritionnelle et le vieillissement cognitif, et contribuer à une certaine discordance de résultats dans les études épidémiologiques. En mesurant objectivement le niveau d'exposition à un nutriment donné, les biomarqueurs de nutriments permettent de lever en partie ces limites, en prenant mieux en compte la variabilité intra et inter-individuelle de la biodisponibilité des nutriments et de leur métabolisme.

1.2.1.1. Les acides gras

Définition, biochimie et biodisponibilité

Les lipides, ou matières grasses présentes chez les êtres vivants, représentent jusqu'à 60% du poids du cerveau, d'autant que le cerveau est l'organe le plus riche en lipide après le tissu adipeux (125,126). Les acides gras en représentent les unités de base et sont formés d'une chaîne composée d'entre 12 et 22 atomes de carbone liés à des hydrogènes, la chaîne se terminant toujours par un groupe acide (COOH) d'un côté et d'un groupe méthyle de l'autre (CH₃). Il en existe trois types : les acides gras saturés (AGS, la chaîne de carbone est saturée en hydrogène et il n'y a que des liaisons simples), et polyinsaturés (AGPI, plusieurs doubles liaisons). Les AGPI sont ensuite divisés en plusieurs sous-familles, selon la position de la première double liaison depuis l'extrémité méthyle, les plus courantes chez l'homme étant les oméga-6 (n-6, double au niveau du 6^e carbone) et oméga-3 (n-3). La structure de chacun de ces acides gras détermine ses propriétés au sein de l'organisme. Les humains ne possédant pas les enzymes permettant l'introduction de la double liaison en position n-3 et n-6, les deux précurseurs de ces voies biochimiques (acide alpha-linolénique et linoléique) sont exclusivement apportés par l'alimentation.

La provenance alimentaire ainsi que les recommandations nutritionnelles des n-3 et n-6 AGPI sont résumées dans le **tableau 1**. Les précurseurs des acides gras sont apportés en grande partie par les huiles végétales, alors que les n-3 AGPI (acide

eicosapentanoïque [EPA] et acide docosahexaénoïque [DHA]) sont eux apportés par les poissons gras essentiellement. Les n-9 AGM, tel que l'acide oléique sont apportés par l'huile d'olive, les oléagineux et les avocats, entre autres, et aussi produits de manière endogène par l'organisme. Enfin, l'acide arachidonique, un n-6 AGPI, est quant à lui apporté par les produits animaux, comme les œufs, les abats, la volaille et la viande rouge.

Les AGPI jouent de nombreux rôles dans la physiologie humaine, ils sont aussi particulièrement importants dans le cadre du vieillissement cérébral, les AGPI étant constitutifs des membranes neuronales.

N-3 AGPI et vieillissement cérébral : études épidémiologiques

En ce qui concerne les biomarqueurs biologiques des n-3 AGPI, la plupart des études rapportent une association protectrice avec le vieillissement cognitif. Une étude réalisée en 2020 chez 1279 adultes âgés de plus de 65 ans de la cohorte française des trois cités (3C) a montré que l'augmentation d'un écart type de la concentration plasmatique d'EPA+DHA était significativement associée à une réduction de 12% du risque de démence, et à un moindre déclin cognitif (127). Une autre étude américaine incluant 2157 femmes âgées de plus de 65 ans a également montré qu'une plus grande concentration plasmatique d'EPA+DHA était significativement associée à un moindre risque de démence (128). Cependant, une méta-analyse n'a pas montré d'association significative entre la concentration plasmatique en EPA ou DHA et le risque de démence ou de MA (129). Dans cette même méta-analyse, il semblerait que l'apport alimentaire en AGPI totaux ait seulement été associée à un moindre risque de troubles cognitifs mineurs chez près de 160 000 participants âgés, mais pas au risque de démence ou de MA. Cependant, l'apport alimentaire en DHA serait associé à un moindre risque de démence, résultat qui n'a pas été retrouvé pour l'EPA dans cette étude.

Dans cette méta-analyse, la consommation de poisson, principale source de n-3 AGPI, était significativement associée au risque de démence et de MA chez plus de 23 000 participants. Une autre méta-analyse réalisée chez près de 23 000 participants également allait aussi dans le sens d'un effet protecteur de la consommation de poisson, et a montré qu'une plus grande consommation de poissons était associée à un déclin cognitif ralenti, que ce soit au niveau de la cognition globale ou de la mémoire (130).

Les résultats d'essais cliniques randomisés testant l'efficacité d'une supplémentation en n-3 AGPI sur les performances cognitives sont assez décevants. Deux méta-analyses réalisées en 2020 suggèrent que la supplémentation pourrait avoir un léger effet bénéfique sur la mémoire et certaines fonction cognitives mais pas sur la cognition globale (129,131). De la même façon, l'essai multi-domaines MAPT, terminé en 2017, n'a pas montré d'effet d'une supplémentation en DHA et EPA, combinée ou non avec une intervention multi domaine (combinant entraînement cognitif, activité physique, conseils en nutrition et gestion de la santé cardiovasculaire) sur le déclin cognitif chez 1680 participants âgés de plus de 70 ans, pendant 3 ans (9). Pour autant, dans cet essai, des analyses post-hoc par sous-groupe montrent que la supplémentation (combinée ou non avec l'intervention multi-domaine) était associée à un moindre déclin cognitif chez les porteurs APOE4 (alors que ce n'était pas le cas chez les non porteurs), et chez les participants avec des concentrations érythrocytaires en EPA et DHA faible au début de l'intervention (et non chez les personnes avec une concentration normale).

1.2.1.2. Les vitamines B

Définition, biochimie et biodisponibilité

Le groupe des vitamines B est composé de 8 vitamines (B1 : thiamine ; B2 : riboflavine ; B3 : niacine ; B5 : acide pantothénique ; B6 : pyridoxine ; B7 : biotine ; B9 : folate ; B12 : cobalamine), possédant des structures et des fonctions variées, et ne partageant que leur propriété hydrosoluble. Elles servent de cofacteurs enzymatiques et sont nécessaires à la vie cellulaire. Elles sont impliquées dans le bon maintien de la peau et du système immunitaire mais aussi du système nerveux. Les vitamines B6, B9 et B12 sont les vitamines les plus étudiées en lien avec le vieillissement cellulaire, et sont presque toujours étudiées conjointement dans ce cadre. Il a été montré que leur présence dans l'organisme permettrait une diminution du taux d'homocystéine circulant, dont l'implication dans la démence et les maladies cardiovasculaires est fortement suggérée (132–134).

Les sources alimentaires des vitamines B sont très variées (**Tableau 1**). La vitamine B6 provient des céréales complètes et de certains oléagineux, les folates viennent surtout des légumes verts et la vitamine B12 des produits animaux - laitiers, viande, poisson. Seule une alimentation variée et équilibrée permet d'apporter les

quantités nécessaires de vitamine B pour le bon fonctionnement de l'organisme. Certains pays, tels que les Etats-Unis et l'Australie, appliquent une politique de fortification des farines en vitamine B, dans le but de prévenir du développement de la spina-bifida (malformation à la naissance) lors de la grossesse. De plus, une partie des vitamines B peuvent être produites et transformées par le microbiote intestinal (135).

Vitamines B et vieillissement cérébral : études épidémiologiques

Les vitamines B représentent l'un des groupes de nutriments les plus étudiés avec le vieillissement cérébral. Parmi les trois vitamines B d'intérêt, ce sont les folates (B9) qui ont montré le lien le plus robuste avec le risque de démence et de MA (129,136–140).

Les résultats sont cependant assez contradictoires, comme le montre une méta-analyse incluant 21 études, longitudinales pour la plupart (141). Une association inverse significative a été trouvée entre des concentrations plasmatiques plus élevées en vitamine B12 et la prévalence de la démence, mais seulement dans les études transversales, aucun lien n'ayant été retrouvé avec l'incidence de la démence. Quand l'exposition était estimée par l'apport alimentaire (mesuré à partir de questionnaires alimentaires de type FFQ et rappel des 24h), l'apport alimentaire en vitamine B12 n'était pas associé avec le vieillissement cognitif. Le même résultat a pu être observé avec les folates : un lien avec la démence a été retrouvé dans cette méta-analyse mais seulement quand les études transversales étaient prises en compte, et uniquement en considérant le biomarqueur sanguin et non l'apport alimentaire déclaré par les participants. Enfin, la vitamine B6 ne serait pas associée avec le risque de démence, que ce soit en prenant en compte le biomarqueur sanguin ou l'apport alimentaire.

Ces résultats contradictoires pourraient en partie être expliqués par de grandes différences entre différentes origines géographiques, n'ayant pas la même consommation de vitamines B9, du fait notamment de la politique de fortification des farine aux USA.

Les résultats sont plus encourageants, même si toutefois assez modérés, dans les études d'intervention, selon une méta-analyse comprenant 14 études incluant en tout 6155 participants, s'intéressant à l'effet de la supplémentation en vitamines B sur les changements dans les scores au Mini-Mental State Examination (MMSE, score cognitif aidant au diagnostic de la démence) chez les personnes âgées (142). Selon cette méta-analyse, une supplémentation en vitamines B serait associée à un effet bénéfique

sur les fonctions cognitives par rapport au placebo. Cette association est surtout retrouvée dans les 8 études où le groupe placebo présentait également un certain déclin cognitif au cours de l'étude, témoignant de l'association entre vitamines B et diminution du déclin cognitif plutôt que l'amélioration des fonctions cognitives. Aussi, les changements cognitifs étaient surtout observés dans les études où le temps de suivi était supérieur à 12 mois.

1.2.1.3. La vitamine D

Définition, biochimie et biodisponibilité

La vitamine D, ou calciférol, est une vitamine liposoluble dérivée des stérols. Elle est trouvée sous deux formes, la D2 ou ergocalciférol d'origine végétale et la D3 ou cholécalciférol, qui sont majoritairement produites de manière endogène par la peau sous l'action des rayons ultraviolets du soleil (80% de la vitamine D circulante). Elle est aussi retrouvée dans certains aliments d'origine animale tels que les poissons gras (**Tableau 1**). Ces deux formes sont ensuite converties en 25-hydroxyvitamine D (25(OH)D) qui est à l'origine de la forme active de la vitamine D dans l'organisme : le 1,25-dihydrovitamine D (1,25(OH)₂D). La mesure de la vitamine D se fait généralement avec la mesure du taux de 25(OH)D circulant dans le sang.

Sans biosynthèse, la recommandation nutritionnelle en apport de vitamine D par l'alimentation serait de 15 µg/j ce qui semble inatteignable seulement par l'alimentation, avec un apport alimentaire moyen journalier chez les adultes français de 3.1 µg/j (143). Ainsi, une exposition de 15-20 min par jour au soleil est conseillée pour atteindre un niveau circulant de vitamine D suffisant dans le sang (143). L'organisation mondiale de la santé (OMS) a défini l'insuffisance en vitamine D par un taux plasmatique à 50 nmol/L et à 30 nmol/L pour la carence. Ainsi, une grande partie de la population présenterait une insuffisance en vitamine D, avec 35% des adultes français de plus de 18 ans et 80% des plus de 65 ans (144,145). Ces seuils ont été défini dans le contexte de la santé osseuse, et sont débattus dans le contexte de la santé cognitive. Un seuil de 25 nmol/L a cependant été suggéré pour un vieillissement cérébral optimal (145,146)

Vitamine D et vieillissement cérébral : études épidémiologiques

La 25(OH)D est une des molécules les plus étudiées en lien avec la démence et les troubles cognitifs associés. De nombreuses études rapportent une association significative entre des taux circulants élevés et un moindre risque de démence.

Une méta-analyse incluant 10 études de cohorte et près de 28 640 participants a montré une association inverse entre la 25(OH)D circulante et le risque de démence et de MA, avec une relation dose-réponse linéaire (147). Les auteurs ont montré qu'à chaque augmentation de 10 nmol/L de 25(OH)D était associée à une baisse moyenne de 5% du risque de démence (95% IC 0.93-0.98), et de 7% du risque de MA (95% IC 0.89-0.97). De la même façon, deux autres méta-analyses incluant respectivement 5 études de cohorte et 12 études de cohorte + 4 études transversales montrent que le risque cumulé de démences toutes causes et de MA était significativement plus grand chez les personnes présentant une insuffisance en 25(OH)D (taux plasmatique < 50 nmol/L) par rapport aux personnes sans insuffisance (148,149). L'association était encore plus grande en comparant les personnes avec une carence forte (<25 nmol/L) et les personnes sans carence.

Malgré les résultats des études d'observation très encourageants, les études d'intervention sont une fois de plus décevantes, une méta-analyse incluant 9 études d'intervention sur 2345 participants ne montrant pas d'effet significatif d'une supplémentation en vitamine D sur le vieillissement cognitif (évaluée par le MMSE, la fluence verbale, la mémoire verbale, et des scores d'attention) (150).

1.2.1.4. Les caroténoïdes

Définition, biochimie et biodisponibilité

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles qui donnent leur couleur jaune, orange, rouge ou verte aux fruits, légumes et algues. Plus de 700 caroténoïdes peuvent être retrouvés dans la nature, mais seulement une cinquantaine sont présents dans l'alimentation humaine, et 18 uniquement sont mesurables dans les tissus humains. Ils sont répartis dans deux familles biochimiques, les carotènes, non polaires (précurseurs de la vitamine A), et les xanthophylles, polaires, dérivés des carotènes. Les plus courants dans chaque famille sont l' α -carotène, le β -carotène, le lycopène pour les carotènes, et la lutéine, la zéaxanthine ou bien même la β -cryptoxanthine pour les

xanthophylles (151). Les animaux et les humains sont incapables de synthétiser ces composés, et leur apport via une alimentation végétale est nécessaire (**Tableau 1**). Les voies métaboliques des caroténoïdes suivant celle des lipides, leur biodisponibilité dépend beaucoup des taux de triglycérides et cholestérols circulants (152).

Les carotènes et xanthophylles ont des propriétés antioxydantes intéressantes dans le contexte du vieillissement cérébral, et ils ont pour la plupart la propriété de passer au travers de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et de s'accumuler dans les lobes frontaux et occipitaux du cerveau (153).

Caroténoïdes et vieillissement cérébral : études épidémiologiques

Plusieurs études montrent un lien entre la concentration plasmatique en caroténoïdes ainsi que leur apport alimentaire avec le risque de démence et de MA, mais les résultats divergent quant à l'espèce de caroténoïde associée. Par exemple, une analyse menée dans la *National Health and Nutrition Examination Surveys* incluant 7283 américains âgés de 45 à 90 ans à l'inclusion et suivis près de 26 ans, montre que la concentration sérique de la combinaison de lutéine et zéaxanthine était associée à un risque réduit de démence toute cause, de 7% pour l'augmentation d'un écart type de cette concentration (154). Il a également été rapporté une association inverse entre la β -cryptoxanthine sérique et le risque de démence toute cause. De façon similaire, une étude réalisée en 2021 chez 927 participants de la cohorte *Rush Memory and Aging Project* montre qu'un apport alimentaire élevé en lutéine + zéaxanthine était associé à un moindre risque de démence, et rapporte une association également significative pour le β -carotène (155). Cette même étude retrouve également un risque de démence divisé par deux chez les grands consommateurs de caroténoïdes totaux par rapport aux faibles consommateurs. Cependant, une étude réalisée dans la cohorte 3C chez 1092 français âgés de plus de 65 ans ne rapportait une association significative qu'entre la lutéine et les caroténoïdes totaux (divisés par les taux de cholestérol et triglycérides) et le risque de démence toute cause et de MA, mais pas avec les autres caroténoïdes considérés de manière individuelle (156).

Les résultats d'études d'intervention, même si peu nombreuses et effectuées sur des temps courts, laissent un message optimiste, la plupart montrant qu'une supplémentation en caroténoïdes pourrait améliorer les performances cognitives chez les personnes âgées de 45 à 78 ans, d'après une méta-analyse incluant 4402 participants de 9 études d'intervention (157). De plus, à notre connaissance, aucun

essai clinique n'a encore été réalisé pour tester l'effet d'une supplémentation en caroténoïde sur l'incidence de la démence.

1.2.1.5. Les polyphénols

Définition, biochimie et biodisponibilité

Les polyphénols représentent une famille de plus de 500 molécules organiques, comprenant au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, largement présents dans le règne végétal. Ils ne peuvent pas, pour la plupart, être absorbés directement par l'intestin, et nécessitent une hydrolyse préalable par les enzymes intestinales ou le microbiote. Plusieurs sous-familles sont retrouvées, telles que les acides phénoliques, largement majoritaires (acides hydroxycinnamiques et hydroxybenzoïques par exemple), les flavonoïdes (catéchines, proanthocyanidines, tannins, flavanones, isoflavones...), les stilbènes ou encore les lignanes.

Les polyphénols sont retrouvés essentiellement dans les produits végétaux, tels que les boissons type thé et café, vin rouge, mais aussi dans les produits céréaliers, les fruits et les légumes (**Tableau 1**). Ils représentent les antioxydants les plus abondants de l'alimentation, avec une consommation de l'ordre de 1g/j, ce qui représente 100 fois l'apport moyen en caroténoïdes (158). Ils sont pour la plupart capables de traverser la BHE et de s'accumuler dans le tissu cérébral avec des actions neuro et vasoprotectrices.

Polyphénols et vieillissement cérébral : études épidémiologiques

La plupart des études s'intéressant à l'association entre polyphénols et vieillissement cérébral se sont concentrées sur les consommations alimentaires de polyphénols, les biomarqueurs étant difficilement mesurables du fait de leur courte demi-vie et la haute variabilité de leur concentration dans le sang (159). Plusieurs études se sont surtout concentrées sur l'apport alimentaire en flavonoïdes, et ont montré qu'une consommation élevée était associée à un risque diminué de déclin cognitif, notamment dans les études françaises 3C et PAQUID. (160,161). De la même façon, leur consommation a aussi été mise en évidence comme significativement associée à une meilleure performance cognitive dans l'étude française SU.VI.MAX (162), et aussi à un moindre déclin cognitif et à un vieillissement en meilleure santé dans certaines études américaines (163–165). Une étude réalisée dans la cohorte 3C

chez 1329 sujets âgés français a montré que les participants avec une grande consommation d'un certain profil de polyphénols, comprenant des flavonoïdes, des stilbènes, des lignanes et certaines autres sous-classes avaient un risque diminué de moitié de développer une démence par rapport à ceux ayant une faible consommation de ce profil (166). Cependant, plusieurs études transversales et prospectives ne rapportent pas d'association significative entre consommation de polyphénols et vieillissement cérébral (167).

Plusieurs études d'intervention ont été conduites, mais elles incluaient souvent de petits échantillons de moins de 50 participants et ne duraient que quelques mois. Ainsi, des effets bénéfiques ont été retrouvés sur les fonctions cognitives de personnes âgées après supplémentation en boissons enrichies en anthocyanines et tannins, en flavanones ou en flavanols (168–173). Le peu d'essais cliniques qui ont été réalisés sur une plus grande durée ne montrent pas d'effet significatif sur les performances cognitives, que la supplémentation soit composée d'isoflavonoïdes, de curcumine, d'épigallocatechines ou de resvératrol (174–177). L'heure actuelle, aucun essai de supplémentation n'a utilisé l'incidence de la démence comme critère d'évaluation.

La communauté scientifique en épidémiologie nutritionnelle s'est donc beaucoup intéressée par le passé à certaines familles clés de nutriments comme certains acides gras, certaines vitamines telle la vitamine D (mais aussi les vitamines C et E, non intégrées dans le cadre de cette thèse), les caroténoïdes ou les polyphénols. Les études montrent des résultats encourageants, même si le niveau de preuve est encore modéré. En effet, les études d'observation ne sont pas consensuelles, et les résultats des essais cliniques de supplémentation ont été décevants. Ce manque de consensus n'est pas forcément imputable à une absence d'effet de ces composés, mais pourrait aussi être lié à des déficits de méthodologie. En particulier, le fait que cette approche consistant à ne regarder les nutriments que de manière isolée peut être perçue comme assez réductionniste : l'alimentation est une exposition complexe, et une approche plus globale par profils de consommation d'aliments ou de nutriments pourrait être plus pertinente.

1.2.2. Approche par profils

Rationnel scientifique

Présentant de nombreux avantages, l'approche par profils est devenue une analyse standard en épidémiologie nutritionnelle (178). Les aliments (et les nutriments les composant) sont consommés en association : les individus ne mangent pas de nutriments isolés, les repas comprennent une variété d'aliments offrant des combinaisons complexes. Leurs effets peuvent s'antagoniser ou se potentialiser, et la plausibilité biologiques de ces interactions est étayée par de nombreux exemples. Il a été montré qu'en présence de vitamine C, l'absorption du fer était meilleure du fait de l'effet de cette vitamine sur l'acidité de l'estomac (179,180), ou encore que les graisses alimentaires, et plus particulièrement le rapport AGM/AGPI, augmentaient l'absorption de la vitamine D (181). Dans le cadre du vieillissement cérébral, les composés antioxydants comme les caroténoïdes pourraient diminuer la peroxydation (dégradation) des n-3 AGPI dans les membranes neuronales (182). Aussi, du fait de la forte intercorrélation entre certains nutriments, il est parfois difficile de les étudier de manière séparée. De plus, l'effet de certains nutriments seuls pourraient être trop faible pour être détectable dans les études d'observation, et leurs effets cumulés pourraient rendre l'effet assez grand pour être détectable. Ainsi, l'étude par profil suscite un intérêt croissant en épidémiologie nutritionnelle et semble être une stratégie efficace pour étudier l'association entre nutrition et vieillissement cérébral.

Approches méthodologiques

Dans l'étude de la nutrition par profils, deux approches complémentaires sont communément employées : les approches *a priori* et *a posteriori*. D'un côté, l'approche *a priori* détermine des profils nutritionnels sur la base des connaissances existantes, des recommandations alimentaires ou bien même d'hypothèses biologiques sous-tendant le lien entre certains aliments/nutriments et la pathologie d'intérêt. Elle est surtout utilisée à l'échelle des aliments, et mise en oeuvre par la construction de scores composites évaluant dans quelle mesure les consommations alimentaires correspondent au profil alimentaire prédéterminé *a priori* (profil méditerranéen ou profil nordique, par exemple). D'un autre côté, l'approche *a posteriori*, exploratoire, ne part d'aucune hypothèse fixée, et détermine les profils de consommations alimentaires ou les apports en nutriments, sur la base des données existantes dans la population d'étude, en exploitant par exemple les corrélations entre les variables

nutritionnelles. Ces approches font souvent appel à des méthodes statistiques dites non-supervisées, qui cherchent des variables composites résumées (dans le cas de l'analyse en composante principale (ACP)) ou encore procèdent à des regroupements ou clusters d'individus (dans le cas du clustering), autrement interprétés comme des « profils », sans s'aider d'aucune tierce variable pour l'identification des variables composites ou des clusters. En appliquant ces méthodes aux données nutritionnelles, on obtient ainsi des profils nutritionnels les plus typiques de la population étudiée (sans pour autant que ceux-ci soient prédicteurs de l'évènement de santé d'intérêt, qui n'intervient pas dans la décision). A l'intersection entre les approches a priori et les approches a posteriori purement exploratoires (non supervisées), il est également possible de mettre en œuvre des méthodes dites supervisées, semi-exploratoires, intégrant dans la détermination de ces profils une variable réponse d'intérêt, qui peut être un évènement de santé ou toute autre variable d'intérêt. Les méthodes *Partial Least square* (PLS) ou de régression pénalisée tel que la régression *LASSO* font partie de cette famille de méthodes. L'approche exploratoire est beaucoup utilisée pour l'étude de profils de biomarqueurs et d'apports en nutriments.

1.2.2.1. Profils de nutriments

Nous nous intéresserons dans cette thèse aux profils de nutriments déterminés *a posteriori*, de façon exploratoire, qui représentent la majorité des études publiées sur le sujet.

Etudes d'observation

Utilisant des méthodes non supervisées, plusieurs études d'observation se sont intéressées à la détermination de profils de nutriments et à leur association avec le vieillissement cognitif chez les personnes âgées et sont présentées dans le **tableau 2** (183–193).

La plupart de ces études se fondent sur les apports alimentaires en nutriments estimés grâce à des questionnaires alimentaires de type rappel de 24h ou FFQ et de tables de compositions alimentaires. De manière transversale, les études montrent que des profils riches en apport d'AGPI et leurs précurseurs, ainsi qu'en différentes vitamines et en fibres, étaient associés à de meilleures performances cognitives de manière globale (184–186,193), mais que des profils riches en AGS, AGM et AG trans (trouvant leurs sources dans les aliments transformés pour la plupart), ainsi qu'en

glucides et protéines étaient eux associés à de moins bonnes performances cognitives (185,186,193). Ces résultats n'étaient cependant pas retrouvés quand les performances cognitives étaient estimées de façon longitudinale (suivi de près de 4 ans et 9 ans) (186,193). De la même façon, les études s'intéressant aux marqueurs IRM tels que les volumes cérébraux ou les hypersignaux de la substance blanche (HSB) en parallèle des performances cognitives ont estimé des profils « protecteurs » par de fortes consommations de vitamines B, n-3 et n-6 AGPI, fibres et autres vitamines, et des profils plutôt « délétères » par une forte consommation d'AGS, AGM, AG trans et en cholestérol (184,185). Toujours en s'intéressant à l'apport alimentaire en nutriments, de manière longitudinale, une seule étude montre que des profils de nutriments témoignant d'une alimentation d'origine végétale (riche apport en fibres, potassium, vitamines, β -carotène et pauvre en AGS et AGM) ou animale (haut apport en protéines totales, cholestérol, phosphate, vitamines B et D) étaient associés à un moindre déclin cognitif chez 250 sujets suivis près de 9 ans, alors qu'un profil témoignant d'une consommation élevée en produits laitiers (profil défini par un apport élevé en protéines, disaccharides, phosphate, calcium, sélénium et vitamines B) était associé à un déclin cognitif plus marqué (187).

Comme évoqué précédemment, les nutriments peuvent aussi être mesurés sous forme de biomarqueurs circulants dans le sang, afin de prendre en compte la variabilité de biodisponibilité et de métabolisme et de minimiser les biais de classement observés avec les enquêtes. Cette approche est un peu moins utilisée en pratique dans le domaine des profils. Cependant, quelques études ont déterminé des profils de biomarqueurs nutritionnels. De manière transversale, dans 4 études, des profils associés à des niveaux circulants plus élevés en différentes vitamines, caroténoïdes et AGPI étaient associés à de meilleures performances cognitives (189–192). Dans la cohorte 3C, une étude menée chez 666 personnes âgées suivies pendant près de 12 ans a identifié un profil de biomarqueurs circulants à l'inclusion constitué d'une plus faible concentration plasmatique en vitamine D, en caroténoïdes et en n-3 AGPI et d'une plus haute concentration en AGS associé à un risque plus élevé de développer une démence. Les individus dans le dernier quintile de ce profil avaient un risque multiplié par 4 de développer une démence lors du suivi, par rapport aux individus appartenant au plus faible quintile (192).

En résumé, la détermination de profils de nutriments a été principalement faite au moyen de méthodes non supervisées comme l'ACP, et reposait sur des mesures nutritionnelles de type apports alimentaires, associées à des biais de classement potentiels. L'utilisation de biomarqueurs nutritionnels permet de s'affranchir de ces limites, mais les études combinant les biomarqueurs de nutriments sous la forme de profils sont encore peu nombreuses. Les profils étaient déterminés dans différentes populations par méthodes exploratoires non supervisées, dont le résultat dépend entièrement des données à partir desquelles ils sont estimés, c'est pourquoi la littérature rend compte de résultats assez hétérogènes entre les populations. Ainsi, même si la détermination de profils nutritionnels pour la prévention du vieillissement cognitif est prometteuse, la combinaison optimale reste encore à déterminer.

Tableau 2 : Etudes d'observation de profils de nutriments estimés a posteriori et vieillissement cognitif chez les sujets âgés

Auteur, journal, année (Référence)	Pays, nom de l'étude, schéma	Echantillon : Effectif, âge moyen et durée de suivi si applicable	Critères dévaluation Méthode de détermination des profils	Résultats : Profils	Résultats principaux d'association avec le critère d'évaluation
Estimation des apports en nutriments via des questionnaires alimentaires					
Gu Y. et al., Ann Neurol 2016 (184)	USA, WHICAP, Transversal	N = 239 84 ans	Fonctions cognitives (tests neuropsychologiques) HSB (IRM) Non supervisé, ACP	6 profils : (1) Vitamines A et C et caroténoïdes (2) Vitamines B et E et fer (3) Vitamines B2 et D et calcium (4) AGS, AGM, cholestérol, carbohydrates (5) Protéines, cholestérol, vitamines B3 et B6 (6) AGPI n-3 et n-6 et vitamine E	Profil (6) associé à meilleure HSB et à de meilleures performances cognitives dans tous les domaines
Gu Y. & al, Curr. Alz. Res. 2018 (185)	USA, WHICAP, Transversal	N = 330 79 ans	Fonctions cognitives (tests neuropsychologiques) Volumes cérébraux et HSB (IRM) Supervisé, RRR	Un profil lié à deux marqueurs d'inflammation grâce à une méthode RRR (CP et IL6), définit par des apports réduits en Vitamines D, E A B1, B2, B3, B5, B6, folates, n-3 AGPI et des apports élevés en cholestérol	Profil associé à diminution des performances aux tests de fonction visuospatiale et de plus faibles volumes cérébraux (taux, SG et SB), mais pas associé aux HSB
Alles B. et al, Nutrients, 2019 (194)	Canada et France, NuaGE et 3C, Cohortes	NuaGE : N=1439 74 ans (suivi moyen de 2.9 ans) 3C : 1388, 76 ans (suivi moyen de 4.5 ans)	Déclin cognitif (MMSE) Non supervisé, ACP	3 profils communs aux deux cohortes : (1) "Sain" : glucides, fibres, magnésium, potassium, fer, carotène et vitamines C, E et B6 (2) "Occidental" : protéines, lipides (AGS, AGM, n-6 AGPI) (+ calcium, phosphore, magnésium et vitamine D et folates dans NuaGE) (3) "Traditionnel" : vitamines A et B12 (+ zinc dans NuaGE et folates dans 3C)	Dans NuaGE : pas d'association entre aucun des profils et le déclin cognitif Dans 3C : Profil sain associé à des scores cognitifs plus hauts à l'inclusion et profil occidental à des scores plus bas à l'inclusion, mais aucun profil associé aux pentes de déclin cognitif.
Prinelli & al, Clinical nutrition, 2018 (187)	Suède, SNAC-K, Cohorte	N=250 71 ans (suivi maximal de 9 ans)	Déclin cognitif (batterie de tests neuropsychologiques) Non supervisé, ACP	4 profils (1) Végétal : apports élevés en fibres, monosaccharides, potassium, magnésium, vitamines C, B1, B6, E acide folique, et en bêta-carotène et faibles en AGS et AGM (2) Animal : apports élevés en protéines totales, cholestérol, phosphate, sodium, sélénium, vitamine B3, B12, D et en zinc et faible en disaccharides (3) Produits laitiers : apports élevés en protéines, disaccharides, phosphate,	Profils d'alimentation d'origine végétale et animale associés à un moindre déclin cognitif, mai profils produits laitiers associé à un plus grand déclin

Auteur, journal, année (Référence)	Pays, nom de l'étude, schéma	Echantillon : Effectif, âge moyen et durée de suivi si applicable	Critères dévaluation Méthode de détermination des profils	Résultats : Profils	Résultats principaux d'association avec le critère d'évaluation
				calcium, sélénium et vitamines B2 et B12 (4) Graisses : cholestérol, AGS, AGM, AGPI et vitamines K et E	
Richard et al, Nutrient, 2018 (193)	USA, RBS, Cohorte	N=1499 73 ans (suivi moyen de 9 ans)	Déclin cognitif (batterie de tests neuropsychologiques) Non supervisé, ACP	6 profils (1) Céréales fortifiées : vitamines B1 et B6, folates, fer, zinc (2) Fruits et légumes : fibres, β -carotène, Vitamine C (3) Animal : AGS, cholestérol, ac. arachidonique, Vitamine B12 (4) Produits laitiers : lactose, calcium et Vitamine D (5) Précurseurs n-3 et n-6 AGPI et Vitamine E (6) Sucre et peu de protéines	Profil (5) associé à de meilleures performances cognitives globales à l'inclusion Profil (6) associé à de moins bonnes performances cognitives (globale et fluence verbale) Aucun profil associé au déclin cognitif
Estimation des niveaux biologiques en nutriments par des biomarqueurs					
Bowman et al, Neurology, 2012 (189)	USA Oregon brain aging study Transversal	N=104 84 ans	Fonctions cognitives (tests neuropsychologiques) Volumes cérébraux (IRM) Non supervisé, ACP	8 profils (1) Vitamines B, C, D et E (2) AGS (3) Caroténoïdes (4) Cholestérol (5) n-3 AGPI marins (6) n-6 AGPI et rétinol (7) Lutéine et HDL cholestérol (8) AG trans (linolélaïdique)	Profil (1) associé à de meilleures fonctions cognitives globales, surtout dans les domaines de l'exécution, de l'attention et de la fonction visuospatiale et à un plus grand volume cérébral total Profil (8) associés à de moins bonnes performances cognitives (mémoire, attention, langage, vitesse de traitement, et globale) Profil (5) associé à de meilleures performances dans les fonctions exécutives Profil (7) associé à une meilleure mémoire Profil (6) associé à de moins bonnes performances dans les domaines du langage et de la mémoire

Auteur, journal, année (Référence)	Pays, nom de l'étude, schéma	Echantillon : Effectif, âge moyen et durée de suivi si applicable	Critères d'évaluation Méthode de détermination des profils	Résultats : Profils	Résultats principaux d'association avec le critère d'évaluation
Zamroziewicz et al., NeuroImage, 2017 (190)	USA Carle fondation Hospital transversal	N=99 69 ans	Cognition globale (Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence) Réseaux fonctionnels cérébraux (IRM fonctionnelle) Non supervisé, ACP	4 profils de lipides, AGS et AGM (1) 14:0, 15:0, 16:0, 16:1n-7 (2) 20:0, 22:0, 24:0, 24:1n-9 (3) 10:0, 14:1, 22:1n-9 (4) 16:1n-9, 18:1n-9, 20:1n-9, 18 1n-7	Profil (4) associé à meilleure cognition globale et à une meilleure connectivité fonctionnelle cérébrale
Amadiou C. et al., Alzheimers dement., 2017 (192)	France 3C, Cohorte	N=666 73 ans (suivi médian de 11.6 ans)	Incidence de la démence Supervisé, PLS-Cox	2 profils : (1) Concentration plus élevée en alpa-tocophérol, AGS (acides myristiques et palmitique) et concentration plus faible de vitamine D, caroténoïdes et n-3 AGPI (acides arachidoniques et linoléiques) (2) Concentration plus élevée en AGPI et en lycopène et faible concentration de vitamine D et en AGS	Les deux profils étaient significativement associés à un risque élevé de démence
Zwilling & al., NeuroImage, 2019 (191)	USA Illinois Brain Agng study transversale	N=116 69 ans	Fonctions cognitives (batterie de tests neuropsychologiques) réseaux fonctionnels cérébraux (IRM fonctionnelle) Non supervisé, AC''P	10 profils (1) n-6/n-3 AGPI (2) Lycopène (3) n-6 AGPI (4) n-3 AGPI (5) Caroténoïdes (6) Carotène (7) Vitamines B et D (8) AGM/AGS (9) Vitamines A et B (10) Vitamine B6	Relation significative pour 6 des profils avec les fonctions cognitives (1) associé de façon positive avec deux mesures de mémoires (2) associé de façon positive avec 3 mesures de mémoire (4) associé de façon positive avec 3 mesures de fonctions exécutives (5) associé de façon positive avec deux mesures d'intelligence (8) associé de manière négative avec de mesures des fonctions exécutives 5 des profils étaient associés à de meilleurs réseaux fonctionnels cérébraux : (3), (4), (6), (7), (8)

Abréviations - CP : créatine phosphate ; HSB : hypersignaux de la substance blanche ; IRM : Imagerie à résonance magnétique ; IL6 : interleukine 6 ; MMSE : *Mini-mental state examination* ; TEP : Tomographie à émission de positons.

Etudes d'intervention

Les essais cliniques testant l'efficacité de supplémentation de combinaison de divers nutriments sur le vieillissement cérébral n'ont été jusqu'à présent que peu concluants. En effet, des essais effectués de 6 mois à 8 ans combinant vitamines antioxydantes (B et D) et minéraux n'ont pas montré d'effet sur les performances à différents tests cognitif incluant la mémoire (195–197). Il en est de même pour des combinaisons de vitamines B et de n-3 AGPI, ne montrant pas de bénéfices sur la cognition chez les personnes âgées (198).

Il y a une dizaine d'années, le complément alimentaire Souvenaid® est développé (composé de n-3 AGPI, de minéraux et de vitamines antioxydantes sous forme de boisson) dans le but d'améliorer la cognition, ou du moins retarder le déclin cognitif chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Elle a d'abord été testée dans 2 essais cliniques, et semblait efficace pour améliorer la mémoire de patients à des stades légers de MA (199,200). Il ne montrait cependant pas d'efficacité sur l'amélioration de la mémoire des patients atteints d'une MA à des stades plus avancés, et traités par les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase ou par la mémantine (201). En suivant, l'essai LipiDiDiet ne montrait pas d'effet de cette boisson sur le déclin cognitif chez des patients au stade prodromal de la MA, mais montrait néanmoins un effet positif sur la réduction de l'atrophie hippocampique (202).

Des essais cliniques randomisés en double aveugle récents n'ont pas montré de résultats plus convaincants. Par exemple, l'essai clinique VITAL n'a pas montré de bénéfice d'une supplémentation de 2 à 3 ans en n-3 AGPI et en vitamine D sur les performances cognitives de plus de 4000 personnes âgées de plus de 60 ans (203). Aussi, l'essai PONDER, testant l'efficacité d'une intervention multi-domaine couplée à une supplémentation en n-3 AGPI, vitamine D et enrichie en protéine n'a pas montré de bénéfices sur les fonctions cognitives de 147 sujets âgés de 70 ans en moyenne avec des troubles de la mémoire (204).

Importance du statut basal nutritionnel

L'échec des essais cliniques peut être dû, entre autres, au fait que la grande majorité des études ont été implémentées pour tester l'hypothèse qu'une supplémentation serait efficace quel que soit le statut nutritionnel basal des individus. Or, lorsque les niveaux moyens d'apport en nutriments dans une population sont déjà optimaux, il est probable qu'un apport additionnel n'apporte pas de bénéfice

supplémentaire. En effet, un principe en nutrition soutient que beaucoup de nutriments ont un effet sur la santé de type « U inversé » (**Figure 6**) (205). De bas niveaux de nutriments étant associés à une plus mauvaise santé, les fonctions physiologiques atteignent un niveau optimal pour un certain niveau circulant de nutriments. Ce niveau une fois dépassé, une supplémentation ne donnerait pas de bénéfice supplémentaire, et pour certains nutriments, un taux circulant trop élevé deviendrait même toxique (205).

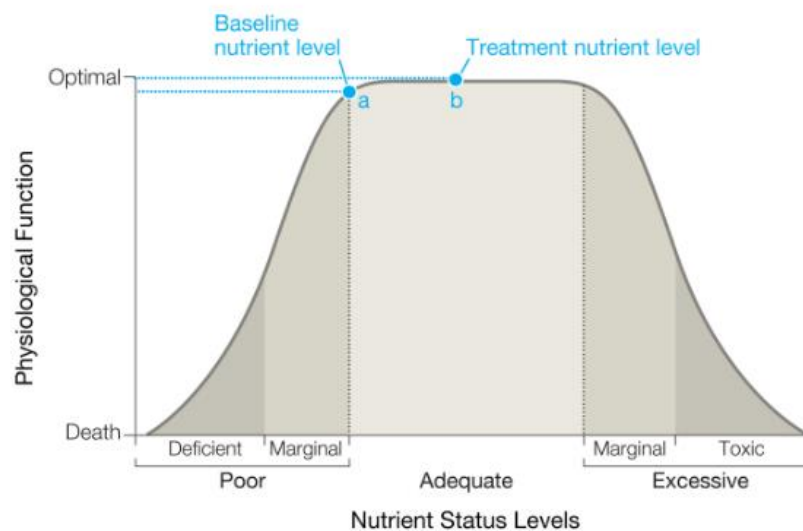


Figure 6 : Relation entre le statut biologique en nutriment et les fonctions physiologiques

Pour les individus qui ont déjà un niveau en nutriment nécessaire au fonctionnement optimal (point a), une supplémentation (point b) ne donnerait pas de bénéfice supplémentaire.

Issue de *M.C. Morris & C. Tangney, JAMA, 2012* (205)

Dans l'essai multi-domaines *Multidomain alzheimer preventive trial* (MAPT) comprenant une supplémentation en n-3 AGPI pendant 3 ans chez des personnes âgées fragiles de plus de 70 ans, un déclin cognitif plus important a été observé chez les participants ayant de faibles concentrations en n-3 AGPI érythrocytaires à l'inclusion, en comparaison aux participants ayant des concentrations basales plus élevées. De plus, même si cet essai ne montrait pas de bénéfice de cette supplémentation dans la population entière, la tendance d'amélioration était plus nette, même si toujours non significative, chez les patients avec le statut basal en n-3 AGPI faible (9). De la même façon, dans l'étude *Women's antioxidant and folic acid cardiovascular study*, une supplémentation d'une combinaison de vitamines B sur 5

ans chez des professionnelles de santé à risque de maladie cardiovasculaire n'a pas retardé le déclin cognitif dans la population totale, mais une préservation de la cognition était observable chez les femmes avec un statut basal en vitamines B faible (206).

Aussi, dans une étude post-hoc de l'essai clinique MAPT, un score nutritionnel plasmatique basal a été proposé, développé chez 712 personnes de l'essai MAPT sur la base de mesure biologique de 3 biomarqueurs sanguins effectuées à l'inclusion de l'étude : les n-3 AGPI érythrocytaires, la 25(OH)D sérique et l'homocystéine plasmatique (207) ; des niveaux sous-optimaux en chacun de ces biomarqueurs étaient traduits en « risque nutritionnel ». Les participants sans carence avaient des niveaux cognitifs supérieurs à l'inclusion, et chaque risque nutritionnel en plus à l'inclusion était associé à un déclin cognitif significativement plus grand durant les 3 ans de suivi.

A l'issue cet état de l'art sur les profils de nutriments, nous pouvons faire le constat que les études observationnelles, le plus souvent issues de méthodes exploratoires, sont relativement disparates. En l'état actuel des connaissances, il n'est pas facile de reproduire les résultats dans d'autres études d'observation ni de les transférer en clinique pour améliorer la caractérisation des populations incluses dans les essais, par exemple. En effet, l'état de l'art des études d'intervention montre que le statut basal nutritionnel, qui semble pourtant essentiel à l'efficacité d'une supplémentation, n'a pas été assez pris en compte.

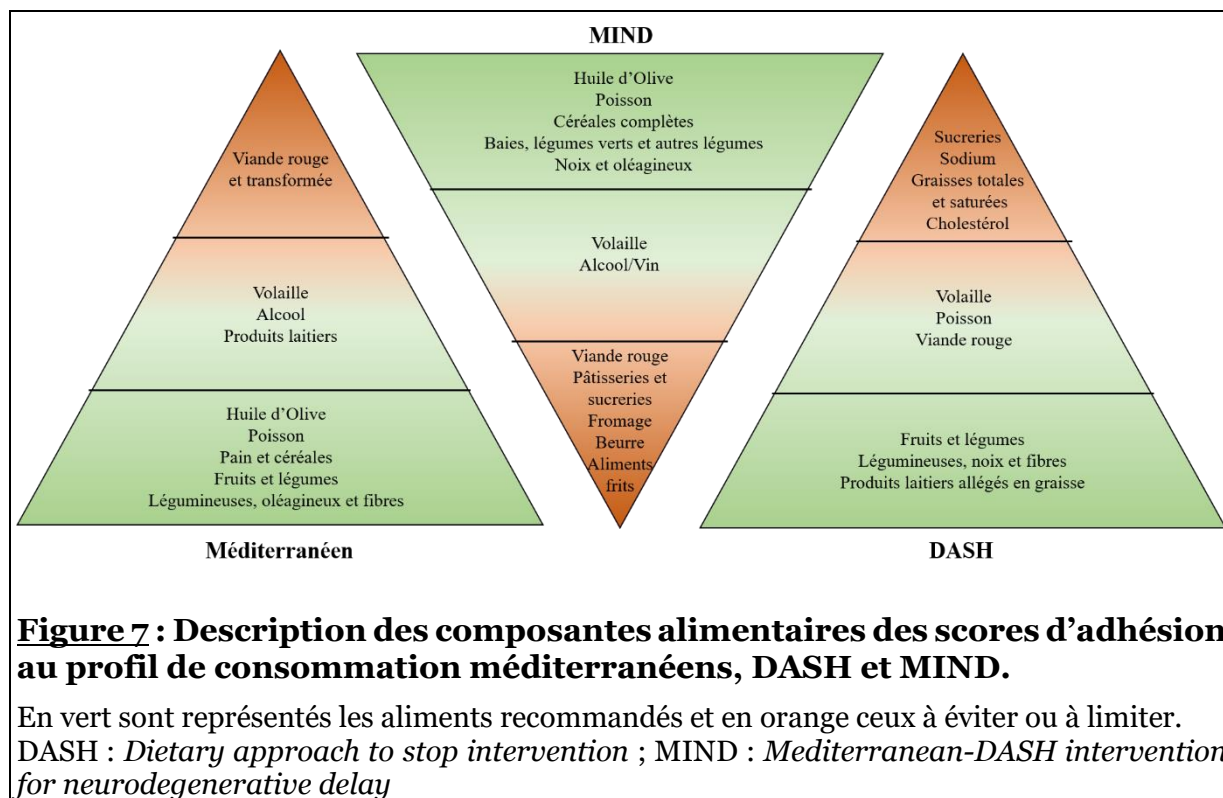
Il semble donc important de pouvoir définir de manière simple et pratique les personnes à risque de carence mais aussi la population cible pour de futurs essais cliniques, tout en prenant en compte les combinaisons de nutriments capables de promouvoir de manière collective la santé cérébrale.

Il est aussi intéressant de se concentrer sur les profils de consommation alimentaire des individus, à l'échelle des aliments, et de leur implication avec le vieillissement cérébral

1.2.2.2. Profils alimentaires

Dans cet état de l'art, nous nous sommes concentrés sur les profils alimentaires *a priori* en lien avec le vieillissement cérébral, car ils ont donné les résultats les plus robustes dans la littérature (en comparaison des études sur profils *a posteriori*), et ils serviront de modèles alimentaires de référence pour rechercher des signatures moléculaires nutritionnelles dans ce travail de thèse. Nous n'aborderons donc pas ici les profils alimentaires *a posteriori* issus de méthodes exploratoires ou semi exploratoires.

Construit à partir des connaissances sur le lien entre alimentation et vieillissement cognitif, trois profils alimentaires *a priori* ont suscité de l'intérêt pour leur potentielle association avec la démence ou le déclin cognitif. Leur composition est présentée dans la **figure 7**. Le score méditerranéen (Medi) mesure l'adhésion à des profils de consommations alimentaires de type méditerranéens. Ce profil alimentaire est retrouvé dans les pays bordant la mer Méditerranée, tels que l'Italie ou la Grèce. Il se définit par une grande consommation d'huile d'olive, de poisson, de pain et de céréales, de fruit, légumes, légumineuses et de fibres, en une consommation modérée de volaille, d'alcool et de produits laitiers et par une faible consommation de viande rouge ou transformée. Le score d'adhésion DASH (*Dietary approach to stop hypertension*) a été développé aux Etats-Unis dans le but de prévenir et traiter l'hypertension artérielle, et est défini par une grande consommation de fruits et légumes, de légumineuses, de noix et de fibres mais aussi de produits laitiers allégés en graisse, par une consommation modérée de viande et de poisson et par une consommation limitée en sucrerie, sel, et graisses. Enfin, le score d'adhésion MIND (*Mediterranean-DASH intervention for neurodegenerative delay*) a été développé plus récemment, en 2015, dans le but d'améliorer le vieillissement cognitif (208). Il a été élaboré en combinant les profils de consommation méditerranéen et DASH, et ne se base que sur des composantes ayant été montrées comme neuroprotectrices dans la littérature. Il est défini par une plus grande consommation de poisson, de céréales complètes, de baies, de légumes verts et de légumes en général, d'huile d'olive, de noix et d'oléagineux, par une consommation modérée de volaille et de vin rouge, et par une consommation limitée en viande rouge, sucreries, fromage, beurre et aliments frits.



Une revue de la littérature réalisée en 2019 a mis à jour les connaissances sur l'association entre ces différents profils et le risque démence et le déclin cognitif associé (209).

Le profil méditerranéen est de loin celui qui a été le plus étudié dans le cadre du vieillissement cognitif, avec la première étude parue en 2006, montrant une association inverse entre adhésion au Medi et la cote de MA dans une étude cas-témoin réalisée sur 1984 sujets américains âgés de 76 ans en moyenne (210). En suivant, une cinquantaine d'études ont été réalisées sur des populations géographiquement diversifiées. La plupart allaient dans le sens de la première étude, montrant que le profil Medi était associé à de meilleures performances cognitives, un moindre déclin cognitif et un risque diminué de développer une démence (211–216). Cependant, d'autres études ne montraient pas d'association entre l'adhésion au profil Medi et la cognition ou le risque de démence (217–219). Aussi, les résultats des essais cliniques sont discordants. L'essai clinique PREDIMED réalisé sur 552 participants pendant deux ans a montré que l'adhésion à un profil Medi accompagné d'une supplémentation en huile d'olive avaient un effet sur les performances cognitives et le risque de démence (220–222). D'un autre côté, deux autres essais cliniques réalisés sur des sujets

australiens et anglais échouaient à montrer l'effet neuroprotecteur du profil alimentaire Medi sur différentes fonctions cognitives (223,224).

De la même façon, le profil DASH montre des résultats discordants entre les études, certaines montrant une association inverse significative entre une meilleure adhésion à ce profil et le déclin cognitif (208,225–228), et d'autres ne montrant pas d'association (229–231). Une étude d'intervention de quatre mois n'a pas montré d'effet de l'adhésion au profil DASH sur certaines fonctions cognitives telles que les fonctions exécutives, la mémoire et l'apprentissage (232).

Enfin, le score d'adhésion MIND développé récemment montre des résultats prometteurs dans les études d'observation. Au moment de la revue de la littérature de 2019, 5 études longitudinales avaient été publiées. Seule une étude réalisée sur 16 058 femmes de la *Nurse's Health study* (NHS) ne montrait pas d'association entre l'adhésion au profil MIND et le déclin cognitif global ainsi que la mémoire verbale pendant un suivi moyen de 13 ans (233). Trois autres études réalisées sur 1220 australiens, 2223 suédois et 960 américains ont montré une association significative entre une adhésion plus élevée au profil MIND et un moindre risque de troubles cognitifs et un déclin cognitif ralenti (208,229,234). De la même manière, une étude réalisée sur 923 participants américains a montré une association significative entre adhésion au profil MIND et un risque de MA diminué (208). Depuis cette revue de la littérature, plusieurs autres études ont été réalisées. Une étude réalisée chez environ 7000 participants de la *Rotterdam study* a montré qu'une meilleure adhésion au profil MIND était associée à de meilleures performances cognitives les 5 premières années de suivi, mais pas quand le suivi était plus long (235). Une autre étude présentait des résultats assez similaires, réalisée chez 2092 participants de la *Framingham heart study* (FHS), l'adhésion au profil MIND étant significativement associée à de meilleures performances cognitives à l'inclusion mais pas au déclin cognitif ultérieur (236). Une étude réalisée dans la cohorte *UK Biobank* chez plus de 78 000 sujets montre aussi que l'adhésion au profil MIND était associée à de meilleures performances cognitives de façon transversale, mais pas avec l'incidence de la démence pendant le suivi (237). Enfin, dans la cohorte 3C, une plus grande adhésion au profil MIND (estimé par un score d'adhésion adapté à la population française) était associée à un moindre risque de démence et de MA (pour l'augmentation d'un point de score d'adhésion, HR=0.89 [0.83-0.95] et HR=0.88 [0.81-0.96] respectivement) chez 1412

participants (238). Un essai randomisé réalisé sur 37 femmes atteintes d'obésité montre que le groupe ayant suivi un régime MIND pendant 3 mois montrait des meilleures performances cognitives que le groupe contrôle. Enfin, un essai clinique récemment terminé n'a pas montré d'effet de l'adhésion à un profil de type MIND avec les fonctions cognitives chez 604 individus à risque de MA (239).

Globalement, les études semblent plus cohérentes lorsqu'on s'intéresse aux profils alimentaires (*a priori*) plutôt qu'à chaque composé considéré individuellement. Cette approche par profils représente une piste encourageante pour la prévention des pathologies du vieillissement cérébral, même si les résultats ne convergent pas tous. Cette discordance pourrait être potentiellement due à la diversité des populations d'étude et aux consommations variées dépendant fortement du contexte culturel et géographique, mais aussi à des raisons purement méthodologiques, liées à l'outil d'estimation de l'adhésion des individus à ces profils (questionnaires alimentaires). L'utilisation de nouveaux outils en épidémiologie moléculaire, tels que l'étude du métabolome, pourrait permettre d'identifier de nouvelles combinaisons optimales pour la prévention des pathologies du vieillissement cérébral.

1.2.2.3. Métabolome alimentaire

Les récentes avancées dans les technologies « omiques » (quantification collective d'ensembles de molécules biologiques de structure, fonction ou dynamique similaires), telles que la génomique (étude du génome) ou la métabolomique, ont permis de mieux classer les caractéristiques individuelles et d'estimer le risque potentiel de maladie (240). Ces avancées technologiques suggèrent que l'exposition alimentaire est plus complexe que les quelques nutriments considérés généralement.

Représentant un outil attractif pour l'identification de nouveaux biomarqueurs, la métabolomique est définie comme l'étude à grande échelle des petites molécules (<1500 Da), appelées métabolites, dans les biofluides. Le métabolome alimentaire se définit comme la partie du métabolome dérivée directement de la digestion et de la biotransformation des aliments et de leurs constituants. Il inclut les composés alimentaires ingérés et digérés par l'organisme et/ou par le microbiote ainsi que leurs

produits de métabolisation. Notre alimentation est composée de plus de 25 000 constituants, métabolisés par notre organisme via divers mécanismes (241). Le métabolome alimentaire est extrêmement complexe et variable, et son étude paraît primordiale dans le cadre de l'épidémiologie nutritionnelle.

Le métabolome alimentaire est composé de métabolites endogènes, synthétisés par l'organisme, et de métabolites exogènes, qui sont les composés biochimiques provenant directement de l'alimentation (242). Deux approches peuvent être utilisées pour le mesurer en métabolomique : l'approche ciblée, qui correspond à une mesure quantitative d'un groupe de métabolites connus et chimiquement annotés, et l'approche non-ciblée, qui correspond à une analyse globale, semi-quantitative, de toutes les molécules détectables par la méthodologie choisie dans un biofluide (sang ou urine), y compris de nombreux composés inconnus non chimiquement annotés. Le métabolome alimentaire inclut des métabolites de classes chimiques très variées, comme les acides aminés et leurs dérivés, les acides phénoliques, certaines vitamines, le triméthylamine-N-oxide (TMAO), des glucides, les acylcarnitines ou même certains acides gras.

L'étude du métabolome alimentaire pourrait permettre de mieux estimer l'alimentation des individus via la caractérisation de biomarqueurs d'adhésion à des profils alimentaires bénéfiques pour le vieillissement cognitif.

Caractérisation de signatures métabolomiques de profils alimentaires neuroprotecteurs

Nous nous concentrerons dans le cadre de ce travail aux profils alimentaires *a priori* Medi et MIND, du fait du niveau de preuve supérieur quant à leur association avec le vieillissement cognitif. Plusieurs études d'observation se sont penchées sur la caractérisation de combinaisons de métabolites en tant que signature métabolomique de ces profils alimentaires (**Tableau 3**), dans des populations variées en termes d'âge et de géographie.

Chez les populations jeunes (de moins de 50 ans), une étude réalisée en Grande-Bretagne sur un grand échantillon de presque 11 000 individus de 48 ans en moyenne a caractérisé une signature du profil Medi incluant 66 métabolites (composées majoritairement de phospholipides, de 10 acides aminés et dérivés ainsi que 6 acylcarnitines et carnitines, et 2 sphingomyélines), médiant l'association (à hauteur de 37%) entre l'adhésion à ce profil et certains facteurs de risques métaboliques, tels que

la cholestérolémie, la triglycéridémie ou la résistance à l'insuline (243). Deux autres études réalisées en Europe sur 1250 individus grecs de 48 ans en moyenne et 153 individus italiens de 37 ans en moyenne ont caractérisé respectivement une signature plasmatique du Medi composées de 42 métabolites (essentiellement des lipoprotéine et acides gras, ainsi que des acides aminés et métabolites impliqués dans la production d'énergie et dans l'inflammation), et une signature consitiuée d'une forte concentration en acides gras à chaine courte (AGCC, acide acétique, acide valérique et acide propionique) et un bas niveau de Triméthylamine-N-oxide (TMAO) dans les urines (244,245). L'étude grecque n'a pas montré d'association entre les performances cognitive et la signature ni avec aucun des métabolites.

D'autres études se sont intéressées à des populations un peu plus âgées (entre 50 et 60 ans). Une étude récente réalisée sur 1056 américains de 58 ans en moyenne a identifié 51 métabolites significativement associés à l'adhésion au profil Medi, comprenant surtout des lipides et un acide aminé, la N-acetylnornithine (246). Deux études réalisées en Europe, sur 1336 sujets finlandais de 57 ans en moyenne et 2284 sujets anglais de 55 ans moyenne ont également caractérisé des signatures de l'adhésion à ce profil de respectivement 46 (dont 21 identifiés : acides aminés, carbohydrate, vitamines, lipides et xénobiotiques) et 50 métabolites (surtout des phospholipides, mais aussi acides aminés, acides biliaires et marqueurs du métabolisme nucléotidique) (247,248). Enfin, une étude présentait une phase de validation pour l'identification des métabolites en lien avec l'adhésion à une alimentation de type Medi, étape importante dans l'identification de biomarqueurs (249). Réalisée sur 1806 afro-américains de 52 ans en moyenne puis 2056 afro-américains et américains caucasiens pour l'étape de validation, elle a identifié seulement deux métabolites significativement associés à l'adhésion au profil Medi dans les deux échantillons : la stachydrine, un xénobiotique venant des fruits, et le glycérate, un glucide venant des fruits et des céréales complètes (250).

En population âgée (>65 ans), une étude réalisée dans l'essai PREDIMED incluant 119 espagnols de 77 ans en moyenne, a identifié une signature du profil Medi constituée de 34 métabolites urinaires de différentes natures chimiques, des acides aminés et dérivés, mais aussi microbiotiques, du métabolisme énergétique, le TMAO et ses dérivés ainsi que d'autres produits métaboliques (251). Une étude plus large avec une étape de réplcation des résultats incluant 1859 sujets de l'étude PREDIMED de 67

ans en moyenne dans la phase de découverte et 5868 participants d'en moyenne 60 ans de différentes cohortes américaines identifie une signature métabolomique du profil Medi composée de 67 métabolites, dont un tiers de glycérophospholipides, un tiers d'acides aminés et dérivés, de 13% de carnitines et autres lipides, puis d'estéro-cholestérol, de vitamines, sphingolipides et de xénobiotiques (252). Cette signature était associée à un moindre risque de maladie cardiovasculaire incidente, en 5 ans de suivi médian dans l'échantillon de découverte et 22 ans dans celui de validation.

Une seule étude s'est intéressée à la caractérisation d'une signature métabolomique du profil MIND aux côtés d'une signature du profil Medi, chez 806 sujets américains de 73 ans en moyenne, dans le contexte de la fragilité liée à l'âge. Les auteurs identifient une signature composée de 10 métabolites pour ce qui est du profil Medi, et 41 métabolites pour le profil MIND, essentiellement composée de lipides, acides aminés et dérivés, acides biliaires et vitamines (253). Ces signatures métabolomiques médiaient en partie l'association entre l'alimentation et la fragilité chez les personnes âgées.

Cet état de l'art montre des signatures métabolomiques des profils Medi et MIND très variées, présentant peu de métabolites en commun. Il est à noter que pour beaucoup de ces signatures, une part non négligeable dérive directement ou indirectement du microbiote intestinal (dérivés d'acide aminés, TMAO, vitamines, et carnitines). D'autres études sont nécessaires pour déterminer des signatures métabolomiques de ces profils alimentaires, notamment du MIND, pour l'instant sous-étudié, et de montrer leurs associations avec le vieillissement cérébral, afin d'aider à la détermination de l'adhésion des participants à ces profils, mais aussi pour mieux comprendre leur lien avec les maladies cérébrales liées à l'âge.

Au total, l'approche par profil en épidémiologie nutritionnelle est un levier prometteur pour la compréhension du rôle de la nutrition dans le vieillissement cérébral, mais il existe encore des dissonances entre les études d'observation et d'intervention, et le niveau de preuve reste encore relativement modéré. Il est donc important d'affiner cette recherche, par l'utilisation d'outils moléculaires tels que les biomarqueurs nutritionnels plasmatiques ou la métabolomique. Une meilleure compréhension des mécanismes sous-tendant le lien entre nutrition et vieillissement cérébral et l'identification de nouvelles cibles préventives permettrait également de mieux caractériser les interventions nutritionnelles efficaces dans la prévention de la démence et du déclin cognitif. Nous avons identifié dans cette revue de la littérature de nombreux métabolites issus du microbiote intestinal comme corrélats biologiques des profils alimentaires neuroprotecteurs. Nous avons donc choisi de centrer notre recherche autour des mécanismes impliquant le microbiote intestinal et l'axe nutrition intestin cerveau.

Tableau 3 : Etudes d'observation caractérisant des signatures métabolomique des profils alimentaires Medi et MIND (avec un effectif n>100)

Auteur, journal, année (Référence)	Pays, Nom de l'étude, Effectif (âge moyen à l'inclusion)	Questionnaire alimentaire profils alimentaires	Analyses en métabolomique : biofluide et technique ; Méthode statistique pour l'estimation des profils	Métabolites sélectionnés	Evènement d'intérêt, si applicable et Résultats de l'étude d'association
Population jeune (<50 ans)					
Papandreu C. et al. Clinical Nutrition, 2022 (244)	Grèce, EPIRUS Health study, 1250 (47.8 ans)	Mediterranean Diet Adherence Screener (MEDAS) MEDI	Plasma Ciblée - Plateforme NMR (250 métabolites) Elastic Net et ridge regression	42 métabolites associés au MEDAS (22 associations positives et 20 associations négatives) La moitié des métabolites étaient des lipoprotéines ou des particules faisant partie de sous-classes de lipoprotéines AG : associations positives pour les n-3 AGPI, l'acétate, AGM, associations négatives avec triglycérides totaux, AGS, AGS/AG, n-6 AG et n-6/n-3 AG et AGPI/AGM Acides aminés : association positive avec l'alanine, la glycine, et association négative avec l'isoleucine, la phénylalanine Association négative avec l'albumine Métabolites impliqués dans la production d'énergie associés positivement (acetacetate, citrate, glucose et lactate Marqueur de l'inflammation (glycoprotéine acyl) associés négativement	Performance cognitive: Trail making test Aucun métabolite associé aux performances cognitives
De Filippis F. et al, Gut, 2016 (245)	Italie 153 (37 ans)	Journal alimentaire MEDI (11 items)	Urines et selles Non ciblée - GC-MS/SPME Corrélations de Spearman	Corrélation positive et significative entre 3 acides gras à chaîne courte (ac. acétique, valérique et propionique) et le profil MEDI Niveaux de TMAO négativement corrélés au MEDI	
Tong T.Y.N. et al, The Journal of nutrition, 2020 (243)	UK, FENLAND, 10 806 (48 ans)	FFQ MEDI (15 items)	Plasma, Ciblée (175 métabolites : acylcarnitines, acides aminés et amines iogènes, hexoses totaux, glycérophospholipides et sphingomyélines) LC-MS/MS régressions	66 métabolites significativement associés au MEDI 6 acylcarnitines et carnitines, 10 acides aminé et amines biogéniques, 48 phospholipides et 2 sphingomyélines	Dyslipidémie, triglycérides et HOMA -insulinorésistance Ces signatures métabolomiques médiaient en partie l'association entre profil MEDI et des facteurs de risque métaboliques, tels que la cholestérolémie, la triglycéridémie ou la résistance à l'insuline.

Auteur, journal, année (Référence)	Pays, Nom de l'étude, Effectif (âge moyen à l'inclusion)	Questionnaire alimentaire profils alimentaires	Analyses en métabolomique : biofluide et technique ; Méthode statistique pour l'estimation des profils	Métabolites sélectionnés	Evènement d'intérêt, si applicable et Résultats de l'étude d'association
			linéaires, correction FDR		
Population adulte (50-65 ans)					
Kim H. et al, The journal of nutrition 2021 (246)	USA, CRIC N=1056 (58 ans)	FFQ MEDI (9 items - aMED)	Plasma Non ciblée - U-HPLC Régressions linéaires, correction de Bonferroni	51 métabolites significativement associés à l'adhésion au MEDI, comprenant un acide -aminé, beaucoup de triacylglycérols, des lysophosphatidylcholines, des phosphatidylcholines et des diacylglycérols	
Kim H. et al, The journal of nutrition 2021 (250)	USA, ARIC En 2 phases (4 ans de différence dans le déroulé de l'étude) Découverte : afro-américains, N=1806 (52 ans) Validation : afro-américains & américains caucasiens, N=2056 (54 ans)	FFQ MEDI (9 items - aMED)	Plasma, Non ciblée GC-MS et HPLC Régressions linéaires, correction de Bonferroni	2 métabolites significativement associés au MEDI dans l'échantillon (1), et répliqués dans le deuxième échantillon : la stachydrine (xénobiotique venant des fruits) et le glycérate (carbohydrate venant des fruits et des céréales complète)	
Playdon M.C. et al, AJCN, 2017 (247)	Finlande, AlphaTocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study cohort 1336 (57 ans)	FFQ MEDI (8 items - aMED)	Plasma, Non ciblée (Métabolon, LC-MS) Corrélations partielles, correction de Bonferroni	46 Métabolites, dont 21 identifiés : 4 acides aminés, 1 carbohydrate, 2 vitamines ou cofacteurs 11 lipides et 3 xénobiotiques.	

Auteur, journal, année (Référence)	Pays, Nom de l'étude, Effectif (âge moyen à l'inclusion)	Questionnaire alimentaire profils alimentaires	Analyses en métabolomique : biofluide et technique ; Méthode statistique pour l'estimation des profils	Métabolites sélectionnés	Evènement d'intérêt, si applicable et Résultats de l'étude d'association
Walker M.E. et al, Nutrients, 2020 (248)	UK, FHS, N=2284 (55 ans)	FFQ MEDI (9 items)	Plasma, Ciblée (216 métabolites) LC-MS/MS Régression linéaires, correction FDR	50 métabolites associés au MEDI La majorité étaient des phospholipides, mais aussi des acides aminés, des acides biliaires et dérivés, ainsi que des marqueurs du métabolisme nucléotidique et l'acide tricarboxylique ainsi que des dérivés.	
Population âgés (>65 ans)					
Li J. et al, European heart journal, 2021 (252)	2 échantillons Découverte : Espagne, PREDIMED, N=1859 (67 ans) Validation : USA, NHS/HPFS, N=6868 (56 ans)	FFQ MEDI (MEDAS)	Plasma, Non ciblée (GC-MS et HPLC) Elastic-net	67 Métabolites 30% de glycérophospholipides, 28% d'acides aminés, 15% de glycérolipides, 13% de carnitines et autres lipides, 6% d'esters-cholestérol, 3% de vitamines et cofacteurs, 3% de sphingolipides et 2% de xénobiotiques	Maladie cardiovasculaire incidente (5 ans de suivi médian dans découverte et 22 dans validation) Association significative entre la signature métabolomique et le risque de maladie cardiovasculaire (dans le sens protecteur)
Tanaka T. et al, Nutrients, 2022 (253)	USA, BLSA, N=806 (73 ans)	FFQ MEDI (9 items) & MIND (15 items)	Plasma, Ciblée (466 métabolites) LC-MS/MS Elastic Net	MEDI : 10 métabolites MIND : 41 métabolites 4 métabolites en commun : Tryptophane bétaine, CE, PCaC40:5 et PCaC42:3 Le reste des deux signatures représenté par lipides, acides aminés et dérivés, acides biliaires et vitamines	Index de fragilité Ces signature métabolomiques médiaient en partie l'association entre l'alimentation et la fragilité
Almanza-Aguilera E. et al, J. Nutr. Bio., 2017 (251)	Espagne, PREDIMED, N=119 (77 ans)	FFQ MEDI (14 items)	Urine Non ciblée H-NMR PLS-DA	34 métabolites Acides aminés et dérivés (méthylhistidine, alanine, proline-bétaine, et autres) Métabolites microbiotiques (p-crésol, iso butyrate, hippurate, et autres) Métabolisme énergétique (glucose, lactate, succinate) TMAO et dérivés Autres produits métaboliques	

AG : Acides gras ; FDR : False discovery Rate ; FFQ : Frequential food questionnaire ; GC-MS : chromatographe en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ; H-NMR : résonance magnétique nucléaire de protons ; LC-MS/MS : chromatographie en phase liquide couplée à spectrométrie de masse ; PLS-DA : analyse discriminante partial least square ; TMAO : triméthylamine-N-oxide ; UHPLC : chromatographie liquide à ultra-haute performance

1.2.3. L'axe intestin-cerveau : une voie mécanistique clé sous-tendant le lien entre nutrition et vieillissement cérébral

1.2.3.1. Le microbiote intestinal

Les voies gastro-intestinales arborent une communauté microbienne de grande envergure, composée d'une population de micro-organismes extrêmement abondante, appelée le microbiote intestinal. En 2001, J. Ledeberg et A.T. McCray donnent une définition spécifique du microbiome pour la première fois, le décrivant comme « la communauté écologique de micro-organismes commensaux, symbiotiques ou pathogéniques partageant l'espace du corps humain » (254). Son impact sur la santé n'a suscité un intérêt scientifique que depuis une dizaine d'années, devenant un domaine de recherche en plein essor (255). Trois types d'organismes le composent : des archées, des bactéries et des eucaryotes. Leur nombre surpasse celui des cellules humaines avec une proportion de dix micro-organismes pour une cellule humaine approximativement (256). Environ 10^{14} bactéries incluant plus de 1000 espèces différentes composent ainsi le microbiote intestinal, représentant une biomasse d'environ 1.5 kg (257,258). De façon encore plus impressionnante, chez une personne saine, le génome de ces bactéries couvre plus de 100 fois le génome humain (258).

Le microbiote semble jouer un rôle clef dans la santé humaine, représentant un intermédiaire important entre la nutrition et la santé. Il joue un rôle fondamental dans la digestion, l'extraction d'énergie à partir des nutriments, mais aussi la biosynthèse de vitamines ou encore la transformation de certains composés nutritionnels (comme les polyphénols). Le microbiote influence également de nombreux mécanismes impliqués dans la santé, en particulier le fonctionnement du système immunitaire et l'inflammation (257,259). Des modifications de la composition du microbiote causées par des changements diététiques ou une exposition antibiotique entraînent une perte de l'homéostasie, puis une dysbiose, et peuvent être impliquées dans un certain nombre de pathologies. Parmi celles-ci on trouve le cancer colorectal, le syndrome métabolique et l'obésité associée, certaines allergies, le syndrome de l'intestin irritable, l'insuffisance cardiaque ainsi que le diabète de type 2. De plus, le microbiote entretient

une relation étroite avec le fonctionnement cérébral, via ce qu'on appelle l'axe intestin-cerveau, ou plus précisément l'axe microbiote-intestin-cerveau (260,261).

1.2.3.2. L'axe intestin-cerveau

En 1880, W. James et C. Lange introduisent pour la première fois le concept d'une communication bidirectionnelle entre le système nerveux central et les organes intestinaux, pouvant influencer sur la régulation des émotions (262). W. Cannon émet 40 ans plus tard l'idée que le cerveau joue un rôle important dans la régulation des fonctions intestinales (262).

L'axe microbiote-intestin-cerveau est un système de communication bidirectionnel dans lequel les microbes intestinaux communiquent avec le cerveau, et le cerveau communique avec l'intestin (263). Au travers de ce réseau, des signaux émis par le cerveau peuvent influencer des modalités motrices, sensorielles et sécrétoires des voies gastro-intestinales, et inversement, des messages viscéraux peuvent influencer les fonctions cérébrales (264). Cet axe biologique implique de nombreux systèmes et processus, comme : les bras sympathique et parasympathique du système nerveux autonome, et le système nerveux entérique ; les systèmes neuroendocrine et immun ; ainsi que de nombreux métabolites et molécules neuro-modulateurs issus du métabolisme bactérien (261,265).

Le microbiote et le cerveau communiquent de deux façons : la voie directe et la voie indirecte (**Figure 7**). La voie directe est celle passant par le nerf vague, jouant un grand rôle dans les mécanismes inflammatoires (266), capable de détecter les changements d'écosystèmes microbiens et de transférer les informations intestinales au système nerveux afin de générer une réponse (267). La voie indirecte est celle de la circulation sanguine, où certains métabolites produits par le microbiote à partir des produits de l'alimentation traversent la barrière intestinale et se retrouvent dans la circulation sanguine (268,269). Cette voie est facilement mesurable dans le sang en pratique : la métabolomique permet de quantifier ces métabolites microbiens, et peut être utilisée dans les études d'observation pour étudier leur association avec la démence et le déclin cognitif. Cependant, peu d'études épidémiologiques ont été réalisées à ce jour, les connaissances étant encore limitées sur les métabolites post-biotiques. Les grandes plateformes d'analyse en métabolomique ne proposent pas leur quantification en routine, (seulement quelques métabolites dans la totalité des

métabolites quantifiés dans les analyses ciblées), et pour certaines familles de métabolites, aucune étude épidémiologique n'a encore été réalisée. Nous proposons dans la suite de cette partie un état de l'art des métabolites microbiens d'intérêt pour le vieillissement cérébral.

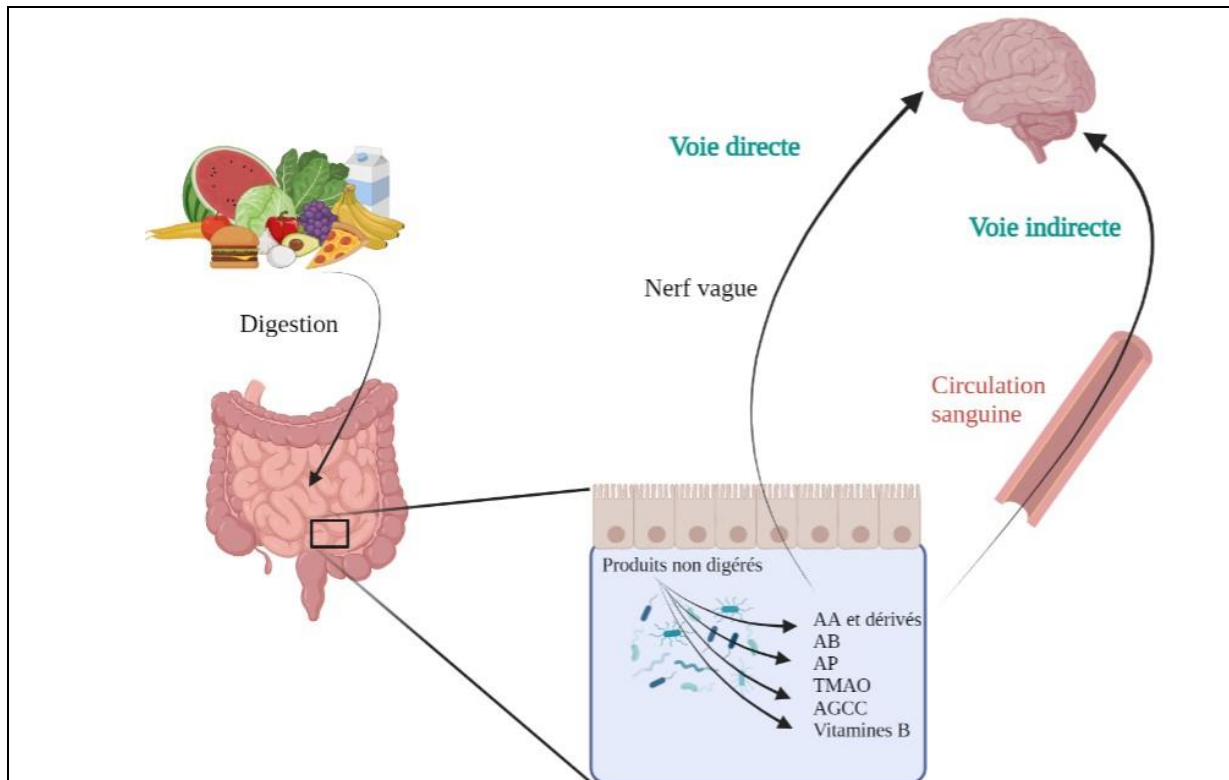


Figure 8 : Représentation schématique de l'axe intestin-cerveau

AA : acides aminés ; AB : Acides biliaires ; AP : Acides phénoliques ; TMAO : triméthylamine-N-oxide ; AGCC : acides gras à chaîne courte ; vitamines B

1.2.3.3. Microbiote intestinal et vieillissement cérébral

Peu d'études épidémiologiques se sont intéressées à la voie indirecte de l'axe intestin-cerveau, facilement mesurable, en estimant l'association entre les concentrations plasmatiques ou urinaires de métabolites dérivés du microbiote intestinal et l'incidence de la démence ou le déclin cognitif. Cependant, il existe un corpus de connaissances issu des études chez l'animal, et les principales voies métaboliques sont présentées dans la **figure 9**. Nous nous intéresserons dans cette thèse aux métabolites microbiotiques prenant source dans l'alimentation ou dont l'alimentation peut jouer un rôle dans leur taux circulant, c'est-à-dire les acides

biliaires, les acides aminés et leurs dérivés, les acides gras à chaîne courte, le triméthylamine-N-oxide et ses substrats, et enfin les métabolites dérivés des polyphénols.

Les acides biliaires

Les acides biliaires primaires, produits de la dégradation du cholestérol (venant de la viande, des produits transformés et gras mais aussi des produits laitiers), sont transportés via la circulation sanguine dans l'intestin et le colon, où ils sont métabolisés en acides biliaires secondaires par le microbiote (**Figure 9**). Les acides biliaires secondaires peuvent ensuite être conjugués à la taurine ou à la glycine. Tous ces acides biliaires, après passage par la circulation sanguine, seraient capables de passer par la BHE, mais cela reste encore une hypothèse (270).

Certains acides biliaires auraient un effet sur la cognition. Une étude réalisée sur plus de 1400 sujets de la cohorte ADNI (plateforme métabolomique BIOCRATES®) a montré une baisse significative des concentrations plasmatiques d'acide cholique et une augmentation des concentrations d'acides biliaires secondaires (acide désoxycholique [DCA], acide glycodésoxycholique [GDCA], acide taurodésoxycholique [TDCA] et acide glycolithocholique [GLCA]) chez les personnes atteintes de MA par rapport aux personnes cognitivement saines, suggérant un lien entre l'élimination du cholestérol et sa régulation et la MA (271). Une autre étude réalisée sur 1562 sujets dans la cadre de la cohorte ADNI montre qu'un profil composé d'acides biliaires secondaires était associé à des changements structuraux et fonctionnels du cerveau, caractérisé par une plus grande atrophie et un métabolisme glucidique réduit (272). Une étude en métabolomique ciblée réalisée chez 251 sujets âgés démontre une association similaire, avec plus de DCA circulant chez les personnes atteintes de MA que les personnes cognitivement saines (273). Deux autres études montrent des concentrations plasmatiques plus grandes d'acide lithocholique (LCA) et d'acide glycourso-désoxycholique (GUDCA), respectivement, chez les patients atteints de MA par rapport aux patients non atteints (274,275). Cependant, les acides biliaires secondaires sont des inhibiteurs de l'apoptose dans différents types de cellules et des études laissent penser un rôle anti-apoptotique de ces molécules dans la MA de façon expérimentale, ce qui est contradictoire avec l'effet protecteur retrouvé chez l'homme vis-à-vis de la cognition (257).

Le TMAO et ses substrats

A partir de dérivés d'acides aminés d'origine alimentaire, telles que la bétaine (Betterave, quinoa, épinards), la carnitine (viande rouge, produits laitiers et avocats) et la choline (œufs, saumon, chou-fleur et bœuf), le microbiote intestinal métabolise la triméthylamine (TMA) qui est oxydée en TMAO dans le foie (**Figure 9**) (276). Le TMAO passe dans la circulation sanguine et traverse la BHE (277).

Le taux de TMAO circulant a été associé à une augmentation de la prévalence et de l'incidence de maladies cardiovasculaires, et représente de ce fait un facteur de risque de la démence (278,279). Le TMAO est une molécule neurotoxique, favorisant l'agrégation β -amyloïde dans les études *in vitro*, et l'association avec la neuroinflammation et le déclin cognitif a été démontrée dans des études chez la souris (280). Pour autant, un de ses précurseurs, la bétaine, a été associée chez l'animal à une diminution du déclin cognitif, via différents mécanismes en jeu dans le vieillissement cérébral (281).

Le TMAO a été associé à la MA chez l'homme. Une étude américaine réalisée chez 410 sujets âgés a montré que la concentration en TMAO était plus élevée dans le liquide céphalo-rachidien chez des personnes atteintes de déclin cognitif léger et de MA que chez les personnes saines (282). Il était également associé aux biomarqueurs de la pathologie d'Alzheimer dans cette étude. La même chose a été observée dans une étude plus récente réalisée chez plus de 400 sujets âgés, où les participants atteints de MA avaient de plus fortes concentrations plasmatiques de TMAO que les personnes saines (283). En revanche, ce résultat n'a pas été retrouvé dans une étude similaire mais de petite taille chez 58 sujets âgés (284). Les précurseurs du TMAO, cependant, semblent avoir une association inverse avec le déclin cognitif et la MA. En effet, un essai clinique de supplémentation en vitamines B9 et B12 réalisé chez 202 personnes âgées a démontré un effet protecteur de la bétaine, dont la synthèse est favorisée par les vitamines B, sur le déclin cognitif (285). Aussi, une étude montre de plus faibles concentrations en carnitine chez les sujets atteints de MA que chez les sujets non atteints (286).

Les acides aminés et leurs dérivés

Le microbiote intestinal est capable de produire, à partir des éléments riches en protéines tels que la viande, le poisson, les produits laitiers ou encore les pois et le soja, du tryptophane, un acide aminé essentiel. Le tryptophane présente 3 voies

biochimiques : kynurénique, sérotoninergique et indolique (**Figure 9**). Environ 95% du tryptophane alimentaire est métabolisé par la **voie kynurénique**, qui prend surtout place dans le foie, formant des intermédiaires tels que l'acide kynurénique, quinoléinique et anthranillique et la kynurénine (287). La kynurénine est la seule de ces quatre molécules à pouvoir passer par la BHE, mais les concentrations plasmatiques des trois autres impactent directement la synthèse d'acide kynurénique et quinolinique dans le cerveau (288). L'acide quinoléinique est un neurotoxique connu ayant plusieurs actions sur le cerveau, dont notamment une atteinte à l'intégrité de la BHE, mais aussi la favorisation de la libération de glutamate, une molécule neurotoxique quand elle est présente en trop grande quantité dans le cerveau (289,290). Aussi, l'acide kynurénique peut aussi moduler l'action de l'acide quinoléinique, et induire l'hypofonction glutamatergique, troublant les fonctions cognitives (291). En ce qui concerne la **voie sérotoninergique**, le tryptophane peut être transformé par le microbiote intestinal en sérotonine, un neurotransmetteur impliqué dans la régulation des fonctions cognitives. Plus de 95% de la sérotonine cérébrale provient du tryptophane synthétisé dans l'intestin (292). La sérotonine passe dans la circulation sanguine mais n'est pas capable de franchir la BHE (293). Enfin, la **voie indolique** permet au microbiote, à partir du tryptophane, de produire de l'indole qui va conduire à la production d'indoxyl-sulfate dans le foie. Cette toxine urémique, qui est filtrée puis excrétée par le rein, peut en s'accumulant jouer un rôle néfaste pour l'organisme (294,295). Enfin, le microbiote intestinal est capable de transformer le tryptophane en acide indolacétique (IAA) ou en acide indolepropionique (IPA) qui se retrouvent dans la circulation sanguine et sont capables de traverser la BHE (296,297). Il est également à noter que le microbiote intestinal est capable, à partir de la tyrosine, un acide aminé essentiel, de produire de l'épinéphrine, un neurotransmetteur, mais aussi du p-crésol-sulfate et du p-crésol-glucuronide, deux toxines urémiques capables de passer par la BHE (298,299).

Certains de ces métabolites ont été étudiés en lien avec la cognition, la plupart des études rapportées étant menées chez l'animal. Ainsi par exemple, le tryptophane serait capable de moduler, via la transmission sérotoninergique, les fonctions de l'amygdale, de l'hippocampe et du cortex frontal, des structures cérébrales jouant un rôle essentiel dans les fonctions cognitives (300). En effet, étant capable, contrairement à la sérotonine, de traverser la BHE, le tryptophane pourrait participer à la synthèse de sérotonine directement dans le système nerveux central (300). Des

changements dans la biosynthèse de la sérotonine pourraient affecter le processus pathologique de la MA, en réduisant la formation de plaques β -amyloïde (301,302). Dans une étude néerlandaise menée chez 31 personnes de 72 ans en moyenne, il a été observé qu'aux stades précoces de la MA, la concentration en tryptophane plasmatique était significativement réduite (303). Il est possible que le microbiote des patients souffrant de MA ait une production diminuée de tryptophane, phénomène qui aurait une plausibilité biologique dans la physiopathologie de la MA (304). De plus, le vieillissement est associé à des concentrations diminuées de tryptophane dans le sang et à une activation de la voie kynurénine, qui est la voie de dégradation métabolique la plus importante de cette molécule (295). Cependant, de manière contradictoire, la présence de tryptamine et de tryptanol, des dérivés du tryptophane, induiraient la neurodégénérescence, la tryptamine régulant le gène codant pour une protéine impliquée dans la pathogénèse de la MA (304). Enfin, dans un essai randomisé en double aveugle réalisé chez 105 participants de 64 ans en moyenne, une supplémentation en 6 acides aminés essentiels dont le tryptophane pendant 3 mois améliorait de façon significative les fonctions cognitives (305).

Deux autres métabolites issus du microbiote et du tryptophane semblent avoir un lien avec le déclin cognitif : l'IPA et l'IAA. Il est suggéré dans les études in-vitro que l'IPA serait neuroprotecteur, en diminuant l'activation des cellules gliales (notamment des astrocytes), les dommages à l'ADN et la formation de plaques β -amyloïde (306). D'un autre côté, il a été démontré dans une étude menée chez l'homme que les concentrations d'IAA dans le sérum étaient négativement associées au score MMSE, et seraient donc délétère, à l'inverse de l'IPA chez les personnes sous hémodialyse (307). La voie indolique pourrait elle aussi avoir un rôle dans le déclin cognitif : l'indoxyl-sulfate serait capable d'induire l'apoptose des astrocytes humains, suggérant une implication de cette molécule dans la physiopathologie de la démence (295). La concentration sanguine en indoxyl-sulfate a été associée au déclin cognitif chez les insuffisants rénaux chroniques, que ce soit dans les études cliniques ou d'association (308). Une seule étude menée chez l'homme en métabolomique ciblée appliquée à la démence a retrouvé, chez 93 participants de 56 ans en moyenne, une association délétère entre les concentrations plasmatiques d'acide anthranillique et le risque incident de démence (309).

Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont dérivés des polyphénols alimentaires. Les polyphénols non digérés sont métabolisés par les bactéries du MI en différentes molécules (310,311), parmi lesquelles les acides hydroxybenzoïques, les acides phénylacétiques, les lignanes, les flavanones, pour n'en citer que quelques-uns (**Figure 9**).

La recherche sur les modèles cellulaires et animaux a montré que les acides phénoliques dérivés du microbiote jouaient un rôle protecteur vis-à-vis de la MA via différents mécanismes, tels que le clivage de certains radicaux libres, l'amélioration de la réponse cellulaire au stress, de l'apprentissage et de la mémoire (312,313). Pour l'instant, aucune étude n'a été réalisée chez l'homme pour analyser l'association entre les acides phénoliques dans le sang et la cognition. Cependant, comme mentionné précédemment, des apports plus élevés en polyphénols alimentaires, leurs précurseurs, ont été associés à de meilleures performances cognitives, ou même à une moindre incidence de la démence (166,314).

Acides gras à chaîne courte

Les acides gras à chaîne courte, tels que l'acide acétique, valérique, butyrique et propionique, sont les produits primaires de la fermentation bactérienne des fibres, polysaccharides, oligosaccharides et protéines non absorbés pendant la digestion, présents en grande quantité dans les aliments dit « prébiotiques » (Artichaut, céleri, salsifi, oignons ou pommes par exemple) (315–317) (**Figure 8**). Une autre voie de production de l'acide butyrique et de l'acide propionique est la métabolisation du lactate par les bactéries du MI, le lactate étant lui-même un produit de la fermentation bactérienne du MI et présent dans les produits laitiers fermentés, tels que les yaourts ou le fromage (318). Tous ces métabolites ont la capacité de traverser la BHE (319). L'acide propionique est également utilisé comme conservateur alimentaire dans les aliments transformés et on peut en retrouver de manière naturelle dans le fromage.

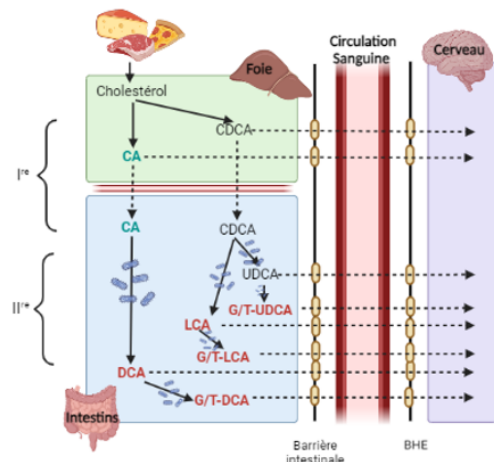
Les acides gras à chaîne courte jouent un rôle important dans le maintien de l'intégrité de la BHE et dans la maturation et le fonctionnement de la microglie cérébrale (320,321). Ils montrent également une activité anti-inflammatoire, surtout dans des conditions neurologiques aiguës, telles que les accidents vasculaires cérébraux (AVC) ischémiques (322), et diminuent l'action des cytokines pro-inflammatoires dans les études in vitro et chez la souris (323). Le rôle des acides gras à chaîne courte dans les maladies neurodégénératives est controversé, certaines études

suggérant qu'ils auraient la capacité de diminuer l'agrégation de β -amyloïde (295,324,325), d'autres suggérant le contraire (326,327). La volatilité de ces composés les rend difficiles à mesurer dans le sang et le liquide céphalo-rachidien chez l'humain, sauf par spectrométrie de masse à haute résolution couplée à une chromatographie à haute résolution, rendant la littérature de l'effet des acides gras sur la cognition humaine très parcellaire (295,328).

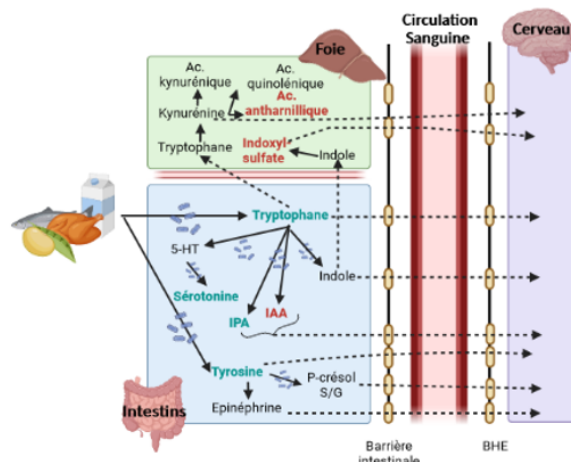
Ainsi, il existe des arguments de plus en plus solides permettant de penser que le microbiote joue un rôle médiateur clé dans la relation entre nutrition et vieillissement cérébral. Les études chez les humains restent tout de même encore parcellaires, et l'essor de la métabolomique permet aujourd'hui d'affiner considérablement les connaissances en étudiant les métabolites circulants issus du microbiote en lien avec le vieillissement cérébral dans des populations humaines. Cela pourrait rendre possible la découverte de nouvelles voies mécanistiques et de nouvelles cibles préventives liées à la nutrition et au microbiote.

Toutefois, nous l'évoquions en début de manuscrit, la nutrition n'est qu'une composante du mode de vie et des facteurs de risque associés au vieillissement cérébral. Il apparaît ainsi naturellement qu'une approche préventive efficace doive probablement s'intéresser à d'autres facteurs de mode de vie que la nutrition. Une piste prioritaire dans le domaine consiste donc à s'intéresser à la combinaison de facteurs modifiables, évitables, dont la nutrition, comme le mode de vie ou la gestion de la santé cardiometabolique. L'objectif est de capturer l'exposition des individus aux facteurs environnementaux dans leur ensemble et de maximiser le potentiel d'efficacité. En effet, les habitudes alimentaires des individus font partie d'un ensemble de comportements et dépendent grandement de leur état de santé, et tout comme les facteurs nutritionnels, les comportements et la santé cardiometabolique sont intercorrélés et peuvent interagir les uns avec les autres sur les voies biologiques conduisant au vieillissement cérébral.

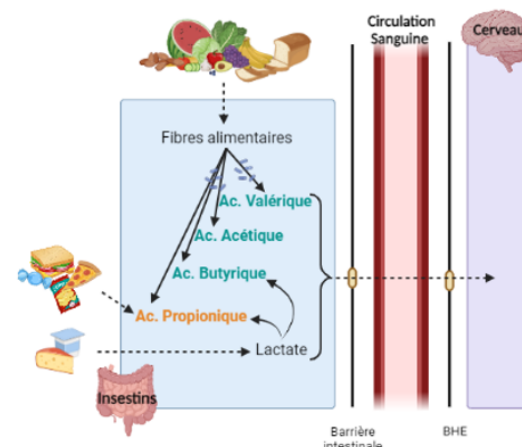
Acides biliaires



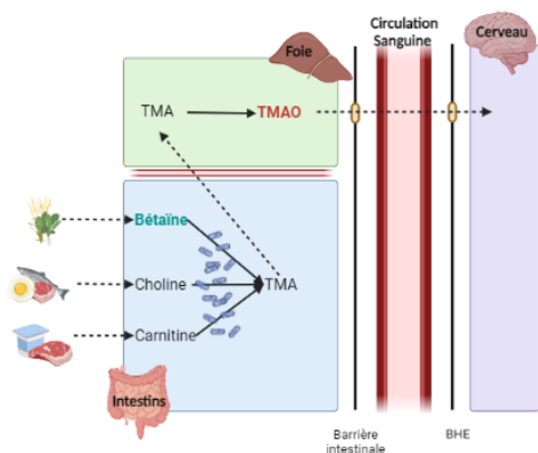
Acides aminés et dérivés



Ac. Gras à chaîne courte



TMAO



Acides phénoliques

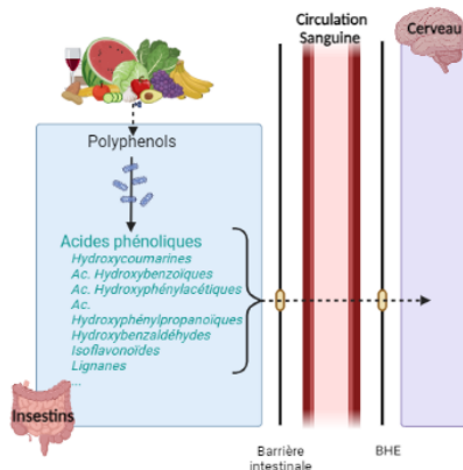


Figure 9 : Représentation schématique des voies métaboliques des différentes classes de métabolites dérivés du microbiote et de l'alimentation.

Les métabolites potentiellement neuroprotecteurs sont en verts, les délétères en rouge, et en orange ceux dont les preuves sont contradictoires
 Ac. : acide ; CA : Cholic acid ; CDCA ; chenodesoxycholic acid ; DCA : desoxycholic acid ; IAA : indolacetic acid ; IPA : indole-propionic acid ; LCA : Lithocholique acid ; TMA : Trimethylamine ; TMAO : Triméthylamine-N-Oxide ; UDCA : Ursodesoxycholic acid

1.3. Santé cardiométabolique, mode de vie et vieillissement cérébral

Tout comme l'exposition nutritionnelle, l'exposition environnementale au sens large peut être étudiées grâce à deux approches complémentaires. L'approche par facteur isolé permet d'identifier de nouveaux facteurs de risques et de confirmer leur lien avec le vieillissement cognitif, ainsi que de décrypter les mécanismes sous-tendant leur relation. Cependant, les individus étant rarement exposés à un seul facteur environnemental, leur étude en combinaison pourrait permettre de mieux capturer l'exposition environnementale dans son ensemble. L'approche par profil permet de prendre en compte les inter-corrélations entre les comportements des individus mais aussi les relations entre mode de vie et facteurs de santé, ainsi que les actions potentiellement synergétiques ou antagonistes de ces différents facteurs, afin de proposer des stratégies préventives plus efficaces (dans des interventions multi-domaine, ciblant plusieurs facteurs de manière concomitante, comme la nutrition, l'activité physique, l'entraînement cognitif et la gestion de la santé cardiovasculaire dans l'essai FINGER par exemple) (329).

1.3.1. Approche par facteur isolé

1.3.1.1. Santé cardiométabolique

La santé cardiométabolique fait principalement référence ici à l'ensemble des facteurs de risque cardiovasculaires et métaboliques classiquement rapportés en clinique et dans la littérature épidémiologique, que sont le diabète, l'hypertension artérielle, la dyslipidémie et l'obésité.

Diabète

Le diabète a été associé au risque de démence dans de nombreuses études. Une méta-analyse réalisée sur plus de 2.3 millions de sujets dans 14 études de cohortes différentes, montre que le diabète était associé à un risque majoré de 60% de développer une démence (95% IC : 1.45-1.80) (330). Le risque de démence augmenterait aussi avec la durée et la sévérité du diabète (5). De plus, une récente étude anglaise incluant 10 095 participants âgés de 35 à 55 ans avec un suivi médian

de 32 ans montre qu'un âge plus jeune au moment de l'apparition du diabète était associé à un risque encore plus élevé de développer une démence (331).

Cette association entre diabète et démence est potentiellement sous-tendue par des mécanismes partagés dans ces deux affections, tels que l'altération des voies de signalisation de l'insuline et la résistance centrale et systémique à l'insuline, le stress oxydatif, l'inflammation ou même le dysfonctionnement mitochondrial (332,333). Certaines lésions vasculaires ainsi qu'une atrophie cérébrale au niveau de l'hippocampe et de l'amygdale sont aussi présents chez les personnes diabétiques, pouvant médier l'association entre diabète et démence (334,335).

Le diabète peut être traité par différents types de médicaments, dont la metformine ou les sulfamides hypoglycémiantes qui stimulent la sécrétion d'insuline, les gliptines bloquant la dégradation de certaines hormones intestinales et les gliflozines inhibant la réabsorption du glucose au niveau du rein. Peu d'études se sont intéressées à l'effet de différents traitements sur la cognition et la démence, et les résultats sont encore assez incertains. Une méta-analyse d'études de cohorte sur le diabète rapporte que les personnes diabétiques traitées à la metformine avaient une plus faible prévalence de troubles cognitifs, et de manière longitudinale, une incidence de la démence réduite, comparés à ceux ayant un autre traitement ou n'étant pas du tout sous traitement (336). Une autre analyse n'a pas retrouvé d'association protectrice entre la prise de metformine et l'incidence de la démence, avec un potentiel effet délétère de la thérapie à l'insuline, mais cette étude ne prenait pas en compte le degré de sévérité du diabète (336). Une revue Cochrane résume que le contrôle clinique du diabète avec un suivi de 5 ans chez plus de 11 000 sujets ne montrait pas d'impact sur le déclin cognitif ou la démence (337).

Pression artérielle et hypertension

L'hypertension est définie comme une pression trop élevée dans les vaisseaux sanguins, avec une pression artérielle systolique (moment où le cœur se remplit et éjecte le sang dans le réseau artériel) supérieure à 140 mmHg et diastolique à 90 mmHg (moment où le cœur se dilate et se remplit entre deux contractions). Son association avec le déclin cognitif et la démence a aussi été largement investiguée. Une méta-analyse de méta-analyses réalisée très récemment incluant 8 méta-analyses montre que l'hypertension en milieu de vie serait associée au risque de démence à des âges plus avancés, mais pas l'hypertension chez les séniors, avec une grande variabilité

dans la définition de l'hypertension et de la démence entre les études (81). Deux méta-analyses ne montrent pas d'association entre l'hypertension et la MA, alors que 3 autres montrent une association avec un plus grand risque de démence toutes causes, de démence vasculaire et de MA. Il se pourrait que la magnitude et la direction de l'association diffère selon l'âge, le sous-type de démence, et la métrique de mesure de la pression artérielle. Deux méta-analyses montrent que le risque de démence diffère selon le moment où l'hypertension est objectivée, l'association étant significative seulement quand l'hypertension était mesurée en milieu de vie, une hypertension à des âges avancés n'étant pas associée au risque de démence (338,339). Cela pourrait en partie être expliqué par le fait qu'un déclin de la pression artérielle à un âge avancé est associé ou potentiellement causé par le développement de la démence, et le biais de causalité inverse semble prépondérant dans l'étude de l'association entre hypertension tardive et incidence de la démence (340–342). Une hypertension chronique en milieu de vie pourrait favoriser l'athérosclérose (dépôts lipidiques dans les artères) et modifier le système vasculaire cérébral et ainsi favoriser le développement de la démence (343).

Les médicaments anti-hypertenseurs se divisent en plusieurs classes, les diurétiques thiazidiques agissant sur les reins et favorisant l'élimination du sel, les bêtabloquants ralentissant la fréquence cardiaque et limitant l'intensité de la pression que le sang exerce sur la paroi des artères, les inhibiteurs calciques facilitant le relâchement des artères, et les inhibiteurs de l'enzyme de conversion ainsi que les antagonistes des récepteurs à l'angiotensine 2 agissant sur certaines hormones. La prise d'un traitement anti-hypertenseur a largement été investiguée, et 4 méta-analyses ont suggéré une association avec un risque de démence réduit (344–347). Cette association était observée quel que soit le traitement, avec une réduction du risque encore plus importante si la baisse de pression artérielle due au traitement était grande.

Dyslipidémie et hypercholestérolémie

La dyslipidémie, définie comme une concentration anormale de cholestérol ou de triglycérides dans le sang, et plus particulièrement l'hypercholestérolémie, se manifestant par des concentrations trop élevées de cholestérol dans le sang accompagnée d'une augmentation du LDL-cholestérol, ont largement été étudiées en lien avec la démence. Les résultats sont mitigés, les définitions des mesures différant entre les études. Deux méta-analyses ont montré une association significative positive

entre de hauts niveaux de cholestérol et le risque de démence toutes causes (348,349), une autre n'ayant pas montré d'association (350). L'hypercholestérolémie tardive, diagnostiquée à un âge avancé, ne semblait pas associée au risque de démence (348). Cependant, dans la cohorte 3C, des taux plus élevés en LDL-Cholestérol et en cholestérol total étaient associés à un plus grand risque de MA chez 7470 sujets âgés de plus de 65 ans suivis pendant 13 ans (351).

Cette association pourrait être sous-tendue par différents mécanismes. L'hypercholestérolémie pourrait influencer l'intégrité de la BHE, et le cholestérol serait capable de promouvoir la voie de clivage de la protéine précurseur de l'amyloïde et d'augmenter la production de β -amyloïde dans le cerveau (352), d'autant que le taux de cholestérol peut influencer la production d'acides biliaires (primaires et secondaires), dont le lien avec la MA a été mis en évidence (271). De plus, certains variants génétiques impliqués dans la MA, tels que les gènes *APOE*, *CLU* ou *ABCA7* sont également impliqués dans le métabolisme lipidique et pourraient jouer un rôle dans l'hypercholestérolémie.

L'hypercholestérolémie peut être traitée par les statines, inhibant l'action d'une enzyme catalysant l'étape précoce de biosynthèse du cholestérol intracellulaire dans l'organisme. Une récente méta-analyse incluant 36 études d'observation comprenant en tout plus de 5 millions de sujets montre une association significative entre le fait de prendre ce traitement et un risque moindre de démence toute cause et de MA (353). Cependant, l'essai clinique PROSPER réalisé chez 5804 personnes âgées échoue à montrer une baisse du déclin cognitif chez les sujets traités par des statines comparés aux participants sous placebo (354,355).

Obésité

L'obésité, définie comme un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 30 kg/m², présente une relation avec le risque de démence non linéaire dans le temps. En effet, il a largement été montré que l'obésité avant 65 ans était associée à l'incidence de la démence à des âges plus avancés : c'est ce que montre une revue de la littérature basée sur 19 études longitudinales incluant presque 600 000 personnes âgées de 35 à 65 ans et suivies jusqu'à 42 ans (356). Une méta-analyse incluant plus de 1.3 millions d'adultes de plus de 18 ans montre qu'un IMC plus élevé mesuré avant une potentielle démence prodromale ou préclinique était associé à un plus grand risque de démence (357). Cependant, l'obésité et le surpoids, mesurés après 65 ans, montreraient plutôt

une association dans le sens protecteur avec le risque de démence, un IMC plus élevé étant associé à un moindre risque de démence ultérieure (358). Cela pourrait être dû à un biais de causalité inverse. En effet, trois études montrent une réduction accélérée de l'IMC dans les 8 années précédant le diagnostic chez des sujets déments par rapport aux personnes non démentes, expliquant ainsi l'association inverse entre obésité tardive et démence. La perte de poids avant le diagnostic pourrait être potentiellement sous-tendue pour une démence préclinique, et induirait ainsi un biais de causalité inverse (359–361). Enfin, une méta-analyse incluant 7 essais cliniques randomisés et 13 études longitudinales montre que la perte de 2 kg ou plus chez les adultes en surpoids ou en situation d'obésité était associée à une amélioration de la cognition, et plus particulièrement de certaines fonctions exécutives telles que l'attention ou la mémoire (362). Cependant, pour l'instant, aucune étude ne supporte l'hypothèse d'effets à long-terme de la perte de poids sur le risque de démence.

Les mécanismes sous-tendant le lien entre obésité en milieu de vie et démence impliqueraient potentiellement l'inflammation et la résistance à l'insuline, ainsi que l'augmentation du risque d'autres maladies cardiométaboliques en relation avec le vieillissement cérébral tels que le diabète ou l'hypertension (356,358,363,364).

Ainsi, la littérature sur l'association entre facteurs cardiométaboliques et vieillissement cérébral est ancienne et très fournie. Différents facteurs de santé cardiométabolique, particulièrement lorsqu'ils sont mesurés dysfonctionnels avant les premiers stades, même prodromaux, de la démence (notamment à la quarantaine), ont été associés au risque de démence et au déclin cognitif et représentent donc un levier d'action prometteur dans la prévention du vieillissement cérébral. Ces facteurs cardiométaboliques sont toutefois intimement liés au mode de vie et à la santé psychosociale, deux dimensions qu'il conviendra d'aborder également dans une approche intégrative.

1.3.1.2. Mode de vie

Plusieurs facteurs de mode de vie ont été identifiés comme prometteurs dans la prévention de la démence et du déclin cognitif, comme l'activité physique, le tabagisme, la consommation d'alcool, l'isolement social, la pratique d'une activité cognitivement stimulante ou bien même le stress et le sommeil.

Activité physique

L'étude du lien entre la pratique d'une activité physique et la démence existe depuis quelques décennies, et elle pourrait être une alternative efficace pour ralentir le déclin cognitif et retarder le développement de la démence. En effet, la pratique sportive pourrait améliorer certaines fonctions cognitives chez les personnes âgées en induisant la libération de facteurs neurotrophiques cérébraux (365,366) et de facteurs de croissance (367,368), facilitant potentiellement les changements cognitifs et structuraux dans des structures cérébrales impliquées dans certaines fonctions cognitives, telles que l'attention, la rapidité de traitement et la mémoire (369–373).

Dans les études d'observation, il a été montré que de plus grands niveaux d'activité physique étaient associés à une moindre incidence de démence toutes causes, de MA et de démence vasculaire (374). Ces associations persistaient pour la démence toutes causes et la MA dans les études à très long suivi (de plus de 20 ans) et dans les cohortes incluant des sujets plus jeunes (entre 30 et 55 ans). De plus, cette association semblait suivre un schéma dose-réponse, avec une association inverse linéaire. Aussi, il a été montré que la pratique de la marche rapide pendant plus de 30 min par jour était associée à un déclin cognitif ralenti, chez 18766 femmes américaines (375).

Les résultats des études d'intervention chez les personnes âgées non démentes sont plus hétérogènes, certaines montrant des bénéfices de la mise en place d'une activité physique sur les performances cognitives globales ou des fonctions cognitives spécifiques telles que la vitesse de traitement ou la mémoire, d'autres ne montrant pas d'effet bénéfique (376,377). L'essai LIFE (*Lifestyle intervention and independance for elders*), réalisé sur 1635 participants cognitivement sains sédentaires, a échoué à montrer un effet protecteur d'une intervention incluant marche, résistance et flexions sur 2 ans (378). Chez les personnes atteintes de démence, la pratique d'exercices de type aérobie montre pour la majorité une amélioration des performances cognitives dans les études d'intervention (379).

Les études observationnelles sur l'activité physique sont des études complexes, les pratiques d'activité physique changeant avec l'âge, le sexe, la classe sociale et la culture. De plus, les associations retrouvées peuvent témoigner à la fois d'une relation protectrice entre l'activité physique et la démence, mais aussi d'une relation de causalité inverse, les personnes pouvant potentiellement arrêter ou diminuer leur pratique d'activité physique du fait d'une démence prodromale. Ainsi, le bénéfice de

l'activité physique sur la démence reste encore à démontrer de façon formelle, même si la plupart des études suggèrent une relation protectrice.

Tabagisme

Environ 8 millions de personnes décèderaient prématurément du fait de la cigarette dans le monde, chaque année (380). En 2020, 22% de la population adulte était fumeuse régulière dans le monde (380) et en France, 32% des personnes âgées de 18 à 75 ans déclaraient fumer, cette prévalence s'élevant à 5% chez les plus de 75 ans (381).

Plusieurs processus neuropathologiques pourraient sous-tendre la relation entre tabagisme et vieillissement cérébral. Certains sont directs, tels que la neuroinflammation ou le stress oxydatif, et d'autres indirects via les facteurs cardiométaboliques qui représentent un facteur de risque important de démence (382).

Le fait de fumer a été associé au risque de développer une démence (MA, vasculaire ou toutes-causes) dans plusieurs méta-analyses (383–385). Il est probable que l'arrêt du tabac puisse réduire ce risque. En effet, une étude réalisée sur 50 000 hommes âgés de plus de 60 ans a montré que quand l'arrêt date de plus de 4 ans, le fait d'arrêter réduisait de manière substantielle le risque de démence pour les 8 années suivantes (386). Deux autres études ont montré que les anciens fumeurs ne voyaient pas leur risque augmenté par rapport aux individus n'ayant jamais fumé (383).

Une étude d'intervention testant l'arrêt de tabac chez des personnes âgées a montré que le fait d'arrêter de fumer diminuait le déclin cognitif sur 2 ans, arrivant à un déclin équivalent à celui des non-fumeurs. Cependant, les fumeurs, anciens et actuels, voyaient leur volume cérébral diminué par rapport aux non-fumeurs (387).

Consommation d'alcool

Une relation parabolique, « en U », entre la consommation d'alcool et le risque de démence a été rapportée : il est suggéré en effet que par rapport à des buveurs occasionnels et modérés, les personnes abstinentes ou buvant une grande quantité d'alcool seraient plus à risque de développer une démence. En effet, une étude récente exploitant les données de 15 cohortes différentes de différents pays et incluant près de 25 000 sujets âgés de plus de 60 ans a montré que comparativement aux personnes ne buvant jamais, les buveurs occasionnels (<1.6 g/j) avaient un risque de démence significativement diminué, de même pour les buveurs légers (entre 1.6 et 24.9 g/j) et

modérés (entre 25 et 45 g/j) (388). Enfin, aucune différence significative n'était retrouvée entre les anciens buveurs et les non-buveurs. De la même façon, une autre étude coréenne (cohorte rétrospective) réalisée sur presque 4 millions de participants âgés de 55 ans et suivis 6 ans en moyenne a montré que par rapport aux abstinents (0g d'alcool/j), les buveurs légers (<15g/j) et modérés (entre 15 et 30g/j) avaient un moindre risque de développer une démence, alors que les gros buveurs avaient un risque de démence significativement augmenté (389). De plus, dans cette étude, les gros buveurs ayant réduit leur consommation à modérée entre les deux suivis avaient un risque de démence significativement diminué.

Il est à noter que même si des consommations légères à modérées ont été associées à une diminution du risque de démence, mêmes des bas niveaux de consommation d'alcool ont été associés à une atrophie cérébrale plus importante et une augmentation des hypersignaux de la substance blanche dans plusieurs études (390–392).

Les mécanismes sous-tendant l'effet protecteur d'une consommation d'alcool légère à modérée comprennent un effet indirect via son association avec une réduction des maladies cardio-vasculaires (393), mais aussi un effet direct via une possible modulation des dépôts β -amyloïde et de la fonction glymphatique (394,395). Il est cependant possible également que ces associations soient dues à de la confusion résiduelle, insuffisamment contrôlée dans les études observationnelles ; les buveurs modérés ont souvent un mode de vie particulier, possiblement plus favorable à la santé que les non-buveurs, surtout si la catégorie de référence inclut les abstinents (396).

Cet effet potentiellement protecteur est à prendre avec précaution, l'alcool restant tout de même, quelle que soit la dose, un facteur de risque majeur d'autres maladies graves tels les cancers.

Interactions sociales

De nombreuses études suggèrent que le manque de contacts sociaux augmente le risque de démence. Arrivées à un certain âge, la majorité des personnes sont mariées, mais du fait de la différence d'espérance de vie des deux sexes, un nombre disproportionné de femmes perdent leur mari, réduisant ainsi leurs contacts sociaux. Il a été montré dans une méta-analyse incluant plus de 800 000 participants âgés que les individus seuls, qui ne se sont jamais mariés ou qui ont perdu leur conjoint, voyaient leur risque de développer une démence augmentée significativement de 40%

et 20%, respectivement, par rapport aux personnes toujours mariées au moment de l'étude (397). De la même façon, une grande méta-analyse (N=102 035) montre que des contacts sociaux fréquents (mesurés par l'activité et le réseau social) étaient associés à de meilleures fonctions cognitives sur le long-terme, quel que soit le sexe ou la durée de suivi (allant de 2 à 21 ans) (398). D'autres études de cohorte réalisées sur de gros échantillons et des populations de diverses zones géographiques (Royaume Uni ou Japon par exemple) allaient dans le sens d'une association inverse entre contacts sociaux et incidence de la démence (399,400). Tout cela suggère que malgré des variations culturelles dans la signification et la perception de l'isolement social, un effet protecteur des contacts sociaux serait observable, et ce de manière consistante entre les études (5). Il n'est cependant pas exclu que ces associations soient en partie imputables à un biais de causalité inverse, les individus souffrant de démence prodromale ayant pu s'isoler et diminuer la fréquence de leurs contacts sociaux.

Le concept de réserve cognitive pourrait sous-tendre la relation entre contacts sociaux et vieillissement cognitif : des contacts sociaux plus fréquents permettent d'exercer certaines fonctions cognitives comme le langage et la mémoire, renforçant la réserve cognitive et retardant ainsi possiblement l'apparition de la démence (400).

Très peu d'études d'intervention ont été réalisées, l'implémentation d'une intervention en interaction sociale s'avérant être assez complexe. Cependant, une seule revue de la littérature de moyenne qualité incluant 576 sujets âgés de plus de 60 ans ayant une cognition normale montre que des réunions facilitées et des discussions de groupes étaient associées à une amélioration de la cognition globale et à un plus grand volume cérébral (401).

Pratique d'une activité cognitivement stimulante

Il a largement été montré dans la littérature que la pratique régulière d'activités cognitivement stimulantes, comme la lecture, la peinture, les jeux type mots-fléchés, aller au cinéma et d'autres, était associée à un moindre risque de MA et de démence toutes causes (5). Une revue de la littérature réalisée en 2016 incluant 20 études a montré que quelle que soit la méthode d'estimation du degré d'engagement dans ces activités cognitivement demandeuses (en fréquence, de manière cumulée ou selon l'intensité), un plus grand engagement était associé à un moindre risque de démence (402). Deux principaux biais sont cependant souvent évoqués, la confusion par d'autres facteurs, tels que le niveau d'éducation ou le statut marital, et le biais de

causalité inverse, la non pratique de telles activités pouvant être expliquée par une démence prodromale, et non l'inverse (402,403). L'hypothèse d'un effet protecteur de ces activités sur la cognition reste cependant valable, l'implication de la réserve cognitive sous-tendant potentiellement cette relation (402). Des études récentes de grande taille confirment le lien entre activités cognitives stimulantes et vieillissement cognitif. Une étude chinoise de grande envergure réalisée sur 15 582 personnes âgées de plus de 65 ans montre que l'incidence de la démence était moindre chez les sujets pratiquant une activité intellectuelle à l'inclusion par rapport à ceux n'en pratiquant pas (404). Les mêmes résultats ont été retrouvés l'année dernière dans une étude anglaise réalisée sur presque 8000 sujets, où un plus grand engagement dans les activités cognitives était associé à un moindre risque de démence, et aucune interaction n'a été retrouvée avec d'autres facteurs de risque modifiables et non modifiables (405).

Une revue Cochrane incluant 36 études d'intervention « d'entraînement cognitif » chez les personnes âgées cognitivement saines ou avec des TCL, montre une amélioration dans le rappel verbal différé chez les participants à qui des entraînements cognitifs étaient proposés par rapport au groupe contrôle, pendant un temps d'intervention allant jusqu'à un an (406). De la même façon, l'entraînement cognitif améliorerait significativement les performances de reconnaissance, mais aussi d'autres fonctions cognitives telles que la mémoire de travail ou la vitesse de traitement par rapport aux contrôles (407).

Stress et sommeil

Les troubles du sommeil ont été associés à la déposition β -amyloïde (408,409), à l'inflammation, au métabolisme de la protéine tau, ainsi qu'à l'hypoxie et aux maladies cardiovasculaires, en jeu dans le vieillissement cognitif (409,410). Il se pourrait en fait que les troubles du sommeil activent la neuroinflammation, augmentant la charge amyloïde, amenant à la MA et entraînant ensuite, à la manière d'un cercle vicieux, à de nouveaux troubles du sommeil (411). Deux méta-analyses, incluant respectivement 19 (412) et 51 (413) cohortes montrent des résultats similaires : les troubles du sommeil déclarés par les participants (définis de manière large, comme le temps de sommeil, la qualité de sommeil, les anomalies du rythme circadien, l'insomnie et l'apnée du sommeil obstructive) étaient significativement associés à un plus grand risque de démence toutes causes mais aussi de MA, en comparaison des personnes ne déclarant pas souffrir de troubles du sommeil. De plus, une relation en forme de « U » existerait entre la durée de sommeil et le risque de

démence : une durée de sommeil insuffisante (<5h par nuit) ou trop élevée (>10h par nuit et 12.5h au total dans la journée) était associée à un risque plus élevé de démence et de troubles cognitifs (413).

Une méta-analyse réalisée en 2021 incluant 24 cohortes a montré que le stress était, comme les troubles du sommeil, associé à un risque plus élevé de démence, les résultats différant cependant selon la façon dont le stress a été mesuré (414). Plus spécifiquement, de plus hauts niveaux de stress perçu et l'exposition à au moins deux événements de vie stressants au cours de la vie étaient significativement associés à un risque plus élevé de démence toutes-causes, et de plus hauts niveaux de neuroticisme (trait de personnalité de personnes ayant une tendance persistante à ressentir des émotions négatives) étaient quant à eux associés à un plus grand risque de MA. Ces résultats étaient en accord avec une récente revue de la littérature concluant que de plus hauts niveaux de stress perçu et de neuroticisme étaient associés à un plus grand risque de démence (415). Plusieurs mécanismes pourraient sous-tendre cette association. Déjà, une exposition prolongée au cortisol en réponse au stress chronique pourrait amener à une dérégulation de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénal (416,417). Aussi, chez l'animal, l'exposition au stress et aux corticostéroïdes menait à des troubles cognitifs résultants de changement structuraux au niveau de l'hippocampe et du cortex préfrontal, induisant une réduction du nombre de synapses et un arrêt de la neurogénèse (418–420). Enfin, le stress pourrait aussi impacter le risque de démence via ses effets sur d'autres facteurs de risques de la démence, comme la consommation d'alcool, le tabagisme ou le manque de sommeil (421).

Les individus sont rarement exposés à un seul facteur environnemental, et leur étude en combinaison pourrait permettre de mieux capturer l'exposition environnementale dans son ensemble.

1.3.2. Combinaison de facteurs de risque du vieillissement cérébral

Etudes d'observation

Depuis une vingtaine d'année, des scores de risque de démence ont été développés, *a priori*. Ces scores consistent à faire la somme (de manière pondérée ou

non), de la présence ou non de différents facteurs en lien avec la démence. Les différents scores développés jusque présent et validés dans des populations externes sont résumés dans le **tableau 4**.

En 2006, le score *Cardiovascular risk factors, aging and incidence of dementia* (CAIDE) est développé dans la cohorte finlandaise du même nom, incluant des personnes âgées de 39 à 64 ans (422). Ce score inclut des facteurs socio-démographiques (l'âge, le sexe et le niveau d'éducation), des facteurs cardiométaboliques (l'hypertension, l'hypercholestérolémie et l'obésité) et l'activité physique comme seul facteur de mode de vie, chaque composante étant pondérée par la magnitude de son association avec le risque de démence dans la cohorte princeps. Initialement, parmi 1409 participants, les personnes avec un haut score (présentant tous les facteurs de risque) avaient un risque doublé de démence comparé à ceux ayant un score faible (présentant aucun facteur de risque), pendant 20 ans de suivi (422). Ce score a été validé à plusieurs reprises dans d'autres études de cohortes (423–425).

Six ans plus tard, l'index *Australian national university alzheimer's disease risk* (ANU-ADRI) est développé, intégrant plus de facteurs que le précédent. Il intègre, comme les score CAIDE, les facteurs sociodémographiques, mais le diabète est rajouté dans la catégorie cardiométabolique, et plusieurs facteurs de mode de vie sont en plus considérés (activité physique, tabagisme, consommation d'alcool, engagement social, pratique d'activités cognitivement stimulantes, alimentation et exposition aux pesticides). Enfin, contrairement au score CAIDE, la dépression et les commotions cérébrales sont prises en compte (426). Il est développé sur la base d'une synthèse des données existantes, chaque facteur étant pondéré par les odds ratio (OR) obtenus dans des méta-analyses antérieures ou dans des cohortes de bonne qualité. Cet index a été validé dans plusieurs études de cohortes, associé à chaque fois à la MA, la démence toutes causes et aux troubles cognitifs légers (427,428).

Certaines approches se sont focalisées sur les maladies cardiovasculaires. En 2010, l'*American Heart Association* développe un outil pour monitorer le niveau de santé cardiovasculaire, pour la prévention primordiale des maladies cardiovasculaires dans la population générale (429). Cet outil consiste en un score estimant un profil de santé cardiovasculaire optimale, le *life simple 7* combinant sept items : 3 facteurs de mode de vie (activité physique, alimentation, tabagisme) et 4 mesures biologiques (hypertension, hypercholestérolémie, obésité et diabète). Etant donné le lien entre la

santé cardiovasculaire et la santé cérébrale, l'utilité de cet outil pour la prévention des maladies cérébrales a été revendiquée (430,431). En effet, il a été associé avec le risque de développer une démence et avec un moindre déclin cognitif dans plusieurs études (432,433). Par exemple, dans la cohorte des trois cités (3C), chaque composante optimale supplémentaire était associée à une diminution de 10% du risque de développer une démence chez 6626 participants (433).

Enfin, certains scores ont privilégié les facteurs modifiables, actionnables en prévention. En 2017, le score *lifestyle for brain health* (LIBRA) est développé, basé sur un consensus d'experts et une méta-analyse dans l'étude de cohorte *Maastricht aging cohort study* (434,435). Contrairement aux score CAIDE et ANU-ADRI, il n'inclue pas les facteurs sociodémographiques, mais comprend les facteurs cardiométaboliques (hypertension, hypercholestérolémie, obésité, diabète et maladies coronariennes), de mode de vie (activité physique, tabagisme, consommation d'alcool, pratique d'une activité cognitivement stimulante, alimentation et apport alimentaires en acides gras saturés et poly-insaturés), ainsi que d'autres facteurs de santé comme la dépression et le dysfonctionnement rénal. Dans l'étude princeps, l'augmentation d'un point de ce score était associée à un risque de démence augmenté de 25%, ajusté sur l'éducation, l'âge et le sexe. L'association entre ce score et l'incidence de la démence a été validée dans d'autres cohortes, qu'il soit estimé en milieu de vie ou à des âges plus avancés (436–438), y compris en relation avec marqueurs IRM du vieillissement cérébral (439).

Tableau 4 : Différents scores de risque de démence et leurs composantes

		CAIDE	ANU-ADRI	Life' simple	LIBRA
				7	
Facteurs constitutionnels/ socio-démographiques	Age				
	Sexe				
	Niveau d'éducation				
Santé cardio-métabolique	Hypertension				
	Hypercholestérolémie				
	Obésité				
	Diabète				
	Maladie coronarienne				
Mode de vie	Activité physique				
	Tabagisme				
	Consommation d'alcool				
	Engagement social				
	Activité cognitive				
	Alimentation				
	Exposition aux pesticides				
	Rapport AGS/AGI				
Autres facteurs de santé	Dépression				
	Commotions cérébrales				
	Dysfonction rénale				

AGS/AGI : rapport d'apports alimentaires en acides gras saturés sur acides gras insaturés ; ANU-ADRI : *Australian national university alzheimer's disease risk index* ; CAIDE : *Cardiovascular risk factors, aging and incidence of dementia* ; LIBRA : *lifestyle for brain health risk score*

Interventions multi-domaines

La combinaison de facteurs de risque représente une piste encourageante pour la prévention de la démence et du déclin cognitif associé, et plusieurs essais cliniques ont été réalisés dans le but de tester des interventions multi-domaine (alliant plusieurs changements de comportement ou la gestion de plusieurs facteurs de risque) sur la cognition ou l'incidence de la démence. Ces interventions, au nombre de 9, sont résumées dans une revue Cochrane publiée en 2021 (440).

Deux essais se sont intéressés à l'incidence de la démence comme critère principal de jugement. L'essai clinique PreDIVA (ISRCTN29711771), terminé en 2016, (441) a inclus au total 3526 sujets âgés de 70 à 78 ans ayant au moins une plainte spontanée de mémoire dans des consultations de médecine générale, suivis six années durant pour l'incidence de la démence. L'intervention consistait en une gestion des facteurs de risque cardiométaboliques (poids, pression artérielle, diabète et dyslipidémie) et des conseils personnalisés en nutrition, sur la pratique d'activité physique et sur la gestion du tabagisme chez les fumeurs. Aucun bénéfice n'a été retrouvé, le groupe d'intervention ne montrant pas d'incidence de démence significativement diminuée par rapport au groupe contrôle. Ce manque d'effet pourrait

en partie être expliqué par la population peu à risque avec une santé cardiovasculaire déjà de bonne qualité en moyenne à l'inclusion, et un temps de suivi relativement court pour étudier l'incidence d'un syndrome se développant sur un temps très long. L'essai clinique look AHEAD (NCT00017953), terminé en 2017, a suivi pendant 10 ans 3802 américains âgés de 45 à 76 ans ayant un IMC supérieur à 25kg/m², ou souffrant d'un diabète de type 2 (442). L'intervention ciblant la perte de poids et l'activité physique ne montrait pas d'effet significatif de l'intervention sur l'incidence de la démence et de troubles cognitifs légers.

Trois essais cliniques se sont intéressés au déclin cognitif comme critère d'évaluation, en utilisant un score composite de la cognition. L'essai FINGER (NCT01041989) a suivi pendant 2 ans 1260 sujets âgés de 60 à 77 ans à risque de démence (ayant un score CAIDE ≥ 7 , intégrant facteurs sociodémographiques et cardiométaboliques principalement) (329). L'intervention comprenait des conseils diététiques, un programme d'activité physique, des entraînements cognitifs, des activités sociales et une gestion des facteurs de risque métaboliques et cardiovasculaires. Le groupe d'intervention a montré une amélioration de 25% des fonctions cognitives par rapport au groupe contrôle, de manière significative. Il est à noter qu'une étude post-hoc stratifiant les analyses entre les porteurs APOE4 et les non porteurs a été réalisée. La différence de performance cognitive entre le groupe d'intervention et le groupe contrôle était trois fois plus élevée chez les personnes porteuses de l'allèle à risque (n=362, différence de score de cognition par an entre le bras d'intervention et contrôle = 0.04 [0.00 ; 0.07]) que chez les non porteuses (n=747, différence = 0.01 [-0.01 ; 0.04]), même si la différence entre les deux groupes de stratification n'était pas significative (10). L'essai MAPT, incluant 1680 sujets âgés de plus de 70 ans se plaignant spontanément de perte de mémoire ou présentant une perte d'autonomie dans au moins une activité quotidienne et suivis 3 ans, a testé l'efficacité d'une intervention comprenant des ateliers de stimulation cognitive, un programme d'activité physique, des conseils diététiques et la gestion des facteurs de risque cardiovasculaires et des altérations fonctionnelles, le tout combiné ou non à une supplémentation en n-3 AGPI, sur l'évolution de scores composites de cognition (9). Cet essai n'a pas montré d'effet bénéfique de cette intervention sur le déclin cognitif. Cependant, une stratification sur le niveau de score CAIDE a montré un effet bénéfique de cette intervention chez les sujets ayant un score CAIDE supérieur à 6 points (et donc plus à risque de démence). De plus, une stratification sur le statut APOE4 montrait un

effet de l'intervention plus grand chez les porteurs ($n=71$, différence de déclin cognitif pendant les 3 ans entre le bras d'intervention et le contrôle = $0.24 [0.04 ; 0.44]$) que chez les non porteurs ($n=233$, différence = $0.05 [-0.06 ; 0.17]$), bien que cette différence n'était pas statistiquement significative. Enfin, l'essai clinique européen HATICE (ISRCTN48151589) ayant comme critère d'évaluation principal la santé cardiovasculaire, n'a pas montré d'effet d'une intervention digitale de conseils concernant les facteurs de risque cardiovasculaires ainsi que le tabagisme, l'activité physique et la nutrition sur des scores composites de cognition pendant 18 mois de suivi (443).

Deux essais cliniques multi-domaines ont utilisé l'échelle *Montreal cognitive assessment* (comprenant la mémoire à court terme, les habilités visuospatiales, les fonctions cognitives, l'attention, la concentration, la mémoire de travail, le langage et l'orientation dans le temps et dans l'espace) comme critère d'évaluation principal. Un essai clinique chinois (KYLSSL2014-135-01) a évalué pendant 2 ans 510 travailleurs à la mine d'âge moyen 46 ans ayant une haute pression artérielle et/ou prenant un traitement hypertenseur (444). L'intervention consistant en des conseils sur : l'alimentation, la pratique d'exercice physique, le tabagisme, la consommation d'alcool et la gestion de l'hypertension, du poids et du stress. Le groupe d'intervention a montré une amélioration du score de cognition par rapport au groupe contrôle. Un essai Taiwanais d'une durée d'un an incluant 1082 participants âgés de plus de 65 présentant des altération subjectives de mémoire ou la perte d'un *Instrumental Activities of Daily Living* (IADL) a montré, de manière similaire, une amélioration de la cognition dans le groupe d'intervention consistant en des conseils diététiques et sur la santé en général, ainsi que des sessions d'entraînement cognitif et d'exercices physiques (445).

Six essais se sont concentrés sur le déclin cognitif estimé par le score MMSE. De manière générale, aucune de ces études n'a montré un effet significatif d'interventions multi-domaines sur la cognition évaluée avec le MMSE (9,329,440,441,446–448). Il est cependant à noter que le MMSE n'est pas un outil développé pour quantifier le déclin cognitif au cours du temps et qu'il a un effet plancher important (ne détectant pas les troubles cognitifs légers aux stades précoces) (440).

Ainsi, quelques résultats d'interventions multi-domaines sont encourageants, notamment ceux de l'étude FINGER sur le déclin cognitif, mais le niveau de preuve reste encore très modeste et les effets globalement assez faibles. Des analyses post-hoc dans ces essais suggèrent l'existence de groupes à risque pour le vieillissement cognitif, chez qui les interventions multi-domaines pourraient être plus efficaces. Que ce soit en prenant en compte le risque basal de démence reflété par un score de risque de démence combinant plusieurs facteurs de risque (score CAIDE), ou la susceptibilité génétique au travers du génotype APOE, les interventions semblaient plus efficaces dans les groupes plus à risque (dans les essais FINGER et MAPT notamment). Cela suggère que des approches ciblant mieux les populations vulnérables pourraient rendre ces interventions plus efficaces en pratique. Ainsi, de nouvelles études d'observations sont nécessaires pour identifier les groupes à risque dans le but d'affiner les stratégies de prévention du vieillissement cognitif pathologique.

1.3.3. Interaction entre susceptibilité génétique et combinaison de facteurs de risque modifiables du vieillissement cognitif

Le concept traditionnel de prévention consiste en l'approche « one-size-fits-all », c'est-à-dire qu'une stratégie universelle est proposée à toute la population, quelles que soient les caractéristiques individuelles ou la susceptibilité génétique à développer la maladie d'intérêt. Les recommandations nutritionnelles françaises promouvant la consommation de « 5 fruits et légumes par jour » pour améliorer l'apport alimentaire en fruits et légumes », ou « maintenir un poids normal » pour la gestion des maladies cardiovasculaires, illustrent cette approche (449). Pour autant, le développement de maladies complexes telles que la démence étant lié à de multiples facteurs génétiques, cliniques et environnementaux, avec probablement de complexes interactions gène-environnement sous-jacentes, non encore détectées, cette approche « one-size-fits-all » est probablement insuffisante - d'autant que les résultats des essais cliniques, même multi-domaines, qui ont ciblé le plus souvent la population générale et proposé des approches préventives « universelles », ont été décevants.

L'épidémiologie de précision, dérivant directement de la médecine de précision, est définie comme une approche intégrant des informations sur les facteurs sociodémographiques, cliniques, anthropométriques et comportementaux, ainsi que les interactions omiques- et gène-environnement, dans l'intention d'estimer au mieux le risque individuel de développer une maladie. Le but de l'épidémiologie de précision est de développer des stratégies de prévention de précision est de proposer la meilleure intervention au moment le plus pertinent, à la population cible la plus à même de changer ses comportements, et qui en bénéficiera le plus au vu de son risque de maladie (240).

La recherche d'interactions gène-environnement représente l'un des fondamentaux de l'épidémiologie de précision. Elles font l'hypothèse d'un effet différent d'une exposition environnementale sur le risque de maladie chez des individus ayant des génotypes différents (450). Ainsi, l'association entre les facteurs de risque environnementaux et le vieillissement cérébral pourrait être différente chez les personnes porteuses de l'APOE4 par rapport aux personnes non porteuses. La plausibilité biologique de telles interactions est étayée par la littérature. Par exemple, le gène APOE est impliqué dans le transport des lipides, et chez deux personnes ayant la même alimentation, la biodisponibilité des lipides alimentaires pourrait différer selon le statut génétique (451).

Dans ce travail de thèse, nous nous intéresserons en priorité aux études ayant testé les interactions gène-environnement dans le vieillissement cérébral, avec une approche intégrée des facteurs environnementaux par profils (voir chapitre **1.3.2. Combinaison de facteurs de risque du vieillissement cérébral**).

Plusieurs études épidémiologiques se sont intéressées à la potentielle interaction entre susceptibilité génétique et combinaison de facteurs de mode de vie et cardiovasculaires en population âgée, et sont résumées dans le **tableau 5**.

Deux études réalisées en 2019 montrent une interaction significative entre susceptibilité génétique et facteurs de risque modifiables sur l'incidence de la démence. Une étude néerlandaise se basant sur les données de la *Rotterdam Study* de 6352 personnes âgées de 69 ans en moyenne, a montré une interaction significative entre un score combinant des facteurs de mode de vie (comprenant tabagisme, dépression, diabète, activité physique, isolement social et alimentation) et le statut APOE4, ainsi qu'avec un score de risque génétique (452). Les auteurs montrent que dans cette

population, le score de mode de vie n'était associé à l'incidence de la démence que chez les non porteurs APOE4, ou en d'autres termes, les individus à moindre susceptibilité génétique. Parmi eux, les individus avec un score défavorable (≤ 2 facteurs protecteurs) voyaient leur risque de démence multiplié par 2.5 (IC 95% 1.4 ;4.5) par rapport aux individus avec un score favorable (≥ 4 facteurs protecteurs), alors que parmi les porteurs APOE4, le risque n'était pas augmenté (HR = 1.00 [0.79;1.28]). De la même façon, une étude finlandaise réalisée dans la cohorte CAIDE chez des participants en milieu de vie et âgés montrait une interaction significative entre le score de risque LIBRA et le statut APOE chez 604 sujets âgés. Le HR pour l'augmentation d'un point de LIBRA était de 1.26 (IC 95% 0.96;1.64) chez les non porteurs APOE4 et de 0.73 (0.53-1.01) chez les porteurs (437).

Quatre autres études ne retrouvent pas d'interaction significative entre la susceptibilité génétique et les facteurs de risque modifiables sur le risque de démence. Une étude publiée en 2019 réalisée dans la UK Biobank incluant près de 200 000 participants de 64 ans en moyenne a montré qu'un score de mode de vie comprenant 4 facteurs de risque (tabagisme, activité physique, alimentation et consommation d'alcool) était bien associé à l'incidence de la démence, qu'importe la susceptibilité génétique, évaluée par un score de risque génétique (453). Dans le groupe à haut risque génétique, les personnes avec un mode de vie défavorable (0 ou 1 facteurs protecteurs) voyaient leur risque de démence multiplié par 2.8 (2.1 ;3.8) par rapport aux personnes avec un mode de vie favorable (3 ou 4 facteurs protecteurs). Le risque était multiplié par 2.3 (1.8 ;3.0) chez les personnes à faible susceptibilité génétique. Une autre étude anglaise réalisée chez 1211 sujets de la *Framingham heart study* montre également une absence d'interaction entre le score de santé cardiovasculaire optimale *Life's simple 7* et la susceptibilité génétique reflétée par le statut APOE4 ou par un score de risque génétique (454). Dans cette étude, le score de santé cardiovasculaire était associé au risque de développer une démence, quelque que soit la susceptibilité génétique des individus, la magnitude d'association semblant plus grande chez les personnes à risque. Une étude américaine menée dans la cohorte WHICAP et incluant 1987 sujets âgés de 75 ans en moyenne ne montre également pas d'interaction entre le score *Lifesimple 7* et le statut APOE4 dans l'incidence de la démence (Pint = 0.2) (455). En effet, même si le Lifesimple 7 n'était associé significativement que chez les non porteurs de l'allèle à risque, l'ordre de grandeur de l'association était relativement égal dans les deux groupes (pour l'augmentation d'une composante optimale, HR = 0.93

[0.83 ;1.05] chez les porteurs et HR = 0.90 [0.83 ;0.97] chez les non porteurs). Enfin, une dernière réalisée dans deux population américaines différentes, 8823 américains de type européens et 2738 afro-américains de la cohorte ARIC, ne montrait pas d'interaction significative entre le *life' simple* 7 et un score de risque génétique de MA, dans les deux populations (456).

De façon similaire, deux études présentant comme évènement d'intérêt principal le déclin cognitif, n'ont pas montré d'interaction significative entre une augmentation des facteurs de risque de démence et la susceptibilité génétique. Une étude américaine réalisée chez 3886 sujets âgés de la cohorte CHAP montrait qu'un score de mode de vie sain (comprenant l'adhésion au profil MIND, l'engagement dans des activités cognitives, l'absence de tabagisme, la pratique d'exercice physique une consommation modérée d'alcool) était associée à un moindre déclin cognitif chez les porteurs comme les non-porteurs de l'APOE4 (457). Pour chaque augmentation d'un facteur protecteur, le déclin cognitif était ralenti de 0.004 unité/an (IC 95% 0.002 ;0.006) chez les non-porteurs et de 0.009 unités/an (0.004 ;0.013) chez les porteurs (457). Une étude chinoise réalisée chez presque 30 000 sujets âgés a montré des résultats similaires, avec un score de mode de vie favorable (comprenant l'activité physique, l'alimentation, la consommation d'alcool, le tabagisme, la pratique d'une activité cognitive et le contact social) significativement associé au déclin cognitif quel que soit le statut APOE4 (458). Chez les non porteurs, les taux de déclin étaient inférieurs de 0.029 (IC 95% 0.019 ; 0.039) point/an pour les participants ayant un mode de vie favorable (≥ 4 facteurs protecteurs) par rapport aux participants ayant un mode de vie défavorable (0 ou 1 facteur protecteur) et chez les porteurs, la différence de déclin était de 0.027 (0.019;0.039) point/an.

Ces études suggèrent un bénéfice potentiel d'un mode de vie sain et d'une santé cardiovasculaire optimale sur le vieillissement cérébral, quelle que soit la susceptibilité génétique des individus, avec une magnitude d'association potentiellement plus grande dans le groupe à haut risque génétique. Pour autant, deux études montrent le contraire. Aucune étude n'a été faite dans la population française, et surtout, la façon de prendre en compte les facteurs environnementaux était très hétérogène, aucune étude n'intégrant de façon complète l'ensemble des principaux facteurs de risque de démence. Une des raisons des divergences entre études est la possibilité de biais de survie compétitive avec l'APOE4 ; le risque compétitif par le décès doit donc être pris en compte dans les nouvelles études d'interaction gène-environnement, où le statut APOE mais aussi les facteurs de risque environnementaux sont fortement associés au risque de décès. Enfin, peu d'étude ont considéré la susceptibilité génétique dans sa globalité, en dehors de l'allèle APOE4.

Tableau 5 : Etudes de cohorte investiguant l'interaction entre combinaison de facteurs de risque modifiables et susceptibilité génétique sur l'incidence de la démence et le déclin cognitif en population âgée

Auteur, journal, année	Pays, Nom de l'étude, Effectif (âge moyen à l'inclusion) Durée de suivi	Score de mode de vie / cardiovasculaire	Risque génétique Effectifs des strates	Evènement d'intérêt Modèle de regression	Significativité de l'interaction et résultat principal
Licher S. et al, Nature med, 2019 (452)	Pays-bas, Rotterdam study, N= 6352 (69 ans) Suivi médian de 14.1 ans	Score de facteurs de risque modifiables (6 facteurs) - Tabagisme - Dépression - Diabète - Activité physique - Isolement social - Alimentation	Statut APOE4 : porteur d'au moins un allèle ou non porteur N= 3605 non porteurs N= 1747 porteurs PRS : 27 variants génétiques issus de différentes GWAS (459-463)	Incidence de la démence Modèles de Cox	Interaction statistiquement significative (p=0.02) Le score de mode de vie n'était pas associé à l'incidence de la démence, chez les porteurs APOE4. - Chez les non porteurs : HR =2.51 (IC 95% 1.40-4.48) pour les participants avec un score défavorable (≤ 2 facteurs protecteurs) vs. Favorable (> 4 facteurs protecteurs) - Chez les porteurs : HR = 1.00 (0.79;1.28)
Deckers K. et al, Int J. Geriatr Psych 2019 (437)	Finlande, CAIDE, N=604 (70 ans) Suivi moyen de 28.9 ans	LIBRA (10 composantes sur les 13) - Maladies cardiovasculaires - Diabète - Hypercholestérolémie - Hypertension - Dépression - Obésité - Tabagisme - Activité physique - Maladie rénale	Statut APOE4 : porteur d'au moins un allèle ou non porteur	Incidence de la démence Modèles de Cox	Interaction statistiquement significative (p=0.01) Le HR pour l'augmentation d'un point de LIBRA était de 1.26 (0.96;1.64) chez les non porteurs APOE4 et de 0.73 (0.53-1.01) chez les porteurs.
Lourida I. et al, JAMA, 2019 (453)	Royaume-Uni, UK Biobank, N = 196 383 (64 ans) suivi médian de 8 ans	Score de mode de vie sain, incluant 4 facteurs : - Tabagisme - Activité physique - Alimentation - Consommation d'alcool	PRS incluant APOE4 au seuil de $p < 0.5$, incluant 249 273 SNPs Catégorisé en risque faible (1er quintile), moyen (quintile 2 à 4) et élevé (dernier quintile) (463) N=39 276 à faible risque N=39 277 à risque élevé	Incidence de la démence Modèles de Cox	Interaction non significative (p=0.99) Le score de mode de vie était associé à la démence, quel que soit le risque génétique - dans le groupe à haut risque génétique : HR = 2.83 (IC 95% 2.09-3.83) en comparant les personnes avec un mode de vie défavorable (0 ou 1 facteur protecteur) vs les personnes avec un mode de vie favorable (3 ou 4 facteurs protecteurs) - Chez les personnes à bas risque génétique : HR=2.30 (1.79-2.97)

Auteur, journal, année	Pays, Nom de l'étude, Effectif (âge moyen à l'inclusion) Durée de suivi	Score de mode de vie / cardiovasculaire	Risque génétique Effectifs des strates	Evènement d'intérêt Modèle de regression	Significativité de l'interaction et résultat principal
Peloso G.M. et al, Neurology, 2020 (454)	Royaume-Uni, Framingham Heart Study, N=1211 (61.8 ans) Suivi moyen de 8.4 ans	Lifesimple 7 - Alimentation - Activité physique - Tabagisme - Pression artérielle - Glycémie - Cholestérol total - IMC	Statut APOE4 : porteur d'au moins un allèle ou non porteur N= 935 non porteurs N= 276 porteurs GRS excluant APOE4 : 23 variants génétiques Catégorisé en risque faible (1er quintile), moyen (quintile 2 à 4) et élevé (dernier quintile) (464)	Incidence de la démence Modèles de Cox	Interactions non significatives (p=0.99 et 0.16 pour le GRS et l'APOE, respectivement) Le score de santé cardiovasculaire était significativement associé au risque de développer une démence, quel que soit la susceptibilité génétique.
Dhana K. et al, Am J Epidemiol, 2021 (457)	USA, CHAP, N=3886 (71.5 ans) Suivi maximal de 17 ans	Score de mode de vie sain, incluant 5 facteurs - profil alimentaire MIND - Activités cognitives - Absence de tabagisme - Exercice physique modéré ou intense - Consommation d'alcool légère à modérée	Statut APOE4 : porteur d'au moins un allèle ou non porteur N=2617 non porteurs N=1269 porteurs	Déclin cognitif (score composite de 4 tests de performances cognitives) Modèles linéaires à effet mixte	Interaction non significative (p=0.2) Le score de mode de vie était significativement associé au déclin cognitif chez les porteurs et non porteurs APOE4 Pour chaque augmentation d'un facteur protecteur dans le score : - Chez les non-porteurs APOE4 : déclin cognitif ralenti de 0.004 unité/an (95% IC : 0.002;0.006) - Chez les porteurs : 0.009 unités/an (0.004;0.013)
Guo J. et al, Alzheimers Dement, 2021 (455)	USA, WHICAP, N=1987 (75.3 ans) Suivi moyen de 5.8 ans	<i>Life' simple 7</i> - Alimentation - Activité physique - Tabagisme - Pression artérielle - Glycémie - Cholestérol total - IMC	Statut APOE4 : porteur d'au moins un allèle ou non porteur N=1462 Non porteurs N=525 porteurs	Incidence de la démence Modèles de Cox	Interaction NS (p=0.2) Association entre le <i>Life' simple 7</i> significative seulement chez les non-porteurs (HR=0.90 [IC 95% 0.84;0.97])
Tin A. et al, Neurology, 2022 (456)	USA, ARIC, N= 8823 américains européens (AE) (54.3 ans) & N=2738 américains	Lifesimple 7 - Alimentation - Activité physique - Tabagisme - Pression artérielle	PRS pour chaque population AE : seuil de p-valeur à 5.5×10^{-7} , 44 SNP catégorisé en quintiles (463)	Incidence de la démence	Interactions non significatives: le <i>Life' simple 7</i> était associé au risque incident de démence quel que soit le risque génétique des participants AE : HR=0.89 (0.84;0.94) pour l'augmentation

Auteur, journal, année	Pays, Nom de l'étude, Effectif (âge moyen à l'inclusion) Durée de suivi	Score de mode de vie / cardiovasculaire	Risque génétique Effectifs des strates	Evènement d'intérêt Modèle de regression	Significativité de l'interaction et résultat principal
	africains (AA) (53.5 ans), suivi médian de 26 ans	- Glycémie - Cholestérol total - IMC	AA : seuil de p-valeur à 3.6×10^{-6} , 9 SNP (465) Catégorisé en tertiles Statut APOE4 chez les AE: e4/e4 (n=164), e2/4 ou e3/4 (n=2201), e3/3 (n=5000) et e2/2 ou e2/3 (n=1101)	Modèles de Cox cause-spécifique	d'un point de <i>Life' simple</i> 7 chez les participant à bas risque génétique et HR=0.92 (0.88;0.96) chez les participants avec un haut risque génétique (idem quand on considère le risque APOE) AA: HR=0.99 (0.91;1.07) pour l'augmentation d'un point de <i>Life' simple</i> 7 chez les participant à bas risque génétique et HR=0.94 (0.89;1.01) chez les participants avec un haut risque génétique (idem quand on considère le risque APOE4)
Jia J. et al, BMJ, 2023 (458)	Chine, COAST, N=29 075 (72.2 ans) Suivi moyen de 6.65 ans	Score de risque modifiables (6 facteurs) - Activité physique - Alimentation - Consommation d'alcool - Tabagisme - Activité cognitive - Contact social	Statut APOE4 : porteur d'au moins un allèle ou non porteur N=23 136 Non porteurs N=5939 porteurs	Déclin cognitif (Auditory Verbal Learning test) Modèles linéaires mixtes	Interaction non significative (p=0.5) Le score de mode de vie était significativement associé au déclin cognitif chez les porteurs et non porteurs APOE4 - Chez les non porteurs : les taux de déclin étaient inférieurs de 0.029 (IC 95% 0,019 à 0,039) point/an pour les participants ayant un mode de vie favorable (4 à 6 facteurs protecteurs) par rapport aux participants ayant un mode de vie défavorable (0 ou 1 facteur protecteur) - Chez les porteurs : taux de déclin inférieur de 0.027 (IC 95% 0.019;0.039) points/an chez les individus avec un mode de vie favorable par rapport à ceux en ayant un favorable

Abréviations : AA : Afro-américains ; AE : américains-européens ; IMC : Indice de masse corporelle ; MIND : Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay ; PRS : Polygenic risk score

1.4. Bilan de l'état des connaissances et objectifs spécifiques

1.4.1. Bilan de l'état des connaissances

La démence, dont la prévalence devrait tripler d'ici une trentaine d'années, est un syndrome complexe. L'étiologie des pathologies sous-jacentes reste encore méconnue, et semble résulter de facteurs génétiques, sociodémographiques et environnementaux. Les traitements mis en place sont encore peu efficaces, et la prévention représente le premier levier d'action. La prévention traditionnelle, « one-size-fits-all », ayant pour l'instant échoué à proposer des stratégies de prévention efficaces, la prévention de précision semble plus prometteuse. Il est important de proposer la meilleure formulation, aux personnes les plus susceptibles d'en bénéficier, et dans la bonne fenêtre temporelle. Les expositions environnementales sont co-occurentes chez les individus, et peuvent jouer un rôle additif et potentiellement synergétique. La considération des facteurs de mode de vie dans leur ensemble, via l'approche par profil, permet de prendre en compte leurs corrélations et potentiels effets additifs, et de mieux estimer le risque de démence imputable à l'exposition environnementale dans son ensemble.

La nutrition fait partie des facteurs de mode de vie candidats intéressants pour la prévention des pathologies du vieillissement cérébral de par ses implications dans de multiples mécanismes du vieillissement cérébral et son lien avec les autres facteurs de risque de la démence. Vingt années de recherche préclinique et épidémiologique ont établi l'implication d'au moins 7 familles de nutriments (n-3 AGPI, vitamines B, C, D et E, caroténoïdes et polyphénols) dans le vieillissement cérébral. Néanmoins, les études épidémiologiques ont été inconstantes, beaucoup montrant des associations robustes, alors que certaines études ne montrent aucun lien, et les études cliniques (de supplémentation notamment) ont échoué pour la plupart. L'alimentation consistant en réalité en une exposition multidimensionnelle, matérialisée sous la forme de profils alimentaires, la combinaison de nutriments idéale n'a pas encore été déterminée, et les essais cliniques multi-nutriments sont tout aussi décevants. Cela peut être expliqué par plusieurs facteurs.

Une des premières raisons potentielles à l'échec des essais de supplémentation en nutrition est le manque de considération du statut nutritionnel des sujets à

l'inclusion. Certaines études (MAPT et *Women's antioxidant and folic acid cardiovascular study* par exemple) montrent que n'intervenir que chez les sujets en déficience pour les nutriments d'intérêt pourrait être plus efficace, mais les études n'intègrent encore que rarement le statut basal pour le nutriment de supplémentation comme critère d'inclusion en recherche clinique. Par ailleurs, des études observationnelles exploratoires suggèrent que ce sont des combinaisons de nutriments plutôt que des nutriments isolés qui seraient plus à même d'être efficaces. L'implémentation d'un outil universel pour le dépistage de profils nutritionnels à risque afin d'identifier les personnes les plus susceptibles de bénéficier d'une supplémentation multi-nutriments en prévention pourrait permettre de définir de nouveaux essais préventifs dans le domaine. Une deuxième raison potentielle à l'échec des essais préventifs est une mauvaise spécification des cibles préventives optimales. Des profils alimentaires neuroprotecteurs ont été développés, tel que le profil MIND spécialement conçu pour la prévention des pathologies du vieillissement cérébral, mais les connaissances sont encore embryonnaires sur le substratum biologique associé. L'essai clinique MIND dont les résultats viennent d'être publiés (466) n'a pas réussi à montrer l'efficacité d'une alimentation de type MIND, versus une diète contrôle hypocalorique, pendant 3 ans chez des individus en surpoids à l'entrée dans l'étude. Au-delà des biomarqueurs nutritionnels classiques (n-3 AGPI, vitamine D, etc.), l'essor de la métabolomique pourrait permettre d'étayer le développement d'approches alimentaires a priori, comme le MIND, en identifier les signatures métabolomiques de ces profils alimentaires neuroprotecteurs. Au total, les biomarqueurs devenus classiques en épidémiologie nutritionnelle, tout comme la science plus nouvelle du métabolome alimentaire, devraient permettre de mieux caractériser le statut nutritionnel des participants mieux à même de répondre aux interventions nutritionnelles, et affiner la caractérisation des interventions optimales.

Dans le prisme de l'épidémiologie moléculaire, la métabolomique pourrait également permettre d'aller plus loin que la caractérisation moléculaire de profils alimentaires proposés a priori. La métabolomique pourrait mettre en exergue de nouveaux mécanismes d'implication de la nutrition et du mode de vie dans le vieillissement cognitif et d'inférer de nouvelles cibles préventives. L'étude du métabolome alimentaire rend ainsi possible le décryptage des grandes voies mécanistiques reliant la nutrition au cerveau, comme ceux de l'axe intestin-cerveau. La biologie sous-tendant l'influence de la nutrition sur le vieillissement cognitif est extrêmement complexe et sa

compréhension représente une étape clef dans la formulation de stratégies de prévention des pathologies du vieillissement cognitif. Le microbiote intestinal, communauté microbienne de grande ampleur tapissant le tractus digestif, joue un rôle fondamental dans notre physiologie et dans la digestion. Il métabolise les éléments non digérés qui passent dans la circulation sanguine et peuvent être transportés jusqu'au cerveau en traversant la BHE. La communauté scientifique s'accorde à dire que le microbiote pourrait renfermer des clés fondamentales de compréhension de la physiologie cérébrale et de la prise en charge des pathologies neurologiques et psychiatriques. L'équilibre microbien intestinal étant totalement dépendant de l'alimentation et du mode de vie, il apparaît ainsi qu'il joue un rôle médiateur potentiellement majeur dans l'impact du mode de vie sur le vieillissement cérébral (258,467). Pour l'instant, les études ayant pour objectif d'estimer le lien entre les métabolites issus du microbiote et la démence ou le déclin cognitif sont la plupart du temps réalisées chez les rongeurs, et l'étude sur l'homme se concentre en majorité sur de petits effectifs dans des schémas transversaux. Dans la population âgée, l'étude simultanée d'un grand nombre de métabolites dérivés du microbiote et de leur lien avec la démence et le déclin cognitif pourrait aider à mieux comprendre le rôle encore mal caractérisé du microbiote comme intermédiaire entre la nutrition et le vieillissement cérébral, et permettre l'identification de nouvelles cibles préventives.

Enfin, les essais préventifs ont jusqu'à présent peu analysé les facteurs de susceptibilité individuelle qui pourraient moduler l'efficacité des interventions. La détermination des populations vulnérables et des groupes à risque pour la prévention du vieillissement cérébral pathologique pourrait permettre une amélioration de l'efficacité des études d'intervention pour la prévention du vieillissement cérébral pathologique. Les études d'intervention montrant les résultats les plus convaincants sur la cognition sont les essais multi-domaines, alliant plusieurs changements de comportement (dont la nutrition) ou la gestion de plusieurs facteurs de risque simultanément. Pour autant, le niveau de preuve reste trop faible, et le fait de déterminer des groupes d'individus chez qui ces stratégies de prévention seraient plus efficaces serait pertinent. En effet, des études post-hoc d'essais cliniques montrent une tendance à une meilleure efficacité chez les sujets porteurs de l'allèle APOE4, qui ont une haute susceptibilité génétique de développer la MA (essai FINGER et MAPT). Les études d'observation s'intéressant à l'interaction entre susceptibilité génétique et combinaison de facteurs de risque modifiables présentent des résultats

contradictoires, et l'existence ou non d'une interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux n'est pas encore établie.

1.4.2. Objectifs

L'objectif général de cette thèse était d'affiner la caractérisation de stratégies préventives des pathologies du vieillissement cérébral par la nutrition et le mode de vie, en mettant à profit de riches données d'épidémiologie observationnelle, notamment moléculaires. Cet objectif se déclinait en trois axes de recherche : (1) Identifier des combinaisons nutritionnelles optimales (2) Identifier de nouvelles cibles préventives en décryptant certains mécanismes, avec un intérêt particulier pour l'axe intestin-cerveau, au moyen de la métabolomique, et (3) Identifier des groupes à risque et populations vulnérables avec des polymorphismes génétiques particuliers, étayant l'implémentation d'une prévention de précision dans le vieillissement cognitif. Les données permettant de mener à bien cet objectif provenaient de la cohorte 3C, une grande étude française multicentrique réalisée en population générale âgées (65 ans et plus).

Le **premier axe de recherche, (1) Identifier des combinaisons nutritionnelles optimales**, a été investigué par deux travaux complémentaires. Dans un premier travail, nous nous sommes intéressés aux nutriments qui avaient été associés de façon individuelle à une diminution du risque de démence dans l'étude 3C (et dans d'autres cohortes) : la vitamine D, les caroténoïdes et les n-3 AGPI, en mettant à profit des dosages de biomarqueurs plasmatiques et les données cliniques de l'étude 3C. L'objectif était d'élaborer un index de statut multi-micro-nutritionnel pour l'identification de carences associées à l'incidence de la démence, qui pourraient être corrigées en prévention (**Chapitre 3.1.1. Elaboration d'un indice biologique de déficiences micro-nutritionnelles multiples associé au risque de démence, article 1, publié**). L'intérêt a ensuite été porté sur les profils alimentaires déjà développés par la communauté scientifique et identifiés comme les plus prometteurs pour la prévention. Nous nous sommes attardés sur le profil MIND, qui a été développé spécifiquement pour la prévention de la démence et qui a été associé de façon relativement robuste avec le déclin cognitif et le risque de démence dans la littérature. Nous avons revisité ce profil en mettant à profit les nouveaux outils de l'épidémiologie

moléculaire en métabolomique, et plus particulièrement des données du métabolome alimentaire. L'objectif de ce deuxième travail était de caractériser une signature métabolomique de l'adhésion à ce profil alimentaire et d'estimer l'association de cette signature avec le déclin cognitif ultérieur (**Chapitre 3.1.2. Identification d'une signature du profil alimentaire MIND au sein du métabolome alimentaire**).

Dans le deuxième axe de recherche, visant à **(2) Identifier de nouvelles cibles préventives en décryptant l'axe intestin-cerveau par la métabolomique**, nous avons choisi de nous intéresser aux post-biotiques circulants. Plus précisément, nous avons recherché les métabolites issus du microbiote intestinal associés au déclin cognitif, parmi un grand ensemble de métabolites dérivés de l'alimentation. (**Chapitre 3.2., article 2, publié**).

Enfin, dans le troisième axe cherchant à **(3) Identifier des groupes à risque et populations vulnérables avec des polymorphismes génétiques particuliers**, chez qui les stratégies de prévention des pathologies du vieillissement cérébral seraient plus efficaces, nous avons choisi d'élargir au-delà de la nutrition aux facteurs de mode de vie dans leur ensemble. Nous avons réalisé une étude d'interaction gène-environnement, l'objectif étant d'estimer si la combinaison de facteurs de risque modifiables de la démence, reflétée par un score de risque, était associée à la démence et au déclin cognitif quelle que soit la susceptibilité génétique des individus. En d'autres termes, nous avons cherché à estimer si ce score de risque était associé de manière différentielle chez les personnes à haut risque ou à bas risque génétique (**Chapitre 3.3., article 3, soumis**).

Chapitre 2

-

Méthodes

2.1. Données épidémiologiques

L'étude trois cités (3C) a débuté en 1999, dans le but initial d'étudier le lien entre les pathologies vasculaires et la démence. C'est une étude de cohorte prospective, nationale et multicentrique. Des sujets âgés de plus de 65 ans non institutionnalisés ont été tirés au sort sur la base des listes électorales de Bordeaux, Dijon et Montpellier.

Le protocole d'étude a été approuvé par le comité d'éthique de l'hôpital Kremlin-Bicêtre à Paris. Parmi les 34 922 participants tirés au sort, après le contact de 76% par courrier et la signature du formulaire de consentement éclairé par 37%, 9294 participants ont été inclus dans l'étude entre mars 1999 et mars 2001, dont 2104 à Bordeaux, 4931 à Dijon et 2259 à Montpellier.

2.1.1. Recueil des données

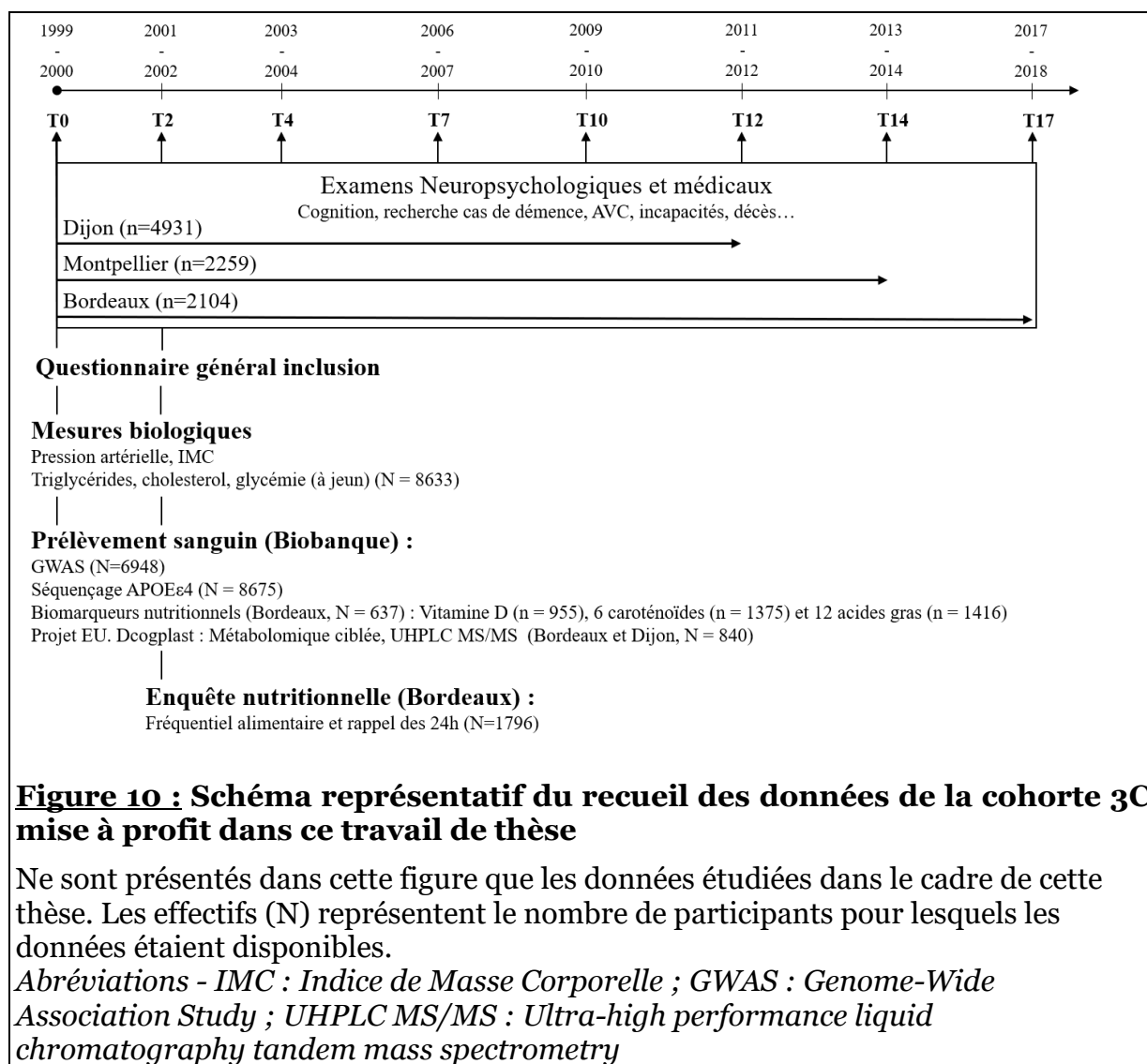
Le recueil des données à l'inclusion était légèrement différent entre les centres. A Bordeaux et Dijon, les participants ont d'abord été enquêtés à domicile par un psychologue ou une infirmière formés. Ils ont ensuite été invités au centre d'examen (centre médical communautaire à Dijon et véhicule spécial équipé à Bordeaux) pour compléter le reste de l'enquête. En revanche, à Montpellier, les deux étapes ont été remplacées par un examen d'une demi-journée dans une clinique de recherche. Dans les trois centres, les participants refusant ou n'étant pas capable de se rendre au centre de visite ou à la clinique de recherche effectuaient la visite à domicile.

La plupart des questionnaires, examens et mesures étaient communs aux trois centres. Les données supplémentaires récoltées dans le cadre d'études ancillaires étaient spécifiques à chaque centre, et le refus de participer à l'une de ces études par un participant ne l'excluait pas du reste de l'étude.

Un questionnaire standardisé a permis de collecter des données sur le statut socio-démographique (l'âge, le sexe, le statut familial, le niveau d'éducation, de revenus, etc...), le mode de vie (tabagisme, consommation d'alcool, alimentation, activité physique ou de loisir, etc...) et les antécédents médicaux et familiaux (de type cardio-vasculaires ou cognitifs) (**Figure 10** représentant uniquement les données étudiées dans le cadre de cette thèse).

Des examens médicaux ont été réalisés dans le centre d'examen afin de recueillir la consommation habituelle de médicaments (ensuite classés selon la nomenclature *Anatomical Therapeutic Chemical* [ATC]), les facteurs de risque cardiovasculaires, et de faire les mesures anthropométriques (poids, taille, tour de taille, etc.) et cliniques (pression artérielle). Enfin, une prise de sang a été réalisée à jeun, chez 90% des participants ayant accepté l'examen, afin de constituer une biobanque (échantillons sanguins conservés à -80 °C).

Les participants ont ensuite été suivis tous les deux ou trois ans, pendant 12 ans à Dijon (T12), 14 ans à Montpellier (T14), et 17 ans à Bordeaux (T17) (où les suivis sont toujours en cours). Au cours des visites de suivi, les participants ont réalisé, à chaque fois, les tests neuropsychologiques, médicaux et fonctionnels. Les populations d'étude de chaque étude sont présentées en **annexe 1**.



2.1.2. Evènements d'intérêt : données cognitives et diagnostic de démence

2.1.2.1. Tests neuropsychologiques

A l'inclusion, les participants réalisaient une batterie de tests cognitifs, incluant : le Mini-Mental State Examination (MMSE) (468), le Benton Visual Retention Test (BVRT) (469), l'Isaac's Set Test (IST) (470), et les Trail Making Tests, parties A et B (TMT-A/-B) (471). Ces tests avaient pour but d'appréhender les performances à plusieurs fonctions cognitives : la mémoire, l'attention, le langage et l'habilité visuo-spatiale. Ont aussi été recueillies les plaintes concernant des difficultés cognitives. Ces cinq tests sont détaillés dans la **figure 11**.

Le MMSE mesure de manière globale la fonction cognitive. Il est employé dans un but de dépistage et de suivi de l'évolution de troubles cognitifs, mais n'est pas conçu pour la détection des troubles cognitifs très légers ou les stades précoces de démence (**Figure 11, panel A**). Ce test est composé de 30 questions, réparties en six catégories qui sont l'orientation spatio-temporelle, l'apprentissage, l'attention et le calcul, le rappel des informations et la rétention mnésique, les capacités de langage et la praxie constructive. A chaque réponse 1 point est attribué, le score final étant noté sur 30 points. Un score faible traduit un cognition globale altérée.

Le BVRT sert quant à lui à évaluer les fonctions visuospatiales, ainsi que l'attention et la mémoire visuelle et de travail (mémoire à court terme qui permet de stocker et manipuler les informations pendant une courte durée dans le but de les utiliser pour accomplir une tâche) (**Figure 11, panel B**). Lors de ce test, une figure géométrique est présentée au participant pendant 10 secondes, qui doit par la suite l'identifier parmi 4 possibilités. Au total, 15 figures sont successivement proposées, le score se distribuant de 0 à 15 points. Un score faible traduit une atteinte cognitive.

L'IST teste la fluence verbale sémantique, c'est-à-dire la facilité à nommer le maximum de mots appartenant à une même catégorie (**Figure 11, panel C**). Le test consiste à citer le maximum de mots possibles dans une catégorie sémantique spécifique en un temps donné (15, 30 et 60 secondes), parmi quatre catégories : couleurs, animaux, fruits et ville. Un score faible traduit des troubles cognitifs.

Le TMT se découpe en deux tâches (TMT-A et TMT-B), testant la vitesse d'exécution et les fonctions cognitives. Lors de la réalisation du TMT-A, les patients doivent relier dans l'ordre croissant des nombres de 1 à 25 répartis de façon semi-aléatoire sur une feuille, le plus rapidement possible (**Figure 11, panel D**). Dans le TMT-B, les participants doivent relier alternativement, dans l'ordre numérique et alphabétique des chiffres (de 1 à 13) et des lettres (de A à L) (1-A-2-B-3-C...) répartis de façon semi-aléatoire sur une feuille (**Figure 11, panel E**). Le score final au TMT correspond au nombre de bons déplacements, rapportés au temps de réalisation des tâches. Un score faible indique de moindres performances.

A chaque suivi, les participants réalisaient ces 5 tests, ainsi que quelques tests additionnels : une version modifiée du score Hachinski (472), les échelles de Pasquier-Lebert et McKeith (472,473) et le test de dessin de l'horloge (474).

2.1.2.2. Diagnostic de démence

A l'inclusion, à Bordeaux et Montpellier, les participants ont tous été examinés par un neurologue. A Dijon, du fait du grand nombre de participants, étaient examinés par un neurologue uniquement les participants suspectés de démence, sur la base de leurs performances au MMSE et à l'IST. Dans les trois centres, le même protocole clinique standardisé a été appliqué pour diagnostiquer les cas de démence à chaque suivi. Pour chaque participant, les performances aux tests cognitifs, l'habilité à réaliser les activités de la vie quotidienne, la sévérité des troubles cognitifs (via l'échelle *Clinical Dementia Rating Scale*) et les résultats de l'IRM dans le cas où celui-ci avait été conduit, étaient revus par un neurologue afin de poser le diagnostic selon les critères du DSM-IV (2). Par la suite, chaque cas de démence suspecté était validé par un comité de neurologues indépendants, et le type de démence était déterminé à l'aide des critères NINCDS-ADRA (*definition and National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*) (475) : MA probable, MA possible, démence vasculaire, démence mixte, démence à corps de Lewy, démence parkinsonienne, démence fronto-temporale, ou autres démences.

Les travaux de cette thèse se basent sur l'incidence de la démence jusqu'au suivi à 12 ans pour Dijon, 14 ans pour Montpellier et 17 ans pour Bordeaux (**Figure 10**).

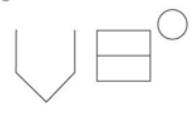
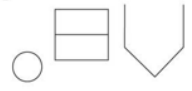
<b style="font-size: 1.2em;">A <u>Mini Mental Status (MMSE)</u> 1) Quel jour de la semaine sommes-nous ? 2) Quelle est la date d'aujourd'hui ? 3) En quel mois sommes-nous ? 4) En quelle saison sommes-nous ? 5) En quelle année sommes-nous ? 6) Où sommes-nous ici ? (hôpital, maison de retraite, rue...) 7) A quel étage sommes-nous ? 8) Dans quelle ville sommes-nous ? 9) Dans quel département sommes-nous ? 10) Dans quel pays sommes-nous ? <i>L'examineur doit prononcer les mots suivants au rythme de un par seconde. En cas de difficulté, recommencer jusque 5 fois</i> Répétez les mots suivants : Citron, clé, ballon 11) 1^{er} mot cité - 12) 2^{ème} mot cité - 13) 3^{ème} mot cité Soustraire 7 de 100 et ainsi de suite 14) 93 - 15) 86 - 16) 79 - 17) 72 - 18) 65 <i>L'examineur doit passer plusieurs autres tests cognitifs après la question 18, puis reprendre le test</i> Vous souvenez-vous des trois mots que vous avez répétés tout à l'heure? 19) 1^{er} mot cité - 20) 2^{ème} mot cité - 21) 3^{ème} 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 une feuille 30) Copiez ce dessin sur cette feuille Score Total (somme des 30 items) sur 30 : / / /	<b style="font-size: 1.2em;">C <u>Set Test d'Isaacs (IST)</u> Citer le maximum de mots dans chaque catégorie sémantique (10 mots maximum dans chaque catégorie) L'examineur note le nombre de mots cités en 15, 30 et 60 secondes <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th></th> <th style="text-align: center;">15''</th> <th style="text-align: center;">30''</th> <th style="text-align: center;">60''</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Couleurs</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> </tr> <tr> <td>Animaux</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> </tr> <tr> <td>Fruits</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> </tr> <tr> <td>Villes</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> </tr> <tr> <td>Scores totaux</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> <td style="text-align: center;">/ / /</td> </tr> </tbody> </table> Score Total (somme des mots x 4, dans groupe de temps)		15''	30''	60''	Couleurs	/ / /	/ / /	/ / /	Animaux	/ / /	/ / /	/ / /	Fruits	/ / /	/ / /	/ / /	Villes	/ / /	/ / /	/ / /	Scores totaux	/ / /	/ / /	/ / /
	15''	30''	60''																						
Couleurs	/ / /	/ / /	/ / /																						
Animaux	/ / /	/ / /	/ / /																						
Fruits	/ / /	/ / /	/ / /																						
Villes	/ / /	/ / /	/ / /																						
Scores totaux	/ / /	/ / /	/ / /																						
<b style="font-size: 1.2em;">B <u>Test de rétention visuelle de Benton (BVRT)</u> Retrouver la figure géométrique parmi les quatre que vous avez préalablement visualisée (répété avec 15 figures différentes)  A  B  C  D  Score Total (somme des 15 figures) sur 15 : / / /	<b style="font-size: 1.2em;">D <u>Trail Making A (TMT-A)</u> Relier les points dans l'ordre croissant  Nombre total de bons déplacements : / / Temps total si le participant termine le test : / / Score total = nombre de bons déplacements / temps de réalisation																								
<b style="font-size: 1.2em;">E <u>Trail Making B (TMT-B)</u> Relier les points dans l'ordre croissant et alphabétique en alternant chiffres et lettres  Nombre total de bons déplacements : / / Temps total si le participant termine le test : / / Score total = nombre de bons déplacements / temps de réalisation																									

Figure 11 : Tests cognitifs effectués par les participants de la cohorte 3C à l'inclusion et durant les visites de suivi et utilisés dans le cadre de cette thèse (468–471)

2.1.3. Expositions d'intérêt : données nutritionnelles et autres facteurs modifiables

2.1.3.1. Données nutritionnelles

2.1.3.1.1. Enquêtes alimentaires

Fréquentiel alimentaire général (3 centres)

A l'inclusion et à chaque visite de suivi, un bref fréquentiel alimentaire a été inclus dans le questionnaire général proposé aux trois centres. Les consommations habituelles de douze grands groupes alimentaires étaient demandées aux participants : les produits laitiers, la viande/volaille/gibier, le poisson et les crustacés, les œufs, les céréales, les fruits et légumes crus, fruits et légumes cuits, les légumineuses et le chocolat à croquer. La consommation était évaluée en 6 catégories : jamais, moins d'une fois par semaine, 1 fois par semaine, 2 à 3 fois par semaine, 4 à 6 fois par semaine et quotidiennement. De plus, le nombre de tasses de thé et de café consommées quotidiennement était demandé, ainsi que le corps gras utilisé de façon préférentielle pour l'accompagnement des tartines, la cuisson et l'assaisonnement des salades (beurre, type d'huile, margarine, etc.).

Par ailleurs, à Bordeaux uniquement, au premier suivi, une enquête nutritionnelle complète incluant un fréquentiel alimentaire (FFQ) et un rappel des 24 heures a été proposée à tous les sujets, réalisées par des diététiciennes formées. Au total, 1796 sujets ont accepté d'y participer.

Enquête nutritionnelle détaillée (Bordeaux)

FFQ

Un FFQ semi-quantitatif (ne prenant pas en compte la taille des portions) a été développé en adaptant celui de l'étude SU.VI.MAX (476). Il était demandé aux participants leurs fréquence de consommation moyenne de 40 aliments et boissons lors des trois principaux repas de la journée (petit-déjeuner, déjeuner et dîner) et de trois potentielles collations dans la journée (entre le petit-déjeuner et le déjeuner, avant et après le dîner), selon 11 classes de consommations (moins d'une fois par mois, une à trois fois par mois, une à sept fois par semaine). D'autres informations étaient

demandées, comme que le type de matière grasse utilisée, l'ajout de sel et sucre et les habitudes de consommation de produits allégés et de conserves et surgelés.

L'exploitation des données de ce FFQ a été réalisée par l'équipe bien avant le déroulé de cette thèse. Les variables catégorielles codées en 11 catégories de fréquence de consommation au cours des 6 repas ont ensuite été recodées en une seule variable ordinale, représentant des « occasions » de consommation par semaine. Tout d'abord, les catégories ont été converties en occasions par semaine, pour chaque repas (matin, midi, soir, collations) : 0 pour moins d'une fois par mois, 0.25 pour 1 fois par mois, 0.5 pour 2 fois par mois, 0.75 pour 3 fois par mois, et de 1 à 7 pour 1 à 7 fois par semaine. Ensuite, afin d'obtenir le nombre moyen de portions par semaine, les fréquence de consommation de chaque repas ont été sommées (fréquence matin + midi + soir + collations). Enfin, les aliments et boissons ont été regroupés en 23 groupes alimentaires du fait de leur similitude nutritionnelle (477) : thé, café, alcool, crudités/salade, légumes cuits, fruits, légumes secs, pâtes, riz, pomme de terre, œufs, volaille, viande, poisson/crustacés, sandwich/pizza, biscuits/gâteaux, bonbons/sucreries, produits laitiers et céréales/pain.

Alors que le FFQ semi-quantitatif permet de mesurer les habitudes alimentaires, il ne permet pas d'estimer les quantités et le calcul des apports en nutriments. Ainsi, il a été complété par un rappel des 24 heures permettant de recueillir une liste ouverte d'aliments et d'accéder aux apports en nutriments.

Rappel des 24h

Le questionnaire du rappel des 24h correspond à l'ensemble des boissons et aliments que le participants déclarent avoir consommé la veille de l'entretien, en dehors des week-ends (478). Un manuel de photographie (476), également édité initialement pour l'étude SU.VI.MAX (479), permettait l'estimation de portions, pour 236 aliments et boissons. La taille des portions en gramme était ensuite estimée grâce à une table de correspondance (BILNUT, SCDA Nutrisoft, Cerelles, France) (480–482), ce qui a permis l'estimation des apports quotidiens en certains nutriments, tels que des glucides, fibres, protéines, lipides, vitamines, minéraux et polyphénols. L'apport calorique total a aussi été estimé.

2.1.3.1.2.

Biomarqueurs nutritionnels (Bordeaux)

A Bordeaux, à l'inclusion, 89.4% des participants (N=1881) ont accepté de faire une prise de sang à jeun, permettant le recueil d'échantillons de sérum, de plasma et d'ADN (centrifugés et conservés à -80°C). Les concentrations plasmatiques de 22 nutriments liposolubles ont par la suite été dosés, dans le cadre de différentes études ancillaires, dans des sous-échantillons distincts :

- **Vitamine D** : Grâce à une méthode immunologique (Architect 25-OH Vitamine D assay, Abbott Diagnostics, Germany) (145), la concentration plasmatique en 25(OH)D, exprimée en nmol/L, a été dosée chez 955 participants.
- **Caroténoïdes** : Une chromatographie liquide à haute performance (R&D Analytical Research center of DSM Nutritional Products) (483) a permis le dosage des concentrations plasmatiques en 6 caroténoïdes (α -carotène, β -carotène, β -cryptoxanthine, lutéine, zéaxanthine et lycopène), exprimés en ng/L, chez 1375 participants.
- **Acides gras** : Une chromatographie gazeuse (séparation des esters d'isopropyle et extraction des lipides du plasma par un mélange hexane/isopropanol) a permis l'estimation des taux plasmatiques en douze acides gras (acide myristique 14:0, palmitique 16:0, stéarique 18:0, palmitoléique 18:3n-6, oléique 18:1n-9, linoléique 18:2n-6, γ -linolénique 18:3n-6, arachidonique 20:4n-6, α -linolénique 18:3n-3, eicosapentanoïque 20:5n-3, docosahexaénoïque 22:6n-3 et docosapentaénoïque 22:5n-3) chez 1416 participants, exprimés en pourcentage d'acides gras totaux (484).

Au total, 637 sujets avaient des données complètes pour tous les biomarqueurs plasmatiques (**chapitre 3.1.1, article 1**).

2.1.3.1.3. Métabolites dérivés de l'alimentation (Bordeaux et Dijon)

Une étude de métabolomique ciblée sur le métabolome alimentaire a été mise en place dans le cadre du projet européen DCogplast (*identification of dietary modulators of COGnitive ageing and brain PLASTicity and proof of concept of efficacy for preventive/reversing cognitive decline, 2016-2020*), financé par le programme *Joint programming initiative (JPI), Healthy diet for a healthy life (HDHL)*. Six Partenaires académiques ont collaboré dans ce projet, provenant de différents pays européens (France, Espagne, Grande-Bretagne, Autriche, Pays-Bas et Allemagne).

Pour l'analyse de découverte chez l'homme prévue dans le premier « Work Package », une étude cas-témoin nichée dans l'étude 3C a été réalisée (à partir des centres de Bordeaux et Dijon) au préalable de ce travail de thèse. Après exclusion des personnes atteintes de démence à l'inclusion, pour les centres Bordeaux et Dijon séparément, l'évolution cognitive de chaque participant a été définie à partir de pentes individuelles d'évolution des performances cognitives globales (définie par un Z-score des 5 principaux tests neuropsychologiques décrits plus haut) sur 12 ans de suivi, estimée par un modèle linéaire mixte. Les cas de déclin cognitif ont été choisis parmi les 220 sujets présentant la pente de déclin cognitif la plus importante, et un témoin a été identifié pour chaque cas, parmi les sujets avec un déclin cognitif moindre (supérieur à la médiane de pente d'évolution cognitive) à la sortie d'étude du cas, apparié sur l'âge (± 3 ans), le sexe et le niveau d'études. Dans l'échantillon « de découverte » issu du centre bordelais, 209 témoins ont pu être appariés à un cas, aboutissant à un échantillon constitué de 209 paires cas-témoins. Dans l'échantillon de « validation » issu du centre dijonnais, 214 paires cas-témoins ont été identifiées (485).

Les partenaires espagnols du projet (Université de Barcelone) ont réalisé une analyse du métabolome alimentaire en métabolomique ciblée par spectrométrie de masse en tandem couplée à une chromatographie en phase liquide haute résolution (UHPLC-MS/MS), à partir des échantillons sanguins de chaque cas et de chaque témoin. Cette analyse a permis la mesure, dans les échantillons sanguins prélevés à l'inclusion (avant l'objectivation du déclin cognitif), de la concentration de métabolites circulants issus de l'alimentation, exprimée en $\mu\text{g/L}$ (**Figure 10** et **Annexe 2**). Les

métabolites avec plus de 20% de données manquantes n'ont pas été analysés dans le cadre de ce travail de thèse. Un peu plus de 200 métabolites alimentaires ont pu être analysés à l'issue de la phase de contrôle qualité et après exclusion des métabolites avec >20% de données manquantes (486). Ces métabolites ont été sélectionnés de par leur lien direct avec l'alimentation, qu'il s'agisse de marqueurs exogènes (molécules directement issues de l'alimentation) ou endogènes (produits secondaires du métabolisme) (**Annexe 2**). Parmi les métabolites sélectionnés, une grande partie était directement en lien avec le microbiote intestinal (n=72).

2.1.3.2. Autres facteurs modifiables

Santé cardiométabolique

Toutes les informations concernant la santé cardiométabolique ont été recueillies à l'inclusion et de la même façon dans tous les centres. Cela inclut les antécédents de maladies cardiovasculaires, l'IMC, le diabète, l'hypercholestérolémie et l'HTA.

Les antécédents de maladies cardiovasculaires étaient déclarés à l'inclusion, et comprenaient les troubles du rythme cardiaque (fibrillation auriculaire), l'insuffisance cardiaque, l'infarctus du myocarde, les AVC, l'angine de poitrine, le fait de porter ou d'avoir porté un pacemaker, l'artérite des membres inférieurs, et la présence d'antécédents de chirurgie vasculaire ou cardiaque.

La variable IMC était calculée sur la base des mesures anthropométriques, selon la formule $\frac{\text{poids}}{\text{taille}^2}$ et était exprimé en kg/m². Dans les différentes études, elle a soit été utilisée en continu, ou catégorisée en binaire (≥ 30 kg/m² catégorisait l'obésité).

La variable diabète était définie sur la base du prélèvement sanguin réalisé à l'inclusion et de la déclaration de médication des participants, comme une glycémie à jeun ≥ 7 mmol/L et/ou la prise d'un traitement antidiabétique oral.

De la même façon, pour la variable hypercholestérolémie, un individu était considéré en hypercholestérolémie quand son taux de cholestérol total était ≥ 2.4 g/L et/ou s'il prenait un traitement hypocholestérolémiant.

Enfin, à l'inclusion, les pressions artérielles systoliques (PAS) et diastoliques (PAD) ont été mesurées deux fois, et la moyenne des deux mesures a été renseignée. Ainsi, un participant était considéré comme hypertendu si sa pression artérielle était élevée

selon les seuils cliniques standards ($PAS \geq 140$ et/ou $PAD \geq 90$ mmHg) et/ou s'il prenait un traitement antihypertenseur.

Mode de vie (hors nutrition)

Plusieurs facteurs de mode de vie ont été recueillis à l'inclusion dans le cadre du questionnaire général ou de questionnaires complémentaires auto-administrés (à Bordeaux notamment). Ont été utilisés dans le cadre de ce travail de thèse : la consommation d'alcool, le tabagisme, la pratique d'activité de loisirs pour l'estimation de l'engagement dans des activités cognitivement stimulantes, et la pratique d'activité physique.

La consommation d'alcool était évaluée dans le questionnaire d'inclusion, où le participant déclarait le nombre de verres alcoolisés (unités d'alcool) consommés par semaine. Dans ce travail de thèse, la variable continue a été utilisée, ainsi qu'une variable catégorielle binaire représentant la consommation modérée d'alcool (1 : consommation située entre 1 et 14 unités d'alcools par semaine, versus 0 : abstinent ou consommation > 14 unités/semaine).

Le tabagisme était également déclaré par les participants dans le questionnaire d'inclusion. La variable « statut tabagique » était codée en 3 classes : non-fumeur, ancien fumeur et fumeur régulier. Pour les anciens fumeurs, était également disponible le temps depuis l'arrêt du tabac. Enfin, le nombre de paquets-années a été calculé, correspondant au nombre moyen de paquets de cigarette fumés par jour multiplié par le nombre d'années où la personne a fumé cette quantité. Par exemple, fumer 1 paquet par jour pendant 5 ans équivalait à 5 paquets-années, alors que 2 paquets par jour pendant 6 mois équivalait à 1 paquet-année.

Un auto-questionnaire rempli par les participants entre l'inclusion et le premier suivi a permis d'évaluer la pratique d'activités de loisirs. A Bordeaux, le panel d'activités et à la durée de pratique étaient plus détaillés que dans les autres centres. Grâce à cet auto-questionnaire, le niveau de pratique d'activité physique ou l'engagement dans des activités cognitivement stimulantes ont pu être estimés. Les participants devaient renseigner la fréquence de pratique de diverses activités quotidiennes. A Bordeaux, le questionnaire recueillait le temps passé chaque jour à certaines activités (28 au total), comme par exemple le fait d'écouter la radio et de la musique, de regarder la télévision, de jardiner, de coudre ou faire du tricot. A Dijon et Montpellier, il était demandé au participant de rapporter la fréquence mensuelle de

pratique de 19 activités, comme inviter des amis, faire des mots-croisés, faire partie d'une association et jouer aux cartes, entre autres. Les variables de pratique d'activité physique et d'engagement dans des activités cognitives stimulantes étaient différentes selon les articles dans cette thèse, et leur codage sera détaillé plus loin dans le manuscrit (dans le chapitre **3. Résultats**).

Facteurs psychologiques et comorbidités

A l'inclusion, la symptomatologie dépressive a été évaluée à l'aide de l'échelle *Center for Epidemiological Studies-Depression* (CES-D, distribuée de 0 à 60 points), évaluant, sur la base de la déclaration des patients, les symptômes dépressifs (487). Étaient considérés comme présentant une symptomatologie dépressive les femmes avec un CES-D ≥ 23 et les hommes avec un CES-D ≥ 17 et/ou prenant un antidépresseur.

Le fonctionnement rénal a été évalué par la mesure du taux sanguin d'eGFR à l'inclusion. Il était considéré qu'un patient souffrait d'un dysfonctionnement rénal si son taux d'eGFR était ≤ 60 mL/min/1.73 m².

Aussi, à chaque suivi, l'ensemble des médicaments consommés de manière régulière au cours du dernier mois était recueilli et classifié selon la classification ATC. Le nombre moyen de traitements était utilisé comme un proxy du niveau de comorbidités.

2.1.4. Facteurs d'ajustement : données sociodémographiques

Plusieurs variables socio-démographiques ont été prises en compte dans le travaux de thèse, en variable d'ajustement essentiellement. Effectivement, l'âge, le niveau d'éducation, le revenu ou même le sexe peuvent à la fois influencer le vieillissement cognitif mais aussi les habitudes de vie. Ils sont donc des facteurs de confusion potentiels importants dans l'étude de l'association entre mode de vie et vieillissement cérébral. La date de naissance était renseignée par le participant, permettant de calculer l'âge à l'inclusion et à chaque suivi et le sexe était considéré (masculin/féminin). Le niveau d'études était classé en 7 catégories et a été recodé, dans certaines analyses, en variable binaire (niveau d'études supérieur au lycée ou non). Le

revenu du ménage ou de la personne si elle vivait seule était également demandé et classé en 5 catégories.

2.1.5. Potentiels modificateurs d'effet : facteurs génétiques

La susceptibilité génétique pour la démence, et plus particulièrement la MA, est surtout représentée par l'allèle APOE ϵ 4. Mais il existe aussi plusieurs dizaines de SNPs qui ont été identifiés dans des GWAS récentes. Ainsi, dans ce travail de thèse, deux variables différentes ont été construites pour représenter la susceptibilité génétique pour la démence : l'allèle APOE ϵ 4 d'une part (porter au moins un allèle apoe4 versus aucun allèle), et un score de risque génétique (GRS, *Genetic Risk Score*), évaluant l'effet cumulé de variants génétiques (SNPs) en lien avec la MA, en dehors du locus d'APOE ϵ 4.

2.1.5.1. APOE ϵ 4

Le prélèvement sanguin réalisé par les participants à l'inclusion a permis le séquençage du gène APOE (N = 8633, **figure 10**), dont l'allèle ϵ 4 est le principal facteur de risque génétique de la démence. La technologie test 5'-nucléase fluorogène avec chimie TaqMan a été utilisée. Etaient considérés comme porteurs de l'allèle APOE ϵ 4 les participants avec au moins un allèle ϵ 4 (génotype ϵ 2 ϵ 4, ϵ 3 ϵ 4 ou ϵ 4 ϵ 4) et non porteurs ceux sans allèle ϵ 4 (génotype ϵ 2 ϵ 2, ϵ 2 ϵ 3 ou ϵ 3 ϵ 3).

2.1.5.2. Analyse pangénomique

Le génotypage pangénomique a été réalisé au centre national de génotypage d'Evry, utilisant la technologie *Illumina Human610-Quad BeadChip*, et les SNPs ont été imputés grâce au panel de référence 1000 Genomes Phase 1 Version 3 (N = 6948, **figure 10**). Les détails de l'imputation et du contrôle de ces données sont décrites dans une publication précédente (488).

En se basant sur les données de génotypage réalisé dans 3C et sur la liste de SNPs impliqués dans la MA (et les tailles d'effet associées) issue de la dernière et plus grande GWAS réalisée à ce jour, incluant plus de 700 000 participants (111 326 cas et

677 663 témoins) (70), un GRS a été construit dans le cadre de cette thèse chez 6948 sujets de la cohorte 3C. Après exclusion des SNPs trop rares (minor allele frequency [MAF] > 0.01) et de moindre qualité d'imputation (imputation Rsquare < 0.5), 68 variants ont été inclus dans le GRS (**Annexe 3**). Le GRS correspondait à la somme du nombre d'allèle à risque pour chaque SNP (0,1, ou 2) pondéré par son coefficient de régression estimé dans le GWAS (**Equation (1)**).

Soit, pour chaque sujet i ($i=1,...,N$) et chaque SNP j ($j=1,...,68$) :

$$GRS_i = \sum_{j=1}^{68} \beta_{j_{SNP_j}} \times SNP_{ij}$$

Composantes principales de stratification de la population

Le génotype des individus et l'expression de leurs variants génétiques pouvant considérablement varier selon leur origine ethnique, l'hétérogénéité génétique ne doit pas être omise dans les études d'association génétiques. Elle peut amener à une sur ou sous-estimation des associations, les caractéristiques génétiques de variants utilisés dans les scores génétiques différant entre les groupes ethniques et géographiques. Une méthode développée il y a une vingtaine d'années (489) consiste en la réalisation d'une analyse en composantes principales des variants génétiques disponibles afin d'obtenir des variables résumées de la variabilité génétique dans la population, sous la forme des premières composantes principales. Ces composantes peuvent ensuite être introduites dans un modèle de régression pour contrôler sur la stratification de la population.

2.2. Méthodologie statistique

2.2.1. Stratégies d'analyse relatives à la structure des expositions d'intérêt principal

Comme explicité à de nombreuses reprises dans ce manuscrit, le mode de vie, et spécifiquement sa composante nutritionnelle, représente une exposition multi-dimensionnelle. Plusieurs approches analytiques doivent donc être combinées pour appréhender la structure complexe de l'exposition environnementale, partant d'approches épidémiologiques classiques par facteur individuel à une vision plus holistique par profils (ou recherche de signatures biologiques). Cette partie tend à résumer les approches abordées dans ce travail et à démontrer leur complémentarité.

Une première façon d'identifier des cibles préventives et de décrypter les mécanismes est d'étudier chaque facteur « candidat » (pour lequel on a des hypothèses spécifiques), de manière individuelle, et d'ajuster les modèles sur de potentiels facteurs de confusion. C'est l'approche la plus traditionnelle en épidémiologie, qui sera utilisée, notamment, dans la partie **3.2. Identification de nouvelles cibles préventives en décryptant l'axe intestin-cerveau par la métabolomique**. Cette approche permet par exemple de réaliser aisément de l'inférence causale par analyses de médiation (ce qui serait plus difficile à interpréter avec une approche par profils).

Cependant, dans de nombreux cas, l'étude des facteurs de manière individuelle n'est pas suffisante. Dans le domaine de la nutrition par exemple, les consommations alimentaires des individus sont caractérisées par l'ingestion d'une combinaison d'aliments et de nutriments, présentant divers effets sur la cognition, avec, possiblement, des interactions complexes. L'étude de combinaisons d'aliments/de nutriments est donc une approche importante à intégrer. Deux approches complémentaires peuvent être implémentées pour caractériser des combinaisons de facteurs de risque : (i) L'approche *a priori*, fondée sur des hypothèses et sur les connaissances préexistantes, et (ii) l'approche *a posteriori*, exploratoire, basée sur les relations observées dans le jeu de données et ne se reposant sur aucune hypothèse fixée au préalable.

Approche a priori

L'approche *a priori* repose sur les connaissances déjà existantes au regard des recommandations ou d'hypothèses biologiques sous-tendant le lien entre certains facteurs et la pathologie d'intérêt, et se base donc sur une forte hypothèse de recherche initiale. La méthode consiste à faire l'hypothèse d'une combinaison préexistante (un type de profil alimentaire caractéristique d'une région, des recommandations basées sur les consommations optimales ou un ensemble d'habitudes de vie en lien avec le vieillissement cérébral, par exemple). Cette approche fait souvent appel à la construction de scores composites, qui reflètent en une seule métrique l'adhésion aux hypothèses préétablies. Par exemple, on pourra chercher à refléter au moyen d'un score l'adhésion à un mode de vie sain (versus délétère pour la santé) comme le LIBRA, ou à un profil alimentaire optimal prédéterminé comme le méditerranéen ou le MIND. Cette approche sera utilisée pour l'élaboration de l'indice multi-micro-nutritionnel de la partie **3.1.1. *Elaboration d'un indice biologique de déficiences micro-nutritionnelles multiples associé au risque de démence***, avec le ciblage des 3 familles de nutriments les plus prometteuses pour la prévention sur la base des connaissances antérieures (n-3 AGPI, caroténoïdes et vitamine D). Cette approche *a priori* sera aussi utilisée dans l'élaboration d'un score de risque de la démence, comprenant des facteurs de mode de vie, de santé, modifiables, comme présentés dans la partie **1.3.2. *Combinaison de facteurs de risque du vieillissement*** et sera utilisé dans le cadre de ce travail de thèse dans la partie **3.3. *Identification de groupes à risque et populations vulnérables avec des polymorphismes génétiques particuliers***, avec la construction du score de risque LIBRA dans la cohorte 3C. Cette approche présente de nombreux avantages, comme la facilité d'interprétation des scores ainsi obtenus et leur facilité d'utilisation, ainsi que la reproductibilité dans différentes populations, rendant les résultats comparables entre les différentes études. Cependant, ces scores n'englobent pas l'entièreté de l'alimentation ou du mode de vie, se focalisant uniquement sur des composantes définies par l'investigateur. De plus, ils ne prennent pas en compte la structure des relations entre les différentes composantes, faisant une simple hypothèse d'additivité qui ne correspond pas nécessairement à la structure complexe des co-expositions observées dans les populations.

Approche a posteriori

L'approche *a posteriori*, exploratoire et agnostique, elle, ne se fonde sur aucune hypothèse préalable sur les combinaisons à rechercher. Elle est beaucoup utilisée dans l'étude des données de grande dimension : consommations alimentaires, biomarqueurs, métabolomique par exemple. Elle se base sur deux types de méthodes, selon la prise en compte ou non d'une variable réponse dans l'estimation des profils : les méthodes non-supervisées ou supervisées.

Dans les méthodes non-supervisées, les données de grande dimension (comme par exemple un ensemble de variables alimentaires ou de métabolites) sont agrégées et réduites en un plus petit ensemble de variables, selon la proximité qu'elles entretiennent entre elles. Il y a plusieurs façons de mesurer statistiquement la proximité des variables. L'ACP par exemple utilise les corrélations observées entre les variables pour identifier des composantes, combinaisons linéaires des variables initiales, qui expliquent au mieux la variabilité des données. Ces composantes sont des variables composites, interprétées comme un résumé de l'information contenue dans le jeu de données. En présence de données nutritionnelles par exemple, ces composantes permettent de se ramener à la proximité que les individus du jeu de donnée entretiennent entre eux d'un point de vue nutritionnel. Elles identifient ainsi les profils alimentaires les plus typiques de la population d'analyse. Parmi les autres familles de méthodes non-supervisées on pourra citer l'analyse en clusters (qui ne sera pas abordée dans cette thèse).

Les méthodes supervisées quant à elles intègrent une variable réponse dans l'identification des variables résumées. Ces méthodes identifient des combinaisons de variables expliquant au mieux une variable réponse. Par exemple, la méthode de *Partial Least Square* (PLS) permet l'identification de composantes, combinaisons linéaires des variables initiales, qui résument au mieux la variabilité des données tout en étant fortement liées à la variable réponse. Cette méthode sera utilisée dans une analyse complémentaire de la partie **3.1.1. *Elaboration d'un indice biologique de déficiences micro-nutritionnelles multiples associées au risque de démence***. La méthode de régression pénalisée LASSO (*Least Absolute Shrinkage and Selection Operator*) quant à elle sélectionne les variables les plus associées à une variable événement d'intérêt. Elle permet, en utilisant un set de variables dites prédictrices, d'identifier des signatures d'une variable réponse dans le cadre de données de grande dimension. L'approche LASSO sera utilisée dans la partie **3.1.2.**

Identification d'une signature du profil alimentaire MIND au sein du métabolome alimentaire pour sélectionner des métabolites (les variables prédictrices) associés à l'adhésion au profil alimentaire MIND (la variable réponse), afin de caractériser une signature métabolomique du profil MIND spécialement développé pour la prévention des pathologies du vieillissement cognitif.

L'approche exploratoire permettra ainsi de prendre en compte de manière exhaustive les consommations alimentaires ou les taux circulants de nutriments ou de métabolites et de décrire, soit les profils les plus typiques observés dans la population (approches non supervisées), soit les profils les plus typiques avec la contrainte d'être associée à une variable réponse (approches supervisées). Cependant, un désavantage de ces approches exploratoires est que l'interprétation des résultats n'est pas toujours facile, et les résultats dépendent énormément de la structure des données, ils ont difficilement reproductibles dans d'autres études. On cherchera donc souvent à évaluer la validité externe des résultats au moyen d'un échantillon de réplication.

2.2.2. Modélisation de l'association entre expositions et variable d'intérêt

Plusieurs modèles de régression ont été utilisés dans ce travail, en fonction de la nature de l'évènement d'intérêt et du schéma d'étude. Des régressions pénalisées LASSO ont été appliquées pour identifier des signatures métaboliques d'une variable réponse (le score MIND, voir **chapitre 3.2.**). Lorsque l'incidence de la démence était considérée comme variable dépendante d'intérêt, des modèles de Cox ont été utilisés (**chapitres 3.1. et 3.3.**), en prenant en compte un certain nombre de problématiques méthodologiques, comme cela sera décrit plus bas. Pour ce qui est du déclin cognitif, il a été modélisé sous la forme de trajectoires de performances cognitives au cours du temps dans l'un des travaux de thèse (**chapitre 3.3.**), en collaboration avec une ancienne doctorante. Mais le plus souvent dans ce travail, les données provenaient du projet européen sur le métabolome alimentaire dans lequel le déclin cognitif a été résumé sous la forme d'un indicateur cas-témoin dans un cas-témoin niché dans la cohorte 3C. Dans ce cas, la cote de déclin cognitif a été modélisée par des régressions logistiques conditionnelles (**chapitres 3.1.2. et 3.2.**). Enfin, des analyses de

médiation ont été appliquées afin de mesurer l'implication de tiers facteurs dans les relations d'intérêt principal (**chapitre 3.2.**).

2.2.2.1. Régression pénalisée de type LASSO et rééchantillonnage bootstrap pour la sélection de variables

Le LASSO permet la sélection de variables prédisant au mieux une variable d'intérêt (variable réponse), en fixant une contrainte linéaire, ou pénalité, sur les coefficients. Elle est particulièrement adaptée aux données de grande dimension, dont fait partie le métabolome alimentaire, composé des mesures de centaines de métabolites (représenté par des centaines de variables quantitatives). Ces données peuvent présenter un problème de multi-colinéarité, lorsque certaines variables explicatives d'un modèle mesurent en réalité le même phénomène (métabolites résultant du même mécanisme biochimique ou de la même source alimentaire par exemple), et sont de ce fait fortement corrélées ou « co-dépendantes ». La multi-colinéarité peut induire une inflation de la variance de coefficients de régression, amenant à une estimation des paramètres faussée.

Une solution pour pallier au problème de multi-colinéarité est d'ajouter une contrainte, ou pénalité, à l'estimation des paramètres du modèle, afin de réduire la variance et de stabiliser les coefficients, en contrepartie de l'introduction un léger biais. L'estimation des coefficients du modèle (β) se fait alors par une méthode de maximisation sous contrainte :

$$\hat{\beta}^L(\lambda) = \underset{\beta}{\operatorname{argmax}} (\sum_i L(x_i, y, \beta) - \lambda \|\beta\|_1)$$

Où $L(x_i, y, \beta)$ est la vraisemblance maximisée dans un modèle non pénalisé et λ le paramètre de pénalité contrôlant le niveau de pénalisation.
 x_i est la $i^{\text{ème}}$ variable explicative ($i=1, \dots, n$),
 y est la variable à expliquer

Ainsi, si la pénalité λ est nulle le modèle est équivalent à un modèle non pénalisé incluant toutes les variables, et au contraire, si la pénalité λ est grande, les coefficients sont fortement pénalisés et seul un petit nombre de variables sera retenu. La régression LASSO permet donc à la fois d'estimer des coefficients de régression et de sélectionner de manière simultanée des métabolites à retenir dans un modèle, en contraignant certains coefficients à 0.

Le choix de la pénalité se fait en général par validation croisée, dans le but de minimiser le problème de surapprentissage (qui a lieu lorsque le modèle s'adapte trop aux données d'entraînement). Le principe de la validation croisée est de séparer aléatoirement un ensemble de données en k sous-ensembles, de construire un modèle sur $k-1$ sous-ensembles (apprentissage) et d'évaluer la performance du modèle dans le sous-ensemble exclu (validation). Cette procédure est répétée en faisant alterner l'échantillon de validation (au cours des k répétitions). L'estimation des performances est faite par le calcul de la moyenne du critère sur les k échantillons.

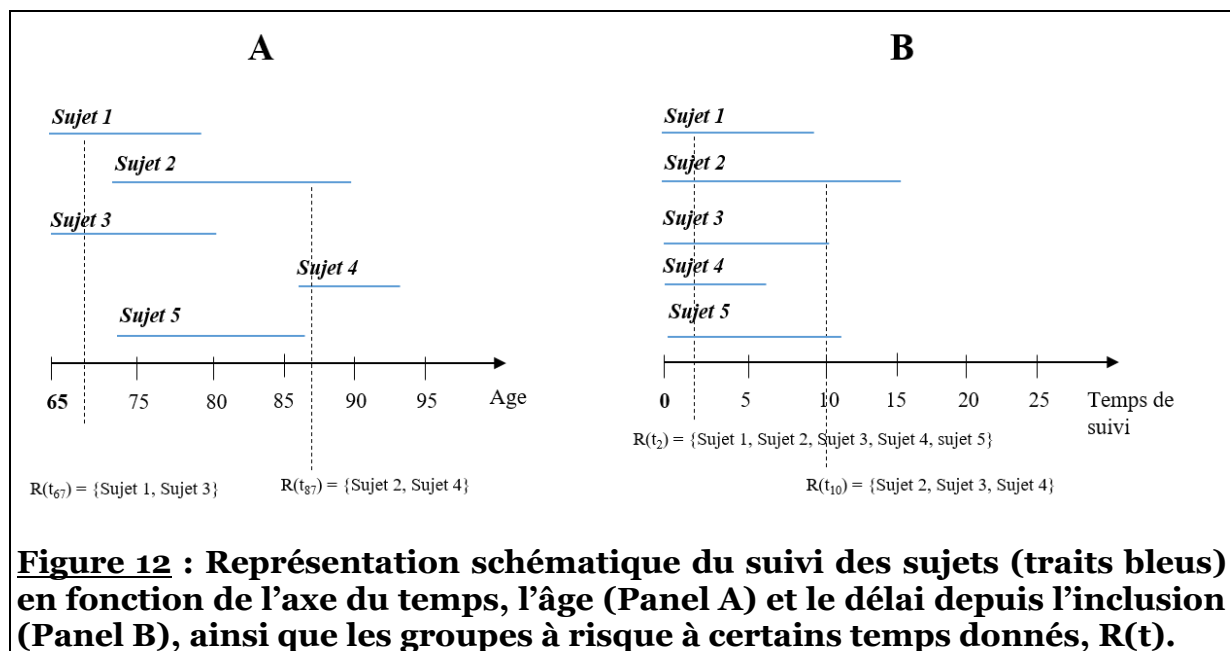
La sélection de variable par la méthode LASSO peut amener à des résultats assez instables et induire une certaine proportion de faux positifs (490). Un rééchantillonnage Bootstrap peut être réalisé afin d'améliorer la robustesse des résultats. Ce rééchantillonnage consiste au tirage au sort aléatoire, avec remise, des observations, afin de créer une version du jeu de données légèrement différente : certaines observations seront sélectionnées, de manière aléatoire, plusieurs fois, alors que d'autres ne le seront jamais. Cette procédure est répétée un grand nombre de fois, et une distribution des paramètres est obtenue. En pratique, la régression pénalisée de LASSO est faite dans chacun des sous-échantillons Bootstrap, et les variables sélectionnées dans une grande proportion d'échantillons sont retenus. Une présentation de la méthode est proposée dans une publication précédente (485).

2.2.2.2. Associations avec l'incidence de la démence : analyses de survie

L'analyse des données de survie consiste en l'étude de l'association entre des expositions d'intérêt et le délai de survenue d'un évènement (ici la démence). On parle de données temps-évènement car l'évènement se caractérise par un indicateur (0/1) et un délai de survenue. Certaines particularités de ces données temps-évènement et de la façon de les appréhender dans le cadre du schéma d'étude de la cohorte 3C sont à mentionner, tels que le choix de l'axe de temps, le concept de censure par intervalle et la présence de risques compétitifs.

L'axe du temps peut être défini en délai écoulé depuis l'inclusion dans l'étude (avec comme temps d'origine la date d'entrée dans l'étude), ou selon l'âge du sujet (le temps d'origine correspond alors à l'âge au moment de l'inclusion dans l'étude). De manière générale, quand l'âge est un facteur de confusion important dans l'association

entre l'exposition et le risque de subir l'évènement d'intérêt, l'âge du sujet comme axe du temps est privilégié. Cependant, cette approche introduit une baisse de la puissance statistique, le nombre de sujets à risque comparés pour l'incidence étant plus faible que quand le délai depuis l'inclusion est choisi (**Figure 12**). Ainsi, dans les analyses stratifiées ou lorsque les âges d'entrée dans l'étude des sujets sont très différents, afin d'augmenter la puissance statistique il peut être pertinent de choisir le délai écoulé depuis l'entrée dans l'étude comme axe du temps, à condition d'ajuster dans ce cas sur l'âge du sujet.



La censure est un phénomène rencontré dans le cadre des études d'observations où l'information est parcellaire : l'évènement n'est pas observé sur toute la période d'étude pour tous les participants. La censure à droite survient lorsque l'individu n'a pas encore subi l'évènement au moment des dernières nouvelles, du fait qu'il n'ait pas développé l'évènement avant la fin du suivi ou que son suivi ait été arrêté prématurément (sortie d'étude ou décès). L'hypothèse est alors faite que l'arrêt de suivi est indépendant de l'évènement d'intérêt (à défaut de quoi l'association est biaisée, avec une sous-estimation de l'association entre l'exposition et l'évènement d'intérêt). La censure par intervalle est un phénomène inhérent aux études de cohorte dans lesquelles l'objectivation de l'évènement d'intérêt (diagnostic de démence dans notre cas) est réalisée au moment de visites ponctuelles, et la date exacte de développement de celui-ci est inconnue. On peut seulement dire qu'elle est comprise entre la dernière

visite où le participant a été vu « non malade » et la visite suivante lors de laquelle la maladie a été objectivée. Dans la cohorte 3C, le choix a été fait d'imputer la date de diagnostic au point moyen entre ces deux visites.

Enfin, la présence potentielle de risques compétitifs est aussi à prendre en considération dans l'analyse de données de survie. Les risques compétitifs se définissent comme la situation où plusieurs événements sont possibles et sont « en compétition » pendant le suivi. Dans le cadre de l'étude de la démence chez les personnes âgées, le décès est en concurrence avec le développement de la démence. En effet, le décès empêche la démence de se produire ; s'il n'était pas décédé, le participant aurait pu plus tard développer une démence. L'absence de prise en compte de la présence de risques compétitifs est particulièrement problématique lorsque l'exposition d'intérêt est significativement associée au décès. Un biais peut être introduit dans l'estimation de l'association entre l'exposition et la survenue de la démence, d'autant plus en présence de censure par intervalle. Dans ce cas, la durée du suivi pour la démence peut être réduite car l'individu est décédé prématurément du fait de la présence de l'exposition, et la mesure d'association peut être sous-estimée. Dans le cadre de ce travail de thèse, un modèle de Cox classique (sans considération du potentiel risque compétitif par le décès) a été utilisé lorsque l'exposition d'intérêt n'était pas significativement associée au décès dans la population d'étude. Le modèle était censuré à l'âge au moment de la démence, l'âge au moment du décès ou l'âge à la dernière visite sans démence, selon le cas de figure survenant en premier. A l'inverse, un modèle de Cox cause-spécifique, prenant en compte la compétition par le décès, a été utilisé lorsque l'exposition principale était significativement associée au décès. Le modèle de Cox cause-spécifique permet de modéliser l'effet de l'exposition sur le risque instantané spécifique à chaque événement. Le modèle prend en compte le risque compétitif en intégrant le risque de décès dans l'estimation du risque absolu. En revanche, le modèle de Cox cause-spécifique ne gère pas le problème de censure par intervalles. Pour cela, il est nécessaire de mettre en œuvre des modèles multi-états (modèle illness-death) qui estiment les transitions entre chaque état (sain, démence, décès) (491). Cependant ces modèles peuvent être computationnellement lourds et difficiles à implémenter en pratique dans certaines applications (grosses bases de données, modèles complexes à interactions, etc.), c'est pourquoi, comme nous le reverrons plus tard, ils n'ont pas été privilégiés dans cette thèse.

A noter que les rapports de risque instantanés pour la démence (HR, Hazard ratios) sont équivalents entre le modèle de Cox classique et le modèle de Cox cause-spécifique (les données étant censurées à droite pour le décès), mais les fonctions de risque à chaque temps de suivi (aussi appelé risque absolu ou incidence cumulée) diffèrent entre ces deux modèles. Les spécificités de ces deux modèles sont détaillées dans le **Tableau 6**.

Tableau 6 : Caractéristiques des modèles de régression de Cox et Cox cause-spécifique utilisés dans ce travail de thèse

	Modèle de Cox	Modèle de Cox cause spécifique
	Soit i ($i=1,...,n$) sujets, X_p un ensemble de p ($p=1,...,q$) variables explicatives, T la variable aléatoire de délai de l'évènement et t la réalisation possible de la variable T : $F(t)$ représente la fonction de risque (ou risque absolu), $f(t)$ la fonction de densité, $S(t)$ la fonction de survie (ou probabilité de survivre sans évènement à la fin du suivi), $\lambda(t)$ la fonction de risque instantané, et k l'évènement considéré	
Fonctions de risque et de survie	$F(t) = P(T \leq t) = \int_0^t f(u)du = 1 - S(t)$ Avec $f(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0^+} \frac{P(t \leq T < t + \Delta t)}{\Delta t}$ et $S(t) = p(T > t)$	$F(t) = P(T \leq t, k = \text{démence}) = \int_0^t S(u)\lambda_{\text{démence}}(u)du = 1 - S(t) - F_{\text{décès}}(t)$ Avec $S(t) = p(T > t)$ et $\lambda_{\text{démence}}(t) = \frac{P(t \leq T < t + \Delta t, k = \text{démence} T \geq t)}{\Delta t}$
Spécification du modèle	Modélisation de l'effet des facteurs X_p sur le risque instantané de démence en fonction du temps t : $\lambda(t x_{1i},..., x_{pi}) = \lambda_0(t)e^{\beta_1 x_{1i} + \dots + \beta_p x_{pi}}$ Avec $\lambda_0(t)$ la fonction de risque instantané de base au temps t, quand toutes les variables x_p sont nulles, et β_p les coefficients de régression quantifiant l'effet de X_p sur le risque instantané de démence	Modélisation de l'effet des facteurs X_p sur le risque instantané spécifique à chaque évènement k en fonction du temps t. Un Modèle de Cox est utilisé pour chaque évènement k, censurant aux autres évènements en compétition s'ils se sont produits avant l'évènement k. $\lambda_k(t x_{1i},..., x_{pi}) = \lambda_{0,k}(t)e^{\beta_{1k} x_{1i} + \dots + \beta_{pk} x_{pi}}$ Avec $\lambda_{0,k}(t)$ la fonction de risque instantané de base au temps t pour l'évènement k, quand toutes les variables x_p sont nulles, et β_{pk} les coefficients de régression quantifiant l'effet de X_p sur le risque instantané de l'évènement k. Prise en compte de la compétition grâce au paramètre $\lambda_{0,k}(t)$, intégrant le risque basal de décéder de manière concomitante à celui de développer une démence.
Estimation des paramètres	Méthode du maximum de vraisemblance partielle	
Tests d'hypothèses	- Apport spécifique d'une variable explicative dans le modèle : test de Wald - Apport d'un sous-ensemble de variable explicatives dans le modèle : test du rapport de vraisemblance	
Interprétation des paramètres	e^{β_q} : Rapport de risque instantané, aussi appelé Hazard Ratio (HR), ajusté sur les $(p-1)$ autres variables X - Des sujets chez qui $X_q = 1$ par rapport aux sujets ayant $X_q = 0$, si X_q est binaire - Pour l'augmentation d'une unité de X_q, si X_q est quantitative	
Adéquation du modèle	<u>Proportionnalité des risques instantanés</u> : les risques instantanés sont constants au cours du temps (vérification de l'adéquation de cette hypothèse avec la méthode des résidus de Schoenfeld) (492) <u>Pour toutes variable X_p continue, log-linéarité</u> : l'augmentation d'une unité de X_q a le même effet e^{β_q} quelle que soit la valeur de X_q (vérification de l'adéquation de cette hypothèse avec la méthode des splines) (493,494)	

2.2.2.3. Association avec le déclin cognitif

2.2.2.3.1. Dans le cadre d'une étude cas-témoin appariée nichée dans la cohorte : régression logistique conditionnelle

Dans le cadre de l'étude ancillaire de type cas-témoin apparié pour l'analyse des données en métabolomique ciblée, la régression logistique conditionnelle a été utilisée, permettant l'estimation de l'association entre une variable d'exposition et la variable à expliquer de type catégorielle binaire (0 = témoin/1 = cas). Rappelons ici que les cas sont les sujets avec un déclin cognitif plus important, et les témoins les sujets avec un déclin cognitif moindre.

Notons k chaque strate ($k=1,\dots,K$), composée d'un cas et d'un témoin appariés, et le sujet i de la strate k ($i=1,\dots, n_k$) :

$$\text{logit}P(Y_{ki}|x_{1ki}, \dots, x_{pki}) = \alpha_k + \beta_1 x_{1ki} + \dots + \beta_j x_{jki} + \dots + \beta_p x_{pki}$$

$$\text{Avec } \text{logit}(p) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right)$$

Où

- $Y_{ki} = 1$ si le sujet i appartenant à la strate k est un cas et $Y_{ki} = 0$ si c'est un témoin.
- x_{jki} la valeur observée pour la $j^{\text{ème}}$ ($j=1,\dots,p$) variable explicative X_j pour le sujet i appartenant à la strate k .
- β_j le paramètre de régression associé à la variable X_j .
- α_k un paramètre propre à la strate k : sa valeur est la même pour tous les sujets i de d'une même strate. Il représente tous les facteurs pour lesquels tous les sujets de la strate k ont la même valeur, et plus particulièrement les facteurs d'appariement.

En termes d'interprétation, e^{β_j} correspond au rapport de cote (RC, ou OR pour Odds Ratio) de la maladie pour la variable X_j . Pour une variable X_j binaire, $RC = e^{\beta_j}$ est défini comme le rapport de cote de la maladie chez les exposés au facteur X_j par rapport aux non exposés, ajusté sur les autres variables explicatives. Pour une variable quantitative, $RC = e^{\beta_j}$ représente le rapport de cotes de la maladies pour une augmentation d'une unité de la variable X_j , toute autre variable égale par ailleurs.

Le modèle de régression logistique conditionnel s'estime par la méthode du maximum de vraisemblance. Comme pour les modèles de Cox spécifiés dans la partie précédente, les tests d'hypothèse correspondent au test de Wald pour le test d'un seul

paramètre à la fois, et au test du rapport de vraisemblance pour un sous-ensemble de paramètres.

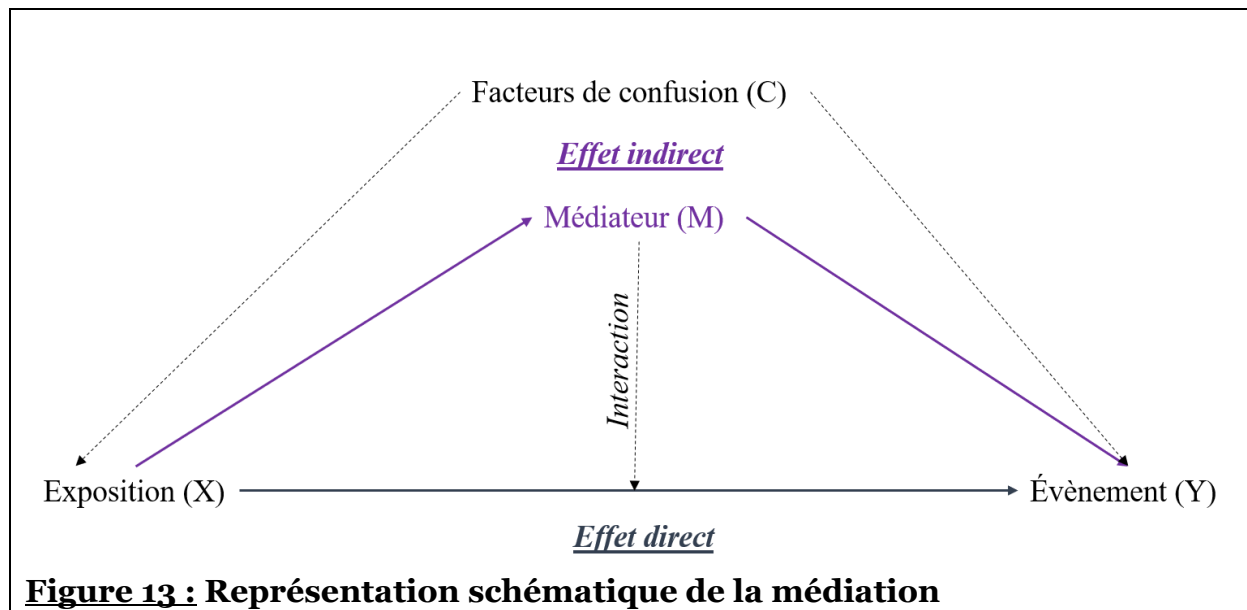
La vérification de l'adéquation du modèle logistique conditionnel consiste seulement à vérifier la linéarité sur le $\text{logit}P(Y_{ki}|x_{1ki}, \dots, x_{pki})$ de l'effet des variables quantitative. Cela peut être fait soit par la méthode des polynômes fractionnaires (495) soit par la méthode des splines (493,494).

2.2.2.3.2. Dans le cadre d'une analyse des trajectoires d'évolution cognitive : modèles linéaires mixtes à processus latent

Nous avons collaboré avec une ancienne chercheuse de l'équipe pour modéliser les trajectoires de déclin cognitif, en complément des analyses sur l'incidence de la démence dans la partie **3.3. Identification de groupes à risque et populations vulnérables avec des polymorphismes génétiques particuliers**. Ces modèles utilisent les mesures répétées de marqueurs, comme les tests cognitifs, pour estimer la trajectoire moyenne d'évolution dans la population, et la variation inter et intra-individuelle autour de cette trajectoire. Une extension des modèles mixtes appelée modèles à processus latents permet de modéliser le facteur latent sous-jacent à plusieurs marqueurs simultanément (plusieurs tests cognitifs ici). Cette approche a été utilisée au préalable dans des études utilisant les données 3C (496,497). L'approche est décrite dans la publication scientifique associée (voir **chapitre 3.3.**) et ne sera pas détaillée dans le manuscrit de thèse.

2.2.2.3.3. Analyse de médiation

Les analyses de médiation permettent d'estimer dans quelle mesure une variable spécifique, appelée médiateur (M), peut expliquer (médier) la relation entre une exposition (X) et un événement (Y) (**Figure 13**). La médiation se distingue de la « modification de l'effet » (interaction) par le fait que la variable que modifie le risque dépend de l'exposition en raison d'une relation causale, même si le facteur médiateur peut à la fois médier la relation et être un modificateur d'effet. Ces analyses permettent l'estimation de l'effet direct de l'exposition X sur l'apparition de l'évènement Y et de manière simultanée l'effet indirect de cette exposition, médié par M se trouvant sur le chemin causal, tout en ajustant sur les facteurs de confusion (C) (**Figure 13**).



La quantification des effets directs et indirects peut se faire de différentes façons, et dans le cadre de cette thèse, c'est l'approche contrefactuelle qui sera utilisée. Cette approche définit la causalité par une comparaison de l'évènement observé et de l'évènement contrefactuel (qui aurait été observé si, contrairement aux faits, le sujet avait eu une exposition différente de celle observée) (498).

Dans le cadre contrefactuel, quatre hypothèses doivent être vérifiées :

- 1) Pour un ensemble de facteurs confondants C donné, il n'y a pas d'effet de confusion non mesuré entre l'exposition X et l'évènement Y
- 2) Pour une exposition X et un ensemble de facteurs confondants C donnés, il n'y a pas d'effet de confusion non mesuré entre le médiateur M et l'évènement Y
- 3) Pour un ensemble de facteurs confondants C donné, il n'y a pas d'effet de confusion non mesuré entre l'exposition X et le médiateur Y
- 4) Pour un ensemble de facteurs confondants C donné, il ne doit pas exister de facteur de confusion entre le médiateur M et l'évènement Y qui soit affecté par l'exposition X.

Il faut également s'assurer que la temporalité entre les différents facteurs (exposition, médiateur et évènement) soit respectée, et que l'évènement soit rare dans la population.

Définissons maintenant les différents effets estimables au travers de ces analyses de médiations contrefactuelles :

- L'effet direct naturel (**NDE**, Natural Direct Effect) quantifie l'effet de l'exposition X sur Y, pour une valeur du médiateur fixée à sa valeur naturelle en absence d'exposition.
- L'effet naturel indirect (**NIE**, Natural indirect Effect) quantifie la variation de Y quand le niveau de X est maintenu constant et que M change par rapport à ce qu'il aurait fallu pour une augmentation d'une unité de X. Il capte en fait l'effet de l'exposition sur l'évènement si on change la valeur du médiateur.
- L'effet total (**TE**, Total Effect) quantifie la variation de Y pour l'augmentation d'une unité de X.

$$TE = NIE + NDE$$

- La proportion médiée (**MP**, mediated proportion) saisit l'importance du chemin passant par le médiateur pour expliquer le fonctionnement réel de la relation entre l'exposition et l'évènement.

$$MP = \frac{NIE}{TE}$$

Cette méthode a été utilisée pour l'étude de la médiation entre métabolites et déclin cognitif dans l'étude cas-témoin appariée nichée dans la cohorte 3C au **chapitre 3.2. Identification de nouvelles cibles en décryptant l'axe intestin-cerveau par la métabolomique**. Du fait de la particularité de l'appariement dans cette analyse (l'appariement rendant impossible l'utilisation de la méthode classique de médiation, du fait de la modification de la vraisemblance partielle), une approche développée par Y.M. Kim et ses collègues pour les études de médiations applicables aux données cas-témoin apparié a été appliquée (499).

Dans le cadre d'une étude cas-témoin appariée, comme pour l'approche classique, deux modèles de régression logistique conditionnelle doivent d'abord être construits. Le modèle principal (**modèle A**), estimant le rapport de cote entre l'exposition principale (X) et l'évènement (ici statut cas/témoin) Y, ajusté sur le médiateur (M, binaire) et un ensemble de covariables C. Le deuxième modèle est le modèle « médiateur », estimant l'association entre M et Y, ajusté sur C' (**modèle B**). Sera aussi considérée l'interaction potentielle entre X et M dans le modèle principal, et dans le calcul du NDE et du NIE.

$$(A) \quad \text{logit}P(Y_{ki}|x_{ki}, m_{ki}, ck_i) = \alpha_k + \beta_1 x_{ki} + \beta_2 m_{ki} + \beta_3 x_{ki} \times m_{ki} + \beta_4 ck_i$$

$$(B) \quad \text{logit}P(M_i|x_i, c'_i) = \theta_0 + \theta_1 x_i + \theta_2 c'_i$$

Où

- $Y_{ki} = 1$ si le sujet i appartenant à la strate k est un cas et $Y_{ki} = 0$ si c'est un témoin.
- x_{jki} la valeur observée pour la $j^{\text{ème}}$ ($j=1, \dots, p$) variable explicative X_j pour le sujet i appartenant à la strate k .
- β_j le paramètre de régression associé à la variable X_j dans le modèle A.
- α_k un paramètre propre à la strate k : sa valeur est la même pour tous les sujets i de d'une même strate. Il représente tous les facteurs pour lesquels tous les sujets de la strate k ont la même valeur, et plus particulièrement les facteurs d'appariement.
- ck_i l'ensemble des variable d'ajustement dans le modèle A
- θ_j le paramètre de régression associé à la variable X_j dans la modèle B.
- c'_i l'ensemble des variable d'ajustement dans le modèle B

Les NDE et NIE peuvent alors être calculés en termes de rapport de cote entre des personnes avec un niveau d'exposition $X=x^*$ comparés à un niveau d'exposition $X=x$, de la manière suivante :

$$RC_{x,x^*|c}^{NDE}(x^*) = \frac{e^{\beta_1 x} \times (1 + e^{\beta_2 + \beta_3 x + \theta_0 + \theta_1 x^* + \theta_2 c})}{e^{\beta_1 x^*} \times (1 + e^{\beta_2 + \beta_3 x^* + \theta_0 + \theta_1 x^* + \theta_2 c})}$$

$$RC_{x,x^*|c}^{NIE}(x) = \frac{(1 + e^{\theta_0 + \theta_1 x^* + \theta_2 c})(1 + e^{\beta_2 + \beta_3 x + \theta_0 + \theta_1 x + \theta_2 c})}{(1 + e^{\theta_0 + \theta_1 x + \theta_2 c})(1 + e^{\beta_2 + \beta_3 x + \theta_0 + \theta_1 x^* + \theta_2 c})}$$

La proportion médiée se traduit alors par la formule :

$$MP = \frac{\log(RC_{x,x^*|c}^{NIE}(x))}{\log(RC_{x,x^*|c}^{NDE}(x^*)) + \log(RC_{x,x^*|c}^{NIE}(x))}$$

Les intervalles de confiance de ces estimations, et leur significativité, peuvent être estimés à l'aide de la méthode du rééchantillonnage Bootstrap. Le principe est de tirer au sort aléatoirement, avec remise, des paires de cas/témoin, afin de créer une version légèrement différente de l'échantillon initial. Est alors obtenue une distribution de paramètres, à partir de laquelle des intervalles de confiances peuvent être estimés.

Chapitre 3

-

Résultats

3.1. Identification de combinaisons nutritionnelles optimales pour la prévention

3.1.1. Elaboration d'un indice de statut biologique multi-micro-nutritionnel associé au risque de démence (Article 1)

3.1.1.1. Introduction

Comme explicité dans la partie **1.2. Nutrition et vieillissement cérébral**, certains nutriments apportés par des profils alimentaires sains (de type méditerranéen par exemple) ont été associés à un moindre risque de démence ou à un déclin cognitif diminué. Parmi ceux-ci sont retrouvés les n-3 AGPI (venant du poisson gras et de certaines huiles), les composés antioxydants comme les vitamines C et E, les caroténoïdes et les polyphénols (provenant des fruits et légumes et de certaines boissons), les vitamines B (comme les folates retrouvés dans les légumes verts à feuille) et la vitamine D (apportée par la consommation de poissons gras ou de produits laitiers enrichis, mais principalement issue d'une biosynthèse endogène par la peau suite à l'exposition au soleil) (500,501). Cependant, les essais cliniques testant une supplémentation en ces différents composés nutritionnels dans le but d'une amélioration des performances cognitives sont plutôt décevants (502,503).

L'échec de ces essais cliniques peut s'expliquer de diverses manières. Leur incapacité à considérer le statut nutritionnel basal, avant toute intervention, pourrait en être une. Le ciblage de la bonne population est un élément clef dans l'efficacité de tout essai clinique. En effet, intervenir sur une population moins à risque diminue les chances de succès de la supplémentation. Ensuite, la majorité des essais se concentre sur des nutriments isolés, alors que leur prise en compte de manière combinée pourrait être plus pertinente dans le cadre de pathologies aussi complexes que la démence et les troubles associés (504).

L'identification d'une combinaison de nutriments capable de promouvoir la santé cérébrale avec le vieillissement se restreint pour l'instant à des études très exploratoires (voir la partie **2.2.1. Stratégies d'analyse relatives à la structure**

des expositions d'intérêt principal) et les résultats ne sont pas toujours concordants, chaque étude identifiant des profils différents selon les nutriments mesurés et la population d'étude (186,193,504,505). Une étape importante pour la mise en application de ces études observationnelles exploratoires, en situation clinique, consiste à élaborer des scores de risque (ou « indices ») implémentables en pratique de façon reproductible, afin d'aider à la caractérisation du statut micro-nutritionnel des personnes et d'identifier celles qui sont le plus à risque de subir dans les années à venir un vieillissement cérébral pathologique. De tels indices permettraient aussi d'identifier les populations avec un profil micro-nutritionnel inadéquat les plus susceptibles de bénéficier d'une supplémentation en nutriments dans les essais cliniques ou en prévention primaire.

Dans l'étude 3C, des travaux ont montré que le taux circulants en n-3 AGPI longue chaîne (EPA+DHA) étaient associés à un moindre risque de démence chez 1279 participants (HR=0.87 pour l'augmentation d'un écart-type [ET], 95% IC 0.76-0.98), ainsi qu'à une pente de déclin cognitif global moindre (127). De façon similaire, les taux circulants de 25(OH)D chez 916 participants étaient associés au risque de démence, les participants présentant une déficience en 25(OH)D (<25 nmol/L) ayant un risque de démence presque multiplié par trois (HR=2.85, 95% IC 1.37-5.97) par rapport aux participants sans déficience (>50 nmol/L) (506). Les caroténoïdes ont également été associés à la démence chez 1092 participants de la cohorte 3C, la somme des taux circulants de 6 caroténoïdes rapportés aux taux de cholestérol et triglycérides étant associée à un moindre risque (HR=0.81 pour l'augmentation d'un ET, 95% IC 0.68-0.97) (483). Une déficience multiple en ces différents groupes de nutriments pourrait être particulièrement délétère dans le cadre du vieillissement cognitif. Ainsi, une analyse exploratoire par PLS a montré dans la cohorte 3C qu'un profil biologique composé d'une concentration moindre en 25(OH)D, en caroténoïdes et en AGPI, était fortement associé au risque de démence (192).

Nous avons souhaité aller plus loin à partir de ces résultats exploratoires. L'objectif de ce premier travail de thèse était de développer, à partir des données de la cohorte 3C, un indice de statut micro-nutritionnel (MNBS pour *miconutritional biological status*) pour le dépistage des carences micro-nutritionnelles en lien avec le développement de la démence chez les personnes âgées, en combinant le statut

plasmatique en trois familles de nutriments clés pour le vieillissement cérébral : les n-3 AGPI, la vitamine D et les caroténoïdes.

3.1.1.2. Article (publié, Journal of Alzheimer's disease, 2022)

A Biological Index to Screen Multi-Micronutrient Deficiencies Associated with the Risk to Develop Dementia in Older Persons from the Community

Jeanne Neuffer^{a,*}, Marjorie Gourru^a, Aline Thomas^a, Sophie Lefèvre-Arbogast^a, Alexandra Foubert-Samier^b, Catherine Helmer^a, Cécile Delcourt^a, Catherine Féart^a and Cécilia Samieri^a

^aUniversity of Bordeaux, INSERM, Bordeaux Population Health Research Center, UMR 1219, Bordeaux, France

^bInstitut des Maladies Neurodégénératives, Bordeaux Univ. Hospital, Bordeaux, France

Accepted 13 October 2021

Pre-press 18 November 2021

Abstract.

Background: Low blood status in several nutritional compounds, including long-chain omega-3 fatty acids (LC n-3 PUFA), carotenoids, and vitamin D, have been associated with a higher risk to develop dementia. Nutritional deficiencies may potentiate each other regarding dementia risk; yet the association of multiple nutritional deficiencies with dementia has been little explored.

Objective: To develop an index of micronutritional biological status (MNBS) for the screening of multi-micronutritional deficiencies associated with the risk of dementia in a prospective population-based cohort of older persons.

Methods: We included participants from the Bordeaux Three-City study, who were free of dementia at baseline, had blood measurements of LC n-3 PUFA, carotenoids, and 25(OH)D, and who were followed for up to 18 years for dementia. We used penalized splines in Cox models to model dose-response relationships of each nutritional component with the risk of dementia and construct a risk index.

Results: 629 participants with an average age of 73.1 years were included in the study. Each increase of 1 SD of the MNBS index was associated with a 46% higher risk of dementia (HR = 1.46, 95% CI 1.23; 1.73). Participants with highest index ([mean+1SD; max]) had a 4-fold increased risk of dementia compared with participants with a low index ([min; mean-1SD]) (HR = 4.17, 95% CI 2.30; 7.57).

Conclusion: This index of assessment of micronutritional biological status is a practical tool that may help identify populations with inadequate nutritional status, screen eligible individuals for nutritional prevention in primary care, or for supplementation in preventive trials of dementia.

Keywords: Biomarkers, cognitive aging, dementia, diet, elderly, food, molecular epidemiology, nutrients, nutritional status, prevention

INTRODUCTION

Poor diet quality is associated with cognitive aging and the risk to develop dementia in older age. Higher adherence to healthy dietary patterns since midlife,

*Correspondence to: Jeanne Neuffer, Inserm U1219, ISPED, Univ. Bordeaux, CS 61292, 146 rue Léo-Saignat, F-33076 Bordeaux cedex, France. Tel.: +33 06 73 31 60 90; E-mail: jeanne.neuffer@u-bordeaux.fr.

such as the Mediterranean diet, may lower dementia risk in older age, while western diets may increase risk [1]. Low circulating levels of several nutrient biomarkers have also been associated with increased cognitive aging and higher dementia risk in epidemiological studies. Nutritional compounds provided by healthy diets that may confer protection to the aging brain include: polyunsaturated fats (in particular marine long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids [LC n-3 PUFA]); antioxidant compounds (i.e., vitamins C and E, carotenoids and polyphenols, found in various plant-based foods and beverages); B vitamins (e.g., folate, highly concentrated in green leafy vegetables); and vitamin D (which originates from biosynthesis in response to sunlight exposure and to a lesser extent from the consumption of fatty fish and enriched foods) [1, 2]. However, prospective studies on the association between these individual nutritional compounds and cognitive aging endpoints have been inconsistent [3–14], and randomized controlled trials testing the efficacy of supplementation have been disappointing so far [15, 16]. Among potential explanations for failure of these trials, are: 1) their inability to consider basal nutritional status while defining the target population [17]; 2) the use of single nutrient formulations, ignoring nutrient combinations that may collectively promote brain health with aging [18]; and 3) a focus on nutrient supplementation rather than overall dietary patterns, that, potentially complemented by other lifestyle modification(s), may efficiently correct multinutrient deficiencies [1].

Literature on the effects of a combination of nutrients on brain health has been scarce and limited to a few exploratory studies [19, 20]. A critical step toward translation of exploratory findings from observational studies into the clinics is to develop operational and reproducible index scores to characterize micronutritional biological status in older adults associated with increased risk of dementia. Such indexes would help define populations with inadequate nutritional status, identifying eligible individuals for nutritional prevention in primary care and benefit from nutrient supplementation in trials.

The aim of this study was to develop from the large prospective, population-based, Three-City (3C) cohort study, an index of micronutritional biological status (MNBS) for the screening of multi-micronutritional deficiencies associated with the risk to develop dementia in older persons from the community. Based on previous findings from our group [3, 6, 12, 19, 21] and others [5, 8, 11, 22], we focused

on three classes of nutritional compounds of primary interest for cognitive aging and dementia—LC n-3 PUFA, carotenoids, and 25(OH)D.

METHODS

Study population

The 3C study is a French prospective cohort initiated in 1999 for the primary purpose of studying vascular risk factors for dementia. It included 9,294 non-institutionalized community dwellers aged over 65 years from three French cities: Bordeaux ($n=2,104$), Dijon ($n=4,931$), and Montpellier ($n=2,259$) [23]. The 3C protocol was approved by the Consultative committee for the protection of Persons participating in Biomedical Research at Kremlin-Bicêtre University hospital in France and all participants provided written informed consent. At baseline, face-to-face interviews were conducted to collect socio-demographic data, lifestyle, and health parameters. In addition, anthropometric and blood pressure measurements were performed, as well as a fasting blood sampling for constitution of a biobank. Follow-up visits were conducted at home every two to three years until 2017 in the Bordeaux sample (where the cohort is still ongoing).

In Bordeaux, a nutritional survey was performed by trained dietitian during a home interview conducted at the first follow-up in 2001–2002, including a food frequency questionnaire and a 24-h recall [24, 25]. Moreover, biomarkers of several nutritional compounds were determined in sub-samples at baseline. Among the 2,104 Bordeaux participants, 1,700 individuals free of dementia at baseline provided blood samples, among whom 1,279 had fatty acid [26], 1,083 had carotenoid [6], and 864 had 25(OH)D measurements [12]; in total, 637 individuals had all three biomarker classes measured. After excluding the participants with missing data for the main covariates, the analytical sample included 629 participants (Supplementary Figure 1).

Diagnosis of dementia

Dementia diagnosis was based on a three-step procedure [23]. At baseline and at each follow-up visit, a battery of cognitive tests was ascertained by a psychologist. In Bordeaux, all participants at baseline, and those suspected to have dementia based on neuropsychological evaluation at each follow-up visit were secondary examined by a

neurologist to establish a diagnosis. All cases were adjudicated by an independent committee of neurologists, who reviewed all existing information to establish the diagnosis and etiology based on the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition [27] and National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) [28]. Incident cases were adjudicated until year 2017.

Plasma biomarkers of nutritional compounds

Fasting serum, plasma, and DNA samples collected at baseline were stored at -80°C in a biobank. Fatty acids, carotenoids, and 25(OH)D were determined in total plasma using methodologies described previously [6, 26, 29]. Fatty acids were measured (in percentage of total fatty acids) using gas chromatography. Carotenoids were measured using high performance liquid chromatography and were normalized on plasma lipid levels (total cholesterol [TC] plus triglycerides [TG], expressed in $\mu\text{g}/\text{mmol}$), as recommended [6, 30]. Finally, 25(OH)D was measured using an immunoassay (ARCHITECT 25-OH Vitamin D assay Abbott Diagnostic, Germany) [29] and its concentration (expressed in nmol/L) was adjusted for the season when blood draw was performed. The measured 25(OH)D concentrations were regressed on calendar time using a periodic function to estimate a de-seasonalized concentration (noted 25(OH)D_d), as previously reported [12] (Formula 1):

$$25(OH)D_d = \beta_0 + \beta_1 \sin\left(\frac{2\pi t}{365}\right) + \beta_2 \cos\left(\frac{2\pi t}{365}\right) \quad (1)$$

Where t represents the day of the year the sample was collected, and β_j ($j=0,1,2$) estimated regression coefficients.

For fatty acid and carotenoid classes, which included several subclasses, we defined exposures of primary interest to construct the MNBS index. For fatty acids, we focused on total LC n-3 PUFA through the sum of eicosapentaenoic acid (EPA), docosapentaenoic acid (DPA), and docohexaenoic acid (DHA), and for carotenoids, we used the sum of all six subclasses (carotenes [α -carotene, β -carotene, and lycopene] and xanthophylls [lutein, zeaxanthin, and β -cryptoxanthin]) measured in the study, based on our recent findings on the risk of dementia, cognitive decline, and brain atrophy [3, 6, 21]. Alternative exposures of primary interest (e.g., total n-3 PUFA including the precursor alpha-linolenic acid [ALA]

added to LC n-3 PUFA, etc.) were considered in supplementary analyses, as detailed in the dedicated section.

Other variables

All covariates were considered at the time of blood draw in baseline. Sociodemographic data included age, sex, and educational level (none, primary school (or middle school), versus $\geq$ secondary school). Lifestyle factors included smoking (in pack-years), alcohol consumption (grams per day), body mass index (BMI, computed as $\text{weight}/\text{height}^2$ [kg/m^2]) and regular practice of physical activity (practicing sport at least 1 hour per week, having at least 1 hour of intensive leisure activity per week like running, swimming, or hiking, or at least 1 hour of more moderate activities per day, such as walking or household) [31]. Vascular risk factors included: hypercholesterolemia, defined as fasting blood cholesterol ≥ 6.2 mmol/L [32] and/or taking lipid-lowering medication; diabetes defined as fasting glycemia ≥ 7 mmol/L and/or taking diabetes medication [33] hypertension, defined as blood pressure $\geq 140/90$ and/or antihypertensive treatment [34]; and reporting history of cardiovascular and cerebrovascular diseases (i.e., myocardial infarction, angina, heart rhythm disorder and heart failure, arthritis of the lower limbs disease, stroke or cardiac/vascular surgery). Depressive symptomatology was assessed with the center for epidemiological studies-depression scale (CES-D) [35]. High depressive symptoms were defined as scoring a CES-D ≥ 23 for females and ≥ 17 for males or being "too depressed to answer". The main genetic risk factor for Alzheimer's disease, the presence of at least one allele $\epsilon 4$ for the gene of the apolipoprotein E (APOE $\epsilon 4$), was considered dichotomously.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using SAS version 9.4 (SAS Institute Inc) and R version 4.0.3 (R Foundation).

To construct a MNBS index to screen nutritional deficiencies associated with dementia risk, that would both be user-friendly (i.e., avoiding complex computational algorithms with dedicated bioinformatics tools) and allow simple clinical interpretation (e.g., risk stratification by groups with identified ranges of biological status across each nutrient of interest), we *a priori* chose to use a parsimonious scoring

system based on three levels of risk (low, intermediate, and high) for each nutrient component of interest. First, we determined the *thresholds* for low, intermediate, and high dose-risk, based on the dose-response relationships between each nutrient and the risk of dementia, using penalized splines in a Cox proportional hazard model [36]. Each model used delayed entry and age as a time scale, included a spline function of nutrient component concentration and was adjusted for sex, educational level and *APOE* $\epsilon 4$ carrier status. The date of dementia was imputed as the mid-point between the last visit without dementia and the visit at which the diagnosis was made. Follow-up was censored either at the date of dementia, death, or at the end of follow-up, whichever came first. The most relevant thresholds were determined based on graphical interpretation of the dose-response curves of association between each nutrient component and subsequent dementia risk. These thresholds were used to define 3-level categorical variables for each of the three components of interest (e.g., LC n-3 PUFA_{low}, LC n-3 PUFA_{interm}, and LC n-3 PUFA_{high} for low, intermediate, and high dose-risk, respectively, of the related component). Second, these 3-level categorical variables were used to compute the *weights* associated with each dose-risk category as the beta coefficients associated with the categorized nutrient components in a novel series of Cox models (adjusted as previously and using the lowest dose-risk category as a reference). The MNBS index for dementia risk was computed as a weighted sum score (Formula 2):

$$\begin{aligned} \text{MNBS index} = & w_1 \text{LC n-3 PUFA}_{\text{interm}} + \\ & w_2 \text{LC n-3 PUFA}_{\text{high}} + \\ & w_3 \text{carotenoid}_{\text{interm}} + \\ & w_4 \text{carotenoid}_{\text{high}} + \\ & w_5 25(\text{OH}) D_{\text{interm}} + \\ & w_6 25(\text{OH}) D_{\text{high}} \end{aligned} \quad (2)$$

With w_h ($h = 1$ to 6) denoting the weights associated with the two highest dose-risk category (interm for intermediate and high for high risk) in Cox models using low dose-risk category as a reference.

Third, the MNBS index was associated with the risk of dementia in a last Cox model. This final model was adjusted for a large set of potential confounders, including sex, educational level, smoking, alcohol consumption, BMI, regular physical activity,

hypercholesterolemia, diabetes, hypertension, history of cardiovascular and cerebrovascular disease, depression and *APOE* $\epsilon 4$ carrier status.

In all models, the log-linearity and the risk proportionality hypotheses were evaluated using penalized splines and the Schoenfeld residuals, respectively.

Missing data for covariates ($\leq 2\%$ for all variables except for physical activity, for which data were missing for 10%) were imputed by multiple imputations (using chained equations with fully conditional specification method; $M = 5$ imputations), whenever necessary.

Supplementary analyses

We evaluated the robustness of our MNBS index for dementia risk to various modifications of the scoring system in a series of supplementary analyses. First, we varied the definition of nutrient components. For fatty acids, instead of LC n-3 PUFA, we considered using total n-3 PUFA (sum of ALA and LC n-3 PUFA); total PUFA (omega-6 polyunsaturated fatty acids, n-6 PUFA [sum of linoleic acid, γ -linolenic acid, and arachidonic acid] + n-3 PUFA); the n-6/n-3 PUFA ratio; and the ratio of saturated fatty acids (SFA; sum of myristic acid, palmitic acid, and stearic acid)/PUFA. For carotenoids, we separated carotenes and xanthophylls, and we considered β -carotene alone. Second, we varied certain component thresholds. For 25(OH)D, which has established cut-offs to evaluate biological status (based on effects on bone health), we considered using the WHO definition of insufficiency (< 50 nmol/L) and deficiency (< 25 nmol/L) to define top and bottom thresholds. For LC n-3 PUFA and carotenoids, which have no prior established clinical cut-offs, we considered using the continuous variables without categorization as an alternative component definition.

Additionally, we investigated the relation of nutrient components and the MNBS index with mortality to exclude the possibility of competing risk by death in our analyses. Finally, we run a complete-case analysis ($n = 534$) to evaluate potential bias induced by the multiple imputation of missing data procedure.

RESULTS

The 629 participants were 73.1 years old ($SD = 4.4$), on average, at the time of nutrient biomarker measurements in baseline. They were predominantly female (61%), 43% had an education level higher than secondary school and 18% were *APOE* $\epsilon 4$ carriers

Table 1

Baseline characteristics of participants by increasing index of micronutritional biological status associated with dementia risk, the 3C Bordeaux study (1999–2017)

	Overall population (N = 629)	Index of micronutritional biological status			
		[min; mean-1SD] (low risk) (N = 132)	[mean-1SD; mean] (medium-low risk) (N = 147)	[mean; mean + 1SD] (medium-high risk) (N = 267)	[mean + 1SD; max] (high risk) (N = 83)
Age (y), mean (SD)	73.1 (4.4)	72.8 (4.2)	73.0 (4.3)	73.2 (4.5)	73.1 (4.5)
Female	383 (61)	93 (71)	89 (61)	149 (56)	52 (63)
Education level $\geq$ secondary school	268 (43)	56 (42)	68 (46)	119 (45)	25 (30)
<i>APOE</i> ϵ 4 carrier	112 (18)	30 (23)	26 (18)	46 (17)	10 (12)
BMI, mean (SD)	26.4 (3.7)	25.6 (3.6)	26.3 (3.8)	26.4 (3.6)	27.5 (4)
Smoking (pack-years), mean (SD)	8.4 (16.9)	5.7 (14.4)	8.3 (16.1)	9.3 (18)	10.2 (17.7)
Alcohol consumption (g/day), mean (SD)	13.7 (15.5)	11.5 (11.8)	14.9 (16.7)	13.8 (15.1)	14.6 (19.1)
Regular physical activity	213 (38)	88 (43)	61 (45)	81 (35)	19 (25)
Depression	31 (5)	8 (6)	10 (7)	8 (3)	5 (6)
History of cardiovascular disease	54 (9)	6 (5)	13 (9)	27 (10)	8 (10)
Diabetes	49 (8)	3 (2)	10 (7)	26 (10)	10 (12)
Hypertension	473 (75)	95 (72)	112 (76)	194 (73)	72 (87)
Hypercholesterolemia	375 (60)	72 (54)	80 (54)	167 (62)	56 (67)

Values are N (%), unless otherwise stated. Note that the means and percentages are of non-missing values. Missing baseline values: 1% for smoking, 2% for alcohol consumption, 10% for physical activity, 2% for depression and 1% for diabetes. *APOE* ϵ 4, ϵ 4 allele of the apolipoprotein E gene; BMI, body mass index; SD, standard deviation

(Table 1). In total, 149 participants developed dementia over a mean follow-up time of 13.5 years (min = 1 year, max = 18 years).

Construction of a MNBS index to screen micronutritional deficiencies associated with dementia risk

The dose-response relationships of each nutritional component with dementia risk are given in Fig. 1. All three classes were inversely associated with dementia risk; thus, the highest levels of dementia risk were associated with the lowest plasma biomarker values. For LC n-3 PUFA, of which association with dementia risk was close to log-linearity, we chose first and fourth quartile (Q1 and Q4) of plasma value distributions (i.e., 3% and 4.5% of total fatty acids) as highest and lowest thresholds of risk, respectively. Compared to plasma LC n-3 PUFA $\geq$ 4.5% (i.e., LC n-3 PUFA_{low} category, with lowest dose-response risk), the HR for dementia was 1.40 (95% CI 0.90; 2.18) for participants with plasma LC n-3 PUFA ranging between 3 and 4.5% (LC n-3 PUFA_{interm} category) and 1.86 (1.15; 2.99) for LC n-3 PUFA $<$ 3% (LC n-3 PUFA_{high} category, with highest dose-response risk). Thresholds at Q1 and Q4 (total carotenoids/TC + TG = 100 and 200 μ g/mmol, respectively) appeared also reasonable cut-offs for the carotenoid component. Compared to individuals with a carotenoid-to-lipid ratio $\geq$ 200 μ g/mmol,

the hazard ratio (HR) for dementia was 1.81 (95% CI 1.16; 2.83) for those with a ratio between 100 and 200 μ g/mmol and 1.96 (1.17; 3.30) for a ratio $<$ 100 μ g/mmol. For 25(OH)D_d, that was not linearly associated with dementia risk, the dose-response relationship suggested thresholds around 20 and 65 nmol/L. Of note, a bottom threshold set at 25 instead of 20 nmol/L would lead to a flat risk function in the intermediate category (i.e., no decreasing risk of dementia compared to the low dose-risk category), which did not appear relevant to our risk scoring objective; we set the bottom threshold at 20 nmol/L to allow the decreasing piece of risk between 20 and 25 nmol/L contribute to the intermediate risk category. The HR for dementia was 1.43 (0.62; 3.29) for [20; 65[nmol/L and 3.01 (1.18; 7.63) for $<$ 20 nmol/L (versus $\geq$ 65 nmol/L).

The MNBS index had a Gaussian-like distribution and ranged from 0 (all three nutritional components at highest, optimal levels based on the scoring system) to 2.40 (all three nutritional components at lowest, suboptimal levels) (Supplementary Figure 2).

Participants with higher MNBS index for dementia risk (reflecting less favorable micro-nutritional biological status in relation to brain aging) had more unhealthy lifestyles (higher BMI, smoking and lower regular physical activity) and a worse cardiometabolic risk profile (with more history of cardiovascular diseases, diabetes, hypertension, and hypercholesterolemia) (Table 1). Moreover, those

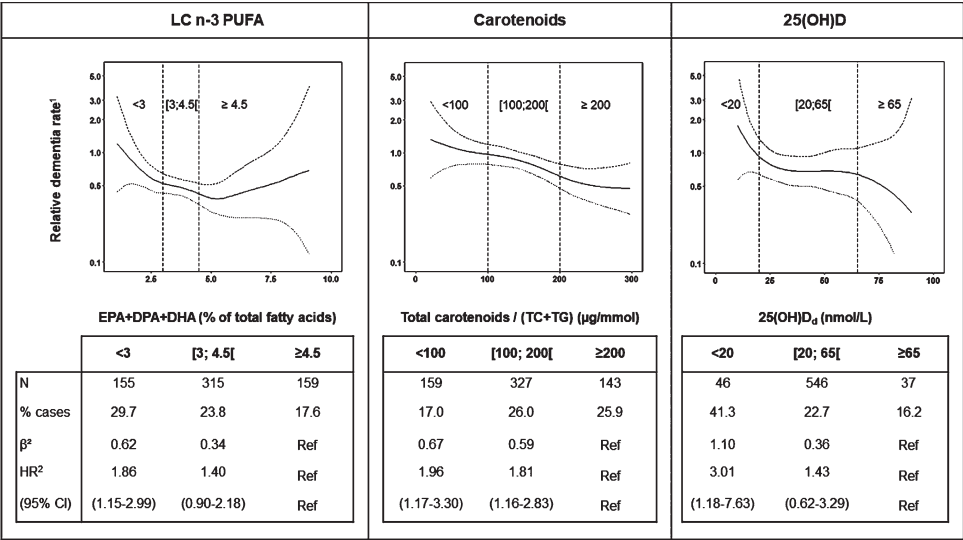


Fig. 1. Dose-response relationships between plasma levels of nutritional components and the risk of dementia (upper panel),¹ used to infer thresholds (lower panel) for the construction² of an index of micronutritional biological status associated with dementia risk ($N=629$), the 3C Bordeaux study (1999–2017). ¹Estimated using penalized splines with 4 degrees of freedom in Cox proportional Hazard models using delayed entry and age as a time scale and adjusted on sex, education level and *APOE* $\epsilon 4$ carrier status. Plots were centered on the first threshold value (3% of total fatty acids for LC n-3 PUFA, 100 $\mu\text{g}/\text{mmol}$ for carotenoids and 20 nmol/L for 25(OH)D_d). p -value for the test of a linear association against a null association (p linear), was: 0.09 for LC n-3 PUFA, <0.01 for carotenoids and 0.41 for 25(OH)D_d; p -value for the test of a non-linear association against a linear association (p non-linear) was: 0.28 for LC n-3 PUFA, 0.28 for carotenoids and 0.31 for 25(OH)D_d.² Estimated using Cox proportional Hazard models with delayed entry and age as a time scale and adjusted on sex, education level, and *APOE* $\epsilon 4$ carrier status. CI, confidence interval; DHA, docosahexaenoic acid; DPA, docosapentaenoic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; HR, hazard ratio; LC n-3 PUFA, long-chain polyunsaturated fatty acids; TC, total cholesterol; TG, triglycerides

with high index scores were twice less often *APOE* $\epsilon 4$ carriers than those with lowest index scores.

Plasma levels of the nutritional components of the index and of their constituting subclasses (i.e., the LC n-3 PUFA EPA or DPA or DHA, the 6 specific carotenoids and 22(OH)D_d) generally decreased with increasing index (Table 2). Likewise, n-6 PUFA and of total PUFA decreased with increasing MNBS index. However, the n-6/n-3 ratio increased by increasing index, and so did SFA and the SFA/PUFA ratio. Conversely, cholesterol and triglyceride levels were relatively stable across levels of MNBS index.

Association of the MNBS index with the risk of dementia

In the study sample, 14% of the participants with a low MNBS index ([min; mean-1SD]) developed dementia, compared to 19% in those with a medium low index ([mean-1SD; mean]), 25% in those with medium high index ([mean; mean+1SD]) and 41% in the group with the highest MNBS index ([mean+1SD; max]) (Table 3). Compared to an incident rate of dementia of 1.03 (95% CI 0.62; 1.61) per

100 persons-years in the low MNBS index group, rates increased with the MNBS index. The absolute rate difference per 100 persons-years for participants of the medium low index category was 0.42 (95% CI 0.06; 0.78); 0.96 for the medium high index category (95% CI 0.62; 1.30); and 2.44 for the highest MNBS index category (95% CI 1.80; 3.27).

In a multivariable-adjusted model, the MNBS index was strongly associated with long-term risk of dementia (Fig. 2). Each increase of 1 SD of index was associated with a 46% higher risk of dementia (HR = 1.46, 95% CI 1.23; 1.73). Moreover, participants with a high index had a 4-fold increased risk of dementia compared with participants with a low index (HR = 4.17, 95% CI 2.30; 7.57).

Supplementary analyses

Supplementary analyses suggested that the MNBS index was robust to slight variations in the definition of exposures and thresholds (Supplementary Figures 3 and 4). Moreover, the multivariable-adjusted association between the MNBS index and the risk of dementia was virtually unchanged in complete-case

Table 2

Mean concentration of biomarkers of nutritional compounds by increasing index of micronutritional biological status associated with dementia risk, the 3C Bordeaux study (1999–2017)

	Overall population (N=629)	Index of micronutritional biological status			
		[min; mean-1SD] (low risk) (N=132)	[mean-1SD; mean] (medium-low risk) (N=147)	[mean; mean+1SD] (medium-high risk) (N=267)	[mean+1SD; max] (high risk) (N=83)
LC n-3 PUFA ¹ (% of total fatty acids)	3.9 (1.3)	4.4 (1.2)	5.0 (1.5)	3.5 (0.7)	2.8 (0.8)
Carotenoids ² /(TC+TG) (μg/mmol)	161.0 (78.5)	253.8 (63.3)	156.6 (67.6)	134.6 (52.6)	106.5 (67.6)
Carotenoids (μg/L)	1112.5 (544.1)	1695.2 (505.7)	1065.9 (464.3)	952.0 (382.3)	784.8 (508)
TC (mmol/L)	5.8 (1)	5.6 (1)	5.7 (1)	5.8 (1)	5.9 (1.1)
TG (mmol/L)	1.2 (0.6)	1.0 (0.4)	1.1 (0.5)	1.3 (0.6)	1.6 (0.9)
25(OH)D _d (nmol/l)	37.2 (17.1)	44.1 (24.8)	39.6 (15.4)	36.3 (12.3)	25.1 (10.4)
Fatty acids (% of total fatty acids)					
SFA ³	40.7 (8.5)	38.6 (5.6)	40.2 (7.9)	41.3 (9.1)	43.1 (10.2)
MUFA ⁴	22.5 (4.2)	22.6 (3.7)	22.0 (4.0)	22.7 (4.4)	22.9 (4.7)
PUFA ⁵	36.7 (6.8)	38.8 (5.1)	37.8 (6.5)	36.0 (7.0)	34.0 (7.5)
n-3 PUFA ⁶	4.3 (1.3)	4.8 (1.3)	5.4 (1.5)	3.9 (0.8)	3.2 (0.8)
ALA	0.4 (0.2)	0.4 (0.1)	0.4 (0.1)	0.4 (0.2)	0.4 (0.2)
EPA	1.0 (0.6)	1.1 (0.6)	1.5 (0.8)	0.8 (0.3)	0.7 (0.4)
DPA	0.5 (0.2)	0.5 (0.1)	0.5 (0.3)	0.4 (0.1)	0.4 (0.1)
DHA	2.4 (0.8)	2.7 (0.8)	3.0 (0.8)	2.2 (0.5)	1.7 (0.5)
n-6 PUFA ⁷	32.4 (6.3)	34.0 (4.9)	32.4 (5.9)	32.1 (6.6)	30.8 (7.2)
linoleic acid	25.1 (5.3)	26.3 (4.3)	25.1 (5.2)	24.9 (5.6)	24.1 (5.8)
γ-linolenic acid	0.4 (0.3)	0.4 (0.2)	0.4 (0.2)	0.4 (0.4)	0.4 (0.2)
Arachidonic acid	6.9 (1.8)	7.3 (1.6)	7.0 (1.7)	6.8 (1.9)	6.3 (2.1)
SFA/PUFA ratio	1.2 (0.9)	1.0 (0.5)	1.2 (0.8)	1.3 (1)	1.5 (1.1)
n-6/n-3 PUFA ratio	8.0 (2.5)	7.5 (2)	6.5 (2.3)	8.5 (2)	10.1 (2.9)
Carotenoids (μg/L)					
Total carotenes	739.5 (443.7)	1181.4 (469.4)	687.0 (365)	620.9 (315.5)	510.9 (421.5)
α-carotene	97.0 (75.4)	151 (90.2)	92.1 (66.7)	82.4 (62.4)	66.3 (59.8)
β-carotene	396.6 (294.6)	678.2 (356.8)	363.5 (231.5)	322.3 (206.7)	246.5 (238.7)
Lycopene	245.9 (168.5)	352.2 (185.7)	231.4 (155.4)	216.1 (138.0)	198.1 (183.9)
Total xanthophylls	373.1 (187.9)	513.7 (220.9)	378.9 (178.6)	331.1 (145.7)	273.9 (138.5)
Lutein	167.4 (87.7)	203.8 (99.7)	175.9 (89.7)	155.0 (76.5)	134.2 (76.6)
Zeaxanthin	39.7 (24.1)	48.1 (27.7)	41.0 (24.6)	37.6 (21.7)	31.2 (19.8)
β-cryptoxanthin	165.9 (125.8)	261.9 (162.4)	162.1 (116.8)	138.5 (92)	108.5 (81.6)

Values are Mean (standard deviation). ¹Sum of EPA, DPA and DHA. ²Sum of α-carotene, β-carotene, lycopene, lutein, zeaxanthin and β-cryptoxanthin. ³Sum of myristic acid, palmitic acid and stearic acid. ⁴Sum of palmitoleic acid and oleic acid. ⁵Sum of linoleic acid, γ-linolenic acid, arachidonic acid, ALA, EPA, DPA and DHA. ⁶Sum of ALA, EPA, DPA and DHA. ⁷Sum of linoleic acid, γ-linolenic acid, and arachidonic acid. 25(OH)D_d, de-seasonalized concentration of 25(OH)D; ALA, α-linoleic acid; DHA, docosahexaenoic acid; DPA, docosapentaenoic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; LC n-3 PUFA, long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids; MUFA, Monounsaturated fatty acids; n-6 PUFA, n-6 polyunsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; SFA, saturated fatty acids; TC, total cholesterol; TG, triglycerides.

Table 3

Incidence rates of dementia by increasing index of micronutritional biological status associated with dementia risk (N=629), the 3C Bordeaux study (1999–2017)

	Index of micronutritional biological status			
	[min; mean-1SD] (low risk) (N=132)	[mean-1SD; mean] (medium-low risk) (N=147)	[mean; mean+1SD] (medium-high risk) (N=267)	[mean+1SD; max] (high risk) (N=83)
Number of incident cases/total (%)	19/132 (14)	28/147 (19)	68/267 (25)	34/83 (41)
Incident rate per 100 persons/year (95% CI)	1.03 (0.62–1.61)	1.45 (0.96–2.10)	1.99 (1.55–2.53)	3.47 (2.40–4.85)
Absolute rate difference per 100 persons year (95% CI)	1 (reference)	0.42 (0.06–0.78)	0.96 (0.62–1.30)	2.44 (1.80–3.27)

CI, confidence interval

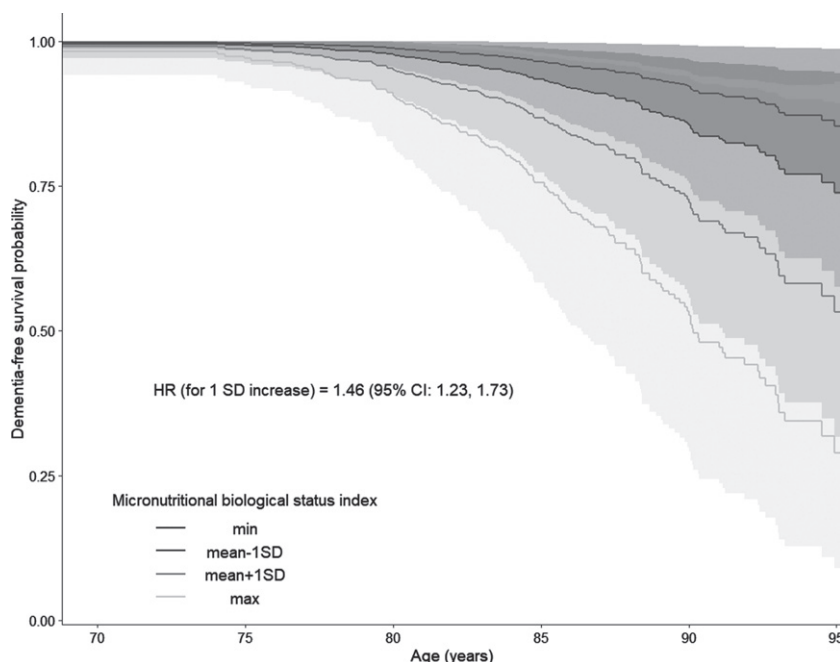


Fig. 2. Dementia-free survival estimated by a multivariable Cox proportional hazard model¹ according to increasing index of micronutritional biological status ($N=629$), the 3C Bordeaux study (1999–2017).¹ The model used delayed entry and age as time scale and was adjusted for sex, educational level, *APOE* $\epsilon 4$ carrier status, body mass index, smoking, alcohol consumption, regular physical activity, depression, history of cardiovascular disease, diabetes, hypertension, and hypercholesterolemia. NOTE: Curves were plotted for a profile of covariates. We chose four representative levels of index of micronutritional biological status (minimum = 0 [all 3 nutritional components at highest, optimal levels based on our scoring system], mean-1SD = 0.75, mean + 1SD = 1.18, and maximum = 2.40 [all 3 nutritional components at lowest, suboptimal levels]) of an average study participant profile (a woman, with secondary education or higher, non-*APOE* $\epsilon 4$ carrier, with a body mass index of 26 kg/m² [average in the study population], non-smoker and with a mild alcohol consumption [14 g of alcohol per day, i.e., the average consumption in the study population], practicing regular physical activity, not depressed and without history of cardiovascular disease, diabetes, hypertension or hypercholesterolemia). Note that the choice of profile is made to optimize the graphical representation and has no influence on the differences in HR estimated by the model (calculated for each increase of 1 SD of the index taken as a continuous variable). 3C, Three City study; CI, confidence interval; HR, hazard ratio.

analysis (HR for 1 SD increase = 1.50, 95% CI 1.25; 1.81). The MNBS index was not significantly associated with mortality (HR for 1SD increase = 1.22, 95% CI 0.88; 1.68), suggesting competing risk by death was unlikely in dementia analyses.

DISCUSSION

We used a large population-based cohort of persons aged 65 years or older with multiple biomarkers of nutritional compounds and a long follow-up across older age, to develop a biological index of deficiencies in LC n-3 PUFA, carotenoids and 25(OH)D, associated with the risk to develop dementia in the following two decades. Compared with the incidence rate of dementia of 1.03 (95% CI, 0.62; 1.61) per 100 person-years among the ~20% of participants with lowest values of MNBS index for dementia risk (less micronutritional deficiencies), the

absolute difference in incident dementia rate was 2.44 (1.80; 3.27) per 100 person-years for the ~13% of participants with highest index values (highest micronutritional deficiencies). Besides, these associations were higher than the strongest risk factors for dementia in our cohort (and others). For example, the 4-fold increased dementia risk for those with higher index ($\geq$ mean + 1SD) versus lower index values ($<$ mean-1SD) was twice the 2-fold higher risk conferred to *APOE4* carrier status or diabetes in our sample. Therefore, this biological indicator of subsequent dementia risk could provide a novel practical tool to evaluate, based on the basal micro-nutritional profiles since middle-age, the groups at higher risk of dementia (e.g., high risk group with a MNBS index > 1.60), thereby identifying target populations likely to benefit from a nutrition-based preventive intervention (based on nutrient supplementation or on overall diet management) in randomized controlled trials.

Very few population-based cohort studies have multiple nutrient biomarkers available and dementia endpoints collected prospectively, thus efforts to combine several biomarkers in a multi-biomarker risk profile have been scarce so far. The single large, prospective study with such data to date is an ancillary analysis of 712 participants aged 70 years and older from the MAPT trial [37], where a blood-based nutritional risk index, including erythrocyte LC n-3 PUFA (EPA+DHA), serum 25(OH)D and plasma total homocysteine, was associated with cognitive decline. The scoring system included 3 binary components, defined with cut-offs for higher risk chosen *a priori*: $\leq 4.82\%$ for EPA + DHA (the Q1 in their population, that corresponds in our cohort to 3.27% of EPA + DHA [Q1 = 2.7], Supplementary Figure 5); ≤ 20 ng/mL for 25(OH)D (i.e., 50 nmol/L, the WHO definition for vitamin D sufficiency); and ≥ 14 μ mol/L for homocysteine. The nutritional risk index ranged from 0 (no risk, 20% of the sample) to 3 (maximal risk), and each additional point to the nutritional risk index was associated with a significant acceleration of cognitive decline. Direct comparison of this score with ours is difficult, as components as well as thresholds differed. For example, a cut-off at 50 nmol/L for risk pertaining to 25(OH)D deficiency as used in the MAPT study (and others) [38, 39] did not appear the most relevant to our data, and we used 20 and 65 nmol/L as lower and upper cut-offs based on dose-response relationships. Importantly, optimal cut-offs may vary according to the baseline nutritional status of the study population, which appeared less favorable in 3C compared to MAPT (e.g., average 25(OH)D was 37.5 nmol/L in 3C versus 60 nmol/L in MAPT). Besides, the WHO cut-offs (25 and 50 nmol/L) have been established for bone health, and their relevance to brain health has been discussed, with proposed alternative cutoffs for optimal status varying between 50 and 100 nmol/L [40, 41]. However, our scoring system was robust to variations in cut-offs (such as using 50 nmol/L for 25(OH)D); moreover, two out of the 3 biomarkers included in both our study and MAPT were common and thresholds, albeit not exactly same, were close. Therefore, the two studies complement each other and despite variations in scoring definition and in population characteristics, the concordance of both results supports the robustness of the approach.

The three classes of nutritional compounds included in our index have established beneficial properties in relation to brain health. Overall, LC n-3 PUFA play multiple structural and functional roles in

neural membranes [42]; carotenoids exert antioxidant properties [43]; and 25(OH)D have pleiotropic effects for brain functioning, including regulation of calcium homeostasis and of neurotrophic factors [44]. Moreover, all these compounds modulate inflammation and the immune system, which are key mechanisms of dementia pathophysiology [44–46]. It is biologically plausible that the combination of nutritional compounds with complementary beneficial mechanisms for brain health, such as the one studied here, has additive effects on disease risk, cumulating small to moderate effects of each compound considered individually. There is even plausibility of synergistic effects between compounds (where the overall effect of the combination is greater than the sum of its parts) in mechanisms leading to cognitive aging and dementia, although preclinical evidence for nutrient interactions is still scarce. For example, antioxidant compounds such as carotenoids could decrease the peroxidation of LC PUFA in neuronal membranes of the aging brain [47, 48], and consistently with this hypothesis, regular intake of fruits and vegetables have been associated with increased cognitive benefit attributed to fish consumption (the dietary source of LC n-3 PUFA) in the 3C study [49].

The main strengths of this work include availability of multiple nutritional biomarkers in a large population-based sample of older persons, and a longitudinal design with active screening of incident dementia over almost two decades after assessment of blood nutritional status. The use of blood biomarkers decreases measurement error in nutrition science and allows considering inter-individual variability in bioavailability and metabolism. Moreover, ascertainment of dementia was based on home interviews, a clinical diagnosis and final adjudication by an independent expert committee. This study has also methodological strengths, including: 1) the modeling of dose-response relationships between blood biomarkers of nutritional compounds and incident dementia to define cut-offs for risk assessment as close as possible to the data; 2) the definition of a flexible scoring system based on a 3-level weighted scoring for each nutritional component to increase accuracy in risk assessment and limit misclassification; 3) the consideration of major confounders potentially influencing the relation between diet and dementia.

Despite all these strengths, the study also presents limitations. Plasma biomarkers were measured only once, at baseline, potentially leading to misclassification in assessment of nutritional status. However,

we focused on biomarkers with generally established validity as markers of moderate-term exposures. For example, single plasma measures of 25(OH)D and n-3 PUFA were previously established as acceptable markers of longer-term biological status [50, 51]. In addition, in the 3C study, baseline plasma levels of LC n-3 PUFA and carotenoids correlated well with fish and fruit/vegetable intakes, respectively, both at baseline and at subsequent visits over a 10-year period, suggesting these baseline measures were acceptable biomarkers of moderate to long-term intakes in the cohort. As another limitation, 1-carbon metabolism-related vitamins (e.g., folate and vitamin B12), which are of primary interest for cognitive aging and dementia, were not available and could not be included in our study.

We capitalized on a large population-based cohort study to develop a biological index to assess global micro-nutritional deficiencies associated with the risk to develop dementia in the following two decades. The magnitude of risk associated with multi-micronutritional deficiencies was elevated compared to standard risk factors for dementia, suggesting that nutrition may be a key modifiable risk factor for dementia prevention—yet relatively unrecognized so far [52]. Once replicated in external populations, this index of micronutritional biological status may be part of the multifactorial approach to evaluate dementia risk, helping identify eligible individuals for future trials and for the prevention of undernutrition and dementia in primary care. Future work should be conducted to define the dietary patterns that may correct multiple micronutrient deficiencies and serve as a basis for nutritional counseling in prevention.

ACKNOWLEDGMENTS

The Three-City Study is conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the Institut de Santé Publique, Épidémiologie et Développement of the University of Bordeaux 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, Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale, Institut de la Longévité, Regional Governments of Aquitaine and Bourgogne, Fondation de France, Ministry of

Research-INSERM Programme “Cohortes et collections de données biologiques”, French National Research Agency COGINUT ANR-06-PNRA-005 and ANR 2007LVIE 003, the Fondation Plan Alzheimer (FCS 2009–2012), the Caisse Nationale pour la Solidarité et l'Autonomie (CNSA), and Roche Pharma. The sponsors were not involved in the design of the study or in the data analyses or manuscript elaboration.

Jeanne Neuffer is supported by the grant “SilverBrainFood” within the framework of the “Future Investment Program” (Programme d'Investissements d'Avenir PIA3), “Competitiveness cluster structuring projects” (Projets structurants des pôles de compétitivité, PSPC) operated by BPI France.

Authors' disclosures available online (<https://www.j-alz.com/manuscript-disclosures/21-5011r2>).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The supplementary material is available in the electronic version of this article: <https://dx.doi.org/10.3233/JAD-215011>.

REFERENCES

- [1] Scarmeas N, Anastasiou CA, Yannakoulia M (2018) Nutrition and prevention of cognitive impairment. *Lancet Neurol* **17**, 1006–1015.
- [2] Samieri C (2018) Epidemiology and risk factors of Alzheimer's disease: A focus on diet. In *Biomarkers for Preclinical Alzheimer's Disease*, Perneczky R, ed. Springer New York, New York, NY, pp. 15–42.
- [3] Thomas A, Baillet M, Proust-Lima C, Féart C, Foubert-Samier A, Helmer C, Catheline G, Samieri C (2021) Blood polyunsaturated omega-3 fatty acids, brain atrophy, cognitive decline, and dementia risk. *Alzheimers Dement* **17**, 407–416.
- [4] Macaron T, Giudici KV, Bowman GL, Sinclair A, Stephan E, Vellas B, de Souto Barreto P (2021) Associations of Omega-3 fatty acids with brain morphology and volume in cognitively healthy older adults: A narrative review. *Ageing Res Rev* **67**, 101300.
- [5] Zhang Y, Chen J, Qiu J, Li Y, Wang J, Jiao J (2015) Intakes of fish and polyunsaturated fatty acids and mild-to-severe cognitive impairment risks: A dose-response meta-analysis of 21 cohort studies. *Am J Clin Nutr* **103**, 330–340.
- [6] Féart C, Letenneur L, Helmer C, Samieri C, Schalch W, Etcheve S, Delcourt C, Dartigues J-F, Barberger-Gateau P (2016) Plasma carotenoids are inversely associated with dementia risk in an elderly French cohort. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **71**, 683–688.
- [7] Devore EE, Grodstein F, van Rooij FJA, Hofman A, Stampfer MJ, Witteman JCM, Breteler MMB (2010) Dietary antioxidants and long-term risk of dementia. *Arch Neurol* **67**, 819–825.
- [8] Li F-J, Shen L, Ji H-F (2012) Dietary intakes of vitamin E, vitamin C, and β -carotene and risk of Alzheimer's disease: A meta-analysis. *J Alzheimers Dis* **31**, 253–258.

- [9] Agnew-Blais JC, Wassertheil-Smoller S, Kang JH, Hogan PE, Coker LH, Snetselaar LG, Smoller JW (2015) Folate, vitamin B-6, and vitamin B-12 intake and mild cognitive impairment and probable dementia in the Women's Health Initiative Memory Study. *J Acad Nutr Diet* **115**, 231–241.
- [10] Zhang C, Luo J, Yuan C, Ding D (2020) Vitamin B12, B6, or folate and cognitive function in community-dwelling older adults: A systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis* **77**, 781–794.
- [11] Chai B, Gao F, Wu R, Dong T, Gu C, Lin Q, Zhang Y (2019) Vitamin D deficiency as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease: An updated meta-analysis. *BMC Neurol* **19**, 284–295.
- [12] Féart C, Helmer C, Merle B, Herrmann FR, Annweiler C, Dartigues J-F, Delcourt C, Samieri C (2017) Associations of lower vitamin D concentrations with cognitive decline and long-term risk of dementia and Alzheimer's disease in older adults. *Alzheimers Dement* **13**, 1207–1216.
- [13] Schneider ALC, Lutsey PL, Alonso A, Gottesman RF, Sharrett AR, Carson KA, Gross M, Post WS, Knopman DS, Michos ED (2014) Vitamin D and cognitive function and dementia risk in a biracial cohort: The ARIC Brain MRI Study. *Eur J Neurol* **21**, 1211–1219.
- [14] Barbaresco J, Lellmann AW, Schmidt A, Lehmann A, Amini AM, Egert S, Schlesinger S, Nöthlings U (2020) Dietary factors and neurodegenerative disorders: An umbrella review of meta-analyses of prospective studies. *Adv Nutr* **11**, 1161–1173.
- [15] Forbes SC, Holroyd-Leduc JM, Poulin MJ, Hogan DB (2015) Effect of nutrients, dietary supplements and vitamins on cognition: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Can Geriatr J* **18**, 231–245.
- [16] Rutjes AW, Denton DA, Di Nisio M, Chong L-Y, Abraham RP, Al-Assaf AS, Anderson JL, Malik MA, Vernooij RW, Martínez G, Tabet N, McCleery J (2018) Vitamin and mineral supplementation for maintaining cognitive function in cognitively healthy people in mid and late life. *Cochrane Database Syst Rev* **12**, CD011906.
- [17] Jerneirén F, Elshorbagy AK, Oulhaj A, Smith SM, Refsum H, Smith AD (2015) Brain atrophy in cognitively impaired elderly: The importance of long-chain ω -3 fatty acids and B vitamin status in a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* **102**, 215–221.
- [18] Bowman GL, Silbert LC, Howieson D, Dodge HH, Traber MG, Frei B, Kaye JA, Shannon J, Quinn JF (2012) Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and MRI measures of brain aging. *Neurology* **78**, 241–249.
- [19] Amadiou C, Lefèvre-Arbogast S, Delcourt C, Dartigues J-F, Helmer C, Féart C, Samieri C (2017) Nutrient biomarker patterns and long-term risk of dementia in older adults. *Alzheimers Dement* **13**, 1125–1132.
- [20] Gu Y, Nieves JW, Stern Y, Luchsinger JA, Scarmeas N (2010) Food combination and Alzheimer disease risk: A protective diet. *Arch Neurol* **67**, 699–706.
- [21] Thomas A, Proust-Lima C, Baillet M, Helmer C, Delcourt C, Foubert-Samier A, Catheline G, Féart C, Samieri C (2020) Plasma carotenoids and medial temporal lobe atrophy in older adults. *Clin Nutr* **40**, 2460–2463.
- [22] Davinelli S, Ali S, Solfrizzi V, Scapagnini G, Corbi G (2021) Carotenoids and cognitive outcomes: A meta-analysis of randomized intervention trials. *Antioxidants* **10**, 223.
- [23] The 3C study Group (2003) vascular factors and risk of dementia: Design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology* **22**, 316–325.
- [24] Féart C, Jutand MA, Larrieu S, Letenneur L, Delcourt C, Combe N, Barberger-Gateau P (2007) Energy, macronutrient and fatty acid intake of French elderly community dwellers and association with socio-demographic characteristics: Data from the Bordeaux sample of the Three-City Study. *Br J Nutr* **98**, 1046–1057.
- [25] Féart C, Samieri C, Rondeau V, Amieva H, Portet F, Dartigues J-F, Scarmeas N, Barberger-Gateau P (2009) Adherence to a Mediterranean diet, cognitive decline, and risk of dementia. *JAMA* **302**, 638–648.
- [26] Samieri C, Féart C, Letenneur L, Dartigues J-F, Pérès K, Auriacombe S, Peuchant E, Delcourt C, Barberger-Gateau P (2008) Low plasma eicosapentaenoic acid and depressive symptomatology are independent predictors of dementia risk. *Am J Clin Nutr* **88**, 714–721.
- [27] American Psychiatric Association (1994) *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition*.
- [28] Tamaoka A (2011) Alzheimer's disease: Definition and National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA). *J Nihon Rinsho* **69**, 240–245.
- [29] Cougnard-Grégoire A, Merle BM, Korobelnik J-F, Rougier M-B, Delyfer M-N, Féart C, Le Goff M, Dartigues J-F, Barberger-Gateau P, Delcourt C (2015) Vitamin D deficiency in community-dwelling elderly is not associated with age-related macular degeneration. *J Nutr* **145**, 1865–1872.
- [30] Stahl W, Dainty J, Faulks RM, Haenen G, Hollman P, Holst B, Kelly FJ, Polidori MC, Rice-Evans C, Southon S, van Vliet T, Astley SB (2002) Bioavailability and metabolism. *Mol Aspects Med* **23**, 39–100.
- [31] Samier C, Perier MC, Gaye B, Proust-Lima C, Helmer C, Dartigues JF, Berr C, Tzourio C, Empana JP (2018) Association of cardiovascular health level in older age with cognitive decline and incident dementia. *JAMA* **320**, 657–664.
- [32] LaRosa JC (1990) At what levels of total low- or high-density lipoprotein cholesterol should diet/drug therapy be initiated? United States guidelines. *Am J Cardiol* **65**, 7–10.
- [33] Gavin J, Howard H, Alberti KGMM, Davidson M, De Fronzo RA, Drash A, Gabbe SG, Genuth S, Harris MI, Kahn R, Keen H, Knowler WC, Lebovitz H, Maclaren NK, Palmer JP, Raskin P, Rizza RA, Stern MP (1997) Report of the Expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **20**, 1183–1197.
- [34] Kaplan N, Mendis S, Poulter N, Whitworth J (2003) World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens* **21**, 1983–1992.
- [35] Radloff LS (1977) The CES-D Scale: A self-report depression scale for research in the general population. *Appl Psychol Meas* **1**, 385–401.
- [36] Eilers PHC, Marx BD (1996) Flexible smoothing with B-splines and penalties. *Statist Sci* **11**, 89–121.
- [37] Bowman GL, Dodge HH, Guyonnet S, Zhou N, Donohue J, Bichsel A, Schmitt J, Hooper C, Bartfai T, Andrieu S, Vellas B, MAPT/DSA Study Group, Vellas B, Guyonnet S, Carrié I, Brigitte L, Faisant C, Lala F, Delrieu J, Villars H, Combrousse E, Badufle C, Zueras A, Andrieu S, Cantet C, Morin C, Van Kan GA, Dupuy C, Rolland Y, Caillaud C, Ousset P, Lala F (2019) A blood-based nutritional risk index explains cognitive enhancement and decline in the multidomain Alzheimer prevention trial. *Alzheimers Dement* **5**, 953–963.

- [38] Afzal S, Bojesen SE, Nordestgaard BG (2014) Reduced 25-hydroxyvitamin D and risk of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Alzheimers Dement* **10**, 296–302.
- [39] Schneider ALC, Zhao D, Lutsey PL, Gottesman RF, Sharrett AR, Rawlings AM, Alonso A, Knopman D, Mosley TH, Selvin E, Michos ED (2018) Serum vitamin D concentrations and cognitive change over 20 years: The Atherosclerosis Risk in Communities Neurocognitive Study. *Neuroepidemiology* **51**, 131–137.
- [40] Annweiler C, Souberbielle J-C, Schott A-M, de Decker L, Berrut G, Beauchet O (2011) Vitamin D in the elderly: 5 points to remember. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil* **9**, 259–267.
- [41] Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B (2006) Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* **84**, 18–28.
- [42] Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI (2005) Essential fatty acids and the brain: From infancy to aging. *Neurobiol Aging* **26**, 98–102.
- [43] Tan BL, Norhaizan ME (2019) Carotenoids: How effective are they to prevent age-related diseases? *Molecules* **24**, 1801.
- [44] Gezen-Ak D, Yilmazer S, Dursun E (2014) Why vitamin D in Alzheimer's disease? The hypothesis. *J Alzheimers Dis* **40**, 257–269.
- [45] Cunnane SC, Plourde M, Pifferi F, Bégin M, Féart C, Barberger-Gateau P (2009) Fish, docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease. *Prog Lip Res* **48**, 239–256.
- [46] Johnson EJ (2014) Role of lutein and zeaxanthin in visual and cognitive function throughout the lifespan. *Nutr Rev* **72**, 605–612.
- [47] Nakagawa K, Kiko T, Hatade K, Sookwong P, Arai H, Miyazawa T (2009) Antioxidant effect of lutein towards phospholipid hydroperoxidation in human erythrocytes. *Br J Nutr* **102**, 1280–1284.
- [48] Chen S-J, Huang L-Y, Hu C-H (2015) Antioxidative reaction of carotenes against peroxidation of fatty acids initiated by nitrogen dioxide: A theoretical study. *J Phys Chem B* **119**, 9640–9650.
- [49] Barberger-Gateau P, Raffaitin C, Letenneur L, Berr C, Tzourio C, Dartigues JF, Alpérovitch A (2007) Dietary patterns and risk of dementia: The Three-City cohort study. *Neurology* **69**, 1921–1930.
- [50] Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA (2008) Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lip Res* **47**, 348–380.
- [51] Jorde R, Sneve M, Hutchinson M, Emaus N, Fingenschau Y, Grimnes G (2010) tracking of serum 25-hydroxyvitamin D levels during 14 years in a population-based study and during 12 months in an intervention study. *Am J Epidemiol* **171**, 903–908.
- [52] Livingston G, Huntley J, Sommerlad A, Ames D, Ballard C, Banerjee S, Brayne C, Burns A, Cohen-Mansfield J, Cooper C, Costafreda SG, Dias A, Fox N, Gitlin LN, Howard R, Kales HC, Kivimäki M, Larson EB, Ogunniyi A, Orgeta V, Ritchie K, Rockwood K, Sampson EL, Samus Q, Schneider LS, Selbæk G, Teri L, Mukadam N (2020) Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *Lancet* **396**, 413–446.

3.1.1.3. Résultats complémentaires

Les résultats supplémentaires de cet article publiés en ligne sont présentés en **Annexe 4**. Par ailleurs, nous présentons quelques résultats complémentaires obtenus qui, bien que n'ayant pas été annexés à la publication sous la forme de résultats supplémentaires, nous paraissent néanmoins intéressants à présenter.

Contributions alimentaires au MNBS

Une première analyse supplémentaire a consisté à étudier les contributions alimentaires potentielles au niveau d'indice MNBS. Nous souhaitions étudier plusieurs groupes alimentaires simultanément et sous la forme de profil alimentaire, c'est pourquoi nous avons privilégié une approche par PLS. La PLS est une approche exploratoire supervisée, extrayant, comme l'ACP, des composantes principales avec la contrainte de maximiser non pas la corrélation des prédicteurs (X) entre eux, comme le fait l'ACP, mais la covariance entre les prédicteurs (X) et une ou plusieurs variable(s) réponse(s) (Y). Nous avons défini ici comme variable Y la variable indice MNBS (continue), et comme variables X les différents groupes alimentaires (issus du rappel des 24h).

Les résultats sont présentés en **Figure 14**. Le profil le plus associé à l'indice MNBS (traduisant de faibles niveaux circulants de n-3 AGPI, vitamine D et caroténoïdes et associé à un plus grand risque de démence) apparaît sur la première composante (« component 1 », axe des abscisses). Il était caractérisé par une moindre consommation de fruits et légumes, d'œufs, d'huile d'olive et de thé, et une consommation plus élevée de desserts lactés. En revanche, de façon étonnante au regard de la contribution des nutriments apportés par le poisson dans l'indice MNBS (n-3-AGPI et vitamine D), le groupe alimentaire poissons et fruits de mers ne ressortait pas dans le profil associé à l'indice, du fait probablement de la forte pondération de la composante caroténoïde dans la construction du MNBS (faisant de ce fait ressortir majoritairement l'item fruits et légumes, pourvoyeur des caroténoïdes).

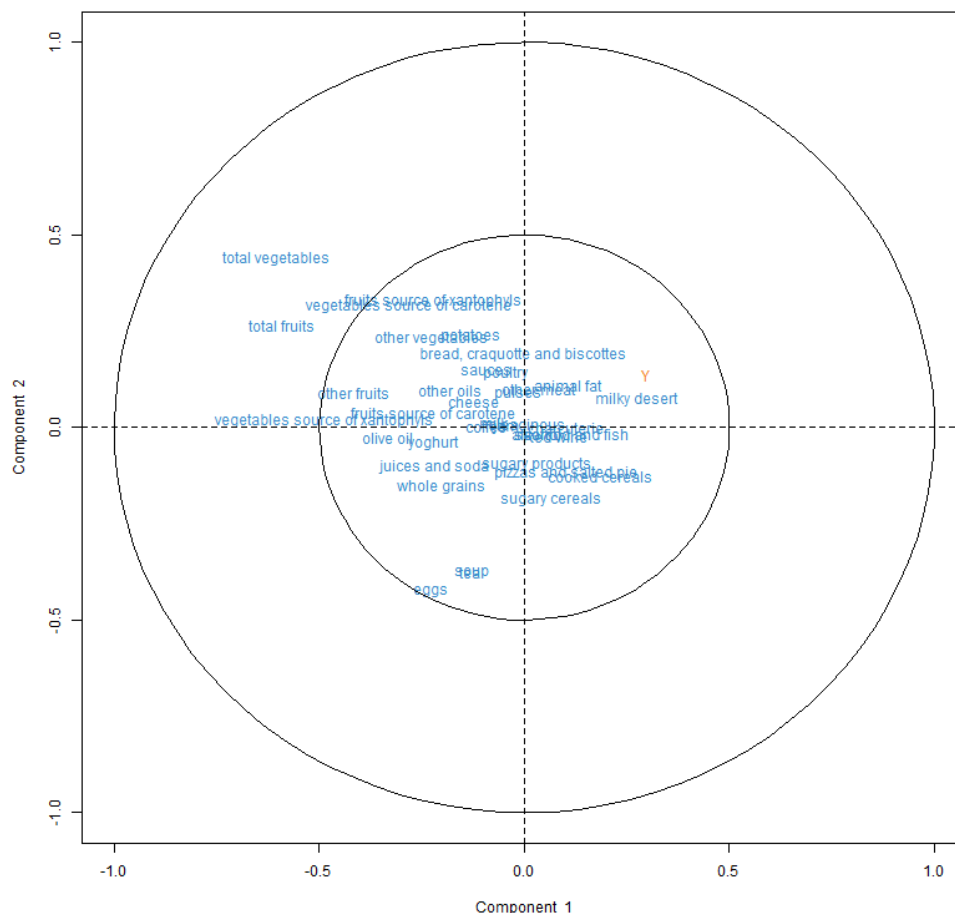


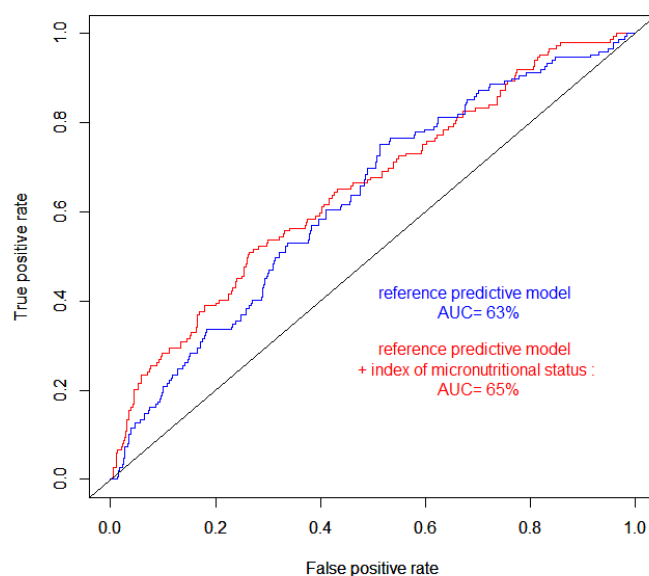
Figure 14 : Profils alimentaires identifiés par la méthode PLS expliquant au mieux le niveau d'indice MNBS : Cercle de corrélation du premier plan factoriel, centre Bordelais de la cohorte 3C, n=629.

En bleu sont représentés les groupes alimentaires et en orange l'indice MNBS (Y)

Abréviations : MNBS : Micro-nutritional biological status, PLS : Partial Least Square

Qualité de prédiction de l'indice MNBS

La qualité de prédiction de l'indice MNBS pour l'incidence de la démence a été estimée grâce à l'aire sous la courbe ROC (AUC, Area Under the Curve, reflétant la probabilité qu'un sujet tiré au sort parmi les sujets ayant développé une démence au cours du suivi ait un risque prédit par le modèle plus élevé qu'un sujet tiré au sort parmi ceux n'ayant pas développé de démence) du modèle utilisé pour l'estimation du HR, et comparée au modèle ne contenant que les covariables (restreint, intégrant sexe, niveau d'études, statut APOE4, IMC, diabète, hypertension, hypercholestérolémie, activité physique, tabagisme, consommation d'alcool, antécédents cardiovasculaires et dépression) (**Figure 15**). L'AUC du modèle avec l'indice MNBS s'élevait à 0.65, et celle du modèle sans l'indice MNBS s'élevait à 0.63. La différence d'AUC étant très faible (seulement 0.02), la qualité de prédiction de cet indice MNBS était donc modérée, bien qu'il soit très associé à l'incidence de la démence.



S

Figure 15 : Qualité de prédiction de l'indice MNBS estimée grâce à la courbe ROC du modèle intégrant l'indice (modèle complet) et le modèle n'intégrant que les covariables (modèle restreint)

Abréviations : AUC : Area Under the Curve, MNBS : micro-nutritional biological status, ROC : Receiver operating curve

Ce premier travail de l'axe 1 visant à identifier des combinaisons nutritionnelles optimales a donc permis de développer un indice unique d'évaluation du statut micro-nutritionnel associé au risque de développer une démence. Son utilisation en clinique impliquerait de disposer de mesures biologiques, d'un petit outil de calcul du score et de l'élaboration d'un tableau de catégorisation du risque. Cependant, la capacité prédictive reste modérée, et une bonne qualité de prédiction de la démence ne peut être atteinte qu'en y ajoutant de nombreuses covariables. Dans un deuxième travail de cet axe sur l'identification de combinaisons optimales, nous avons adopté une approche différente. Nous sommes partis d'un profil alimentaire développé précédemment par la communauté scientifique et nous avons recherché une signature biologique de ce profil afin d'identifier une nouvelle combinaison de biomarqueurs associé au vieillissement cognitif pathologique, avec une approche *a posteriori*.

3.1.2. Identification d'une signature du profil alimentaire MIND au sein du métabolome alimentaire

La caractérisation d'une signature métabolomique du profil alimentaire MIND dans la cohorte 3C est en cours de réalisation, mais les résultats préliminaires, ainsi que la méthode employée sont détaillés ci-dessous, sous forme d'article préliminaire. Des analyses sont encore en cours de finalisation au moment de la rédaction de cette thèse.

Article préliminaire

Caractérisation d'une signature du profil alimentaire MIND dans le métabolome alimentaire, et étude de son lien avec le vieillissement cognitif

Introduction

L'adhérence à certains profils de consommations alimentaires, tels que le profil méditerranéen ou MIND, a été associée à un moindre risque de démence et de déclin cognitif. Le profil MIND est défini par une plus grande consommation d'aliments dits neuroprotecteurs tels que l'huile d'olive, le poisson, les céréales complètes, les baies, les légumes verts et autres légumes, noix et oléagineux, et une plus faible consommation d'aliments supposés délétères pour le vieillissement cognitif (viande rouge, pâtisseries et sucreries, fromage, beurre et aliments frits). L'adhérence à ce profil a été démontrée dans plusieurs études comme étant associée à moindre risque de démence et à un déclin cognitif moindre, notamment dans la cohorte 3C (1–4), avec, semble-t-il, un niveau de preuve légèrement supérieur à celui obtenu avec d'autres profils alimentaires, comme le profil méditerranéen par exemple (5).

Cependant, la caractérisation de l'adhérence au profil MIND dépend d'outils d'évaluation des habitudes alimentaires de type questionnaire, et ces méthodes induisent des biais de mesure. La communauté de recherche en épidémiologie nutritionnelle cherche donc aujourd'hui à identifier des panels de biomarqueurs des profils alimentaires protecteurs, afin de disposer de biomarqueurs objectifs d'une alimentation bénéfique pour la santé. Ces biomarqueurs doivent à la fois prendre en compte les différences inter-individuelles dans les réponses métaboliques à l'alimentation, mais aussi refléter l'alimentation de façon globale, afin de facilement différencier une alimentation saine d'une alimentation délétère. La métabolomique, reflétant à la fois les expositions externes et le métabolisme endogène, est un outil de choix dans cette

problématique. De plus, l'étude de profils moléculaires permettrait de mieux comprendre les acteurs biologiques sous-tendant l'association entre ces profils et le vieillissement cérébral.

Plusieurs études ont déjà déterminé des profils métabolomiques du profil alimentaire de type méditerranéen, en population jeune, en milieu de vie et âgée (6–9), mais à notre connaissance, une seule s'est intéressée au profil MIND, dans une population âgée (10). De plus, à notre connaissance, l'association entre une signature métabolomique du profil MIND et le vieillissement cognitif n'a été estimée dans aucune étude à l'heure actuelle.

Notre étude avait donc comme objectif de déterminer, de façon transversale, une signature métabolomique du profil MIND, favorable pour le vieillissement cognitif, puis d'étudier son association prospective avec le déclin cognitif dans une grande cohorte de sujets âgés en population générale, la cohorte des 3 Cités (3C).

Méthodes

Les analyses de cette étude peuvent être divisées en 2 étapes : la caractérisation de la signature métabolomique et son association avec le déclin cognitif.

Populations d'étude

La population d'étude est issue de deux échantillons cas-témoin nichés dans la cohorte 3C. Après exclusion des personnes atteintes de démence à l'inclusion, pour les centres Bordeaux et Dijon séparément, l'évolution cognitive de chaque participant a été définie à partir de pentes individuelles d'évolution des performances cognitives globales (définie par un Z-score des 5 principaux tests neuropsychologiques décrits plus haut) sur 12 ans de suivi, estimée par un modèle linéaire mixte. Les cas de déclin cognitif ont été choisis parmi les 220 sujets présentant la pente de déclin cognitif la plus importante, et un témoin a été identifié pour chaque cas, parmi les sujets avec un déclin cognitif moindre (supérieur à la médiane de pente d'évolution cognitive) à la sortie d'étude du cas, apparié sur l'âge (± 3 ans), le sexe et le niveau d'études. Dans l'échantillon « de découverte » issu du centre bordelais, 209 témoins ont pu être appariés à un cas, aboutissant à un échantillon constitué de 209 paires cas-témoins. Dans l'échantillon de « validation » issu du centre dijonnais, 214 paires cas-témoins ont été identifiées (11).

La caractérisation de la signature métabolomique a été conduite dans l'échantillon du centre Bordelais (seul centre où les consommations alimentaires des participants ont été estimées de manière détaillée), parmi les participants ayant des données pour le rappel des 24h et le fréquentiel alimentaire (n=337). Le score métabolomique a ensuite été calculé dans les deux échantillons cas-témoin complets (n=418 à Bordeaux [découverte] et n=420 à Dijon [validation]), et l'étude de l'association entre la signature métabolomique et le déclin cognitif a été effectuée dans les deux centres.

Score d'adhérence au profil MIND

Un score d'adhérence au profil MIND, adapté à la population française, a été estimé, selon la méthodologie développée précédemment dans la cohorte 3C (4). Ainsi, les composantes de ce profil ont été sélectionnées selon la littérature (1), et adaptées aux habitudes alimentaires de la population française ainsi qu'aux recommandations nationales (12).

Le score d'adhérence au profil MIND était composé de 15 items, combinant les consommations de 10 aliments associés à un meilleur vieillissement cognitif dans la littérature (légumes verts à feuilles, autres légumes, noix, baies, céréales complètes, poisson, huile d'olive et vin [consommé en modération]) et 5 aliments délétères (viande rouge, beurre et margarine, fromage, pâtisseries et sucreries, et aliments frits). Pour chaque composante, un score de 0, 0.5 ou 1 était accordé selon sa fréquence de consommation. Le score d'adhérence final était obtenu en sommant les scores de toutes les composantes (**tableau 1**). Les apports alimentaires étaient issus du fréquentiel alimentaire quand cela était possible, et du rappel des 24h sinon (pour les apports en polyphénols, en céréales complètes et en légumes verts à feuilles).

Données métabolomiques

Une analyse en spectrométrie à haute résolution couplée à un chromatographie liquide ultra-haute performance a permis de cibler plus de 200 métabolites en lien avec l'alimentation. Pour s'assurer que la signature métabolomique identifiée comportait des biomarqueurs correctement représentés en population générale, les métabolites endogènes présentant plus de 20% de données manquantes ont été exclus, et les autres métabolites ont été imputés préalablement par les biostatisticiens partenaires selon l'algorithme KNN (pour k-nearest neighbor) (33).

Analyses statistiques principales

- Caractérisation de la signature métabolomique du profil MIND

La signature métabolomique de l'adhérence au profil MIND a été déterminée de façon transversale par régression pénalisée LASSO. Cette méthode permet à la fois la sélection simultanée de variables à retenir dans un modèle et l'estimation de paramètres de régression, via l'ajout d'une contrainte (ou pénalité) dans l'estimation des paramètres : l'estimation des coefficients revient en fait à un problème de maximisation sous contrainte (13). Le paramètre de contrainte a été estimé par validation croisée, et l'ajustement du modèle LASSO comprenait l'âge, le sexe, l'éducation, le tabagisme, l'IMC, la prise de traitement hypocholestérolémiant, hypoglycémique et antihypertenseur, ainsi que la consommation énergétique journalière et la date du prélèvement sanguin.

La régression LASSO menant souvent à des résultats instables et induisant un fort taux de faux positifs, la méthode a été renforcée par un rééchantillonnage Bootstrap (1000 rééchantillonnages) afin d'améliorer la robustesse du résultats, en suivant une méthodologie développée précédemment par l'équipe (11). Les métabolites sélectionnés dans plus de 40% des échantillons Bootstrap définissaient la signature métabolomique.

- Construction du score de signature métabolomique

Un score métabolomique du profil MIND (appelé « score métabolomique MIND » par la suite) a ensuite été construit. Le score était pondéré par les coefficients d'association de chaque métabolite avec le score d'adhérence au profil MIND. Pour estimer ces coefficients, nous avons construit un modèle de régression linéaire non pénalisé, avec comme variable à expliquer le score d'adhérence au profil MIND, et en variables explicatives le set de métabolites sélectionnés (centrés-réduits), ajustés sur les covariables citées précédemment.

Ainsi, nous avons construit dans l'ensemble des échantillons de découverte (centre bordelais) et de validation (centre dijonnais), pour tous les sujets, un score métabolomique MIND, selon la formule suivante :

$$\text{signature MIND} = \sum \beta_j X_{ij}$$

Avec β_j Le coefficient d'association entre le métabolite j ($j=1,\dots,p$) et le score d'adhérence MIND et X_{ij} la concentration centrée-réduite du métabolite j pour l'individu i ($i=1,\dots,n$)

Nous avons ainsi obtenu, pour chaque individu, un score métabolomique MIND, sous la forme d'une variable continue, dont la valeur était d'autant plus grande que l'adhérence au profil MIND l'était.

- Association entre la signature MIND et le déclin cognitif

Dans chaque échantillon cas/témoin, l'association entre le score métabolomique MIND et le statut de déclin cognitif a ensuite été estimée par un modèle de régression logistique conditionnelle ajusté sur le tabagisme, la consommation d'alcool, le diabète, l'hypercholestérolémie, l'hypertension et le nombre de médication à l'inclusion.

- Analyses supplémentaires

L'association entre chaque métabolite sélectionné dans la signature MIND et le statut de déclin cognitif a ensuite été estimée, dans chaque échantillon, au moyen de modèles de régression logistique conditionnelle, ajustés sur les mêmes covariables que pour l'analyse d'association principale. Une correction pour tests multiples de type FDR de Benjamini-Hochberg a été appliquée.

Résultats

Caractérisation de la signature métabolomique de l'adhérence au profil MIND

- Population d'analyse

Sur les 418 participants de l'échantillon de découverte (issus du centre bordelais), après exclusion de 81 participants présentant des données manquantes pour le FFQ et le rappel des 24h, 337 participants ont été inclus pour l'analyse de caractérisation de la signature métabolomique du profil MIND. Nous avons d'abord calculé le score d'adhérence au MIND, celui-ci suivant une distribution de type gaussienne (**Annexe 4**), avec une moyenne de 7.2 et un écart-type de 1.6 (min-max = 3.5-11.5). Les caractéristiques des participants selon le score d'adhérence au profil MIND (catégorisé en tertiles) sont présentées dans le **tableau 2**.

La population d'étude de l'échantillon de découverte était en moyenne âgée de 75.6 ans, composée d'une majorité de femmes (67.9%) et 30% de l'échantillon avait un niveau d'étude supérieur au bac. Pour un score d'adhérence au profil MIND croissant, la proportion d'hommes était plus grande, ainsi que la proportion de participants sous hypocholestérolémiant, et celle de participants pratiquant une activité physique de façon régulière. A l'inverse, la proportion de participants prenant un traitement anti-hypertenseur semblait plus petite chez les participants ayant un faible score MIND.

- Caractérisation de la signature métabolomique du profil MIND

Parmi les 206 métabolites issus d'une analyse ciblée sur le métabolome alimentaire, 10 ont été sélectionnés comme expliquant au mieux le score MIND par la régression LASSO : les résultats sont présentés dans le **tableau 3**. Ces métabolites sont pour la plupart exogènes, prenant leur source directement dans l'alimentation (fruits et légumes pour les métabolites associés positivement au profil MIND et viande, cacao, café et vin pour ceux présentant une association inverse), et deux sont endogènes, produits par l'organisme.

Association entre la signature MIND et le déclin cognitif

- Population d'analyse

L'échantillon de découverte élargi comprenait l'ensemble du cas-témoins initial, non restreint aux sujets ayant des données nutritionnelles pour la caractérisation de la signature. Les caractéristiques des cas et témoins dans chaque échantillon (de découverte et de validation) sont décrites dans le **tableau 4**. Les deux échantillons semblaient assez similaires en termes d'âge moyen, de sexe-ratio et de niveau d'éducation, mais il semblait y avoir une plus grande proportion de participants hypertendus ainsi que moins de participants en hypercholestérolémie dans l'échantillon de découverte par rapport à l'échantillon de validation. En ce qui concerne le style de vie, les participants de l'échantillon de validation semblaient être de plus gros consommateurs d'alcool. La principale différence entre cas et témoins, dans chaque échantillon, concernait la proportion de sujets diabétiques, plus élevée chez les cas que les témoins.

Le score de la signature métabolomique du profil MIND a été construit dans les deux échantillons, de découverte et de validation. Sa distribution selon le statut cas/témoin dans chaque échantillon est présentée dans la **figure 1**.

- Association entre la signature MIND et le déclin cognitif

La signature métabolomique était significativement associée au déclin cognitif dans l'échantillon de découverte : en effet, pour chaque augmentation d'une unité de la signature, la cote de déclin cognitif était en moyenne diminuée de 30% (95% IC : 0.50-0.98, $p=0.04$). Cependant, cette association n'était pas retrouvée dans l'échantillon de validation, où la cote de déclin était diminuée de 10%, mais de manière non significative (95% IC : 0.65-1.25, $p=0.55$) (**tableau 5**).

Résultats supplémentaires

Nous avons analysé secondairement chaque métabolite de la signature individuellement en lien avec le déclin cognitif. Dans l'échantillon de découverte, la myristoyl-carnitine, métabolite endogène, était associée à une cote de déclin cognitif augmentée de moitié, et ce de manière significative (OR=1.56, 95% IC 1.22-2.00, $p<0.01$ après correction pour tests multiples), alors que la bêtaïne (amine biogène) et la cyclo-L-Leucyl-L-prolyl (dérivé d'acides aminés), des métabolites exogènes apportés par certains fruits et légumes et le café, respectivement, étaient associés à une moindre cote de déclin cognitif, de manière significative pour la bêtaïne (OR=0.77, 95% IC 0.63-0.94, $p=0.05$ après correction pour tests multiples) mais non significative après correction pour test multiples pour le cyclo-L-Leucyl-L-prolyl (OR = 0.80, 95% IC 0.65-0.98, $p=0.11$ après correction) (**tableau 6**).

Discussion

Cette étude a permis la caractérisation d'une signature métabolomique de l'adhérence au profil alimentaire MIND, composée de 10 métabolites sanguins, exogènes et endogènes. Les métabolites associés à une meilleure adhérence au MIND (4-HHA, daïdzéine 4-S, 6-HIAA, Bétaïne et 3-HHA) étaient principalement des acides phénoliques et des dérivés d'acides aminés, ubiquitaires pour la plupart et dérivés des fruits et légumes, alors que les métabolites associés à une moindre adhérence au profil MIND prenaient leur source plutôt dans la viande rouge (1-méthylhistidine), le café (cyclo(L-leucyl-L-prolyl)) et le vin (acide tartarique), ou provenaient directement du métabolisme endogène (Myristoyl-carnitine et DHEA-S). Cette signature était négativement associée à une moindre cote de déclin cognitif dans les 12 années suivantes, mais cette association n'était pas répliquée dans un échantillon externe, rendant ces résultats difficiles à généraliser.

A ce jour, à notre connaissance, une seule étude a caractérisé une signature métabolomique du profil MIND chez 806 américains âgés de 73 ans en moyenne (14). Aucun des métabolites identifiés comme faisant partie de la signature métabolomique du profil MIND dans notre étude n'est en commun avec leur signature constituée de 41 métabolites représentée par des lipides, des acides aminés, des acides biliaires et des vitamines. Ces divergences peuvent être dues à des différences de définition et de méthodes intrinsèques aux deux études, que ce soit relativement au set de métabolites quantifiés, à la définition de l'adhérence au profil MIND, ou à la méthode statistique permettant l'estimation de la signature. Les plateformes métabolomiques diffèrent grandement. Dans notre étude, nous avons valorisé une base de données en métabolomique ciblée sur le métabolome alimentaire, alors que l'étude américaine a utilisé la plateforme *MxP[®] quanti 500*, quantifiant les taux circulants de 630 métabolites dans le plasma sans spécialisation sur le métabolome alimentaire, et il y a probablement peu de convergence entre les deux plateformes (15). Aussi, les définitions des scores d'adhérence au

profil MIND différaient légèrement, et différentes méthodes de régression pénalisée ont été appliquées (LASSO dans notre étude *versus* Elastic Net dans l'étude américaine). Pour autant, l'un des métabolites identifié dans notre signature, la 1-méthylhistidine, a été identifiée comme faisant partie de la signature métabolomique du profil méditerranéen dans l'étude américaine. Ce métabolite est un dérivé de l'acide aminé histidine et un biomarqueur de la consommation de viande (16). La 1-méthylhistidine a également été identifiée comme moins présente chez des participants suivant un profil méditerranéen que chez des témoins suivant un profil pauvre en graisses, dans l'étude d'intervention espagnole PREDIMED, incluant 91 sujets exempts de diabète (17). La 1-méthylhistidine a déjà été mise en lien avec le vieillissement cognitif dans la littérature : une étude récente, réalisée sur plus d'une centaine de sujets âgés, montre une perturbation du métabolisme de cette molécule dans le cerveau de personnes atteintes de MA (18). Il semblerait qu'il y ait une concentration significativement plus élevée dans le plasma de patients atteints de MA que chez les patients sains, ainsi que dans le liquide céphalorachidien.

Notre signature comportait également la bétaine, une molécule exogène dérivée de l'acide aminé glycine. La bétaine a une source ubiquitaire, incluant surtout les betteraves, les épinards, le son de blé mais aussi les fruits de mer. La bétaine a aussi été identifiée dans une signature métabolomique du profil Healthy Eating Index (HEI, développé par *l'U.S. Department of Health and Human Service National Cancer Institute* et le *U.S Département of Agriculture*, et construit à partir des recommandations journalières américaines), chez 1336 sujets âgés de 50 à 69 ans. Ce métabolite a, par ailleurs, été associé à un moindre vieillissement cognitif chez l'animal et chez l'homme (19,20). Cette relation dans le sens protecteur pourrait être liée à son rôle dans la conversion de l'homocystéine en méthionine (l'homocystéine étant impliquée dans le vieillissement cérébral pathologique (21)), et à son rôle dans la régulation du stress osmotique (22,23).

Deux autres dérivés d'acide aminé ont été identifiés dans notre étude dans la signature du profil MIND mais n'ont, à notre connaissance, pas encore été associés à des profils alimentaires d'intérêt pour le vieillissement cognitif : L'acide 5-hydroxyindole-3-acétique (5-HIAA), dérivant de l'acide indole-3-acétique, et le cyclo(L-leucyl-L-prolyl), dérivant des acides aminés leucine et proline. Dans notre échantillon, une meilleure adhérence au profil MIND était associée à un taux circulant plus élevé de 5-HIAA, un métabolite apporté par les fruits et légumes (baies et poivrons surtout) et les noisettes (24). Ce résultat est cohérent avec les caractéristiques du MIND qui présente une composante sur la consommation de noix et plusieurs relatives à la consommation de légumes (légumes verts à feuille, autres légumes, polyphénols totaux). Le 5-HIAA pourrait être d'intérêt dans le cadre du vieillissement cognitif. En effet, une étude réalisée sur 94 sujets âgés a montré une concentration significativement réduite de cette molécule dans le liquide céphalorachidien de patients à un stade avancé de démence à corps de Lewy par rapport à des participants diagnostiqués depuis peu (25). D'un autre côté, une meilleure adhérence au profil MIND était associée à une moindre concentration plasmatique de cyclo(L-leucyl-L-prolyl), biomarqueur de la consommation de café. Ce métabolite a déjà été identifié comme associé à une moindre côte de déclin cognitif dans le même échantillon cas-témoin mais au sein d'une plateforme de quantification en métabolomique non ciblée (26).

Trois métabolites de la famille des acides phénoliques ont été identifiés dans notre signature métabolomique du profil MIND : l'acide 4-hydroxyhippurique (4-HHA), 3-hydroxyhippurique (3-HHA) et la daïdzéine 4-sulfate (daïdzéine 4-S). Le 4-HHA fait partie de la famille des acides benzoïques et provient des fruits et légumes (en particulier les baies, les pommes, le brocoli et les carottes). Il a été identifié dans une étude post-hoc de l'essai clinique PREDIMED comme discriminant significativement l'adhérence au profil alimentaire Méditerranéen. Le 3-HHA (un acide benzoïque provenant des fruits et légumes, comme le jus de tomate) et la daïdzéine 4-S

(un isoflavone provenant du soja) ont été identifiés pour la première fois comme faisant partie de la signature d'un profil alimentaire neuroprotecteur dans notre étude. Comme discuté pour le 5-HIAA, le fait que nous ayons identifié des acides phénoliques est cohérent avec la composante très végétale du MIND. A l'heure actuelle, ces acides benzoïques sont peu mesurés dans les études en métabolomique du fait, en partie, de leurs faibles niveaux circulants, ce qui nécessite des outils d'une grande sensibilité analytique pour les détecter en population générale. Ils sont pourtant d'intérêt dans le cadre du vieillissement cérébral, leur association avec un moindre risque de démence et de déclin cognitif étant fortement suggérée dans plusieurs études (27–30). Leurs effets pléiotropiques sur de nombreuses voies biologiques (31) pourraient expliquer, tout du moins en partie, le rôle potentiellement neuroprotecteur des profils alimentaires MIND et méditerranéen.

Enfin, notre signature métabolomique comprenait deux métabolites de source endogène : la myristoyl-carnitine et la déhydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-S). La myristoyl-carnitine fait partie de la famille des acylcarnitines et a été plusieurs fois identifiée comme associée au profil alimentaire méditerranéen. Notre étude renforce donc le corpus d'études montrant son implication dans les profils alimentaires neuroprotecteurs (6,9). De plus, elle a été associée de manière significative avec le déclin cognitif dans notre population (dans le cadre d'une étude en métabolomique publiée précédemment), et son métabolisme a été rapporté comme dérégulé dans le syndrome métabolique et la MA précoce (26). De manière étonnante, la DHEA-S, une hormone stéroïde produite à partir du cholestérol par les glandes surrénales, a été sélectionnée dans notre signature métabolomique du profil MIND dans le sens délétère, alors qu'elle apparaît corrélée à de meilleures performances cognitives dans la littérature (32).

Au total, la signature métabolomique du profil MIND identifiée dans notre étude a du sens d'un point de vue biologique, car elle associe des métabolites précédemment rapportés comme reflétant une consommation plus élevée de fruits et légumes, et une consommation

moins de viande, café et vin rouge. Nous nous attendions à ce que cette signature soit associée au déclin cognitif, et nous avons effectivement identifié une forte association avec le statut de déclin cognitif dans l'échantillon de découverte, l'augmentation d'un point de la signature étant associée à une cote de déclin cognitif diminuée de 30%, et ce de manière significative (bien que seulement deux métabolites faisant partie de la signature, la myristoyl-carnitine et la bétaine, étaient significativement associés au déclin cognitif de manière individuelle). Ce résultat conforte la robustesse de l'approche par profils de l'exposition alimentaire pour étudier le lien entre nutrition et déclin cognitif. Cependant, la signature n'était pas significativement associée au déclin cognitif, même si l'association allait dans le même sens (OR = 0.90, 95% IC 0.65-1.25). Différentes hypothèses pourraient expliquer l'échec de réplique de ces résultats. La première raison tient dans l'origine géographique différente des deux échantillons. En effet, l'échantillon de découverte est issu du sud-ouest de la France (Bordeaux) alors que l'échantillon de validation est issu du Nord-Est de la France (Dijon), les deux régions étant caractérisées par des différences importantes en termes d'habitudes alimentaires notamment. Ainsi, les profils métabolomiques basaux des sujets de Bordeaux et de Dijon différaient grandement. Les taux circulants de ces 10 métabolites étaient assez différents entre l'échantillon de découverte et de validation, rendant difficile la réplique du profil métabolomique obtenu dans le premier échantillon (**Annexe 5**).

Certaines limites de l'étude sont à discuter. D'abord, l'intervalle de temps passé entre le prélèvement sanguin permettant la quantification des métabolites (à l'inclusion) et l'enquête alimentaire (au premier suivi), de deux années en moyenne, peut biaiser les associations entre métabolites circulants et les consommations alimentaires, qui ont pu changer au cours de la période suivant le prélèvement sanguin. De plus, la détermination de la signature n'a pu se faire que dans un échantillon de taille restreinte (n=337), et un plus grand échantillon aurait peut-être permis l'identification d'une signature avec plus de métabolites et surtout plus

généralisable à des populations avec d'autres caractéristiques. Il est à noter que nous n'avons pas pu tester la validité externe de la signature métabolomique du MIND (car les données alimentaires n'étaient disponibles que dans une sous-partie de l'échantillon de découverte), et nous avons seulement éprouvé la validité de sa capacité d'association avec le déclin cognitif. Aussi, les métabolites n'ont pu être mesurés qu'une seule fois, à l'inclusion, tout comme les consommations alimentaires au premier suivi, et des données répétées auraient permis de prendre en compte les changements d'alimentation et de profils métabolomiques et déterminer une signature valable dans le temps. Cette étude présente aussi de nombreuses forces, notamment l'utilisation d'une plateforme multi-métabolomique unique se basant sur une technologie innovante de spectrométrie de masse couplée à une chromatographie liquide à ultra-haute performance, permettant la quantification de métabolites spécifiquement en lien avec l'alimentation, dont certains sont rarement mesurés dans les études en métabolomique (acides gras à chaîne courte et acides phénoliques notamment). Le long suivi cognitif ainsi que la disponibilité d'un échantillon de validation sont d'autres atouts importants de l'étude. De plus, la signature métabolomique a été caractérisée avec une méthode LASSO renforcée par un rééchantillonnage bootstrap et les principaux facteurs de confusion ont été pris en compte dans les analyses, que ce soit pour la caractérisation de la signature ou l'étude d'association avec le déclin cognitif.

Au total, cette étude a permis la caractérisation d'une nouvelle signature métabolomique du profil alimentaire MIND, composée de métabolites de diverses natures. Certains étaient d'origine exogène, comme les dérivés d'acide aminé (1-méthylhistidine, bétaine, cyclo(L-Leucyl-L-Prolyl), 5-HIAA et acide tartarique) ou les acides phénoliques (Daïdzéine-4-S, 3-HHA et 4-HHA) alors que d'autres dériveraient d'une production endogènes (Myristoyl-carnitine et DHEA-S). Certains de ces métabolites apparaissent pour la première fois associés à un profil alimentaire neuroprotecteur (acides phénoliques, dérivés d'acides aminés), alors que nous

confirmons le lien de la bétaine, la myristoyl-carnitine et la 1-méthylhistidine, les plaçant ainsi dans la catégorie de biomarqueurs potentiellement robustes de profils alimentaires neuroprotecteurs. Nous avons également été en mesure de mettre en lien cette signature avec un moindre déclin cognitif, même si cette association a échoué à être répliquée dans un échantillon externe, caractérisé par un profil métabolomique et des habitudes de vie différentes de l'échantillon de découverte. Ainsi, si la caractérisation de signatures métabolomiques des profils alimentaires neuroprotecteurs est essentielle à l'avancée de la prévention de précision de la démence, il est important de répliquer les résultats dans des populations différentes et de les développer dans des populations diverses avec une alimentation et des profils de mode de vie variés.

Pour rappel, cette étude est encore en cours au moment de la rédaction de cette thèse, et des analyses supplémentaires sont prévues, telles que l'utilisation d'une méthode de régression pénalisée ElasticNet (avec re-échantillonnage bootstrap) permettant la sélection de métabolites fortement corrélés, mais aussi l'investigation plus poussée des différences entre l'échantillon de découverte et de validation qui pourraient apporter d'autres éléments qui pourraient expliquer la non-réplication de l'association.

Tableaux et Figures

Tableau 1 : Définition des composantes du score d'adhérence au profil MIND et de son système de points, issu de Thomas A. & al, J Prev Alz Dis, 2022 (4).

Composantes	Score		
	0	0.5	1
Céréales complètes*	0 g / jour	-	> 0 g / jour
Oléagineux*	0 g/jour	-	> 0 g / jour
Polyphénols totaux*	≤ 0.77 g / jour	0.77 - 1.21 g / jour	> 1.21 g / jour
Legumes verts à feuille*	0 g / jour	0-60 g / jour	>60 g / jour
Autres légumes	< 7 fois / semaine	7 - 14 fois / semaine	> 14 fois / semaine
Haricots	< 1 fois / mois	1 / mois - 1 / semaine	≥ 2 fois / semaine
Poisson	< 1 fois / mois	1 fois / semaine	≥ 2 fois / semaine
Volaille	< 1 fois / mois	1 fois / semaine	≥ 2 fois / semaine
Viande rouge et dérivés	≥ 7 fois / semaine	4 - 6 / semaine	≤ 4 fois / semaine
Fromage	> 7 fois / semaine	1 - 7 / semaine	< 1 fois / semaine
Pâtisseries et sucreries	≥ 7 fois / semaine	5 - 6 / semaine	< 5 fois / semaine
Aliments Frits	> 2 fois / semaine	1 - 2 / semaine	< 1 fois / semaine
Beurre et Margarine	> 14 fois / semaine	7 - 14 / semaine	< 7 fois / semaine
Huile d'olive	Graisse ajoutée non préférentielle	-	Graisse ajoutée préférentielle
Vin	Jamais ou >10 verres/semaine	1 / mois - 7 / semaine	[7-10] verres/semaine

*Consommations issues du rappel des 24h

Tableau 2 : Caractéristiques de la population d'étude pour la l'estimations de la signature métabolomique du profil MIND, échantillon de découverte, n=337

	Population totale N=337	Score d'adhérence au profil MIND		
		Faible N=140	Moyen N=107	Elevé N=90
Age (années)	75.64 (4.35)	74.68 (4.1)	75.98 (4.43)	76.05 (4.38)
Femmes, n(%)	229 (67.95)	57 (60)	94 (71.76)	78 (70.27)
Education > lycée, n(%)	102 (30.36)	21 (22.11)	47 (35.88)	34 (30.91)
Tabagisme (paquet-années)	8.92 (18.2)	11.35 (20.05)	8.47 (16.91)	7.33 (17.92)
IMC (kg/m ²)	26.45 (4.16)	26.42 (4.35)	26.64 (3.88)	26.25 (4.32)
Traitement hypocholestérolémiant, n (%)	114 (33.83)	27 (28.42)	46 (35.11)	41 (36.94)
Traitement hypoglycémiant, n(%)	29 (8.61)	7 (7.37)	11 (8.4)	11 (9.91)
Traitement anti- hypertenseur, n(%)	36 (10.68)	7 (7.37)	15 (11.45)	14 (12.61)
Nombre de médicaments	4.49 (2.67)	4.47 (2.59)	4.65 (2.62)	4.31 (2.81)
Activité physique régulière, n(%)	98 (34.39)	21 (25.93)	41 (38.68)	36 (36.73)
Apport calorique journalier (Kcal)	1697.06 (540.59)	1790.65 (629.84)	1703.65 (501.52)	1609.19 (490.9)

Les catégories du score d'adhérence (faible, moyen et élevé) sont définies par des tertiles.

Tableau 3 : Identification de la signature métabolomique de l'adhérence au profil MIND dans la cohorte 3C Bordeaux, n=337

Métabolites	% ¹	β^2	Source
1-methylhistidine	90	-0.22	Viande rouge
4-HHA	82	0.17	Fruits et légumes
Daidzein 4-S	75	0.31	Soja
Myristoyl-carnitine	73	-0.21	Endogène
5-HIAA	67	0.25	Fruits et légumes
Betaine	66	0.11	Fruits et légumes
cyclo(L-leucyl-L-prolyl)	56	-0.17	Cacao, café
Tartaric acid	52	-0.21	Vin et raisins
3-HHA	47	0.21	Fruits et légumes
DHEA-S	43	-0.10	Endogène

¹ Une régression pénalisée de LASSO a été appliquée sur 1000 échantillons bootstrap pour identifier les métabolites associés de manière robuste au score d'adhérence du profil MIND. Les métabolites sélectionnés dans plus de 40% des bootstraps ont été retenus. Pour chaque échantillon bootstrap, la pénalisation optimale a été choisie par une validation croisée. Les modèles ont été ajustés sur l'âge, le sexe, l'éducation, le statut tabagique, l'IMC, La prise de traitements hypocholestérolémiants, hypoglycémiques et hypertenseurs, ainsi que sur la pratique d'activité physique, la consommation énergétique journalière et la date de prise de sang.

²les coefficients de régression ont été obtenus par un modèle de régression linéaire comprenant tous les métabolites sélectionnés par la régression LASSO, et ajustés sur les variables d'ajustement utilisés dans le LASSO. Abbreviations : 3-HHA : 3-hydroxyhippuric acid, 4-HHA : 4-hydroxyhippuric acid, 5-HIAA : 5-hydroxyindole-3-acetic acid, DHEA-S : dehydroepiandrosterone sulfate

Tableau 4 : Caractéristiques des participants des échantillons de découverte et de validation selon le statut cas/témoin pour le déclin cognitif dans deux échantillons cas témoin nichés dans la cohorte 3C, n=418 et n=420.

	DECOUVERTE (n=418)		VALIDATION (n=420)	
	Cas	Témoins	Cas	Témoins
Variables d'appariement				
Age (années), moyenne (ET)	75.9 (4.4)	75.7 (4.2)	76.5 (5.2)	76.1 (4.7)
Femmes	138 (66)	138 (66)	133 (63)	133 (63)
Education > lycée	149 (71)	149 (71)	150 (71)	150 (71)
Caractéristiques à l'inclusion				
IMC (kg/m ²), moyenne (ET)	26.8 (4.3)	26.1 (3.6)	25.7 (4.5)	25.0 (3.6)
Consommation d'alcool (g/jour), moyenne (ET)	13.0 (14.6)	14.6 (17.2)	12.3 (14.5)	12.4 (12.7)
Tabagisme (paquets-années), moyenne (ET)	9.1 (19.7)	7.3 (14.6)	8.1 (19.2)	6.0 (12.8)
Hypertension	164 (78)	159 (76)	176 (84)	174 (83)
Hypercholestérolémie	79 (38)	93 (44)	85 (40)	80 (38)
Diabète	27 (13)	12 (6)	27 (13)	12 (6)
Nombre de médicaments, moyenne (ET)	4.9 (2.7)	4.1 (2.4)	5.5 (3.0)	4.0 (2.9)

Effectifs (percentage), mentionné dans la cas contraire

Figure 1 : Distribution de la signature métabolomique MIND dans les échantillons de découverte (issu du centre bordelais, n=418) et de validation (issu du centre dijonnais, n=422), selon le statut cas/témoin, dans deux échantillons cas témoin nichés dans la cohorte 3C, n=418 et n=420.

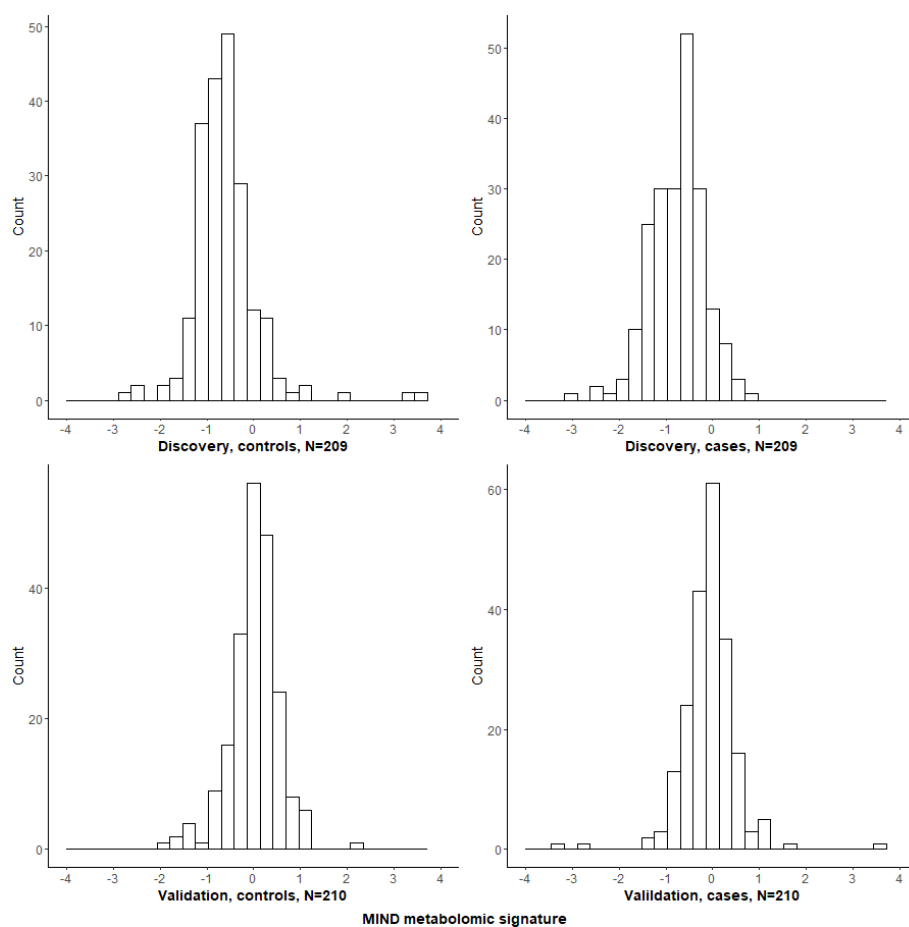


Tableau 5 : Association entre la signature métabolomique du profil MIND et le statut de déclin cognitif, dans deux échantillons cas témoin nichés dans la cohorte 3C, n=418 et n=420.

	OR*	95% IC	p-value
<u>Echantillon de découverte</u>			
Score métabolomique MIND	0.70	(0.50-0.98)	0.04
<u>Echantillon de validation</u>			
Score métabolomique MIND	0.90	(0.65-1.25)	0.55

**OR pour l'augmentation d'une unité, ajusté sur l'IMC, le tabagisme, la consommation d'alcool, le diabète, l'hypercholestérolémie, l'HTA et le nombre de médicaments.*

Abbréviations : OR : Odds ratio, IC : Intervalle de confiance

Tableau 6 : Associations entre les concentration de chaque métabolite sélectionné dans la signature métabolomique du profil MIND et le déclin cognitif, dans l'échantillon de découverte et de validation, dans deux échantillons cas témoin nichés dans la cohorte 3C, n=418 et n=420.

Métabolite	Découverte (n=418)			Validation (n=420)	
	OR	95% IC	p FDR	OR	95% IC
1-methylhistidine	1.01	(0.82-1.25)	0.96	1.07	(0.85-1.35)
4-HHA	0.90	(0.72-1.12)	0.57	0.89	(0.70-1.11)
Daidzein 4-S	0.90	(0.70-1.15)	0.57	1.07	(0.87-1.3)
Myristoyl-carnitine	1.56	(1.22-2.00)	< 0.01	0.94	(0.77-1.15)
5-HIAA	0.99	(0.81-1.22)	0.96	1.00	(0.80-1.24)
Betaine	0.77	(0.63-0.94)	0.05	1.05	(0.85-1.3)
cyclo(L-leucyl-L-prolyl)	0.80	(0.65-0.98)	0.11	0.95	(0.78-1.17)
Tartaric acid	1.10	(0.89-1.35)	0.57	1.09	(0.86-1.38)
3-HHA	0.93	(0.75-1.16)	0.66	0.83	(0.66-1.04)
DHEA-S	0.88	(0.70-1.11)	0.57	1.13	(0.90-1.41)

Abbreviations : 3-HHA : 3-hydroxyhippuric acid, 4-HHA : 4-hydroxyhippuric acid, 5-HIAA : 5-hydroxyindole-3-acetic acid, DHEA-S : dehydroepiandrosterone sulfate, FDR : false discovery rate, IC : Intervalle de confiance, OR : Odd ratio

Bibliographie

1. Morris MC, Tangney CC, Wang Y, Sacks FM, Bennett DA, Aggarwal NT. MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* sept 2015;11(9):1007-14.
2. Shakersain B, Rizzuto D, Wang HX, Faxén-Irving G, Prinelli F, Fratiglioni L, et al. An Active Lifestyle Reinforces the Effect of a Healthy Diet on Cognitive Function: A Population-Based Longitudinal Study. *Nutrients.* 13 sept 2018;10(9):1297.
3. Hosking DE, Eramudugolla R, Cherbuin N, Anstey KJ. MIND not Mediterranean diet related to 12-year incidence of cognitive impairment in an Australian longitudinal cohort study. *Alzheimers Dement.* avr 2019;15(4):581-9.
4. Thomas A, Lefèvre-Arbogast S, Féart C, Foubert-Samier A, Helmer C, Catheline G, et al. Association of a MIND Diet with Brain Structure and Dementia in a French Population. *J Prev Alzheimer Dis.* 2022;9(4):655-64.
5. Van Den Brink AC, Brouwer-Brolsma EM, Berendsen AAM, Van De Rest O. The Mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) Diets Are Associated with Less Cognitive Decline and a Lower Risk of Alzheimer's Disease—A Review. *Adv Nutr.* nov 2019;10(6):1040-65.
6. Tong TYN, Koulman A, Griffin JL, Wareham NJ, Forouhi NG, Imamura F. A Combination of Metabolites Predicts Adherence to the Mediterranean Diet Pattern and Its Associations with Insulin Sensitivity and Lipid Homeostasis in the General Population: The Fenland Study, United Kingdom. *J Nutr.* mars 2020;150(3):568-78.
7. Kim H, Hu EA, E Wong K, Yu B, Steffen LM, Seidemann SB, et al. Serum Metabolites Associated with Healthy Diets in African Americans and European Americans. *The Journal of Nutrition.* janv 2021;151(1):40-9.
8. Playdon MC, Moore SC, Derkach A, Reedy J, Subar AF, Sampson JN, et al. Identifying biomarkers of dietary patterns by using metabolomics. *AJCN.* févr 2017;105(2):450-65.
9. Li J, Guasch-Ferré M, Chung W, Ruiz-Canela M, Toledo E, Corella D, et al. The Mediterranean diet, plasma metabolome, and cardiovascular disease risk. *Eur Heart J.* 21 juill 2020;41(28):2645-56.
10. Walker ME, Song RJ, Xu X, Gerszten RE, Ngo D, Clish CB, et al. Proteomic and Metabolomic Correlates of Healthy Dietary Patterns: The Framingham Heart Study. *Nutrients.* 19 mai 2020;12(5):1476.
11. Low DY, Lefèvre-Arbogast S, González-Domínguez R, Urpi-Sarda M, Micheau P, Petera M, et al. Diet-Related Metabolites Associated with Cognitive Decline Revealed by Untargeted Metabolomics in a Prospective Cohort. *Mol Nutr Food Res.* sept 2019;63(18):1900177.

12. Programme National Nutrition Santé 2019-2023. Programme National Nutrition Santé 2019-2023 [Internet]. 2019. Disponible sur: Available from: https://solidariteessante.gouv.fr/IMG/pdf/pnns4_2019-2023.pdf
13. Tibshirani R. Regression Shrinkage and Selection via the Lasso. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*. 1996;58(1):267-88.
14. Tanaka T, Talegawkar SA, Jin Y, Candia J, Tian Q, Moaddel R, et al. Metabolomic Profile of Different Dietary Patterns and Their Association with Frailty Index in Community-Dwelling Older Men and Women. *Nutrients*. 27 mai 2022;14(11):2237.
15. González-Domínguez R, Castellano-Escuder P, Carmona F, Lefèvre-Arbogast S, Low DY, Du Preez A, et al. Food and Microbiota Metabolites Associate with Cognitive Decline in Older Subjects: A 12-Year Prospective Study. *Mol Nutr Food Res*. 28 oct 2021;2100606.
16. Kochlik B, Gerbracht C, Grune T, Weber D. The Influence of Dietary Habits and Meat Consumption on Plasma 3-Methylhistidine-A Potential Marker for Muscle Protein Turnover. *Mol Nutr Food Res*. mai 2018;62(9):e1701062.
17. Vázquez-Fresno R, Llorach R, Urpi-Sarda M, Lupianez-Barbero A, Estruch R, Corella D, et al. Metabolomic pattern analysis after mediterranean diet intervention in a nondiabetic population: a 1- and 3-year follow-up in the PREDIMED study. *J Proteome Res*. 2 janv 2015;14(1):531-40.
18. Kalecký K, German DC, Montillo AA, Bottiglieri T. Targeted Metabolomic Analysis in Alzheimer's Disease Plasma and Brain Tissue in Non-Hispanic Whites. *J Alzheimers Dis*. 86(4):1875-95.
19. Knight LS, Piibe Q, Lambie I, Perkins C, Yancey PH. Betaine in the Brain: Characterization of Betaine Uptake, its Influence on Other Osmolytes and its Potential Role in Neuroprotection from Osmotic Stress. *Neurochem Res*. déc 2017;42(12):3490-503.
20. Eussen SJPM, Ueland PM, Clarke R, Blom HJ, Hoefnagels WHL, van Staveren WA, et al. The association of betaine, homocysteine and related metabolites with cognitive function in Dutch elderly people. *Br J Nutr*. nov 2007;98(5):960-8.
21. Smith AD, Refsum H, Bottiglieri T, Fenech M, Hooshmand B, McCaddon A, et al. Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement. *JAD*. 20 févr 2018;62(2):561-70.
22. Huguenard CJC, Cseresznye A, Darcey T, Nkiliza A, Evans JE, Hazen SL, et al. Age and APOE affect L-carnitine system metabolites in the brain in the APOE-TR model. *Front Aging Neurosci*. 2022;14:1059017.
23. Bhatt M, Di Iacovo A, Romanazzi T, Roseti C, Bossi E. Betaine—The dark knight of the brain. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* [Internet]. [cité 14 août 2023];n/a(n/a). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/bcpt.13839>
24. Garcia-Aloy M, Llorach R, Urpi-Sarda M, Tulipani S, Estruch R, Martínez-González MA, et al. Novel multimetabolite prediction of walnut consumption by a urinary biomarker model in a free-living population: the PREDIMED study. *J Proteome Res*. 3 juill 2014;13(7):3476-83.

25. Morimoto S, Takao M, Hatsuta H, Nishina Y, Komiya T, Sengoku R, et al. Homovanillic acid and 5-hydroxyindole acetic acid as biomarkers for dementia with Lewy bodies and coincident Alzheimer's disease: An autopsy-confirmed study. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171524.
26. Low DY, Lefèvre-Arbogast S, González-Domínguez R, Urpi-Sarda M, Micheau P, Petera M, et al. Diet-Related Metabolites Associated with Cognitive Decline Revealed by Untargeted Metabolomics in a Prospective Cohort. *Mol Nutr Food Res*. sept 2019;63(18):1900177.
27. Letenneur L, Proust-Lima C, Le Gouge A, Dartigues J, Barberger-Gateau P. Flavonoid Intake and Cognitive Decline over a 10-Year Period. *AJE*. 10 mars 2007;165(12):1364-71.
28. Lefèvre-Arbogast S, Gaudout D, Bensalem J, Letenneur L, Dartigues JF, Hejblum BP, et al. Pattern of polyphenol intake and the long-term risk of dementia in older persons. *Neurology*. 29 mai 2018;90(22):e1979-88.
29. Commenges D, Scotet V, Renaud S, Jacqmin-Gadda H, Barberger-Gateau P. Intake of flavonoids and risk of dementia. *AJE*. 2000;16:357-63.
30. Yeh TS, Yuan C, Ascherio A, Rosner BA, Willett WC, Blacker D. Long-term Dietary Flavonoid Intake and Subjective Cognitive Decline in US Men and Women. *Neurology*. 7 sept 2021;97(10):e1041-56.
31. Villegas-Aguilar MDC, Fernández-Ochoa Á, Cádiz-Gurrea MDLL, Pimentel-Moral S, Lozano-Sánchez J, Arráez-Román D, et al. Pleiotropic Biological Effects of Dietary Phenolic Compounds and their Metabolites on Energy Metabolism, Inflammation and Aging. *Molecules*. 29 janv 2020;25(3):596.
32. de Menezes KJ, Peixoto C, Nardi AE, Carta MG, Machado S, Veras AB. Dehydroepiandrosterone, Its Sulfate and Cognitive Functions. *Clin Pract Epidemiol Ment Health*. 29 avr 2016;12:24-37.

3.1.3. Discussion du premier axe sur l'identification de combinaisons nutritionnelles optimales pour la prévention

Dans cette première partie, nous avons mis à profit l'épidémiologie moléculaire, via différentes mesures de biomarqueurs et métabolites, pour caractériser des combinaisons nutritionnelles optimales pour la prévention de la démence et du déclin cognitif grâce aux données longitudinales de la cohorte 3C. Deux études complémentaires ont été réalisées, utilisant des approches différentes de caractérisation de profils moléculaires : une approche *a priori* a été appliquée pour l'élaboration d'un indice de statut micro-nutritionnel, se basant sur les connaissances préexistantes au regard de biomarqueurs nutritionnels plasmatiques, et une approche *a posteriori*, exploitant de façon plus exploratoire une base de données sur le métabolome alimentaire pour identifier un profil de métabolites associé à une alimentation neuroprotectrice.

Un indice biologique de déficience micro-nutritionnelle a été construit chez 629 sujets du centre bordelais de la cohorte 3C, comprenant les 3 biomarqueurs nutritionnels les plus associés au risque de démence dans la littérature : la vitamine D, les n-3 AGPI et les caroténoïdes. Cet indice de risque micro-nutritionnel, dont l'augmentation témoignait d'une diminution des taux circulants en micro-nutriments, était fortement associé au risque de développer une démence ultérieurement. Comparativement aux personnes avec un faible indice de risque micro-nutritionnel, les personnes avec un haut indice avaient un risque multiplié par plus de 4 de développer une démence au cours des 18 ans de suivi. Cette augmentation de risque était équivalente à deux fois celle conférée aux principaux facteurs de risque de la démence, comme le statut APOE4 ou le diabète, dans cette population. Cet indice pourrait constituer un outil intéressant pour identifier les groupes les plus à risque de démence, pouvant être plus à même de bénéficier de stratégies de prévention nutritionnelle. Il permettrait ainsi de cibler les groupes d'intérêt pour l'évaluation d'une supplémentation multi-nutriments au travers d'essais cliniques randomisés. Cependant, cet indice n'était composé que de 3 familles de biomarqueurs nutritionnels et ne reflétait probablement pas toute la complexité de l'exposition alimentaire. Notamment, deux des biomarqueurs inclus avaient la même source alimentaire

(vitamine D et n-3 AGPI, provenant essentiellement du poisson) et la variabilité de l'indice était surtout expliquée par la consommation de fruits et légumes, du fait de la forte pondération de la composante caroténoïdes dans la génération de l'indice. De surcroît, malgré des HR élevés, cet indice n'avait une capacité de prédiction de la démence que limitée, avec un AUC à 0.65 (contre 0.63 pour le modèle n'incluant que les covariables). La prise en compte d'autres biomarqueurs pourrait mieux refléter la qualité d'alimentation des individus, et permettre une meilleure identification des individus à risque. Il est cependant à noter que dans les pathologies multifactorielles (comme la démence), les capacités de prédiction sont souvent limitées.

Dans une deuxième étude, plus exploratoire, nous avons choisi de nous focaliser sur un profil alimentaire défini a priori pour la prévention du vieillissement cognitif pathologique, le profil MIND, et caractérisé une signature métabolomique de ce profil, dans un échantillon de 337 participants du centre bordelais de la cohorte 3C. Dix métabolites ont été identifiés, dont seulement trois avaient déjà été mis en lien avec des régimes neuroprotecteurs dans la littérature – la 1-méthylhistidine, la myristoyl-carnitine et la bétaine. Sept métabolites ont été nouvellement identifiés, dont certains avaient déjà été associés au vieillissement cognitif : des acides phénoliques et des dérivés d'acide aminés. Le score reflétant la signature métabolomique était fortement associée au déclin cognitif, l'augmentation d'une unité étant associée à une diminution de 30% de la cote de déclin cognitif. Pour autant, de manière individuelle, seulement deux de ces métabolites étaient significativement associés au déclin cognitif ; la prise en compte de ces métabolites de manière combinée, chacun pondéré par la magnitude de son association avec la diète MIND, montre un lien significatif avec le déclin cognitif. Cela conforte l'hypothèse selon laquelle considérer l'exposition nutritionnelle par profils, comme ici avec des métabolites plasmatiques, est pertinente dans son étude en lien avec le vieillissement cérébral, pour la formulation de stratégies de prévention.

Ces deux scores biologiques, l'un faisant appel à des biomarqueurs de nutriments candidats classiques en recherche (mais non en pratique clinique), l'autre faisant appel à une dizaine de métabolites plus difficiles à mesurer, pourraient, en pratique, objectiver le caractère neuroprotecteur (versus neurodélétère) du statut nutritionnel des individus, et pourraient permettre de sélectionner les populations vulnérables et aider à la formulation de stratégies de prévention en nutrition. Nous avons montré leur association avec la démence et le déclin cognitif dans les populations

dans lesquelles ils ont été construits. Cependant, ces scores doivent être fiables et reproductibles pour être appliqués en pratique et une validation dans des populations externes est indispensable. Ces résultats doivent donc être considérés comme préliminaires et nécessitent validation. Le score métabolomique de l'adhésion au profil alimentaire MIND développé dans cette thèse n'était pas du tout associé à la cote de déclin cognitif dans un échantillon indépendant issu du centre dijonnais de l'étude 3C, ce qui suggère un manque de validité externe, l'approche nécessitant peut-être d'être affinée en intégrant différentes populations dans une analyse groupée. De la même façon, l'indice de risque micro-nutritionnel n'a pas encore été répliqué dans une autre population.

Nous venons de voir dans ce premier chapitre de résultats que des combinaisons de nutriments (ou de métabolites associés) pouvaient être associées au déclin cognitif ou au risque de démence de manière plus importante que leurs composantes isolées. Une autre façon d'identifier des cibles préventives potentielles est d'étudier de façon plus approfondie les voies mécanistiques du lien entre nutrition et vieillissement cognitif. En particulier, l'axe intestin-cerveau, est une voie d'intérêt : la littérature suggère que le microbiote intestinal peut jouer un rôle dans le vieillissement cognitif, et il est essentiel à la digestion des nutriments ingérés et à plusieurs fonctions physiologiques de l'organisme.

3.2. Identification de nouvelles cibles préventives en décryptant l'axe intestin-cerveau par la métabolomique

3.2.1. Introduction

Le microbiote intestinal joue un rôle essentiel dans la digestion des aliments et dans de nombreux mécanismes physiologiques. Les micro-organismes tapissant le tractus digestif communiquent avec le cerveau et il existe une forte relation biologique entre la nutrition, le microbiote et le système nerveux central. Cette relation mécanistique, aussi appelée axe intestin-cerveau, implique une voie directe, passant par le nerf vague, et une voie indirecte, via la libération de métabolites dans la circulation sanguine. C'est cette seconde voie qui va nous intéresser dans cette partie. La plupart des métabolites circulants dérivant du microbiote ont la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique et d'avoir des effets neurologiques directs (507,508).

De récentes études suggèrent un lien entre ces métabolites microbiens et le vieillissement cérébral, et plus particulièrement la démence et le déclin cognitif associé (258,509). Parmi les métabolites candidats sont retrouvés des acides aminés et dérivés, comme l'acide anthranillique ou le tryptophane, des acides biliaires secondaires, le TMAO, les acides gras à chaîne courte et les acides phénoliques (271,282,510,511). Cependant, leur implication dans le développement de la démence et dans le déclin cognitif n'est pas consensuelle, les études existantes présentant des échantillons de taille limitée, une diversité de métabolites restreinte et ne présentant pour la plupart pas de phase de réplication. De plus, la plupart des études suivent un schéma transversal, la causalité des associations ne pouvant être affirmée (512).

La recherche de signatures du déclin cognitif parmi les métabolites dérivés de l'alimentation et du microbiote permettrait à la fois d'identifier des marqueurs spécifiques de la prise en charge de l'alimentation par le microbiote, et de mettre en évidence des marqueurs précoces (changements métaboliques) associés au vieillissement cognitif.

L'objectif de cette étude était donc de mettre à profit les données de métabolomique ciblée pour identifier des métabolites microbiens circulants associés au déclin cognitif ultérieur chez les personnes âgées de la population générale.

3.2.2. Article (publié, *Nutrients*, 2022)

Article

Exploration of the Gut–Brain Axis through Metabolomics Identifies Serum Propionic Acid Associated with Higher Cognitive Decline in Older Persons

Jeanne Neuffer ^{1,*} , Raúl González-Domínguez ^{2,3} , Sophie Lefèvre-Arbogast ¹ , Dorrain Y. Low ^{4,5} , Bénédicte Driollet ¹, Catherine Helmer ¹ , Andrea Du Preez ⁶ , Chiara de Lucia ⁶ , Silvie R. Ruigrok ⁷, Barbara Altendorfer ⁸ , Ludwig Aigner ⁸ , Paul J. Lucassen ^{7,9} , Aniko Korosi ⁷, Sandrine Thuret ^{6,10} , Claudine Manach ⁴, Mercè Pallàs ¹¹ , Mireia Urpi-Sardà ^{2,3} , Alex Sánchez-Pla ^{2,3}, Cristina Andres-Lacueva ^{2,3}  and Cécilia Samieri ¹



Citation: Neuffer, J.; González-Domínguez, R.; Lefèvre-Arbogast, S.; Low, D.Y.; Driollet, B.; Helmer, C.; Du Preez, A.; de Lucia, C.; Ruigrok, S.R.; Altendorfer, B.; et al. Exploration of the Gut–Brain Axis through Metabolomics Identifies Serum Propionic Acid Associated with Higher Cognitive Decline in Older Persons. *Nutrients* **2022**, *14*, 4688. <https://doi.org/10.3390/nu14214688>

Academic Editor: Panteleimon Giannakopoulos

Received: 17 October 2022

Accepted: 2 November 2022

Published: 5 November 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

- ¹ Bordeaux Population Health Research Center, University of Bordeaux, INSERMUMR 1219, F-33000 Bordeaux, France
 - ² Nutrition, Food Science and Gastronomy Department, Food Innovation Network (XIA), Institute of Nutrition and Food Safety (INSA-UB), Faculty of Pharmacy and Food Science, University of Barcelona, 08028 Barcelona, Spain
 - ³ CIBER Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES), Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid, Spain
 - ⁴ Human Nutrition Unit, Université Clermont Auvergne, INRAEUMR1019, F-63000 Clermont Ferrand, France
 - ⁵ Lee Kong Chian School of Medicine, Nanyang Technological University, Singapore 636921, Singapore
 - ⁶ Department of Basic and Clinical Neuroscience, Maurice Wohl Clinical Neuroscience Institute, Institute of Psychiatry, Psychology and Neuroscience, King's College London, London SE5 9NU, UK
 - ⁷ Brain Plasticity Group, Swammerdam Institute for Life Sciences, University of Amsterdam, 1098 XH Amsterdam, The Netherlands
 - ⁸ Institute of Molecular Regenerative Medicine, Spinal Cord Injury and Tissue Regeneration Center Salzburg, Paracelsus Medical University, 5020 Salzburg, Austria
 - ⁹ The Center for Urban Mental Health, University of Amsterdam, 1098 XH Amsterdam, The Netherlands
 - ¹⁰ Department of Neurology, University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, 01307 Dresden, Germany
 - ¹¹ Pharmacology Section, Department of Pharmacology, Toxicology and Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy and Food Sciences, and Institute of Neurociencias, University of Barcelona, 08028 Barcelona, Spain
- * Correspondence: jeanne.neuffer@u-bordeaux.fr

Abstract: The gut microbiome is involved in nutrient metabolism and produces metabolites that, via the gut–brain axis, signal to the brain and influence cognition. Human studies have so far had limited success in identifying early metabolic alterations linked to cognitive aging, likely due to limitations in metabolite coverage or follow-ups. Older persons from the Three-City population-based cohort who had not been diagnosed with dementia at the time of blood sampling were included, and repeated measures of cognition over 12 subsequent years were collected. Using a targeted metabolomics platform, we identified 72 circulating gut-derived metabolites in a case–control study on cognitive decline, nested within the cohort (discovery $n = 418$; validation $n = 420$). Higher serum levels of propionic acid, a short-chain fatty acid, were associated with increased odds of cognitive decline (OR for 1 SD = 1.40 (95% CI 1.11, 1.75) for discovery and 1.26 (1.02, 1.55) for validation). Additional analyses suggested mediation by hypercholesterolemia and diabetes. Propionic acid strongly correlated with blood glucose ($r = 0.79$) and with intakes of meat and cheese ($r > 0.15$), but not fiber ($r = 0.04$), suggesting a minor role of prebiotic foods per se, but a possible link to processed foods, in which propionic acid is a common preservative. The adverse impact of propionic acid on metabolism and cognition deserves further investigation.

Keywords: propionic acid; gut microbiota; metabolomics; cognitive decline; gut–brain axis; Alzheimer's disease; dementia

1. Introduction

The gut microbiota, composed of micro-organisms (bacteria, archaea, bacteriophages, eukaryotic virus and fungi) that colonize the gut, plays an important role in human physiology and health [1,2]. The contribution of the microbial community to food digestion and nutrient metabolism is central to the biological functions of the host-microbiota system. Encoding specialized enzymes (e.g., for the breakdown of complex polysaccharides, polyphenols and synthesis of vitamins) that are not present in the human genome, the microbiome releases specific microbial and diet-derived metabolites in the gut and the bloodstream, such as pro-inflammatory factors, short-chain fatty acids, indole and phenolic metabolites and neurotransmitters [3].

There is a strong biological interplay between diet, the gut microbiota and the central nervous system, referred to as the gut–brain axis [4], which involves both direct gut-to-brain communication (through the nervus vagus), as well as more distant signaling via circulating metabolites in the systemic milieu; some of which cross the blood–brain barrier and exert direct neurobiological effects [5,6]. Emerging evidence even suggests a link between specific food- and gut microbiota-derived metabolites and cognitive aging and associated diseases, in particular dementia and its most frequent form, Alzheimer’s disease (AD) [7,8]. Candidate metabolites include anthranilic acid, a derivative of tryptophan produced by the kynurenic pathway [9,10]; trimethylamine oxide (TMAO), synthesized by gut microbiota from dietary betaine, choline and carnitine [11]; and cholesterol-derived biliary acids [12]. Short-chain fatty acids (SCFA), produced by microbial fermentation of certain dietary fibers, are also key metabolites of the gut–brain axis, which have been implicated in AD, e.g., by interfering with the protein–protein interactions necessary for toxic amyloid beta ($A\beta$) and aggregate formation [13]. They have also been involved in neuroinflammation, a critical underlying pathway of the gut–brain axis [14].

However, evidence of the associations between microbial metabolites and cognitive ageing in humans has so far been fragmented. Detection of diet- and gut-derived metabolites deserves highly sensitive metabolomics approaches, which have been developed only recently and have not yet been applied on a large scale in biomedical research [15]. Furthermore, studies have so far been limited in sample size and in the number of candidate metabolites analyzed, often without a replication stage. Moreover, causality is a critical issue in microbiome research [16]. Given that studies have so far been cross-sectional, they cannot infer whether diet- or microbiota-related metabolic changes are causally related to brain diseases or are a consequence.

Therefore, identifying blood biomarkers before the onset of cognitive decline in long-term prospective studies is an essential step to identify early gut-derived metabolic alterations that potentially lead to cognitive aging and dementia. It is important to replicate discovery findings in populations with different ages and geographic origins, who have different environmental exposures and lifestyle, to ensure the robustness and external validity of results [17].

By using a case–control study nested in a large population-based cohort of older persons, we investigated the continuum of changes related to brain aging on a global scale (which results from both normal aging and brain pathologies, such as AD), focusing on long-term cognitive decline. We applied a large-scale and quantitative multi-metabolite platform to serum samples to determine circulating levels of 72 food- and gut microbiota-derived metabolites and studied their association with cognitive decline.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

The Three-City (3C) study is a French cohort initiated in 1999 with the primary aim of studying vascular risk factors for dementia. It included 9294 non-institutionalized community dwellers aged 65 years or over from the following three French cities: Bordeaux ($n = 2104$), Dijon ($n = 4931$) and Montpellier ($n = 2259$) [18]. The 3C protocol was approved by the Consultative Committee for the protection of persons participating in biomedical

research at Kremlin-Bicêtre University hospital in France and all participants provided written informed consent. At baseline, face-to-face interviews were conducted to collect socio-demographic data, lifestyle and health parameters. In addition, anthropometric and blood pressure measurements were performed, as well as fasting blood sampling for the constitution of a biobank. The number of medications regularly consumed by participants was recorded. Follow-up visits were conducted at home every two to three years. At baseline and at each follow-up visit, a battery of cognitive tests was performed by a certified and experienced neuropsychologist [18].

In Bordeaux, a nutritional survey was performed by a trained dietitian during a home interview conducted at the first follow-up in 2001–2002, including a food frequency questionnaire and a 24 h recall [19,20].

2.2. Nested Case–Control Samples

We worked with two different study centers (in Bordeaux and Dijon cities, France) to define separate samples (for discovery and validation stages, respectively) of a nested case–control study on serum metabolome and cognitive decline. Eligible participants showed no signs of dementia at baseline, had available serum samples in the biobank and had undergone at least one repeated cognitive evaluation over the subsequent twelve years of follow-up [21]. The averages of Z-scores of five neuropsychological tests (Mini-Mental State Examination [22], Benton Visual Retention Test [23], Isaacs’s Set Test [24], Trail-Making Test part A [25] and Trail-Making Test part B [25]) were used to define a composite score of global cognition. Individual slopes of cognitive change in the cognitive composite were computed using linear mixed models. Cases were defined as the participants with the worst slopes of cognitive change, and each case was matched to a control (i.e., a participant with a slope of cognitive change better than the population median) based on age (± 3 years), sex and educational level (lower or higher than secondary school). In total, 209 cases in Bordeaux were successfully matched to a control, leading to a discovery sample of 418 participants. Similarly, in Dijon, 212 cases were successfully matched to a control, amongst whom 2 had no metabolomics measurement available and were excluded, leading to a validation sample of 420 participants.

2.3. Metabolomics Analysis of Serum Samples

Targeted metabolomics was conducted using a quantitative multi-metabolite platform for the simultaneous detection and quantification of 206 food-related metabolites, gut microbiota derivatives and endogenous metabolites (Supplementary Table S1) [26].

Serum samples were first subjected to protein precipitation with methanol containing 0.1% formic acid, followed by acetonitrile extraction, as previously described [21]. Supernatants were transferred to 96-well injection plates after addition of a set of internal standards. Analyses were carried out by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS), using the operating conditions described elsewhere [26]. Calibration curves were prepared at 10 concentration levels in the range 0.01–1000 $\mu\text{g/L}$.

The concentration of metabolites known to be influenced by pre-analytical factors (e.g., improper handling/storage of blood samples) was checked for the absence of abnormal values ($\pm 3 \times \text{IQR}$). The coefficients of variation for peak areas, retention times and peak widths of the internal standards were computed to evaluate the reproducibility. We assumed missing values to be mostly due to concentrations under the limit of quantification. To reduce the influence of missing values in the analysis, we studied only metabolites with $\geq 50\%$ non-missing values in either the cases or the controls. The remaining missing values were imputed to zero.

In this study, we focused on 72 out of the 206 metabolites of the targeted metabolomics platform that are known to be produced or influenced by the gut microbiota, including aromatic amino acids and derivatives, biogenic quaternary amines, secondary bile acids,

B-group vitamins, SCFA and metabolites derived from the gut biotransformation of dietary polyphenols (Supplementary Table S2).

2.4. Other Variables

Covariates were considered at the time of blood drawn at the baseline. They included smoking (in pack-years), alcohol consumption (in grams per day), body mass index (BMI, computed as weight/height² (kg/m)), hypercholesterolemia (fasting blood cholesterol ≥ 6.2 mmol/L and/or taking lipid-lowering medication), diabetes (defined as fasting glycemia ≥ 7 mmol/L and/or taking diabetes medication) and hypertension (blood pressure $\geq 140/90$ and/or antihypertensive treatment).

2.5. Statistical Analyses

In the primary analysis dedicated to metabolite discovery, associations between the concentration (normalized) of each metabolite and the odds of cognitive decline were investigated using logistic regressions conditioned for matching variables (defined as the strongest risk factors for cognitive decline in older persons, i.e., age, sex and educational level), with correction for multiple testing based on the Benjamini–Hochberg false discovery rate (FDR) [27]. Since the use of an independent validation stage lowers the risk for false positives, we allowed for the discovery stage a permissive FDR-adjusted threshold of $\text{FDR} < 0.15$ for selection in subsequent validation. Selected metabolites (with $p < 0.15$ in the discovery stage) were tested for replication, using conditional logistic regressions. The statistical threshold for the validation stage was set at $\alpha = 0.05$. In all logistic regression models, the log-linearity hypothesis was tested, and the metabolites that were not log-linearly associated with the odds of cognitive decline were transformed by the highest performing polynomials [28].

A secondary set of analyses was conducted on the metabolites identified and validated in the primary stage, considering lifestyle and cardio-metabolic conditions that could confound and/or mediate the relation of metabolites to cognitive decline. These secondary analyses were run using the pooled dataset (combining discovery and validation samples). First, a directed acyclic graph (DAG) was drawn; DAGs are visual representations of causal assumptions in epidemiological studies that help determine which adjustment variables should be included in the models. DAG methodology requires the *a priori* establishment of the potential confounders (i.e., variables that are associated with both the exposure(s) and the outcome but are not on the same causal path) and mediators (i.e., variables that are on the causal path between exposure(s) and outcome) of the relation under study. The list of potential confounders and mediators and the DAG were determined based on existing knowledge. Next, a multivariable-adjusted analysis was performed, including adjustment factors as determined by the DAG. Then, formal causal mediation analysis was carried out using counterfactual mediation analysis for matched data, to estimate the natural direct effect (NDE) of the selected metabolites on cognitive decline and their natural indirect effect (NIE) through potential mediators. We adapted the method proposed by Kim et al. [29,30] to several mediators modeled non-concomitantly in conditional logistic regression models (one for each mediator), while adjusting for both potential confounders and other mediators.

Missing data for covariates ($\leq 5\%$ for all variables, in both samples) were imputed by multiple imputations (using chained equations with the fully conditional specification method; $M = 5$ imputations), whenever necessary.

Statistical analyses were performed using SAS version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), R version 4.0.3 (R Foundation, Vienna, Austria) and DAGITTY version 3.0 for DAG construction.

3. Results

Cases and controls from both the discovery and validation samples were approximately 76 years old, on average, with 66% and 63% female participants, respectively, and

71% with an education level above secondary school in both samples (Table 1). Baseline characteristics were generally comparable between the two samples, except for hypertension, which was slightly more prevalent in the validation sample (Dijon). In both samples, diabetes was significantly higher in cases than in controls (13% versus 6%, $p = 0.01$), while the other characteristics did not significantly differ by case–control status ($p > 0.05$).

Table 1. Baseline characteristics of cases of cognitive decline over 12 years and matched controls in the discovery and validation samples.

	Discovery (<i>n</i> = 418)		Validation (<i>n</i> = 420)	
	Cases	Controls	Cases	Controls
Matching variables				
Age (years), mean (SD)	75.9 (4.4)	75.7 (4.2)	76.5 (5.2)	76.1 (4.7)
Women	138 (66)	138 (66)	133 (63)	133 (63)
Level of education above secondary level	149 (71)	149 (71)	150 (71)	150 (71)
Baseline characteristics				
BMI (kg/m ²), mean (SD)	26.8 (4.3)	26.1 (3.6)	25.7 (4.5)	25.0 (3.6)
Alcohol consumption (g per day), mean (SD)	13.0 (14.6)	14.6 (17.2)	12.3 (14.5)	12.4 (12.7)
Smoking (pack-years), mean (SD)	9.1 (19.7)	7.3 (14.6)	8.1 (19.2)	6.0 (12.8)
High blood pressure	164 (78)	159 (76)	176 (84)	174 (83)
Hypercholesterolemia	79 (38)	93 (44)	85 (40)	80 (38)
Diabetes	27 (13) *	12 (6) *	27 (13) *	12 (6) *
Number of medications, mean (SD)	4.9 (2.7) *	4.1 (2.4) *	5.5 (3.0) *	4.0 (2.9) *

Values represent sample sizes (percentage), unless otherwise stated. * Statistically significant difference ($p < 0.05$) between cases and controls, based on paired t-test for quantitative variables and on McNemar test for matched data for qualitative variables.

In the discovery stage, seven food- and gut-microbiota-derived metabolites associated with the odds of cognitive decline were selected (Table 2), including three amino acid derivatives (phenylacetylglutamine, indolelactic acid and kynurenic acid); a TMAO substrate (betaine), a vitamin B (pantothenic acid), a SCFA (propionic acid) and a polyphenol derivative (3',4'-DHPV-S). Among these, only propionic acid was replicated in the validation stage (see distribution in Supplementary Figure S1). For each 1 standard deviation (SD) increase in propionic acid concentration in serum, the odds of cognitive decline increased by 40% in the discovery sample (OR = 1.40, 95% CI 1.11–1.75, FDR-corrected $p = 0.07$) and by 26% in the validation sample (OR = 1.26, 95% CI 1.02–1.55, $p = 0.03$) (Table 2).

For multivariable-adjusted analyses, we considered lifestyle factors (smoking and alcohol consumption) and cardio-metabolic risk factors (BMI, hypertension, hypercholesterolemia and diabetes) as covariates of interest. First, we tested interactions of propionic acid with each of these factors regarding cognitive decline and all were found to be non-statistically significant ($p > 0.15$). Second, as there was suggestive evidence in the literature that cardio-metabolic health could mediate the relation of propionic acid to cognitive decline [31–34], we established a DAG with alcohol consumption and smoking as potential confounders and BMI, hypertension, hypercholesterolemia and diabetes as potential mediators (Supplementary Figure S2). After adjustment for potential confounders (Figure 1, model 1), propionic acid remained significantly associated with cognitive decline (OR = 1.38, 95% CI 1.15–1.64 in the pooled sample). When adjusting subsequently for potential mediators (Figure 1, model 2), the association was attenuated and did not reach significance in the pooled sample (OR = 1.23, 95% CI 0.99–1.52). Adjusting for the number of regularly consumed medications did not modify the results.

Table 2. Associations ¹ between standardized concentrations of food- and gut microbiota-derived metabolites in serum and the odds of subsequent cognitive decline over 12 years in discovery and validation stages.

Metabolite	Discovery (<i>n</i> = 418)			Validation (<i>n</i> = 420)		
	OR ²	95% CI	FDR-Adjusted <i>p</i> Value ³	OR	95% CI	<i>p</i> Value
Phenylalanine	0.93	0.76; 1.14	0.83			
Tyrosine	1.18	0.97; 1.44	0.37			
Tryptophan	1.11	0.92; 1.35	0.70			
Phenyl-lactic acid	1.26	1.02; 1.57	0.26			
<i>p</i> -HPLA	-	-	0.33			
Phenylacetylglutamine	1.34	1.08; 1.66	0.09 *	1.14	0.94; 1.39	0.19
Epinephrine	-	-	0.84			
<i>p</i> -Cresol-G	1.13	0.93; 1.36	0.64			
<i>p</i> -Cresol-S	1.13	0.93; 1.37	0.68			
Indoxyl-S	-	-	0.80			
Serotonin	0.96	0.79; 1.15	0.87			
Indolelactic acid	1.38	1.11; 1.72	0.07*	0.93	0.77; 1.12	0.46
Indoleacetic acid	1.12	0.91; 1.37	0.70			
5-HIAA	-	-	0.84			
Indolepropionic acid	1.00	0.84; 1.20	1.00			
Kynurenine	1.17	0.95; 1.43	0.49			
Kynurenic acid	1.34	1.07; 1.67	0.10 *	1.07	0.88; 1.29	0.49
Xanthurenic acid	1.12	0.92; 1.37	0.68			
Anthranilic acid	0.97	0.80; 1.18	0.94			
Picolinic acid	0.93	0.77; 1.12	0.80			
Ergothioneine	0.98	0.81; 1.18	0.94			
Lactic acid	1.10	0.91; 1.34	0.76			
Choline	1.19	0.97; 1.45	0.37			
TMAO	1.03	0.84; 1.26	0.94			
Betaine	0.73	0.60; 0.88	0.04 *	0.97	0.8; 1.17	0.73
Carnitine	1.07	0.88; 1.31	0.83			
GDCA	1.24	1.01; 1.52	0.26			
Thiamine	-	-	0.92			
Riboflavin	0.87	0.71; 1.07	0.59			
Niacinamide	1.26	1.03; 1.55	0.21			
Pantothenic acid	1.43	1.15; 1.77	0.04 *	1.04	0.86; 1.24	0.70
4-pyridoxic acid	-	-	0.94			
Biotin	1.38	1.03; 1.86	0.26			
Propionic acid	1.40	1.11; 1.75	0.07 *	1.26	1.02; 1.55	0.03
Butyric acid	1.08	0.90; 1.30	0.80			
Valeric acid	0.93	0.76; 1.13	0.80			
2-HBA	1.10	0.87; 1.38	0.80			
3-HBA-S	0.99	0.82; 1.19	0.99			
4-HBA-S	1.06	0.87; 1.29	0.84			
2,6-DHBA	1.06	0.88; 1.29	0.84			
3,4-DHBA	0.95	0.77; 1.16	0.87			
HA	0.82	0.67; 1.02	0.33			
4-HHA	0.95	0.78; 1.16	0.87			
3-HHA	0.98	0.79; 1.20	0.94			
iVA	1.01	0.83; 1.22	0.99			
2-HPAA	1.08	0.89; 1.31	0.80			
4-HPAA-G	1.18	0.94; 1.47	0.50			
3-HPAA-S	1.00	0.82; 1.20	0.99			
3,4-DHPAA-S	1.00	0.82; 1.21	0.99			
FA-S	0.95	0.78; 1.16	0.87			
3-HPPA	0.96	0.78; 1.17	0.89			
HPPA-S	0.91	0.74; 1.13	0.80			

Table 2. Cont.

Metabolite	Discovery (<i>n</i> = 418)			Validation (<i>n</i> = 420)		
	OR ²	95% CI	FDR-Adjusted <i>p</i> Value ³	OR	95% CI	<i>p</i> Value
3,5-DHPPA-S	1.02	0.85; 1.23	0.94			
DHCA-3S	1.03	0.84; 1.25	0.94			
DHFA	1.11	0.91; 1.35	0.76			
DHFA-S	0.89	0.73; 1.08	0.68			
DHiFA-S	1.00	0.83; 1.22	0.99			
3-HPHPA	1.01	0.83; 1.23	0.99			
PYR-S	0.99	0.82; 1.20	0.99			
MePYR-S	0.97	0.80; 1.18	0.94			
CAT-S	-	-	0.80			
4-MeCAT-S	0.84	0.66; 1.05	0.47			
VAN	0.82	0.66; 1.02	0.33			
3',4'-DHPV-S	0.70	0.54; 0.91	0.09 *	1.04	0.86; 1.25	0.69
MHPV-S	0.83	0.68; 1.02	0.33			
UroA-G	0.92	0.75; 1.14	0.80			
UroA-S	0.89	0.71; 1.11	0.71			
UroB-G	1.04	0.86; 1.27	0.89			
UroB-S	1.05	0.86; 1.28	0.87			
DHRSV-S	0.98	0.80; 1.19	0.94			
EL	0.87	0.71; 1.06	0.51			
EL-S	0.83	0.69; 1.01	0.33			

¹ Estimated using conditional logistic regressions (conditioned using matching variables, i.e., age, sex and educational level). ² For 1 SD increase in metabolite concentration, when used continuously (standardized). Note that in the case of non-log-linear relationships between a metabolite and the odds of cognitive decline, a transformation into fractional polynomials was used to satisfy the model assumptions. The association of the metabolite with the odds of cognitive decline was then estimated with a combination of model parameters. Since results cannot be interpreted based on single fractional polynomial parameters but on the overall polynomial function, for the sake of simplicity, these parameters were not provided (OR missing in table). The *p*-value associated with the log-likelihood ratio test of all parameters of the polynomial function together (i.e., testing the global effect of the metabolite on the odds of cognitive decline) is presented. ³ *p*-value after Benjamini–Hochberg false discovery rate correction. Metabolites with *p*-values ≤ 0.15 highlighted with an asterisk in the discovery stage were selected for the validation stage. Abbreviations: 2,6-DHBA: 2,6-dihydroxybenzoic acid; 2-HBA: 2-hydroxybenzoic acid; 2-HPAA: 2-hydroxyphenylacetic acid; 3,4-DHBA: 3,4-dihydroxybenzoic acid; 3,4-DHPAA-S: 3,4-dihydroxyphenylacetic acid sulfate; 3,5-DHPPA-S: 3-(3,5-dihydroxyphenyl)propionic acid sulfate; 3',4'-DHPV-S: 3',4'-dihydroxyphenyl-γ-valerolactone sulfate; 3-HBA-S: 3-hydroxybenzoic acid sulfate; 3-HHA: 3-hydroxyhippuric acid; 3-HPAA-S: 3-hydroxyphenylacetic acid sulfate; 3-HPHPA: 3-(3-hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionic acid; 3-HPPA: 3-(3-hydroxyphenyl)propionic acid; 4-HBA-S: 4-hydroxybenzoic acid sulfate; 4-HHA: 4-hydroxyhippuric acid; 4-HPAA-G: 4-hydroxyphenylacetic acid glucuronide; 4-MeCAT-S: 4-methylcatechol sulfate; 5-HIAA: 5-hydroxyindole-3-acetic acid; CAT-S: catechol sulfate; CI: confidence interval; DHCA-3S: dihydrocaffeic acid 3-sulfate; DHFA: dihydroferulic acid; DHFA-S: dihydroferulic acid 4-sulfate; DHiFA-S: dihydroisoferyl acid 3-sulfate; DHRSV-S: dihydroresveratrol sulfate; EL: enterolactone; EL-S: enterolactone sulfate; FA-4S: ferulic acid 4-sulfate; GDCA: glycodeoxycholic acid; HA: hippuric acid; HPPA-S: hydroxyphenylpropionic acid sulfate; IAA: indole-3-acetic acid; IPA: indole-3-propionic acid; iVA: isovanillic acid; MePYR-S: methylpyrogallol sulfate; MHPV-S: 4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl-γ-valerolactone sulfate; OR: odds ratio; p-cresol-G: p-cresol glucuronide; p-cresol-S: p-cresol sulfate; p-HPLA: p-hydroxyphenyl-lactic acid; PYR-S: pyrogallol sulfate; TMAO: trimethylamine N-oxide; UroA-G: urolithin A glucuronide; UroA-S: urolithin A sulfate; UroB-G: urolithin B glucuronide; UroB-S: urolithin B sulfate; VAN: vanillin.

When we further deconstructed the effect of propionic acid on cognitive decline with mediation analyses (Supplementary Figure S3), the direct effect (NDE) of propionic acid (coded as >75th versus <25th percentiles) on the odds of cognitive decline was 1.75 (95% CI 1.01, 3.09). The indirect effect (NIE) operating through hypercholesterolemia was statistically significant (1.33 95% CI (1.05, 1.94)) and the one operating through diabetes was borderline non-significant (1.17 (0.99, 1.52)). The percentage of mediation (NIE/total effect) from hypercholesterolemia was 34% and from diabetes, it was 21%. The mediating effects of BMI (defined as ≥ versus < 30 kg/m²) and of hypertension were not statistically significant (OR for NIE through BMI = 1.06 (0.87, 1.36) and OR for NIE through hypertension = 1.69 (0.92, 3.47)).

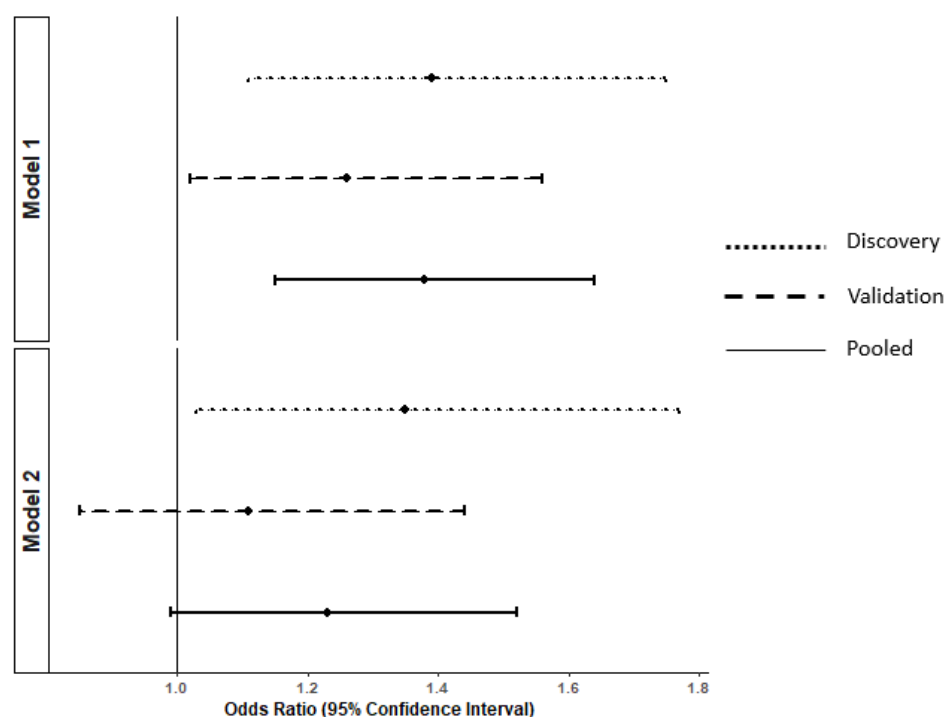


Figure 1. Multivariable-adjusted associations ¹ between standardized concentration of propionic acid in serum and the odds of subsequent cognitive decline over 12 years in the discovery ($n = 418$), validation ($n = 420$) and pooled samples ($n = 838$). ¹ Estimated using conditional logistic regressions (conditioned using matching variables, i.e., age, sex and educational level). Model 1: adjusted for potential confounders (alcohol consumption and smoking). Model 2: adjusted for confounders (alcohol consumption and smoking) and potential mediators (body mass index, hypertension, hypercholesterolemia, and diabetes).

Fasting blood glucose levels were strongly correlated with the concentration of propionic acid (Pearson's correlation = 0.79, $p < 0.001$ in the pooled sample) and when using blood glucose instead of diabetes in mediation analyses (defined as $\geq$ versus $<$ median value (4.9 mmol/L)), mediation by glycemia was statistically significant (OR for NDE of high versus low propionic acid = 2.26 (1.36, 4.32) and OR for NIE through blood glucose = 2.03 (1.24, 3.86)).

4. Discussion

We adopted a novel epidemiological approach to the gut–brain axis through evaluation of a large panel of circulating post-biotics in relation to subsequent long-term cognitive decline, in a population-based cohort. Among the 72 metabolites determined using a multi-metabolite UHPLC-MS/MS analysis, 7 were associated with the odds of cognitive decline in the discovery stage, including 3 amino acid derivatives (phenylacetylglutamine, indolelactic acid and kynurenic acid); a TMAO substrate (betaine), a B vitamin (pantothenic acid), a SCFA (propionic acid) and a polyphenol derivative (3',4'-DHPV-S). Among these, only propionic acid was significantly associated with cognitive decline in the validation stage. Finding a consistent association between propionic acid and cognitive decline in two samples of different geographic origin (south-west and north-east of France for discovery and validation, respectively), exposed to different environments, neutralizes some potentially unmeasured confounders, and supports the robustness of our results. Overall, for each increase of 1-SD of propionic acid in serum (i.e., approximately 20 $\mu\text{g/L}$), the odds of cognitive decline increased by 26% and 40% in the validation and discovery samples, respectively. Additionally, in secondary exploratory mediation analyses, we found a potentially mediating role of cardiometabolic conditions, specifically hypercholesterolemia and fasting glycemia (diabetes with borderline significance).

Propionic acid is a SCFA produced by *Bacteroidetes* and *Firmicutes* spp. via colonic fermentation of dietary fibers and undigested polysaccharides, which are found in high concentrations in prebiotic foods (e.g., artichokes, leeks, salsify, onions and apples) [35]. It is estimated that in a human being who weighs 85 kg, the gut microbiota produces approximately 29.5 mg/kg/day of propionate via colonic fermentation [36]. In addition to gut fermentation, the two other sources of propionate are the oral microbiome and the intake of processed, packaged foods, such as bread and cheese, where it is incorporated as a preservative (i.e., anti-microbial agent). Hence, in the US, propionic acid has been found in concentrations of 0.1% to 0.4% in foods such as baked goods, dairy and meat products, puddings, gelatins and jams [31,37,38], meaning that most people are exposed to dietary sources of propionate daily. In our study, serum propionic acid was not correlated with intake of dietary fiber ($r = 0.04$, $p = 0.41$ in Bordeaux sample), but was significantly correlated with meat and cheese intake (Pearson's correlation = 0.18 and 0.15; $p = 0.001$ and 0.005, respectively). This may indirectly suggest that the exogenous origin of food preservatives may contribute to circulating propionic acid in our population. Regardless of the source (either synthesized by the microbiota or of exogenous origin from processed food), most of the propionate produced/ingested reaches blood circulation [39]; 90% is metabolized by the liver [40,41] and part of the remaining fraction crosses the blood–brain barrier through the GRP41 transporter [42]. However, human data on SCFA bioavailability, including propionic acid, are very limited due to the volatile nature of these metabolites [43,44].

Propionic acid exerts many physiological functions, including its role in the promotion of enteric smooth muscle contractions and in immune function [45,46]. It also plays a role in glucose and energy metabolism, serving as a substrate for gluconeogenesis (via the succinate pathway) [31,47]. However, the effect of propionic acid on brain health and aging is still poorly understood. Our results provide novel findings that suggest an adverse impact of propionic acid on cognitive aging, in a controversial area. On the one hand, our findings are in contradiction with studies that have found that SCFAs, including propionate, benefit both the integrity of the blood–brain barrier via the GRP41 receptor [13,48] and the maturation and function of brain microglia. SCFAs also exert anti-inflammatory activity, especially in acute neurological conditions (e.g., ischemic stroke) [49]. They decrease pro-inflammatory cytokines both in vitro and in mice studies [14]. The role of SCFAs in neurodegenerative diseases has been controversial, with, for example, some studies suggesting that SCFAs may decrease [44,50,51] and others suggesting that they may promote [52,53] A β aggregation (the primary AD neuropathology), potentially via activation of microglial activity. Our findings are consistent with two small studies that reported increased propionic acid concentrations in saliva and cerebrospinal fluid of AD patients [54,55]. A study also reported a greater amount of *Bacteroides* (the bacteria phylum that produces propionic acid) in the microbiota of AD patients compared to healthy subjects [56].

A novel concept raised by our study is the mediation of the adverse association of propionic acid to cognitive decline by blood glucose, suggesting metabolic disruption as a central pathway in the relation of propionic acid to cognitive aging. Impaired metabolic health (i.e., hyperglycemia and insulin resistance) is an important risk factor for cognitive decline and dementia [57], and in our population, serum propionic acid was strongly correlated with blood glucose. This is consistent with recent preclinical and clinical studies where oral administration of propionic acid had potent hyperglycemic effects (i.e., increased glucose production, insulin secretion and glycogenolysis). For example, in a small randomized controlled trial of 28 healthy volunteers, consuming propionic acid (1500 mg calcium propionate) under various metabolic conditions led to metabolic alterations, suggesting inappropriate activation of the insulin counter-regulatory hormonal network [58]. In addition, although recognized as safe by the US food and drug administration [59], there is recent evidence that exogenous propionic acid (when taken orally) may be a metabolic disruptor [58]. The dietary sources of propionic acid used as a preservative (processed meats, dairy products and sweets) are also components of the Western diet, which is a risk

factor of dementia and cognitive decline [60]. It is, thus, possible that the association found with propionic acid in our study is a surrogate marker of a more general deleterious impact of Western diets on cognitive health. The mediation found not only with diabetes, but also with hypercholesterolemia in our study would favor this hypothesis, as Western diets were reported to induce dyslipidemia and insulin resistance [61,62], which in turn may increase odds of developing cognitive decline.

There are other potential metabolic pathways that link propionic acid to brain health that may deserve further exploration. Of these are ammonia and glutamate, two metabolites with inter-related cerebral metabolism [63], which are both (i) increased in the brain in response to higher propionic acid [43,64] and (ii) altered in AD pathology [65,66]. Hence, higher brain ammonium levels have been reported in AD patients, while glutamate, a major excitatory neurotransmitter, has an established excitotoxicity in AD [65,66]. Thus, propionic acid may have a neurotoxic effect, increasing both ammonium-related cerebral energetic defects and glutamate excitotoxicity. Another metabolite of interest in the pathway from propionic acid to cognitive health is kynurenic acid. It is endogenously produced from tryptophan and inhibits the excessive release of glutamate during excitotoxicity [67]; thus, the protective association of kynurenic acid with cognitive health is expected. Nevertheless, in our discovery stage, kynurenic acid was associated with higher cognitive decline, potentially reflecting a compensatory mechanism against increased glutamate neurotoxicity, although the findings were not replicated. In addition, caution in the interpretation of our correlational findings in terms of central pathways is warranted, as for some of these metabolites, blood measures poorly reflect intracerebral concentrations (e.g., blood glutamate is 100 to 200 times less concentrated in the blood than brain [68]). Therefore, using these blood biomarkers, we were not able to accurately evaluate mediation by these central pathways and we limited our investigation of potential mediation to peripheral metabolism.

Our study has important strengths, including the use of two population-based samples from independent study sites for both discovery and validation; an assessment of a large panel of circulating post-biotics, using a unique multi-metabolite platform with sensitive, cutting-edge metabolomics technology (UHPLC-MS/MS); and a prospective evaluation of cognitive decline over more than a decade. This enabled a broad overview of the metabolic pathways that underlie the gut–brain axis. Moreover, the prospective design ensured that any of the biological changes observed in participants that did not exhibit signs of dementia at the time of blood sampling preceded cognitive deterioration, and thus allowed the identification of early gut–brain axis markers of cognitive aging, while minimizing the risk of reverse causality (which may occur when cognitive changes influence behaviors, such as diet, and related biology, including gut microbiota activity).

Despite many strengths, this study also has some limitations. First, while we tried to minimize the risk of false positives through the use of an external validation stage, the risk of false negatives could not be dismissed completely. Indeed, the sample size was relatively high for a UHPLC-MS/MS study, but could still be insufficient to ensure adequate statistical power to detect differences in the levels of metabolites with low circulating basal values and high inter- and intra-individual variability. Moreover, serum samples were analyzed at the study baseline only; therefore, we could not examine longitudinal changes in the serum metabolome during the course of cognitive decline. Finally, although the metabolite panel was large, it did not cover all metabolites of the gut–brain axis (due to the lack of available standards, or detection limitations by UHPLC-MS/MS technologies). For example, some microbiota-derived metabolites that are potentially related to cognition, such as γ -aminobutyric acid (GABA), ammonium, some phytoestrogens and oligosaccharides, such as lipopolysaccharide (LPS), were not quantified.

5. Conclusions

In conclusion, in this novel exploration of the gut–brain axis, we measured a large panel of post-biotics in a cohort of older persons and found an association between increased circulating propionic acid levels and higher cognitive decline. Propionic acid may be derived from the fermentation of undigested dietary fiber by the gut microbiota, as well as from dietary intake, as it is a common food preservative in processed food such as meat, dairy products and sweets. Moreover, we found preliminary evidence to support the potential mediation by impaired cardio-metabolic health (diabetes and hypercholesterolemia), which deserves further research.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/nu14214688/s1>, Figure S1: Distribution of plasmatic propionic acid concentration in the pooled sample (n = 838); Figure S2: Directed Acyclic Graph to identify potential confounders and mediators in the relation of propionic acid in serum to cognitive decline; Figure S3: Counterfactual mediation analysis for matched data to estimate the mediating effect of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes in the relation of propionic acid in serum to the odds of cognitive decline over 12 years in the pooled sample (n = 838); Table S1: List of the 206 food-related metabolites quantified in serum by the multi-metabolite metabolomics platform (with the 72 candidate food and gut microbiota-derived metabolites emphasized in bold); Table S2: List of the 72 candidate food and gut microbiota-derived metabolites measured in serum, with chemical class, endogenous versus exogenous origin and relation to the gut microbiota (derivative versus substrate).

Author Contributions: Conceptualization, J.N., R.G.-D., S.L.-A., D.Y.L., B.D., C.H., A.D.P., C.d.L., S.R.R., B.A., L.A., P.J.L., A.K., S.T., C.M., M.P., M.U.-S., A.S.-P., C.A.-L. and C.S.; Formal analysis, J.N. and S.L.-A.; Funding acquisition, C.H., L.A., P.J.L., A.K., S.T., C.M., C.A.-L. and C.S.; Investigation, J.N., R.G.-D., S.L.-A., D.Y.L., B.D., C.H., A.D.P., C.d.L., S.R.R., B.A., L.A., P.J.L., A.K., S.T., C.M., M.P., M.U.-S., A.S.-P., C.A.-L. and C.S.; Methodology, R.G.-D., M.P., M.U.-S., A.S.-P. and C.A.-L.; Supervision, C.S.; Writing—original draft, J.N. and C.S.; Writing—review and editing, J.N., R.G.-D., S.L.-A., D.Y.L., B.D., C.H., A.D.P., C.d.L., S.R.R., B.A., L.A., P.J.L., A.K., S.T., C.M., M.P., M.U.-S., A.S.-P., C.A.-L. and C.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The Three-City Study was conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the Institut de Santé Publique, Epidémiologie et Développement of the University of Bordeaux 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, Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Institut de la Longévité, Regional Governments of Aquitaine and Bourgogne, Fondation de France, Ministry of Research-INSERM Programme “Cohortes et collections de données biologiques”, French National Research Agency COGINUT ANR-06-PNRA-005 and ANR 2007LVIE 003, the Fondation Plan Alzheimer (FCS 2009–2012), the Caisse Nationale pour la Solidarité et l'Autonomie (CNSA), and Roche Pharma. The sponsors were not involved in the design of the study or in the data analyses or manuscript elaboration. This work was accomplished as a part of the D-CogPlast project (“Identification of dietary modulators of cognitive ageing and brain plasticity and proof of concept of efficacy for preventing/reversing cognitive decline”), supported by the European Joint Programming Initiative “A Healthy Diet for a Healthy Life” (JPI HDHL, <http://www.healthydietforhealthylife.eu/>) (accessed on 4 November 2022), granted by MINECO (Spain, PCIN-2015-229; PID2019-106285RB), ANR (France, ANR-15-HDHL-0002-05) and the Medical Research Council UK (UK, MR/N030087/1). This work also received funding from the JPI-HDHL ERA-Net Cofund on INteSTinal MICrobiomics (ERA-HDHL INTIMIC, AC19/00096), CIBERFES funded by Instituto de Salud Carlos III and co-funded by the European Regional Development Fund “A way to make Europe”, and the Generalitat de Catalunya’s Agency AGAUR (2017SGR1546). RGD thanks the “Juan de la Cierva” program from MINECO (IJC2019-041867-I) and CAL acknowledges the ICREA Academia Award 2018. Jeanne Neuffer was supported by the grant “SilverBrainFood” within the framework of the “Future Investment Program” (Programme d'Investissements d'Avenir PIA3), “Competitiveness cluster structuring projects” (Projets structurants des pôles de compétitivité, PSPC) operated by BPI France. P.J.L. was supported by the Center for Urban Mental Health, University of Amsterdam, and by Alzheimer Nederland.

Institutional Review Board Statement: The 3C protocol was approved by the Consultative Committee for the protection of persons participating in biomedical research at Kremlin-Bicêtre University hospital in France (IRB approval number 9928, Kremlin Bicêtre, 10 June 1999).

Informed Consent Statement: All participants provided written informed consent.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available upon request from the corresponding author.

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

References

1. Fan, Y.; Pedersen, O. Gut Microbiota in Human Metabolic Health and Disease. *Nat. Rev. Microbiol.* **2021**, *19*, 55–71. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Tengeler, A.C.; Kozicz, T.; Kiliaan, A.J. Relationship between Diet, the Gut Microbiota, and Brain Function. *Nutr. Rev.* **2018**, *76*, 603–617. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Rowland, I.; Gibson, G.; Heinken, A.; Scott, K.; Swann, J.; Thiele, I.; Tuohy, K. Gut Microbiota Functions: Metabolism of Nutrients and Other Food Components. *Eur. J. Nutr.* **2018**, *57*, 1–24. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Cryan, J.F.; O’Riordan, K.J.; Cowan, C.S.M.; Sandhu, K.V.; Bastiaanssen, T.F.S.; Boehme, M.; Codagnone, M.G.; Cusotto, S.; Fulling, C.; Golubeva, A.V.; et al. The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiol. Rev.* **2019**, *99*, 1877–2013. [\[CrossRef\]](#)
5. Xu, R.; Wang, Q. Towards Understanding Brain-Gut-Microbiome Connections in Alzheimer’s Disease. *BMC Syst. Biol.* **2016**, *10*, 63. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Saji, N.; Murotani, K.; Hisada, T.; Kunihiro, T.; Tsuduki, T.; Sugimoto, T.; Kimura, A.; Niida, S.; Toba, K.; Sakurai, T. Relationship between Dementia and Gut Microbiome-Associated Metabolites: A Cross-Sectional Study in Japan. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 8088. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Szablewski, L. Human Gut Microbiota in Health and Alzheimer’s Disease. *JAD* **2018**, *62*, 549–560. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Mancuso, C.; Santangelo, R. Alzheimer’s Disease and Gut Microbiota Modifications: The Long Way between Preclinical Studies and Clinical Evidence. *Pharmacol. Res.* **2018**, *129*, 329–336. [\[CrossRef\]](#)
9. Chouraki, V.; Preis, S.R.; Yang, Q.; Beiser, A.; Li, S.; Larson, M.G.; Weinstein, G.; Wang, T.J.; Gerszten, R.E.; Vasan, R.S.; et al. Association of Amine Biomarkers with Incident Dementia and Alzheimer’s Disease in the Framingham Study. *Alzheimers Dement.* **2017**, *13*, 1327–1336. [\[CrossRef\]](#)
10. Gulaj, E.; Pawlak, K.; Bien, B.; Pawlak, D. Kynurenine and Its Metabolites in Alzheimer’s Disease Patients. *Adv. Med. Sci.* **2010**, *55*, 204–211. [\[CrossRef\]](#)
11. Vogt, N.M.; Romano, K.A.; Darst, B.F.; Engelman, C.D.; Johnson, S.C.; Carlsson, C.M.; Asthana, S.; Blennow, K.; Zetterberg, H.; Bendlin, B.B.; et al. The Gut Microbiota-Derived Metabolite Trimethylamine N-Oxide Is Elevated in Alzheimer’s Disease. *Alz. Res. Ther.* **2018**, *10*, 124. [\[CrossRef\]](#)
12. MahmoudianDehkordi, S.; Arnold, M.; Nho, K.; Ahmad, S.; Jia, W.; Xie, G.; Louie, G.; Kueider-Paisley, A.; Moseley, M.A.; Thompson, J.W.; et al. Altered Bile Acid Profile Associates with Cognitive Impairment in Alzheimer’s Disease—An Emerging Role for Gut Microbiome. *Alzheimers Dement.* **2019**, *15*, 76–92. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Mirzaei, R.; Bouzari, B.; Hosseini-Fard, S.R.; Mazaheri, M.; Ahmadyousefi, Y.; Abdi, M.; Jalalifar, S.; Karimitabar, Z.; Teimoori, A.; Keyvani, H.; et al. Role of Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids in Nervous System Disorders. *Biomed. Pharmacother.* **2021**, *139*, 111661. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Chen, H.; Meng, L.; Shen, L. Multiple Roles of Short-Chain Fatty Acids in Alzheimer Disease. *Nutrition* **2022**, *93*, 111499. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Collino, S.; Martin, F.-P.J.; Rezzi, S. Clinical Metabolomics Paves the Way towards Future Healthcare Strategies: Clinical Metabolomics. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2013**, *75*, 619–629. [\[CrossRef\]](#)
16. Smith, P.A. The Tantalizing Links between Gut Microbes and the Brain. *Nature* **2015**, *526*, 312–314. [\[CrossRef\]](#)
17. Ou, F.-S.; Michiels, S.; Shyr, Y.; Adjei, A.A.; Oberg, A.L. Biomarker Discovery and Validation: Statistical Considerations. *JTO* **2021**, *16*, 537–545. [\[CrossRef\]](#)
18. Antoniaki, M.; Pugliatti, M.; Hubbard, R.; Britton, J.; Sotgiu, S.; Sadovnick, A.D.; Yee, I.M.; Cumsille, M.A.; Bevilacqua, J.A.; Burdett, S.; et al. Vascular Factors and Risk of Dementia: Design of the Three-City Study and Baseline Characteristics of the Study Population. *Neuroepidemiology* **2003**, *22*, 316–325. [\[CrossRef\]](#)
19. Féart, C. Adherence to a Mediterranean Diet, Cognitive Decline, and Risk of Dementia. *JAMA* **2009**, *302*, 638. [\[CrossRef\]](#)
20. Féart, C.; Jutand, M.A.; Larrieu, S.; Letenneur, L.; Delcourt, C.; Combe, N.; Barberger-Gateau, P. Energy, Macronutrient and Fatty Acid Intake of French Elderly Community Dwellers and Association with Socio-Demographic Characteristics: Data from the Bordeaux Sample of the Three-City Study. *Br. J. Nutr.* **2007**, *98*, 1046–1057. [\[CrossRef\]](#)
21. Low, D.Y.; Lefèvre-Arbogast, S.; González-Domínguez, R.; Urpi-Sarda, M.; Micheau, P.; Petera, M.; Centeno, D.; Durand, S.; Pujos-Guillot, E.; Korosi, A.; et al. Diet-Related Metabolites Associated with Cognitive Decline Revealed by Untargeted Metabolomics in a Prospective Cohort. *Mol. Nutr. Food Res.* **2019**, *63*, 1900177. [\[CrossRef\]](#)

22. Folstein, M.F.; Folstein, S.E.; McHugh, P.R. “Mini-Mental State”. A Practical Method for Grading the Cognitive State of Patients for the Clinician. *J. Psychiatr. Res.* **1975**, *12*, 189–198. [[CrossRef](#)]
23. Benton, A.L. *Manuel du Test de Rétention Visuelle: Applications Cliniques et Expérimentales*; Editions du Centre de Psychologie Appliquée; Centre de Psychologie Appliquée: Paris, France, 1953.
24. Isaacs, B.; Kennie, A.T. The Set Test as an Aid to the Detection of Dementia in Old People. *Br. J. Psychiatry* **1973**, *123*, 467–470. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Reitan, R.M. Validity of the Trail Making Test as an Indicator of Organic Brain Damage. *Percept. Mot. Ski.* **1958**, *8*, 271–276. [[CrossRef](#)]
26. González-Domínguez, R.; Jáuregui, O.; Queipo-Ortuño, M.I.; Andrés-Lacueva, C. Characterization of the Human Exposome by a Comprehensive and Quantitative Large-Scale Multianalyte Metabolomics Platform. *Anal. Chem.* **2020**, *92*, 13767–13775. [[CrossRef](#)]
27. Jafari, M.; Ansari-Pour, N. Why, When and How to Adjust Your p Values? *Cell J.* **2018**, *20*, 604–607. [[CrossRef](#)]
28. Royston, P.; Ambler, G.; Sauerbrei, W. The Use of Fractional Polynomials to Model Continuous Risk Variables in Epidemiology. *Int. J. Epidemiol.* **1999**, *28*, 964–974. [[CrossRef](#)]
29. Kim, Y.M.; Cologne, J.B.; Jang, E.; Lange, T.; Tatsukawa, Y.; Ohishi, W.; Utada, M.; Cullings, H.M. Causal Mediation Analysis in Nested Case-control Studies Using Conditional Logistic Regression. *Biom. J.* **2020**, *62*, 1939–1959. [[CrossRef](#)]
30. VanderWeele, T.J. Mediation Analysis: A Practitioner’s Guide. *Annu. Rev. Public Health* **2016**, *37*, 17–32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Tirosh, A.; Calay, E.S.; Tuncman, G.; Claiborn, K.C.; Inouye, K.E.; Eguchi, K.; Alcala, M.; Rathaus, M.; Hollander, K.S.; Ron, I.; et al. The Short-Chain Fatty Acid Propionate Increases Glucagon and FABP4 Production, Impairing Insulin Action in Mice and Humans. *Sci. Transl. Med.* **2019**, *11*, eaav0120. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Wu, Y.; Xu, H.; Tu, X.; Gao, Z. The Role of Short-Chain Fatty Acids of Gut Microbiota Origin in Hypertension. *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 730809. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Demigné, C.; Morand, C.; Levrat, M.-A.; Besson, C.; Moundras, C.; Rémésy, C. Effect of Propionate on Fatty Acid and Cholesterol Synthesis and on Acetate Metabolism in Isolated Rat Hepatocytes. *Br. J. Nutr.* **1995**, *74*, 209–219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Takeda, S.; Rakugi, H.; Morishita, R. Roles of Vascular Risk Factors in the Pathogenesis of Dementia. *Hypertens. Res.* **2020**, *43*, 162–167. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Reichardt, N.; Duncan, S.H.; Young, P.; Belenguer, A.; McWilliam Leitch, C.; Scott, K.P.; Flint, H.J.; Louis, P. Phylogenetic Distribution of Three Pathways for Propionate Production within the Human Gut Microbiota. *ISME J.* **2014**, *8*, 1323–1335. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Morrison, D.J.; Preston, T. Formation of Short Chain Fatty Acids by the Gut Microbiota and Their Impact on Human Metabolism. *Gut Microbes* **2016**, *7*, 189–200. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Mani-López, E.; García, H.S.; López-Malo, A. Organic Acids as Antimicrobials to Control Salmonella in Meat and Poultry Products. *Food Res. Int.* **2012**, *45*, 713–721. [[CrossRef](#)]
38. Reis, J.A.; Paula, A.T.; Casarotti, S.N.; Penna, A.L.B. Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Eng. Rev.* **2012**, *4*, 124–140. [[CrossRef](#)]
39. Schönfeld, P.; Wojtczak, L. Short- and Medium-Chain Fatty Acids in Energy Metabolism: The Cellular Perspective. *J. Lipid Res.* **2016**, *57*, 943–954. [[CrossRef](#)]
40. Chambers, E.S.; Byrne, C.S.; Aspey, K.; Chen, Y.; Khan, S.; Morrison, D.J.; Frost, G. Acute Oral Sodium Propionate Supplementation Raises Resting Energy Expenditure and Lipid Oxidation in Fasted Humans. *Diabetes Obes. Metab.* **2018**, *20*, 1034–1039. [[CrossRef](#)]
41. Topping, D.L.; Clifton, P.M. Short-Chain Fatty Acids and Human Colonic Function: Roles of Resistant Starch and Nonstarch Polysaccharides. *Physiol. Rev.* **2001**, *81*, 1031–1064. [[CrossRef](#)]
42. Silva, Y.P.; Bernardi, A.; Frozza, R.L. The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Front. Endocrinol.* **2020**, *11*, 25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Killingsworth, J.; Sawmiller, D.; Shytle, R.D. Propionate and Alzheimer’s Disease. *Front. Aging Neurosci.* **2021**, *12*, 580001. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Ticinesi, A.; Nouvenne, A.; Tana, C.; Prati, B.; Meschi, T. Gut Microbiota and Microbiota-Related Metabolites as Possible Biomarkers of Cognitive Aging. In *Reviews on Biomarker Studies in Aging and Anti-Aging Research*; Advances in Experimental Medicine and Biology; Guest, P.C., Ed.; Springer International Publishing: Cham, Denmark, 2019; Volume 1178, pp. 129–154. ISBN 978-3-030-25649-4.
45. Mitsui, R.; Ono, S.; Karaki, S.; Kuwahara, A. Propionate Modulates Spontaneous Contractions via Enteric Nerves and Prostaglandin Release in the Rat Distal Colon. *JJP* **2005**, *55*, 331–338. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Sunkara, L.T.; Jiang, W.; Zhang, G. Modulation of Antimicrobial Host Defense Peptide Gene Expression by Free Fatty Acids. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e49558. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Ringer, A.I. The Chemistry of Gluconeogenesis. *J. Biol. Chem.* **1912**, *12*, 511–515. [[CrossRef](#)]
48. Hoyles, L.; Snelling, T.; Umlai, U.-K.; Nicholson, J.K.; Carding, S.R.; Glen, R.C.; McArthur, S. Microbiome–Host Systems Interactions: Protective Effects of Propionate upon the Blood–Brain Barrier. *Microbiome* **2018**, *6*, 55. [[CrossRef](#)]
49. Sadler, R.; Cramer, J.V.; Heindl, S.; Kostidis, S.; Betz, D.; Zurbier, K.R.; Northoff, B.H.; Heijink, M.; Goldberg, M.P.; Plautz, E.J.; et al. Short-Chain Fatty Acids Improve Poststroke Recovery via Immunological Mechanisms. *J. Neurosci.* **2020**, *40*, 1162–1173. [[CrossRef](#)]

50. Erny, D.; Hrabě de Angelis, A.L.; Jaitin, D.; Wieghofer, P.; Staszewski, O.; David, E.; Keren-Shaul, H.; Muhlakoiv, T.; Jakobshagen, K.; Buch, T.; et al. Host Microbiota Constantly Control Maturation and Function of Microglia in the CNS. *Nat. Neurosci.* **2015**, *18*, 965–977. [\[CrossRef\]](#)
51. Ho, L.; Ono, K.; Tsuji, M.; Mazzola, P.; Singh, R.; Pasinetti, G.M. Protective Roles of Intestinal Microbiota Derived Short Chain Fatty Acids in Alzheimer's Disease-Type Beta-Amyloid Neuropathological Mechanisms. *Expert. Rev. Neurother.* **2018**, *18*, 83–90. [\[CrossRef\]](#)
52. Colombo, A.V.; Sadler, R.K.; Llovera, G.; Singh, V.; Roth, S.; Heindl, S.; Sebastian Monasor, L.; Verhoeven, A.; Peters, F.; Parhizkar, S.; et al. Microbiota-Derived Short Chain Fatty Acids Modulate Microglia and Promote A β Plaque Deposition. *eLife* **2021**, *10*, e59826. [\[CrossRef\]](#)
53. Marizzoni, M.; Cattaneo, A.; Mirabelli, P.; Festari, C.; Lopizzo, N.; Nicolosi, V.; Mombelli, E.; Mazzelli, M.; Luongo, D.; Naviglio, D.; et al. Short-Chain Fatty Acids and Lipopolysaccharide as Mediators Between Gut Dysbiosis and Amyloid Pathology in Alzheimer's Disease. *JAD* **2020**, *78*, 683–697. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
54. Yilmaz, A.; Geddes, T.; Han, B.; Bahado-Singh, R.O.; Wilson, G.D.; Imam, K.; Maddens, M.; Graham, S.F. Diagnostic Biomarkers of Alzheimer's Disease as Identified in Saliva Using 1H NMR-Based Metabolomics. *JAD* **2017**, *58*, 355–359. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
55. Figueira, J.; Jonsson, P.; Nordin Adolfsson, A.; Adolfsson, R.; Nyberg, L.; Öhman, A. NMR Analysis of the Human Saliva Metabolome Distinguishes Dementia Patients from Matched Controls. *Mol. BioSyst.* **2016**, *12*, 2562–2571. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. Vogt, N.M.; Kerby, R.L.; Dill-McFarland, K.A.; Harding, S.J.; Merluzzi, A.P.; Johnson, S.C.; Carlsson, C.M.; Asthana, S.; Zetterberg, H.; Blennow, K.; et al. Gut Microbiome Alterations in Alzheimer's Disease. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 13537. [\[CrossRef\]](#)
57. Watson, G.S.; Craft, S. The Role of Insulin Resistance in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease: Implications for Treatment. *CNS Drugs* **2003**, *17*, 27–45. [\[CrossRef\]](#)
58. Adler, G.K.; Hornik, E.S.; Murray, G.; Bhandari, S.; Yadav, Y.; Heydarpour, M.; Basu, R.; Garg, R.; Tirosh, A. Acute Effects of the Food Preservative Propionic Acid on Glucose Metabolism in Humans. *BMJ Open Diab. Res. Care* **2021**, *9*, e002336. [\[CrossRef\]](#)
59. US Department of Agriculture Propionic Acid. Available online: <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/Prop%20acid%20report.pdf> (accessed on 4 October 2021).
60. Więckowska-Gacek, A.; Mietelska-Porowska, A.; Wydrych, M.; Wojda, U. Western Diet as a Trigger of Alzheimer's Disease: From Metabolic Syndrome and Systemic Inflammation to Neuroinflammation and Neurodegeneration. *Ageing Res. Rev.* **2021**, *70*, 101397. [\[CrossRef\]](#)
61. Zinöcker, M.; Lindseth, I. The Western Diet–Microbiome–Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. *Nutrients* **2018**, *10*, 365. [\[CrossRef\]](#)
62. Spagnuolo, M.S.; Pallottini, V.; Mazzoli, A.; Iannotta, L.; Tonini, C.; Morone, B.; Ståhlman, M.; Crescenzo, R.; Strazzullo, M.; Iossa, S.; et al. A Short-Term Western Diet Impairs Cholesterol Homeostasis and Key Players of Beta Amyloid Metabolism in Brain of Middle Aged Rats. *Mol. Nutr. Food Res.* **2020**, *64*, 2000541. [\[CrossRef\]](#)
63. Hakvoort, T.B.M.; He, Y.; Kulik, W.; Vermeulen, J.L.M.; Duijst, S.; Ruijter, J.M.; Runge, J.H.; Deutz, N.E.P.; Koehler, S.E.; Lamers, W.H. Pivotal Role of Glutamine Synthetase in Ammonia Detoxification. *Hepatology* **2017**, *65*, 281–293. [\[CrossRef\]](#)
64. El-Ansary, A.; Shaker, G.H.; El-Gezeery, A.R.; Al-Ayadhi, L. The Neurotoxic Effect of Clindamycin—Induced Gut Bacterial Imbalance and Orally Administered Propionic Acid on DNA Damage Assessed by the Comet Assay: Protective Potency of Carnosine and Carnitine. *Gut Pathog.* **2013**, *5*, 9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
65. Seiler, N. Ammonia and Alzheimer's Disease. *Neurochem. Int.* **2002**, *41*, 189–207. [\[CrossRef\]](#)
66. Wang, R.; Reddy, P.H. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *JAD* **2017**, *57*, 1041–1048. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
67. Martos, D.; Tuka, B.; Tanaka, M.; Vécsei, L.; Telegdy, G. Memory Enhancement with Kynurenic Acid and Its Mechanisms in Neurotransmission. *Biomedicines* **2022**, *10*, 849. [\[CrossRef\]](#)
68. Hawkins, R.A. The Blood-Brain Barrier and Glutamate. *AJCN* **2009**, *90*, 867S–874S. [\[CrossRef\]](#)

3.2.3. Résultats complémentaires

Les résultats supplémentaires publiés en ligne avec l'article sont présentés en **Annexe 7**. Ces résultats montrent notamment que la relation entre la concentration plasmatique d'acide propionique est partiellement médiée par l'hypercholestérolémie et la glycémie, témoins d'une santé cardiométabolique altérée.

Nous avons proposé dans cette étude une approche par métabolite candidat, dans laquelle les métabolites ont été considérés séparément en lien avec le déclin cognitif. Toutefois, étudier ces métabolites microbiens en combinaison sous la forme de profils pourrait être pertinent, car des familles de métabolites issues des mêmes sources alimentaires/des mêmes voies métaboliques se distinguent. Ainsi une approche de détermination de profils *a posteriori*, non supervisée, a été employée pour étudier l'association entre des profils de métabolites et le déclin cognitif. Des profils généraux, au sein de l'ensemble des métabolites, pourraient être en lien avec le vieillissement cognitif, mais il existe aussi des régulations métaboliques au sein de chaque famille et des profils intra-famille pourraient exister. Ainsi, plusieurs ACP ont été réalisées : une analyse incluant tous les métabolites d'intérêt dans leur ensemble, puis une ACP pour chaque famille de métabolites (les acides aminés et dérivés, le TMAO et ses trois substrats, les vitamines B, les AGCC et les acides phénoliques). Le premier plan factoriel pour chaque famille est présenté en **figure 16**.

Les scores factoriels des deux premières composantes de chaque ACP réalisée ont ensuite été régressés sur le statut de déclin cognitif à l'aide de régressions logistiques conditionnelles, ajustées sur le tabagisme, la consommation d'alcool, l'IMC, l'hypertension, l'hypercholestérolémie et le diabète, dans l'échantillon de découverte dans un premier temps. Les p-valeurs ont été corrigées pour tests multiples à l'aide de la méthode *False Discovery Rate* (FDR) de Benjamini-hochberg. Les scores factoriels associés au déclin cognitif avec une p-valeur corrigée <0.10 dans l'échantillon de découverte ont été sélectionnés pour réplification dans l'échantillon de validation. Les résultats de l'étude d'association sont présentés dans le **tableau 7**, et les distributions des scores factoriels dans **les annexes 8 et 9**.

Le score factoriel issu de la deuxième composante de l'ACP réalisée avec l'ensemble des métabolites (sans distinction de familles) était associé à une moindre cote de déclin cognitif (OR=0.87, 95% IC = 0.78-0.96, pour l'augmentation d'un point de score

factoriel). Ce score factoriel était surtout expliqué par des concentrations plus élevées en acides phénoliques (ac. 3-(3-hydroxyphenyl)propionique [3-HPPA], ac. 3-(3-hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionique [3-HPHPA], ac. 3-hydroxyhippuric [3-HPA], ac. hydroxyphenylpropionique sulfate [HPPA-S]), et de faibles concentrations de dérivés d'acides aminés de la voie kynurénique (kynurénine et ac. kynurénique), indolique (ac. indolelactique) et également issus de la métabolisation de la phénylalanine (phénylacétylglutamine). Ce profil pourrait témoigner d'un potentiel effet protecteur des acides phénoliques, dérivés des polyphénols, en combinaison d'une moindre métabolisation du tryptophane via les voies indoliques et kynuréniques. Il est à noter que les dérivés d'acide aminés (phénylacétylglutamine, acide indole-lactique et acide kynurénique) ont été associés de manière individuelle à une plus grande cote de déclin cognitif dans l'analyse par métabolite candidat, mais ce profil rajoute l'implication des acides phénoliques, inversement corrélés à ces dérivés d'acides aminés. Ceci est en accord avec les travaux du premier axe de la thèse, où 3 acides phénoliques ont été sélectionnés dans la signature métabolomique du profil alimentaire neuroprotecteur MIND.

En ce qui concerne les ACP réalisées dans chaque famille de métabolite, trois scores factoriels ont été associés de manière significative au déclin cognitif. Dans la famille des acides aminés et dérivés, le score factoriel issu de la première composante principale, représenté par de fortes concentrations de kynurénine, d'ac. p-hydroxyphenyllactique et de p-crésol sulfate, était significativement associé à une augmentation de 13% de la cote de déclin cognitif pour l'augmentation d'un point (95% IC : 1.02-1.26), de la même façon que dans l'approche métabolite-candidat, mais suggérant une action non-antagoniste de ces métabolites. Aussi, l'augmentation d'un point du score factoriel issu de la première composante de l'ACP réalisée pour le TMAO et ses substrats, représenté par de fortes concentrations de bétaine mais de faibles concentrations de TMAO, témoignant sans doute d'une moindre production de TMAO à partir de la bétaine par le microbiote puis le foie, était associée à une baisse de 20% de la cote de déclin cognitif (95% IC : 1.66-0.97). Enfin, le score factoriel issu de la première composante dans la famille des vitamines B (représenté par de fortes concentrations d'ac. Pantothénique [B5] et de niacinamide [B3]) était associé à une moindre cote de déclin cognitif (OR=1.34, 95% IC = 1.11-1.61). Ces résultats suggèrent que dans plusieurs familles de métabolites, la combinaison de métabolites, sous-

tendues par certaines voies de régulation, sont impliquées dans le vieillissement cognitif et montre l'intérêt de l'étude des composés nutritionnels en combinaison.

Cependant, dans l'échantillon de validation, aucune de ces associations n'a été répliquée (**Tableau 13**).

Tableau 7 : Association entre les scores factoriels issus des ACP réalisées sur tous les métabolites et par famille de métabolites, dans les deux échantillons cas-témoins nichés au sein de la cohorte 3C, n=418 et n=420

	Découverte (n=418)			Validation (n=420)		
	OR*	95% IC	p FDR	OR*	95% IC	p
Tous les métabolites						
Composante 1	1.06	(0.98-1.15)	0.32			
Composante 2	0.87	(0.78-0.96)	0.03	0.97	(0.93-1.02)	0.25
Par famille de métabolites						
AA & dérivés, composante 1	1.13	(1.02-1.26)	0.07	1.01	(0.97-1.05)	0.71
AA & dérivés, composante 2	0.92	(0.81-1.05)	0.46			
TMAO et substrats, composante 1	1.00	(0.83-1.21)	0.96			
TMAO et substrats, composante 2	0.80	(0.66-0.97)	0.08	1.12	(0.90-1.39)	0.32
Vitamines B, composante 1	1.34	(1.11-1.61)	0.03	1.03	(0.91-1.16)	0.62
Vitamines B, composante 2	0.94	(0.78-1.13)	0.59			
AGCC, composante 1	1.09	(0.91-1.32)	0.53			
AGCC, composante 2	0.98	(0.80-1.20)	0.91			
Acides phénoliques, composante 1	0.96	(0.87-1.05)	0.53			
Acides phénoliques, composante 2	1.04	(0.94-1.17)	0.58			

*OR pour l'augmentation d'un point du score factoriel, ajusté sur le tabagisme, la consommation d'alcool, l'IMC, l'hypertension, l'hypercholestérolémie et le diabète

Ont été répliqués dans l'échantillon de validation les scores factoriels associés au statut de déclin cognitif avec p FDR<0.10 dans l'échantillon de découverte

Abréviations : AA : Acides Aminés, AGCC : Acides Gras à Chaîne Courte, IC : intervalle de confiance, FDR : False Discovery Rate, OR : Odds Ratio

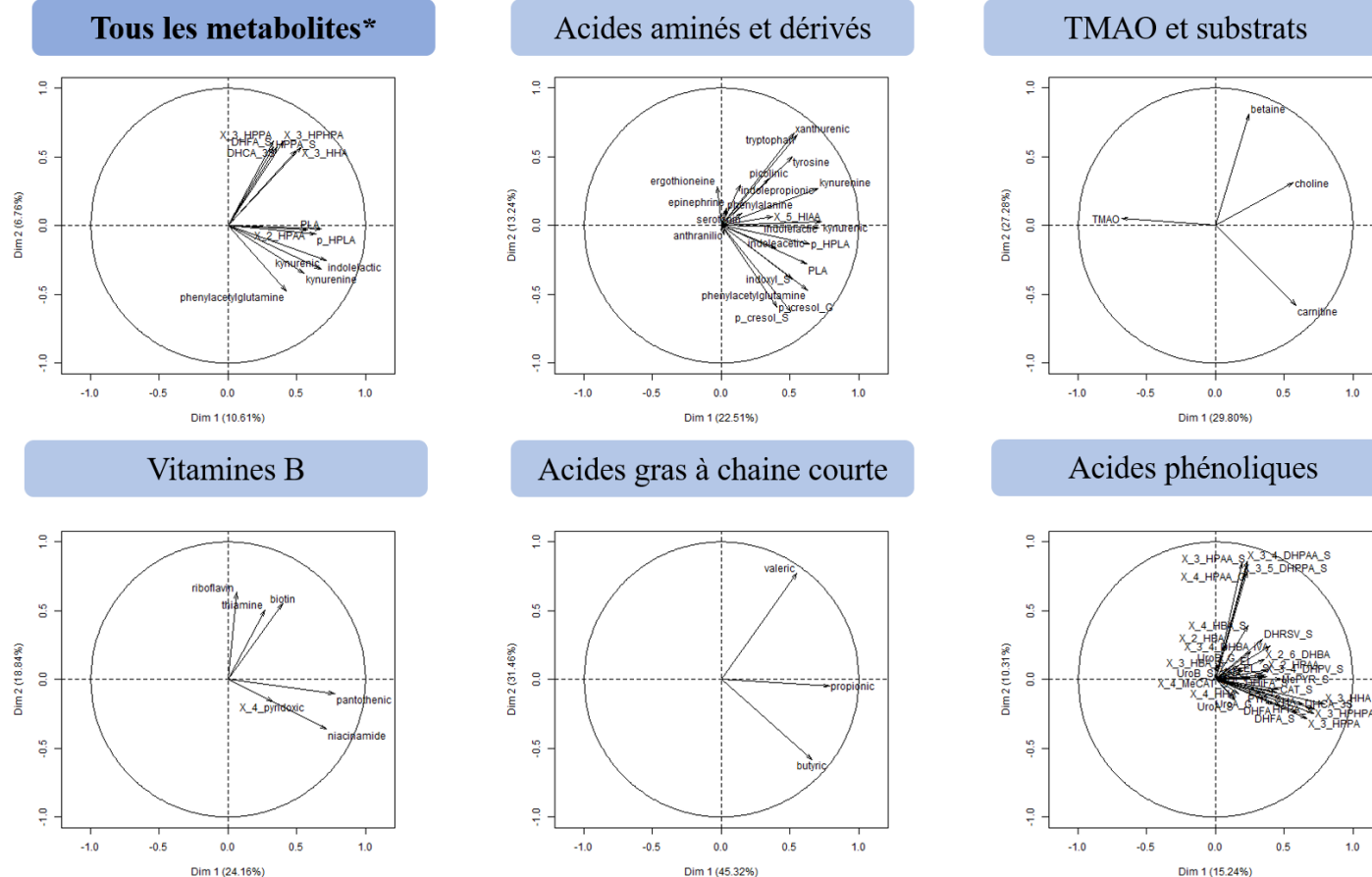


Figure 16 : Premier plan factoriel issu de l'analyse en composantes principales de tous les métabolites puis de chaque famille de métabolites (en abscisse la première composante principale ; en ordonnée : la deuxième composante principale ; entre parenthèses le pourcentage de variance expliquée par chaque dimension), échantillon de découverte, centre Bordelais de 3C, n=418

*Par souci de lisibilité, ne sont représentés dans ce plan factoriel que les métabolites dont les coefficients factoriels sont supérieurs à 0.3. Les noms abrégés des métabolites sont donnés en **Annexe 2**.

3.2.4. Discussion du deuxième axe sur l'identification de nouvelles cibles préventives par la métabolomique de l'axe intestin-cerveau

Dans cette deuxième partie, nous avons mis à profit les données métabolomiques de l'échantillon cas-témoin niché dans la cohorte 3C pour estimer l'association entre des produits post-biotiques et le déclin cognitif, dans deux échantillons indépendants. Parmi les 72 métabolites étudiés, seul l'acide propionique était associé de manière significative avec le déclin cognitif dans les deux échantillons : pour chaque augmentation d'un écart-type de cette molécule, la cote de déclin cognitif augmentait en moyenne de 40% (95% IC 1.11-1.75) dans l'échantillon de découverte, et de 26% (95% IC 1.02-1.65) dans l'échantillon de validation. Cette association était partiellement médiée par des facteurs cardiométaboliques tels que l'hypercholestérolémie et le diabète. L'acide propionique est un acide gras à chaîne courte, transformé par le microbiote à partir des fibres alimentaires, mais il est aussi retrouvé de façon naturelle dans le fromage et est utilisé comme conservateur alimentaire dans les aliments transformés, tels que les sucreries et les produits carnés. Il semblerait que dans notre population, l'acide propionique circulant provienne directement de l'alimentation, notamment de la consommation de fromages et de produits transformés, plutôt que de la métabolisation des fibres par le microbiote, car sa concentration était significativement corrélée avec la consommation de fromage et de viandes mais pas avec la consommation d'aliments sources de fibres (fruits, légumes, et céréales complètes). Ainsi, il est possible que la relation dans le sens délétère entre ce métabolite et déclin cognitif témoigne davantage d'une mauvaise alimentation (type diète occidentale ou « Western diet ») et/ou d'une dérégulation du métabolisme via les taux de cholestérol et de glycémie plus élevés (des facteurs de risque majeurs de la démence et du déclin cognitif associé (330,348)), que de l'action du microbiote intestinal et de son rôle dans la digestion. Le sens de la relation entre l'acide propionique et le déclin cognitif est assez controversé dans la littérature, la relation entre acides gras à chaîne courte et vieillissement cérébral tendant plutôt vers une relation protectrice qu'une relation délétère comme retrouvée ici.

Cette étude est la première, à notre connaissance, à montrer dans un grand échantillon une association significative entre les taux circulants d'acide propionique

et un marqueur clinique du vieillissement cérébral accéléré dans une population de personnes âgées, avec un schéma prospectif de surcroît, qui permet de minimiser le risque de causalité inverse. La réplication de ce résultat dans un échantillon externe renforce la plausibilité de cette relation, et d'autres études sont nécessaires pour déterminer de manière plus approfondie le rôle de la santé cardiométabolique dans cette relation.

Dans une analyse complémentaire allant plus loin que l'approche par molécule individuelle et cherchant à identifier des profils de métabolites associés au déclin cognitif, nous avons montré l'association entre un profil composé de concentrations plus élevées en acides phénoliques et plus faibles en dérivés d'acides aminés de la voie kynurénique et indolique, avec une moindre cote de déclin cognitif dans l'échantillon de découverte (celui dans lequel le profil a été développé). Ce résultat est en accord avec l'étude individuelle de ces composés dans la littérature (166,295,513). Cependant dans notre analyse, les acides phénoliques de ce profil étudiés individuellement n'étaient pas associés au déclin cognitif de manière significative, ce qui montre l'intérêt de l'étude par profils prenant en compte la corrélation entre métabolites et intégrant leurs potentiels effets additifs ou antagonistes sur le vieillissement cérébral. Cependant, ce profil n'était pas du tout associé au déclin cognitif dans l'échantillon de validation, rendant difficile la généralisation de ce résultat. Tout comme dans la deuxième étude du premier axe de cette thèse sur la détermination d'une signature métabolomique du régime MIND, il est possible que les différences de profils métabolomique et de caractéristiques entre les deux populations rendent difficile la réplication d'un profil déterminé avec une approche *a posteriori* sur la base des données disponibles dans l'un de ces deux échantillons seulement. La détermination de tels profils doit donc idéalement être faite dans une population de taille importante avec des individus présentant des caractéristiques les plus diverses possibles, qui pourrait être divisée en 2 échantillons indépendants (mais relativement proches du point de vue des caractéristiques) pour la découverte et la validation.

Cette partie témoigne une fois de plus de la complexité de l'exposition alimentaire, caractérisée par des différences intra et inter-individuelles importantes dans la métabolisation des produits nutritionnels. Les études observationnelles en épidémiologie nutritionnelle doivent donc être réalisées sur de grandes populations variées mais aussi être construites avec une richesse de données nutritionnelles et biologiques (métabolomique, biomarqueurs) si l'on souhaite comprendre finement les mécanismes sous-tendant la relation entre nutrition et vieillissement cognitif et aider à la formulation de stratégies de prévention les plus efficaces possibles. Les connaissances sur le métabolome sont encore préliminaires dans le contexte de la démence, et il est essentiel de caractériser des biomarqueurs de l'alimentation qui soient fiables et reproductibles, discriminant au mieux une alimentation saine d'une alimentation délétère. Par ailleurs, le travail mené dans les deux premiers axes de cette thèse met aussi en avant la concomitance de l'exposition nutritionnelle avec d'autres facteurs, cardiométaboliques par exemple, et des facteurs intrinsèques encore inconnus, impliqués dans le développement de la démence et du déclin cognitif associé. Pour le dernier axe de recherche, nous avons donc étendu l'exposition au mode de vie au sens large, afin d'identifier des populations vulnérables dans le but d'étayer l'implémentation d'une prévention de précision dans le vieillissement cognitif.

3.3. Identification de groupes à risque et populations vulnérables avec des polymorphismes génétiques particuliers (article 3)

3.3.1. Introduction

Le développement de la démence dépend pour plus de 40% de facteurs environnementaux, modifiables, comme le mode de vie et les facteurs cardiométaboliques associés (514). Un score combinant les principaux facteurs de risques identifiés dans la littérature, le LIBRA, a été proposé en 2015, sur la base d'un consensus d'experts combiné à une méta-analyse dans l'étude *Maastricht aging cohort study* (434,435). Le LIBRA regroupe des facteurs de mode de vie (alimentation, activité physique, stimulation cognitive, consommation d'alcool, tabagisme), des facteurs cardiométaboliques (antécédents de maladies cardiovasculaires, diabète, hypercholestérolémie, obésité, hypertension), ainsi que d'autres facteurs de santé, comme la dépression et les dysfonctionnements rénaux (434,435). Son association avec un risque accru de développer une démence dans les populations âgées a été démontrée dans plusieurs études (436–439).

La survenue de la démence est aussi en partie expliquée par une part génétique. La présence de l'allèle APOE4 est associée à un risque de démence triplé chez les porteurs d'au moins un allèle (59), et 75 autres variants génétiques ont été mis en évidence comme étant associés à un risque augmenté de développer la MA et de subir un déclin cognitif accéléré dans la dernière GWAS (70).

Les résultats des interventions multi-domaines sont encore assez décevants malgré des preuves concrètes de l'association entre facteurs modifiables et vieillissement cognitifs issues d'études en épidémiologie observationnelle. La recherche de populations vulnérables est importante pour mieux caractériser les individus les plus susceptibles de bénéficier d'une prévention, et des analyses post-hoc de deux essais cliniques multi-domaines montrent que les interventions avaient un effet plus important parmi les porteurs APOE4 par rapport aux non porteurs, bien que cette différence ne soit pas significative (515,516). De la même façon, plusieurs études d'observation suggèrent que la combinaison de facteurs de mode de vie est associée au

risque de démence et au déclin cognitif quelle que soit la susceptibilité génétique, avec une magnitude d'association légèrement plus grande chez les porteurs APOE ou chez les participants ayant un GRS élevé (453,454,456). Cependant, deux études montrent le contraire, avec une interaction significative entre facteurs de mode de vie et facteurs génétiques, la combinaison de facteurs de mode de vie n'était associée au risque de démence, dans ces études, que chez les personnes à moindre susceptibilité génétique (437,452). L'existence ou non d'une interaction entre la susceptibilité génétique et les facteurs de mode de vie doit être plus explorée avant, dans de grandes populations dotées de données permettant de prendre en compte les facteurs de mode de vie dans leur ensemble comme à travers le LIBRA, afin d'estimer si le risque imputable aux facteurs environnementaux est différent selon la susceptibilité génétique des individus. Cela permettra d'étayer l'existence de populations vulnérables, à qui la prévention par une modification du mode de vie et la gestion de facteurs cardiométaboliques pourrait être proposée.

L'objectif de cette étude était d'estimer l'association entre le score LIBRA et le vieillissement cognitif (incidence de la démence et trajectoires de déclin cognitif) dans différents groupes de susceptibilité génétique, et de tester l'interaction entre ce score de mode de vie et les facteurs génétique, au sein d'un grand échantillon de la cohorte 3C.

3.3.2. Article (soumis)

TITLE PAGE

Title:

Association of lifestyle for brain health risk score and genetic susceptibility with incident dementia and cognitive decline

Authors names:

Jeanne Neuffer^a, MPH; Maude Wagner^{a,b}, PhD; Elisa Moreno^a, MPH; Quentin Le Grand^a, PhD; Aniket Mishra^a, PhD; David-Alexandre Trégouët^a, PhD; Karen Leffondre^{a,e}, Prof.; Cécile Proust-Lima^a, PhD; Alexandra Foubert-Samier^c, MD-PhD; Claudine Berr^d, PhD; Christophe Tzourio^a, MD-PhD; Catherine Helmer^{a,e}, MD-PhD; Stéphanie Debette^a, MD-PhD; Cécilia Samieri^a, PhD.

Author affiliations:

^aUniv Bordeaux, INSERM, Bordeaux Population Health Research Center, UMR 1219, 146 rue Léo Saignat, 33000 Bordeaux, France

^bRush Alzheimer's Disease Center, Rush University Medical Center, 1750 W Harrison St, Chicago, IL 60612, USA

^cInstitut des Maladies Neurodégénératives, Bordeaux Univ. Hospital, 146 rue Léo Saignat, 33000 Bordeaux, France

^dUniv Montpellier, INSERM, Institute for Neurosciences of Montpellier [INM]), 80 Av. Augustin Fliche, 34000 Montpellier, France

^eClinical and Epidemiological Research Unit, INSERM CIC1401, 146 rue Léo Saignat, 33000 Bordeaux, France

Corresponding author:

SAMIERI Cécilia, Inserm U1219, ISPED, Univ. Bordeaux, CS 61292, 146 rue Léo-Saignat, F-33076 Bordeaux cedex, France

E-mail: cecilia.samieri@u-bordeaux.fr

ABSTRACT

INTRODUCTION: Evaluating whether genetic susceptibility modifies the impact of lifestyle-related factors on dementia is primordial for prevention.

METHODS: We studied 5,170 participants from a French cohort of older persons free of dementia at baseline and followed for up to 17 years. The lifestyle for brain health risk score (LIBRA) combining twelve modifiable factors was constructed at baseline and was related to both subsequent cognitive decline and dementia incidence, according to genetic susceptibility to dementia (reflected by the APOE ϵ 4 allele and a genetic risk score). **RESULTS:** The LIBRA was associated with higher dementia incidence, with no significant effect modification by genetics (HR for 1 point score=1.09 [95%CI, 1.05; 1.13]) in APOE ϵ 4 non-carriers and =1.15 [1.08; 1.22] in carriers; P=0.15 for interaction). Similar findings were obtained with the genetic risk score and with cognitive decline.

DISCUSSION: This suggests prevention based on management of lifestyle may be efficient whatever the genetic susceptibility to dementia.

INTRODUCTION

As life expectancy increases and the population ages, cognitive aging and dementia, the most frequent form of pathological brain aging, have become a major concern worldwide.

Dementia is a multifactorial syndrome, with sporadic Alzheimer's disease (AD) accounting for two third of cases, resulting from both genetic and environmental risk factors. While a large proportion of the heritable component of sporadic AD is attributed to epsilon alleles of APOE, 75 additional common genetic risk loci were also mapped to sporadic AD in recent Genome-Wide Association Studies (GWAS) [1,2]. On the environmental side, modifiable lifestyle and related risk factors could represent $\geq 40\%$ of the attributable risk of dementia and thus appear at the forefront of prevention [3]. The lifestyle for brain health risk score (LIBRA) uniquely combines and evaluates the additive effect of robust modifiable risk factors for dementia actionable by tailored interventions for primary prevention [4–9]. The LIBRA comprises a weighted score of modifiable components including: unhealthy lifestyle (unhealthy diet, physical inactivity, low engagement in cognitively stimulating activities, null or elevated alcohol consumption, and smoking); poor cardiometabolic health (history of heart disease, diabetes, high cholesterol, obesity and hypertension); renal dysfunction; and depression [4]; with higher scores indicating higher risk for dementia [6–9].

A crucial question for public health and prevention is whether the risk of dementia attributable to genetic susceptibility may be lowered by acting on modifiable risk factors through global prevention programs. This is a key concept of precision prevention, where the right intervention should target the right population (in the right window of opportunity). However, epidemiological findings on gene-by-environment interactions in dementia have been inconsistent so far. In Europe, two studies reported lifestyle factors associated with dementia risk but only among older persons with low [10], or conversely high [11] genetic susceptibility, while UK and US studies reported no interaction effects [12–14]. None of these

prior studies examined a comprehensive combination of modifiable factors as reflected by the LIBRA.

We leveraged a large cohort with deep investigation of genomic and environmental risk factors and up to two decades of in-person follow-up for cognition and dementia, the three-city (3C) study, to investigate the interaction between the LIBRA and genetic susceptibility in relation to dementia risk and cognitive trajectories.

METHODS

Study population

The 3C study is an ongoing prospective cohort initiated in 1999-2000, including 9,294 non-institutionalized community dwellers aged over 65 years from three French cities: Bordeaux (n=2,104), Dijon (n=4,931) and Montpellier (n=2,259) [15]. The 3C protocol was approved by the Consultative committee for the protection of Persons participating in Biomedical Research of the Kremlin-Bicêtre university hospital and Sud-Méditerranée III and all participants provided written informed consent. At baseline, face-to-face interviews were conducted to collect socio-demographic data, lifestyle, and health parameters. Anthropometric and blood pressure measurements were performed, as well as a fasting blood sampling. APOE was genotyped and genome-wide genotyping was ascertained among 6,489 3C participants for the purpose of a GWAS on AD [16].

In-person follow-up visits were conducted every two to three years for 12 years in Dijon, 15 years in Montpellier and 17 years in Bordeaux. The vital status of each participant was searched regularly via death certificates, participant's family and/or physician and hospital records.

Of the 9,294 participants from 3C who had completed the baseline clinical evaluation, we first excluded 1,804 individuals with missing data for at least one of the LIBRA components at

baseline, 1,858 who did not participate in the GWAS and 8 who had no APOE4 sequencing. Among the remaining 5,624 participants, we further excluded 77 individuals who had dementia at baseline and 377 without at least one completed follow-up visit, resulting in an analytical sample of 5,170 participants (**S1 Figure**).

Ascertainment of dementia and cognitive change

Incident dementia cases were actively screened and dementia diagnosis was established based on a three-step procedure [15]. Potential cases of dementia were identified throughout follow-up through performances to the battery of cognitive tests, and the participants suspected to be demented were secondary examined by a neurologist to establish the diagnosis. All potential cases were adjudicated by an independent committee of neurologists, who reviewed all existing information to establish the diagnosis and etiology based on the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition [17] and National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association [18].

To analyze cognitive trajectories, we focused on 5 neuropsychological tests assessed repeatedly from study baseline to the last follow-up visit, that evaluate different cognitive domains: the Mini-Mental State Examination (range of possible values, 0-30 points) [19], for global cognitive functioning; the Benton Visual Retention Test (range of possible values, 0-15 points) [20], for working memory attention; the Isaacs' Set Test (range of sample values, 0-66 points) [21], for verbal fluency; and the Trail Making Tests [22], assessed as the number of correct moves divided by time to perform the test in minutes; Part A (range of sample values, 0-84.6 moves/min) and B (0-49.8 moves/min), for processing speed and executive functions, respectively. More details on the cognitive tests have been described in **S1 Methods**.

Ascertainment of the lifestyle for brain health risk score

We calculated the LIBRA as a weighted sum of twelve lifestyle, cardiometabolic and other health-related components [4,5], all defined at cohort baseline (**Table 1**). We were able to reconstruct all original components [4] except the low unsaturated fat intake component due to unavailable data in our study population. For certain components, we made slight adaptations in the definition criteria; we used study-specific definitions for healthy diet, engagement in regular exercise and cognitively stimulating activities, as defined in our previous works [23,24]; and we included use of medications in addition to biological values or self-report in the definition of diabetes, high cholesterol and high depressive symptoms. The binary components (denoting high vs low, or presence vs absence of the risk factor) were then weighted based on the original scoring system definition (with positive weights assigned to risk factors and negative weights to protective factors) [4] and the LIBRA was computed as the weighted sum score of all the components for each individual.

Genetics of dementia

The genetic susceptibility to dementia was studied using two complementary tools. First, APOE genotyping was performed using the fluorogenic 5'-nuclease assay with TaqMan chemistry [25] and APOE ϵ 4 carriers, defined as individuals having at least one ϵ 4 risk allele (ϵ 2 ϵ 4, ϵ 3 ϵ 4 or ϵ 4 ϵ 4 genotype) were compared to non-carriers (ϵ 2 ϵ 2, ϵ 2 ϵ 3 or ϵ 3 ϵ 3 genotype). Second, we generated a genetic risk score (GRS) for AD by summing the number of independent risk alleles as identified in the latest published GWAS meta-analysis [2], each weighted by the corresponding regression coefficient. This GRS was built from genome-wide genotyping data that were available in 3C participants and that were processed at the Centre National de G notypage in Evry (France) using the Illumina Human610-Quad BeadChip. Genotype data were imputed using the 1000 Genomes Phase 1 Version 3 reference panel

following standard quality control, described in detail in previous publications [26]. To construct the GRS, we considered 68 AD-associated common variants [2] showing high imputation quality in our study (minor allele frequency > 0.01 and imputation score ≥ 0.5) (**S1 Table**).

Statistical analyses

We primarily used the LIBRA and GRS as continuous variables in statistical models (i.e., for interaction tests) and scores were secondarily categorized to allow for stratified analyses.

Incidence of dementia

To estimate Hazard Ratios (HR) of dementia with increasing LIBRA, we used cause-specific Cox models censoring at death. The time to dementia onset was imputed at the mid-point interval between the last visit without dementia and the visit at diagnosis. For participants who died without any dementia diagnosis, the time to dementia onset was censored at the time of death, if death occurred less than three years after the last **follow-up** visit, and at the last visit otherwise. To derive the absolute risk of dementia from the Cox model while accounting for competing risk by death [27], we further specified a cause-specific Cox model for death before dementia. For both dementia and death, Cox models considered the time since entry in the cohort as the timescale and used baseline hazard rates stratified by study center (to account for differences in the ability to meet proportional hazards assumption due to center-specific follow-up duration). Models were adjusted for age at baseline using a spline function [28], sex, educational level, income and genetic ancestry (represented by the four first principal components of population stratification, a common strategy to control for confounding due to subpopulation structure in genomics studies [29]).

To investigate whether the associations between the LIBRA and dementia risk were modified by APOE ϵ 4 or GRS, we examined 2-way interaction terms between the LIBRA (continuous)

and each genetic tool (APOE ϵ 4 or GRS [continuous]) in separate models. Absolute and relative risks of dementia for each increase of 1 point of LIBRA were estimated stratified on both APOE ϵ 4 carrier status and increasing GRS levels (tertiles).

In all models, the log-linearity and the proportional hazard assumptions were evaluated using penalized splines and the Schoenfeld residuals, respectively.

Cognitive decline

We estimated the evolution of global cognition, defined as the common factor underlying the five neuropsychological tests, using a latent process mixed model for multivariate continuous longitudinal outcomes [30]. The cognitive trajectory was modeled using a quadratic function of time, in years since cohort entry; within-participant correlation was captured by a correlated random intercept and slopes on the time function. The models included an intercept that represented the cognitive scores at baseline, the quadratic functions of time, covariates (both as a simple effect and in interaction with time functions), and corresponding random effects to account for intra-individual correlation. We examined the association of both LIBRA and genetic factors (and their potential interactions) with cognitive change (through time function parameters), adopting similar modeling strategy as with dementia risk analyses. As in the analysis of incident dementia, the assumption of a linear relationship between LIBRA and cognitive trajectory constituents was investigated using splines.

Supplementary analyses

As an additional analysis, we tested for potential differential associations of LIBRA to dementia risk across combined (APOE4-by-GRS) genetic risk groups, in a single model.

Moreover, in sensitivity analyses, we evaluated the robustness of our results to slight variations in the definition of our LIBRA and GRS scoring systems (**S1 Methods**). We also secondarily excluded from the group of APOE ϵ 4 carriers participants with the ϵ 2 allele (i.e., ϵ 2 ϵ 4 genotype) as ϵ 2 is known to compensate the increased risk conferred by ϵ 4 allele.

All statistical analyses were conducted using R software version 4.0.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) (RiskRegression [27] and lcmm [30] packages for cause-specific Cox and multivariate latent process mixed models, respectively). Missing data for covariates ($\leq 1\%$ for education and income) were imputed using chained equations with fully conditional specification method [31], whenever necessary.

RESULTS

At baseline, the participants were aged 73.8 years-on average, 66% were female and 39% had an education level higher than secondary school (**Table 2**). There was increasing proportion of participants from Bordeaux center and decreasing proportion from Dijon with increasing LIBRA scores (**Table 2**). Participants with higher LIBRA were slightly older and less likely to be female and to have higher levels of education and income (**Table 2**). LIBRA components were distributed widely across increasing score levels, with, by design, higher prevalence for unhealthy components (physical inactivity, smoking, heart disease, diabetes, high cholesterol and BMI, hypertension, renal dysfunction and depression) and low prevalence for healthy components (healthy diet, engagement in cognitively stimulating activities, low to moderate alcohol consumption) with higher LIBRA values.

APOE ϵ 4 carriers were quite evenly distributed across LIBRA levels (20.0% in lower versus 20.9% in higher score levels). In contrast, participants with higher LIBRA were slightly more likely to have higher GRS score values. Both LIBRA (mean=0.91 [SD=2.66], range -5.9 to 11.2) and GRS (mean=4.51 [SD=0.32], range 3.51 to 5.83) scores followed a Gaussian distribution (**S2 Figure**).

In total, 652 (13%) participants developed dementia over a mean follow-up time of 8.4 years (SD=4.2; median=8.5; range 1-19 years). The incidence rate of dementia increased with increasing LIBRA (1.1 [95% CI 0.8; 1.2] per 100 person-years [PY] in the lowest LIBRA quartile vs 2.3 [2.0; 2.7] per 100 PY in the highest quartile) (**Table 3**). While dementia incidence was higher in participants with higher genetic risk (2.1 [1.8-2.5] versus 1.4 [1.2-1.5] per 100 PY in APOE ϵ 4 carriers vs non carriers; 1.8 [1.6-2.0] versus 1.3 [1.1-1.5] per 100 PY in participants with high versus low GRS tertile, respectively), we found increasing incidence rates of dementia with increasing LIBRA in all categories of genetic risk. For example, in

APOE ϵ 4 carriers, incidence rates were 1.4 [95% CI 1.0; 1.9] per 100 PY in the low LIBRA vs 3.3 [2.5; 4.3] per 100 PY in the high LIBRA category.

In multivariable-adjusted analyses, a higher LIBRA was significantly associated with higher dementia risk, with no evidence of effect modification by genetic risk (**Figure 1**; P for interaction=0.15 and =0.57 for the interactions of LIBRA with APOE ϵ 4 and the GRS, respectively). Each 1-point increase in LIBRA was associated with a 9% increased risk of dementia (95% CI 5%; 13%) in APOE ϵ 4 non carriers and a 15% (CI 8%; 22%) increased risk in carriers (**Figure 1-A**). Similar results were found across GRS levels, adjusted on APOE ϵ 4 status (HR=1.10 [95% CI 1.04; 1.16] in the low GRS versus 1.12 [CI 1.06; 1.18] in the high GRS tertile; **Figure 1-B**). Associations of both LIBRA and GRS with dementia risk were log-linear in all Cox models.

In analyses of cognitive trajectories (**Figure 2**), results were consistent with those obtained with dementia risk. Each 1-point increase in the LIBRA was associated with worse initial global cognition and with a steepest annual rate of cognitive decline, both in APOE ϵ 4 carriers and non-carriers (**Figure 2-A**; $P=0.11$ for LIBRA $\times$ APOE ϵ 4 and =0.41 for LIBRA $\times$ APOE ϵ 4 $\times$ quadratic time function interaction terms), and both in low and high GRS levels (**Figure 2-B**; $P=0.13$ and =0.23 for interaction terms). Among APOE ϵ 4 non-carriers, the estimated change in global cognition for each additional point of LIBRA was -0.11 (95%CI, -0.12; -0.10) standard units at inclusion, -0.14 (95%CI, -0.14; -0.12) at 7 years, and -0.17 (95%CI, -0.21; -0.13) at 15 years. In APOE ϵ 4 carriers, the estimated change in global cognition for +1 point LIBRA was -0.09 (95%CI, -0.12; -0.06) standard units at inclusion, -0.13 (95%CI, -0.17; -0.09) at 7 years, and -0.16 (95%CI, -0.23;-0.09) at 15 years. Hence, in APOE ϵ 4 carriers, the average cognitive level attained by participants with a high LIBRA

(>fourth quartile) after 5 years would be reached approximately 2 years later if they had a low LIBRA (<first quartile) initially. That delay in cognitive aging among those with low (versus high) LIBRA would extend to 3 years after 10 years of follow-up. Findings were of similar magnitude in APOE ϵ 4 non-carriers or within levels of GRS.

In supplementary analyses examining effect modification by combined APOE4 and GRS, we found no significant LIBRA-by-APOE4-by-GRS interaction on dementia risk (**S3 Figure**). Furthermore, sensitivity analyses examining an alternative LIBRA using study-specific weights or an alternative GRS from a GWAS based on clinically diagnosed cases, yielded similar results (**S4 Figure** and **S5 Figure**). When we excluded the 81 ϵ 2 ϵ 4 participants, findings were not modified ($P=0.15$ and $=0.90$ for interactions of LIBRA with APOE ϵ 4 and GRS, respectively, on dementia risk).

DISCUSSION

In this large cohort of French older persons, an increasing number of modifiable environmental/lifestyle factors for brain health, represented by the LIBRA, was associated with higher dementia risk and greater cognitive decline in any level of genetic susceptibility for dementia. Participants with both low and high genetic risk, based on carrying the APOE ϵ 4 allele and/or scoring high to genetic risk beyond that conferred by the APOE ϵ 4 (as captured by the GRS), had a greater risk of dementia and cognitive decline as the LIBRA increased. The magnitude of association between the LIBRA, dementia and cognitive function/decline was slightly stronger in older persons with higher genetic susceptibility compared to those with a low genetic risk, although differences were not statistically significant.

Our findings of independent additive genetic and environmental risks on dementia risk mean that even older persons with a genetic susceptibility for dementia, who are predicted worse cognitive trajectories and earlier age at dementia onset [1,2], may be susceptible to the deleterious impact of environmental factors on brain aging. This is in line with the literature on cardiovascular diseases, suggesting that persons at greater genetic risk may be sensitive to prevention by lifestyle modifications to decrease their risk [32], which is critically important for prevention in these highest risk groups. Although we found suggestion of stronger magnitude of association between the LIBRA and dementia endpoints in those at higher genetic risk, our findings endorse the promotion of a healthy lifestyle for the entire population as a part of public health initiatives. Another strategy would involve concentrating preventive lifestyle-based interventions on individuals with elevated genetic risk, under the assumption that revealing their genetic susceptibility can prompt them to alter their behaviors. Although no interaction emerged as we considered environment/lifestyle and genetic risk scores

globally, it remains plausible biologically that some of the diverse modifiable risk factors considered in LIBRA may interact in specific pathways encoded by the multiple genetic variants involved in AD. This could be explored agnostically throughout the entire genome in future research.

Additive effects between genetic and environmental/lifestyle risk on cognitive aging have been found in previous brain aging research, although studies, limited in number and heterogeneous in the way to account for environmental and genetic risk, did not yield consensual findings. Two Northern European studies reported effect modification, with associations limited to persons with low genetic risk. Hence in a few hundred participants from the Finnish Cardiovascular Risk Factors, Aging and Dementia study, a higher LIBRA in late-life was associated with increased dementia risk among APOE ϵ 4 non-carriers only [9]. Similarly, in the Rotterdam study, optimal cardiovascular health level was associated with a decreased risk of dementia but only among APOE ϵ 4 non-carriers or participants with lower GRS (10). As APOE ϵ 4 is associated with higher mortality [33], the absence of association among carriers in these studies could be explained by survival and selection bias at older ages, whereby ϵ 4 carriers die prior to study entry or are less likely to be enrolled due to poor health. Conversely, in the Framingham heart offspring and the Atherosclerosis Risk in Communities studies, no interaction was found between a cardiovascular health score and APOE ϵ 4 carrier status or a GRS on dementia risk [14,34]. Likewise, in both the Chicago Health and Aging Project and the China Cognition and Ageing Study, associations between a healthy lifestyle score and a slower cognitive decline were found independently of APOE ϵ 4 carrier status [35,36]. This was also in accordance with post-hoc analyses of two multi-domain intervention trials, which showed that lifestyle changes were beneficial for cognition in older individuals at vascular risk, even among APOE ϵ 4 carriers [37,38]. The largest analysis to date, from the UK

Biobank, on a broad 4 component-lifestyle score and a polygenic risk score, also found no evidence of interaction with dementia risk [13]. However, because the population was selected toward healthy lifestyles, with approximately two third of the sample classified in the favorable lifestyle category, those findings were not generalizable to populations with different cultural and health background.

The primary novelty of our study is its ability to encompass an extensive list of modifiable lifestyle-related factors, in the form of the LIBRA, in the context of genetic background from a South-Western European population (France). It extends previous studies by investigating comprehensively environment/lifestyle and genetic factors, with a longer follow-up for dementia and cognition, in-person repeated cognitive testing and systematic detection of dementia cases with validation by an independent committee of neurologists over up to two decades. Our study has also limitations. First, the LIBRA was estimated at baseline and data did not allow accounting for potential change during follow-up. Second, as any long-term observational study, loss to follow-up occurred, and participants included were in better health than those excluded owing to missing data; although the effect of selection and attrition on the results cannot be formally evaluated, selection of healthier participants generally leads to underestimate associations. Third, gene-by-environment interaction studies require sufficient power and despite a fairly reasonable population size (several thousand participants appeared sufficient to detect gene-by-environment interactions in previous score-based research [10]), we cannot exclude that the null interaction we found is a false negative. However, this is unlikely, as the magnitude of associations of LIBRA to brain aging was relatively consistent in all strata of genetic risk, and associations were also consistent across two brain-aging endpoints. Fourth, in spite of the prospective design and the exclusion of

prevalent dementia cases at baseline, reverse causality cannot be excluded in this observational study.

In conclusion, our results provide evidence that increasing number of unhealthy environmental/lifestyle risk factors in older age is linearly associated with a higher risk of dementia and greater cognitive decline, in all groups of genetic risk for dementia. This suggests that preventive programs targeting lifestyle-related factors may benefit to all, whatever their genetic susceptibility to dementia. Yet the public health message may be especially important for those with high genetic predisposition, as encouraging these persons to modify some of their unhealthy behaviors and risk factors is likely to provide significant benefit in reducing cognitive aging and dementia.

REFERENCES

- [1] Winblad B, Amouyel P, Andrieu S, Ballard C, Brayne C, Brodaty H, et al. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol* 2016;15:455–532. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00062-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00062-4).
- [2] Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE, Kleindan L, Moreno-Grau S, Amin N, et al. New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nat Genet* 2022;54:412–36.
- [3] 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* 2020;396:413–46. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30367-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30367-6).
- [4] Schiepers OJG, Köhler S, Deckers K, Irving K, O'Donnell CA, van den Akker M, et al. Lifestyle for Brain Health (LIBRA): a new model for dementia prevention. *Int J Geriatr Psychiatry* 2018;33:167–75. <https://doi.org/10.1002/gps.4700>.
- [5] Deckers K, van Boxtel MPJ, Schiepers OJG, de Vugt M, Muñoz Sánchez JL, Anstey KJ, et al. Target risk factors for dementia prevention: a systematic review and Delphi consensus study on the evidence from observational studies: Major risk factors for dementia prevention. *Int J Geriatr Psychiatry* 2015;30:234–46. <https://doi.org/10.1002/gps.4245>.
- [6] Deckers K, Köhler S, Ngandu T, Antikainen R, Laatikainen T, Soininen H, et al. Quantifying dementia prevention potential in the FINGER randomized controlled trial using the LIBRA prevention index. *Alzheimers Dement* 2021;17:1205–12. <https://doi.org/10.1002/alz.12281>.
- [7] Vos SJB, van Boxtel MPJ, Schiepers OJG, Deckers K, de Vugt M, Carrière I, et al. Modifiable Risk Factors for Prevention of Dementia in Midlife, Late Life and the Oldest-Old: Validation of the LIBRA Index. *JAD* 2017;58:537–47. <https://doi.org/10.3233/JAD-161208>.
- [8] Pons A, LaMonica HM, Mowszowski L, Köhler S, Deckers K, Naismith SL. Utility of the LIBRA Index in Relation to Cognitive Functioning in a Clinical Health Seeking Sample. *JAD* 2018;62:373–84. <https://doi.org/10.3233/JAD-170731>.
- [9] Deckers K, Barbera M, Köhler S, Ngandu T, Boxtel M, Rusanen M, et al. Long-term dementia risk prediction by the LIBRA score: A 30-year follow-up of the CAIDE study. *Int J Geriatr Psychiatry* 2020;35:195–203. <https://doi.org/10.1002/gps.5235>.
- [10] Licher S, Ahmad S, Karamujić-Ćomić H, Voortman T, Leening MJG, Ikram MA, et al. Genetic predisposition, modifiable-risk-factor profile and long-term dementia risk in the general population. *Nat Med* 2019;25:1364–9. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0547-7>.
- [11] Kivipelto M, Rovio S, Ngandu T, Kåreholt I, Eskelinen M, Winblad B, et al. Apolipoprotein E ε4 magnifies lifestyle risks for dementia: a population-based study. *J Cell Mol Med* 2008;12:2762–71. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00296.x>.
- [12] Mulugeta A, Navale SS, Lumsden AL, Llewellyn DJ, Hyppönen E. Healthy Lifestyle, Genetic Risk and Brain Health: A Gene-Environment Interaction Study in the UK Biobank. *Nutrients* 2022;14:3907. <https://doi.org/10.3390/nu14193907>.
- [13] Lourida I, Hannon E, Littlejohns TJ, Langa KM, Hyppönen E, Kuzma E, et al. Association of Lifestyle and Genetic Risk With Incidence of Dementia. *JAMA* 2019;322:430–7. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.9879>.
- [14] Tin A, Bressler J, Simino J, Sullivan KJ, Mei H, Windham BG, et al. Genetic Risk, Midlife Life's Simple 7, and Incident Dementia in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Neurology* n.d.;99:e154–63.
- [15] 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;22:316–25. <https://doi.org/10.1159/000072920>.
- [16] 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. *Nat Genet* 2019;51:414–30. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0358-2>.
- [17] American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th Edition. 1994.
- [18] Blacker D, Albert MS, Bassett SS, Go RC, Harrell LE, Folstein MF. Reliability and validity of NINCDS-ADRDA criteria for Alzheimer's disease. The National Institute of Mental Health Genetics Initiative. *Arch Neurol* 1994;51:1198–204. <https://doi.org/10.1001/archneur.1994.00540240042014>.
- [19] Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189–98. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(75\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6).
- [20] Benton AL. *Manuel du test de rétention visuelle: applications cliniques et expérimentales*. Editions du Centre de psychologie appliquée. Paris: 1953.
- [21] Isaacs B, Kennie AT. The Set Test as an Aid to the Detection of Dementia in Old People. *Br J Psychiatry* 1973;123:467–70. <https://doi.org/10.1192/bjp.123.4.467>.
- [22] Reitan RM. Validity of the Trail Making Test as an Indicator of Organic Brain Damage. *Percept Mot Skills* 1958;8:271–6.
- [23] Samieri C, Perier M-C, Gaye B, Proust-Lima C, Helmer C, Dartigues J-F, et al. Association of Cardiovascular Health Level in Older Age With Cognitive Decline and Incident Dementia. *JAMA* 2018;320:657–64. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.11499>.
- [24] Naël V, Pérès K, Dartigues J-F, Letenneur L, Amieva H, Arleo A, et al. Vision loss and 12-year risk of dementia in older adults: the 3C cohort study. *Eur J Epidemiol* 2019;34:141–52. <https://doi.org/10.1007/s10654-018-00478-y>.
- [25] Dufouil C, Richard F, Fievet N, Dartigues JF, Ritchie K, Tzourio C, et al. APOE genotype, cholesterol level, lipid-lowering treatment, and dementia: The Three-City Study. *Neurology* 2005;64:1531–8. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000160114.42643.31>.
- [26] Chauhan G, Arnold CR, Chu AY, Fornage M, Reyahi A, Bis JC, et al. Identification of additional risk loci for stroke and small vessel disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol* 2016;15:695–707. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00102-2).
- [27] Ozenne B, Sørensen A Lyngholm, Scheike T, Torp-Pedersen C, Gerds T Alexander. riskRegression: Predicting the Risk of an Event using Cox Regression Models. *The R Journal* 2017;9:440. <https://doi.org/10.32614/RJ-2017-062>.
- [28] Eilers PHC, Marx BD. Flexible smoothing with B-splines and penalties. *Statist Sci* 1996;11:89–121. <https://doi.org/10.1214/ss/1038425655>.
- [29] Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet* 2006;38:904–9. <https://doi.org/10.1038/ng1847>.
- [30] Proust-Lima C, Philipps V, Lique B. Estimation of Extended Mixed Models Using Latent Classes and Latent Processes: The R Package **lcmm**. *J Stat Soft* 2017;78. <https://doi.org/10.18637/jss.v078.i02>.
- [31] Van Buuren S, Brand JPL, Groothuis-Oudshoorn CGM, Rubin DB. Fully conditional specification in multivariate imputation. *Journal of Statistical Computation and Simulation* 2006;76:1049–64. <https://doi.org/10.1080/10629360600810434>.
- [32] Khera AV, Emdin CA, Drake I, Natarajan P, Bick A, Cook N, et al. Genetic Risk, Adherence to a Healthy Lifestyle, and risk of Coronary Artery Disease. *Journal of the American College of Cardiology* 2017. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(17\)35949-1](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(17)35949-1).

- [33] Wolters FJ, Yang Q, Biggs ML, Jakobsdottir J, Li S, Evans DS, et al. The impact of APOE genotype on survival: Results of 38,537 participants from six population-based cohorts (E2-CHARGE). *PLoS ONE* 2019;14:e0219668. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219668>.
- [34] Peloso GM, Beiser AS, Satizabal CL, Xanthakis V, Vasan RS, Pase MP, et al. Cardiovascular health, genetic risk, and risk of dementia in the Framingham Heart Study. *Neurology* 2020;95:e1341–50. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000010306>.
- [35] Jia J, Zhao T, Liu Z, Liang Y, Li F, Li Y, et al. Association between healthy lifestyle and memory decline in older adults: 10 year, population based, prospective cohort study. *BMJ* 2023;380:e072691. <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-072691>.
- [36] Dhana K, Aggarwal NT, Rajan KB, Barnes LL, Evans DA, Morris MC. Impact of the Apolipoprotein E ϵ 4 Allele on the Relationship Between Healthy Lifestyle and Cognitive Decline: A Population-Based Study. *AJE* 2021;190:1225–33. <https://doi.org/10.1093/aje/kwab033>.
- [37] Solomon A, Turunen H, Ngandu T, Peltonen M, Levälahti E, Helisalmi S, et al. Effect of the Apolipoprotein E Genotype on Cognitive Change During a Multidomain Lifestyle Intervention: A Subgroup Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol* 2018;75:462. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.4365>.
- [38] 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. *Lancet Neurol* 2017;16:377–89. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30040-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30040-6).

Table 1: Definition of the lifestyle for brain health risk (LIBRA) score metrics

Metric	Definition	Weight to dementia risk^a
Healthy diet	Intake of fruits and vegetables $\geq$ twice per day and intake of fish $\geq$ twice by week	-1.7
Physical inactivity		1.1
Dijon and Montpellier sites	Recreational walking < 1 h per day <u>or</u> no sport practice	
Bordeaux site	Recreational walking ≤ 1 h per week <u>or</u> having < 1 h of sport or intensive leisure activity per week	
Engagement in cognitively stimulating activities^b	Highest tertile of a cognitive stimulating activity score	-3.2
Low to moderate alcohol consumption	Consumption of > 0 and < 14 units of alcohol per week	-1.0
Smoking	Current smoker	1.5
Heart disease	History of: myocardial infarction, hospitalized stroke, coronary surgery/angioplasty, history of leg artery surgery if arteritis of the lower limbs	1.0
Diabetes	Fasting glycemia ≥ 7 mmol/L or taking diabetes medication	1.3
High cholesterol	Fasting blood cholesterol ≥ 6.2 mmol/L or taking lipid-lowering medication	1.4
Obesity	Body Mass Index ≥ 30 kg/m ²	1.6
Hypertension	Blood pressure $\geq 140/90$ mmHg or antihypertensive treatment	1.6
Renal dysfunction	Glomerular filtration rate < 60 mL/min/1.73 m ²	1.1
Depressive symptomatology	Center for Epidemiologic Studies-Depression scale ≥ 17 among men, ≥ 23 among women or taking an antidepressant treatment	2.1

^a Weights were assigned as defined in the original score [4] (with positive weights for risk factors and negative weights for protective factors).

^b The cognitively stimulating activity score was based on current practice of 15 leisure activities in Bordeaux center and 6 leisure activities in Dijon and Montpellier centers (**S1 Methods**) [24,39].

Table 2. Baseline characteristics of participants according to increasing levels of lifestyle for brain health risk (LIBRA) score (N=5,170)

	LIBRA score ^a		
	Low (n = 1,383)	Intermediate (n = 2,503)	High (n = 1,284)
Study center, N (%)			
Bordeaux	248 (17.9)	578 (23.1)	339 (26.4)
Dijon	957 (69.2)	1,646 (65.8)	836 (65.1)
Montpellier	178 (12.9)	279 (11.1)	109 (8.5)
Sociodemographic characteristics			
Age, mean (SD), years	73.1 (5.0)	73.7 (5.2)	74.8 (5.4)
Women, N (%)	936 (67.7)	1485 (59.3)	751 (58.5)
Education ≥ secondary school, N (%)	724 (52.4)	918 (36.7)	354 (27.6)
Monthly income ≥ 1500 €, N (%)	966 (71.7)	1,464 (60.7)	647 (52.1)
Lifestyle and health characteristics			
Healthy diet, N (%)	520 (37.6)	437 (17.5)	74 (5.8)
Physical inactivity, N (%)	98 (7.1)	654 (26.1)	562 (43.8)
Engagement in cognitively stimulating activities, N (%)	1,046 (75.6)	525 (21.0)	41 (3.2)
Alcohol consumption (> 0 and < 14 units of alcohol per week), N (%)	973 (70.4)	1,171 (46.8)	447 (34.8)
Current smoking, N (%)	31 (2.2)	113 (4.5)	128 (9.9)
Heart disease, N (%)	31 (2.2)	213 (8.5)	212 (16.5)
Diabetes, N (%)	30 (2.2)	179 (7.2)	247 (19.2)
High cholesterol, N (%)	399 (28.9)	896 (35.8)	694 (54.0)
Body mass index, mean (SD), kg/m ²	24.7 (3.4)	25.5 (3.8)	27.5 (4.6)
Hypertension, N (%)	950 (68.7)	1913 (76.4)	1181 (92.0)
Renal dysfunction, N (%)	63 (4.6)	248 (9.9)	324 (25.2)
Depressive symptomatology, N (%)	33 (2.4)	209 (8.3)	375 (29.2)
Genetic characteristics			
APOEε4 carrier, N (%)	276 (20.0)	495 (19.8)	268 (20.9)
Genetic risk score ^b , N (%)			
Low	494 (35.7)	817 (32.6)	413 (32.2)
Medium	443 (32.0)	865 (34.6)	415 (32.3)
High	446 (32.2)	821 (32.8)	456 (35.5)

^a Low, intermediate, and high LIBRA risk score categories were defined as the 1st quartile, 2nd and 3rd quartiles, and 4th quartile of the score, respectively.

^b Low, medium and high genetic risk score categories were defined as the 1st, 2nd and 3rd tertiles of the score, respectively.

Table 3. Incidence rates of dementia according to increasing levels of lifestyle for brain health risk (LIBRA) score and genetic risk (N=5,170)

	Overall Population	LIBRA score^a		
		Low	Intermediate	High
Overall Population	652/5,170 1.5 (1.4-1.6)	132/1,383 1.1 (0.9-1.2)	297/2,503 1.4 (1.2-1.6)	223/1,284 2.3 (2.0-2.7)
APOEε4 carrier status				
Non-carrier	479/4,131 1.4 (1.2-1.5)	99/1,107 1.0 (0.8-1.2)	215/2,008 1.2 (1.1-1.4)	165/1,016 2.1 (1.8-2.5)
Carrier	173/1,039 2.1 (1.8-2.5)	33/276 1.4 (1.0-1.9)	82/495 2.1 (1.6-2.5)	58/268 3.3 (2.5-4.3)
GRS^b				
Low	187/1,724 1.3 (1.1-1.5)	44/494 1.0 (0.7-1.3)	85/817 1.2 (1-1.5)	58/413 1.9 (1.4-2.4)
Medium	212/1,723 1.5 (1.3-1.7)	41/443 1.0 (0.7-1.4)	96/865 1.4 (1.1-1.7)	75/415 2.2 (1.7-2.7)
High	253/1,723 1.8 (1.6-2.0)	47/446 1.2 (0.9-1.6)	116/821 1.6 (1.3-1.9)	90/456 3.0 (2.4-3.7)

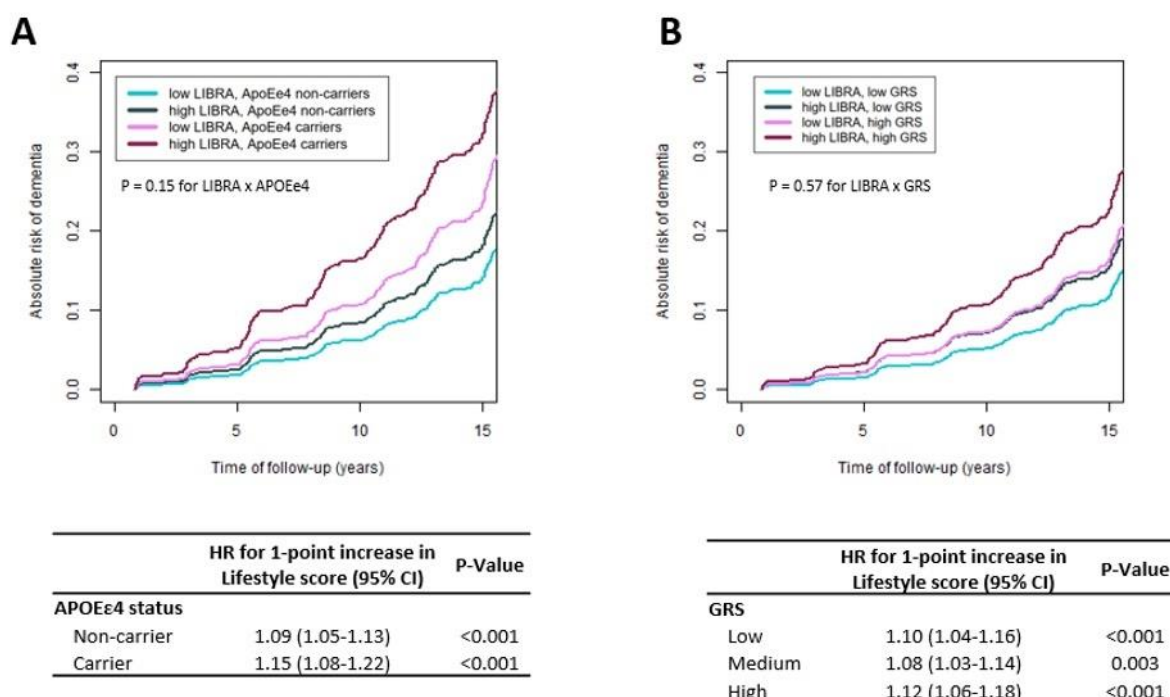
Data are number of incident cases/total and incidence rate per 100 person-year (95%CI)

^a Low, intermediate, and high LIBRA risk score categories were defined as the 1st quartile, 2nd and 3rd quartiles, and 4th quartile of the score, respectively.

^b Low, medium and high genetic risk score categories were defined as the 1st, 2nd and 3rd tertiles of the score, respectively.

Abbreviations: APOEε4: ε4 allele of the apolipoprotein E gene; GRS, Genetic risk Score

Figure 1. Multivariable-adjusted absolute risk of dementia during the course of the study and corresponding relative risks (Hazard Ratios, HR)^a according to increasing levels of lifestyle for brain health risk (LIBRA) score and genetic risk (N=5,170)



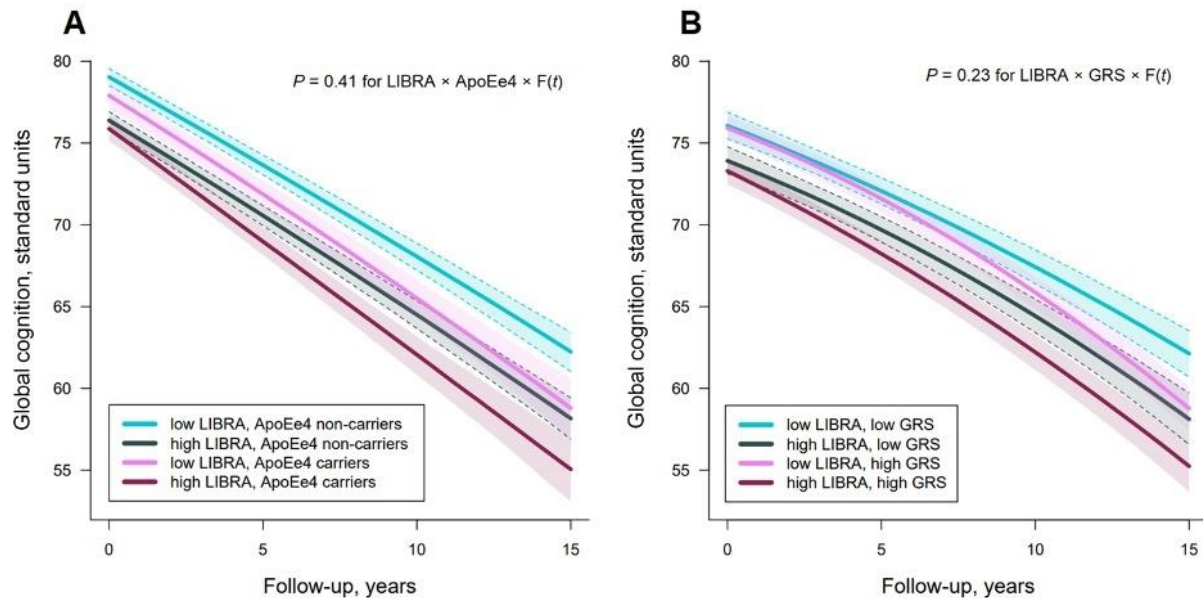
^a Relative Risks (Hazard Ratios, HR, as presented in tables) were estimated with cause-specific Cox models censoring at death. The time-scale was the delay between the date of inclusion and either the date of dementia, death or the end of follow-up, whichever came first. Absolute risks of dementia (as presented in plots) were estimated from the cause-specific Cox model while accounting for competing risk by death by specifying a cause-specific Cox model for death before dementia.

All Cox models used baseline hazard rates stratified by study center and included: the LIBRA score (continuous), the genetic factor (APOEε4 status in panel A, dementia genetic risk score [GRS, tertiles] in panel B), the interactions of LIBRA score and the genetic factor, and covariates (age, sex, education level, income, genetic ancestry and APOEε4 status in panel B). The p-value for LIBRAxGRS interaction test as embedded in panel B plot was estimated in a distinct model considering the GRS continuously.

Curves represent the absolute risk of dementia at each time of follow-up of an average study participant profile (a woman from the Bordeaux site, aged 74 years-old at inclusion with educational level equal to middle school and monthly income between 1500 and 2250€). Note that the choice of profile is made to optimize the graphical representation and has no influence on the differences in HR estimated by the model (calculated for each increase of 1 point of LIBRA taken as a continuous variable). We chose two representative levels of LIBRA score (lower level = upper bound of the 1st quartile and higher level = lower bound of the 4th quartile), stratified in two levels of genetic factor (APOE ϵ 4 carrier versus no carrier in panel A, and 1st tertile [low] versus 3rd tertile of GRS [high]).

Abbreviations: APOE ϵ 4: ϵ 4 allele of the apolipoprotein E gene; CI: confidence interval; GRS: genetic risk score; HR: hazard ratio; LIBRA: lifestyle for brain health risk score

Figure 2. Multivariable-adjusted mean trajectories^a of change in global cognition for a specific profile by levels of lifestyle for brain health risk (LIBRA) score at baseline and genetic risk (N=5,170)



^a Estimated using latent process mixed models for multivariate longitudinal outcomes that modeled repeated measures of five cognitive tests (MMSE, IST, BVRT, TMTA and TMTB) and considered a nonlinear trajectory with time approximated by a quadratic function of time ($F(t)=1, \text{time}, \text{time}^2$), with corresponding random effects. The models also included: an intercept representing the cognitive scores at baseline (with corresponding random effects); an indicator for the first cognitive visit; the LIBRA score (continuous), the genetic factor (APOE ϵ 4 carrier status in panel A, dementia genetic risk score [GRS, tertiles] in panel B), the interactions of LIBRA score and the genetic factor with the time function, and covariates (study center, age, sex, education level, income, genetic ancestry and APOE ϵ 4 status in panel B).

The p-value for LIBRA $\times$ GRS $\times$ F(t) interaction test as embedded in panel B plot was estimated in a distinct model considering the GRS continuously.

Curves represent the mean estimated trajectories (solid lines) with 95% Confidence Intervals (indicated with shading) of an average study participant profile (a woman from the Bordeaux center, aged 74 years-old at inclusion with educational level equal to middle school and monthly

income between 1500 and 2250 €). Note that the choice of profile is made to optimize the graphical representation and has no influence on the differences in trajectories estimated by the model (calculated for each increase of 1 point of LIBRA taken as a continuous variable). We chose two representative levels of LIBRA score (lower level = upper bound of the 1st quartile and higher level = lower bound of the 4th quartile), stratified in two levels of genetic factor (APOEε4 carrier versus no carrier in panel A, and 1st tertile [low] versus 3rd tertile of GRS [high]).

Abbreviations: APOEε4: ε4 allele of the apolipoprotein E gene; CI: confidence interval; GRS: genetic risk score; LIBRA: lifestyle for brain health risk score; MMSE: mini-mental state examination; IST, Isaacs' set test; BVRT, Benton Visual Retention Test; TMT, Trail Making Tests.

ACKNOWLEDGEMENTS

Funding sources

The Three-City Study is conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the Institut de Santé Publique, Epidémiologie et Développement of the University of Bordeaux 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, Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Institut de la Longévité, Regional Governments of Aquitaine and Bourgogne, Fondation de France, Ministry of Research-INSERM Programme “Cohortes et collections de données biologiques”, French National Research Agency COGINUT ANR-06-PNRA-005 and ANR 2007LVIE 003, the Fondation Plan Alzheimer (FCS 2009–2012), the Caisse Nationale pour la Solidarité et l'Autonomie (CNSA), and Roche Pharma. The sponsors were not involved in the design of the study or in the data analyses or manuscript elaboration.

Jeanne Neuffer is supported by the grant “SilverBrainFood” within the framework of the “Future Investment Program” (Programme d'Investissements d'Avenir PIA3), “Competitiveness cluster structuring projects” (Projets structurants des pôles de compétitivité, PSPC) operated by BPI France. Dr. Maude Wagner is supported by a post-doctoral fellowship from the French Foundation for Alzheimer's Research (alzheimerrecherche.org).

Conflicts

The authors have no conflicts of interest to declare.

Consent statement

All participants provided informed consent.

KEYWORDS

Modifiable risk factors, genetic risk score, APOE, dementia, cognitive decline

3.3.3. Résultats complémentaires

Les résultats supplémentaires publiés en ligne avec l'article sont présentés en **Annexe 10**.

Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur la combinaison de facteurs génétiques d'une part (au travers du GRS), et environnementaux modifiables d'autre part (avec le score LIBRA). L'hypothèse principale portait sur l'effet additif de l'augmentation du nombre de facteurs de risque à travers le LIBRA en lien avec la démence et le déclin cognitif. Or, l'existence d'interactions spécifiques (entre certains facteurs considérés individuellement), révélant de certains mécanismes particuliers, pourrait être biologiquement possible. Ainsi, nous avons testé l'interaction entre chaque variant génétique du GRS (n=68) et chaque composante du LIBRA (n=12). La même méthodologie que l'analyse principale a été utilisée (modèles de Cox cause-spécifique, axe du temps et ajustement identiques), et une correction pour test multiple de type Bonferroni a été appliquée, rendant le seuil de significativité à 6×10^{-5} (68 variants $\times$ 12 composantes).

Parmi les 816 interactions testées, aucune n'était statistiquement significative, après correction pour tests multiples (**Figure 17**). De la même façon, aucune composante n'interagissait de manière significative avec le statut APOE4 (résultats non présentés). Cela renforce la plausibilité de notre résultat, et il semble ne pas exister d'interaction significative entre les facteurs de mode de vie et les principaux facteurs de susceptibilité génétique de la MA, sur le risque de démence ou le déclin cognitif.

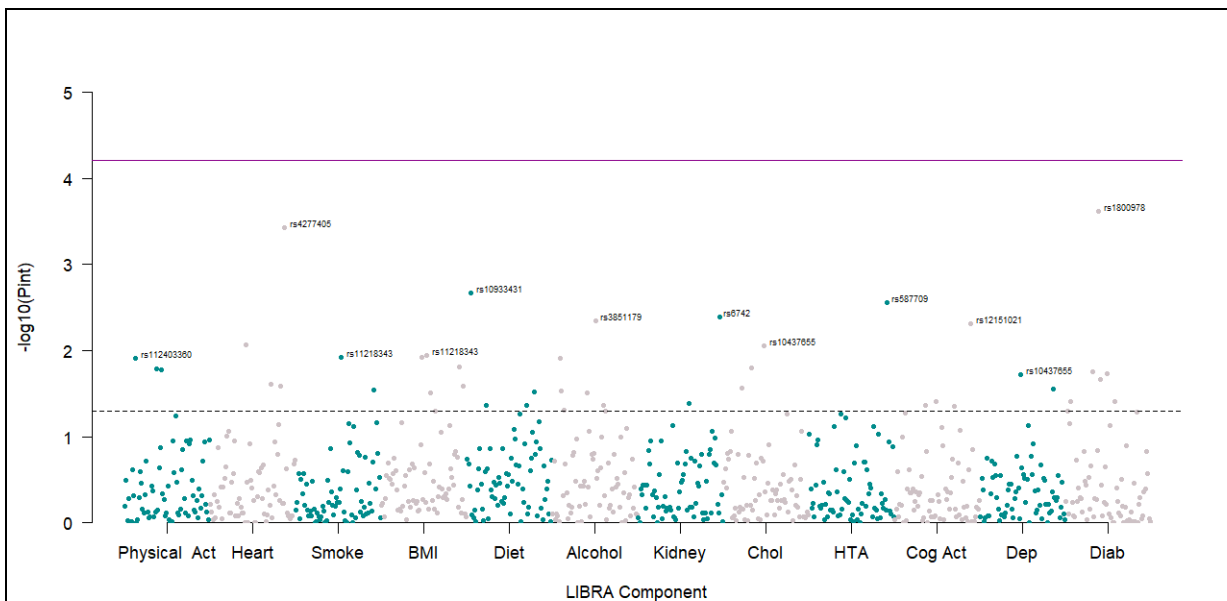


Figure 17 : « Manhattan plot » représentant les p-valeurs d'interaction entre chaque composante du LIBRA (en abscisse) et les 68 variants du GRS.

La ligne en pointillé représente le seuil de p-valeur non corrigé (0.05), et la ligne magenta le seuil de significativité corrigé par la méthode de Bonferroni (6×10^{-5})

Abréviations : LIBRA : *lifestyle for brain health*, GRS : *genetic risk score*, Physical Act : *Physical activity*, Heart : *Heart disease*, Chol : *hypercholesterolemia*, Cog Act : *cognitive activities*, Dep : *Depression*, Diab : *Dabetes*

3.3.4. Discussion de l'axe sur la recherche de populations vulnérables pour la prévention à travers la susceptibilité génétique

Dans cette troisième partie, nous avons cherché à caractériser des populations vulnérables pour la prévention du vieillissement cognitif pathologique. Nous avons ciblé la génétique comme facteur de susceptibilité d'intérêt, et l'avons considérée soit par le statut APOE4 soit par un score de risque génétique combinant les 68 variants génétiques les plus associés au risque de MA disponibles dans notre étude. Nous avons combiné les facteurs de risque modifiables dans un score validé par la communauté scientifique, le score LIBRA, et nous avons montré que l'augmentation de ce score était associée à un risque de démence plus élevé et un déclin cognitif accéléré, quelle que soit la susceptibilité génétique des individus. L'association entre le score LIBRA et la démence (ou le déclin cognitif) semblait même légèrement plus importante chez les

personnes avec une haute susceptibilité génétique (porteurs de l'allèle APOE4 ou avec un score de risque génétique important), par rapport aux personnes avec une moindre susceptibilité génétique, même si cette différence n'était pas significative. La conclusion était similaire avec des modifications dans la construction des différents scores, et une analyse complémentaire n'a pas montré d'interaction entre chaque composante et les facteurs génétiques, que ce soit le statut APOE4 ou les variants composant le score de risque génétique. Cela confortait nos résultats d'absence d'interaction, et d'une association significative entre les facteurs de risque modifiables et le vieillissement cérébral pathologique. Cependant, ces résultats sont à modérer par la taille de l'échantillon, relativement modeste pour détecter des interactions Gène × environnement.

Malgré un manque de consensus dans la littérature, ces résultats sont en accord avec la plupart des études, la majorité ne montrant pas d'interaction significative entre des scores combinant plusieurs facteurs de risque modifiables et la susceptibilité génétique sur le risque de démence ou les trajectoires de déclin cognitif (453,454,456–458). En effet, dans trois de ces études (réalisées dans des populations anglaises et américaines), bien que l'interaction n'était pas significative, la magnitude d'association entre le score de risque et l'évènement d'intérêt semblait un peu plus importante chez les porteurs APOE4 ou les personnes avec un haut score de risque génétique (453,454,457). Ainsi, il est possible que l'adoption d'habitudes de vie saines et la gestion des facteurs de risques cardiométaboliques soit plus efficace chez les personnes avec un risque de base plus élevé, du fait de leur plus haute susceptibilité génétique, bien que nos résultats (et ceux de la majorité des études précédentes) montrent que les individus avec une faible susceptibilité génétique pourraient en bénéficier également. Notre étude étaye cette hypothèse, avec un score de mode de vie qui prenait en compte un nombre plus important de facteurs de risque, et en considérant la susceptibilité génétique non seulement par le portage de l'APOE4 mais aussi par un score de risque génétique élargi.

Il est aussi à noter que le score LIBRA a été développé il y a maintenant plusieurs années, et que de nouveaux facteurs de risque de la démence ont été identifiés et validés depuis (problèmes auditifs, stress, sommeil, etc...), alors que d'autres facteurs peuvent ne pas avoir montré le niveau de preuve attendu (dysfonctionnement rénal par exemple) (5). Il serait intéressant d'utiliser un score de risque mis à jour. Cette

initiative de mise à jour est en cours dans l'équipe néerlandaise qui a proposé l'outil initial (434).

Nos résultats suggèrent donc, d'un point de vue pratique, que la prévention de la démence par la modification des comportements et la gestion de la santé cardio-métabolique pourrait s'appliquer à la population générale et être efficace de façon universelle, quelle que soit la susceptibilité génétique des individus. Ainsi, ces résultats ne justifient pas la nécessité de génotyper les individus pour mettre en place une stratégie de prévention plus efficace. Cependant, il est aussi important de considérer la possibilité selon laquelle, pour les individus à risque génétique, la connaissance de leur génotype suffisamment tôt dans l'évolution de la maladie (à un stade préclinique ou prodromal) pourrait leur permettre de mieux gérer leur risque en adoptant des pratiques préventives le plus tôt possible. Les personnes connaissant leur risque accru de développer une démence pourraient être plus motivés à changer leurs habitudes de vie, et plus adhérents aux stratégies de prévention. Les résultats des analyses post-hoc de deux interventions multi-domaines renforcent la plausibilité de cette hypothèse. En effet, dans l'intervention finlandaise FINGER (intégrant alimentation, activité physique, stimulation cognitive et gestion de facteurs de risque vasculaires pendant deux ans chez 1109 participants de plus de 60 ans), comme dans l'essai français MAPT (intégrant alimentation, activité physique, entraînement cognitif, gestion des facteurs de risque cardiovasculaires et supplémentation en n-3 AGPI pendant 3 ans chez 1525 participants fragiles de plus de 70 ans), l'effet de l'intervention était plus grand chez les porteurs APOE4 par rapport aux non-porteurs, même si cette différence n'était pas significative (515,516). Ainsi, il est possible que notre étude, comme les autres études d'interaction gène $\times$ environnement, manque de puissance pour détecter ce type d'interaction. Cependant, l'étude réalisée dans la UK Biobank chez presque 200 000 participants ne montrait pas non plus d'interaction significative entre un score combinant le tabagisme, l'activité physique, l'alimentation et la consommation d'alcool, et un score de risque polygénique, le score de mode de vie étant associé au risque de démence quel que soit le statut génétique (avec un HR un peu plus élevé chez les personnes à haut risque génétique, HR = 2.83 vs 2.30 chez les personnes à faible risque génétique) (453). Le manque de puissance ne semble donc pas expliquer, à lui seul, la non-significativité de l'interaction.

Cette étude laisse donc un message optimiste pour les personnes ayant une susceptibilité génétique élevée de démence, suggérant qu'un changement de mode de vie et une gestion appropriée des facteurs cardiométaboliques pourrait permettre de diminuer leur risque de développer un vieillissement cérébral pathologique.

Chapitre 4

-

Discussion

4.1. Synthèse des résultats

Dans cette thèse, nous avons mis à profit de riches données d'épidémiologie moléculaire disponibles dans une grande cohorte française sur le vieillissement cérébral dotées d'un suivi exceptionnel, la cohorte 3C, afin d'affiner la caractérisation étiologique du vieillissement cérébral, en se concentrant sur le mode de vie et plus particulièrement la nutrition. L'objectif final était de définir des stratégies de prévention optimisées. Nous avons appréhendé l'exposition environnementale et nutritionnelle par plusieurs approches méthodologiques complémentaires allant de la molécule candidate à l'approche par profils, déterminés de manière *a priori* ou *a posteriori*, afin de répondre au mieux aux défis analytiques posés par ces expositions complexes et multi-dimensionnelles. Ce travail s'est organisé en trois axes de recherche : l'identification de combinaisons nutritionnelles optimales, la recherche de nouvelles cibles préventives au moyen de la métabolomique de l'axe intestin-cerveau, et enfin l'identification de groupes à risque et populations vulnérables en fonction de leur profil génétique, qui seraient particulièrement susceptibles de bénéficier de la prévention.

Caractérisation de combinaisons optimales pour la prévention des pathologies du vieillissement cérébral par la nutrition

Les études de profils de nutriments en lien avec le vieillissement cognitif sont encore assez exploratoires et les profils obtenus sont différents d'une étude à l'autre, d'autant plus que peu d'études appréhendent l'exposition nutritionnelle sous forme de biomarqueurs, qui induisent pourtant moins de biais de mesure. En se basant sur les concentrations de trois biomarqueurs circulants les plus associés au risque de démence dans la littérature, notamment dans la cohorte 3C (la vitamine D, les caroténoïdes et les n-3 AGPI), nous avons développé un indice biologique de déficiences micro-nutritionnelles. Cet indice représente une première étape, importante et prometteuse, dans l'établissement des combinaisons pour la prévention, car il a pour vocation de rendre applicable en pratique des résultats au préalable obtenus par analyse exploratoire et difficilement interprétables. Contrairement au profil de nutriments estimé par C. Amadiou & collègues dans la cohorte 3C (192), qui a permis un premier niveau d'identification de combinaison des biomarqueurs neuroprotecteurs circulants

dans 3C (profil exploratoire défini par une concentration plus faible en vitamine D, caroténoïdes et n-3 AGPI, et plus élevée en α -tocophérol et AGS, associé à un risque plus élevé de démence), l'indice que nous avons développé est beaucoup plus facilement calculable en pratique dans diverses populations, à partir de simples mesures plasmatiques de vitamine D, caroténoïdes et n-3 AGPI. En effet, l'indice ne repose que sur 3 familles principales de nutriments et ne nécessite pas un profilage plus complexe de marqueurs comme, par exemple, le profilage entier des acides gras du plasma (comme cela était le cas dans l'approche de C. Amadieu). De plus, nous avons défini des seuils de déficience pour chacun des 3 familles de biomarqueurs, selon la forme de la relation au risque de démence, et une équivalence de seuils pourrait être recherchée dans les cas où l'on souhaite appliquer l'indice sur des mesures acquises avec une technique analytique différente. Ainsi, le calcul de l'indice pourrait être reproductible dans différentes conditions. Plus associé au risque de développer une démence que l'allèle APOE4 ou que le diabète dans notre population d'étude, cet indice pourrait permettre d'identifier les personnes les plus à risque de développer une démence et de souffrir de déclin cognitif accéléré, et pourrait être utilisé comme critère pour l'inclusion de participants dans des essais de supplémentation ou même aider à l'identification des personnes à inclure dans des programmes de prévention primaire proposant par exemple des conseils en nutrition. Toutefois, cet outil est encore perfectible. Il n'inclut pour l'instant que trois familles de nutriments (celles disponibles dans l'étude 3C), alors que d'autres familles de nutriments ont été montrées prometteuses dans la prévention du vieillissement cérébral, comme les vitamines B ou les polyphénols. L'élaboration d'un panel de biomarqueurs un peu plus large pourrait permettre d'encore mieux capturer les déficiences micro-nutritionnelles associées au vieillissement cognitif.

Nous avons ensuite caractérisé, avec une approche plus exploratoire, *a posteriori*, au sein du métabolome alimentaire, une signature métabolomique du profil d'alimentation de type MIND (profil défini *a priori* par la communauté scientifique pour la prévention du vieillissement cognitif, composé d'aliments identifiés comme ayant un potentiel rôle neuroprotecteur). Grâce à une méthode supervisée, dix métabolites alimentaires très variés ont été sélectionnés, incluant des métabolites endogènes, produits par l'organisme, des dérivés d'acides aminés ou encore des acides phénoliques. Parmi ces dix métabolites, 3 ont déjà été mis en lien avec des régimes neuroprotecteurs : la 1-méthylhistidine, la myristoyl-carnitine et la bétaine,

confirmant leur intérêt potentiel dans la caractérisation de biomarqueurs d'une alimentation saine mais aussi dans la prévention du vieillissement cérébral. Cette signature était très associée au déclin cognitif dans une population du Sud-Ouest mais non associée dans une population du Nord-Ouest de la France, aux caractéristiques et profils métabolomique très différents. Cette signature métabolomique doit encore être affinée, mais le résultat montre le potentiel de la métabolomique et des outils moléculaires pour l'estimation de profils alimentaires et nutritionnels optimaux, se débarrassant des biais induits par les méthodes de recueil traditionnelles fondées sur la déclaration des participants. De plus, la signature obtenue a un sens d'un point de vue biologique, associant au profil neuroprotecteur MIND des métabolites précédemment rapportés comme reflétant une consommation plus élevée de fruits et légumes, et moins élevée en viande, café et vin rouge. Le panel mérite d'être répliqué dans d'autres populations, pour tester sa validité externe, bien que l'implémentation en pratique clinique soit encore inenvisageable du fait de la spécificité des mesures métabolomiques utilisées. Cette étude est la première à identifier des acides phénoliques, composés prometteurs pour leur rôle dans le vieillissement cérébral, mais dont les taux circulants sont encore trop peu étudiés, car peu quantifiés dans les plateformes métabolomiques classiquement utilisées.

Identification de nouvelles cibles préventives au sein de l'axe intestin-cerveau

La biologie sous-tendant l'influence de la nutrition sur le vieillissement cérébral pathologique est extrêmement complexe. La métabolomique, capturant à la fois les expositions externes mais aussi le métabolisme endogène, peut permettre de se concentrer sur de nouveaux mécanismes d'implication de la nutrition et du mode de vie dans le vieillissement cognitif, et d'identifier de nouvelles cibles préventives. Ainsi, avec une approche par « composé-candidat », nous avons recherché de nouvelles cibles mécanistiques en décryptant l'axe intestin-cerveau, une voie qui relie la digestion des nutriments par le microbiote, au fonctionnement cérébral. Nous avons identifié, parmi plusieurs dizaines de métabolites dérivés du microbiote intestinal, l'acide propionique, comme étant significativement associé au déclin cognitif. Cet acide gras à chaîne courte, à la fois métabolisé par le microbiote intestinal à partir des fibres alimentaires mais aussi retrouvé de manière naturelle dans le fromage et utilisé comme conservateur alimentaire dans les produits transformés, ne fait pas consensus quant à son implication dans le vieillissement cérébral dans la littérature. En dépit de

connaissances encore assez fragmentaires sur son lien avec la cognition, découlant surtout d'études fondamentales (très peu chez l'homme), il suscite un intérêt très récent dans la MA et la démence, comme en témoigne la revue de la littérature de J. Killingsworth et ses collègues (517). La revue suggère que l'acide propionique serait impliqué dans la MA et la démence à travers divers mécanismes, comme le cycle de l'urée, le métabolisme insulinaire, ou encore l'excitotoxicité glutamatergique. Notre étude est la première étude épidémiologique à montrer le lien entre cette molécule et le vieillissement cognitif dans une population humaine assez large, et surtout à répliquer ce lien dans un échantillon externe. Nous avons par ailleurs mené des analyses exploratoires suggérant que l'acide propionique circulant pourrait provenir, dans notre population, davantage d'un apport direct (en tant qu'additif) via la consommation d'aliments transformés et de fromage, que d'une production par le microbiote à partir des fibres alimentaires. Les analyses de médiation ont, de plus, montré un effet médiateur partiel d'une santé cardiometabolique altérée (glycémie et cholestérolémie plus élevées). L'association délétère entre l'acide propionique et le déclin cognitif dans notre étude résulterait ainsi plutôt d'une alimentation délétère pourvoyeuse d'acide propionique (comme additif) lui-même dérégulant les paramètres métaboliques et influençant négativement le vieillissement cognitif. Toute ceci ne reste bien entendu qu'à l'état d'hypothèse à ce stade. Si cette hypothèse était confirmée par d'autres travaux, ce résultat serait en faveur d'une implication défavorable de l'alimentation transformée sur le vieillissement cérébral, en ligne avec des travaux émergents sur d'autres pathologies chroniques (518). Ce résultat rappelle aussi que l'identification de composés d'intérêt pour la prévention du vieillissement cérébral, rendue possible par les avancées technologiques et les données omiques, est prometteuse, et que de nouvelles cibles sont encore vraisemblablement à découvrir. Il est cependant à noter que cette étude se limite à seulement 72 métabolites en lien avec le microbiote intestinal (qui ont été mesurés dans le cadre du projet *DCogplast*), mais nous savons qu'il en existe bien plus, et qu'ils n'ont pas encore tous été identifiés. Cette étude offre un premier aperçu du rôle des post-biotiques circulants (métabolites issus de l'activité microbienne et détectés en métabolomique dans les biofluides) dans le vieillissement cognitif, mais il faut plus d'études, réalisées dans de grands échantillons de participants à qui on a mesuré un grand nombre de métabolites en lien avec le microbiote, pour étudier les voies mécanistiques dans leur ensemble. De plus, le statut nutritionnel, métabolique et la présence d'autres pathologies module l'action des

métabolites sur la santé et le cerveau, et pour capter toute l'étendue de la relation entre alimentation, microbiote, métabolome et le vieillissement cognitif, il faudrait combiner des données de diverses natures : antécédents de santé, données alimentaires, physiologiques, métagénomiques, métabolomique et même transcriptomiques, lipidomiques et protéomiques (519). L'intégration de toutes ces données dans diverses population permettrait une meilleure compréhension des mécanismes aussi complexes que celui de l'axe intestin-cerveau et l'identification de nouvelles cibles préventives mais aussi de traitement du vieillissement cérébral pathologique.

Identification de groupes à risque selon la susceptibilité génétique

Enfin, nous avons étendu le champ de recherches à la combinaison de facteurs de mode de vie dans leur ensemble, et nous sommes intéressés à leur potentielle interaction avec les facteurs génétiques de la démence. Abordant une approche *a priori* avec la construction dans la cohorte 3C du score de risque LIBRA combinant 12 facteurs de risque, nous avons montré une association robuste entre ce score et le risque de démence ainsi qu'avec le déclin cognitif, et ce, quelle que soit la susceptibilité génétique pour la démence des participants. De plus, en accord avec d'autres études réalisées dans des populations aux caractéristiques différentes (présentant des scores de risques comptant largement moins de composantes que le LIBRA et souvent un suivi moins long), la magnitude d'association du LIBRA était un peu plus grande chez les porteurs APOE4 que chez les non porteurs (même si cette différence n'était pas significative, en raison un manque de puissance statistique peut-être). Ce résultat laisse un message optimiste pour la population, les actions préventives pouvant potentiellement être proposées à la population entière, sans distinction en fonction du génotype (c'est d'ailleurs l'approche la plus commune en prévention). Toutefois, force est de constater que la prévention multi-domaines appliquée de façon « universelle » (à toute une population, sans cibler sur des individus avec des génotypes particuliers par exemple) n'a pas encore montré de résultat très convaincant dans les études cliniques (hormis peut-être l'étude FINGER qui a montré un effet significatif de conseils en diététique combinés à un programme d'activité physique, des entraînements cognitifs, des activités sociales et la gestion de facteurs de risques cardiométaboliques sur la cognition globale pendant 2 ans). Cela peut en partie être dû au fait qu'il est difficile de faire adhérer des individus à des interventions multi-domaines pendant une longue période : ils peuvent manquer de motivation dans leur

participation et montrer une adhésion moindre aux interventions le temps passant. Une stratégie permettant de pallier cette limite pourrait être de proposer ces interventions uniquement aux personnes présentant une plus forte susceptibilité génétique de développer une démence (porteurs de l'allèle APOE4 par exemple). Présentant un risque « basal » plus élevé de développer une démence et de connaître un déclin cognitif accéléré, la connaissance de ce risque augmenté chez ces sujets pourrait les motiver à adhérer au long cours à ces interventions. Cependant, notre étude étant la première à utiliser le LIBRA comme score de risque de démence dans une population aussi grande, et même si ce score mérite d'être mis à jour (en y intégrant des facteurs de risque identifiés récemment comme le sommeil, le stress ou même les commotions cérébrales), d'autres études incluant un grand nombre de facteurs de risque comme proposé par le LIBRA doivent être réalisées pour capter au mieux le risque de démence imputable au mode de vie et aux facteurs de santé associés.

4.2. Perspectives de recherche et en santé publique

L'adoption d'une approche en médecine personnalisée pour une prévention de précision est essentielle pour la prévention de pathologies complexe comme celles du vieillissement cognitif. Cette thèse montre que de nombreuses avancées ont été faites dans ce sens, mais certaines étapes sont encore à franchir, avant de pouvoir proposer des stratégies de prévention efficaces, que ce soit dans les études observationnelles ou dans les études d'intervention.

Dans les études d'observation

Le concept de prévention de précision est sous-tendu par l'intégration de données sociodémographiques, physiologiques et biologiques avec pour objectif de mieux identifier les personnes à risque chez qui la prévention serait efficace, et d'identifier la bonne formule en prévention. Ainsi, l'intégration de données diverses au sein des études observationnelles, dès la réflexion de leur protocole, est nécessaire pour aider à la caractérisation de stratégies préventives efficaces. L'exposition environnementale, et plus particulièrement le mode de vie et la nutrition sont des expositions multi-dimensionnelles complexes, et il est important de prendre en compte ces expositions dans leur ensemble. Rien que dans le spectre de la nutrition,

de nombreux facteurs, autres que la nutrition en elle-même, sont à considérer. L'intégration de données déclaratives, physiologiques, mais aussi de données biologiques, omiques, mesurées par différentes techniques d'analyses, mais aussi provenant de différents échantillons biologiques est une piste à privilégier. La prise en compte de cette multitude de données dans les études d'observation, analysées à l'aide de méthodes adaptées, pourrait permettre d'affiner nos connaissances sur le lien entre nutrition, mode de vie et vieillissement cérébral, d'identifier de nouvelles cibles ou de nouvelles combinaisons et permettre, à plus long terme, de transposer les résultats dans des essais cliniques. Par exemple, dans notre étude sur le lien entre métabolites microbiotiques et déclin cognitif, nous avons pu explorer, de manière assez sommaire dans un sous-échantillon, la potentielle source de l'acide propionique, mais il aurait été intéressant d'avoir des données sur les souches microbiotiques des participants (mesurées à partir d'échantillon de selles) pour pouvoir discriminer complètement l'origine microbienne de l'acide propionique, mais aussi d'avoir des données de consommations alimentaires, plus détaillées, pour tous les participants, au même moment que le prélèvement sanguin a été réalisé.

L'étude 3C est remarquable pour la richesse des données collectées, et a permis l'identification de nouvelles cibles, combinaisons de facteurs, et de nombreux résultats épidémiologiques ont permis d'étayer nos connaissances sur le lien entre mode de vie, nutrition et vieillissement cérébral. Cependant, cette étude a été initiée il y a plus d'une vingtaine d'années, et l'exposition d'intérêt principal de cette cohorte n'était pas la nutrition. De ce fait, le prélèvement d'échantillons biologiques s'est limité au sang, le recueil des données alimentaires détaillé n'a été réalisé que dans le centre bordelais, 2 ans après l'inclusion (et le prélèvement sanguin), et n'a pas été répété au cours du suivi. Les habitudes alimentaires de la population française âgée ont pu changer depuis leur recueil dans cette étude, en 2001. Ainsi, l'élaboration de nouvelles cohortes permettrait de mettre à jour et compléter les connaissances apportées par les anciennes cohortes. Dans ce sens, de nouvelles cohortes sont initiées, comme par exemple la cohorte *Biobank and brain health* (B cube), initiée en 2022 dans Bordeaux et sa métropole. B cube a pour but de recruter 2000 personnes âgées de 55 à 80 ans, avec une biobanque complète (sang, urines, selles, cheveux, salive, ongles, prélèvement nasal), en parallèle de données cliniques (tension artérielle, corpulence, vitesse de marche, etc.), cognitives, socioéconomiques, nutritionnelles, d'habitudes de vie, afin d'actualiser et enrichir les connaissances actuelles.

Aussi, compte tenu de l'hétérogénéité des comportements dans les différentes régions et cultures, des projets de collaboration entre cohortes seront nécessaires pour identifier les expositions environnementales robustes qui déterminent les changements neurobiologiques conduisant au vieillissement cognitif et à la démence dans toutes les populations. Cette collaboration ne pourra se faire que via le partage et l'harmonisation des données. Les multiples dimensions du mode de vie devront être saisies par des mesures comportementales, environnementales et biologiques répétées, qui devront être fiables et valides dans des populations aux habitudes et cultures différentes. Cela pourra être rendu possible grâce à des mesures systématiques de marqueurs candidats harmonisés entre les études et à des mesures omiques issues de mêmes plateformes permettant la reproductibilité des résultats entre les études. Cette collaboration permettrait aussi la validation de résultats obtenus dans certaines cohortes dans des échantillons indépendants. En effet, dans le spectre de la nutrition, beaucoup de profils nutritionnels/de biomarqueurs sont estimés de manière exploratoire, et les profils ainsi obtenus divergent d'une étude à l'autre. L'étape de validation est essentielle, d'autres facteurs (génétiques, de mode de vie, physiologiques, socio-démographiques et biologiques) influant sur l'estimation de ces profils neuroprotecteurs. Les profils pourraient ne pas être applicables à des populations différentes, comme le montre la non validation de l'association avec le déclin cognitif dans l'échantillon Dijonnais des profils métabolomiques caractérisés dans cette thèse (signature métabolomique du profil alimentaire MIND [LASSO] et profils de métabolites microbiens [ACP]). Cette étape de validation est rarement réalisée, pourtant essentielle dans la généralisation des profils et leur application dans les essais cliniques.

Dans les études d'intervention

Les résultats des études d'observation tout comme ceux des études d'intervention pour la prévention de la démence et du déclin cognitif suggèrent un bénéfice supérieur des interventions multi-domaines, alliant plusieurs changements de comportement et la gestion de plusieurs facteurs de risque et/ou la supplémentation en une combinaison de nutriments. Cependant, l'effet de telles interventions sur l'évolution clinique a été décevant dans beaucoup d'études, et la formule la plus efficace pour prévenir les pathologies du vieillissement cognitif n'a pas encore été proposée. En effet, c'est une recherche très complexe à mener. De nombreuses difficultés se

présentent dans l'implémentation des essais cliniques préventifs dans le cadre de la démence. Le long délai entre l'exposition à des facteurs de risques et l'incidence de la démence rend nécessaire un long suivi pour mesurer l'effet de l'intervention, induisant potentiellement des biais de sélection du fait du grand nombre de perdus de vue et à la baisse de l'adhésion à l'intervention décroissant au cours du temps, sans parler du coût engendré par un tel suivi (520). Aussi, les participants acceptant de participer à de tels essais cliniques sont souvent en meilleure santé, avec des habitudes de vie plus saines que ceux refusant (521), ce qui peut baisser l'efficacité de ces interventions du fait qu'une telle population participative est, par définition, à moindre risque de démence. Pour pallier cela, une approche plus personnalisée pourrait être plus efficace, avec l'inclusion dans ces essais de participants à plus haut risque, chez qui un changement de comportements ou une supplémentation seraient particulièrement profitable. Cette idée existe déjà dans la communauté scientifique depuis plus de dix ans, comme en témoigne l'article de M.C. Morris et C.C. Tangney paru en 2011 (205), recommandant de ne proposer une supplémentation en vitamines qu'aux personnes en situation de carence vitaminique. Pourtant, une telle approche n'a que rarement été mise en place au moment du recrutement des participants dans les essais de supplémentation et la problématique est le plus souvent traitée dans le cadre d'analyses post-hoc (9,132). De la même façon, pour les interventions multi-domaines, le mode de vie et l'état de santé initial est rarement pris en compte, sauf dans des analyses post-hoc. Les études suggèrent ainsi souvent une plus grande efficacité de l'intervention dans le groupe « à risque », composé de participants présentant plus de facteurs de risque de démence (9). Un essai clinique multi-domaine emblématique, l'essai FINGER, n'a toutefois inclus que des participants avec un score CAIDE élevé (plus grand que 7) et a montré une amélioration non négligeable (significative) des performances cognitives pendant deux ans. L'amélioration du ciblage des populations à risque, par simple prélèvement sanguin (et par exemple l'utilisation d'un indice de statut micro-nutritionnel comme élaboré dans le premier travail de cette thèse) dans les essais en supplémentation, ou par simple questionnaire pour les essais multi-domaines, pourrait se faire de manière peu coûteuse et améliorer l'efficacité des essais préventifs ; un effort doit être fait dans ce sens.

Ensuite, il pourrait être aussi envisagé de n'inclure dans les essais préventifs multi-domaines que les individus ayant un risque intrinsèque élevé de développer une démence ou de souffrir d'un déclin cognitif accéléré, de par leur susceptibilité

génétique par exemple (présence de l'allèle APOE4 ou score de risque génétique élevé). En effet, nous l'avons suggéré dans la dernière étude réalisée dans cette thèse, en montrant une association légèrement plus grande entre la combinaison de facteurs de risque modifiables et le vieillissement cognitif chez les personnes avec une haute susceptibilité génétique, et cela a été suggéré dans plusieurs autres études (454,456). Cela a aussi été montré dans des analyses post-hoc d'essais cliniques multi-domaines, où l'efficacité de l'intervention était souvent doublée chez les personnes porteuses de l'allèle APOE4 par rapport aux personnes non porteuses (9,10). Cependant, la mise en pratique de la sélection de tels groupe selon leur statut génétique s'avère compliquée d'un point de vue éthique : à l'inverse du calcul de scores de risque basés sur le mode de vie (calculé à partir de données recueillies dans de simples questionnaires), ou d'un indice micro-nutritionnel (calculé sur les mesures sanguines de quelques biomarqueurs plasmatiques), la connaissance du statut APOE4 n'est pas encore recommandée en pratique clinique, en l'absence de traitements étiologiques disponibles pour les patients, et elle ne peut évidemment pas être « imposée » aux individus. Aux Etats-Unis par exemple, le génotypage à grande échelle est presque la norme, n'importe qui peut se faire génotyper l'allèle APOE4, s'il le veut, pour une centaine de dollars (et un simple envoi d'une goutte de sang à des compagnies privées). Cependant, quand les individus apprennent le portage de cet allèle à risque, ils ne sont pas accompagnés et se voient désemparés face à une telle nouvelle. Il faut trouver rapidement une solution à leur proposer, et les rassurer. Cela n'est pas encore le cas en Europe, où le génotypage n'est pas utilisé par la population générale, du fait de normes culturelles et de l'existence d'un plus grand nombre de lois bioéthiques. Des réflexions éthiques doivent être faites avant de pouvoir implémenter une telle sélection, pourtant prometteuse, sur le statut génétique. Cela dépendra aussi de la mise à disposition, ou pas, d'un traitement à moyen terme.

A l'échelle populationnelle, dans la pratique clinique et dans la vie quotidienne

L'efficacité de la prévention des pathologies du vieillissement cérébral, et plus particulièrement de la démence, dépend de l'observance des individus dans les essais cliniques mais aussi de leur réceptivité aux messages de prévention en pratique clinique. Il existe pourtant un grand manque de connaissance autour de ce syndrome, impactant négativement la recherche et la participation à la recherche. Naïvement, en

recherchant la définition du mot démence dans le dictionnaire Larousse, on peut s'apercevoir que la définition de la démence clinique, est seulement en troisième position après « aliénation mentale, folie » et « conduite peu raisonnable, insensée, extravagante ». Force est de constater que, si le mot démence évoque dans l'esprit de la population générale la folie et les comportements déviants, il existe un grand manque de connaissance à l'égard de ce syndrome, une certaine stigmatisation et un certain tabou autour de cette maladie, pourtant très fréquente. Un grand sondage international réalisé chez plus de 70 000 participants du monde entier dans le cadre du rapport de 2019 de *l'Alzheimer's Disease International*, (ADI, fédération internationale regroupant les associations Alzheimer du monde entier), met en avant le manque de connaissance autour de ce syndrome. Ainsi, 2 personnes sur 3 pensaient que la démence était simplement causée par le vieillissement normal, 1 personne sur 4 pensait que rien ne pouvait être fait pour prévenir son apparition ou la retarder, et seulement la moitié pensaient que le mode de vie jouait un rôle dans son développement. Pourtant, cette maladie est très crainte, avec 95% des répondants déclarant penser la développer au cours de leur vie, et une enquête française montre que c'est la deuxième maladie la plus crainte après les cancers (522,523). Un effort est alors à faire au niveau de la population générale, pour mieux l'informer, la rassurer, et l'impliquer dans la recherche clinique et épidémiologique.

4.3. Conclusion

Cette thèse a abordé l'exposition environnementale, et plus particulièrement le mode de vie et la nutrition par des approches complémentaires, pour aider la caractérisation de stratégies préventives pour le vieillissement cérébral. De l'approche composé-candidat à des approches par profils, *a priori* ou *a posteriori*, nous avons mis à profit diverses données moléculaires – biomarqueurs nutritionnels plasmatiques, métabolomique ciblée et données de génotypage – pour appréhender au mieux les expositions d'intérêt et avancer dans la caractérisation d'outils de prévention de la démence. Nous avons caractérisé des combinaisons de biomarqueurs nutritionnels, des profils dans le métabolome alimentaire et des métabolites issus du microbiote associés au risque de démence ; en démontrant que les facteurs de risque modifiables pris dans leur ensemble et les principaux facteurs génétiques de la démence jouent indépendamment sur le risque. Nos résultats mettent en exergue le besoin de se défaire de l'approche traditionnelle de l'épidémiologie, par facteur isolé, et d'utiliser de nouvelles mesures permises par des techniques de mesure modernes (sciences omiques) et d'analyse (adaptées aux données de grande dimension) et surtout d'intégrer les différents éléments en jeu dans le vieillissement cérébral dans les études observationnelles (données sociodémographiques, de santé, de mode de vie, physiologiques et biologiques). En ce sens, il est essentiel de se mettre dans le prisme de la médecine personnalisée et de développer des stratégies de prévention de précision, et de continuer la recherche de populations vulnérables et à risque de souffrir de vieillissement cérébral pathologique. Cette médecine personnalisée est pour autant sous-tendue par des problématiques logistiques et éthiques qui doivent être réfléchies avant de pouvoir être mise en place à large échelle.

Références bibliographiques

1. Le-Puil I. Haute Autorité de santé : Guide parcours de soins des patients présentant un trouble neurocognitif associé à la maladie d'Alzheimer ou à une maladie apparentée. 2018.
2. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition. 1994.
3. Alzheimer's Association. 2022 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* avr 2022;18(4):700-89.
4. Nichols E, Steinmetz JD, Vollset SE, Fukutaki K, Chalek J, Abd-Allah F, et al. Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Public Health.* févr 2022;7(2):e105-25.
5. 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.
6. Scarmeas N, Anastasiou CA, Yannakoulia M. Nutrition and prevention of cognitive impairment. *The Lancet Neurology.* nov 2018;17(11):1006-15.
7. Chaltiel D, Adjibade M, Deschamps V, Touvier M, Hercberg S, Julia C, et al. Programme National Nutrition Santé - guidelines score 2 (PNNS-GS2): development and validation of a diet quality score reflecting the 2017 French dietary guidelines. *The British journal of nutrition.* 14 août 2019;122(3).
8. Reuben A, Moffitt TE, Abraham WC, Ambler A, Elliott ML, Hariri AR, et al. Improving risk indexes for Alzheimer's disease and related dementias for use in midlife. *Brain Communications.* 1 sept 2022;4(5):fcac223.
9. 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. *Lancet Neurol.* mai 2017;16(5):377-89.
10. Solomon A, Turunen H, Ngandu T, Peltonen M, Levälahti E, Helisalmi S, et al. Effect of the Apolipoprotein E Genotype on Cognitive Change During a Multidomain Lifestyle Intervention: A Subgroup Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* 1 avr 2018;75(4):462.
11. Vieillissement et santé [Internet]. [cité 28 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>
12. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The Hallmarks of Aging. *Cell.* juin 2013;153(6):1194-217.

13. Smith SM, Elliott LT, Alfaro-Almagro F, McCarthy P, Nichols TE, Douaud G, et al. Brain aging comprises many modes of structural and functional change with distinct genetic and biophysical associations. *Elife*. 5 mars 2020;9:e52677.
14. Peters R. Ageing and the brain. *Postgrad Med J*. 1 févr 2006;82(964):84-8.
15. Brenowitz WD, Keene CD, Hawes SE, Hubbard RA, Longstreth WT, Woltjer RL, et al. Alzheimer's disease neuropathologic change, Lewy body disease, and vascular brain injury in clinic- and community-based samples. *Neurobiol Aging*. mai 2017;53:83-92.
16. Kapasi A, DeCarli C, Schneider JA. Impact of multiple pathologies on the threshold for clinically overt dementia. *Acta Neuropathol*. août 2017;134(2):171-86.
17. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*. févr 1991;349(6311):704-6.
18. Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature*. août 1995;376(6543):775-8.
19. Harvey RJ, Skelton-Robinson M, Rossor MN. The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. sept 2003;74(9):1206-9.
20. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*. juin 2016;15(7):673-84.
21. Hunt A, Schönknecht P, Henze M, Seidl U, Haberkorn U, Schröder J. Reduced cerebral glucose metabolism in patients at risk for Alzheimer's disease. *Psychiatry Res Neuroimaging*. juill 2007;155(2):147-54.
22. Ward A, Tardiff S, Dye C, Arrighi HM. Rate of Conversion from Prodromal Alzheimer's Disease to Alzheimer's Dementia: A Systematic Review of the Literature. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra*. 28 sept 2013;3(1):320-32.
23. Zhang B, Gaiteri C, Bodea LG, Wang Z, McElwee J, Podtelezhnikov AA, et al. Integrated systems approach identifies genetic nodes and networks in late-onset Alzheimer's disease. *Cell*. 25 avr 2013;153(3):707-20.
24. Bradshaw EM, Chibnik LB, Keenan BT, Ottoboni L, Raj T, Tang A, et al. CD33 Alzheimer's disease locus: altered monocyte function and amyloid biology. *Nat Neurosci*. juill 2013;16(7):848-50.
25. Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, Carrasquillo M, Rogaeva E, Majounie E, et al. TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 10 janv 2013;368(2):117-27.
26. Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. avr 2015;14(4):388-405.
27. Christen Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr*. févr 2000;71(2):621S-629S.

28. Huang WJ, Zhang X, Chen WW. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biomedical Reports*. mai 2016;4(5):519-22.
29. Galasko D, Montine TJ. Biomarkers of oxidative damage and inflammation in Alzheimer's disease. *Biomark Med*. févr 2010;4(1):27-36.
30. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. mai 2011;7(3):280-92.
31. Inserm [Internet]. [cité 28 juin 2023]. Maladie d'Alzheimer · Inserm, La science pour la santé. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/alzheimer-maladie/>
32. Rochoy M, Chazard E, Bordet R. Epidemiology of neurocognitive disorders in France. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil*. 2018;17(1):99-105.
33. United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World population ageing 2020 Highlights: living arrangements of older persons. New York: United Nations; 2020.
34. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2018 - The state of the art of dementia research: New frontiers. London: Alzheimer's Disease International. 2018;
35. Wu YT, Beiser AS, Breteler MMB, Fratiglioni L, Helmer C, Hendrie HC, et al. The changing prevalence and incidence of dementia over time — current evidence. *Nat Rev Neurol*. juin 2017;13(6):327-39.
36. Dementia [Internet]. [cité 29 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
37. Prince M, Ali GC, Guerchet M, Prina AM, Albanese E, Wu YT. Recent global trends in the prevalence and incidence of dementia, and survival with dementia. *Alz Res Therapy*. déc 2016;8(1):23.
38. World Health Organization. Risk reduction of cognitive decline and dementia: WHO guidelines [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2019 [cité 6 mars 2023]. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/312180>
39. GBD 2019 Collaborators, Nichols E, Abd-Allah F, Abdoli A, Abosetugn AE, Abrha WA, et al. Global mortality from dementia: Application of a new method and results from the Global Burden of Disease Study 2019. *A&D Transl Res & Clin Interv*. janv 2021;7(1).
40. Les 10 principales causes de mortalité [Internet]. [cité 29 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
41. Rizzuto D, Bellocco R, Kivipelto M, Clerici F, Wimo A, Fratiglioni L. Dementia After Age 75: Survival in Different Severity Stages and Years of Life Lost. *Curr Alzheimer Res*. 1 août 2012;9(7):795-800.
42. Papastavrou E, Kalokerinou A, Papacostas SS, Tsangari H, Sourtzi P. Caring for a relative with dementia: family caregiver burden. *J Adv Nurs*. juin 2007;58(5):446-57.

43. 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(02):175.
44. Mura T, Dartigues JF, Berr C. How many dementia cases in France and Europe? Alternative projections and scenarios 2010-2050: Future numbers of dementia cases. *Eur J Neurol.* févr 2010;17(2):252-9.
45. El-Hayek YH, Wiley RE, Khoury CP, Daya RP, Ballard C, Evans AR, et al. Tip of the Iceberg: Assessing the Global Socioeconomic Costs of Alzheimer's Disease and Related Dementias and Strategic Implications for Stakeholders. *JAD.* 23 juill 2019;70(2):323-41.
46. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2015, The Global Impact of Dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends. London: Alzheimer's Disease International. 2015;
47. Van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, Bateman RJ, Chen C, Gee M, et al. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med.* 5 janv 2023;388(1):9-21.
48. Ralph SJ, Espinet AJ. Increased All-Cause Mortality by Antipsychotic Drugs: Updated Review and Meta-Analysis in Dementia and General Mental Health Care. *JADR.* 2 févr 2018;2(1):1-26.
49. Maust DT, Kim HM, Seyfried LS, Chiang C, Kavanagh J, Schneider LS, et al. Antipsychotics, Other Psychotropics, and the Risk of Death in Patients With Dementia: Number Needed to Harm. *JAMA Psychiatry.* 1 mai 2015;72(5):438.
50. Cummings J, Lee G, Nahed P, Kambar MEZN, Zhong K, Fonseca J, et al. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2022. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions.* janv 2022;8(1).
51. 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. *Alzheimers Dement.* sept 2018;14(9):1171-83.
52. Neu SC, Pa J, Kukull W, Beekly D, Kuzma A, Gangadharan P, et al. Apolipoprotein E Genotype and Sex Risk Factors for Alzheimer Disease: A Meta-analysis. *JAMA Neurol.* 1 oct 2017;74(10):1178.
53. Mielke MM, Milic NM, Weissgerber TL, White WM, Kantarci K, Mosley TH, et al. Impaired Cognition and Brain Atrophy Decades After Hypertensive Pregnancy Disorders. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* févr 2016;9(2_suppl_1):S70-6.
54. Kantarci K, Lowe VJ, Lesnick TG, Tosakulwong N, Bailey KR, Fields JA, et al. Early Postmenopausal Transdermal 17 β -Estradiol Therapy and Amyloid- β Deposition. Tierney M, éditeur. *JAD.* 13 juill 2016;53(2):547-56.
55. Rentz DM, Weiss BK, Jacobs EG, Cherkerzian S, Klubanski A, Remington A, et al. Sex differences in episodic memory in early midlife: impact of reproductive aging. *Menopause.* avr 2017;24(4):400-8.

56. Giedd JN, Raznahan A, Mills KL, Lenroot RK. Review: magnetic resonance imaging of male/female differences in human adolescent brain anatomy. *Biol sex dif.* 2012;3(1):19.
57. Hohman TJ, Dumitrescu L, Barnes LL, Thambisetty M, Beecham G, Kunkle B, et al. Sex-Specific Association of Apolipoprotein E With Cerebrospinal Fluid Levels of Tau. *JAMA Neurol.* 1 août 2018;75(8):989.
58. Koran MEI, Wagener M, Hohman TJ. Sex differences in the association between AD biomarkers and cognitive decline. *Brain Imaging Behav.* févr 2017;11(1):205-13.
59. Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, et al. Role of Genes and Environments for Explaining Alzheimer Disease. *Arch Gen Psychiatry.* 1 févr 2006;63(2):168.
60. Iacono D, Feltis GC. Impact of Apolipoprotein E gene polymorphism during normal and pathological conditions of the brain across the lifespan. *Aging.* 24 janv 2019;11(2):787-816.
61. Michaelson DM. *APOE ε4*: The most prevalent yet understudied risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* nov 2014;10(6):861-8.
62. Michaelson DM. *APOE ε4*: The most prevalent yet understudied risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia.* nov 2014;10(6):861-8.
63. Bussy A, Snider BJ, Coble D, Xiong C, Fagan AM, Cruchaga C, et al. Effect of apolipoprotein E4 on clinical, neuroimaging, and biomarker measures in noncarrier participants in the Dominantly Inherited Alzheimer Network. *Neurobiology of Aging.* mars 2019;75:42-50.
64. Iacono D, Feltis GC. Impact of Apolipoprotein E gene polymorphism during normal and pathological conditions of the brain across the lifespan. *aging.* 24 janv 2019;11(2):787-816.
65. Huang Y, Mahley RW. Apolipoprotein E: Structure and function in lipid metabolism, neurobiology, and Alzheimer's diseases. *Neurobiol Dis.* déc 2014;72:3-12.
66. Singh PP, Singh M, Mastana SS. APOE distribution in world populations with new data from India and the UK. *Ann Hum Biol.* janv 2006;33(3):279-308.
67. Reitz C, Pericak-Vance MA, Foroud T, Mayeux R. A global view of the genetic basis of Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* mai 2023;19(5):261-77.
68. Winblad B, Amouyel P, Andrieu S, Ballard C, Brayne C, Brodaty H, et al. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol.* avr 2016;15(5):455-532.
69. Bush WS, Moore JH. Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. Lewitter F, Kann M, éditeurs. *PLoS Comput Biol.* 27 déc 2012;8(12):e1002822.
70. Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE, Kleindan L, Moreno-Grau S, Amin N, et al. New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nat Genet.* 4 avr 2022;54:412-36.

71. Rojas I, Moreno-Grau S, Tesi N, Grenier-Boley B, Andrade V. Common variants in Alzheimer's disease and risk stratification by polygenic risk scores. *Nat Commun.* 2021;12:3417.
72. Meng X, D'Arcy C. Education and Dementia in the Context of the Cognitive Reserve Hypothesis: A Systematic Review with Meta-Analyses and Qualitative Analyses. Laks J, éditeur. *PLoS ONE.* 4 juin 2012;7(6):e38268.
73. Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K, Brayne C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol.* août 2014;13(8):788-94.
74. Kremen WS, Beck A, Elman JA, Gustavson DE, Reynolds CA, Tu XM, et al. Influence of young adult cognitive ability and additional education on later-life cognition. *PNAS.* 5 févr 2019;116(6):2021-6.
75. Cadar D, Lassale C, Davies H, Llewellyn DJ, Batty GD, Steptoe A. Individual and Area-Based Socioeconomic Factors Associated With Dementia Incidence in England: Evidence From a 12-Year Follow-up in the English Longitudinal Study of Ageing. *JAMA Psychiatry.* 1 juill 2018;75(7):723.
76. Kivimäki M, Batty GD, Pentti J, Nyberg ST, Lindbohm JV, Ervasti J, et al. Modifications to residential neighbourhood characteristics and risk of 79 common health conditions: a prospective cohort study. *Lancet Public Health.* juin 2021;6(6):e396-407.
77. Murayama H, Sugiyama M, Inagaki H, Ura C, Miyamae F, Eda Hiro A, et al. The Differential Effects of Age on the Association Between Childhood Socioeconomic Disadvantage and Subjective Symptoms of Dementia Among Older Japanese People. *Journal of Epidemiology.* 5 juill 2019;29(7):241-6.
78. Marden JR, Tchetgen Tchetgen EJ, Kawachi I, Glymour MM. Contribution of Socioeconomic Status at 3 Life-Course Periods to Late-Life Memory Function and Decline: Early and Late Predictors of Dementia Risk. *AJE.* 1 oct 2017;186(7):805-14.
79. Korhonen K, Einiö E, Leinonen T, Tarkiainen L, Martikainen P. Midlife socioeconomic position and old-age dementia mortality: a large prospective register-based study from Finland. *BMJ Open.* janv 2020;10(1):e033234.
80. Deckers K, Cadar D, Van Boxtel MPJ, Verhey FRJ, Steptoe A, Köhler S. Modifiable Risk Factors Explain Socioeconomic Inequalities in Dementia Risk: Evidence from a Population-Based Prospective Cohort Study. *JAD.* 17 sept 2019;71(2):549-57.
81. Brain J, Greene L, Tang EYH, Louise J, Salter A, Beach S, et al. Cardiovascular disease, associated risk factors, and risk of dementia: An umbrella review of meta-analyses. *Front Epidemiol.* 9 févr 2023;3:1095236.
82. Oudin A, Segersson D, Adolfsson R, Forsberg B. Association between air pollution from residential wood burning and dementia incidence in a longitudinal study in Northern Sweden. Larcombe A, éditeur. *PLoS ONE.* 13 juin 2018;13(6):e0198283.

83. Oudin A, Forsberg B, Adolfsson AN, Lind N, Modig L, Nordin M, et al. Traffic-Related Air Pollution and Dementia Incidence in Northern Sweden: A Longitudinal Study. *Environ Health Perspect.* mars 2016;124(3):306-12.
84. Carey IM, Anderson HR, Atkinson RW, Beevers SD, Cook DG, Strachan DP, et al. Are noise and air pollution related to the incidence of dementia? A cohort study in London, England. *BMJ Open.* sept 2018;8(9):e022404.
85. Chen H, Kwong JC, Copes R, Tu K, Villeneuve PJ, Van Donkelaar A, et al. Living near major roads and the incidence of dementia, Parkinson's disease, and multiple sclerosis: a population-based cohort study. *The Lancet.* févr 2017;389(10070):718-26.
86. Power MC, Adar SD, Yanosky JD, Weuve J. Exposure to air pollution as a potential contributor to cognitive function, cognitive decline, brain imaging, and dementia: A systematic review of epidemiologic research. *NeuroToxicology.* sept 2016;56:235-53.
87. Bowe B, Xie Y, Yan Y, Al-Aly Z. Burden of Cause-Specific Mortality Associated With PM_{2.5} Air Pollution in the United States. *JAMA Netw Open.* 20 nov 2019;2(11):e1915834.
88. Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci.* juin 2009;10(6):434-45.
89. Bruns J, Hauser WA. The Epidemiology of Traumatic Brain Injury: A Review. *Epilepsia.* 26 sept 2003;44:2-10.
90. Nordström A, Nordström P. Traumatic brain injury and the risk of dementia diagnosis: A nationwide cohort study. Menon D, éditeur. *PLoS Med.* 30 janv 2018;15(1):e1002496.
91. Fann JR, Ribe AR, Pedersen HS, Fenger-Grøn M, Christensen J, Benros ME, et al. Long-term risk of dementia among people with traumatic brain injury in Denmark: a population-based observational cohort study. *The Lancet Psychiatry.* mai 2018;5(5):424-31.
92. Zanier ER, Bertani I, Sammalı E, Pischiutta F, Chiaravalloti MA, Vegliante G, et al. Induction of a transmissible tau pathology by traumatic brain injury. *Brain.* 1 août 2018;141(9):2685-99.
93. Johnson VE, Stewart JE, Begbie FD, Trojanowski JQ, Smith DH, Stewart W. Inflammation and white matter degeneration persist for years after a single traumatic brain injury. *Brain.* janv 2013;136(1):28-42.
94. Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Widespread Tau and Amyloid-Beta Pathology Many Years After a Single Traumatic Brain Injury in Humans: Long-Term AD-Like Pathology after Single TBI. *Brain Pathology.* mars 2012;22(2):142-9.
95. Prince M, Albanese E, Guerchet M, Prina AM. World Alzheimer Report 2014 : dementia and risk reduction, an analysis of protective and modifiable factors. Alzheimer's Disease International, London. 2014;
96. Bennett S, Thomas AJ. Depression and dementia: Cause, consequence or coincidence? *Maturitas.* oct 2014;79(2):184-90.

97. Dafsari FS, Jessen F. Depression—an underrecognized target for prevention of dementia in Alzheimer’s disease. *Transl Psychiatry*. 20 mai 2020;10(1):160.
98. Seliger SL, Sarnak MJ. Subclinical Vascular Disease of the Brain in Dialysis Patients. *AJKD*. juill 2007;50(1):8-10.
99. Xu H, Garcia-Ptacek S, Trevisan M, Evans M, Lindholm B, Eriksdotter M, et al. Kidney Function, Kidney Function Decline, and the Risk of Dementia in Older Adults: A Registry-Based Study. *Neurology*. 15 juin 2021;96(24):e2956-65.
100. Ikram MA, Vernooij MW, Hofman A, Niessen WJ, Van Der Lugt A, Breteler MMB. Kidney Function Is Related to Cerebral Small Vessel Disease. *Stroke*. janv 2008;39(1):55-61.
101. Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer’s disease prevalence. *The Lancet Neurology*. sept 2011;10(9):819-28.
102. Mogi M, Horiuchi M. Clinical Interaction between Brain and Kidney in Small Vessel Disease. *Cardiol Res Pract*. 2011;2011:1-5.
103. Madero M, Gul A, Sarnak MJ. Review: Cognitive Function in Chronic Kidney Disease: COGNITIVE FUNCTION IN CKD. *Seminars in Dialysis*. 22 oct 2007;21(1):29-37.
104. Deckers K, Camerino I, Van Boxtel MPJ, Verhey FRJ, Irving K, Brayne C, et al. Dementia risk in renal dysfunction: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Neurology*. 10 janv 2017;88(2):198-208.
105. Etgen T, Chonchol M, Förstl H, Sander D. Chronic Kidney Disease and Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Nephrol*. 2012;35(5):474-82.
106. Singh-Manoux A, Oumarou-Ibrahim A, Machado-Fragua MD, Dumurgier J, Brunner EJ, Kivimaki M, et al. Association between kidney function and incidence of dementia: 10-year follow-up of the Whitehall II cohort study. *Age and Ageing*. 6 janv 2022;51(1):afab259.
107. Bugnicourt JM, Godefroy O, Chillon JM, Choukroun G, Massy ZA. Cognitive Disorders and Dementia in CKD: The Neglected Kidney-Brain Axis. *JASN*. mars 2013;24(3):353-63.
108. Loughrey DG, Kelly ME, Kelley GA, Brennan S, Lawlor BA. Association of Age-Related Hearing Loss With Cognitive Function, Cognitive Impairment, and Dementia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 1 févr 2018;144(2):115.
109. Wei J, Hu Y, Zhang L, Hao Q, Yang R, Lu H, et al. Hearing Impairment, Mild Cognitive Impairment, and Dementia: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra*. 21 déc 2017;7(3):440-52.
110. Amieva H, Ouvrard C, Meillon C, Rullier L, Dartigues JF. Death, Depression, Disability, and Dementia Associated With Self-reported Hearing Problems: A 25-Year Study. *J Gerontol*. 11 sept 2018;73(10):1383-9.

111. Ray J, Popli G, Fell G. Association of Cognition and Age-Related Hearing Impairment in the English Longitudinal Study of Ageing. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 1 oct 2018;144(10):876.
112. Jiang F, Mishra SR, Shrestha N, Ozaki A, Virani SS, Bright T, et al. Association between hearing aid use and all-cause and cause-specific dementia: an analysis of the UK Biobank cohort. *The Lancet Public Health.* mai 2023;8(5):e329-38.
113. Griffiths TD, Lad M, Kumar S, Holmes E, McMurray B, Maguire EA, et al. How Can Hearing Loss Cause Dementia? *Neuron.* nov 2020;108(3):401-12.
114. Dawes P, Emsley R, Cruickshanks KJ, Moore DR, Fortnum H, Edmondson-Jones M, et al. Hearing Loss and Cognition: The Role of Hearing Aids, Social Isolation and Depression. Johnson B, éditeur. *PLoS ONE.* 11 mars 2015;10(3):e0119616.
115. Cunnane S, Nugent S, Roy M, Courchesne-Loyer A, Croteau E, Tremblay S, et al. Brain fuel metabolism, aging, and Alzheimer's disease. *Nutrition.* janv 2011;27(1):3-20.
116. Santos CY, Snyder PJ, Wu W, Zhang M, Echeverria A, Alber J. Pathophysiologic relationship between Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and cardiovascular risk: A review and synthesis. *Alzheimers Dement.* janv 2017;7(1):69-87.
117. Dominguez LJ, Barbagallo M. Nutritional prevention of cognitive decline and dementia. *Acta Biomed.* 2018;89(2):276-90.
118. Polavarapu A, Hasbani D. Neurological Complications of Nutritional Disease. *Semin Pediatr Neurol.* févr 2017;24(1):70-80.
119. ANSES. Apports en acides gras de la population vivant en France et comparaison aux apports nutritionnels conseillés définis en 2010. 2015. Saisine n°2014-SA-0117.
120. ANSES. Actualisation des repères du PNNS : révision des repères de consommations alimentaires. 2016. Saisine n°2012-SA-0103.
121. ANSES. Les références nutritionnelles en vitamines et minéraux. 2021 p. 278. Saisine n°2018-SA-0238.
122. McKenzie BL, Coyle DH, Santos JA, Burrows T, Rosewarne E, Peters SAE, et al. Investigating sex differences in the accuracy of dietary assessment methods to measure energy intake in adults: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 8 mai 2021;113(5):1241-55.
123. Kipnis V, Midthune D, Freedman L, Bingham S, Day NE, Riboli E, et al. Bias in dietary-report instruments and its implications for nutritional epidemiology. *Public Health Nutr.* déc 2002;5(6A):915-23.
124. Woodside JV, Draper J, Lloyd A, McKinley MC. Use of biomarkers to assess fruit and vegetable intake. *Proc Nutr Soc.* août 2017;76(3):308-15.
125. O'Brien JS, Sampson EL. Lipid composition of the normal human brain: gray matter, white matter, and myelin. *JLR.* oct 1965;6(4):537-44.

126. Sastry PS. Lipids of nervous tissue: Composition and metabolism. *Prog Lipid Res.* janv 1985;24(2):69-176.
127. Thomas A, Baillet M, Proust-Lima C, Féart C, Foubert-Samier A, Helmer C, et al. Blood polyunsaturated omega-3 fatty acids, brain atrophy, cognitive decline, and dementia risk. *Alzheimers Dement* [Internet]. 8 oct 2020 [cité 11 janv 2021]; Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/alz.12195>
128. Ammann EM, Pottala JV, Robinson JG, Espeland MA, Harris WS. Erythrocyte omega-3 fatty acids are inversely associated with incident dementia: Secondary analyses of longitudinal data from the Women's Health Initiative Memory Study (WHIMS). *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids.* juin 2017;121:68-75.
129. Alex A, Abbott KA, McEvoy M, Schofield PW, Garg ML. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids and cognitive decline in non-demented adults: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews.* 1 juill 2020;78(7):563-78.
130. Samieri C, Morris MC, Bennett DA, Berr C, Amouyel P, Dartigues JF, et al. Fish Intake, Genetic Predisposition to Alzheimer Disease, and Decline in Global Cognition and Memory in 5 Cohorts of Older Persons. *AJE.* 1 mai 2018;187(5):933-40.
131. Brainard JS, Jimoh OF, Deane KHO, Biswas P, Donaldson D, Maas K, et al. Omega-3, Omega-6, and Polyunsaturated Fat for Cognition: Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Trials. *JAMDA.* oct 2020;21(10):1439-1450.e21.
132. Stott DJ, MacIntosh G, Lowe GD, Rumley A, McMahon AD, Langhorne P, et al. Randomized controlled trial of homocysteine-lowering vitamin treatment in elderly patients with vascular disease. *AJCN.* déc 2005;82(6):1320-6.
133. Mooijaart SP, Gussekloo J, Frölich M, Jolles J, Stott DJ, Westendorp RG, et al. Homocysteine, vitamin B-12, and folic acid and the risk of cognitive decline in old age: the Leiden 85-Plus Study. *AJCN.* oct 2005;82(4):866-71.
134. Smith AD, Refsum H, Bottiglieri T, Fenech M, Hooshmand B, McCaddon A, et al. Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement. *JAD.* 20 févr 2018;62(2):561-70.
135. Hossain KS, Amarasena S, Mayengbam S. B Vitamins and Their Roles in Gut Health. *Microorganisms.* 7 juin 2022;10(6):1168.
136. Agnew-Blais JC, Wassertheil-Smoller S, Kang JH, Hogan PE, Coker LH, Snetselaar LG, et al. Folate, Vitamin B-6, and Vitamin B-12 Intake and Mild Cognitive Impairment and Probable Dementia in the Women's Health Initiative Memory Study. *J Acad Nutr.* févr 2015;115(2):231-41.
137. Nelson C, Wengreen HJ, Munger RG, Corcoran CD. Dietary folate, vitamin B12, vitamin B6 and incident Alzheimer's disease : the cache county memory, health, and aging study. *J Nutr Health Aging.* 2013;13(10):899-905.
138. Lefèvre-Arbogast S, Féart C, Dartigues JF, Helmer C, Letenneur L, Samieri C. Dietary B Vitamins and a 10-Year Risk of Dementia in Older Persons. *Nutrients.* 26 nov 2016;8(12):761.

139. Luchsinger JA, Tang MX, Miller J, Green R, Mayeux R. Relation of Higher Folate Intake to Lower Risk of Alzheimer Disease in the Elderly. *Arch Neurol.* 1 janv 2007;64(1):86.
140. Corrada MM, Kawas CH, Hallfrisch J, Muller D, Brookmeyer R. Reduced risk of Alzheimer's disease with high folate intake: The Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Alzheimers Dement.* juill 2005;1(1):11-8.
141. Zhang C, Luo J, Yuan C, Ding D. Vitamin B12, B6, or Folate and Cognitive Function in Community-Dwelling Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAD.* 15 sept 2020;77(2):781-94.
142. Wang Z, Zhu W, Xing Y, Jia J, Tang Y. B vitamins and prevention of cognitive decline and incident dementia: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews.* 10 mars 2022;80(4):931-49.
143. ANSES. Etude individuelle nationale des consommations alimentaires 3 (INCA3). 2017. Report No.: Saisine n°2014-SA-0234.
144. Santé publique France. Étude de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition (Esteban), 2014-2016. Volet Nutrition. Chapitre Corpulence. In 2017. p. 2.
145. Feart C, Helmer C, Merle B, Herrmann FR, Annweiler C, Dartigues JF, et al. Associations of lower vitamin D concentrations with cognitive decline and long-term risk of dementia and Alzheimer's disease in older adults. *Alzheimers Dement.* nov 2017;13(11):1207-16.
146. Littlejohns TJ, Henley WE, Lang IA, Annweiler C, Beauchet O, Chaves PHM, et al. Vitamin D and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Neurology.* 2 sept 2014;83(10):920-8.
147. Chen H, Xue W, Li J, Fu K, Shi H, Zhang B, et al. 25-Hydroxyvitamin D Levels and the Risk of Dementia and Alzheimer's Disease: A Dose-Response Meta-Analysis. *Front Aging Neurosci.* 9 nov 2018;10:368.
148. Kalra A, Teixeira AL, Diniz BS. Association of vitamin D levels with incident all-cause dementia in longitudinal observational studies : a systematic review and meta-analysis. *J Prev Alz Dis.* 2019;1-7.
149. Chai B, Gao F, Wu R, Dong T, Gu C, Lin Q, et al. Vitamin D deficiency as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease: an updated meta-analysis. *BMC Neurol.* déc 2019;19(1):284.
150. Du Y, Liang F, Zhang L, Liu J, Dou H. Vitamin D Supplement for Prevention of Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Ther.* 26 déc 2020;28(6):e638-48.
151. Khachik F, Beecher GR, Lusby WR, Smith JC. Separation and quantification of carotenoids and their oxidation products in the extracts of human plasma. *Annal Chem.* 1992;64(18).
152. Khachik F. Distribution and metabolism of dietary carotenoids in humans as a criterion for development of nutritional supplements. *Pure Appl Chem.* 1 janv 2006;78(8):1551-7.

153. Davinelli S, Ali S, Solfrizzi V, Scapagnini G, Corbi G. Carotenoids and Cognitive Outcomes: A Meta-Analysis of Randomized Intervention Trials. *Antioxidants*. 2 févr 2021;10(2):223.
154. Beydoun MA, Beydoun HA, Fanelli-Kuczmarski MT, Weiss J, Hossain S, Canas JA, et al. Association of Serum Antioxidant Vitamins and Carotenoids With Incident Alzheimer Disease and All-Cause Dementia Among US Adults. *Neurology*. 24 mai 2022;98(21):e2150-62.
155. Yuan C, Chen H, Wang Y, Schneider JA, Willett WC, Morris MC. Dietary carotenoids related to risk of incident Alzheimer dementia (AD) and brain AD neuropathology: a community-based cohort of older adults. *AJCN*. janv 2021;113(1):200-8.
156. Feart C, Letenneur L, Helmer C, Samieri C, Schalch W, Etheve S, et al. Plasma Carotenoids Are Inversely Associated With Dementia Risk in an Elderly French Cohort. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. mai 2016;71(5):683-8.
157. Davinelli S, Ali S, Solfrizzi V, Scapagnini G, Corbi G. Carotenoids and Cognitive Outcomes: A Meta-Analysis of Randomized Intervention Trials. *Antioxidants*. 2 févr 2021;10(2):223.
158. Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond. *AJCN*. janv 2005;81(1):215S-217S.
159. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1 mai 2004;79(5):727-47.
160. Letenneur L, Proust-Lima C, Le Gouge A, Dartigues J, Barberger-Gateau P. Flavonoid Intake and Cognitive Decline over a 10-Year Period. *AJE*. 10 mars 2007;165(12):1364-71.
161. Commenges D, Scotet V, Renaud S, Jacqmin-Gadda H, Barberger-Gateau P. Intake of flavonoids and risk of dementia. *AJE*. 2000;16:357-63.
162. Kesse-Guyot E, Andreeva VA, Jeandel C, Ferry M, Hercberg S, Galan P. A Healthy Dietary Pattern at Midlife Is Associated with Subsequent Cognitive Performance. *J Nutr*. mai 2012;142(5):909-15.
163. Devore EE, Kang JH, Breteler MMB, Grodstein F. Dietary intakes of berries and flavonoids in relation to cognitive decline. *Ann Neurol*. juill 2012;72(1):135-43.
164. Samieri C, Sun Q, Townsend MK, Rimm EB, Grodstein F. Dietary flavonoid intake at midlife and healthy aging in women. *AJCN*. déc 2014;100(6):1489-97.
165. Yeh TS, Yuan C, Ascherio A, Rosner BA, Willett WC, Blacker D. Long-term Dietary Flavonoid Intake and Subjective Cognitive Decline in US Men and Women. *Neurology*. 7 sept 2021;97(10):e1041-56.
166. Lefèvre-Arbogast S, Gaudout D, Bensalem J, Letenneur L, Dartigues JF, Hejblum BP, et al. Pattern of polyphenol intake and the long-term risk of dementia in older persons. *Neurology*. 29 mai 2018;90(22):e1979-88.

167. Yang W, Cui K, Li X, Zhao J, Zeng Z, Song R, et al. Effect of Polyphenols on Cognitive Function: Evidence from Population-based Studies and Clinical Trials. *J Nutr Health Aging*. déc 2021;25(10):1190-204.
168. Krikorian R, Boespflug EL, Fleck DE, Stein AL, Wightman JD, Shidler MD, et al. Concord Grape Juice Supplementation and Neurocognitive Function in Human Aging. *J Agric Food Chem*. 13 juin 2012;60(23):5736-42.
169. Kent K, Charlton K, Roodenrys S, Batterham M, Potter J, Traynor V, et al. Consumption of anthocyanin-rich cherry juice for 12 weeks improves memory and cognition in older adults with mild-to-moderate dementia. *Eur J Nutr*. févr 2017;56(1):333-41.
170. Miller MG, Hamilton DA, Joseph JA, Shukitt-Hale B. Dietary blueberry improves cognition among older adults in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Nutr*. avr 2018;57(3):1169-80.
171. Kean RJ, Lamport DJ, Dodd GF, Freeman JE, Williams CM, Ellis JA, et al. Chronic consumption of flavanone-rich orange juice is associated with cognitive benefits: an 8-wk, randomized, double-blind, placebo-controlled trial in healthy older adults. *Am J Clin Nutr*. mars 2015;101(3):506-14.
172. Mastroiacovo D, Kwik-Urbe C, Grassi D, Necozone S, Raffaele A, Pistacchio L, et al. Cocoa flavanol consumption improves cognitive function, blood pressure control, and metabolic profile in elderly subjects: the Cocoa, Cognition, and Aging (CoCoA) Study--a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. mars 2015;101(3):538-48.
173. Arab H, Mahjoub S, Hajian-Tilaki K, Moghadasi M. The effect of green tea consumption on oxidative stress markers and cognitive function in patients with Alzheimer's disease: A prospective intervention study. *Caspian J Intern Med*. 2016;7(3):188-94.
174. Ide K, Yamada H, Takuma N, Kawasaki Y, Harada S, Nakase J, et al. Effects of green tea consumption on cognitive dysfunction in an elderly population: a randomized placebo-controlled study. *Nutr J*. 4 mai 2016;15(1):49.
175. Köbe T, Witte AV, Schnelle A, Tesky VA, Pantel J, Schuchardt JP, et al. Impact of Resveratrol on Glucose Control, Hippocampal Structure and Connectivity, and Memory Performance in Patients with Mild Cognitive Impairment. *Front Neurosci*. 2017;11:105.
176. Ringman JM, Frautschy SA, Teng E, Begum AN, Bardens J, Beigi M, et al. Oral curcumin for Alzheimer's disease: tolerability and efficacy in a 24-week randomized, double blind, placebo-controlled study. *Alzheimers Res Ther*. 2012;4(5):43.
177. Gleason CE, Fischer BL, Dowling NM, Setchell KDR, Atwood CS, Carlsson CM, et al. Cognitive Effects of Soy Isoflavones in Patients with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2015;47(4):1009-19.
178. Schulz CA, Oluwagbemigun K, Nöthlings U. Advances in dietary pattern analysis in nutritional epidemiology. *Eur J Nutr*. déc 2021;60(8):4115-30.
179. National Research Council (US) Subcommittee on the Tenth Edition of the Recommended Dietary Allowances. *Recommended Dietary Allowances: 10th Edition*. Washington (DC): National Academies Press (US); 1989

180. Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology: *Curr Opin Lipid.* févr 2002;13(1):3-9.
181. Dawson-Hughes B, Harris SS, Lichtenstein AH, Dolnikowski G, Palermo NJ, Rasmussen H. Dietary fat increases vitamin D-3 absorption. *J Acad Nutr Diet.* févr 2015;115(2):225-30.
182. Nakagawa K, Kiko T, Hatade K, Sookwong P, Arai H, Miyazawa T. Antioxidant effect of lutein towards phospholipid hydroperoxidation in human erythrocytes. *Br J Nutr.* nov 2009;102(9):1280-4.
183. Berti V, Murray J, Davies M, Spector N, Tsui WH, Li Y, et al. Nutrient patterns and brain biomarkers of Alzheimer's disease in cognitively normal individuals. *J Nutr Health Aging.* avr 2015;19(4):413-23.
184. Gu Y, Vorburger RS, Gazes Y, Habeck CG, Stern Y, Luchsinger JA, et al. White matter integrity as a mediator in the relationship between dietary nutrients and cognition in the elderly: White Matter Integrity. *Ann Neurol.* juin 2016;79(6):1014-25.
185. Gu Y, Manly JJ, Mayeux RP, Brickman AM. An Inflammation-related Nutrient Pattern is Associated with Both Brain and Cognitive Measures in a Multiethnic Elderly Population. *Curr Alzheimer Res.* 14 mars 2018;15(5):493-501.
186. Allès B, Samieri C, Jutand MA, Carmichael PH, Shatenstein B, Gaudreau P, et al. Nutrient Patterns, Cognitive Function, and Decline in Older Persons: Results from the Three-City and NuAge Studies. *Nutrients.* 5 août 2019;11(8):1808.
187. Prinelli F, Fratiglioni L, Musicco M, Johansson I, Adorni F, Shakersain B, et al. The impact of nutrient-based dietary patterns on cognitive decline in older adults. *Clinical Nutrition.* déc 2019;38(6):2813-20.
188. Prinelli F, Fratiglioni L, Kalpouzos G, Musicco M, Adorni F, Johansson I, et al. Specific nutrient patterns are associated with higher structural brain integrity in dementia-free older adults. *NeuroImage.* oct 2019;199:281-8.
189. Bowman GL, Silbert LC, Howieson D, Dodge HH, Traber MG, Frei B, et al. Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and MRI measures of brain aging. *Neurology.* 2012;78(4):241-9.
190. Zamroziewicz MK, Talukdar MT, Zwillling CE, Barbey AK. Nutritional status, brain network organization, and general intelligence. *NeuroImage.* nov 2017;161:241-50.
191. Zwillling CE, Talukdar T, Zamroziewicz MK, Barbey AK. Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and fMRI measures of network efficiency in the aging brain. *NeuroImage.* mars 2019;188:239-51.
192. Amadiou C, Lefèvre-Arbogast S, Delcourt C, Dartigues JF, Helmer C, Féart C, et al. Nutrient biomarker patterns and long-term risk of dementia in older adults. *Alzheimers Dement.* oct 2017;13(10):1125-32.

193. Richard E, Laughlin G, Kritz-Silverstein D, Reas E, Barrett-Connor E, McEvoy L. Dietary Patterns and Cognitive Function among Older Community-Dwelling Adults. *Nutrients*. 14 août 2018;10(8):1088.
194. Alles B, Samieri C, Fearnt C. Dietary patterns: a novel approach to examine the link between nutrition and cognitive function in older individuals. *Nutrition Research Reviews*. :16.
195. Grodstein F, O'Brien J, Kang JH, Dushkes R, Cook NR, Okereke O, et al. Long-term multivitamin supplementation and cognitive function in men: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 17 déc 2013;159(12):806-14.
196. Wolters M, Hickstein M, Flintermann A, Tewes U, Hahn A. Cognitive performance in relation to vitamin status in healthy elderly German women—the effect of 6-month multivitamin supplementation. *Preventive Medicine*. 1 juill 2005;41(1):253-9.
197. McNeill G, Avenell A, Campbell MK, Cook JA, Hannaford PC, Kilonzo MM, et al. Effect of multivitamin and multimineral supplementation on cognitive function in men and women aged 65 years and over: a randomised controlled trial. *Nutr J*. 2 mai 2007;6:10.
198. Fairbairn P, Dyllal SC, Tsofliou F. The effects of multi-nutrient formulas containing a combination of *n* -3 PUFA and B vitamins on cognition in the older adult: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr*. 14 févr 2023;129(3):428-41.
199. Scheltens P, Kamphuis PJGH, Verhey FRJ, Olde Rikkert MGM, Wurtman RJ, Wilkinson D, et al. Efficacy of a medical food in mild Alzheimer's disease: A randomized, controlled trial. *Alzheimers Dement*. janv 2010;6(1):1-10.e1.
200. Scheltens P, Twisk JWR, Blesa R, Scarpini E, von Arnim CAF, Bongers A, et al. Efficacy of Souvenaid in mild Alzheimer's disease: results from a randomized, controlled trial. *J Alzheimers Dis*. 2012;31(1):225-36.
201. Shah H, Albanese E, Duggan C, Rudan I, Langa KM, Carrillo MC, et al. Research priorities to reduce the global burden of dementia by 2025. *The Lancet Neurology*. nov 2016;15(12):1285-94.
202. Soininen H, Solomon A, Visser PJ, Hendrix SB, Blennow K, Kivipelto M, et al. 24-month intervention with a specific multinutrient in people with prodromal Alzheimer's disease (LipiDiDiet): a randomised, double-blind, controlled trial. *The Lancet Neurology*. déc 2017;16(12):965-75.
203. Kang JH, Vyas CM, Okereke OI, Ogata S, Albert M, Lee IM, et al. Marine n-3 fatty acids and cognitive change among older adults in the VITAL randomized trial. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2022;8(1):e12288.
204. Macpherson H, Brownell S, Harris E, Duckham RL, O'Connell S, Meyer BJ, et al. Effects of a 6-Month Multifaceted Diet and Exercise Intervention on Cognition in Older Adults at Risk of Cognitive Decline: The PONDER Double-Blind, Placebo-Controlled Randomized Trial. *J Alzheimers Dis*. 2022;89(1):247-63.
205. Morris MC, Tangney CC. A Potential Design Flaw of Randomized Trials of Vitamin Supplements. *JAMA*. 6 avr 2011;305(13):1348-9.

206. Kang JH, Cook N, Manson J, Buring JE, Albert CM, Grodstein F. A trial of B vitamins and cognitive function among women at high risk of cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1 déc 2008;88(6):1602-10.
207. Bowman GL, Dodge HH, Guyonnet S, Zhou N, Donohue J, Bichsel A, et al. A blood-based nutritional risk index explains cognitive enhancement and decline in the multidomain Alzheimer prevention trial. *Alzheimers Dement*. janv 2019;5(1):953-63.
208. Morris MC, Tangney CC, Wang Y, Sacks FM, Bennett DA, Aggarwal NT. MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. sept 2015;11(9):1007-14.
209. Van Den Brink AC, Brouwer-Brolsma EM, Berendsen AAM, Van De Rest O. The Mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) Diets Are Associated with Less Cognitive Decline and a Lower Risk of Alzheimer's Disease—A Review. *Adv Nutr*. nov 2019;10(6):1040-65.
210. Scarmeas N, Stern Y, Mayeux R, Luchsinger JA. Mediterranean diet, Alzheimer disease, and vascular mediation. *Arch Neurol*. déc 2006;63(12):1709-17.
211. Hernández-Galíot A, Goñi I. Adherence to the Mediterranean diet pattern, cognitive status and depressive symptoms in an elderly non-institutionalized population. *Nutr Hosp*. 30 mars 2017;34(2):338-44.
212. Zbeida M, Goldsmith R, Shimony T, Vardi H, Naggan L, Shahar DR. Mediterranean diet and functional indicators among older adults in non-Mediterranean and Mediterranean countries. *J Nutr Health Aging*. avr 2014;18(4):411-8.
213. Bajerska J, Woźniewicz M, Suwalska A, Jeszka J. Eating patterns are associated with cognitive function in the elderly at risk of metabolic syndrome from rural areas. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(21):3234-45.
214. Anastasiou CA, Yannakoulia M, Kosmidis MH, Dardiotis E, Hadjigeorgiou GM, Sakka P, et al. Mediterranean diet and cognitive health: Initial results from the Hellenic Longitudinal Investigation of Ageing and Diet. *PLoS One*. 2017;12(8):e0182048.
215. Trichopoulou A, Kyrozi A, Rossi M, Katsoulis M, Trichopoulos D, La Vecchia C, et al. Mediterranean diet and cognitive decline over time in an elderly Mediterranean population. *Eur J Nutr*. déc 2015;54(8):1311-21.
216. Tangney CC, Kwasny MJ, Li H, Wilson RS, Evans DA, Morris MC. Adherence to a Mediterranean-type dietary pattern and cognitive decline in a community population. *Am J Clin Nutr*. mars 2011;93(3):601-7.
217. Hosking DE, Eramudugolla R, Cherbuin N, Anstey KJ. MIND not Mediterranean diet related to 12-year incidence of cognitive impairment in an Australian longitudinal cohort study. *Alzheimers Dement*. avr 2019;15(4):581-9.
218. Féart C, Samieri C, Rondeau V, Amieva H, Portet F, Dartigues JF, et al. Adherence to a Mediterranean diet, cognitive decline, and risk of dementia. *JAMA*. 12 août 2009;302(6):638-48.

219. Crichton GE, Bryan J, Hodgson JM, Murphy KJ. Mediterranean diet adherence and self-reported psychological functioning in an Australian sample. *Appetite*. nov 2013;70:53-9.
220. Martínez-Lapiscina EH, Clavero P, Toledo E, San Julián B, Sanchez-Tainta A, Corella D, et al. Virgin olive oil supplementation and long-term cognition: the PREDIMED-NAVARRA randomized, trial. *J Nutr Health Aging*. 2013;17(6):544-52.
221. Valls-Pedret C, Sala-Vila A, Serra-Mir M, Corella D, de la Torre R, Martínez-González MÁ, et al. Mediterranean Diet and Age-Related Cognitive Decline: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Intern Med*. juill 2015;175(7):1094-103.
222. Martínez-Lapiscina EH, Clavero P, Toledo E, Estruch R, Salas-Salvadó J, San Julián B, et al. Mediterranean diet improves cognition: the PREDIMED-NAVARRA randomised trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. déc 2013;84(12):1318-25.
223. Wardle J, Rogers P, Judd P, Taylor MA, Rapoport L, Green M, et al. Randomized trial of the effects of cholesterol-lowering dietary treatment on psychological function. *Am J Med*. mai 2000;108(7):547-53.
224. Knight A, Bryan J, Wilson C, Hodgson J, Davis C, Murphy K. The Mediterranean Diet and Cognitive Function among Healthy Older Adults in a 6-Month Randomised Controlled Trial: The MedLey Study. *Nutrients*. 20 sept 2016;8(9):579.
225. Blumenthal JA, Smith PJ, Mabe S, Hinderliter A, Welsh-Bohmer K, Browndyke JN, et al. Lifestyle and Neurocognition in Older Adults With Cardiovascular Risk Factors and Cognitive Impairment. *Psychosom Med*. 2017;79(6):719-27.
226. Haring B, Wu C, Mossavar-Rahmani Y, Snetselaar L, Brunner R, Wallace RB, et al. No Association between Dietary Patterns and Risk for Cognitive Decline in Older Women with 9-Year Follow-Up: Data from the Women's Health Initiative Memory Study. *J Acad Nutr Diet*. juin 2016;116(6):921-930.e1.
227. Tangney CC, Li H, Wang Y, Barnes L, Schneider JA, Bennett DA, et al. Relation of DASH- and Mediterranean-like dietary patterns to cognitive decline in older persons. *Neurology*. 14 oct 2014;83(16):1410-6.
228. Wengreen H, Munger RG, Cutler A, Quach A, Bowles A, Corcoran C, et al. Prospective study of Dietary Approaches to Stop Hypertension- and Mediterranean-style dietary patterns and age-related cognitive change: the Cache County Study on Memory, Health and Aging. *Am J Clin Nutr*. nov 2013;98(5):1263-71.
229. Shakersain B, Rizzuto D, Wang HX, Faxén-Irving G, Prinelli F, Fratiglioni L, et al. An Active Lifestyle Reinforces the Effect of a Healthy Diet on Cognitive Function: A Population-Based Longitudinal Study. *Nutrients*. 13 sept 2018;10(9):1297.
230. Berendsen AAM, Kang JH, van de Rest O, Feskens EJM, de Groot LCPGM, Grodstein F. The Dietary Approaches to Stop Hypertension Diet, Cognitive Function, and Cognitive Decline in American Older Women. *J Am Med Dir Assoc*. 1 mai 2017;18(5):427-32.
231. Nishi SK, Babio N, Gómez-Martínez C, Martínez-González MÁ, Ros E, Corella D, et al. Mediterranean, DASH, and MIND Dietary Patterns and Cognitive Function: The 2-Year Longitudinal Changes in an Older Spanish Cohort. *Front Aging Neurosci*. 2021;13.

232. Smith PJ, Blumenthal JA, Babyak MA, Craighead L, Welsh-Bohmer KA, Browndyke JN, et al. Effects of the dietary approaches to stop hypertension diet, exercise, and caloric restriction on neurocognition in overweight adults with high blood pressure. *Hypertension*. juin 2010;55(6):1331-8.
233. Berendsen AM, Kang JH, Feskens EJM, de Groot CPGM, Grodstein F, van de Rest O. Association of Long-Term Adherence to the MIND Diet with Cognitive Function and Cognitive Decline in American Women. *J Nutr Health Aging*. 2018;22(2):222-9.
234. Hosking DE, Eramudugolla R, Cherbuin N, Anstey KJ. MIND not Mediterranean diet related to 12-year incidence of cognitive impairment in an Australian longitudinal cohort study. *Alzheimers Dement*. avr 2019;15(4):581-9.
235. de Crom TOE, Mooldijk SS, Ikram MK, Ikram MA, Voortman T. MIND diet and the risk of dementia: a population-based study. *Alzheimers Res Ther*. 12 janv 2022;14(1):8.
236. Melo van Lent D, O'Donnell A, Beiser AS, Vasan RS, DeCarli CS, Scarmeas N, et al. Mind Diet Adherence and Cognitive Performance in the Framingham Heart Study. *J Alzheimers Dis*. 2021;82(2):827-39.
237. Cornelis MC, Agarwal P, Holland TM, van Dam RM. MIND Dietary Pattern and Its Association with Cognition and Incident Dementia in the UK Biobank. *Nutrients*. 21 déc 2022;15(1):32.
238. Thomas A, Lefèvre-Arbogast S, Féart C, Foubert-Samier A, Helmer C, Catheline G, et al. Association of a MIND Diet with Brain Structure and Dementia in a French Population. *J Prev Alzheimer Dis*. 2022;9(4):655-64.
239. Liu X, Morris MC, Dhana K, Ventrelle J, Johnson K, Bishop L, et al. Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) study: Rationale, design and baseline characteristics of a randomized control trial of the MIND diet on cognitive decline. *Contemp Clin Trials*. mars 2021;102:106270.
240. Jaskulski S, Nuszbaum C, Michels KB. Components, prospects and challenges of personalized prevention. *Frontiers in Public Health* [Internet]. 2023 [cité 30 juin 2023];11. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2023.1075076>
241. Scalbert A, Brennan L, Manach C, Andres-Lacueva C, Dragsted LO, Draper J, et al. The food metabolome: a window over dietary exposure. *Am J Clin Nutr*. juin 2014;99(6):1286-308.
242. Wishart DS, Jewison T, Guo AC, Wilson M, Knox C, Liu Y, et al. HMDB 3.0--The Human Metabolome Database in 2013. *Nucleic Acids Res*. janv 2013;41(Database issue):D801-807.
243. Tong TYN, Koulman A, Griffin JL, Wareham NJ, Forouhi NG, Imamura F. A Combination of Metabolites Predicts Adherence to the Mediterranean Diet Pattern and Its Associations with Insulin Sensitivity and Lipid Homeostasis in the General Population: The Fenland Study, United Kingdom. *J Nutr*. mars 2020;150(3):568-78.

244. Papandreou C, Papagiannopoulos C, Koutsonida M, Kanellopoulou A, Markozannes G, Polychronidis G, et al. Mediterranean diet related metabolite profiles and cognitive performance. *Clinical Nutrition*. févr 2023;42(2):173-81.
245. De Filippis F, Pellegrini N, Vannini L, Jeffery IB, La Stora A, Laghi L, et al. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut*. nov 2016;65(11):1812-21.
246. Kim H, Anderson CA, Hu EA, Zheng Z, Appel LJ, He J, et al. Plasma Metabolomic Signatures of Healthy Dietary Patterns in the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *The Journal of Nutrition*. oct 2021;151(10):2894-907.
247. Playdon MC, Moore SC, Derkach A, Reedy J, Subar AF, Sampson JN, et al. Identifying biomarkers of dietary patterns by using metabolomics. *AJCN*. févr 2017;105(2):450-65.
248. Walker ME, Song RJ, Xu X, Gerszten RE, Ngo D, Clish CB, et al. Proteomic and Metabolomic Correlates of Healthy Dietary Patterns: The Framingham Heart Study. *Nutrients*. 19 mai 2020;12(5):1476.
249. Ou FS, Michiels S, Shyr Y, Adjei AA, Oberg AL. Biomarker Discovery and Validation: Statistical Considerations. *JTO*. avr 2021;16(4):537-45.
250. Kim H, Hu EA, E Wong K, Yu B, Steffen LM, Seidemann SB, et al. Serum Metabolites Associated with Healthy Diets in African Americans and European Americans. *The Journal of Nutrition*. janv 2021;151(1):40-9.
251. Almanza-Aguilera E, Urpi-Sarda M, Llorach R, Vázquez-Fresno R, Garcia-Aloy M, Carmona F, et al. Microbial metabolites are associated with a high adherence to a Mediterranean dietary pattern using a 1H-NMR-based untargeted metabolomics approach. *J Nutr Biochem*. oct 2017;48:36-43.
252. Li J, Guasch-Ferré M, Chung W, Ruiz-Canela M, Toledo E, Corella D, et al. The Mediterranean diet, plasma metabolome, and cardiovascular disease risk. *Eur Heart J*. 21 juill 2020;41(28):2645-56.
253. Tanaka T, Talegawkar SA, Jin Y, Candia J, Tian Q, Moaddel R, et al. Metabolomic Profile of Different Dietary Patterns and Their Association with Frailty Index in Community-Dwelling Older Men and Women. *Nutrients*. 27 mai 2022;14(11):2237.
254. Sochocka M, Donskow-Łysoniewska K, Diniz BS, Kurpas D, Brzozowska E, Leszek J. The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer's Disease-a Critical Review. *Mol Neurobiol*. mars 2019;56(3):1841-51.
255. Wang JZ, Du WT, Xu YL, Cheng SZ, Liu ZJ. Gut microbiome-based medical methodologies for early-stage disease prevention. *Microbial Pathogenesis*. avr 2017;105:122-30.
256. Manderino L, Carroll I, Azcarate-Peril MA, Rochette A, Heinberg L, Peat C, et al. Preliminary Evidence for an Association Between the Composition of the Gut Microbiome and Cognitive Function in Neurologically Healthy Older Adults. *J Int Neuropsychol Soc*. sept 2017;23(8):700-5.

257. Xu R, Wang Q. Towards understanding brain-gut-microbiome connections in Alzheimer's disease. *BMC Syst Biol.* août 2016;10(S3):63.
258. Szablewski L. Human Gut Microbiota in Health and Alzheimer's Disease. *JAD.* 20 févr 2018;62(2):549-60.
259. Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, Harding SJ, Merluzzi AP, Johnson SC, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Sci Rep.* déc 2017;7(1):13537.
260. Di Meo F, Donato S, Di Pardo A, Maglione V, Filosa S, Crispi S. New Therapeutic Drugs from Bioactive Natural Molecules: The Role of Gut Microbiota Metabolism in Neurodegenerative Diseases. *CDM.* 4 juill 2018;19(6):478-89.
261. Luca M, Di Mauro M, Di Mauro M, Luca A. Gut Microbiota in Alzheimer's Disease, Depression, and Type 2 Diabetes Mellitus: The Role of Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:4730539.
262. Giau VV, Wu SY, Jamerlan A, An SSA, Kim SY, Hulme J. Gut Microbiota and Their Neuroinflammatory Implications in Alzheimer's Disease. *Nutrients.* 14 nov 2018;10(11):1765.
263. Dinan TG, Cryan JF. The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterology Clinics of North America.* mars 2017;46(1):77-89.
264. O'Mahony SM, Hyland NP, Dinan TG, Cryan JF. Maternal separation as a model of brain-gut axis dysfunction. *Psychopharmacology.* mars 2011;214(1):71-88.
265. Grenham S, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG. Brain-Gut-Microbe Communication in Health and Disease. *Front Physio.* 2011 ;2(94)
266. Breit S, Kupferberg A, Rogler G, Hasler G. Vagus Nerve as Modulator of the Brain-Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. *Front Psychiatry.* 13 mars 2018;9:44.
267. Bonaz B, Bazin T, Pellissier S. The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Front Neurosci.* 7 févr 2018;12:49.
268. Bourassa MW, Alim I, Bultman SJ, Ratan RR. Butyrate, neuroepigenetics and the gut microbiome: Can a high fiber diet improve brain health? *Neurosci Lett.* 20 2016;625:56-63.
269. Maguire M, Maguire G. Gut dysbiosis, leaky gut, and intestinal epithelial proliferation in neurological disorders: towards the development of a new therapeutic using amino acids, prebiotics, probiotics, and postbiotics. *Rev Neurosci.* 28 2019;30(2):179-201.
270. Mertens KL, Kalsbeek A, Soeters MR, Eggink HM. Bile Acid Signaling Pathways from the Enterohepatic Circulation to the Central Nervous System. *Front Neurosci.* 2017;11:617.
271. MahmoudianDehkordi S, Arnold M, Nho K, Ahmad S, Jia W, Xie G, et al. Altered bile acid profile associates with cognitive impairment in Alzheimer's disease-An emerging role for gut microbiome. *Alzheimers Dement.* janv 2019;15(1):76-92.

272. Nho K, Kueider-Paisley A, MahmoudianDehkordi S, Arnold M, Risacher SL, Louie G, et al. Altered bile acid profile in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: Relationship to neuroimaging and CSF biomarkers. *Alzheimers Dement.* févr 2019;15(2):232-44.
273. Olazarán J, Gil-de-Gómez L, Rodríguez-Martín A, Valentí-Soler M, Frades-Payo B, Marín-Muñoz J, et al. A Blood-Based, 7-Metabolite Signature for the Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. *JAD.* 13 avr 2015;45(4):1157-73.
274. Mapstone M, Cheema AK, Fiandaca MS, Zhong X, Mhyre TR, MacArthur LH, et al. Plasma phospholipids identify antecedent memory impairment in older adults. *Nat Med.* avr 2014;20(4):415-8.
275. Marksteiner J, Blasko I, Kemmler G, Koal T, Humpel C. Bile acid quantification of 20 plasma metabolites identifies lithocholic acid as a putative biomarker in Alzheimer's disease. *Metabolomics.* janv 2018;14(1):1.
276. Wang Z, Zhao Y. Gut microbiota derived metabolites in cardiovascular health and disease. *Protein Cell.* mai 2018;9(5):416-31.
277. Verneti L, Gough A, Baetz N, Blutt S, Broughman JR, Brown JA, et al. Functional Coupling of Human Microphysiology Systems: Intestine, Liver, Kidney Proximal Tubule, Blood-Brain Barrier and Skeletal Muscle. *Sci Rep.* 8 févr 2017;7:42296.
278. Tang WH, Wang Z, Levison BS. Intestinal Microbial Metabolism of Phosphatidylcholine and Cardiovascular Risk. *Journal of Vascular Surgery.* 1 août 2013;58(2):549.
279. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, Dugar B, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature.* 7 avr 2011;472(7341):57-63.
280. Buawangpong N, Pinyopornpanish K, Siri-Angkul N, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. The role of trimethylamine-N-Oxide in the development of Alzheimer's disease. *Journal of Cellular Physiology.* 2022;237(3):1661-85.
281. Knight LS, Piibe Q, Lambie I, Perkins C, Yancey PH. Betaine in the Brain: Characterization of Betaine Uptake, its Influence on Other Osmolytes and its Potential Role in Neuroprotection from Osmotic Stress. *Neurochem Res.* déc 2017;42(12):3490-503.
282. Vogt NM, Romano KA, Darst BF, Engelman CD, Johnson SC, Carlsson CM, et al. The gut microbiota-derived metabolite trimethylamine N-oxide is elevated in Alzheimer's disease. *Alz Res Therapy.* déc 2018;10(1):124.
283. Huguenard CJC, Cseresznye A, Evans JE, Darcey T, Nkiliza A, Keegan AP, et al. APOE ε4 and Alzheimer's disease diagnosis associated differences in L-carnitine, GBB, TMAO, and acylcarnitines in blood and brain. *Curr Res Transl Med.* janv 2023;71(1):103362.
284. Del Rio D, Zimetti F, Caffarra P, Tassotti M, Bernini F, Brighenti F, et al. The Gut Microbial Metabolite Trimethylamine-N-Oxide Is Present in Human Cerebrospinal Fluid. *Nutrients.* 22 sept 2017;9(10):1053.

285. Eussen SJPM, Ueland PM, Clarke R, Blom HJ, Hoefnagels WHL, van Staveren WA, et al. The association of betaine, homocysteine and related metabolites with cognitive function in Dutch elderly people. *Br J Nutr.* nov 2007;98(5):960-8.
286. Huguenard CJC, Cseresznye A, Darcey T, Nkiliza A, Evans JE, Hazen SL, et al. Age and APOE affect L-carnitine system metabolites in the brain in the APOE-TR model. *Front Aging Neurosci.* 2022;14:1059017.
287. Badawy AAB, Guillemin G. The Plasma [Kynurenine]/[Tryptophan] Ratio and Indoleamine 2,3-Dioxygenase: Time for Appraisal. *Int J Tryptophan Res.* 2019;12:1178646919868978.
288. Schwarcz R, Bruno JP, Muchowski PJ, Wu HQ. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nat Rev Neurosci.* juill 2012;13(7):465-77.
289. Fujigaki H, Yamamoto Y, Saito K. L-Tryptophan-kynurenine pathway enzymes are therapeutic target for neuropsychiatric diseases: Focus on cell type differences. *Neuropharmacology.* janv 2017;112(Pt B):264-74.
290. Ting KK, Brew BJ, Guillemin GJ. Effect of quinolinic acid on human astrocytes morphology and functions: implications in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 10 déc 2009;6:36.
291. Stone TW, Darlington LG. The kynurenine pathway as a therapeutic target in cognitive and neurodegenerative disorders. *Br J Pharmacol.* juill 2013;169(6):1211-27.
292. Xu R, Tan C, Zhu J, Zeng X, Gao X, Wu Q, et al. Dysbiosis of the intestinal microbiota in neurocritically ill patients and the risk for death. *Critical Care.* 31 mai 2019;23(1):195.
293. O'Mahony SM, Clarke G, Borre YE, Dinan TG, Cryan JF. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research.* janv 2015;277:32-48.
294. Berns JS. Hematologic Complications of Chronic Kidney Disease. In: *Chronic Renal Disease.* Elsevier; 2015, p. 266-76.
295. Ticinesi A, Nouvenne A, Tana C, Prati B, Meschi T. Gut Microbiota and Microbiota-Related Metabolites as Possible Biomarkers of Cognitive Aging. In: Guest PC, éditeur. *Reviews on Biomarker Studies in Aging and Anti-Aging Research [Internet].* Cham: Springer International Publishing; 2019. p. 129-54.
296. Lin YT, Wu PH, Lee HH, Mubanga M, Chen CS, Kuo MC, et al. Indole-3 acetic acid increased risk of impaired cognitive function in patients receiving hemodialysis. *Neurotoxicology.* juill 2019;73:85-91.
297. Roager HM, Licht TR. Microbial tryptophan catabolites in health and disease. *Nat Commun.* 17 août 2018;9(1):3294.
298. Sampson TR, Mazmanian SK. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host Microbe.* 13 mai 2015;17(5):565-76.

299. Maguire M, Maguire G. Gut dysbiosis, leaky gut, and intestinal epithelial proliferation in neurological disorders: towards the development of a new therapeutic using amino acids, prebiotics, probiotics, and postbiotics. *Rev Neurosci*. 28 janv 2019;30(2):179-201.
300. Waclawiková B, El Aidy S. Role of Microbiota and Tryptophan Metabolites in the Remote Effect of Intestinal Inflammation on Brain and Depression. *Pharmaceuticals (Basel)*. 25 juin 2018;11(3):63.
301. Hu X, Wang T, Jin F. Alzheimer's disease and gut microbiota. *Sci China Life Sci*. 1 oct 2016;59(10):1006-23.
302. Cirrito JR, Disabato BM, Restivo JL, Verges DK, Goebel WD, Sathyan A, et al. Serotonin signaling is associated with lower amyloid- β levels and plaques in transgenic mice and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 6 sept 2011;108(36):14968-73.
303. Fekkes D, van der Cammen TJM, van Loon CPM, Verschoor C, van Harskamp F, de Koning I, et al. Abnormal amino acid metabolism in patients with early stage Alzheimer dementia. *J Neural Transm*. 11 mai 1998;105(2-3):287-94.
304. Paley EL, Merkulova-Rainon T, Faynboym A, Shestopalov VI, Aksenoff I. Geographical Distribution and Diversity of Gut Microbial NADH:Ubiquinone Oxidoreductase Sequence Associated with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2018;61(4):1531-40.
305. Suzuki H, Yamashiro D, Ogawa S, Kobayashi M, Cho D, Iizuka A, et al. Intake of Seven Essential Amino Acids Improves Cognitive Function and Psychological and Social Function in Middle-Aged and Older Adults: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Frontiers in Nutrition*. 2020;7.
306. Zhang LS, Davies SS. Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: opportunities for new therapeutic interventions. *Genome Med*. 21 avr 2016;8:46.
307. Lin YT, Wu PH, Lee HH, Mubanga M, Chen CS, Kuo MC, et al. Indole-3 acetic acid increased risk of impaired cognitive function in patients receiving hemodialysis. *Neurotoxicology*. juill 2019;73:85-91.
308. Adesso S, Magnus T, Cuzzocrea S, Campolo M, Rissiek B, Paciello O, et al. Indoxyl Sulfate Affects Glial Function Increasing Oxidative Stress and Neuroinflammation in Chronic Kidney Disease: Interaction between Astrocytes and Microglia. *Frontiers in Pharmacology*. 2017;8.
309. Chouraki V, Preis SR, Yang Q, Beiser A, Li S, Larson MG, et al. Association of amine biomarkers with incident dementia and Alzheimer's disease in the Framingham Study. *Alzheimers Dement*. déc 2017;13(12):1327-36.
310. Cardona F, Andrés-Lacueva C, Tulipani S, Tinahones FJ, Queipo-Ortuño MI. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *J Nutr Biochem*. août 2013;24(8):1415-22.
311. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *AJCN*. mai 2004;79(5):727-47.

312. Trombino S, Cassano R, Ferrarelli T, Barone E, Picci N, Mancuso C. Trans-ferulic acid-based solid lipid nanoparticles and their antioxidant effect in rat brain microsomes. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 1 sept 2013;109:273-9.
313. Mancuso C, Santangelo R. Alzheimer's disease and gut microbiota modifications: The long way between preclinical studies and clinical evidence. *Pharmacol Res*. mars 2018;129:329-36.
314. Filosa S, Di Meo F, Crispi S. Polyphenols-gut microbiota interplay and brain neuromodulation. *Neural Regen Res*. 2018;13(12):2055.
315. Reichardt N, Duncan SH, Young P, Belenguer A, McWilliam Leitch C, Scott KP, et al. Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. *ISME J*. juin 2014;8(6):1323-35.
316. Chambers ES, Preston T, Frost G, Morrison DJ. Role of Gut Microbiota-Generated Short-Chain Fatty Acids in Metabolic and Cardiovascular Health. *Curr Nutr Rep*. déc 2018;7(4):198-206.
317. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*. 3 mai 2016;7(3):189-200.
318. Bernalier A, Dore J, Durand M. Biochemistry of Fermentation. In: Gibson GR, Roberfroid MB, éditeurs. *Colonic Microbiota, Nutrition and Health* [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 1999. p. 37-53.
319. Rogers GB, Keating DJ, Young RL, Wong ML, Licinio J, Wesselingh S. From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Mol Psychiatry*. juin 2016;21(6):738-48.
320. Hoyles L, Snelling T, Umlai UK, Nicholson JK, Carding SR, Glen RC, et al. Microbiome–host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood–brain barrier. *Microbiome*. 21 mars 2018;6(1):55.
321. Mirzaei R, Afaghi A, Babakhani S, Sohrabi MR, Hosseini-Fard SR, Babolhavaeji K, et al. Role of microbiota-derived short-chain fatty acids in cancer development and prevention. *Biomed Pharmacother*. juill 2021;139:111619.
322. Sadler R, Cramer JV, Heindl S, Kostidis S, Betz D, Zuurbier KR, et al. Short-Chain Fatty Acids Improve Poststroke Recovery via Immunological Mechanisms. *J Neurosci*. 29 janv 2020;40(5):1162-73.
323. Chen H, Meng L, Shen L. Multiple roles of short-chain fatty acids in Alzheimer disease. *Nutrition*. janv 2022;93:111499.
324. Ho L, Ono K, Tsuji M, Mazzola P, Singh R, Pasinetti GM. Protective roles of intestinal microbiota derived short chain fatty acids in Alzheimer's disease-type beta-amyloid neuropathological mechanisms. *Expert Rev Neurother*. janv 2018;18(1):83-90.
325. Erny D, Hrabě de Angelis AL, Jaitin D, Wieghofer P, Staszewski O, David E, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat Neurosci*. juill 2015;18(7):965-77.

326. Colombo AV, Sadler RK, Llovera G, Singh V, Roth S, Heindl S, et al. Microbiota-derived short chain fatty acids modulate microglia and promote A β plaque deposition. Turnbaugh P, Garrett WS, Turnbaugh P, Cryan JF, éditeurs. *eLife*. 13 avr 2021;10:e59826.
327. Marizzoni M, Cattaneo A, Mirabelli P, Festari C, Lopizzo N, Nicolosi V, et al. Short-Chain Fatty Acids and Lipopolysaccharide as Mediators Between Gut Dysbiosis and Amyloid Pathology in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2020;78(2):683-97.
328. Killingsworth J, Sawmiller D, Shytle RD. Propionate and Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci*. 2020;12:580001.
329. Ngandu T, Lehtisalo J, Solomon A, Levälähti E, Ahtiluoto S, Antikainen R, et al. A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial. *The Lancet*. juin 2015;385(9984):2255-63.
330. Chatterjee S, Peters SAE, Woodward M, Mejia Arango S, Batty GD, Beckett N, et al. Type 2 Diabetes as a Risk Factor for Dementia in Women Compared With Men: A Pooled Analysis of 2.3 Million People Comprising More Than 100,000 Cases of Dementia. *Diabetes Care*. févr 2016;39(2):300-7.
331. Barbiellini Amidei C, Fayosse A, Dumurgier J, Machado-Fragua MD, Tabak AG, van Sloten T, et al. Association Between Age at Diabetes Onset and Subsequent Risk of Dementia. *JAMA*. 27 avr 2021;325(16):1640-9.
332. Yang Y, Song W. Molecular links between Alzheimer's disease and diabetes mellitus. *Neuroscience*. 10 oct 2013;250:140-50.
333. Arnold SE, Arvanitakis Z, Macauley-Rambach SL, Koenig AM, Wang HY, Ahima RS, et al. Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: concepts and conundrums. *Nat Rev Neurol*. mars 2018;14(3):168-81.
334. Roberts RO, Knopman DS, Mielke MM, Cha RH, Pankratz VS, Christianson TJH, et al. Higher risk of progression to dementia in mild cognitive impairment cases who revert to normal. *Neurology*. 28 janv 2014;82(4):317-25.
335. Exalto LG, Whitmer RA, Kappele LJ, Biessels GJ. An update on type 2 diabetes, vascular dementia and Alzheimer's disease. *Exp Gerontol*. nov 2012;47(11):858-64.
336. McMillan JM, Mele BS, Hogan DB, Leung AA. Impact of pharmacological treatment of diabetes mellitus on dementia risk: systematic review and meta-analysis. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2018;6(1):e000563.
337. Sastre AA, Vernooij RW, Harmand MGC, Martínez G. Effect of the treatment of Type 2 diabetes mellitus on the development of cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017;(6).
338. Power MC, Weuve J, Gagne JJ, McQueen MB, Viswanathan A, Blacker D. The Association Between Blood Pressure and Incident Alzheimer Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Epidemiology*. sept 2011;22(5):646.

339. Wang ZT, Xu W, Wang HF, Tan L, Tan CC, Li JQ, et al. Blood Pressure and the Risk of Dementia: A Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *Curr Neurovasc Res*. 2018;15(4):345-58.
340. Walker KA, Sharrett AR, Wu A, Schneider ALC, Albert M, Lutsey PL, et al. Association of Midlife to Late-Life Blood Pressure Patterns With Incident Dementia. *JAMA*. 13 août 2019;322(6):535-45.
341. Abell JG, Kivimäki M, Dugravot A, Tabak AG, Fayosse A, Shipley M, et al. Association between systolic blood pressure and dementia in the Whitehall II cohort study: role of age, duration, and threshold used to define hypertension. *Eur Heart J*. 1 sept 2018;39(33):3119-25.
342. McGrath ER, Beiser AS, DeCarli C, Plourde KL, Vasan RS, Greenberg SM, et al. Blood pressure from mid- to late life and risk of incident dementia. *Neurology*. 12 déc 2017;89(24):2447-54.
343. Qiu C, Winblad B, Fratiglioni L. The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia. *The Lancet Neurology*. 1 août 2005;4(8):487-99.
344. Ding J, Davis-Plourde KL, Sedaghat S, Tully PJ, Wang W, Phillips C, et al. Antihypertensive medications and risk for incident dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis of individual participant data from prospective cohort studies. *Lancet Neurol*. janv 2020;19(1):61-70.
345. Hussain S, Singh A, Rahman SO, Habib A, Najmi AK. Calcium channel blocker use reduces incident dementia risk in elderly hypertensive patients: A meta-analysis of prospective studies. *Neurosci Lett*. 3 avr 2018;671:120-7.
346. Tully PJ, Hanon O, Cosh S, Tzourio C. Diuretic antihypertensive drugs and incident dementia risk: a systematic review, meta-analysis and meta-regression of prospective studies. *J Hypertens*. juin 2016;34(6):1027-35.
347. Peters R, Warwick J, Anstey KJ, Anderson CS. Blood pressure and dementia: What the SPRINT-MIND trial adds and what we still need to know. *Neurology*. 21 mai 2019;92(21):1017-8.
348. Anstey KJ, Ashby-Mitchell K, Peters R. Updating the Evidence on the Association between Serum Cholesterol and Risk of Late-Life Dementia: Review and Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis*. 2017;56(1):215-28.
349. Li XY, Zhang M, Xu W, Li JQ, Cao XP, Yu JT, et al. Midlife Modifiable Risk Factors for Dementia: A Systematic Review and Meta-analysis of 34 Prospective Cohort Studies. *Curr Alzheimer Res*. 2019;16(14):1254-68.
350. Anstey KJ, Lipnicki DM, Low LF. Cholesterol as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: A Systematic Review of Prospective Studies With Meta-Analysis. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*. 1 mai 2008;16(5):343-54.
351. Schilling S, Tzourio C, Soumaré A, Kaffashian S, Dartigues JF, Ancelin ML, et al. Differential associations of plasma lipids with incident dementia and dementia subtypes

- in the 3C Study: A longitudinal, population-based prospective cohort study. *PLoS Med.* mars 2017;14(3):e1002265.
352. Xue-Shan Z, Juan P, Qi W, Zhong R, Li-Hong P, Zhi-Han T, et al. Imbalanced cholesterol metabolism in Alzheimer's disease. *Clin Chim Acta.* 1 mai 2016;456:107-14.
 353. Olmastroni E, Molari G, De Beni N, Colpani O, Galimberti F, Gazzotti M, et al. Statin use and risk of dementia or Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *European Journal of Preventive Cardiology.* 1 mars 2022;29(5):804-14.
 354. Shepherd J, Blauw GJ, Murphy MB, Bollen ELEM, Buckley BM, Cobbe SM, et al. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet.* 23 nov 2002;360(9346):1623-30.
 355. Trompet S, van Vliet P, de Craen AJM, Jolles J, Buckley BM, Murphy MB, et al. Pravastatin and cognitive function in the elderly. Results of the PROSPER study. *J Neurol.* janv 2010;257(1):85-90.
 356. Albanese E, Launer LJ, Egger M, Prince MJ, Giannakopoulos P, Wolters FJ, et al. Body mass index in midlife and dementia: Systematic review and meta-regression analysis of 589,649 men and women followed in longitudinal studies. *Alzheimers Dement (Amst).* 2017;8:165-78.
 357. Kivimäki M, Luukkonen R, Batty GD, Ferrie JE, Pentti J, Nyberg ST, et al. Body mass index and risk of dementia: Analysis of individual-level data from 1.3 million individuals. *Alzheimers Dement.* mai 2018;14(5):601-9.
 358. Pedditzi E, Peters R, Beckett N. The risk of overweight/obesity in mid-life and late life for the development of dementia: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Age Ageing.* janv 2016;45(1):14-21.
 359. Guo J, Wang J, Dove A, Chen H, Yuan C, Bennett DA, et al. Body Mass Index Trajectories Preceding Incident Mild Cognitive Impairment and Dementia. *JAMA Psychiatry.* 1 déc 2022;79(12):1180-7.
 360. Singh-Manoux A, Dugravot A, Shipley M, Brunner EJ, Elbaz A, Sabia S, et al. Obesity trajectories and risk of dementia: 28 years of follow-up in the Whitehall II Study. *Alzheimers Dement.* févr 2018;14(2):178-86.
 361. Wagner M, Helmer C, Tzourio C, Berr C, Proust-Lima C, Samieri C. Evaluation of the Concurrent Trajectories of Cardiometabolic Risk Factors in the 14 Years Before Dementia. *JAMA Psychiatry.* 1 oct 2018;75(10):1033-42.
 362. Veronese N, Facchini S, Stubbs B, Luchini C, Solmi M, Manzato E, et al. Weight loss is associated with improvements in cognitive function among overweight and obese people: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* janv 2017;72:87-94.
 363. Anstey KJ, Cherbuin N, Budge M, Young J. Body mass index in midlife and late-life as a risk factor for dementia: a meta-analysis of prospective studies. *Obes Rev.* mai 2011;12(5):e426-437.

364. Beydoun MA, Beydoun H, Wang Y. Obesity and central obesity as risk factors for incident dementia and its sub-types: A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* mai 2008;9(3):204-18.
365. Enette L, Vogel T, Fanon JL, Lang PO. Effect of Interval and Continuous Aerobic Training on Basal Serum and Plasma Brain-Derived Neurotrophic Factor Values in Seniors: A Systematic Review of Intervention Studies. *Rejuvenation Res.* déc 2017;20(6):473-83.
366. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Exp Physiol.* oct 2009;94(10):1062-9.
367. Schwarz J, Anne J, Hintz L, Cooper M. Acute Effect of Brief Low- and High-Intensity Exercise on Circulating Insulin-Like Growth Factor (IGF) I, II, and IGF-Binding Protein-3 and Its Proteolysis in Young Healthy Men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(10).
368. Cassilhas RC, Viana VAR, Grassmann V, Santos RT, Santos RF, Tufik S, et al. The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. *Med Sci Sports Exerc.* août 2007;39(8):1401-7.
369. Voss MW, Erickson KI, Prakash RS, Chaddock L, Kim JS, Alves H, et al. Neurobiological markers of exercise-related brain plasticity in older adults. *Brain Behav Immun.* févr 2013;28:90-9.
370. Erickson KI, Prakash RS, Voss MW, Chaddock L, Hu L, Morris KS, et al. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. *Hippocampus.* oct 2009;19(10):1030-9.
371. Colcombe SJ, Erickson KI, Scalf PE, Kim JS, Prakash R, McAuley E, et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* nov 2006;61(11):1166-70.
372. Gomez-Pinilla F, Hillman C. The influence of exercise on cognitive abilities. *Compr Physiol.* janv 2013;3(1):403-28.
373. Maass A, Düzel S, Brigadski T, Goerke M, Becke A, Sobieray U, et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. *Neuroimage.* 1 mai 2016;131:142-54.
374. Iso-Markku P, Kujala UM, Knittle K, Polet J, Vuoksima E, Waller K. Physical activity as a protective factor for dementia and Alzheimer's disease: systematic review, meta-analysis and quality assessment of cohort and case-control studies. *Br J Sports Med.* juin 2022;56(12):701-9.
375. Weuve J, Kang JH, Manson JE, Breteler MMB, Ware JH, Grodstein F. Physical activity, including walking, and cognitive function in older women. *JAMA.* 22 sept 2004;292(12):1454-61.
376. Turner DT, Hu MX, Generaal E, Bos D, Ikram MK, Heshmatollah A, et al. Physical Exercise Interventions Targeting Cognitive Functioning and the Cognitive Domains in

- Nondementia Samples: A Systematic Review of Meta-Analyses. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* mars 2021;34(2):91-101.
377. Sanders LMJ, Hortobágyi T, La Bastide-van Gemert S, Van Der Zee EA, Van Heuvelen MJG. Dose-response relationship between exercise and cognitive function in older adults with and without cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. Regnaud JP, éditeur. *PLoS ONE.* 10 janv 2019;14(1):e0210036.
 378. Sink KM, Espeland MA, Castro CM, Church T, Cohen R, Dodson JA, et al. Effect of a 24-Month Physical Activity Intervention vs Health Education on Cognitive Outcomes in Sedentary Older Adults: The LIFE Randomized Trial. *JAMA.* 25 août 2015;314(8):781-90.
 379. Liu J, Zhang Y, Li X, Wang D, Shi B, You Y, et al. Exercise improves mental health status of young adults via attenuating inflammation factors but modalities matter. *Frontiers in Psychiatry* [Internet]. 2022 [cité 30 juin 2023];13. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyt.2022.1067890>
 380. Tobacco [Internet]. [cité 30 juin 2023]. Disponible sur: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>
 381. Marques C, Quatremère G. Les fumeurs français : qui sont-ils ? Résultats du baromètre de santé publique France 2017. 2020;
 382. Swan GE, Lessov-Schlaggar CN. The effects of tobacco smoke and nicotine on cognition and the brain. *Neuropsychol Rev.* sept 2007;17(3):259-73.
 383. Zhong G, Wang Y, Zhang Y, Guo JJ, Zhao Y. Smoking Is Associated with an Increased Risk of Dementia: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies with Investigation of Potential Effect Modifiers. *PLOS ONE.* 12 mars 2015;10(3):e0118333.
 384. Anstey KJ, von Sanden C, Salim A, O’Kearney R. Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Epidemiol.* 15 août 2007;166(4):367-78.
 385. Cataldo JK, Prochaska JJ, Glantz SA. Cigarette smoking is a risk factor for Alzheimer’s Disease: an analysis controlling for tobacco industry affiliation. *J Alzheimers Dis.* 2010;19(2):465-80.
 386. Choi D, Choi S, Park SM. Effect of smoking cessation on the risk of dementia: a longitudinal study. *Ann Clin Transl Neurol.* oct 2018;5(10):1192-9.
 387. Almeida OP, Garrido GJ, Alfonso H, Hulse G, Lautenschlager NT, Hankey GJ, et al. 24-month effect of smoking cessation on cognitive function and brain structure in later life. *Neuroimage.* 15 avr 2011;55(4):1480-9.
 388. Mewton L, Visontay R, Hoy N, Lipnicki DM, Sunderland M, Lipton RB, et al. The relationship between alcohol use and dementia in adults aged more than 60 years: a combined analysis of prospective, individual-participant data from 15 international studies. *Addiction.* 2023;118(3):412-24.

389. Jeon KH, Han K, Jeong SM, Park J, Yoo JE, Yoo J, et al. Changes in Alcohol Consumption and Risk of Dementia in a Nationwide Cohort in South Korea. *JAMA Network Open*. 6 févr 2023;6(2):e2254771.
390. Topiwala A, Allan CL, Valkanova V, Zsoldos E, Filippini N, Sexton C, et al. Moderate alcohol consumption as risk factor for adverse brain outcomes and cognitive decline: longitudinal cohort study. *BMJ*. 6 juin 2017;357:j2353.
391. Nixon SJ, Lewis B. Clarifying the neurobehavioral sequelae of moderate drinking lifestyles and acute alcohol effects with aging. *Int Rev Neurobiol*. 2019;148:39-78.
392. Topiwala A, Ebmeier KP. Effects of drinking on late-life brain and cognition. *Evid Based Ment Health*. févr 2018;21(1):12-5.
393. Sabia S, Fayosse A, Dumurgier J, Dugravot A, Akbaraly T, Britton A, et al. Alcohol consumption and risk of dementia: 23 year follow-up of Whitehall II cohort study. *BMJ*. 1 août 2018;362:k2927.
394. Kim JW, Byun MS, Yi D, Lee JH, Ko K, Jeon SY, et al. Association of moderate alcohol intake with in vivo amyloid-beta deposition in human brain: A cross-sectional study. *PLOS Medicine*. 25 févr 2020;17(2):e1003022.
395. Lundgaard I, Wang W, Eberhardt A, Vinitsky HS, Reeves BC, Peng S, et al. Beneficial effects of low alcohol exposure, but adverse effects of high alcohol intake on glymphatic function. *Sci Rep*. 2 févr 2018;8(1):2246.
396. Letenneur L. Consommation d'alcool et risque de démence. *Gérontologie et société*. 2003;26 / 105(2):109-18.
397. Sommerlad A, Ruegger J, Singh-Manoux A, Lewis G, Livingston G. Marriage and risk of dementia: systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. mars 2018;89(3):231-8.
398. Evans IEM, Martyr A, Collins R, Brayne C, Clare L. Social Isolation and Cognitive Function in Later Life: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis*. 2019;70(s1):S119-44.
399. Saito T, Murata C, Saito M, Takeda T, Kondo K. Influence of social relationship domains and their combinations on incident dementia: a prospective cohort study. *J Epidemiol Community Health*. janv 2018;72(1):7-12.
400. Sommerlad A, Sabia S, Singh-Manoux A, Lewis G, Livingston G. Association of social contact with dementia and cognition: 28-year follow-up of the Whitehall II cohort study. *PLOS Medicine*. 2 août 2019;16(8):e1002862.
401. Kelly ME, Duff H, Kelly S, McHugh Power JE, Brennan S, Lawlor BA, et al. The impact of social activities, social networks, social support and social relationships on the cognitive functioning of healthy older adults: a systematic review. *Syst Rev*. 19 déc 2017;6(1):259.

402. Sajeev G, Weuve J, Jackson JW, VanderWeele TJ, Bennett DA, Grodstein F, et al. Late-life Cognitive Activity and Dementia: A Systematic Review and Bias Analysis. *Epidemiology*. sept 2016;27(5):732-42.
403. Floud S, Balkwill A, Sweetland S, Brown A, Reus EM, Hofman A, et al. Cognitive and social activities and long-term dementia risk: the prospective UK Million Women Study. *The Lancet Public Health*. 1 févr 2021;6(2):e116-23.
404. Lee ATC, Richards M, Chan WC, Chiu HFK, Lee RSY, Lam LCW. Association of Daily Intellectual Activities With Lower Risk of Incident Dementia Among Older Chinese Adults. *JAMA Psychiatry*. 1 juill 2018;75(7):697-703.
405. Duffner LA, Deckers K, Cadar D, Steptoe A, de Vugt M, Köhler S. The role of cognitive and social leisure activities in dementia risk: Assessing longitudinal associations of modifiable and on-modifiable risk factors. *Epidemiology and Psychiatric Sciences*. 2022;31:1-10.
406. Martin M, Clare L, Altgassen AM, Cameron MH, Zehnder F. Cognition-based interventions for healthy older people and people with mild cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev*. 19 janv 2011;(1):CD006220.
407. Kelly ME, Loughrey D, Lawlor BA, Robertson IH, Walsh C, Brennan S. The impact of exercise on the cognitive functioning of healthy older adults: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. juill 2014;16:12-31.
408. Spira AP, Gamaldo AA, An Y, Wu MN, Simonsick EM, Bilgel M, et al. Self-reported sleep and β -amyloid deposition in community-dwelling older adults. *JAMA Neurol*. déc 2013;70(12):1537-43.
409. Macedo AC, Balouch S, Tabet N. Is Sleep Disruption a Risk Factor for Alzheimer's Disease? *J Alzheimers Dis*. 2017;58(4):993-1002.
410. Musiek ES, Xiong DD, Holtzman DM. Sleep, circadian rhythms, and the pathogenesis of Alzheimer disease. *Exp Mol Med*. 13 mars 2015;47(3):e148.
411. Irwin MR, Vitiello MV. Implications of sleep disturbance and inflammation for Alzheimer's disease dementia. *Lancet Neurol*. mars 2019;18(3):296-306.
412. Shi L, Chen SJ, Ma MY, Bao YP, Han Y, Wang YM, et al. Sleep disturbances increase the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev*. août 2018;40:4-16.
413. Zhang Y, Ren R, Yang L, Zhang H, Shi Y, Okhravi HR, et al. Sleep in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of polysomnographic findings. *Transl Psychiatry*. 1 avr 2022;12(1):1-12.
414. Franks KH, Bransby L, Saling MM, Pase MP. Association of Stress with Risk of Dementia and Mild Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis*. 2021;82(4):1573-90.
415. Stuart KE, Padgett C. A Systematic Review of the Association Between Psychological Stress and Dementia Risk in Humans. *J Alzheimers Dis*. 2020;78(1):335-52.

416. Lupien SJ, Juster RP, Raymond C, Marin MF. The effects of chronic stress on the human brain: From neurotoxicity, to vulnerability, to opportunity. *Front Neuroendocrinol.* avr 2018;49:91-105.
417. Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. The neuroendocrinology of stress and aging: the glucocorticoid cascade hypothesis. *Endocr Rev.* août 1986;7(3):284-301.
418. McEwen BS, Gianaros PJ. Stress- and allostasis-induced brain plasticity. *Annu Rev Med.* 2011;62:431-45.
419. Lucassen PJ, Pruessner J, Sousa N, Almeida OFX, Van Dam AM, Rajkowska G, et al. Neuropathology of stress. *Acta Neuropathol.* janv 2014;127(1):109-35.
420. Kim JJ, Diamond DM. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nat Rev Neurosci.* juin 2002;3(6):453-62.
421. Cohen S, Gianaros PJ, Manuck SB. A Stage Model of Stress and Disease. *Perspect Psychol Sci.* juill 2016;11(4):456-63.
422. Kivipelto M, Ngandu T, Laatikainen T, Winblad B, Soininen H, Tuomilehto J. Risk score for the prediction of dementia risk in 20 years among middle aged people: a longitudinal, population-based study. *Lancet Neurol.* sept 2006;5(9):735-41.
423. Exalto LG, Quesenberry CP, Barnes D, Kivipelto M, Biessels GJ, Whitmer RA. Midlife risk score for the prediction of dementia four decades later. *Alzheimers Dement.* sept 2014;10(5):562-70.
424. Reijmer YD, van den Berg E, van Sonsbeek S, Dekker JM, Nijpels G, Stehouwer CDA, et al. Dementia risk score predicts cognitive impairment after a period of 15 years in a nondemented population. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2011;31(2):152-7.
425. Kaffashian S, Dugravot A, Elbaz A, Shipley MJ, Sabia S, Kivimäki M, et al. Predicting cognitive decline: a dementia risk score vs. the Framingham vascular risk scores. *Neurology.* 2 avr 2013;80(14):1300-6.
426. Anstey KJ, Cherbuin N, Herath PM. Development of a new method for assessing global risk of Alzheimer's disease for use in population health approaches to prevention. *Prev Sci.* août 2013;14(4):411-21.
427. Andrews SJ, Eramudugolla R, Velez JI, Cherbuin N, Eastaugh S, Anstey KJ. Validating the role of the Australian National University Alzheimer's Disease Risk Index (ANU-ADRI) and a genetic risk score in progression to cognitive impairment in a population-based cohort of older adults followed for 12 years. *Alzheimers Res Ther.* 4 mars 2017;9(1):16.
428. Anstey KJ, Cherbuin N, Herath PM, Qiu C, Kuller LH, Lopez OL, et al. A Self-Report Risk Index to Predict Occurrence of Dementia in Three Independent Cohorts of Older Adults: The ANU-ADRI. *PLOS ONE.* 23 janv 2014;9(1):e86141.
429. Lloyd-Jones DM, Hong Y, Labarthe D, Mozaffarian D, Appel LJ, Van Horn L, et al. Defining and Setting National Goals for Cardiovascular Health Promotion and Disease Reduction: The American Heart Association's Strategic Impact Goal Through 2020 and Beyond. *Circulation.* 2 févr 2010;121(4):586-613.

430. González HM, Tarraf W, Harrison K, Windham BG, Tingle J, Alonso A, et al. Midlife cardiovascular health and 20-year cognitive decline: Atherosclerosis Risk in Communities Study results. *Alzheimers Dement.* mai 2018;14(5):579-89.
431. Gardener H, Wright CB, Dong C, Cheung K, DeRosa J, Nannery M, et al. Ideal Cardiovascular Health and Cognitive Aging in the Northern Manhattan Study. *J Am Heart Assoc.* 16 mars 2016;5(3):e002731.
432. Wu J, Xiong Y, Xia X, Orsini N, Qiu C, Kivipelto M, et al. Can dementia risk be reduced by following the American Heart Association's Life's Simple 7? A systematic review and dose-response meta-analysis. *Ageing Res Rev.* janv 2023;83:101788.
433. Samieri C, Perier MC, Gaye B, Proust-Lima C, Helmer C, Dartigues JF, et al. Association of Cardiovascular Health Level in Older Age With Cognitive Decline and Incident Dementia. *JAMA.* 21 août 2018;320(7):657-64.
434. Deckers K, van Boxtel MPJ, Schiepers OJG, de Vugt M, Muñoz Sánchez JL, Anstey KJ, et al. Target risk factors for dementia prevention: a systematic review and Delphi consensus study on the evidence from observational studies: Major risk factors for dementia prevention. *Int J Geriatr Psychiatry.* mars 2015;30(3):234-46.
435. Schiepers OJG, Köhler S, Deckers K, Irving K, O'Donnell CA, van den Akker M, et al. Lifestyle for Brain Health (LIBRA): a new model for dementia prevention. *Int J Geriatr Psychiatry.* janv 2018;33(1):167-75.
436. Vos SJB, van Boxtel MPJ, Schiepers OJG, Deckers K, de Vugt M, Carrière I, et al. Modifiable Risk Factors for Prevention of Dementia in Midlife, Late Life and the Oldest-Old: Validation of the LIBRA Index. *JAD.* 11 mai 2017;58(2):537-47.
437. Deckers K, Barbera M, Köhler S, Ngandu T, Boxtel M, Rusanen M, et al. Long-term dementia risk prediction by the LIBRA score: A 30-year follow-up of the CAIDE study. *Int J Geriatr Psychiatry.* févr 2020;35(2):195-203.
438. Pons A, LaMonica HM, Mowszowski L, Köhler S, Deckers K, Naismith SL. Utility of the LIBRA Index in Relation to Cognitive Functioning in a Clinical Health Seeking Sample. Hornberger M, éditeur. *JAD.* 6 févr 2018;62(1):373-84.
439. Heger IS, Deckers K, Schram MT, Stehouwer CDA, Dagnelie PC, van der Kallen CJH, et al. Associations of the Lifestyle for Brain Health Index With Structural Brain Changes and Cognition: Results From the Maastricht Study. *Neurology.* 28 sept 2021;97(13):e1300-12.
440. Hafdi M, Hoevenaar-Blom MP, Richard E. Multi-domain interventions for the prevention of dementia and cognitive decline. *Cochrane Database Syst Rev.* 8 nov 2021;11(11):CD013572.
441. Van Charante EPM, Richard E, Eurelings LS, Van Dalen JW, Ligthart SA, Van Bussel EF, et al. Effectiveness of a 6-year multidomain vascular care intervention to prevent dementia (preDIVA): a cluster-randomised controlled trial. *The Lancet.* août 2016;388(10046):797-805.

442. Espeland MA, Luchsinger JA, Baker LD, Neiberg R, Kahn SE, Arnold SE, et al. Effect of a long-term intensive lifestyle intervention on prevalence of cognitive impairment. *Neurology*. 23 mai 2017;88(21):2026-35.
443. Richard E, Moll Van Charante EP, Hoevenaar-Blom MP, Coley N, Barbera M, Van Der Groep A, et al. Healthy ageing through internet counselling in the elderly (HATICE): a multinational, randomised controlled trial. *The Lancet Digital Health*. déc 2019;1(8):e424-34.
444. Li M, Liu L, Song S, Shi A, Ma Y, Zhang S, et al. Effect of long-term lifestyle intervention on mild cognitive impairment in hypertensive occupational population in China. *Medicine*. août 2018;97(34):e11975.
445. Chen L, Hwang A, Lee W, Peng L, Lin M, Neil DL, et al. Efficacy of multidomain interventions to improve physical frailty, depression and cognition: data from cluster-randomized controlled trials. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. juin 2020;11(3):650-62.
446. Komulainen P, Kivipelto M, Lakka TA, Savonen K, Hassinen M, Kiviniemi V, et al. Exercise, fitness and cognition – A randomised controlled trial in older individuals: The DR's EXTRA study. *European Geriatric Medicine*. oct 2010;1(5):266-72.
447. Lee KS, Lee Y, Back JH, Son SJ, Choi SH, Chung YK, et al. Effects of a Multidomain Lifestyle Modification on Cognitive Function in Older Adults: An Eighteen-Month Community-Based Cluster Randomized Controlled Trial. *Psychother Psychosom*. 2014;83(5):270-8.
448. Richard E, Moll Van Charante EP, Hoevenaar-Blom MP, Coley N, Barbera M, Van Der Groep A, et al. Healthy ageing through internet counselling in the elderly (HATICE): a multinational, randomised controlled trial. *The Lancet Digital Health*. déc 2019;1(8):e424-34.
449. Celis-Morales C, Livingstone KM, Marsaux CF, Macready AL, Fallaize R, O'Donovan CB, et al. Effect of personalized nutrition on health-related behaviour change: evidence from the Food4Me European randomized controlled trial. *Int J Epidemiol*. 1 avr 2017;46(2):578-88.
450. Ottman R. Gene-environment interaction: definitions and study designs. *Prev Med*. 1996;25(6):764-70.
451. Samieri C, Yassine HN, Melo Van Lent D, Lefèvre-Arbogast S, Van De Rest O, Bowman GL, et al. Personalized nutrition for dementia prevention. *Alzheimer's & Dementia*. juill 2022;18(7):1424-37.
452. Licher S, Ahmad S, Karamujić-Čomić H, Voortman T, Leening MJG, Ikram MA, et al. Genetic predisposition, modifiable-risk-factor profile and long-term dementia risk in the general population. *Nat Med*. sept 2019;25(9):1364-9.
453. Lourida I, Hannon E, Littlejohns TJ, Langa KM, Hyppönen E, Kuzma E, et al. Association of Lifestyle and Genetic Risk With Incidence of Dementia. *JAMA*. 6 août 2019;322(5):430-7.

454. Peloso GM, Beiser AS, Satizabal CL, Xanthakis V, Vasan RS, Pase MP, et al. Cardiovascular health, genetic risk, and risk of dementia in the Framingham Heart Study. *Neurology*. 8 sept 2020;95(10):e1341-50.
455. Guo J, Brickman AM, Manly JJ, Reitz C, Schupf N, Mayeux RP, et al. Association of Life's Simple 7 with incident dementia and its modification by the apolipoprotein E genotype. *Alzheimers Dement*. déc 2021;17(12):1905-13.
456. Tin A, Bressler J, Simino J, Sullivan KJ, Mei H, Windham BG, et al. Genetic Risk, Midlife Life's Simple 7, and Incident Dementia in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Neurology*. 99:e154-63.
457. Dhana K, Aggarwal NT, Rajan KB, Barnes LL, Evans DA, Morris MC. Impact of the Apolipoprotein E ϵ 4 Allele on the Relationship Between Healthy Lifestyle and Cognitive Decline: A Population-Based Study. *AJE*. 1 juill 2021;190(7):1225-33.
458. Jia J, Zhao T, Liu Z, Liang Y, Li F, Li Y, et al. Association between healthy lifestyle and memory decline in older adults: 10 year, population based, prospective cohort study. *BMJ*. 25 janv 2023;380:e072691.
459. Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, et al. Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet*. oct 2009;41(10):1088-93.
460. Guerreiro R, Ross OA, Kun-Rodrigues C, Hernandez DG, Orme T, Eicher JD, et al. Investigating the genetic architecture of dementia with Lewy bodies: a two-stage genome-wide association study. *Lancet Neurol*. janv 2018;17(1):64-74.
461. Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA, DeStefano AL, Gudnason V, Boada M, et al. Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *JAMA*. 12 mai 2010;303(18):1832-40.
462. 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. *Nat Genet*. mars 2019;51(3):414-30.
463. European Alzheimer's Disease Initiative (EADI), Genetic and Environmental Risk in Alzheimer's Disease (GERAD), Alzheimer's Disease Genetic Consortium (ADGC), Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE), Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, 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.
464. van der Lee SJ, Wolters FJ, Ikram MK, Hofman A, Ikram MA, Amin N, et al. The effect of APOE and other common genetic variants on the onset of Alzheimer's disease and dementia: a community-based cohort study. *Lancet Neurol*. mai 2018;17(5):434-44.
465. Kunkle BW, Schmidt M, Klein HU, Naj AC, Hamilton-Nelson KL, Larson EB, et al. Novel Alzheimer Disease Risk Loci and Pathways in African American Individuals Using

- the African Genome Resources Panel: A Meta-analysis. *JAMA Neurol.* 1 janv 2021;78(1):102-13.
466. Barnes LL, Dhana K, Liu X, Carey VJ, Ventrelle J, Johnson K, et al. Trial of the MIND Diet for Prevention of Cognitive Decline in Older Persons. *New England Journal of Medicine.* 17 août 2023;389(7):602-11.
 467. Tengeler AC, Kozicz T, Kiliaan AJ. Relationship between diet, the gut microbiota, and brain function. *Nutrition Reviews.* 1 août 2018;76(8):603-17.
 468. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. « Mini-mental state ». A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* nov 1975;12(3):189-98.
 469. Benton AL. Manuel du test de rétention visuelle: applications cliniques et expérimentales. Editions du Centre de psychologie appliquée. Paris; 1953.
 470. Isaacs B, Kennie AT. The Set Test as an Aid to the Detection of Dementia in Old People. *Br J Psychiatry.* oct 1973;123(575):467-70.
 471. Reitan RM. Validity of the Trail Making Test as an Indicator of Organic Brain Damage. *Percept Mot Skills.* déc 1958;8:271-6.
 472. Hachinski V. Vascular dementia: a radical redefinition. *Dementia.* 1994;5(3-4):130-2.
 473. Lebert F, Pasquier F, Souliez L, Petit H. Frontotemporal behavioral scale. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* déc 1998;12(4):335-9.
 474. Galluzzi S, Cimaschi L, Ferrucci L, Frisoni GB. Mild cognitive impairment: clinical features and review of screening instruments. *Aging (Milano).* juin 2001;13(3):183-202.
 475. Blacker D, Albert MS, Bassett SS, Go RC, Harrell LE, Folstein MF. Reliability and validity of NINCDS-ADRDA criteria for Alzheimer's disease. The National Institute of Mental Health Genetics Initiative. *Arch Neurol.* déc 1994;51(12):1198-204.
 476. Hercberg S, Deheeger M, Preziosi P, Suvimax. SU.VI.MAX. Portions alimentaires. Manuel photos pour l'estimation des quantités. Paris: Editions Polytechnica; 2002. 132 p.
 477. Samieri C, Jutand MA, Féart C, Capuron L, Letenneur L, Barberger-Gateau P. Dietary patterns derived by hybrid clustering method in older people: association with cognition, mood, and self-rated health. *J Am Diet Assoc.* sept 2008;108(9):1461-71.
 478. Féart C, Jutand MA, Larrieu S, Letenneur L, Delcourt C, Combe N, et al. Energy, macronutrient and fatty acid intake of French elderly community dwellers and association with socio-demographic characteristics: data from the Bordeaux sample of the Three-City Study. *Br J Nutr.* nov 2007;98(5):1046-57.
 479. Hercberg S, Preziosi P, Briançon S, Galan P, Triol I, Malvy D, et al. A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study--design, methods, and participant characteristics. *Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants. Control Clin Trials.* août 1998;19(4):336-51.

480. Renaud S, Godsey F, Ortchanian E, Baudier F. Table de Composition des aliments. Courbevoie, France: ASTRA-CALVE. 1979.
481. Souci S, Fachmann W, Kraut H. Food composition and nutrition tables. Food composition and nutrition tables; 2000. 1182 p.
482. Favier JC, Ireland-Ripert J, Toque C, Feinberg M. Répertoire général des aliments: Table de composition. 2e édition, revue et augmentée. Paris : Technique & Documentation ; INRA; 1995. 927 p.
483. Féart C, Letenneur L, Helmer C, Samieri C, Schallch W, Etheve S, et al. Plasma Carotenoids Are Inversely Associated With Dementia Risk in an Elderly French Cohort. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. mai 2016;71(5):683-8.
484. Samieri C, Féart C, Proust-Lima C, Peuchant E, Dartigues JF, Amieva H, et al. ω -3 fatty acids and cognitive decline: modulation by ApoE ϵ 4 allele and depression. *Neurobiol Aging*. déc 2011;32(12):2317.e13-22.
485. Low DY, Lefèvre-Arbogast S, González-Domínguez R, Urpi-Sarda M, Mischeau P, Petera M, et al. Diet-Related Metabolites Associated with Cognitive Decline Revealed by Untargeted Metabolomics in a Prospective Cohort. *Mol Nutr Food Res*. sept 2019;63(18):1900177.
486. González-Domínguez R, Jáuregui O, Mena P, Hanhineva K, Tinahones FJ, Angelino D, et al. Quantifying the human diet in the crosstalk between nutrition and health by multi-targeted metabolomics of food and microbiota-derived metabolites. *Int J Obes*. déc 2020;44(12):2372-81.
487. Radloff LS. The CES-D Scale: A Self-Report Depression Scale for Research in the General Population. *Applied Psychological Measurement*. juin 1977;1(3):385-401.
488. Chauhan G, Arnold CR, Chu AY, Fornage M, Reyahi A, Bis JC, et al. Identification of additional risk loci for stroke and small vessel disease: a meta-analysis of genome-wide association studies. *Lancet Neurol*. juin 2016;15(7):695-707.
489. Price AL, Patterson NJ, Plenge RM, Weinblatt ME, Shadick NA, Reich D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet*. août 2006;38(8):904-9.
490. Su W, Bogdan M, Candès E. False Discoveries Occur Early on the Lasso Path [Internet]. arXiv; 2016 [cité 2 sept 2023]. Disponible sur: <http://arxiv.org/abs/1511.01957>
491. Leffondré K, Touraine C, Helmer C, Joly P. Interval-censored time-to-event and competing risk with death: is the illness-death model more accurate than the Cox model? *Int J Epidemiol*. août 2013;42(4):1177-86.
492. Schoenfeld D. Partial residuals for the proportional hazards regression model. *Biometrika*. 1 avr 1982;69(1):239-41.
493. Leffondré K, Jager KJ, Boucquemont J, Stel VS, Heinze G. Representation of exposures in regression analysis and interpretation of regression coefficients: basic concepts and pitfalls. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1 oct 2014;29(10):1806-14.

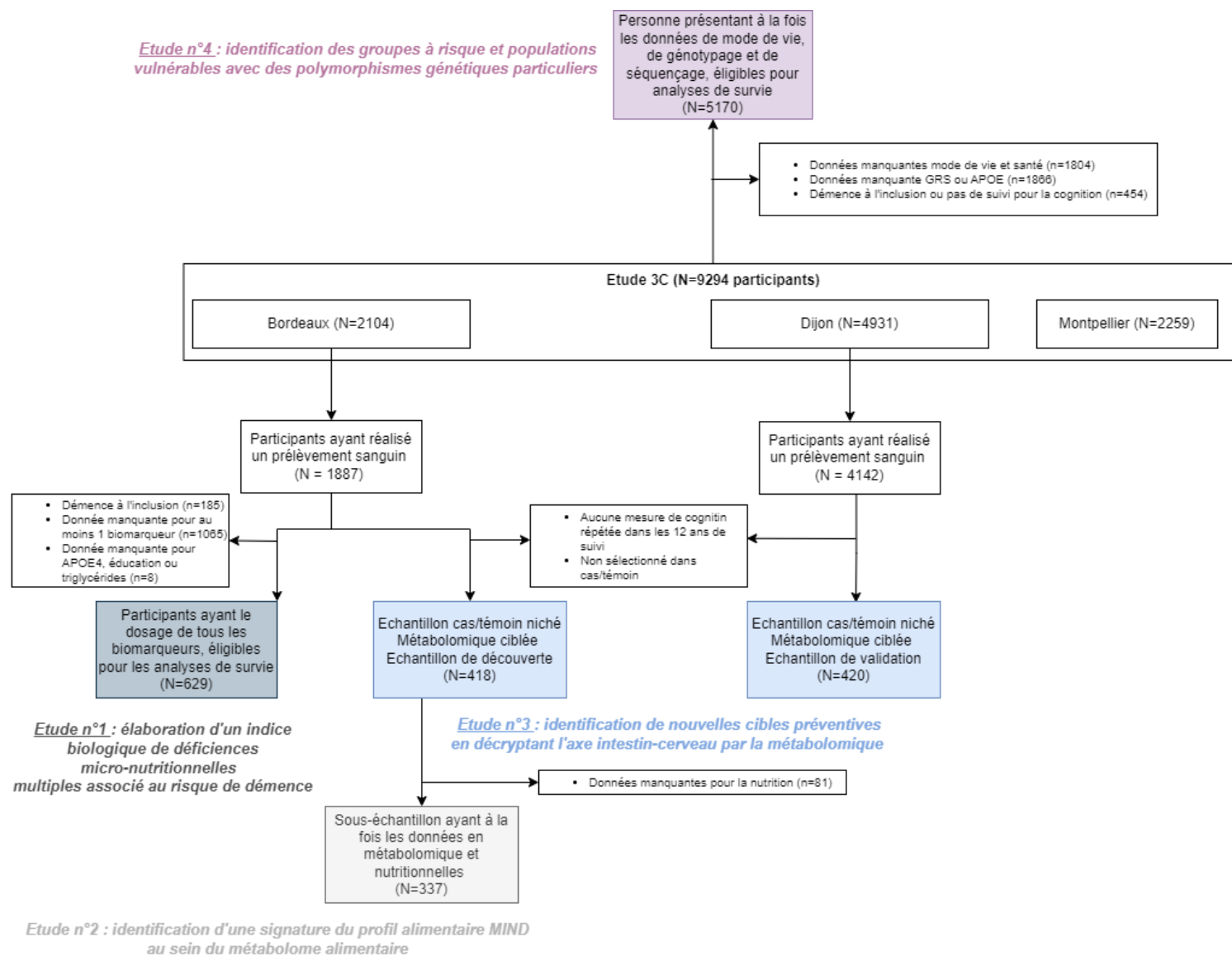
494. Eilers PHC, Marx BD. Flexible smoothing with B -splines and penalties. *Statist Sci.* mai 1996;11(2):89-121.
495. Royston P, Ambler G, Sauerbrei W. The use of fractional polynomials to model continuous risk variables in epidemiology. *Int J Epidemiol.* 1 oct 1999;28(5):964-74.
496. Wagner M, Dartigues JF, Samieri C, Proust-Lima C. Modeling Risk-Factor Trajectories When Measurement Tools Change Sequentially During Follow-up in Cohort Studies: Application to Dietary Habits in Prodromal Dementia. *Am J Epidemiol.* 1 avr 2018;187(4):845-54.
497. Wagner M, Grodstein F, Proust-Lima C, Samieri C. Long-Term Trajectories of Body Weight, Diet, and Physical Activity From Midlife Through Late Life and Subsequent Cognitive Decline in Women. *Am J Epidemiol.* 2 avr 2020;189(4):305-13.
498. Dumas O, Siroux V, Le Moual N, Varraso R. Approches d'analyse causale en épidémiologie. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique.* 1 févr 2014;62(1):53-63.
499. Kim YM, Cologne JB, Jang E, Lange T, Tatsukawa Y, Ohishi W, et al. Causal mediation analysis in nested case-control studies using conditional logistic regression. *Biom J.* déc 2020;62(8):1939-59.
500. Scarmeas N, Anastasiou CA, Yannakoulia M. Nutrition and prevention of cognitive impairment. *The Lancet Neurology.* nov 2018;17(11):1006-15.
501. Samieri C. Epidemiology and Risk Factors of Alzheimer's Disease: A Focus on Diet. In: Perneckzy R, éditeur. *Biomarkers for Preclinical Alzheimer's Disease* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2018. p. 15-42.
502. Forbes SC, Holroyd-Leduc JM, Poulin MJ, Hogan DB. Effect of Nutrients, Dietary Supplements and Vitamins on Cognition: a Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Can Geri J.* 30 déc 2015;18(4):231-45.
503. Rutjes AW, Denton DA, Di Nisio M, Chong LY, Abraham RP, Al-Assaf AS, et al. Vitamin and mineral supplementation for maintaining cognitive function in cognitively healthy people in mid and late life. *Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group, éditeur. Cochrane Database Syst Rev.* 17 déc 2018;12(12):CD011906.
504. Bowman GL, Silbert LC, Howieson D, Dodge HH, Traber MG, Frei B, et al. Nutrient biomarker patterns, cognitive function, and MRI measures of brain aging. *Neurology.* 24 janv 2012;78(4):241-9.
505. Gu Y, Nieves JW, Stern Y, Luchsinger JA, Scarmeas N. Food Combination and Alzheimer Disease Risk: A Protective Diet. *Arch Neurol.* 1 juin 2010;67(6):699-706.
506. Feart C, Helmer C, Merle B, Herrmann FR, Annweiler C, Dartigues JF, et al. Associations of lower vitamin D concentrations with cognitive decline and long-term risk of dementia and Alzheimer's disease in older adults. *Alzheimer's & Dementia.* nov 2017;13(11):1207-16.

507. Xu J, Yang S, Cai S, Dong J, Li X, Chen Z. Identification of biochemical changes in lactovegetarian urine using ¹H NMR spectroscopy and pattern recognition. *Anal Bioanal Chem.* févr 2010;396(4):1451-63.
508. Saji N, Murotani K, Hisada T, Kunihiro T, Tsuduki T, Sugimoto T, et al. Relationship between dementia and gut microbiome-associated metabolites: a cross-sectional study in Japan. *Sci Rep.* déc 2020;10(1):8088.
509. Mancuso C, Santangelo R. Alzheimer's disease and gut microbiota modifications: The long way between preclinical studies and clinical evidence. *Pharmacological Research.* mars 2018;129:329-36.
510. Chouraki V, Preis SR, Yang Q, Beiser A, Li S, Larson MG, et al. Association of amine biomarkers with incident dementia and Alzheimer's disease in the Framingham Study. *Alzheimers Dement.* déc 2017;13(12):1327-36.
511. Gulaj E, Pawlak K, Bien B, Pawlak D. Kynurenine and its metabolites in Alzheimer's disease patients. *Adv Med Sci.* 2010;55(2):204-11.
512. Smith PA. The tantalizing links between gut microbes and the brain. *Nature.* 15 oct 2015;526(7573):312-4.
513. Filosa S, Di Meo F, Crispi S. Polyphenols-gut microbiota interplay and brain neuromodulation. *Neural Regen Res.* 2018;13(12):2055.
514. Livingston G. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. 2020;396:34.
515. Solomon A, Turunen H, Ngandu T, Peltonen M, Levälahti E, Helisalmi S, et al. Effect of the Apolipoprotein E Genotype on Cognitive Change During a Multidomain Lifestyle Intervention: A Subgroup Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol.* 1 avr 2018;75(4):462.
516. 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.
517. Killingsworth J, Sawmiller D, Shytle RD. Propionate and Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 11 janv 2021;12:580001.
518. Gomes Gonçalves N, Vidal Ferreira N, Khandpur N, Martinez Steele E, Bertazzi Levy R, Andrade Lotufo P, et al. Association Between Consumption of Ultraprocessed Foods and Cognitive Decline. *JAMA Neurology.* 1 févr 2023;80(2):142-50.
519. Vermeulen R, Schymanski EL, Barabási AL, Miller GW. The exposome and health: Where chemistry meets biology. *Science.* 24 janv 2020;367(6476):392-6.
520. Lindhout JE, van Dalen JW, van Gool WA, Richard E. The challenge of dementia prevention trials and the role of quasi-experimental studies. *Alzheimer's & Dementia.* 2023;19(8):3722-30.

521. Whiteley WN, Anand S, Bangdiwala SI, Bosch J, Canavan M, Chertkow H, et al. Are large simple trials for dementia prevention possible? *Age and Ageing*. 27 févr 2020;49(2):154-60.
522. International AD. World Alzheimer Report 2019: Attitudes to dementia. 20 sept
523. Ipsos [Internet]. 2017 [cité 4 sept 2023]. Alzheimer : la 2e maladie la plus crainte des Français. Disponible sur: <https://www.ipsos.com/fr-fr/alzheimer-la-2e-maladie-la-plus-crainte-des-francais>
524. González-Domínguez R, Jáuregui O, Queipo-Ortuño MI, Andrés-Lacueva C. Characterization of the Human Exposome by a Comprehensive and Quantitative Large-Scale Multianalyte Metabolomics Platform. *Anal Chem*. 2020;9.

ANNEXES

Annexe 1 : Diagramme de flux des populations des différentes études réalisées au cours de cette thèse, cohorte 3C



Annexe 2 : Liste des 206 métabolites liés à l'alimentation quantifiés dans le sérum par la plateforme métabolomique multi-métabolites (524).

Métabolites endogènes	Métabolites exogènes
glycine	2-hydroxybenzoic acid
L-alanine	3-hydroxybenzoic acid sulfate
L-valine	4-hydroxybenzoic acid sulfate
L-leucine	2,6-dihydroxybenzoic acid
L-serine	3,4-dihydroxybenzoic acid
L-threonine	dihydroxybenzoic acid glucuronide
L-proline	hippuric acid
L-arginine	4-hydroxyhippuric acid
L-glutamate	3-hydroxyhippuric acid
L-aspartate	vanillic acid
L-glutamine	isovanillic acid
L-asparagine	2-hydroxyphenylacetic acid
L-histidine	4-hydroxyphenylacetic acid glucuronide
L-lysine	3-hydroxyphenylacetic acid sulfate
L-cysteine	3,4-dihydroxyphenylacetic acid sulfate
L-methionine	o-coumaric acid sulfate
L-phenylalanine	ferulic acid 4-sulfate
L-tyrosine	3-(3-hydroxyphenyl)propionic acid
L-tryptophan	hydroxyphenylpropionic acid sulfate
pyroglutamic acid	3-(3,5-dihydroxyphenyl)propionic acid sulfate
N6-trimethyl-lysine	dihydrocaffeic acid 3-sulfate
phenyllactic acid	dihydroferulic acid
p-hydroxyphenyllactic acid	dihydroferulic acid 4-sulfate
phenylacetylglutamine	dihydroisoferulic acid 3-sulfate
epinephrine	3-(3-hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionic acid
p-cresol sulfate	pyrogallol sulfate 1
p-cresol glucuronide	methylpyrogallol sulfate 1
indoxyl sulfate	catechol sulfate
5-hydroxytryptophan	4-methylcatechol sulfate 1
serotonin	vanillin
indole-3-lactic acid	5-(4-hydroxy(3-4-dihydroxyphenyl)-valeric acid sulfate 1
indole-3-acetic acid	3',4'-dihydroxyphenyl-γ-valerolactone sulfate
5-hydroxyindole-3-acetic acid	4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl-γ-valerolactone sulfate
indole-3-propionic acid	naringenin 7-glucuronide
kynurenine	naringenin glucuronide
kynurenic acid	hesperetin 3'-glucuronide
xanthurenic acid	hesperetin sulfate
anthranilic acid	bergaptol glucuronide
picolinic acid	bergaptol sulfate

Métabolites endogènes	Métabolites exogènes
oxaloacetic acid	umbelliferone sulfate
citric acid	4-methylumbelliferone sulfate
lactic acid	daidzein 4'-sulfate
pyruvic acid	genistein 7-sulfate
propionic acid	urolithin A glucuronide
butyric acid	urolithin A sulfate
valeric acid	urolithin B glucuronide
octanoic acid	urolithin B sulfate
decanoic acid	trans-resveratrol 3-sulfate
lauric acid	cis-resveratrol 3-sulfate
myristic acid	dihydroresveratrol sulfate 1
pentadecanoic acid	enterolactone
palmitic acid	enterolactone sulfate
palmitoleic acid	atractyligenin glucuronide
margaric acid	acesulfame K
stearic acid	saccharin
oleic acid	ethyl sulfate
linoleic acid	tartaric acid
linolenic acid	2-furoylglycine
eicosapentaenoic acid	1-methylxanthine
arachidonic acid	3-methylxanthine
docosatetraenoic acid	paraxanthine +theofylline
docosapentaenoic acid	theobromine
docosahexaenoic acid	caffeine
D-glucose	1-methyluric acid
ornithine	1,7-dimethyluric acid
citrulline	5-acetamido-6-formylamino-3-methyluracil
choline	cyclo(L-leucyl-L-prolyl)
trimethylamine N-oxide	cyclo(L-prolyl-L-valyl)
betaine	ergothioneine
taurine	proline betaine
urea	4-hydroxyproline betaine
creatine	carnosine
creatinine	1-methylhistidine
guanosine	3-methylhistidine
xanthine	arsenobetaine
uric acid	N-methylpyridinium
allantoin	α -chaconine
hypoxanthine	
adenine	
adenosine	
uracil	
uridine	
L-carnitine	

Métabolites endogènes	Métabolites exogènes
Acetyl-L-carnitine	
Propionyl-L-carnitine	
Butyryl-L-carnitine	
Hexanoyl-L-carnitine	
Octanoyl-L-carnitine	
Decanoyl-L-carnitine	
Undecanoyl-L-carnitine	
Dodecanoyl-L-carnitine	
Myristoyl-L-carnitine	
Palmitoyl-L-carnitine	
Oleoyl-L-carnitine	
Linoleyl-L-carnitine	
Desmosterol	
7-Ketocholesterol	
Cholesterol sulfate	
pregnenolone sulfate	
dehydroepiandrosterone sulfate	
testosterone	
estrone 3-sulfate	
17b-estradiol 3-sulfate	
cortisol	
corticosterone	
11-deoxycortisol	
Cholic acid	
Glycocholic acid	
Taurocholic acid	
Chenodeoxycholic acid	
Chenodeoxycholic acid 3-glucuronide	
Glycochenodeoxycholic acid	
Glycochenodeoxycholic acid 3-glucuronide	
Taurochenodeoxycholic acid	
Deoxycholic acid	
Glycodeoxycholic acid	
Glycodeoxycholic acid 3-sulfate	
Taurodeoxycholic acid	
Glycolitocholic acid 3-sulfate	
Taurolitocholic acid 3-sulfate	
Retinol	
Thiamine	
Riboflavin	
Niacinamide	
pantothenic acid	
4-Pyridoxic acid	
Biotin	

Métabolites endogènes	Métabolites exogènes
ascorbic acid	
25-hydroxyvitamin D3	
α -Tocopherol	
lynoleoyl-glycerophosphocholine	

Annexe 3 : Variants génétiques inclus dans le GRS incluant les SNPs identifiés dans la dernière GWAS (70)

Chromosome	SNP	Gène le plus proche ^a	Allèle à risque	Autre allèle	Position ^b	Poids ^c
1	rs679515	CR1	T	C	207577223	0.12
2	rs17020490	PRKD3	C	T	37304796	0.06
2	rs6733839	BIN1	T	C	127135234	0.14
2	rs10933431	INPP5D	C	G	233117202	0.04
3	rs16824536	MME	G	A	155069722	0.09
3	rs61762319	MME	G	A	155084189	0.17
4	rs6846529	CLNK	C	T	11023507	0.06
4	rs2245466	RHOH	G	C	40197226	0.04
5	rs112403360	ANKH	A	T	14724304	0.13
5	rs62374257	COX7C	C	T	86927378	0.06
5	rs871269	TNIP1	C	T	151052827	0.04
5	rs113706587	RASGEF1C	A	G	180201150	0.09
6	rs6605556	HLA-DQA1	A	G	32615322	0.07
6	rs10947943	UNC5CL	G	A	41036354	0.07
6	rs143332484	TREM2	T	C	41161469	0.37
6	rs7767350	CD2AP	T	C	47517390	0.10
6	rs785129	HS3ST5	T	C	114291731	0.04
7	rs10952097	ICA1	T	C	8204382	0.06
7	rs13237518	TMEM106B	C	A	12229967	0.05
7	rs6966331	EPDR1	C	T	37844191	0.05
7	rs76928645	SEC61G	C	T	54873635	0.06
7	rs7384878	SPDYE3	T	C	100334426	0.08
7	rs11771145	EPHA1	G	A	143413669	0.04
8	rs1065712	CTSB	C	G	11844613	0.05
8	rs73223431	PTK2B	T	C	27362470	0.07
8	rs11787077	CLU	C	T	27607795	0.09
9	rs1800978	ABCA1	G	C	104903697	0.04
10	rs7912495	USP6NL	G	A	11676714	0.07
10	rs7068231	ANK3	G	T	60025170	0.05
10	rs6586028	TSPAN14	T	C	80494228	0.07
10	rs6584063	BLNK	A	G	96266650	0.12
10	rs7908662	PLEKHA1	A	G	122413396	0.05
11	rs10437655	SPI1	A	G	47370397	0.05
11	rs1582763	MS4A4A	G	A	60254475	0.12
11	rs3851179	EED	C	T	86157598	0.09
11	rs74685827	SORL1	G	T	121482368	0.11
11	rs11218343	SORL1	T	C	121564878	0.20
12	rs6489896	TPCN1	C	T	113281983	0.08
14	rs17125924	FERMT2	G	A	52924962	0.11
14	rs7401792	SLC24A4	G	A	92464917	0.04
14	rs12590654	SLC24A4	G	A	92472511	0.07
14	rs10131280	IGH gene cluster	G	A	106665591	0.06

Chromosome	SNP	Gène le plus proche^a	Allèle à risque	Autre allèle	Position^b	Poids^c
15	rs8025980	SPPL2A	A	G	50701814	0.06
15	rs602602	MINDY2	T	A	58764824	0.05
15	rs117618017	APH1B	T	C	63277703	0.09
15	rs3848143	SNX1	G	A	64131307	0.07
15	rs12592898	CTSH	G	A	78936857	0.06
16	rs1140239	DOC2A	C	T	30010081	0.05
16	rs889555	BCKDK	C	T	31111250	0.04
16	rs4985556	IL34	A	C	70660097	0.09
16	rs450674	MAF	T	C	79574511	0.03
16	rs12446759	PLCG2	A	G	81739398	0.04
16	rs16941239	FOXF1	A	T	86420604	0.12
16	rs56407236	PRDM7	A	G	90103687	0.10
17	rs7225151	SCIMP	A	G	5233752	0.05
17	rs2242595	MYO15A	G	A	18156140	0.07
17	rs5848	GRN	T	C	44352876	0.08
17	rs199515	WNT3	C	G	46779275	0.07
17	rs2526377	TSPOAP1	A	G	58332680	0.05
17	rs4277405	ACE	T	C	63471557	0.05
19	rs12151021	ABCA7	A	G	1050875	0.08
19	rs9304690	SIGLEC11	T	C	49950060	0.05
19	rs587709	LILRB2	C	T	54267597	0.05
20	rs1358782	RBCK1	G	A	413334	0.05
20	rs6014724	CASS4	A	G	56423488	0.11
20	rs6742	SLC2A4RG	C	T	63743088	0.06
21	rs2154481	APP	T	C	26101558	0.04
21	rs2830489	ADAMTS1	C	T	26775872	0.03

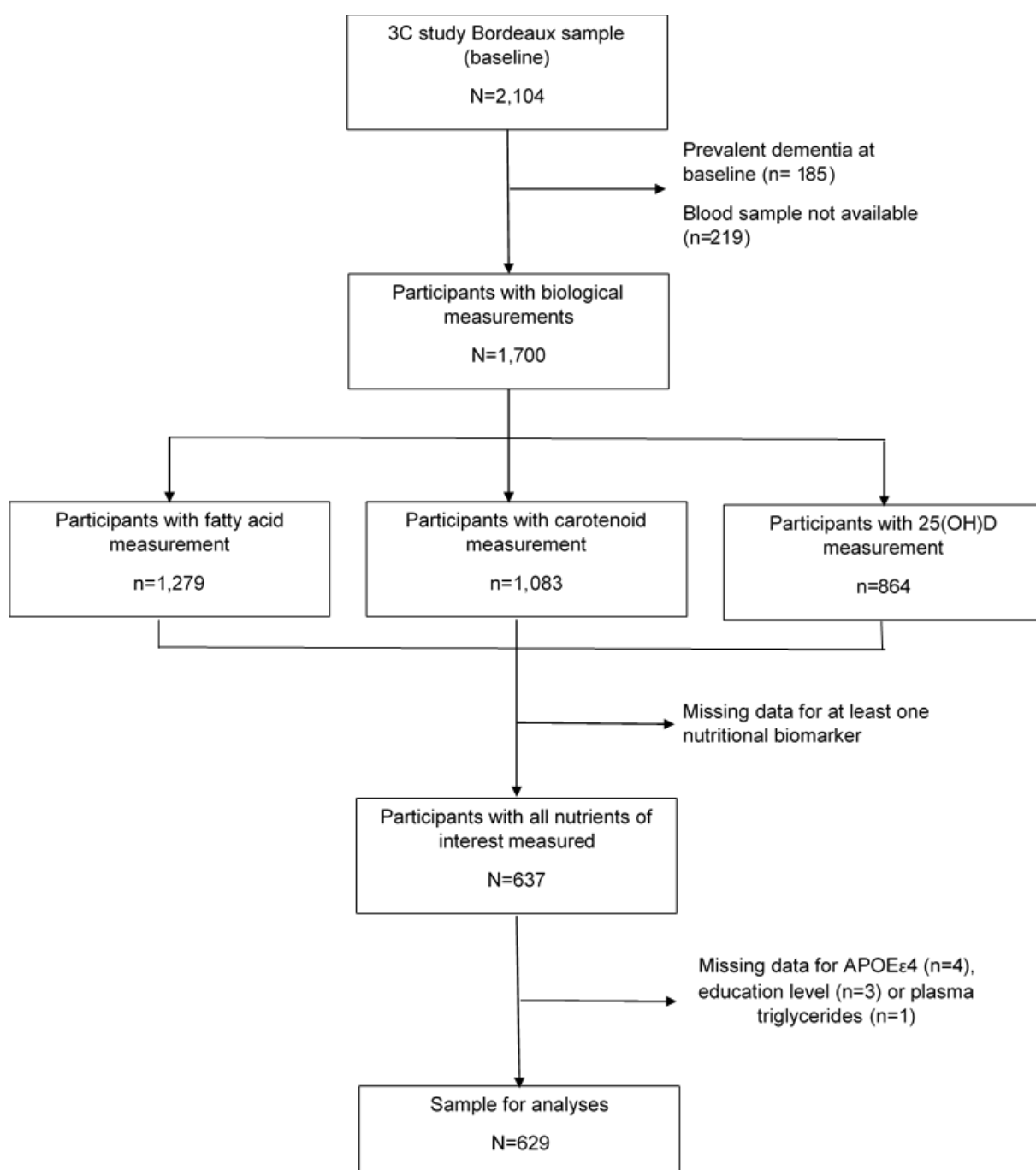
^a Gène codant pour une protéine le plus proche selon GENCODE relase 33c

^bGRCh37 assembly

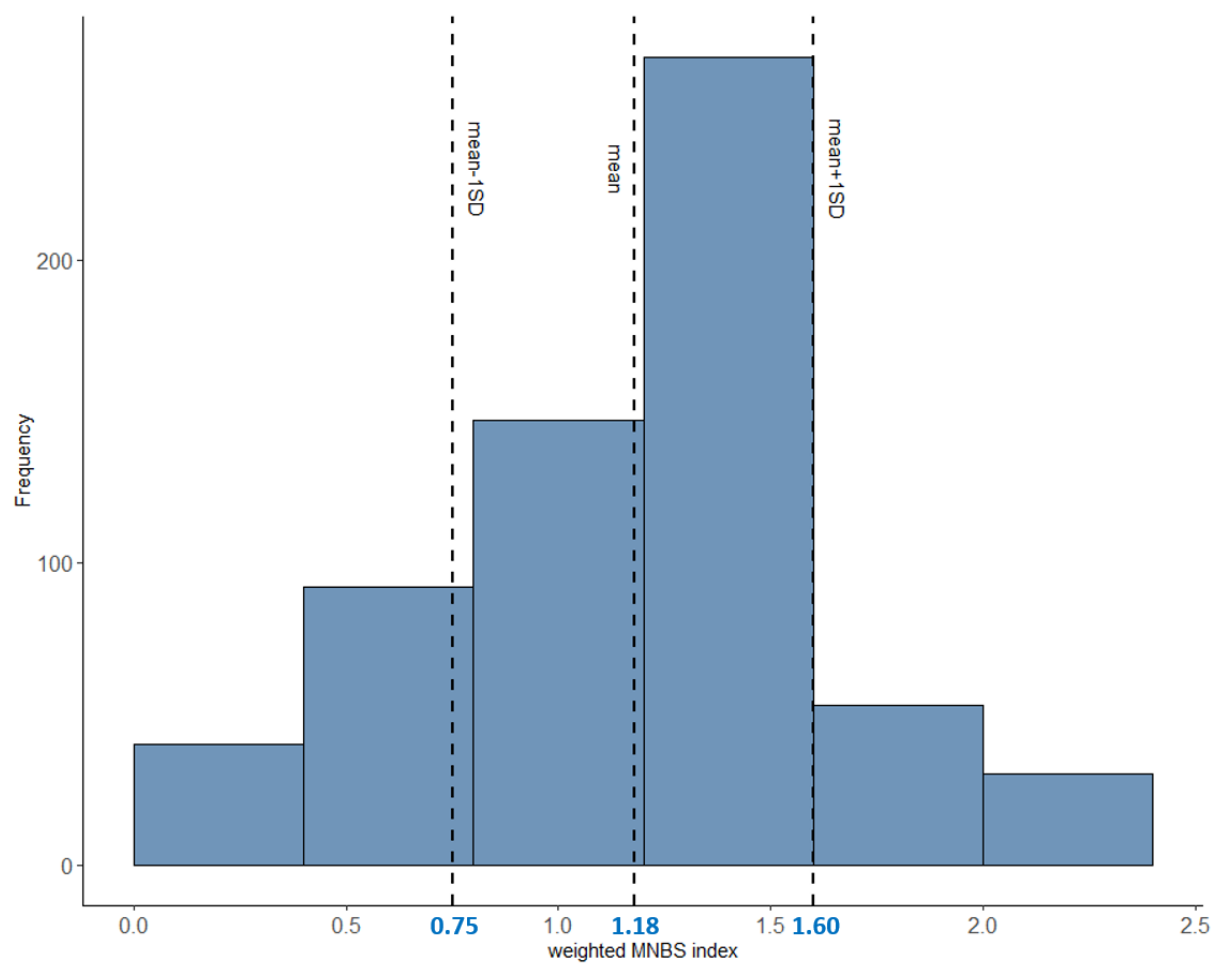
^c Défini comme le log(OR) estimé dans la GWAS

Annexe 4 : Informations supplémentaires de l'article 1, *A Biological Index to screen Multi-Micronutrient Deficiencies associated with the risk to develop dementia in older persons from the community* (2022)

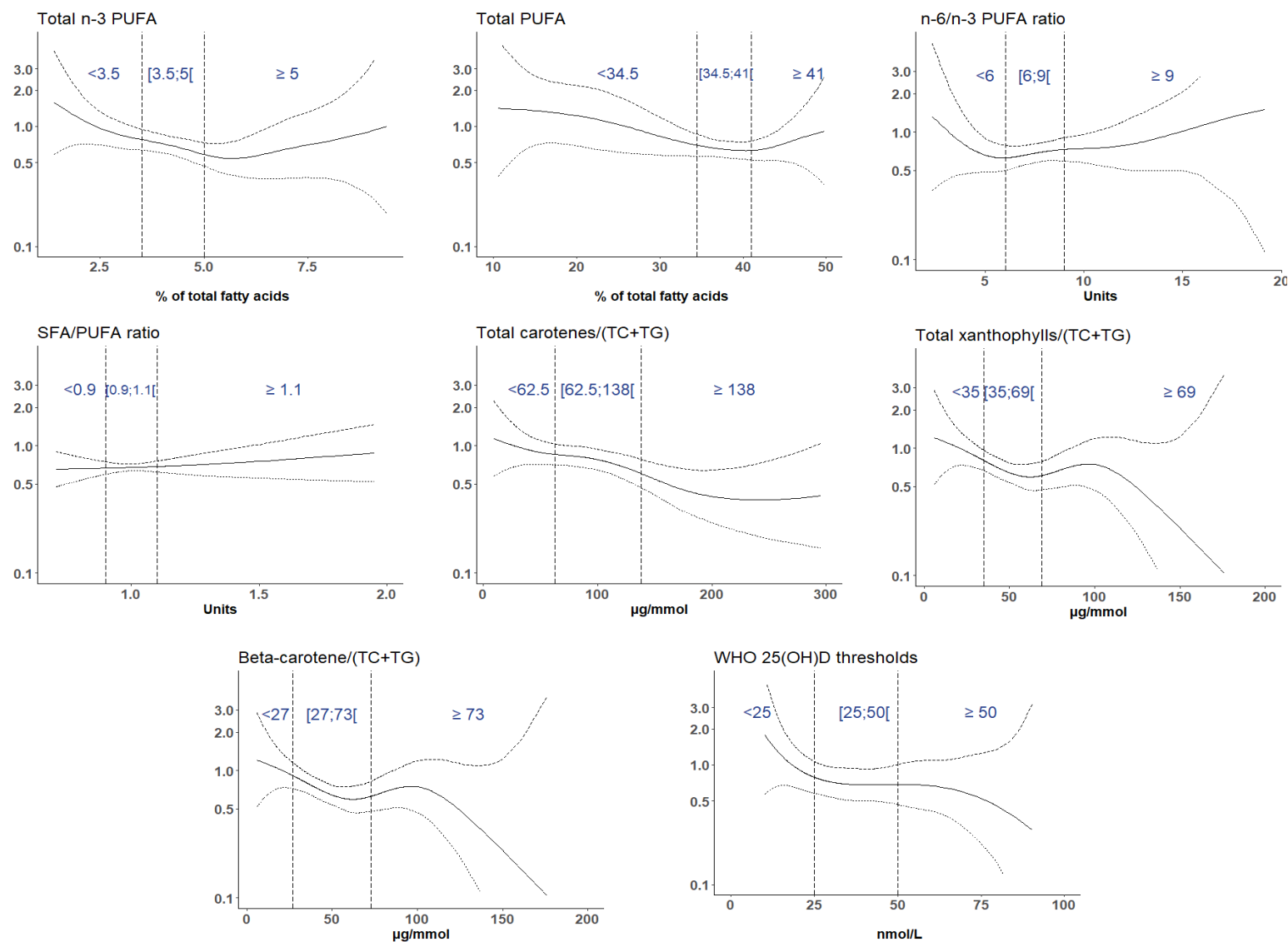
Supplementary Figure 1. Flow chart of participants included in the analysis



Supplementary Figure 2. Distribution of the index of micronutritional biological status associated with dementia risk (n=629), the 3C study (1999-2017)



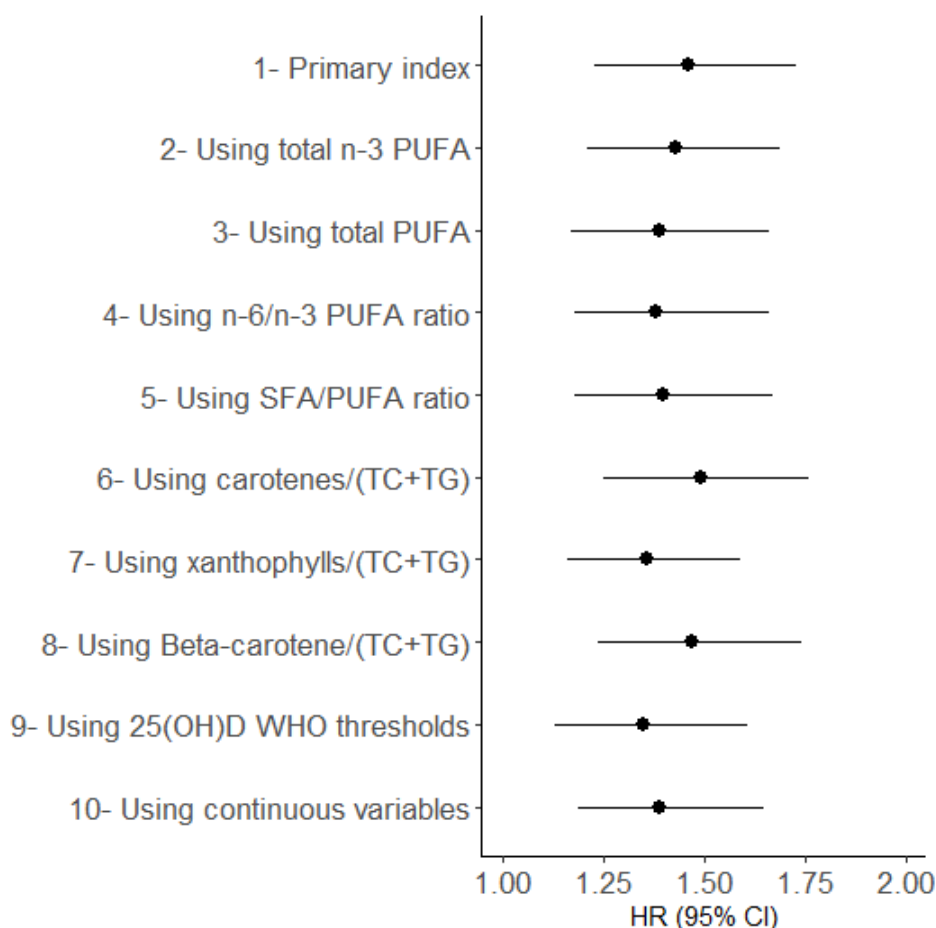
Supplementary Figure 3. Dose-response relationships between plasma levels of alternative nutrient components for the construction of the index of micronutritional biological status associated with dementia, and the risk to develop dementia over 17 years (n=629), the 3C study (1999-2017)



P-value for the test of a linear association against a null association was: 0.09 for total n-3 PUFA, 0.04 for total PUFA, 0.36 for n-6/n-3 PUFA ratio, 0.02 for SFA/PUFA ratio, <0.01 for total carotenes/(TC+TG), 0.08 for total xanthophylls/(TC+TG), <0.01 for β -carotene and 0.41 for 25(OH)D; P-value for the test of a non-linear association against a linear association was 0.33 for n-3 PUFA, 0.55 for total PUFA, 0.64 for n-3/n-6 PUFA ratio, 0.64 for SFA/PUFA ratio, 0.54 for carotenes, 0.31 for xanthophylls, 0.64 for β -carotene and 0.31 for 25(OH)D.

Abbreviations: PUFA: polyunsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids; TC: Total cholesterol; TG: triglycerides

Supplementary Figure 4. Hazard ratio for dementia risk for each 1 SD increase of the primary definition of the index of micronutritional biological status (plot 1)¹ and of alternative indexes based on varying definition of components (plots 2 to 8)² or thresholding (plots 9 and 10) ² (n=629), the 3C study, (1999-2017)

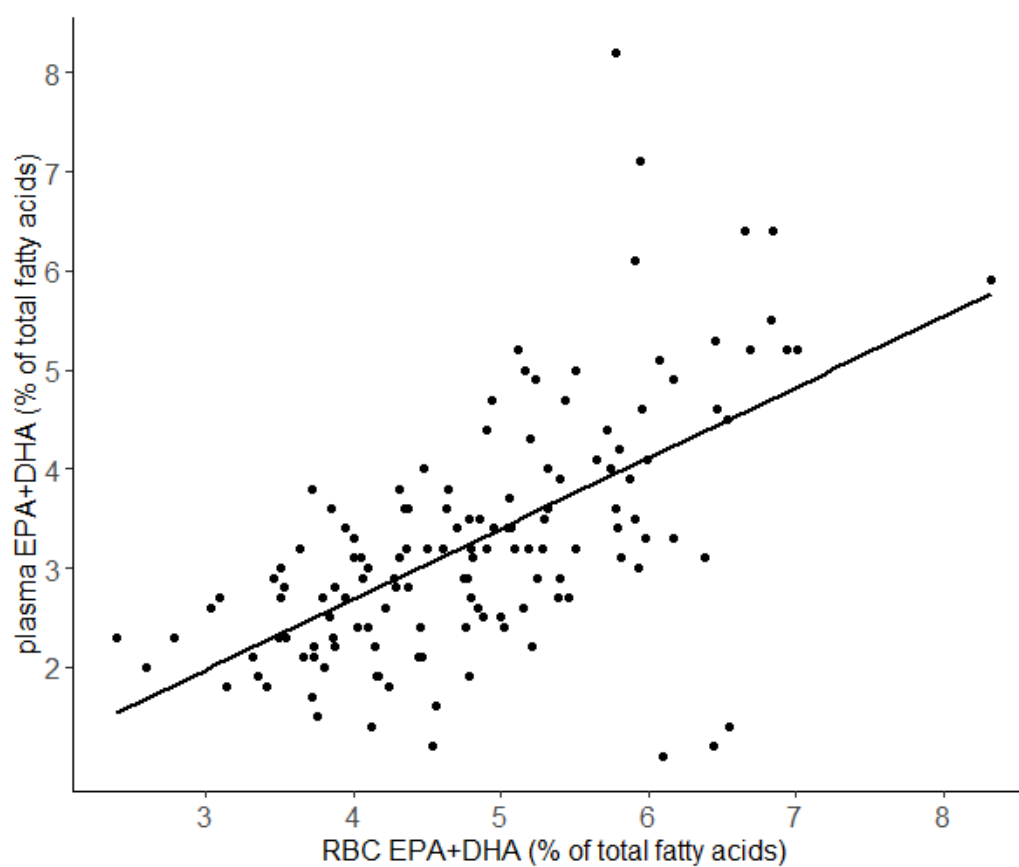


¹ Defined from LC n-3 PUFA, total carotenoids/TC+TG, and 25(OH)D_d

² Plots 2 to 5: alternative components to LC n-3 PUFA as used in the primary index; plots 6 to 8: alternative components to total carotenoids/TC+TG as used in the primary index; plot 9 and 10: alternative thresholds/modeling to spline-based thresholds for LC n-3 PUFA and carotenoids, as used in the primary index.

Abbreviations: 25(OH)D_d: de-seasonalized concentration of 25(OH)D; PUFA: polyunsaturated fatty acids; SFA: saturated fatty acids; TC: Total cholesterol; TG: triglycerides; WHO: World Health Organization.

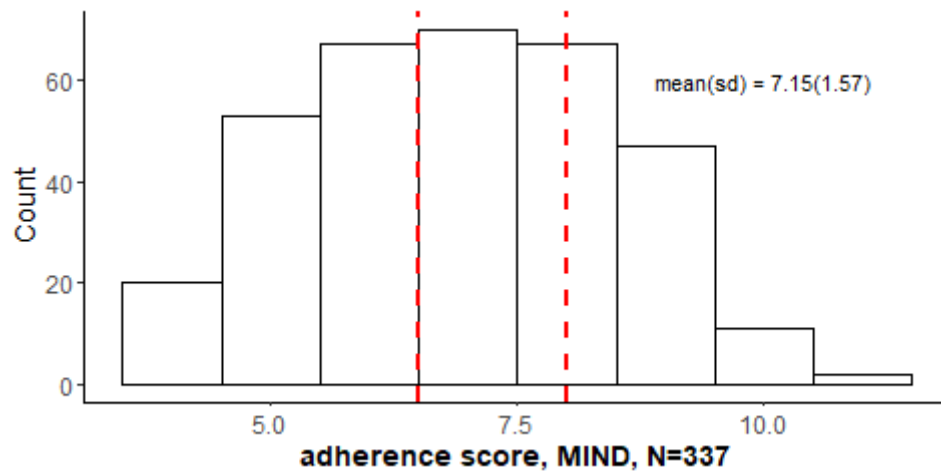
Supplementary Figure 5. Association between plasma and erythrocyte concentrations of EPA+DHA estimated by a linear regression model¹ in a subsample from the 3C study (n=148)



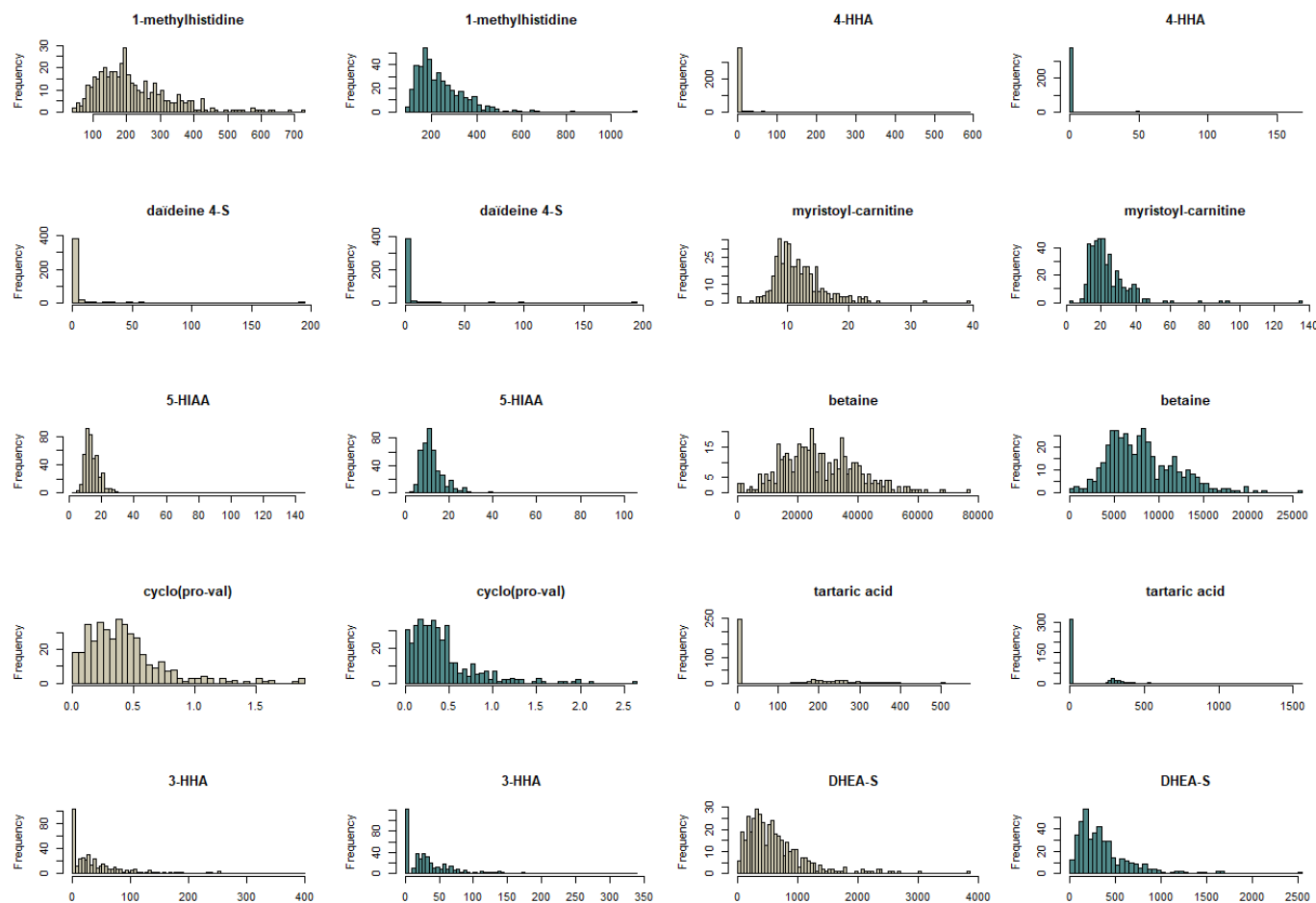
$$^1 (\text{Plasma EPA+DHA}(\% \text{ of total fatty acids})) = 0.71 (\text{RBC EPA+DHA}(\% \text{ of total fatty acids})) - 0.16$$

Abbreviations: DHA: docosahexaenoic acid, EPA: eicosapentaenoic acid, LC n-3 PUFA: long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids, RBC: red blood cell

Annexe 5 : Distribution du score d'adhésion au régime MIND et choix de catégorisation pour la description des caractéristiques de l'échantillon, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C issue du centre bordelais, n=337



Annexe 6 : Distributions des concentrations plasmatiques des métabolites sélectionnés dans la signature du régime métabolomique MIND, dans l'échantillon de découverte (en beige) et l'échantillon de validation (en bleu), cas-témoin niché dans la cohorte 3C, n=418



Les concentrations sont exprimées en µg/L

Annexe 7 : Informations supplémentaires de l'article 2, Exploration of the Gut Brain Axis Through Metabolomics Identifies Serum Propionic Acid Associated with Higher Cognitive Decline in Older Persons (2022)

Supplementary table S1. List of the 206 food-related metabolites quantified in serum by the multi-metabolite metabolomics platform (with the 72 candidate food and gut microbiota-derived metabolites emphasized in bold)

Endogenous metabolites

glycine

L-alanine

L-valine

L-leucine

L-serine

L-threonine

L-proline

L-arginine

L-glutamate

L-aspartate

L-glutamine

L-asparagine

L-histidine

L-lysine

L-cysteine

L-methionine

L-phenylalanine

L-tyrosine

L-tryptophan

pyroglutamic acid

N6-trimethyl-lysine

phenyllactic acid

p-hydroxyphenyllactic acid

phenylacetylglutamine

epinephrine

p-cresol sulfate

p-cresol glucuronide

indoxyl sulfate

5-hydroxytryptophan

serotonin

indole-3-lactic acid

indole-3-acetic acid

5-hydroxyindole-3-acetic acid

indole-3-propionic acid

kynurenine

kynurenic acid

xanthurenic acid

anthranilic acid

picolinic acid

oxaloacetic acid
citric acid
lactic acid
pyruvic acid
propionic acid
butyric acid
valeric acid
octanoic acid
decanoic acid
lauric acid
myristic acid
pentadecanoic acid
palmitic acid
palmitoleic acid
margaric acid
stearic acid
oleic acid
linoleic acid
linolenic acid
eicosapentaenoic acid
arachidonic acid
docosatetraenoic acid
docosapentaenoic acid
docosahexaenoic acid
D-glucose
ornithine
citrulline
choline
trimethylamine N-oxide
betaine
taurine
urea
creatine
creatinine
guanosine
xanthine
uric acid
allantoin
hypoxanthine
adenine
adenosine
uracil
uridine
L-carnitine
Acetyl-L-carnitine
Propionyl-L-carnitine

Butyryl-L-carnitine
 Hexanoyl-L-carnitine
 Octanoyl-L-carnitine
 Decanoyl-L-carnitine
 Undecanoyl-L-carnitine
 Dodecanoyl-L-carnitine
 Myristoyl-L-carnitine
 Palmitoyl-L-carnitine
 Oleoyl-L-carnitine
 Linoleyl-L-carnitine
 Desmosterol
 7-Ketocholesterol
 Cholesterol sulfate
 pregnenolone sulfate
 dehydroepiandrosterone sulfate
 testosterone
 estrone 3-sulfate
 17b-estradiol 3-sulfate
 cortisol
 corticosterone
 11-deoxycortisol
Cholic acid
 Glycocholic acid
 Taurocholic acid
 Chenodeoxycholic acid
 Chenodeoxycholic acid 3-glucuronide
 Glycochenodeoxycholic acid
 Glycochenodeoxycholic acid 3-glucuronide
 Taurochenodeoxycholic acid
Deoxycholic acid
Glycodeoxycholic acid
 Glycodeoxycholic acid 3-sulfate
Taurodeoxycholic acid
Glycolitocholic acid 3-sulfate
Taurolitocholic acid 3-sulfate
 Retinol
Thiamine
Riboflavin
Niacinamide
pantothenic acid
4-Pyridoxic acid
Biotin
 ascorbic acid
 25-hydroxyvitamin D3
 α -Tocopherol
 l- α -linolenoyl-glycerophosphocholine

exogenous metabolites

2-hydroxybenzoic acid
 3-hydroxybenzoic acid sulfate
 4-hydroxybenzoic acid sulfate
 2,6-dihydroxybenzoic acid
 3,4-dihydroxybenzoic acid
 dihydroxybenzoic acid glucuronide
 hippuric acid
 4-hydroxyhippuric acid
 3-hydroxyhippuric acid
 vanillic acid
 isovanillic acid
 2-hydroxyphenylacetic acid
 4-hydroxyphenylacetic acid
 glucuronide
 3-hydroxyphenylacetic acid sulfate
 3,4-dihydroxyphenylacetic acid
 sulfate
 o-coumaric acid sulfate
 ferulic acid 4-sulfate
 3-(3-hydroxyphenyl)propionic acid
 hydroxyphenylpropionic acid
 sulfate
 3-(3,5-dihydroxyphenyl)propionic
 acid sulfate
 dihydrocaffeic acid 3-sulfate
 dihydroferulic acid
 dihydroferulic acid 4-sulfate
 dihydroisoferulic acid 3-sulfate
 3-(3-hydroxyphenyl)-3-
 hydroxypropionic acid
 pyrogallol sulfate 1
 methylpyrogallol sulfate 1
 catechol sulfate
 4-methylcatechol sulfate 1
 vanillin
 5-(4-hydroxy(3-4-dihydroxyphenyl)-
 valeric acid sulfate 1
 3',4'-dihydroxyphenyl- γ -
 valerolactone sulfate
 4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl- γ -
 valerolactone sulfate
 naringenin 7-glucuronide
 naringenin glucuronide
 hesperetin 3'-glucuronide
 hesperetin sulfate
 bergaptol glucuronide
 bergaptol sulfate
 umbelliferone sulfate
 4-methylumbelliferone sulfate

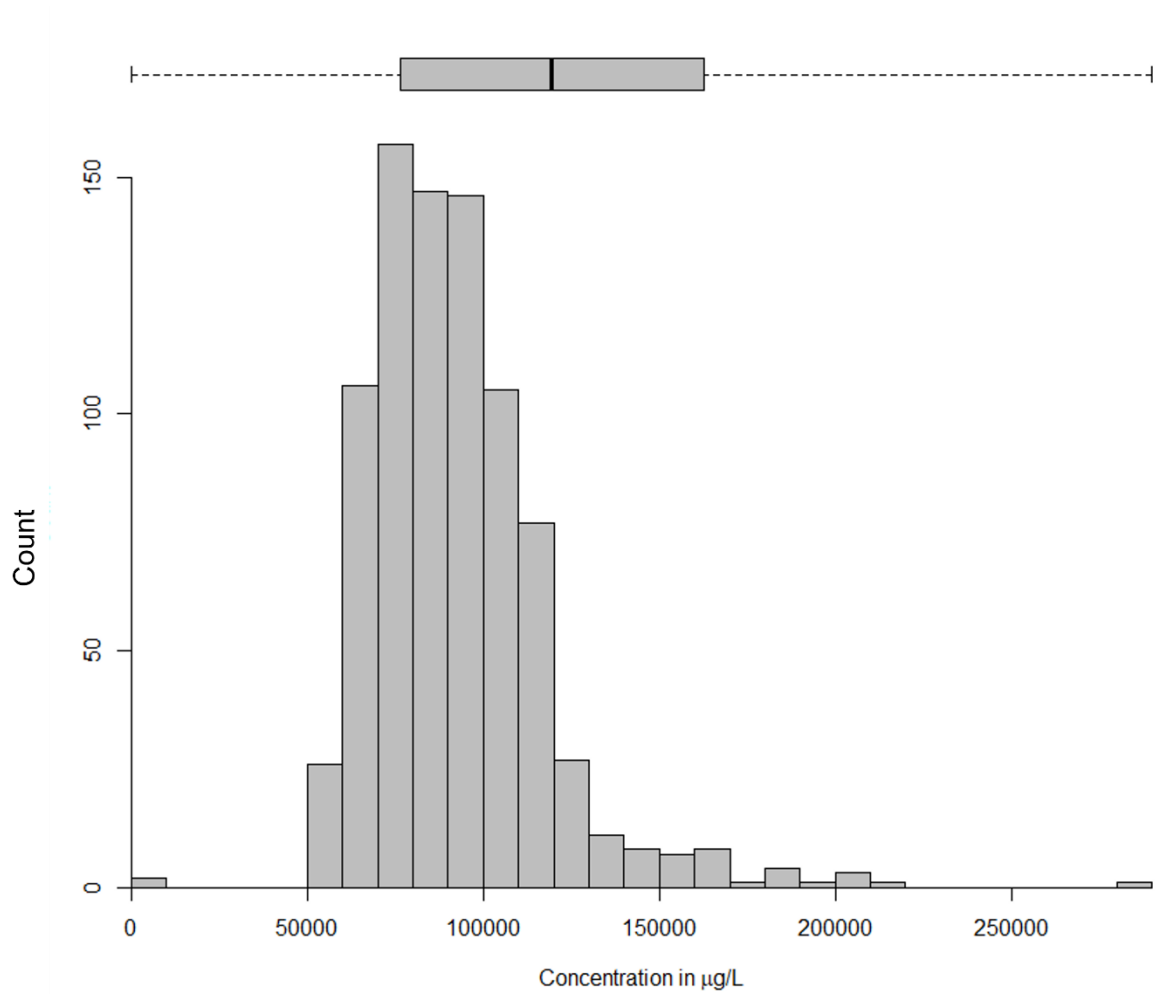
daidzein 4'-sulfate
 genistein 7-sulfate
urolithin A glucuronide
urolithin A sulfate
urolithin B glucuronide
urolithin B sulfate
 trans-resveratrol 3-sulfate
 cis-resveratrol 3-sulfate
dihydroresveratrol sulfate 1
enterolactone
enterolactone sulfate
 atractyligenin glucuronide
 acesulfame K
 saccharin
 ethyl sulfate
 tartaric acid
 2-furoylglycine
 1-methylxanthine
 3-methylxanthine
 paraxanthine +theofylline
 theobromine
 caffeine
 1-methyluric acid
 1,7-dimethyluric acid
 5-acetamido-6-formylamino-3-methyluracil
 cyclo(L-leucyl-L-prolyl)
 cyclo(L-prolyl-L-valyl)
ergothioneine
 proline betaine
 4-hydroxyproline betaine
 carnosine
 1-methylhistidine
 3-methylhistidine
 arsenobetaine
 N-methylpyridinium
 α -chaconine

Supplementary table S2. List of the 72 candidate food and gut microbiota-derived metabolites measured in serum, with chemical class, endogenous versus exogenous origin and relation to the gut microbiota (derivative versus substrate)

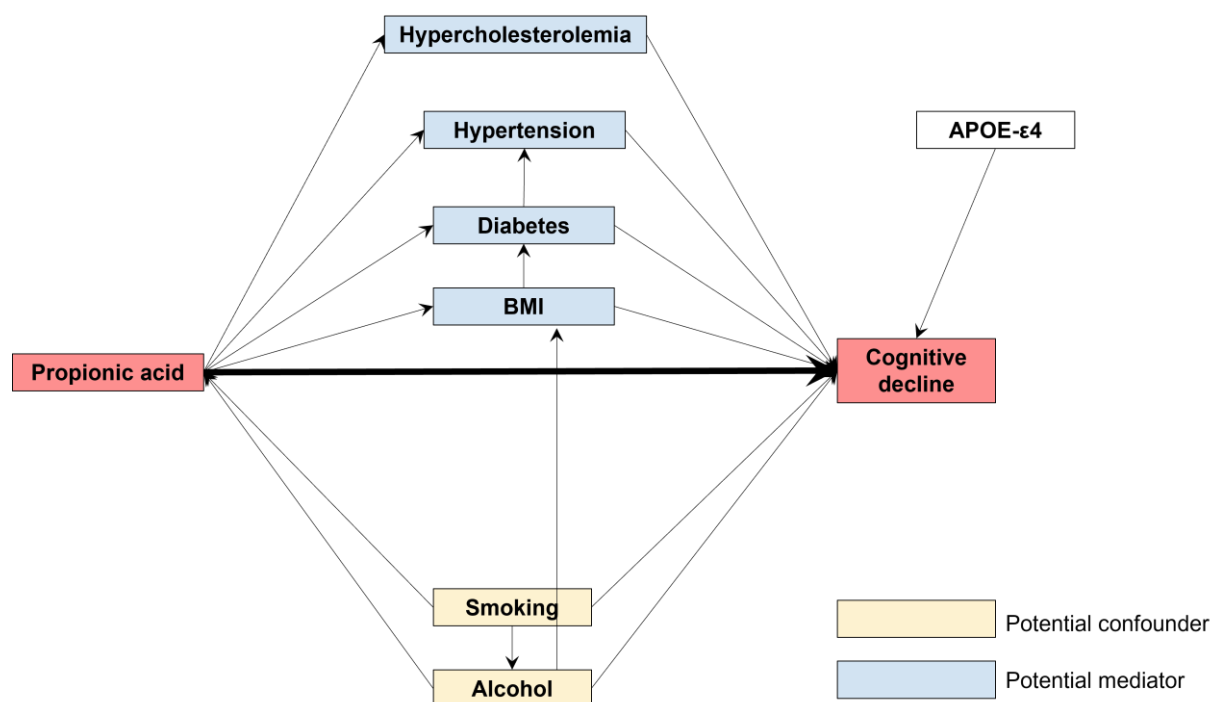
Class	Metabolite	Abbreviated name	Derivative (D)/ Substrate (S)
Amino-acids and derivatives	Phenylalanine	Phenylalanine	S
	Tryptophan	Tryptophan	S & D
	Tyrosine	Tyrosine	S & D
	Phenyl-lactic acid	Phenyl-lactic acid	D
	p-Hydroxyphenyl-lactic acid	p-HPLA	D
	Phenylacetylglutamine	Phenylacetylglutamine	D
	p-Cresol sulfate	p-cresol-S	D
	p-Cresol glucuronide	p-cresol-G	D
	Indole-3-propionic acid	IPA	D
	Indole-3-acetic acid	IAA	D
	Indoxyl sulfate	Indoxyl Sulfate	D
	Indole-3-lactic acid	Indolelactic acid	D
	5-Hydroxyindole-3-acetic acid	5-HIAA	D
	Kynurenine	Kynurenine	D
	Kynurenic acid	Kynurenic acid	D
	Xanthurenic acid	Xanthurenic acid	D
	Anthranillic acid	Anthranillic acid	S
	Picolinic acid	Picolinic acid	D
	Ergothioneine	Ergothioneine	D
	Epinephrine	Epinephrine	D
	Serotonin	Serotonin	D
Organic acids	Lactic acid	lactic acid	D
TMAO and substrates	Trimethylamine N-oxide	TMAO	D
	Betaine	betaine	S
	Choline	choline	S
	L-Carnitine	L-carnitine	S
Bile acids	Glycodeoxycholic acid	GDCA	D
B vitamins	Thiamine	Thiamine	D
	Riboflavin	Riboflavin	S&D
	Niacinamide	Niacinamide	D
	Pantothenic acid	Pantothenic acid	S&D
	4-Pyridoxic acid	4-pyridoxic acid	D
	Biotin	Biotin	D
Short chain fatty acids	Valeric acid	valeric acid	D
	Butyric acid	butyric acid	D
	Propionic acid	propionic acid	D
Phenolic compounds and derivatives	Urolithin A glucuronide	UroA-G	D
	Urolithin A sulfate	UroA-S	D
	Urolithin B glucuronide	UroB-G	D
	Urolithin B sulfate	UroB-S	D
	2-Hydroxybenzoic acid	2-HBA	D
	3-Hydroxybenzoic acid sulfate	3-HBA-S	D

Class	Metabolite	Abbreviated name	Derivative (D)/ Substrate (S)
	4-Hydroxybenzoic acid sulfate	4-HBA-S	D
	2,6-Dihydroxybenzoic acid	2,6-DHBA	D
	3,4-Dihydroxybenzoic acid	3,4-DHBA	D
	Hippuric acid	HA	D
	4-Hydroxyhippuric acid	4-HHA	D
	3-Hydroxyhippuric acid	3-HHA	D
	Isovanillic acid	iVA	D
	2-Hydroxyphenylacetic acid	2-HPAA	D
	4-Hydroxyphenylacetic acid glucuronide	4-HPAA-G	D
	3-Hydroxyphenylacetic acid sulfate	3-HPAA-S	D
	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid sulfate	3,4-DHPAA-S	D
	Ferulic acid 4-sulfate	FA-4S	D
	3-(3-Hydroxyphenyl)propionic acid	3-HPPA	D
	Hydroxyphenylpropionic acid sulfate	HPPA-S	D
	3-(3,5-Dihydroxyphenyl)propionic acid sulfate	3,5-DHPPA-S	D
	Dihydrocaffeic acid 3-sulfate	DHCA-3S	D
	Dihydroferulic acid	DHFA	D
	Dihydroferulic acid 4-sulfate	DHFA-S	D
	Dihydroisoferulic acid 3- sulfate	DHiFA-S	D
	3-(3-Hydroxyphenyl)-3- hydroxypropionic acid	3-HPHPA	D
	Pyrogallol sulfate	PYR-S	D
	Methylpyrogallol sulfate	MePYR-S	D
	Catechol sulfate	CAT-S	D
	4-Methylcatechol sulfate	4-MeCAT-S	D
	Vanillin	VAN	D
	3',4'-Dihydroxyphenyl- γ - valerolactone sulfate	3',4'-DHPV-S	D
	4'-Hydroxy-3'- methoxyphenyl- γ - valerolactone sulfate	MHPV-S	D
	Dihydroresveratrol sulfate	DHRSV-S	D
	Enterolactone sulfate	EL-S	D
	Enterolactone	EL	D

Supplementary Figure S1. Distribution of plasmatic propionic acid concentration in the pooled sample (n=838)

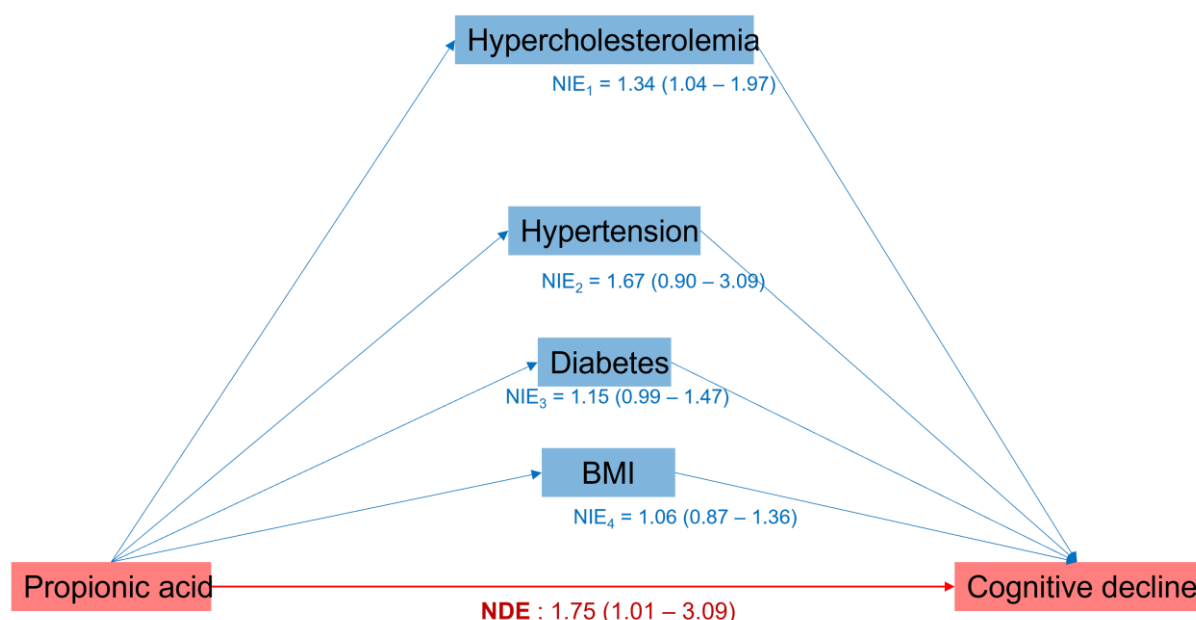


Supplementary Figure S2. Directed Acyclic Graph to identify potential confounders and mediators in the relation of propionic acid in serum to cognitive decline



Footnote: A directed acyclic graph (DAG) was implemented using DAGitty software (version 3.0) to identify the factors of adjustment in the model estimating the association between propionic acid in serum and cognitive decline. Covariates and their potential role in the relation of propionic acid to cognitive decline (beyond the matching variables age, sex and education) were selected from the literature.

Supplementary Figure S3. Counterfactual mediation analysis for matched data to estimate the mediating effect of hypertension, hypercholesterolemia and diabetes in the relation of propionic acid in serum to the odds of cognitive decline over 12 years in the pooled sample (n=838)



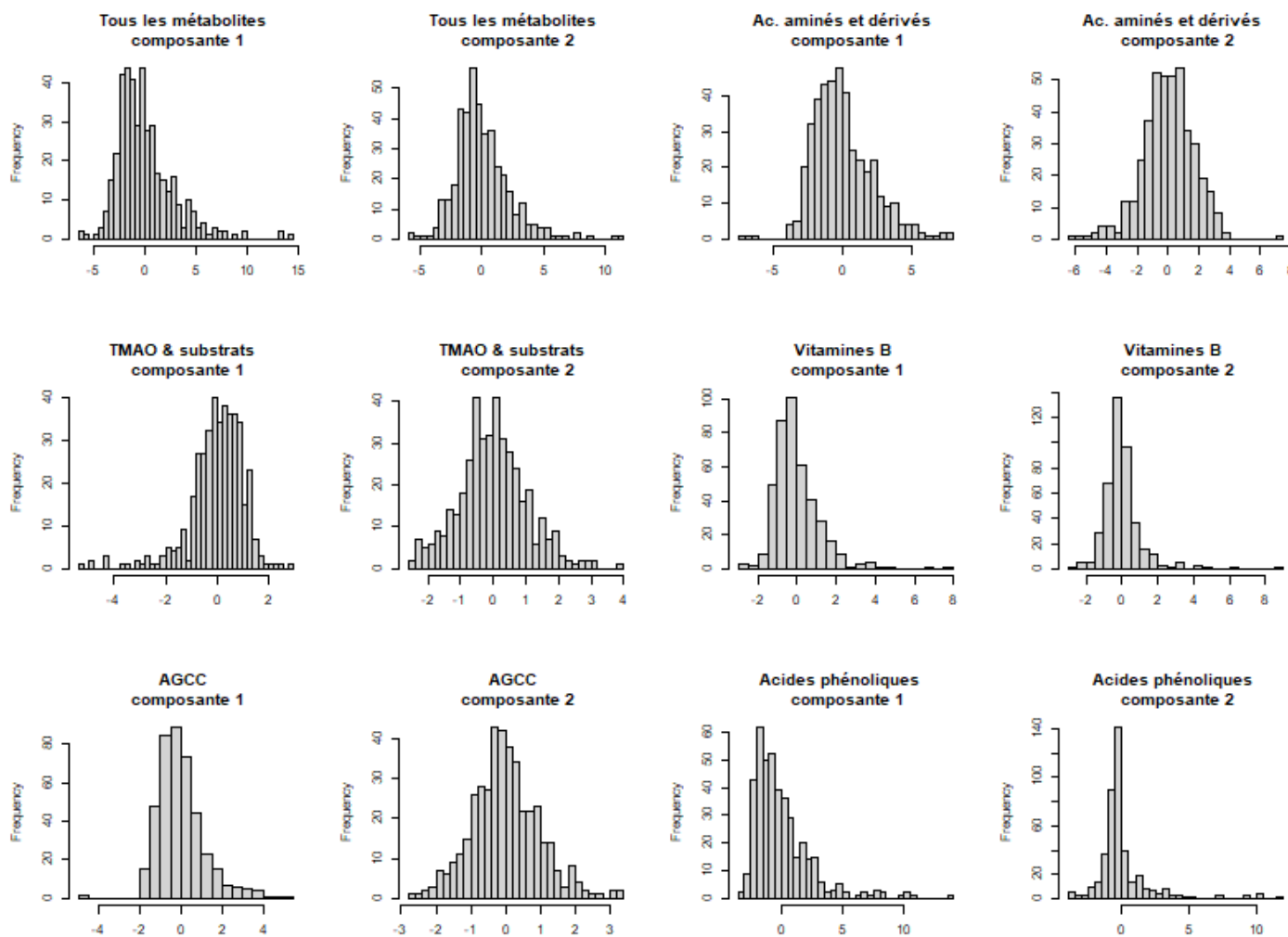
Footnote: A counterfactual mediation analysis for matched data[1,2] was run independently for each of the four potential mediators using conditional logistic regression models adjusted for confounders (alcohol consumption and smoking) and other potential mediators (BMI, hypercholesterolemia, hypertension or diabetes). Propionic acid and mediators were modeled as a binary variables (concentration $\geq 75^{\text{th}}$ vs $< 25^{\text{th}}$ percentiles for propionic acid; $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ vs $< 30 \text{ kg/m}^2$ for BMI, yes/no for hypertension, hypercholesterolemia and diabetes).

Note that there is no method available yet, to our knowledge, to assess in a unique analysis multiple mediation through potentially correlated mediators in matched case-control studies; here, we adapted the method by Kim et al[2] to several mediators, modeled non-concomitantly. In counterfactual approaches, two assumptions about unmeasured confounders must hold: (i) There is no mediator – outcome confounder affected by exposure, and (ii) no exposure-mediator interaction. There was no statistically significant interaction between propionic acid (the exposure) and any of the 4 mediators on the odds of cognitive decline. In each model, the total effect of propionic acid on cognitive decline was decomposed into a natural direct effect (NDE, red arrow) and a natural indirect effect (NIE_1 , NIE_2 , NIE_3 and NIE_4 , blue arrows) through the mediator. NDE is interpreted as the effect of propionic acid on cognitive decline when the path between each mediator and cognitive decline is blocked. NIE represents the impact of propionic acid on cognitive decline when the value of the mediator changes.

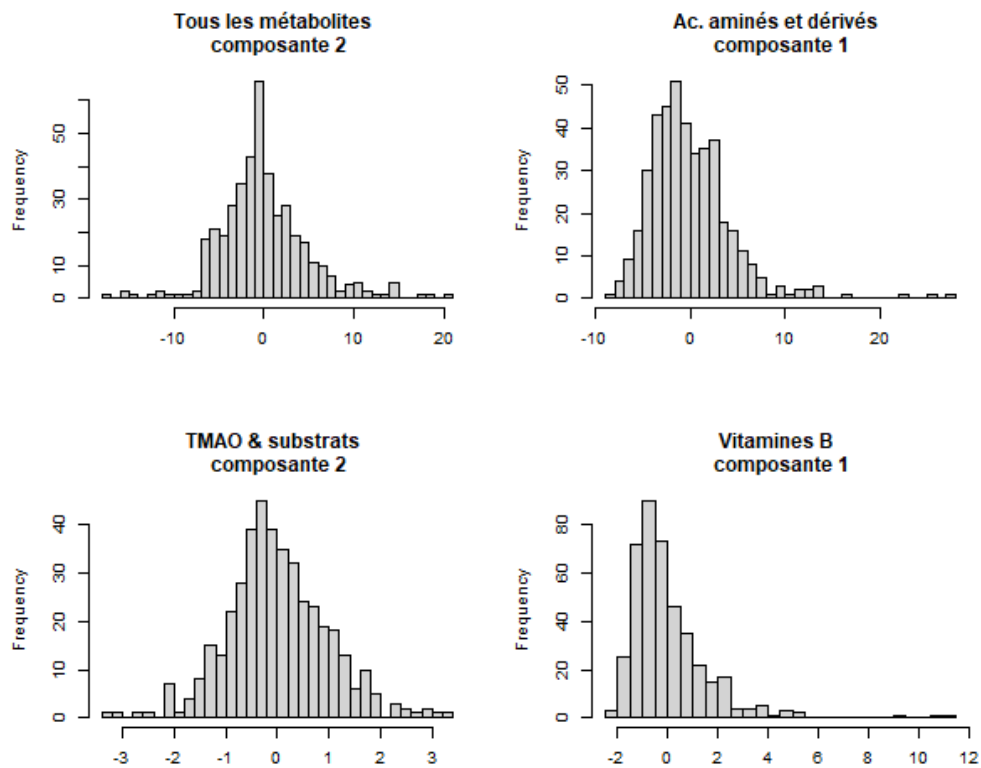
References

1. VanderWeele, T. J. Mediation Analysis: A Practitioner's Guide. *Annu. Rev. Public Health* **2016**, *37*, 17–32
2. Kim, Y. M. *et al.* Causal mediation analysis in nested case-control studies using conditional logistic regression. *Biom. J.* **2020**, *62*, 1939–1959

Annexe 8 : Distribution des scores factoriels des issus de l'analyse en composantes principales de tous les métabolites puis de chaque famille de métabolites dans l'échantillon de découverte, cas-témoin niché dans la cohorte 3C, n=418



Annexe 9 : Distribution des scores factoriels issus de l'analyse en composantes principales sélectionnés pour réplication de l'analyse d'association, échantillon de validation, cas-témoin niché dans la cohorte 3C, n=420



Annexe 10 : Informations supplémentaires de l'article 3, Association of lifestyle for brain health risk score and genetic susceptibility with incident dementia and cognitive decline

eMethods.

eFigure 1. Flow chart of participants included in the analysis

eFigure 2. Distribution of the lifestyle for brain health risk score and the genetic risk score (n=5,170)

eFigure 3. Multivariable-adjusted absolute risk of dementia during the course of the study and corresponding relative risks (Hazard Ratios, HR) according to increasing levels of lifestyle for brain health risk (LIBRA) score and genetic risk, combining genetic tools in a single model (n=5,170)

eFigure 4. Multivariable-adjusted absolute risk of dementia during the course of the study and corresponding relative risks (Hazard Ratios, HR) according to increasing levels of an alternative lifestyle for brain health risk (LIBRA) score using study-specific weights, and genetic risk (test sample, n=2,596)

eFigure 5. Multivariable-adjusted absolute risk of dementia during the course of the study and corresponding relative risks (Hazard Ratios, HR) according to increasing levels of the lifestyle for brain health risk (LIBRA) score and an alternative genetic risk score from a GWAS based on clinically diagnosed cases, and genetic risk (n=5,170)

eTable 1. Genetic variants included in the genetic risk score

eTable 2. Construction of an alternative, study-specific lifestyle for brain health risk (LIBRA) score (training sample, n=2,574)

eMethods

Assessment of cognitive function

Global cognition was assessed through five cognitive tests assessing (i) global cognition, (ii) verbal semantic fluency, (iii) working memory and attention, (iv) processing speed and (v) executive functioning.

For global cognition, we used the Mini-Mental State Examination (MMSE)¹; possible score values range from 0 to 30 (with higher score indicating better performance). For verbal semantic fluency, we used the Isaacs' Set Test (IST)²; in the IST, participants are asked to cite as many words as possible belonging to a specific semantic category in 15 seconds. Four semantic categories are used successively (cities, fruits, animals, and colors); sample score values ranged from 0 to 66. For working memory and attention, we used the Benton Visual Retention Test (BVRT)³, which consists of presentation for 10 seconds of a stimulus card displaying a geometric figure, after which individuals are asked to identify the initial figure among 4 possibilities. Fifteen figures are successively presented, and possible score values range from 0 to 15. For processing speed, we used the trail making test (TMT) part A, which consists of connecting numbers from 1 to 25 in an ascending manner. Executive function was evaluated through TMT part B, which includes both numbers (1 – 13) and letters (A – L); as in Part A, individuals are asked to draw lines to connect the circles in an ascending pattern, alternating between the numbers and letters (i.e., 1-A-2-B-3-C, etc.)⁴. For both TMTA and B, we analyzed the number of correct displacements divided by the time required to perform each part of the test (higher scores indicating better performance). Sample values ranged from 0 to 84.6 moves/min for TMTA and from 0 to 49.8 moves/min for TMTB.

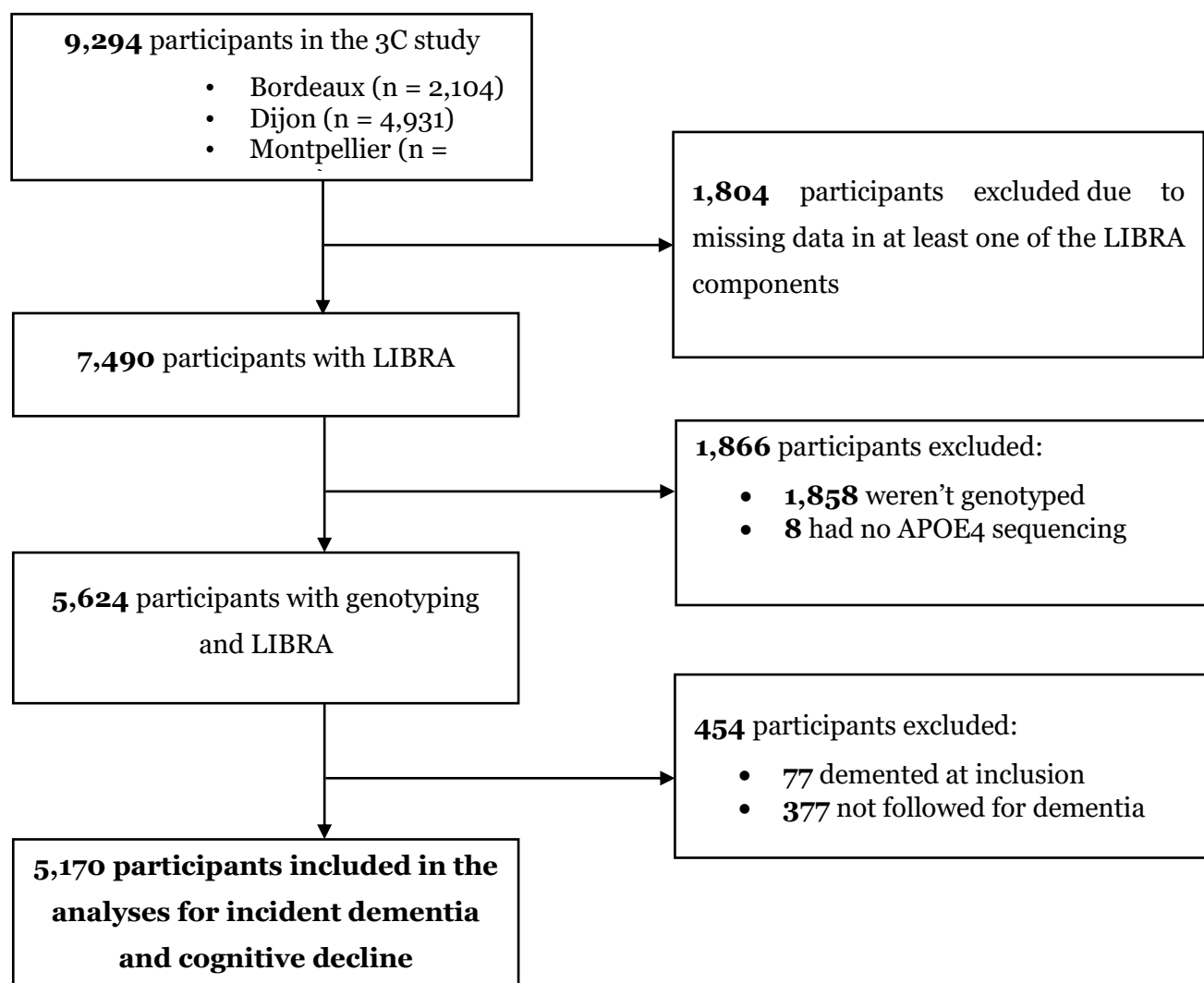
Ascertainment of the cognitively stimulating activities score

Following a methodology developed previously^{5,6}, we used site-specific leisure activity questionnaires in baseline, which collected monthly leisure activities in Dijon and Montpellier centers and daily activities in Bordeaux center, to compute a score reflecting higher engagement into cognitively stimulating activities in 3C participants. The cognitively stimulating activity score was based on current practice of 15 leisure activities in Bordeaux site and 6 leisure activities in Dijon and Montpellier sites. In the daily questionnaire (Bordeaux), participants were asked how much time in a day they engaged in 28 different leisure activities, e.g., listening to the radio, to music, watching TV, doing odd jobs, gardening, knitting/skewing or going for a walk. A 2-point scale was then constructed to rate engagement level in each activity, with 2 points attributed when the participant span ≥ 2 hours per day in the activity, 1 point for 1-2 hours per day, and 0 point for never or less than 1 hour per day. In the monthly questionnaire (Dijon/Montpellier), participants were asked the frequency in a month they engaged in 19 activities, like inviting friends, relatives, visiting friends, relatives, attending organization (charity, institution), doing crosswords, playing cards, going to the cinema or theater, managing an association or practicing an artistic activity. A 3-point scale was constructed, 3 points corresponding to ≥ 2 times per week, 2 to 1 time per week, 1 to 1-3 times by month and 0 to never or rarely. Cognitively stimulating leisure activities in which processing information played a role⁷ were subsequently selected in each questionnaire. In the daily questionnaire (Bordeaux), we considered: reading literature, reading newspapers, going to the cinema, going to the theater, painting, sculpting, acting as a director of an association (sporting, cultural or political), playing board games, doing crossword puzzles, and travelling. In the monthly questionnaire (Dijon/Montpellier), we included: reading, going to the cinema or the theater, practicing an artistic activity, managing an association, playing cards and doing crossword. A cognitively stimulating activities score was then constructed by summing the subscale scores of each activity. Due to the difference in assessments between the centers, cognitive stimulating activities scores were standardized (as Z-scores) for the analyses.

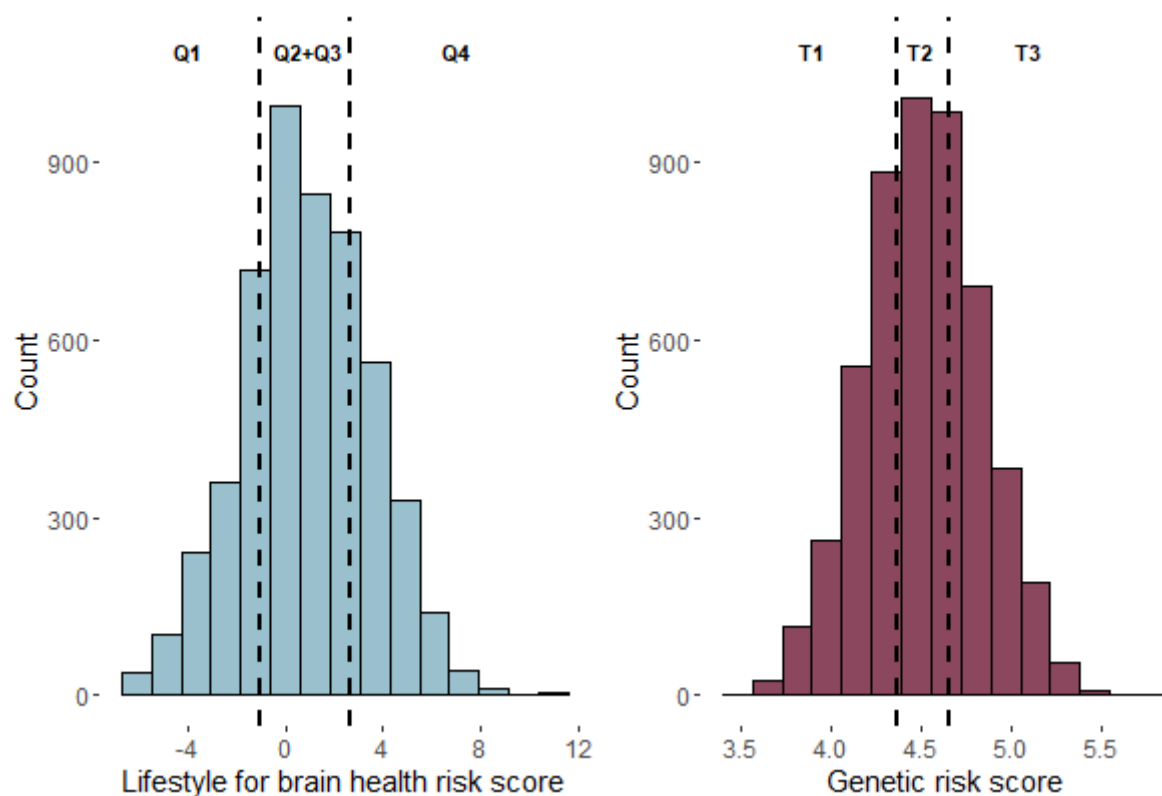
Supplementary analyses

In a first set of sensitivity analyses, we examined an alternative, study-specific LIBRA. We randomly split the initial sample of 5,170 participants into a training sample ($n=2,574$) to develop a study-specific weighted score and a test sample ($n=2,596$) to examine associations with study endpoints. In another sensitivity analysis, we constructed an alternative GRS (including 22 SNPs) based on an earlier GWAS meta-analysis of studies with strictly diagnosed Alzheimer's disease cases⁸.

eFigure 1. Flow chart of participants included in the analysis

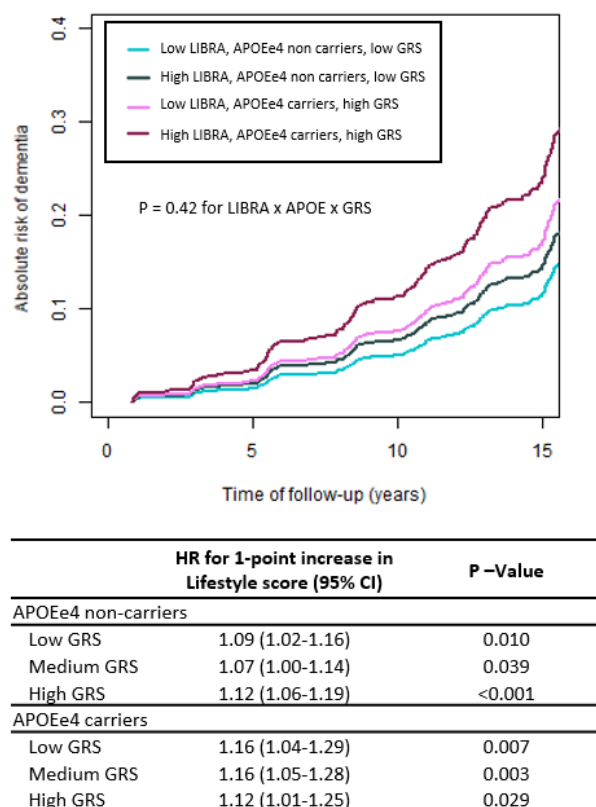


eFigure 2. Distribution of the lifestyle for brain health risk score and the genetic risk score^a (n=5,170)



^a Vertical dotted lines represent the cut-offs chosen for variable categorization, whenever necessary (upper bound of the 1st quartile [Q1] and lower bound of the 4th quartile [Q4] for the lifestyle for brain health risk score [left panel]; 1st, 2nd and 3rd tertile [T1, T2, T3] bounds for the genetic risk score [right panel])

eFigure 3. Multivariable-adjusted absolute risk of dementia during the course of the study and corresponding relative risks (Hazard Ratios, HR)^a according to increasing levels of lifestyle for brain health risk (LIBRA) score and genetic risk, combining genetic tools in a single model (N=5,170)



^a Relative Risks (Hazard Ratios, HR, as presented in table) were estimated with a cause-specific Cox model censoring at death. The time-scale was the delay between the date of inclusion and either the date of dementia, death or the end of follow-up, whichever came first. Absolute risks of dementia (as presented in plot) were estimated from the cause-specific Cox model while accounting for competing risk by death by specifying a cause-specific Cox model for death before dementia.

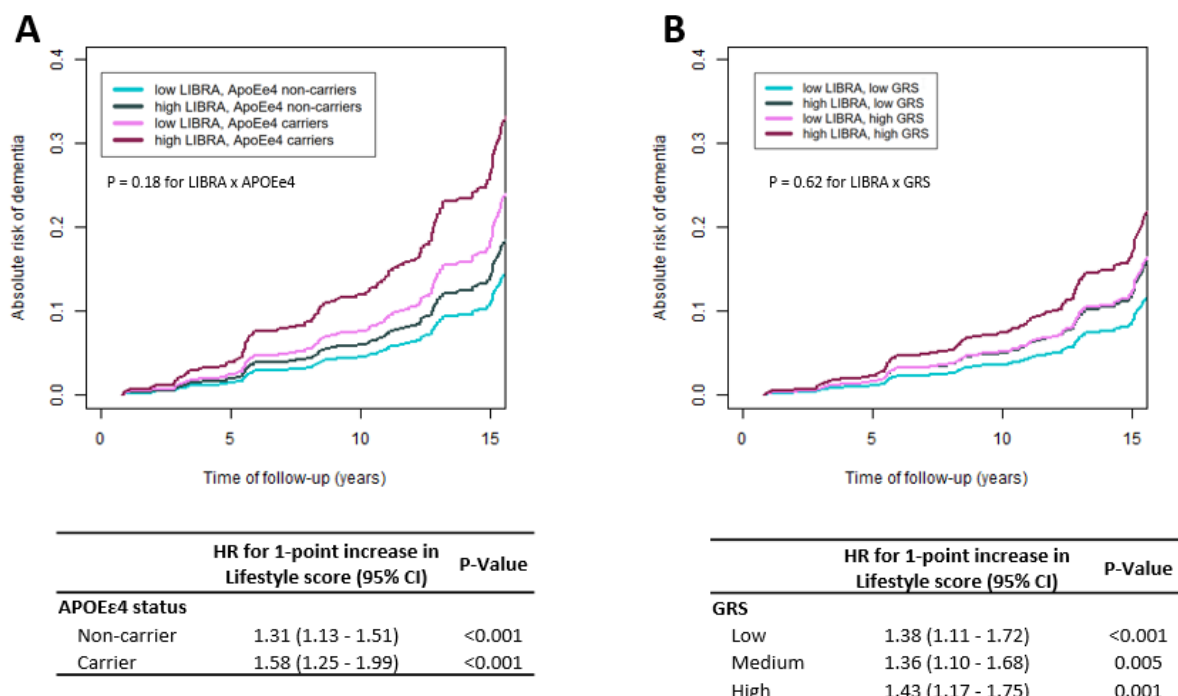
All Cox models used baseline hazard rates stratified by study center and included: the LIBRA score (continuous), the genetic factors (APOEε4 status and dementia genetic risk score [GRS, tertiles]), the interactions of LIBRA score and the genetic factors (LIBRA x APOEε4 x GRS), and covariates (age, sex, education level, income, genetic ancestry).

The p-value for LIBRAxAPOEε4xGRS interaction test as embedded in the plot was estimated in a distinct model considering the GRS continuously.

Curves represent the absolute risk of dementia at each time of follow-up of an average study participant profile (a woman from the Bordeaux site, aged 74 years-old at inclusion with educational level equal to middle school and monthly income between 1500 and 2250€). Note that the choice of profile is made to optimize the graphical representation and has no influence on the differences in HR estimated by the model (calculated for each increase of 1 point of LIBRA taken as a continuous variable). We chose two representative levels of LIBRA score (lower level = upper bound of the 1st quartile and higher level = lower bound of the 4th quartile), stratified in four levels of genetic factor (High GRS vs low GRS among APOEε4 non-carriers and High GRS vs low GRS among APOEε4 carriers).

Abbreviations: APOEε4: ε4 allele of the apolipoprotein E gene; CI: confidence interval; GRS: genetic risk score; HR: hazard ratio; LIBRA: lifestyle for brain health risk score

eFigure 4: Multivariable-adjusted absolute risk of dementia during the course of the study and corresponding relative risks (Hazard Ratios, HR)^a according to increasing levels of an alternative lifestyle for brain health risk (LIBRA) score using study-specific weights, and genetic risk (test sample, n=2,596)^b



^a Relative Risks (Hazard Ratios, HR, as presented in tables) were estimated with cause-specific Cox models censoring at death. The time-scale was the delay between the date of inclusion and either the date of dementia, death or the end of follow-up, whichever came first⁹. Absolute risks of dementia (as presented in plots) were estimated from the cause-specific Cox model while accounting for competing risk by death⁹ by specifying a cause-specific Cox model for death before dementia.

All Cox models used baseline hazard rates stratified by study center and included: the LIBRA score (continuous), the genetic factor (APOEε4 status in panel A, dementia genetic risk score [GRS, tertiles] in panel B), the interactions of LIBRA score and the genetic factor, and covariates (age, sex, education level, income, genetic ancestry and APOEε4 status in panel B).

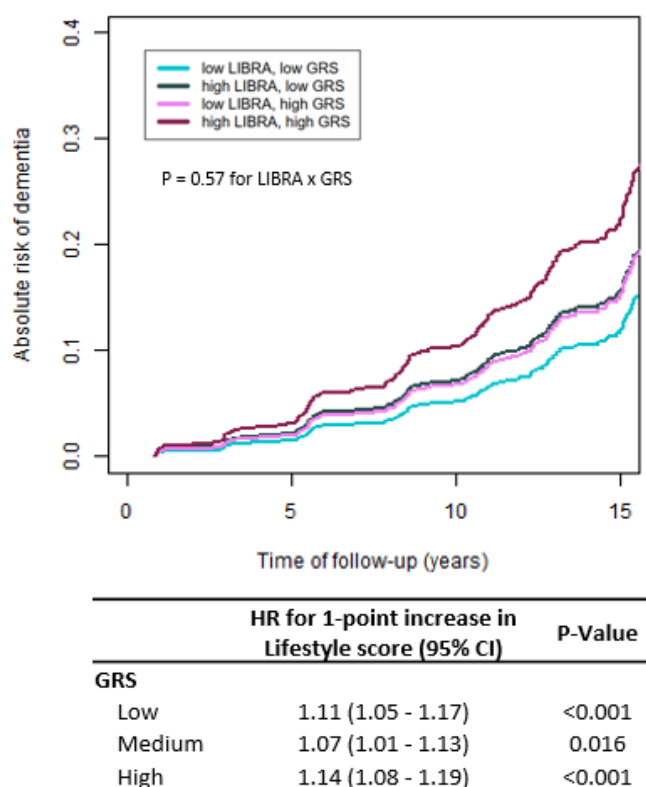
The p-value for LIBRAxGRS interaction test as embedded in the plot was estimated in a distinct model considering the GRS continuously.

^b The analytic sample has been randomly separated in a training sample (n=2,574) for the construction of alternative LIBRA score and a test sample (n=2,596) for estimation of association and interaction tests (as presented in panels A and B).

Curves represent the absolute risk of dementia at each time of follow-up of an average study participant profile (a woman from the Bordeaux site, aged 74 years-old at inclusion with educational level equal to middle school and monthly income between 1500 and 2250€). Note that the choice of profile is made to optimize the graphical representation and has no influence on the differences in HR estimated by the model (calculated for each increase of 1 point of LIBRA taken as a continuous variable). We chose two representative levels of the alternative LIBRA score (lower level = upper bound of the 1st quartile and higher level = lower bound of the 4th quartile), stratified in two levels of genetic factor (APOEε4 carrier versus no carrier in panel A, and 1st tertile [low] versus 3rd tertile of GRS [high]).

Abbreviations: APOEε4: ε4 allele of the apolipoprotein E gene; CI: confidence interval; GRS: genetic risk score; HR: hazard ratio; LIBRA: alternative lifestyle for brain health risk score

eFigure 5. Multivariable-adjusted absolute risk of dementia during the course of the study and corresponding relative risks (Hazard Ratios, HR)^a according to increasing levels of the lifestyle for brain health risk (LIBRA) score and an alternative genetic risk score from a GWAS based on clinically diagnosed cases)⁸ and genetic risk (N=5,170)



^a Relative Risks (Hazard Ratios, HR, as presented in table) were estimated with cause-specific Cox models censoring at death. The time-scale was the delay between the date of inclusion and either the date of dementia, death or the end of follow-up, whichever came first. Absolute risks of dementia (as presented in plot) were estimated from the cause-specific Cox model while accounting for competing risk by death by specifying a cause-specific Cox model for death before dementia.

All Cox models used baseline hazard rates stratified by study center and included: the LIBRA score (continuous), the genetic factor (genetic risk score [GRS, tertiles]), the interactions of LIBRA score and the genetic factor, and covariates (age, sex, education level, income, genetic ancestry and APOE ϵ 4 status).

Curves represent the absolute risk of dementia at each time of follow-up of an average study participant profile (a woman from the Bordeaux site, aged 74 years-old at inclusion with educational level equal to middle school and monthly income between 1500 and 2250€). Note that the choice of profile is made to optimize the graphical representation and has no influence on the differences in HR estimated by the model (calculated for each increase of 1 point of LIBRA taken as a continuous variable). We chose two representative levels of the alternative LIBRA score (lower level = upper bound of the 1st quartile and higher level = lower bound of the 4th quartile), stratified in two levels of GRS (1st tertile [low] versus 3rd tertile [high]).

The p-value for LIBRAxGRS interaction test as embedded in the plot was estimated in a distinct model considering the GRS continuously.

Abbreviations: APOE ϵ 4: ϵ 4 allele of the apolipoprotein E gene; CI: confidence interval; GRS: alternative genetic risk score; HR: hazard ratio; LIBRA: lifestyle for brain health risk score

eTable 1. Genetic variants included in the genetic risk score^a

Chromosome	SNP	Nearest gene ^b	Risk allele	Other allele	Position ^c	Weight ^d
1	rs679515	CR1	T	C	207577223	0.12
2	rs17020490	PRKD3	C	T	37304796	0.06
2	rs6733839	BIN1	T	C	127135234	0.14
2	rs10933431	INPP5D	C	G	233117202	0.04
3	rs16824536	MME	G	A	155069722	0.09
3	rs61762319	MME	G	A	155084189	0.17
4	rs6846529	CLNK	C	T	11023507	0.06
4	rs2245466	RHOH	G	C	40197226	0.04
5	rs112403360	ANKH	A	T	14724304	0.13
5	rs62374257	COX7C	C	T	86927378	0.06
5	rs871269	TNIP1	C	T	151052827	0.04
5	rs113706587	RASGEF1C	A	G	180201150	0.09
6	rs6605556	HLA-DQA1	A	G	32615322	0.07
6	rs10947943	UNC5CL	G	A	41036354	0.07
6	rs143332484	TREM2	T	C	41161469	0.37
6	rs7767350	CD2AP	T	C	47517390	0.10
6	rs785129	HS3ST5	T	C	114291731	0.04
7	rs10952097	ICA1	T	C	8204382	0.06
7	rs13237518	TMEM106B	C	A	12229967	0.05
7	rs6966331	EPDR1	C	T	37844191	0.05
7	rs76928645	SEC61G	C	T	54873635	0.06
7	rs7384878	SPDYE3	T	C	100334426	0.08
7	rs11771145	EPHA1	G	A	143413669	0.04
8	rs1065712	CTSB	C	G	11844613	0.05
8	rs73223431	PTK2B	T	C	27362470	0.07
8	rs11787077	CLU	C	T	27607795	0.09
9	rs1800978	ABCA1	G	C	104903697	0.04
10	rs7912495	USP6NL	G	A	11676714	0.07
10	rs7068231	ANK3	G	T	60025170	0.05
10	rs6586028	TSPAN14	T	C	80494228	0.07
10	rs6584063	BLNK	A	G	96266650	0.12
10	rs7908662	PLEKHA1	A	G	122413396	0.05
11	rs10437655	SPI1	A	G	47370397	0.05
11	rs1582763	MS4A4A	G	A	60254475	0.12
11	rs3851179	EED	C	T	86157598	0.09
11	rs74685827	SORL1	G	T	121482368	0.11
11	rs11218343	SORL1	T	C	121564878	0.20
12	rs6489896	TPCN1	C	T	113281983	0.08
14	rs17125924	FERMT2	G	A	52924962	0.11
14	rs7401792	SLC24A4	G	A	92464917	0.04
14	rs12590654	SLC24A4	G	A	92472511	0.07
14	rs10131280	IGH gene cluster	G	A	106665591	0.06
15	rs8025980	SPPL2A	A	G	50701814	0.06

Chromosome	SNP	Nearest gene ^b	Risk allele	Other allele	Position ^c	Weight ^d
15	rs602602	MINDY2	T	A	58764824	0.05
15	rs117618017	APH1B	T	C	63277703	0.09
15	rs3848143	SNX1	G	A	64131307	0.07
15	rs12592898	CTSH	G	A	78936857	0.06
16	rs1140239	DOC2A	C	T	30010081	0.05
16	rs889555	BCKDK	C	T	31111250	0.04
16	rs4985556	IL34	A	C	70660097	0.09
16	rs450674	MAF	T	C	79574511	0.03
16	rs12446759	PLCG2	A	G	81739398	0.04
16	rs16941239	FOXF1	A	T	86420604	0.12
16	rs56407236	PRDM7	A	G	90103687	0.10
17	rs7225151	SCIMP	A	G	5233752	0.05
17	rs2242595	MYO15A	G	A	18156140	0.07
17	rs5848	GRN	T	C	44352876	0.08
17	rs199515	WNT3	C	G	46779275	0.07
17	rs2526377	TSPOAP1	A	G	58332680	0.05
17	rs4277405	ACE	T	C	63471557	0.05
19	rs12151021	ABCA7	A	G	1050875	0.08
19	rs9304690	SIGLEC11	T	C	49950060	0.05
19	rs587709	LILRB2	C	T	54267597	0.05
20	rs1358782	RBCK1	G	A	413334	0.05
20	rs6014724	CASS4	A	G	56423488	0.11
20	rs6742	SLC2A4RG	C	T	63743088	0.06
21	rs2154481	APP	T	C	26101558	0.04
21	rs2830489	ADAMTS1	C	T	26775872	0.03

^a Variants were selected based on a GWAS meta-analysis¹⁰

^b Nearest protein-coding gene according to GENCODE release 33

^c GRCh37 assembly

^d Defined as the logarithm of the OR estimated in the GWAS

eTable 2. Construction of a study-specific lifestyle for brain health risk score (training sample^b, n=2,574)

LIBRA component	HR	95% CI	β $\ln(\text{HR})^a$	Weight ^c $\ln(\text{HR})/\beta$
Healthy diet	1.12	(0.85-1.47)	0.05	0.2
Physical inactivity	1.36	(1.07-1.72)	0.13	0.6
High cognitive activity	0.59	(0.45-0.78)	-0.23	-1.0
Low/moderate alcohol consumption	1.06	(0.85-1.33)	0.03	0.1
Smoking	1.06	(0.58-1.96)	0.03	0.1
Heart disease	1.65	(1.18-2.31	0.22	0.9
Diabetes	1.88	(1.35-2.62)	0.27	1.2
High cholesterol	1.33	(1.05-1.67)	0.12	0.5
Obesity	0.91	(0.65-1.26)	-0.04	-0.2
Hypertension	0.91	(0.65-1.26)	-0.04	-0.2
Renal dysfunction	0.71	(0.49-1.03)	-0.15	-0.6
Depression	1.72	(1.32-2.23)	0.24	1.0

^a Association between each component (defined as detailed in the methods section) and dementia risk was estimated with separate cause-specific Cox models censoring at death, with baseline hazard rates stratified by study center and adjusted for sex, educational level and income.

^b The analytic sample has been randomly separated in a training sample (n=2,574) for the construction of alternative LIBRA score (as presented here) and a test sample (n=2,596) for estimation of association and interaction tests (as presented in eFigure 4).

^c Weights were computed following the original methodology¹¹ as the natural logarithm of the HR for each component, standardized by the lowest natural logarithm (HR) as reference value (i.e., $\ln(0.64)=-0.19$ for engagement in cognitively stimulating activities in our study, which therefore served as the reference component, indicated in bold).

Abbreviations: HR: Hazard ratio; CI: confidence interval

References

1. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.* 1975;12(3):189-198.
2. Isaacs B, Kennie AT. The Set Test as an Aid to the Detection of Dementia in Old People. *Br J Psychiatry.* 1973;123(575):467-470.
3. Benton AL. *Manuel Du Test de Rétention Visuelle: Applications Cliniques et Expérimentales.* Editions du Centre de psychologie appliquée.; 1953.
4. Reitan RM. Validity of the Trail Making Test as an Indicator of Organic Brain Damage. *Percept Mot Skills.* 1958;8:271-276.
5. Akbaraly TN, Portet F, Fustinoni S, et al. Leisure activities and the risk of dementia in the elderly: Results from the Three-City Study. *Neurology.* 2009;73(11):854-861.
6. Naël V, Pérès K, Dartigues JF, et al. Vision loss and 12-year risk of dementia in older adults: the 3C cohort study. *Eur J Epidemiol.* 2019;34(2):141-152.
7. Wilson RS, Scherr PA, Schneider JA, Tang Y, Bennett DA. Relation of cognitive activity to risk of developing Alzheimer disease. *Neurology.* 2007;69(20):1911-1920.
8. Alzheimer Disease Genetics Consortium (ADGC), The European Alzheimer's Disease Initiative (EADI), Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology Consortium (CHARGE), et al. Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing. *Nat Genet.* 2019;51(3):414-430.
9. Ozenne B, Sørensen A Lyngholm, Scheike T, Torp-Pedersen C, Gerds T Alexander. riskRegression: Predicting the Risk of an Event using Cox Regression Models. *The R Journal.* 2017;9(2):440.
10. Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE, et al. New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nat Genet.* 2022;54:412-436.
11. Schiepers OJG, Köhler S, Deckers K, et al. Lifestyle for Brain Health (LIBRA): a new model for dementia prevention. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2018;33(1):167-175.

Annexe 11 : Activités pendant la thèse

- **Enseignement** : 128 heures d'enseignement pendant les 3 années de thèse (Intervention en Licence 2 Orthoptie, Licence 2 MIAHS et M1 de santé publique [ISPED], tutorat en Master à distance et pour le MOOC PoP-Health)
- **Animation/Vulgarisation scientifique** :
 - Membre du pôle scientifique de l'association **BBPH** (Blooming members of the Bordeaux Population Health center)
 - Organisation du séminaire hebdomadaire du « **Mercredi des Jeunes Chercheurs** »
 - Membre du comité « **bibliodémences** » pour la revue critique mensuelle de la littérature scientifique internationale consacrée à la maladie d'Alzheimer et aux syndromes apparentés
 - Demi-finale de l'université de Bordeaux du concours « **ma thèse en 180 secondes** »
 - Participation à la **nuît des chercheurs** (Cap Sciences, Bordeaux)

Résumé

Nutrition, mode de vie et prévention du vieillissement cérébral : caractérisation de combinaisons, mécanismes et groupes à risque au moyen de l'épidémiologie moléculaire

Résumé : Les pathologies du vieillissement cérébral comme la démence sont un réel problème de santé publique. Toutefois, la prévention n'est pas encore bien établie pour ces pathologies pour lesquelles on dispose de peu d'options thérapeutiques. L'objectif était de mettre à profit les données d'une grande cohorte pour affiner la caractérisation de stratégies préventives des pathologies du vieillissement cérébral par la nutrition et le mode de vie. Nous avons d'abord identifié des combinaisons nutritionnelles préventives grâce à des mesures de nutriments et de métabolites circulants. Nous avons ensuite cherché des nouvelles pistes de prévention en étudiant les métabolites provenant du microbiote intestinal. Enfin, nous avons trouvé des résultats suggérant qu'agir sur une combinaison de 12 facteurs de mode de vie modifiables pouvait diminuer le risque de démence en particulier chez les individus porteurs d'une susceptibilité génétique, qui sont plus à même de développer précocement la maladie.

Mots clés : Vieillissement cérébral, Prévention, Epidémiologie moléculaire, Nutrition, Mode de vie, Profils

Nutrition, lifestyle and prevention of brain aging: characterization of combinations, mechanisms and risk groups using molecular epidemiology

Abstract: Cognitive ageing pathologies such as dementia are a real public health issue. However, prevention is not yet well established for these diseases, for which there are few therapeutic options. The aim was to use data from a large cohort to help the characterization of preventive strategies for brain ageing pathologies through nutrition and lifestyle. We began by identifying preventive nutritional patterns by measuring circulating nutrients and metabolites. We then looked for new targets for prevention by studying metabolites from the intestinal microbiota. Finally, we showed results suggesting that acting on a combination of 12 modifiable lifestyle factors could reduce the risk of dementia, particularly in individuals with a genetic susceptibility, who are more likely to develop the disease early.

Keywords: Brain aging, Prevention, Molecular epidemiology, Nutrition, Lifestyle, Patterns

INSERM U1219 Bordeaux Population Health Center

Equipe **ELEANOR** «Epidémiologie moléculaire des troubles vasculaires et cérébraux »

Université de Bordeaux, ISPED – 146 rue Léo Saignat – 33000 Bordeaux