



AVERTISSEMENT

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

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

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

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

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

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

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

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

**MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE
BIOLOGIE MÉDICALE**

Présenté et soutenu publiquement

le 7 Novembre 2011

par

Guerric DIDIERLAURENT

**INTÉRÊT DU $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ DANS L'INTERPRÉTATION DU BILAN
BIOLOGIQUE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER CHEZ 122 PATIENTS
RECRUTÉS DANS LES CENTRES MÉMOIRE LORRAINS**

Conformément aux dispositions du décret n°90-810 du 10
septembre 1990, ce mémoire tient lieu de

**THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE
DOCTEUR EN MÉDECINE**

Examineurs de la thèse :

M. J-L OLIVIER
Mme C. FINANCE
Mme C. MALAPLATE-ARMAND
Mme M. SAUVÉE

Professeur
Professeur
Maître de Conférences
Docteur en médecine

Président
Juge
Juge
Juge

**MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES DE
BIOLOGIE MÉDICALE**

Présenté et soutenu publiquement

le 7 Novembre 2011

par

Guerric DIDIERLAURENT

**INTÉRÊT DU $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ DANS L'INTERPRÉTATION DU BILAN
BIOLOGIQUE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER CHEZ 122 PATIENTS
RECRUTÉS DANS LES CENTRES MÉMOIRE LORRAINS**

Conformément aux dispositions du décret n°90-810 du 10
septembre 1990, ce mémoire tient lieu de

**THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE
DOCTEUR EN MÉDECINE**

Examineurs de la thèse :

M. J-L OLIVIER
Mme C. FINANCE
Mme C. MALAPLATE-ARMAND
Mme M. SAUVÉE

Professeur
Professeur
Maître de Conférences
Docteur en médecine

Président
Juge
Juge
Juge

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1
FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Vice Doyen « Pédagogie » : Professeur Karine ANGIOI
Vice Doyen Mission « sillon lorrain » : Professeur Annick BARBAUD
Vice Doyen Mission « Campus » : Professeur Marie-Christine BÉNÉ
Vice Doyen Mission « Finances » : Professeur Marc BRAUN
Vice Doyen Mission « Recherche » : Professeur Jean-Louis GUÉANT

Assesseurs :

- 1 ^{er} Cycle :	Professeur Bruno CHENUEL
- « Première année commune aux études de santé (PACES) et universitarisation études para-médicales »	M. Christophe NÉMOS
- 2 ^{ème} Cycle :	Professeur Marc DEBOUVERIE
- 3 ^{ème} Cycle :	
« DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques »	Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI
« DES Spécialité Médecine Générale	Professeur Francis RAPHAËL
- Filières professionnalisées :	M. Walter BLONDEL
- Formation Continue :	Professeur Hervé VESPIGNANI
- Commission de Prospective :	Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT
- Recherche :	Professeur Didier MAINARD
- Développement Professionnel Continu :	Professeur Jean-Dominique DE KORWIN

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX
Professeur Jacques ROLAND – Professeur Patrick NETTER

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre ALEXANDRE – Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain BERTRAND - Pierre BEY – Patrick BOISSEL
Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT
Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS
Michel DUC - Jean DUHEILLE - Adrien DUPREZ - Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH
Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ
Oliéro GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET - Christian JANOT – Michèle KESSLER - Jacques LACOSTE
Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Alain LARCAN - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE
Pierre LEDERLIN Bernard LEGRAS - Michel MANCIAUX - Jean-Pierre MALLIÉ – Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU
Denise MONERET-VAUTRIN – Pierre MONIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN
Gilbert PERCEBOIS Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU – Jacques POUREL
Jean PREVOT - Antoine RASPILLER - Michel RENARD - Jacques ROLAND - René-Jean ROYER - Paul SADOUL
Daniel SCHMITT - Michel SCHWEITZER – Claude SIMON - Jean SOMMELET - Danièle SOMMELET – Jean-François STOLTZ

—
Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Augusta TREHEUX - Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT - Paul VERT
Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Michel WAYOFF - Michel WEBER

=====

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS
PRATICIENS HOSPITALIERS**

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Professeur Bernard FOLIGUET

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON – Professeur Valérie CROISÉ-LAURENT

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER

Professeur René ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUÉL – Professeur Christian BEYAERT

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)

Professeur Ali DALLOUL

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT - Professeur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIEWSKI

3^{ème} sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA

2^{ème} sous-section : (Médecine et santé au travail)

Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUSSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER

2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Didier PEIFFERT – Professeur Frédéric MARCHAL

3^{ème} sous-section : (Immunologie)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ

Professeur Paul-Michel MERTES – Professeur Gérard AUDIBERT – Professeur Thomas FUCHS-BUDER

2^{ème} sous-section : (Réanimation médicale ; médecine d'urgence)

Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT

Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI
Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE – Professeur Luc TAILLANDIER

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE – Professeur Olivier KLEIN
Professeur Thierry CIVIT

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeur Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel MOLE – Professeur Didier MAINARD

Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP – Professeur Gilles DAUTEL

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL

Professeur Christian de CHILLOU

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Professeur Marc-André BIGARD – Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

2^{ème} sous-section : (Chirurgie digestive)

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeur Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY

Professeur Athanase BENETOS – Professeur Gisèle KANNY – Professeur Christine PERRET-GUILLAUME

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Laurent BRESLER – Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur P. MONIN – Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER

Professeur François FEILLET – Professeur Cyril SCHWEITZER – Professeur Emmanuel RAFFO

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Jean-Louis BOUTROY – Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO

4^{ème} sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (*Oto-rhino-laryngologie*)

Professeur Roger JANKOWSKI – Professeur Cécile PARIETTI-WINKLER

2^{ème} sous-section : (*Ophthalmologie*)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie*)

Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeur Etienne SIMON

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur Jean-Marc BOIVIN

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT – Docteur Manuela PEREZ

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Docteur Edouard BARRAT - Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Docteur Aude BRESSENOT

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Docteur Damien MANDRY

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND

Docteur Shyue-Fang BATTAGLIA

3^{ème} sous-section : (*Biologie Cellulaire*)

Docteur Véronique DECOT-MAILLERET

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteur Francine MORY – Docteur Véronique VENARD – Docteur Hélène JEULIN

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU – Madame Marie MACHOUART

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteur Frédérique CLAUDOT – Docteur Cédric BAUMANN

2^{ème} sous-section (*Médecine et Santé au Travail*)

Docteur Isabelle THAON

3^{ème} sous-section (*Médecine légale et droit de la santé*)

Docteur Laurent MARTRILLE

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Docteur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique)*)

Docteur Lina BOLOTINE

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Docteur Marcelo DE CARVALHO BITENCOURT

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteur Céline BONNET

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

50^{ème} Section : RHUMATOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Rhumatologie*)

Docteur Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Docteur Anne-Claire BURSZEJN

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (*Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie*)

Docteur Laure JOLY

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

3^{ème} sous-section :

Docteur Olivier MOREL

5^{ème} sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale*)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRE DE CONFÉRENCE DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteur Elisabeth STEYER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE

Monsieur Vincent LHUILLIER

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-François COLLIN

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE

Monsieur Alain DURAND

61^{ème} section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Mademoiselle Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Mr Nick RAMALANJAONA

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY

Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE – Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA
Madame Nathalie MERCIER

66^{ème} section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE

Madame Nadine MUSSE

PROFESSEURS ASSOCIÉS

Médecine Générale

Professeur associé Francis RAPHAEL

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteur Jean-Louis ADAM

Docteur Paolo DI PATRIZIO

Docteur Sophie SIEGRIST

Docteur Arnaud MASSON

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Jean-Marie ANDRÉ - Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Pierre BEY – Professeur Patrick BOISSEL
Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ – Professeur Simone GILGENKRANTZ
Professeur Michèle KESSLER - Professeur Henri LAMBERT - Professeur Alain LARCAN
Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Pierre MONIN (*à c. 1.12.2011*) - Professeur Jean-Pierre NICOLAS
Professeur Luc PICARD - Professeur Michel PIERSON - Professeur Jacques POUREL – Professeur Jean-François STOLTZ
Professeur Michel STRICKER - Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Colette VIDAILHET
Professeur Michel VIDAILHET

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)

Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume Uni)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
*Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des
Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)*
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Jean-Luc Olivier,
Professeur de Biochimie et de Biologie Moléculaire à la Faculté de
Médecine de Nancy

Vous nous faites l'honneur de présider cette thèse.
Vous m'avez fait confiance durant tout ce travail, veuillez trouver ici
l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

A Madame le Professeur Chantal Finance,
Professeur de Virologie à la Faculté de Pharmacie de Nancy

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant
de faire partie de ce jury.
Pour la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail,
veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A Madame le Docteur Catherine Malaplate-Armand,
Maître de Conférences Universitaire en Biochimie et Biologie moléculaire
à la Faculté de Médecine de Nancy

Pour votre disponibilité, votre patience et vos encouragements.
Vous m'avez proposé ce sujet de thèse et m'avez suivi et dirigé tout au
long de ce travail.
Veuillez trouver ici ma profonde gratitude.

A Madame le Docteur Mathilde Sauvée
Docteur en Médecine, Neurologue

Pour votre enthousiasme et vos conseils pertinents.
Pour la qualité de vos connaissances de la neurologie dont vous m'avez
fait part tout au long de ce travail, recevez ici l'expression de mon
profond respect.

A Madame Marie-Christine Escanye
Ingénieur au laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire

Pour son aide technique précieuse, sa rigueur et sa sympathie.

A l'ensemble du personnel du laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire

Pour l'accueil chaleureux et la qualité de la formation apportés au cours de mon stage
au laboratoire.

Au Professeur Perret-Guillaume, aux Docteurs Dautreppe, Denadai, Huttin, Mathis,
Planque, Russo, neurologues ou gériatres de la région Lorraine, au Docteur Laurens,
médecin spécialisé en médecine nucléaire au CHU de Nancy

Pour leur aide et conseils qui m'ont permis d'élaborer ce travail.

A Matthieu Schockmel, interne en santé publique

Pour son aide dans la réalisation des analyses statistiques.

A Hélène, pour ta présence, ton soutien, ton amour et pour tout ce que tu es.

A mes parents, sans qui je ne serais pas là, pour tout ce que vous m'avez transmis.

A mes sœurs Mélanie, Cynthia et Lorane, à mon frère Benjamin, pour m'avoir accompagné et soutenu tout au long de mes études.

A ma filleule Candice, mes nièces Lou-Anne, Léony et Clémentine, à mon neveu Nathan, pour la joie de vivre que vous m'apportez.

A tout le reste de ma famille et à ma belle-famille, pour votre présence et votre soutien dans les grands moments de ma vie.

A mes meilleurs amis Fred, Jean-Lou, Benji, Schub, pour tous les moments passés à vos côtés.

Aux internes, anciens et nouveaux, rencontrés durant mon internat de biologie médicale à Nancy.

"Il faut rajouter de la vie aux années et non des années à la vie"

Proverbe chinois

SERMENT

"Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque".

ABRÉVIATIONS

APP : Amyloid- β Precursor Protein
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
DFT : Démence Frontotemporale
DLFT : Démences Lobaires Frontotemporales
DNF : Dégénérescence Neurofibrillaire
ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
HAS : Haute Autorité de Santé
IATI : Innatest Amyloid Tau Index
IRM : Imagerie par Résonnance Magnétique
LCR : Liquide Céphalo-Rachidien
MCI : Mild Cognitive Impairment
MCL : Maladie à Corps de Lewy
MMSE : Mini Mental Status Examination
PHF : Filaments Hélicoïdaux Pathologiques
PL : Ponction Lombar
SNC : Système Nerveux Central
SPECT : Single Photon Emission Computed Tomography
ROC : Receiver Operating Characteristic
TEP : Tomographie par Emissions de Positons

TABLE DES TABLEAUX

<i>Tableau I : Les grands cadres nosologiques des démences.....</i>	24
<i>Tableau II : Prévalence de la maladie d'Alzheimer (%) en fonction de l'âge et du sexe selon différentes études en population.....</i>	28
<i>Tableau III : Gènes très probablement en relation avec la maladie d'Alzheimer.....</i>	29
<i>Tableau IV : Facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer.....</i>	31
<i>Tableau V : Evolution possible des différents types de MCI.....</i>	33
<i>Tableau VI : Protéine incriminée en fonction des différentes démences dégénératives</i>	62
<i>Tableau VII : Etat d'avancement et mécanismes d'action de différentes molécules à l'essai comme thérapeutique de la maladie d'Alzheimer.....</i>	67
<i>Tableau VIII : Méta-analyse sur les performances de Tau totale.....</i>	70
<i>Tableau IX : Méta-analyse sur les performances de pTau.....</i>	74
<i>Tableau X : Méta-analyse sur les performances d'Aβ₄₂.....</i>	76
<i>Tableau XI : Résumé de la spécificité des marqueurs de la maladie d'Alzheimer dans le LCR.....</i>	80
<i>Tableau XII : Place des différents biomarqueurs dans les essais cliniques.....</i>	88
<i>Tableau XIII : Biomarqueurs à utiliser en fonction de l'essai clinique au stade précoce de la maladie d'Alzheimer.....</i>	88
<i>Tableau XIV : Facteurs influençant le dosage du peptide Aβ et les recommandations qui en découlent.....</i>	91
<i>Tableau XV : Différents profils biologiques après dosage d'Aβ₄₀ et calcul du ratio Aβ₄₂/Aβ₄₀.....</i>	111
<i>Tableau XVI : Provenance et données démographiques de la population initiale (n=376).....</i>	119
<i>Tableau XVII : Valeurs moyennes des 3 biomarqueurs standards par tranche d'âge....</i>	120
<i>Tableau XVIII : Caractéristiques des 4 profils biologiques initiaux.....</i>	122
<i>Tableau XIX : Répartition des différents profils biologiques initiaux par service et hôpital.....</i>	123
<i>Tableau XX : Répartition des patients après intégration du ratio Aβ₄₂/Aβ₄₀ (n=122)....</i>	129
<i>Tableau XXI : Diagnostics retenus dans la population de l'étude en fonction du profil biologique final (n=122).....</i>	131
<i>Tableau XXII : Sensibilité et spécificité du test en fonction des valeurs seuils du ratio Aβ₄₂/Aβ₄₀ et de pTau.....</i>	135

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Evolution de la maladie d'Alzheimer au cours du temps.....	35
Figure 2 : Comparaison d'une coupe de cerveau dans un cas de démence de type Alzheimer par rapport à un sujet sain.....	37
Figure 3 : Lésions histologiques de la maladie d'Alzheimer.....	38
Figure 4 : Localisation du peptide $A\beta$ au sein de la protéine APP.....	40
Figure 5 : Maturation de la protéine APP et formation du peptide $A\beta$	42
Figure 6 : Hypothèse de la cascade amyloïde.....	43
Figure 7 : Rôle de la protéine Tau dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer..	45
Figure 8 : Profil électrophorétique des différents isoformes de la protéine Tau et leur association à certaines pathologies.....	46
Figure 9 : Localisation et chronologie des zones affectées par les dégénérescences neurofibrillaires.....	48
Figure 10 : Les étapes de la mémorisation.....	53
Figure 11 : Différents sites de phosphorylation du plus grand isoforme (441 acides aminés) de la protéine Tau : au dessus et en dessous respectivement à partir d'une Thréonine et d'une Sérine.....	73
Figure 12 : Représentation du IATI (index incluant $A\beta_{42}$ et Tau totale).....	81
Figure 13 : Représentation du IATI en fonction de pTau.....	82
Figure 14 : Représentation du ratio $A\beta_{42}/pTau$ en fonction de Tau totale.....	83
Figure 15 : Formes majoritaires de peptide $A\beta$ caractérisées par spectrométrie de masse.....	93
Figure 16 : Répartition des valeurs d' $A\beta_{40}$ dans le LCR, reflet de la charge amyloïde totale dans une population.....	94
Figure 17 : Représentation d' $A\beta_{42}$ en fonction d' $A\beta_{40}$ et ligne seuil du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$...	96
Figure 18 : Arbre décisionnel de la démarche diagnostique de la maladie d'Alzheimer incluant le peptide $A\beta_{40}$	97
Figure 19 : Electrophorèse des différentes espèces de peptides $A\beta$	98
Figure 20 : Spectre des différents peptides $A\beta$ chez un patient Alzheimer et un patient normal	100
Figure 21 : Anticorps utilisés pour le dosage de Tau totales.....	114
Figure 22 : Anticorps utilisés pour le dosage de pTau.....	115
Figure 23 : Anticorps utilisés pour le dosage d' $A\beta_{42}$	116
Figure 24 : Provenance des échantillons de LCR (n=376).....	118
Figure 25 : Répartition par âge de la population initiale (n=376).....	120
Figure 26 : Profil biologique initial après le dosage des 3 biomarqueurs standards (n=376).....	121
Figure 27 : Répartition des différents profils biologiques initiaux par tranches d'âge...	124
Figure 28 : Répartition des valeurs d' $A\beta_{42}$ dans les 3 profils et dans la population initiale.....	124
Figure 29 : Répartition des valeurs de Tau totale dans les 3 profils et dans la population initiale.....	125
Figure 30 : Répartition des valeurs de pTau dans les 3 profils et dans la population initiale.....	125
Figure 31 : Répartition des valeurs de IATI dans les 3 profils et dans la population initiale.....	126
Figure 32 : Répartition des valeurs du ratio $A\beta_{42}/pTau$ dans les 3 profils et dans la population initiale.....	126
Figure 33 : Répartition par âge de la population de l'étude (n=122).....	127

<i>Figure 34 : Répartition des valeurs d'$A\beta_{40}$ dans la population de l'étude (n=122).</i>	128
<i>Figure 35 : Profil biologique final après l'intégration du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ (n=122).</i>	129
<i>Figure 36 : Représentation des patients avec leurs diagnostics en fonction de la ligne seuil du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ (n=109).</i>	132
<i>Figure 37 : Représentation de la situation biologique des patients en fonction du diagnostic retenu (n=109).</i>	133
<i>Figure 38 : Courbe ROC du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ pour la discrimination des sujets Alzheimer des sujets atteints d'autres pathologies.</i>	134
<i>Figure 39 : Courbe ROC de pTau pour la discrimination des sujets Alzheimer des sujets atteints d'autres pathologies.</i>	135
<i>Figure 40 : Profil biologique final chez les malades d'Alzheimer (n=39).</i>	136

TABLE DES MATIÈRES

I. INTRODUCTION	22
II. GENERALITES	23
1. Définitions	23
2. Epidémiologie	24
3. Physiopathologie	25
3.1. Formes sporadiques et formes familiales	25
3.2. L'histoire naturelle	31
3.3. L'histopathologie	36
3.3.1. Le peptide A β et la cascade amyloïde	39
3.3.2. Les dégénérescences neurofibrillaires et la protéine Tau.....	44
3.3.3. Conséquences cliniques.....	46
4. Diagnostic.....	48
4.1. La clinique.....	50
4.2. Le bilan neuropsychologique	52
4.3. L'imagerie	54
4.4. La biologie.....	56
4.5. Diagnostic différentiel.....	57
4.6. Conclusion.....	62
5. Traitements.....	63
III. APPORT DES MARQUEURS BIOLOGIQUES	68
1. Les biomarqueurs dans le LCR	68
1.1. Données générales.....	68
1.2. Les 3 principaux marqueurs	68
1.2.1. La protéine Tau totale (Tau).....	69
1.2.1.a. Tau dans la maladie d'Alzheimer	69
1.2.1.b. Tau dans le diagnostic différentiel	71
1.2.2. Forme phosphorylée de la protéine Tau (pTau).....	73
1.2.2.a. pTau dans la maladie d'Alzheimer	73
1.2.2.b. pTau dans le diagnostic différentiel	75
1.2.3. Peptide β -amyloïde 1-42 (A β_{42}).....	76
1.2.3.a. A β_{42} dans la maladie d'Alzheimer.....	76
1.2.3.b. A β_{42} dans le diagnostic différentiel	78
1.2.4 Performances des tests et profil type du patient Alzheimer	79
1.2.5. Biomarqueurs et MCI.....	84
1. 3. Biomarqueurs et essais cliniques.....	86
1. 4. Limites de ces biomarqueurs.....	89
1. 5. Les autres marqueurs du LCR.....	93
1.5.1. Peptide β -amyloïde 1-40 (A β_{40}).....	93
1.5.2. Autres formes du peptide A β	98
1.5.3. Les oligomères d'A β_{42}	100
1.5.4. L' α -Synucléine	102
2. Les biomarqueurs dans le sérum	104
3. Conclusion.....	107
IV. OBJECTIFS	108
V. MATERIELS ET METHODES	109
1. Méthodologie clinique.....	109
1.1. Sélection des patients	109
1.2. Déroulement de l'étude	110

1.2.a. Dosage et interprétation biologique.....	110
1.2.b. Recueil des données	111
1.2.c. Analyse des données.....	112
2. Méthodologie analytique.....	113
2.1. Prélèvement.....	113
2.2. Dosage des marqueurs biologiques par ELISA.....	113
2.3. Dosage de la protéine Tau totale	114
2.4. Dosage de pTau	114
2.5. Dosage d'A β_{42}	115
2.6. Dosage d'A β_{40}	116
3. Méthodologie statistique	116
VI. RESULTATS.....	118
1. Analyse des dosages des 3 biomarqueurs standards dans la population initiale.....	118
2. Analyse du dosage du peptide A β_{40}	127
3. Confrontation clinico-biologique	130
VII. DISCUSSION.....	137
VIII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	143
ANNEXES	144
BIBLIOGRAPHIE	159

I. INTRODUCTION

Neuropsychiatre allemand, Aloïs Alzheimer est moins connu que la maladie qui porte son nom et qu'il décrit pour la première fois il y a déjà plus d'un siècle. En effet, c'est en 1906, après le décès d'une de ces patientes présentant des troubles de la mémoire, qu'il étudie le cerveau de celle-ci et découvre des lésions caractéristiques. Aujourd'hui encore, le diagnostic de certitude de la maladie d'Alzheimer repose sur l'étude histologique des coupes de cerveau en *post mortem* et la mise en évidence de ces lésions.

Pourtant la médecine a fait de nombreuses avancées dans la compréhension de la maladie. La connaissance des lésions anatomopathologiques élémentaires de la maladie a permis, notamment, de mettre en évidence des mécanismes physiopathologiques. Ces découvertes ont offert de nouvelles perspectives dans le développement d'outils diagnostiques et thérapeutiques.

Néanmoins, ces efforts n'ont pas complètement porté leurs fruits puisque l'ensemble du processus physiopathologique conduisant à la maladie n'est pas encore totalement compris et de surcroît, la maladie d'Alzheimer reste une maladie incurable : la prise en charge des patients et de leur entourage, de la suspicion diagnostique au traitement, est loin d'être résolue. L'un allant avec l'autre, c'est peut être en diagnostiquant mieux et surtout plus tôt les malades que les thérapeutiques auront le plus de chance d'être efficaces.

En l'absence de marqueur fiable de la maladie, la démarche diagnostique actuelle associe plusieurs arguments cliniques et paracliniques et aboutit à un diagnostic de probabilité à un stade de la maladie bien souvent trop avancé.

Les biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer dans le LCR, éléments biologiques et physiopathologiques de ce faisceau d'arguments, sont actuellement utilisés en routine dans la plupart des CHU. Néanmoins, si ces biomarqueurs standards apportent une aide précieuse et ont révolutionné la démarche diagnostique, ils présentent encore des limites dans le diagnostic différentiel des démences. Afin d'améliorer les performances de ces tests, différentes combinaisons de biomarqueurs tentent de pallier à ces difficultés. En parallèle, de nouveaux biomarqueurs voient le jour : c'est le cas du peptide $A\beta_{40}$, permettant le calcul du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$. Définir l'intérêt et la place de ce nouveau biomarqueur dans le bilan biologique de la maladie d'Alzheimer en s'appuyant sur l'expérience nancéenne de patients sélectionnés en Lorraine de 2009 à 2011 est le but de ce travail.

II. GENERALITES

1. Définitions

La démence est définie, en neurologie, comme une altération progressive et durable des capacités cognitives entraînant un retentissement socio-professionnel pour le patient avec une perte d'autonomie. Des critères diagnostiques internationaux ont été proposés et ont été réactualisés depuis plusieurs années. La dernière version date de 2000 et a été publiée dans le manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux, dans sa 4^{ème} version, le DSM-IV-TR [1] (*Annexe 1*).

Comme pour toute définition, chaque terme est important et il convient de préciser quelques points :

- Les troubles observés doivent constituer une baisse par rapport à l'état antérieur du patient témoignant du caractère acquis de l'affection.
- La notion de caractère durable permet d'exclure de la définition les épisodes aigus, dénommés épisodes confusionnels. Il est généralement admis comme durable, la présence des symptômes sur une période de plus de 6 mois.
- L'ensemble des manifestations ne doit pas être expliqué exclusivement par un trouble psychiatrique même s'il peut être associé.
- Les capacités cognitives, dites fonctions supérieures, sont le reflet de l'intelligence. L'atteinte de ces fonctions doit toucher la mémoire, et au moins une autre fonction parmi le langage, les gnosies, les praxies, les fonctions exécutives.
- Enfin, le retentissement sur la vie du patient doit être significatif, responsable de la perte d'autonomie.

Entrent dans la définition des démences diverses pathologies, d'origines multiples : dégénérative, vasculaire, tumorale, toxique, infectieuse, métabolique. C'est pourquoi, on parle plus volontiers aujourd'hui des démences plutôt que de la démence et il n'est pas rare que différents processus soient associés chez un même patient. Les grands cadres nosologiques actuels des démences sont représentés dans le tableau suivant (*Tableau I*).

La maladie d'Alzheimer
Les démences vasculaires et l'association maladie d'Alzheimer + maladie cérébrovasculaire
Démences avec atrophies focales (atrophie lobaires frontotemporales, atrophies corticales postérieures)
Démences striatales (démences à corps de Lewy, démences du Parkinson, paralysie supranucléaire progressive, dégénérescence cortico-basale, maladie de Huntington...)
Les démences par agents transmissibles (maladie de Creutzfeldt Jakob)
Autres démences (non dégénératives et non vasculaires) : pathologies de système, paranéoplasiques, post traumatiques, pathologie de surcharge ou métaboliques, inflammatoires (SEP), maladies infectieuses (hormis prion), pathologies toxiques

Tableau I : Les grands cadres nosologiques des démences [2].

La maladie d'Alzheimer, quant à elle, est une maladie neurodégénérative qui entraîne la perte progressive et irréversible des fonctions mentales et notamment de la mémoire. C'est la 1^{ère} cause de démence en France, loin devant les autres causes : les démences d'origine vasculaire, les démences lobaires frontotemporales (DLFT), la maladie à corps de Lewy (MCL), les démences mixtes [2]. La maladie d'Alzheimer représente 70% des étiologies des démences prévalentes [3].

2. Epidémiologie

En France, la maladie d'Alzheimer est un problème de santé publique majeur puisqu'on comptait en 2005 plus de 900 000 malades, avec une incidence de 225 000 nouveaux cas par an d'après l'INSEE. La prévalence augmente fortement avec l'âge : on estime qu'après 65 ans, 1 à 6% de la population est touchée et 10 à 30% après 85 ans. On comprend donc bien qu'en raison du vieillissement actuel de la population, le nombre de malades va continuer de croître ces prochaines années. Toujours selon les prévisions de l'INSEE et en l'absence de traitement efficace proposé, le nombre de malades en 2020 devrait atteindre 1 300 000 personnes, soit 1 français de plus de 65 ans sur 4. D'un point de vue socio-économique, le problème est immense. Non seulement le malade est touché mais c'est également tout son entourage qui est bouleversé par la maladie. Dès le stade léger de la maladie, le patient a besoin d'une aide extérieure, d'abord à domicile, mais dans les phases tardives, c'est bien une surveillance 24h sur 24 que nécessite le patient, bien souvent dans une structure d'accueil. Dans la majorité des cas, c'est l'environnement familial qui prend en

charge ce besoin, sans véritable formation ni soutien, et le plus souvent la famille est très vite dépassée tant sur le plan organisationnel que financier. Pourtant, le manque d'infrastructures prenant en charge ces patients et l'insuffisance de formation des professionnels de santé laissent de nombreux malades sans suivi ni prise en charge et dans un isolement quasi-total [4]. Depuis plusieurs années, de nombreuses associations accompagnent et rassemblent les malades et leurs proches en les informant sur la maladie et sur les aides disponibles pour une meilleure prise en charge.

Pour la société, la problématique de la charge financière de la démence n'est pas négligeable du fait du vieillissement actuel de la population et tient du ressort de la politique de santé. Il est très difficile d'apprécier le coût de la maladie d'Alzheimer et des démences en général. Une étude menée en France estime que le coût global des démences s'élève à 7,5 milliards d'euros par an [5]. Le rapport de l'Opeps (Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé), estime le coût annuel moyen par patient à 22 099 €, dont 5 791 € de dépenses médicales et 16 307 € de dépenses médico-sociales [6]. C'est donc au niveau médico-social que la collectivité dépense le plus pour la maladie d'Alzheimer. La part actuelle de la dépense en médicaments est de 369 € en moyenne par patient et par an [7].

C'est au vu de ces chiffres alarmants que de nombreux plans nationaux ont vu le jour ces dernières années en France, avec le 3ème en date, le plan Alzheimer 2008-2012, basé sur le rapport du Professeur Ménard de 2007, qui comprend des objectifs sur 3 grands axes de la maladie : la recherche, le soin et l'action sociale. Mieux comprendre la physiopathologie de la maladie afin de développer de meilleures stratégies diagnostiques et thérapeutiques ainsi qu'une meilleure prise en charge des patients et de leurs proches est l'un des plus grands défis de la médecine du XXIème siècle.

3. Physiopathologie

3.1. Formes sporadiques et formes familiales

Classiquement, il convient de différencier 2 catégories de patients : il existe des formes sporadiques qui représentent l'énorme majorité des cas (> 99%) et dont les causes exactes ne sont pas encore complètement définies actuellement et, parallèlement, de très rares

formes familiales qui sont la conséquence de mutations monogéniques bien identifiées [8]. Les conséquences physiopathologiques dans les stades avancés sont identiques mais ce sont des maladies différentes notamment en terme d'évolution : les formes familiales débutent plus précocement et évoluent de manière beaucoup plus rapide et agressive.

Dans les formes familiales, qui représentent moins d'1% des cas, plusieurs mutations génétiques ont été mises en évidence [9]. Elles concernent le gène de la préséniline 1 (PS1) dans 60% des cas, celui de la protéine APP (*amyloid- β precursor protein*) dans 20% des cas et enfin celui de la préséniline 2 (PS2) dans 3% des cas. Ces 3 gènes sont situés respectivement sur les chromosomes 14, 21 et 1 et jouent un rôle dans la production du peptide A β . Lorsqu'une mutation de ces 3 gènes est en cause, la maladie est de transmission autosomique dominante avec une pénétrance complète vers l'âge de 60 ans rendant compte d'une part importante des formes à début précoce de la maladie (environ 10%) [10].

Il existe plus de 27 mutations décrites du gène de l'APP. Elles sont responsables soit d'une hyperproduction de peptide A β , dans les formes dites quantitatives, soit d'une production de peptide A β de plus grande taille, favorisant son ~~égar~~ aggrégation, dans les formes dites qualitatives [11]. Les mutations des gènes PS1 et PS2 sont responsables toutes les deux d'une surproduction de peptide A β_{42} .

C'est à partir de ces cas familiaux que l'hypothèse de la cascade amyloïde a été proposée pour expliquer l'ensemble des formes de maladie d'Alzheimer ; cette hypothèse suggérerait que la dégénérescence neurofibrillaire (DNF) et la protéine Tau ne soient que des épiphénomènes de la maladie [12]. Dans ces familles, un diagnostic présymptomatique est possible. Il consiste en la recherche de la mutation chez un sujet cliniquement indemne mais dont un parent est porteur de la mutation. La transmission étant de type mendélienne autosomique dominante, il y a une chance sur deux pour que la mutation portée par un parent soit transmise à chacun de ses enfants. Ce diagnostic ne se conçoit que dans le cadre d'une prise en charge multidisciplinaire où des informations claires et précises sont données au patient lors d'une consultation de génétique et selon la réglementation en vigueur (loi du 14 juillet 1994 relatif aux tests génétiques et décret d'application du 23 juin 2000).

Il existe néanmoins des familles (17% des cas) où la maladie se transmet sur un mode autosomique dominant et chez lesquelles il n'est pas retrouvé de mutation sur l'un de ces gènes, suggérant qu'il existe encore d'autres gènes et mutations à découvrir [11]. Un programme hospitalier de recherche clinique est consacré à l'identification de ces gènes : le

PHRC GMAJ (Génétique des formes mendéliennes de la maladie d'Alzheimer du sujet jeune) [9].

Formes de transmission autosomique dominante de la maladie d'Alzheimer :

- gène PS1 : 60% (chromosome 14)
- gène APP : 20% (chromosome 21)
- gène PS2 : 3% (chromosome 1)
- autres : 17% (protocoles de recherche en cours)

A côté de ces formes familiales, il existe un lien entre maladie d'Alzheimer et trisomie 21 ou syndrome de Down. En effet, des signes histopathologiques de la maladie sont retrouvés dans le cerveau de ces patients dès l'âge de 40 ans. 55% des trisomiques 21 entre 50 et 59 ans présentent des signes de démences et 75% à partir de 60 ans [13]. Le gène codant la protéine APP étant localisé sur le chromosome 21, les sujets trisomiques 21 présentent un chromosome 21 surnuméraire associé à une surproduction d'APP et par conséquent un excès de peptide A β [14].

Les causes exactes des formes sporadiques ne sont pas encore clairement identifiées mais on en connaît aujourd'hui plusieurs facteurs de risque. Ces facteurs de risque peuvent être classés selon qu'ils soient modifiables ou non. Le principal facteur de risque non modifiable reconnu est l'âge. La maladie ne touche qu'exceptionnellement les individus de moins de 60 ans et la prévalence ne cesse de croître à partir de cet âge [15].

Les femmes sont plus touchées que les hommes, surtout après 80 ans ; une explication possible parmi d'autres vient du fait de leur espérance de vie plus élevée mais des hypothèses hormonales ont également été citées. Le tableau suivant représente la prévalence de la maladie en fonction de l'âge et du sexe (*Tableau II*).

Classe d'âge (ans)	Eurodem Europe ¹	Paquid France ²	Faenza et Granarolo Italie ³	Cardiovascular Health study États-Unis ⁴
Hommes				
65-69	1,6	-	0,76	13,7
70-74	2,9	-	1,8	-
75-79	5,6	7,7	5,6	15,4
80-84	11,0	12,5	15,0	33,3
>85	18,0	23,9	23,8	42,9
Femmes				
65-69	1,0	-	1,2	10,4
70-74	3,1	-	3,2	-
75-79	6,0	5,7	6,0	20,6
80-84	12,6	16,6	13,1	32,6
>85	25,0	38,4	34,6	50,9

¹ Lobo et coll., 2000 ; ² Ramaroson et coll., 2003 ; ³ De Ronchi et coll., 2005 ; ⁴ Fitzpatrick et coll., 2004

Tableau II : Prévalence de la maladie d'Alzheimer (%) en fonction de l'âge et du sexe selon différentes études en population [6].

Des facteurs épigénétiques ont également été identifiés comme facteurs prédisposants à la maladie : il s'agit du polymorphisme $\epsilon 4$ du gène de l'apolipoprotéine E situé sur le chromosome 19 [16]. Il ne s'agit que d'un facteur de risque à la différence des mutations retrouvées dans les formes familiales : tous les porteurs de la mutation, à l'état hétérozygote ou homozygote, ne développeront pas une maladie d'Alzheimer. Néanmoins, le risque relatif de développer une maladie d'Alzheimer est multiplié par 2 à 4 chez les porteurs d'un allèle $\epsilon 4$ et par plus de 5 chez les porteurs de 2 allèles $\epsilon 4$ [17]. Cette protéine a un rôle de transporteur de lipides dans la circulation sanguine et intervient également dans la constitution et la réparation du tissu cérébral, tissu riche en lipides [18]. Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer le rôle de l'ApoE dans la maladie d'Alzheimer. Il semble qu'elle ait un rôle dans le transport du peptide $A\beta$; la mutation favorise son aggrégation en réduisant sa clairance cérébrale [18]. D'autres facteurs de risque génétiques ont été identifiés par la GWAS (Genome-Wide Association Study) mais des études sur des populations plus larges seront nécessaires pour en évaluer l'impact réel. Ci-dessous, des gènes très probablement en relation avec la survenue de la maladie d'Alzheimer (*Tableau III*).

Susceptibilité génétique	Chromosome	Conséquences
DAPK1 (Death-Associated Protein Kinase 1)	9q34.1	Apoptose neuronale
UBQLN (Ubuquilin 1)	9q21.32	Régulation des présénilines
ABCA1 (Adenosine triphosphate-Binding Cassette transporter 1, subfamily A)	9q22-q31	Rôle dans le métabolisme lipidique
SORL1 (Sortilin-Related Receptor)	11q23	Transport d'APP
GAB2 (Glycine-rich protein 2-associated binding protein 2)	11q14.1	Protéine de structure intervenant dans les mécanismes pathologiques de la maladie d'Alzheimer
LRP6 (Low-density lipoprotein Receptor-Related protein 6)	12q13-q14	Altération de signal

Tableau III : Gènes très probablement en relation avec la maladie d'Alzheimer [10].

En ce qui concerne les facteurs de risque dits modifiables, de nombreux facteurs environnementaux ont été identifiés. Parmi eux, les facteurs de risque cardiovasculaires jouent un rôle important : l'hypertension artérielle (HTA), le diabète, l'obésité, les dyslipidémies et le statut nutritionnel [19].

L'HTA est un facteur de risque indépendant de maladie d'Alzheimer puisqu'elle peut être associée à des troubles cognitifs sans association avec une maladie d'Alzheimer. Cependant, il est maintenant établi qu'une HTA à un âge moyen de la vie est associé à un risque accru de développer une maladie d'Alzheimer [20]. A l'imagerie cérébrale, il a été retrouvé chez de nombreux sujets hypertendus une atrophie des lobes temporaux, comme dans la maladie d'Alzheimer ainsi que des plaques amyloïdes dans les régions temporale et corticale [20]. Chez les sujets hypertendus, il a été mis en évidence une augmentation de la production de peptide A β et une dysfonction synaptique avec perte neuronale entraînant la démence [20]. De plus, les patients hypertendus sous traitement sont mieux protégés contre la maladie d'Alzheimer que les patients hypertendus non traités [17]. Par ailleurs, certaines études suggèrent que la maladie d'Alzheimer puisse résulter d'une hypoperfusion cérébrale chronique débutant dans des régions cérébrales vulnérables [21].

Le diabète et le syndrome métabolique majoraient également le risque de survenue de maladie d'Alzheimer [22] : une insulïnémie élevée entraîne une production élevée de peptide A β [23]. De plus, d'après une étude récente, les adultes obèses ont 4 fois plus de risque de développer une maladie d'Alzheimer [24] : l'obésité serait donc également un facteur de risque de maladie d'Alzheimer.

De nombreuses études rapportent que l'alimentation joue un rôle important dans la maladie d'Alzheimer [25]. C'est notamment le cas en ce qui concerne le métabolisme lipidique. Dans l'organisme, les lipides ont 3 fonctions majeures : stock d'énergie pour les cellules, composants principaux des membranes et médiateurs cellulaires. 23% du cholestérol total se trouve dans le tissu cérébral et participe pleinement à la synthèse membranaire neuronale et à la production d'acétylcholine, 2 processus indispensables au bon fonctionnement cérébral [23]. La perturbation du métabolisme du cholestérol a donc des conséquences au niveau cérébral et participe à la survenue de la maladie d'Alzheimer. L'alimentation riche en lipides, avec un rapport graisses saturées sur graisses poly- ou mono-insaturées élevé, entraîne une augmentation du LDL-cholestérol et une diminution du HDL-cholestérol. Hors, il existe une association entre des taux plasmatiques bas d'HDL-cholestérol et un déficit de la mémoire verbale à court terme chez des adultes d'âge moyen [23]. Les relations entre les particules d'HDL et la fonction cérébrale sont très complexes et ne sont pas encore totalement comprises. Néanmoins, des propriétés neuroprotectrices sont liées au HDL cholestérol [17] : les particules HDL peuvent directement se lier au peptide A β en excès dans le cerveau, le transporter vers le secteur plasmatique, et de ce fait, inhiber son oligomérisation intracérébrale [23]. Les traitements hypocholestérolémians de type statines n'ont cependant pas montré d'effets bénéfiques sur la cognition à long terme [26].

L'effet du tabac sur la survenue de la maladie n'est pas encore tranché à l'heure actuelle : plusieurs études donnent des résultats contradictoires [26].

Le niveau éducatif et socioculturel élevé est souvent mentionné comme un facteur protecteur. Il est difficile de se prononcer car la notion de réserve cognitive élevée pourrait en fait créer un biais diagnostique chez ces individus en mettant à défaut les différents tests cliniques utilisés. Par contre, il est établi qu'un environnement familial et social riche est un facteur protecteur de la maladie ; d'après Fratiglioni *et al.* (2000), la stimulation cognitive retarde la phase clinique de la maladie [27].

Des facteurs médicaux interviennent également comme facteurs de risque : les antécédents de dépressions semblent associés à un risque de survenue de maladie d'Alzheimer. Les symptômes dépressifs étant très fréquents au cours de l'évolution de la

maladie, il est difficile de préciser s'il s'agit d'un véritable facteur de risque ou d'un prodrome de la maladie [3]. Le lien entre traumatisme crânien et maladie d'Alzheimer est toujours débattu : des lésions cérébrales similaires à celles de la maladie d'Alzheimer ont été décrites chez des ex-boxeurs ayant souffert de microtraumatismes à répétition mais le lien de cause à effet n'est pas clair [3].

Le tableau suivant résume et classe selon leur impact dans la maladie les différents facteurs de risque les plus vraisemblables à l'heure actuelle (*Tableau IV*).

Rôle causal dans la maladie	Facteurs
Certain	Age, génotype apoE
Probable	Sexe, niveau d'études, vie active, facteurs vasculaires
Possible	Dépression, facteurs nutritionnels, alcool, aluminium, oestrogènes, anti-inflammatoires, environnement social, taille de tête
Peu crédible	Traumatisme crânien, profession

Tableau IV : Facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer [5].

La maladie d'Alzheimer est une maladie hétérogène et multifactorielle. Bien que la plupart des facteurs de risque soient identifiés, la liste n'est pas exhaustive et les mécanismes causaux ne sont, eux, pas encore tous élucidés [17].

3.2. L'histoire naturelle

L'histoire naturelle de la maladie est de mieux en mieux connue. La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative d'évolution lente et insidieuse dont les processus physiopathologiques débutent plusieurs années avant les premiers signes de la maladie [3]. L'installation des troubles étant progressive, il existe plusieurs phases plus ou moins bien définies, n'aboutissant pas toutes au stade de maladie. Lorsque les premiers signes apparaissent, il est important de différencier vieillissement normal, troubles cognitifs légers et démence ; la prise en charge du patient étant différente. D'ailleurs, actuellement, le concept de maladie d'Alzheimer et notamment des stades précoces de la maladie sont très discutés et font l'objet de récentes mises au point [28].

Vieillesse normale

Dans le vieillissement normal, il existe des modifications des fonctions cognitives mais sans retentissement majeur dans la vie quotidienne. 50% des sujets âgés de plus de 50 ans se plaignent de troubles de la mémoire [29]. Les manifestations habituelles sont un ralentissement du traitement de l'information, une baisse de l'attention ou un affaiblissement des fonctions exécutives ; mais certaines fonctions restent bien conservées, comme le langage, les praxies, les gnosies, la mémoire sémantique, le raisonnement arithmétique et, bien sûr, l'autonomie du patient n'est pas altérée. Ces signes cliniques sont tout de même le reflet de lésions cérébrales liées au vieillissement : pertes neuronales et synaptiques, plus ou moins associées à des lésions vasculaires. Il est également possible de rencontrer des plaques séniles, lésions habituellement décrites dans la maladie d'Alzheimer, au cours du vieillissement physiologique [30]. Après 60 ans, le cerveau perd environ 2% de son poids tous les 10 ans. Les variations interindividuelles expliquent que tous les individus ne sont pas touchés de façon identique. De plus, s'ajoutent des facteurs environnementaux cités précédemment tels que le niveau socio-éducatif, le mode de vie, la personnalité de chacun, les pathologies associées. Ces facteurs influent grandement sur le ressenti des patients dans leur déclin cognitif.

Troubles cognitifs légers

Les troubles cognitifs légers (MCI ou *Mild Cognitive Impairment*) représentent un état transitoire entre le vieillissement normal et la démence. D'après la définition initiale de Petersen *et al.* (1999), il s'agit d'un groupe hétérogène de patients présentant un déficit mnésique léger mais pathologique, sans perte d'autonomie ni syndrome démentiel [31]. Ce concept ne préjuge donc pas de l'étiologie du trouble mnésique qui peut être tout aussi bien neurodégénérative, toxique, métabolique ou autres. Il n'existe pas de critères diagnostiques consensuels de ces MCI. En 2005, il a été admis qu'il pouvait y avoir une perte minimale d'autonomie. Environ 80% des patients atteints de MCI amnésique, c'est-à-dire les patients dont les troubles de la mémoire sont isolés, vont évoluer vers une maladie d'Alzheimer en 5 ans [32]. Pour les 20% restants, soit leur état va se stabiliser, soit ils vont évoluer vers un état démentiel autre que celui associé à la maladie d'Alzheimer, soit plus rarement leurs fonctions cognitives vont se normaliser. Il est donc important de déterminer si les patients MCI sont à

risque de démence ou présentent une maladie d'Alzheimer débutante. C'est pourquoi le concept de MCI a été revu et classé en plusieurs entités. Différents types de MCI peuvent ainsi être identifiés et le trouble mnésique n'est plus une condition nécessaire : il a été remplacé par le trouble cognitif quelque soit la fonction touchée. On distingue ainsi les MCI amnésiques des MCI non amnésiques [33]. Le MCI amnésique simple domaine, défini par un déficit mnésique isolé, correspond aux patients ayant un haut risque d'évoluer vers une maladie d'Alzheimer. Le MCI avec déficits cognitifs multiples a plutôt tendance à rester stable et le MCI défini par le déficit d'un seul domaine cognitif peut évoluer, en fonction du déficit observé, vers une MCL, une démence frontotemporale (DFT) ou une aphasia primaire progressive ou une maladie d'Alzheimer [29]. Les différents MCI et leur évolution possible sont représentés sur le tableau suivant [34] (*Tableau V*).

Type de MCI	Évolution possible
MCI amnésique isolé	Maladie d'Alzheimer
MCI amnésique avec déficit cognitif multiple	Maladie d'Alzheimer, démence vasculaire ou vieillissement normal
MCI non amnésique avec déficit cognitif multiple	Maladie à corps de Lewy ou démence vasculaire
MCI non amnésique avec déficit isolé	Démences lobaires frontotemporales, maladie à corps de Lewy ou maladie d'Alzheimer

Tableau V : Evolution possible des différents types de MCI [34].

Certains auteurs ont cherché des signes spécifiques annonciateurs d'une maladie d'Alzheimer au stade précoce chez ces patients présentant des troubles cognitifs légers : le tableau est celui d'un syndrome amnésique progressif de type hippocampique plus ou moins associé à des signes d'altération des fonctions exécutives. En 2007, Dubois a émis des critères diagnostiques de la maladie d'Alzheimer prodromale, c'est-à-dire avant le stade de démence [35]. Ces critères ne sont pas encore validés à l'heure actuelle et sont considérés comme des critères de recherche. Ils reposent sur des signes cliniques et paracliniques : un déficit mnésique de type hippocampique portant sur la mémoire épisodique associé soit à une atrophie du lobe temporal mise en évidence à l'imagerie cérébrale, soit à des anomalies des marqueurs biologiques dans le LCR, soit à un profil spécifique en neuroimagerie fonctionnelle.

Ce stade de MCI, véritable stade prédéméntiel, est très intéressant à étudier sur les plans diagnostique et thérapeutique dans la perspective de mise en place de mesures préventives et/ou curatives adaptées. Une des ambitions actuelles des acteurs impliqués dans ces pathologies est de comprendre les mécanismes qui lient ces différents états et font basculer un patient de stade MCI au stade maladie. L'enjeu majeur étant de savoir diagnostiquer les patients dès ce stade clinique, ce qui implique nécessairement de disposer de critères précis (cliniques, examens d'imagerie ou de biologie).

Stade démentiel

Actuellement, c'est lors du passage au stade de la démence que le diagnostic de maladie d'Alzheimer probable peut être posé. Cela nécessite d'objectiver une perte d'autonomie du patient. Les premiers signes cliniques observés sont le plus souvent des troubles de la mémoire d'apparition insidieuses mais lentement progressifs. Avec l'aggravation de ces troubles, viennent parfois des épisodes de confusions entraînant petit à petit des modifications de l'humeur et une anxiété. Des problèmes de reconnaissance des personnes apparaissent puis s'installent ainsi que des difficultés de langage. Au stade de maladie d'Alzheimer avancée, après une dizaine d'années d'évolution, les patients deviennent complètement dépendants, apathiques, anorexiques et finissent par décéder dans un état cachectique d'une pathologie surajoutée, le plus souvent infectieuse [36].

Dans les formes familiales, l'histoire de la maladie est plus brutale, notamment lorsque la mutation touche le gène de la préséniline 1 [9] : les premiers signes cliniques apparaissent plus tôt, bien souvent avant 50 ans et la sévérité de la maladie est plus importante avec une évolution rapide et un décès précoce.

Il existe également des formes dites focales caractérisées par un tableau clinique atypique. Ce sont les signes initiaux de la maladie qui sont atypiques rendant le diagnostic difficile : aphasie progressive ou agnosie initiale, syndrome corticobasal. Il semble qu'elles soient liées à une distribution inhabituelle des lésions [11].

Trois phases de la maladie peuvent ainsi être distinguées : la phase infra ou pré-clinique, sans manifestation clinique ; la phase prodromale ou MCI, lorsque le patient présente des troubles cognitifs légers, sans répercussion sur sa vie quotidienne et enfin la

phase démentielle, définie par les critères du NINCDS-ADRDA [37]. Ces différentes phases sont schématisées ci-dessous (*Figure 1*).

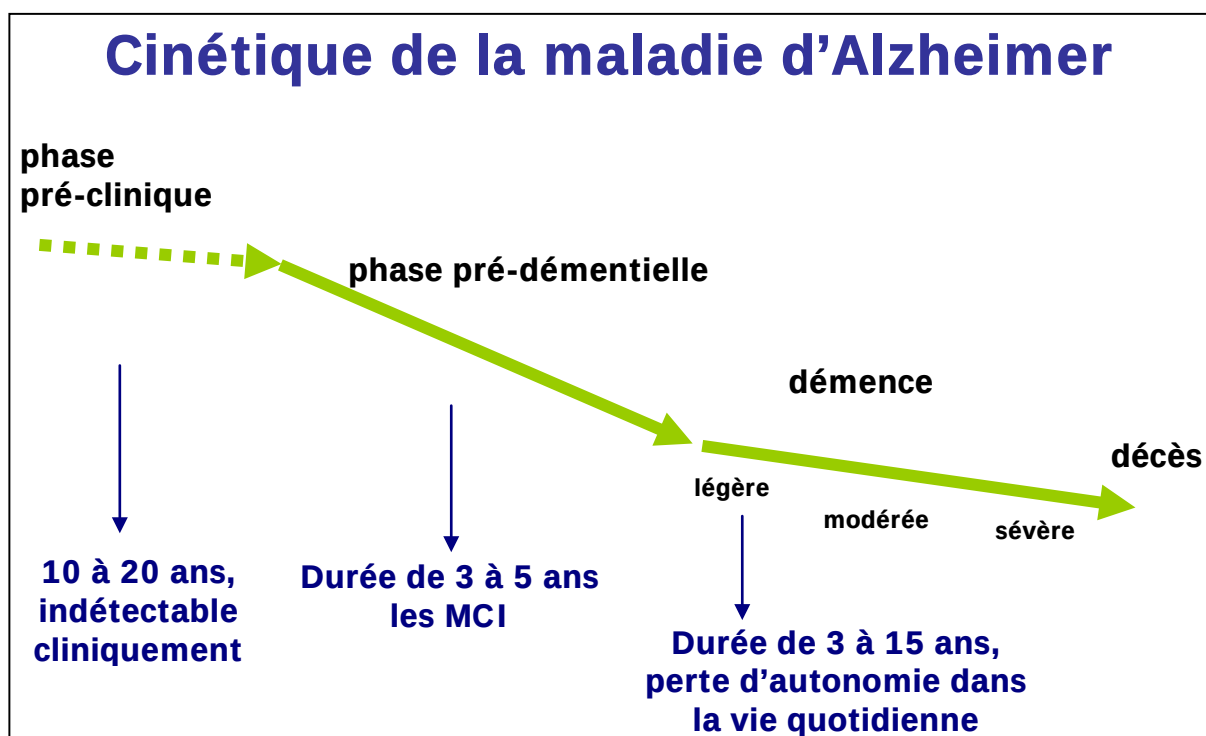


Figure 1 : Evolution clinique de la maladie d'Alzheimer au cours du temps.

Vers une nouvelle définition de la maladie d'Alzheimer

Après 3 ans d'expérimentation des nouveaux critères diagnostiques de Dubois [35], les mêmes auteurs ont proposé un nouveau lexique qui redéfinit l'ensemble des différentes phases et présentations de la maladie d'Alzheimer [28]. Dans un 1^{er} temps, ces définitions ont pour but d'harmoniser le recrutement des patients dans les essais cliniques en stratifiant le stade de la maladie afin d'évaluer plus précisément l'effet d'éventuels thérapeutiques au cours des différentes phases de la maladie. Dans un 2^{ème} temps, cette nouvelle approche diagnostique permet de comparer la fiabilité des nouveaux marqueurs de la maladie avec les critères anatomopathologiques *post-mortem*, dans le but futur de mettre au point un nouvel examen (ou combinaison d'examens) de référence ou « gold standard » autorisant un diagnostic de certitude de la maladie *in vivo*. Ainsi, les auteurs ont créé le concept de spectre de la maladie d'Alzheimer regroupant tous les stades et présentations de la maladie, y compris les stades précliniques, tandis que jusqu'alors, la maladie d'Alzheimer se définissait par la présence d'un syndrome démentiel. Parmi les stades précliniques, les auteurs proposent, par

exemple, le terme de « stade asymptomatique à risque de maladie d’Alzheimer » : ce stade se définit par la mise en évidence des processus physiopathologiques de la maladie par l’intermédiaire de marqueurs (biomarqueurs dans le LCR ou traceurs amyloïdes en imagerie fonctionnelle) chez des patients asymptomatiques. Ces patients ne présentent aucun signe clinique ni même plainte mais présentent des signes paracliniques qui témoignent de l’établissement des mécanismes impliqués dans l’émergence de la maladie : à ce titre, ils sont plus à risque de développer la maladie à l’avenir que des sujets ne présentant pas ces marqueurs. Toutefois, à ce stade, l’évolution ou non vers la maladie va également dépendre des facteurs de risque et facteurs protecteurs auxquels sont exposés chaque patient [28].

La maladie d’Alzheimer est désormais suspectée sur un syndrome clinico-biologique, présent bien avant le stade de démence.

3.3. L’histopathologie

Les lésions anatomo-pathologiques ont permis de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie qui est pourtant loin d’être totalement éclaircie. Macroscopiquement, au stade très avancé, une atrophie cérébrale touchant toutes les zones du cerveau est observée (*Figure 2*). Néanmoins, cette atrophie n’est pas spécifique de la maladie d’Alzheimer et ne peut être considérée comme un critère diagnostique [38]. Si elle touche toutes les zones du cerveau, cette atrophie n’est cependant pas homogène : elle prédomine dans la région hippocampique, siège de la mémoire et de la formation des souvenirs, située dans le lobe temporal. Au décès, le poids du lobe temporal d’un patient atteint de maladie d’Alzheimer est en moyenne diminué de 41% par rapport à une personne du même âge exempt de maladie neurologique [39].

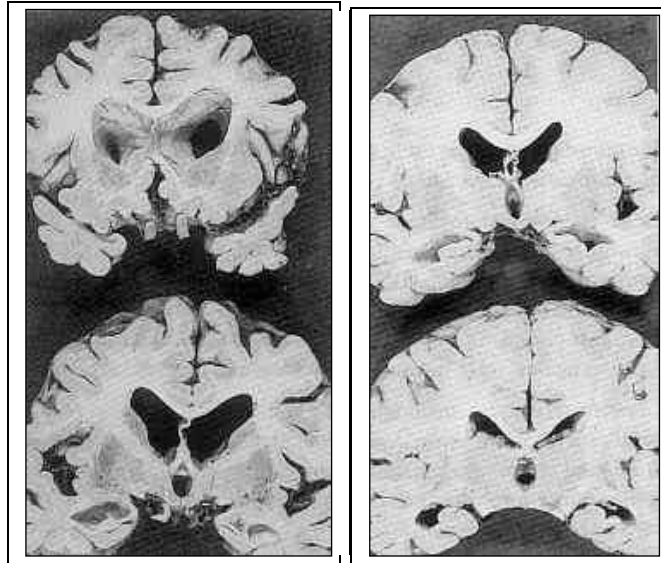


Figure 2 : Comparaison d'une coupe de cerveau dans un cas de démence de type Alzheimer par rapport à un sujet sain (Pr J.J.Hauw, CHU Salpêtrière, Paris).

A gauche : atrophie cérébrale particulièrement nette dans un cas de démence de type Alzheimer
 A droite : cerveau d'une personne du même âge, intellectuellement normale

En anatomopathologie, 2 types de lésions ont été mis en évidence : les DNF et les plaques amyloïdes [40]. Ce sont ces lésions qui permettent d'affirmer le diagnostic de la maladie (*Figure 3*).

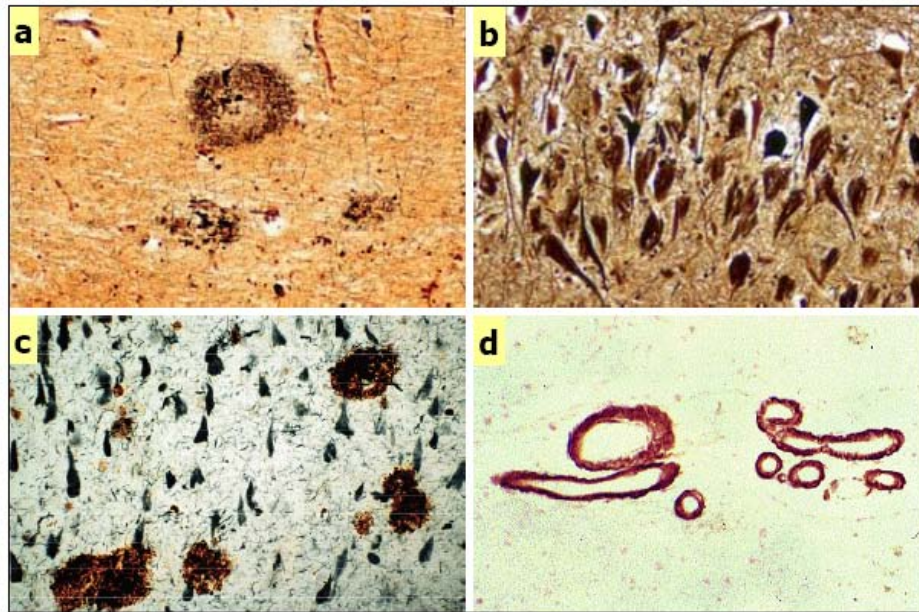


Figure 3 : Lésions histologiques de la maladie d'Alzheimer.

Sections histologiques réalisées *post-mortem* à partir de cerveaux de patients atteints de la maladie d'Alzheimer, illustrant les lésions pathologiques caractéristiques. **a.** Plaques amyloïdes ; **b.** Dégénérescences neurofibrillaires ; **c.** Plaques séniles amyloïdes et dégénérescences neurofibrillaires ; **d.** Angiopathie amyloïde cérébrale. Les images **a** à **c** sont colorées à l'argent. **d** est immuno-colorée par un anticorps anti-A β .

C'est à partir de ces 2 types de lésions bien différenciées que les 2 grandes théories sur les mécanismes physiopathologiques ont émergé : les partisans du peptide A β , les « batistes » et les « tauistes », défenseurs de la protéine Tau.

- Les « batistes » s'appuient, entre autres, sur le fait que les mutations des formes familiales de maladie d'Alzheimer entraînent une surproduction de peptide A β , argument fort en faveur de l'hypothèse de la cascade amyloïde comme mécanisme prépondérant [41].
- Les « tauistes » soutiennent l'hypothèse de la protéine Tau qui est à l'origine de la neurodégénérescence. Composant majeur des DNF, ces lésions s'installent progressivement dans les différentes régions cérébrales selon une hiérarchie qui suit l'évolution des troubles cognitifs [42]. De plus, il existe un lien important entre la quantité de DNF et le déficit cognitif [43].

Quel est le mécanisme initiateur et prépondérant de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer : le dépôt de peptide A β ou la DNF ? Le débat n'est pas encore totalement résolu à ce jour mais il est probable que ces 2 processus pathologiques ne puissent être dissociés.

D'ailleurs, les plaques séniles correspondent à l'association de ces 2 lésions (plaques amyloïdes et DNF) et apparaissent plus tardivement au cours de l'évolution de la maladie [40]. Elles sont composées d'un dépôt de peptide β A au centre et d'une couronne faite de prolongements axonaux dystrophiques chargés en protéines Tau hyperphosphorylées. Dans l'environnement proche de la plaque, se développe une réaction inflammatoire locale à bas bruit expliquant la présence constante de cellules gliales activées. La plaque contient également du cholestérol et de l'apolipoprotéine E. La constitution de la plaque se fait du cœur vers la périphérie : le point de départ est donc le dépôt amyloïde [3]. Si la plaque sénile est le marqueur histologique de la maladie d'Alzheimer, d'autres mécanismes pathologiques plus précoces sont déjà activés avant son apparition et constituent sans doute des facteurs étiologiques déterminants [42].

À côté de ces lésions spécifiques, il existe une perte neuronale et synaptique touchant préférentiellement les régions riches en DNF [43]. La perte des connexions synaptiques se traduit par des zones de spongieuse. Ces lésions se traduisent macroscopiquement, dans les stades avancés, par une atrophie cérébrale peu spécifique, prédominant dans le cortex. Associées à cette perte neuronale et cette atrophie, il existe également des perturbations de la neurotransmission et des réactions inflammatoires gliales localisées [3]. Le système cholinergique est le plus précocement touché, notamment dans les régions affectées par la maladie : hippocampe et cortex cérébral [42].

3.3.1. Le peptide $A\beta$ et la cascade amyloïde

Les plaques amyloïdes sont des lésions sphériques, extracellulaires, principalement constituées de peptide β A sous forme agrégée. Ce peptide, issu de la dégradation physiologique de la protéine APP (*amyloid- β precursor protein*), existe sous 2 formes principales : $A\beta_{40}$ et $A\beta_{42}$ constitués respectivement de 40 et 42 acides aminés [44].

La protéine APP, dont le gène est situé sur le chromosome 21, est présente au niveau de nombreuses cellules, neuronales et non neuronales. C'est une glycoprotéine transmembranaire dont il existe 3 isoformes, constitués chacun de 695 (forme majoritaire), 751 et 770 acides aminés [41]. Les 3 parties de la protéine sont les suivantes : un long domaine extracellulaire avec son extrémité N-terminale, un seul domaine transmembranaire hydrophobe et un court domaine intracellulaire à l'extrémité C-terminale. La protéine va subir

différents clivages protéolytiques. La séquence du peptide A β est située à la transition domaine extracellulaire/domaine transmembranaire, partie hydrophobe de la protéine [11] (*Figure 4*).

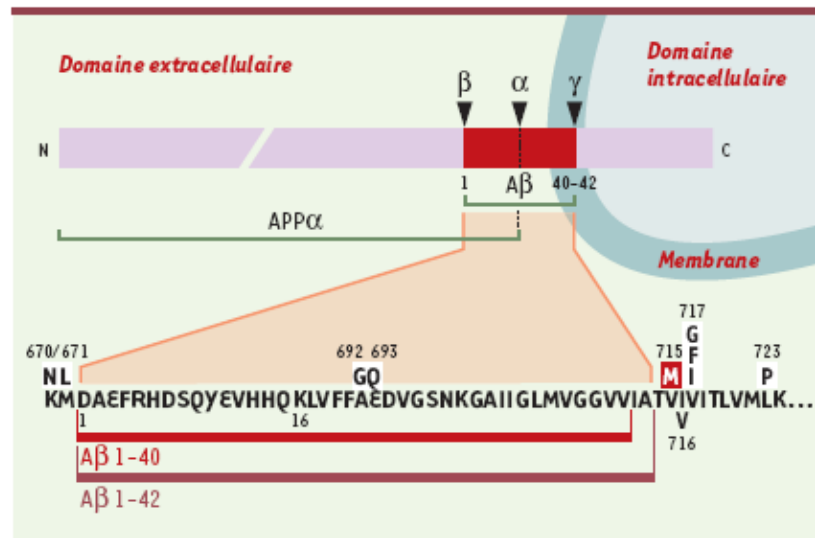


Figure 4 : Localisation du peptide A β au sein de la protéine APP [41].

Le rôle exact d'APP n'est pas encore bien défini. Elle serait impliquée dans l'adhésion cellulaire, le développement du SNC, la maturation axonale et posséderait des propriétés neurotrophiques notamment par l'intermédiaire de son fragment soluble sAPP. La maturation d'APP peut passer par 2 voies enzymatiques différentes, faisant intervenir des protéases de type sécrétase. Ces enzymes ont été identifiées : l' α -sécrétase, la β -sécrétase ou BACE 1 (*β APP cleaving enzyme 1*) et la γ -sécrétase, un complexe constitué de 4 protéines : préséniline 1 ou 2, PEN 2 (*Presenilin enhancer 2 homolog*), nicastrine et APH 1 (*Anterior pharynx defective 1 homolog*) [42]. Des mutations des gènes de certaines de ces protéines, en particulier les présénilines sont responsables de certaines formes autosomiques dominantes de la maladie [41].

La voie physiologique, dite non amyloïdogène, fait intervenir un 1^{er} clivage enzymatique par une α -sécrétase : le fragment ainsi formé, sAPP, possède des propriétés neurotrophiques et neuroprotectrices [41] ; puis, intervient un second clivage par une γ -sécrétase. Cette voie aboutit à un peptide très court dénommé p3, qui ne s'agrège pas et ne possède pas de propriétés toxiques. L' α -sécrétase clive la protéine APP en position α , au sein même de la séquence correspondante au peptide A β , empêchant ainsi sa formation

complète ce qui explique son incapacité à former des plaques par cette voie. Non seulement, cette voie empêche la formation de peptide $A\beta$ mais elle conduit à la formation du fragment sAPP α qui possède des propriétés neurotrophiques. Il s'agit de la voie principale de dégradation d'APP [41].

Dans la voie pathologique, dite amyloïdogène, le 1^{er} clivage enzymatique par une β -sécrétase donne naissance au fragment sAPP β dépourvu des propriétés neurotrophiques et neuroprotectrices de sAPP α , puis le second clivage par la γ -sécrétase aboutit au peptide $A\beta$. En réalité, cette voie aboutit à une multitude de peptides $A\beta$, de tailles différentes. Il existe une grande hétérogénéité dans les extrémités C- et N-terminales. Le peptide majoritairement produit est $A\beta_{40}$ mais c'est le peptide $A\beta_{42}$, possédant la partie hydrophobe la plus longue, qui a la plus grande capacité à s'agréger [44]. En solution, ces peptides s'agrègent, formant des oligomères solubles de 8 kDa ou plus, caractérisés par des propriétés synaptotoxiques, puis des fibrilles insolubles de plus de 100 kDa [45]. La présence de plaques, constituées de ces peptides, est la marque de l'agrégation de ces oligomères en fibrilles insolubles. C'est cette voie métabolique qui a un rôle majeur dans les mécanismes pathologiques de la maladie [41].

Ces 2 voies sont illustrées sur le schéma suivant (*Figure 5*).

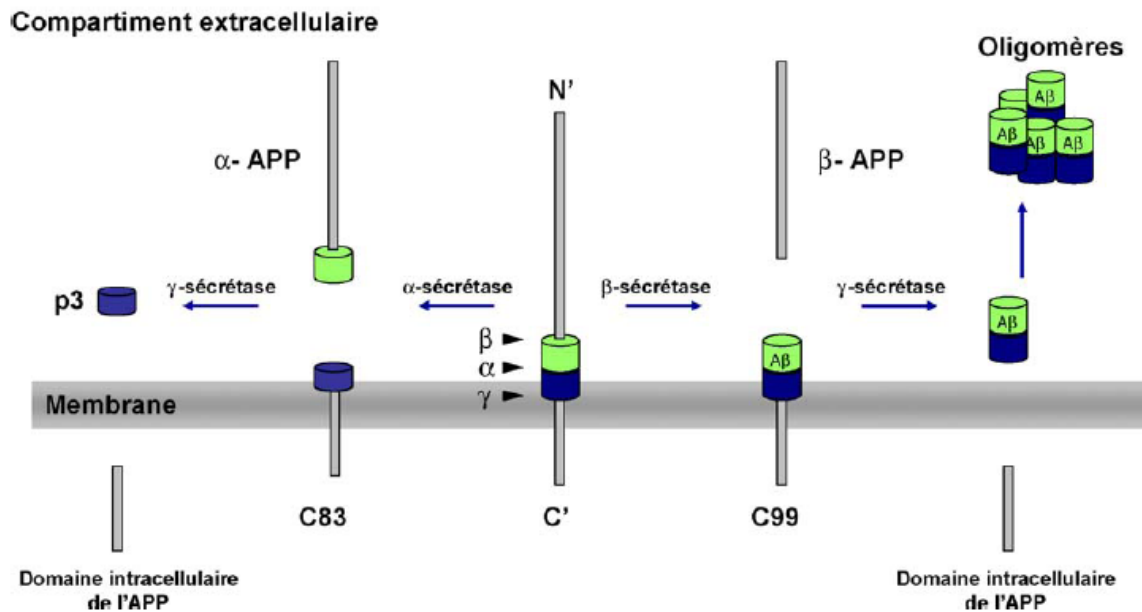


Figure 5 : Maturation de la protéine APP et formation du peptide Aβ.

Physiologiquement, la protéine APP subit deux clivages enzymatiques successifs par une α -sécrétase, puis une γ -sécrétase, conduisant à la libération des fragments sAPP α et p3. La voie faisant intervenir les β - et γ -sécrétases conduit quant à elle à la production du peptide β -amyloïde, très hydrophobe et capable de s'agréger en oligomères, puis en fibrilles.

La synaptotoxicité des oligomères entraîne une diminution progressive des connexions synaptiques et la destruction des neurones par apoptose [46]. Tardivement, la présence de plaques amyloïdes, témoin de l'agrégation des oligomères de peptides A β en fibrilles, entraîne en plus une réaction inflammatoire locale aggravant la destruction des neurones adjacents.

L'ensemble de la cascade amyloïde est schématisé ci-dessous (*Figure 6*).

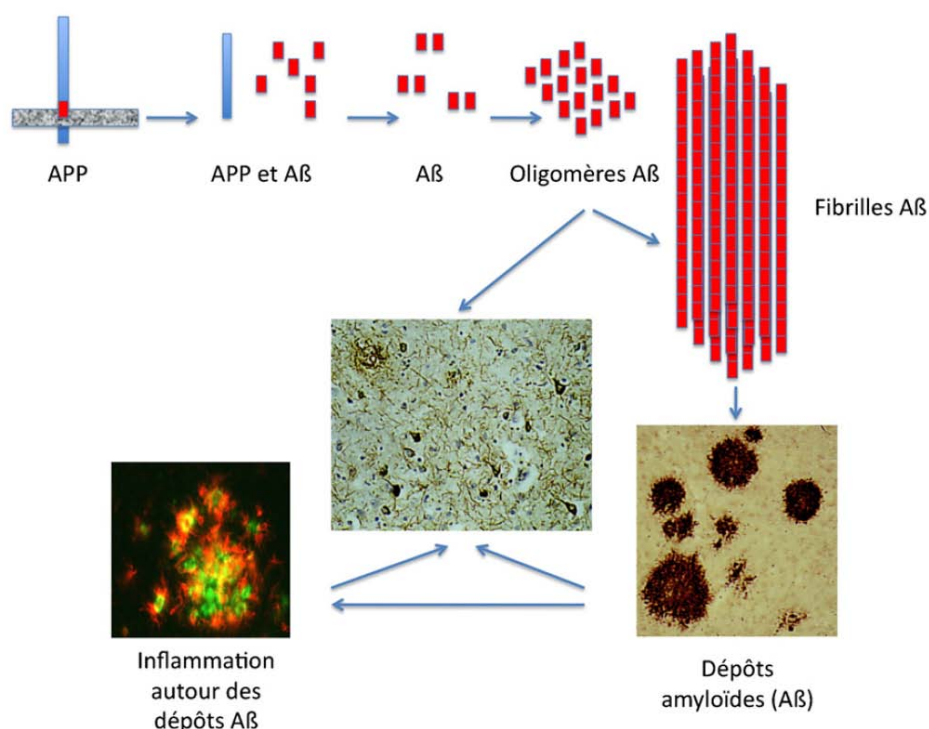


Figure 6 : Hypothèse de la casacade amyloïde [41].

Il est important de noter que c'est la dérégulation de la voie métabolique du peptide $A\beta_{42}$, précédant son agrégation en oligomères toxiques, qui est associée à la pathologie [41]. Hors, le taux cérébral de peptide $A\beta$ est régi t d'une part par sa production, et d'autre part par son élimination. Pour éviter son accumulation intracérébrale, il existe des processus de dégradation du peptide faisant intervenir certaines protéases ; des études récentes ont conduit à identifier la néprilysine (NEP), l'enzyme de dégradation de l'insuline (IDE) et l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE). Parallèlement à cette dégradation, il existe une voie de clairance du peptide du compartiment cérébral vers le compartiment plasmatique à travers la barrière hématoencéphalique. Après la liaison avec α_2 -macroglobuline et l'apolipoprotéine E, le peptide est internalisé dans les VLDL puis dégradé par voie lysosomale [44].

On ne sait pas, à l'heure actuelle, si c'est une augmentation de production du peptide et/ou une diminution de son élimination qui est responsable de son accumulation au niveau cérébral. Il n'a d'ailleurs pas été démontré que dans les formes sporadiques de maladie d'Alzheimer, l'activité des β - et γ -sécrétases soit augmentée [3].

3.3.2. Les dégénérescences neurofibrillaires et la protéine Tau

La DNF fait intervenir la protéine Tau. C'est une protéine cytosolique associée aux microtubules dont 6 isoformes de tailles différentes (de 352 à 441 acides aminés) ont été identifiées. Elle est caractérisée par de nombreux sites de phosphorylation. Son gène est situé sur le chromosome 17. Elle intervient dans l'assemblage et la stabilisation du réseau neuronal par l'intermédiaire des sous-unités de tubuline. Les différentes isoformes possèdent 3 à 4 domaines de liaison aux microtubules [12].

La polymérisation des molécules de tubuline permet la formation de microtubules qui, en présence de Tau, sont plus rigides et plus résistants. La principale fonction des microtubules, organites dynamiques continuellement en phase d'élongation et de raccourcissement, est la stabilisation cytoplasmique des cellules ; ils interviennent également dans la transmission de l'influx nerveux : les vésicules contenant les différents neurotransmetteurs se déplacent à l'intérieur du neurone à l'aide de ce réseau microtubulaire. Les neurones sont les cellules qui expriment la concentration la plus élevée de protéine Tau. Au niveau cérébral, les neurones les plus différenciés, les neurones corticaux, expriment des taux plus élevés que les neuroblastes de la zone périventriculaire. Au sein même du neurone, il existe un gradient de concentration avec des taux plus élevés au niveau axonal par rapport au corps cellulaire et aux dendrites [11].

L'état de phosphorylation des protéines Tau régule la stabilité des microtubules. Il existe plus de 80 résidus sérine et thréonine sur Tau et ces sites sont majoritairement situés de part et d'autre des domaines de liaison aux microtubules, dans une région riche en proline [47]. Plus d'une trentaine de ces sites se sont révélés être phosphorylés [12]. Il existe également 5 résidus tyrosine dont certains sont phosphorylés [3]. Cette phosphorylation est la principale modification post-traductionnelle de Tau. La plupart des formes phosphorylées sont physiologiques tandis que d'autres sont clairement pathologiques. Les interactions entre Tau et les microtubules sont régulées par ses sites de phosphorylation physiologiques. Dans la maladie d'Alzheimer, l'atteinte neuronale est liée à l'état d'hyperphosphorylation de Tau qui perd sa fonction stabilisatrice. Les protéines Tau isolées des DNF sont anormalement phosphorylées : à la fois en quantité anormale sur les sites physiologiques mais aussi par phosphorylation sur des sites pathologiques [48].

Phospho-Tau (protéine Tau phosphorylée), s'agrège et forme des filaments hélicoïdaux pathologiques (PHF), entraînant des modifications dans le réseau de microtubules et des anomalies du transport axoplasmique [41]. La formation de neurones dystrophiques ayant perdu leur organisation en réseau est responsable, en partie, de la neurodégénérescence de la maladie d'Alzheimer. La sévérité des troubles cognitifs est d'ailleurs proportionnelle à la quantité de PHF dans le cerveau [49]. Le schéma suivant représente le rôle de la protéine Tau dans la physiopathologie de la maladie (*Figure 7*).

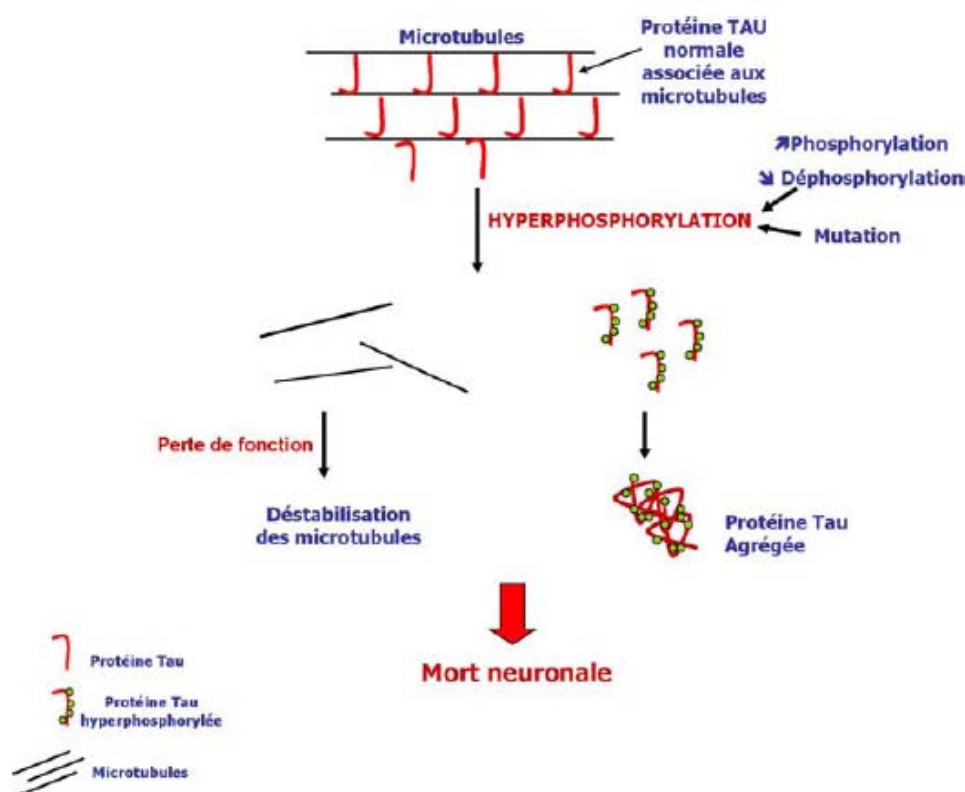


Figure 7 : Rôle de la protéine Tau dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer [50].

La phosphorylation de Tau est le résultat d'un équilibre entre l'activité de protéines kinases et de protéines phosphatases [41]. Les kinases, capables de phosphoryler Tau, sont nombreuses : les cdk (kinases dépendantes des cyclines), la GSK3 β , les MAP kinases (Erk1/2, jun kinases JNKs et p38s), les MARK, la phosphorylase K, la pKA, la pKC et la Tau-tubuline kinase [3]. L'activité des protéines phosphatases 1, 2A, 2B et 5 serait diminuée dans la maladie d'Alzheimer. Un déséquilibre de l'activité kinase/phosphatases pourrait être responsable de l'hyperphosphorylation de Tau et de sa dérégulation [3].

La pathologie de Tau n'est pas exclusivement retrouvée dans la maladie d'Alzheimer : de nombreuses pathologies neurologiques, appelées tauopathies, de présentations cliniques et neuropathologiques différentes, présentent ce type de lésions avec la présence de Tau [11]. Il existe d'ailleurs des spécificités des isoformes et des sites phosphorylés caractéristiques de certaines pathologies ce qui peut permettre le diagnostic différentiel de maladie d'Alzheimer (*Figure 8*).

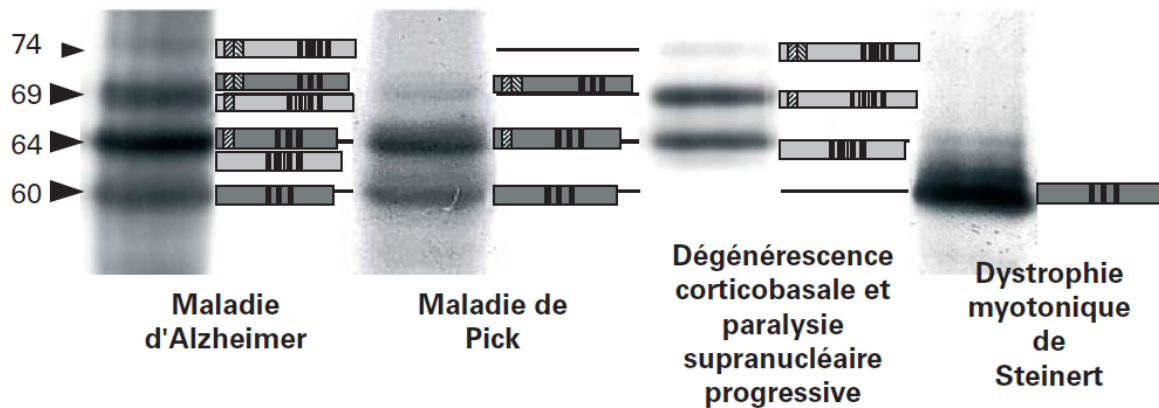


Figure 8 : Profil électrophorétique des différents isoformes de la protéine Tau et leur association à certaines pathologies [12].

Les 6 isoformes hyperphosphorylées s'agrègent dans la maladie d'Alzheimer et présentent un profil électrophorétique de type triplet. Seules les isoformes E10- s'agrègent dans la maladie de Pick et inversement, les isoformes E10+ sont retrouvées dans la paralysie supranucléaire progressive. Pour la dystrophie myotonique de Steinert, les isoformes avec les séquences codées par les exons 2 et 3 (E2,E3) ne sont pas exprimées.

Dans la maladie d'Alzheimer, la protéine Tau s'accumule dans le neurone, au niveau du corps cellulaire, où elle constitue la DNF mais également dans les prolongements axoniques où elle forme ainsi la couronne de la plaque sénile [3].

3.3.3. Conséquences cliniques

La plaque sénile est le marqueur spécifique de la maladie d'Alzheimer *post mortem* et reflète la présence des 2 processus dégénératifs simultanés [12] :

- la cascade amyloïde
- l'accumulation des DNF

La prévalence des lésions augmente avec l'âge mais la chronologie d'apparition n'est pas la même ; les DNF semblent précéder l'apparition des plaques amyloïdes : les DNF

atteignent 50% de la population dès l'âge de 47 ans tandis qu'il faut attendre 74 ans pour atteindre la même prévalence des plaques amyloïdes [3]. Néanmoins, il existe certainement des anomalies du métabolisme d'APP et des atteintes liées à la synaptotoxicité des oligomères solubles de peptides A β bien avant l'apparition des plaques [43]. L'hypothèse basée sur des modèles animaux suggère que la pathologie Tau soit stimulée par le dysfonctionnement d'APP puis que la combinaison des 2 processus accélère la dégénérescence [41].

La topographie des 2 types de lésions n'est pas non plus superposable dans l'espace : l'accumulation intracellulaire de protéine Tau et extracellulaire de peptide A β ne se produit pas simultanément dans les mêmes régions du cerveau. Les dépôts de peptide A β sont diffus, même dans les formes peu sévères de la maladie. De plus, il n'existe pas de corrélation entre l'étendue des plaques et la sévérité des atteintes [43]. Par contre, il existe un ordre topographique particulier et stéréotypé dans la chronologie de la progression des DNF qui est corrélé à la chronologie des signes cognitifs et constitue les stades de Braak et Braak, 1991 [51]. Les lésions apparaissent tout d'abord au niveau du lobe temporal et de l'hippocampe, expliquant les troubles de la mémoire inauguraux dans la maladie bien que ces lésions soient également décrites au cours du vieillissement cérébral normal. Puis, les lésions s'étendent vers les aires frontales et cingulaires, et enfin atteignent les aires associatives, expliquant cliniquement les troubles du langage, des praxies ou des gnosies. Cette séquence spatio-temporelle des DNF a été caractérisée par Duyckaerts en 10 stades : les stades S1 à S3 sont présents au cours du vieillissement physiologique, les stades S3 à S6 correspondent aux MCI, tandis qu'à partir du stade S7 touchant les aires associatives, les signes cliniques de la maladie sont très marqués [51] (*Figure 9*). Sur le plan clinique, la régularité de cette progression peut servir à évaluer le stade de la maladie [2].

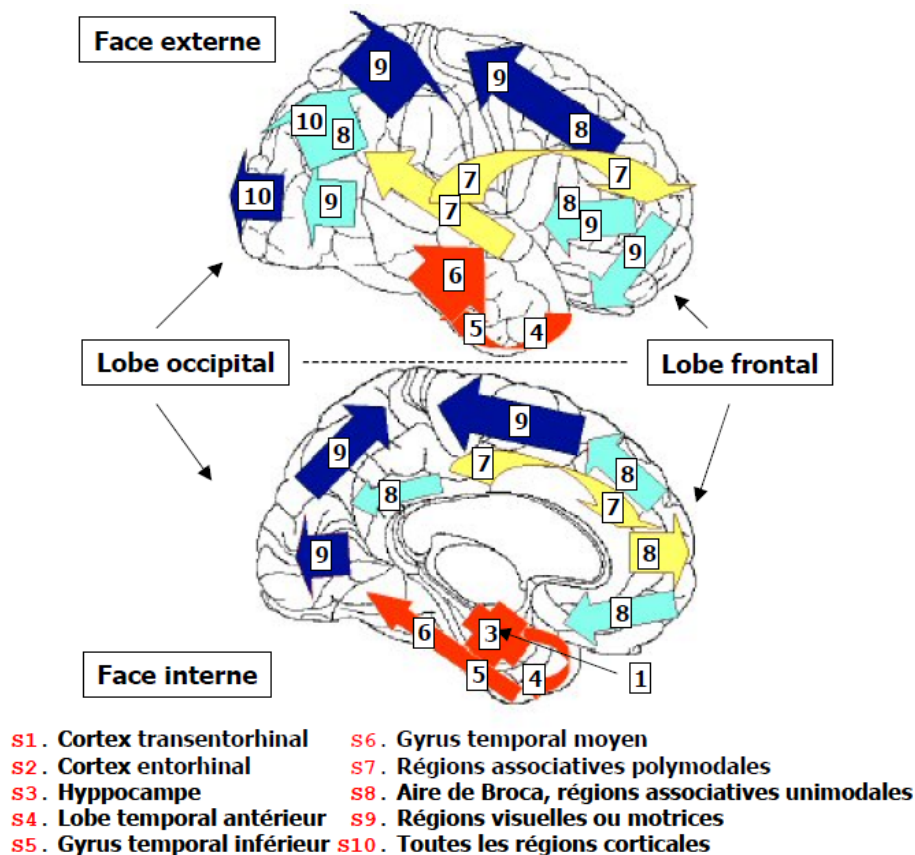


Figure 9 : Localisation et chronologie des zones affectées par les dégénérescences neurofibrillaires [52].

Si les 2 processus spécifiques (amyloïdogenèse et DNF) sont les éléments fondamentalement liés à la maladie, ce sont principalement les lésions non spécifiques (pertes neuronales et synaptiques) qui sont responsables de la symptomatologie de la maladie. En effet, 50% des cerveaux de sujets âgés de 75 ans présentent des plaques séniles tandis qu'il faut attendre 85 ans pour que la prévalence de la maladie d'Alzheimer atteigne 50% [53]. Ces observations soutiennent le concept de phase préclinique latente durant laquelle les lésions s'installent à bas bruit pendant plusieurs années.

4. Diagnostic

La démarche diagnostique classique de la maladie d'Alzheimer consiste tout d'abord à mettre en évidence un syndrome démentiel selon les critères du DSM-IV-TR (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) [1]. Ensuite, il convient de rechercher une étiologie à cette démence. Il y a encore quelques années, le diagnostic de maladie d'Alzheimer reposait

sur les critères du NINCDS-ADRDA (*National Institute of Neurlogical Disorders and Stroke – Association Internationale pour la Recherche et l’Enseignement en Neurosciences*) publiés en 1984 par McKhann (*Annexe 2*) [54]. D’après les études, ces critères ont une sensibilité globalement satisfaisante de 81% mais une spécificité faible de l’ordre de 70% pour le diagnostic de maladie d’Alzheimer « probable » avec confirmation *post mortem* [55]. Un diagnostic « possible » est reconnu avec plus de sensibilité (93%) mais moins de spécificité (48%) [42].

A l’heure actuelle, ces critères anciens tendent à être remplacés en pratique courante par les nouveaux critères de Dubois [35] visant à permettre l’identification d’un malade d’Alzheimer quel que soit son stade, avant le seuil de démence (*Annexe 3*) [56]. D’après ces nouveaux critères, le diagnostic de maladie d’Alzheimer est dit probable, s’il existe une atteinte clinique comportant une amnésie épisodique caractéristique d’une atteinte temporelle interne et au moins un des critères suivants :

- une atrophie des structures temporales : atrophie hippocampique, entorhinale ou amygdalienne mise en évidence en IRM, par échelle visuelle qualitative ou par volumétrie quantitative, en référence à des sujets témoins du même âge.
- une modification du taux des biomarqueurs dans le LCR : diminution du peptide A β_{42} et augmentation de la protéine Tau totale et de phosphoTau.
- un profil métabolique spécifique à la tomographie par émissions de positons (TEP) : diminution du métabolisme du glucose dans les régions tempopariétales bilatérales ou toute autre anomalie de distribution de ligand validé dans l’avenir ou une hypoperfusion dans ces mêmes régions mise en évidence par spectroscopie monophotonique (SPECT), globalement de performance inférieure au TEP (moins précoce) mais plus disponible [55].

Ces critères ne sont pas encore validés et doivent être considérés comme des critères de recherche [35] mais ils prouvent que le diagnostic et l’entité même de la maladie d’Alzheimer sont en train de changer [28].

A ce jour, c’est l’étude histologique des coupes de cerveau qui établit le diagnostic de certitude mais il n’est jamais réalisé de biopsies cérébrales de leur vivant chez les patients. Cette information n’est possible que *post mortem* et permet parfois de préciser ou de rectifier un diagnostic antérieur insuffisant ou erroné [57].

En pratique médicale courante, un faisceau d’arguments peut tout de même faire fortement suspecter le diagnostic mais il reste un diagnostic probabiliste et parfois difficile.

Ce faisceau d'arguments comprend des données cliniques, neuropsychologiques, radiologiques et biologiques.

4.1. La clinique

Le diagnostic de syndrome démentiel est clinique. Cette étape fondamentale repose sur un interrogatoire rigoureux et un examen clinique complet et peut être réalisé par un professionnel de santé, psychiatre, neurologue ou gériatre, dès lors que le patient lui-même ou son entourage se plaint d'une modification récente de sa cognition [58].

L'entretien médical du patient, accompagné par un proche, permet de faire préciser les caractéristiques des symptômes et leurs ressentis par le patient lui-même et par l'entourage. Outre les antécédents médicaux, personnels et familiaux, une éventuelle consommation de toxiques, le niveau d'éducation et l'activité professionnelle, il est important d'apprécier l'environnement social et familial proche du patient, pour optimiser la prise en charge ultérieure. L'histoire de la maladie est reconstituée par le patient à l'aide de l'accompagnant en précisant bien la chronologie des manifestations.

Cliniquement, c'est tout d'abord le diagnostic d'un syndrome démentiel qui comprend la mise en évidence de troubles de la mémoire associés à des perturbations d'au moins une autre fonction cognitive (langage, praxie, gnosie, fonctions exécutives) suffisamment sévères pour retentir sur les activités de la vie quotidienne. Les symptômes évoquant une détérioration intellectuelle de chacune de ces fonctions doivent donc être évalués, en recherchant le début et l'évolution des troubles [59].

- L'évaluation de la mémoire est une étape indispensable au diagnostic. Dans un premier temps, différentes échelles permettent d'évaluer la mémoire globale du patient. Des instruments de mesure spécifiques des sous-systèmes de mémoire sont utilisés dans un second temps, lorsqu'une orientation diagnostique est déjà envisagée [60]. Dans la maladie d'Alzheimer, les désordres mnésiques, généralement initiaux, affectent en priorité la mémoire des faits récents : c'est la mémoire dite épisodique, celle concernant les événements récents inscrits dans le temps et dans l'espace, qui est précocement touchée [11]. Cette composante épisodique est également caractérisée par des difficultés de fixation d'informations nouvelles, surtout liées à un contexte spatiotemporel précis [61]. La capacité d'apprentissage est de plus en plus réduite. Le stade de MCI amnésique peut être évoqué en l'absence de remémoration

secondaire, même après un indiçage permettant de faciliter le rappel. C'est ce qui caractérise le profil mnésique de type « hippocampique », évocateur d'une atteinte limbique.

- L'aphasie se caractérise fréquemment par un manque du mot, devenant de plus en plus fréquent dans les conversations du patient, souvent sans que lui-même ne s'en rende compte. Les troubles du langage touchent environ un tiers des cas au début de la maladie et la quasi-totalité des patients au stade de démence avancée [42].

- Les praxies, capacités à réaliser des gestes plus ou moins complexes, se jugent en l'absence de tout déficit sensitivo-moteur quelqu'en soit l'origine. Les troubles praxiques retentissent souvent sévèrement sur l'autonomie du patient. L'apraxie constructrice est la plus constante dans la maladie d'Alzheimer et se manifeste par des difficultés à l'écriture et au dessin [42].

- L'agnosie est l'incapacité à reconnaître et à identifier un objet ou une personne avec l'un des cinq sens, en dehors de tout déficit sensitif. Lorsque l'agnosie s'associe avec d'autres troubles des fonctions supérieures notamment du langage, il est difficile de l'identifier. Ces troubles nécessitent souvent des mesures de protection dans la pratique de certaines activités telles que la conduite automobile ou la gestion financière [42].

- Les fonctions exécutives préservent la cohérence cognitive de l'individu. Elles regroupent l'ensemble des fonctions supérieures qui sont impliquées dans le contrôle de l'action et la réalisation de comportement dirigé vers un but et permettent l'adaptation à des situations non routinières. Le syndrome dysexécutif est défini par l'impossibilité de réaliser des tâches complexes non automatisées. Les capacités de raisonnement et de jugement sont également touchées.

- Les troubles de l'orientation temporo-spatiale sont souvent précoces et remarqués par l'entourage. Les patients eux-mêmes ont parfois tendance à les négliger.

- Les troubles psychiques et comportementaux sont fréquents. Des comportements passifs ou négatifs à type d'apathie sont fréquents et peuvent être confondus avec une dépression. Les modifications de la personnalité et les troubles du comportement à type d'agitation voire d'agressivité apparaissent plus tardivement dans l'évolution de la maladie [42].

Il est recommandé d'effectuer une évaluation globale des fonctions cognitives de manière standardisée : le test le plus utilisé est le *Mini Mental Status Examination* (MMSE) (*Annexe 4*) [59]. Le principal intérêt de ce test est sa standardisation car son interprétation est délicate et dépend de nombreux paramètres comme l'âge, le niveau socio-culturel, l'état

affectif et le niveau de vigilance des patients, entre autres, qui doivent donc être pris en considération. D'autres tests dits de débrouillage sont utilisés : les 5 mots de Dubois, le test de l'horloge, la BREF (Batterie Rapide d'Evaluation Frontale) mais il n'existe pas d'accord professionnel concernant le choix de ces tests [59]. Le dépistage par le clinicien permet ainsi d'établir une cartographie des troubles qui seront secondairement confirmés et quantifiés par le neuropsychologue lors de son bilan.

Une modification avec l'état antérieur du patient atteste de la nouveauté des troubles et leur progression doit être rigoureusement notée. Cela permet de faire le diagnostic différentiel avec un syndrome confusionnel, épisode plutôt aigu et associé à de nombreuses fluctuations. L'ensemble des troubles doit avoir un retentissement sur les activités socio-professionnelles du patient. Il existe des critères permettant de quantifier ce retentissement : la plus connue est l'échelle IADL (*Instrumental Activities of Daily Living*) évaluant 4 items : l'utilisation du téléphone, des transports, la prise de médicaments et la gestion du budget (*Annexe 5*).

Le clinicien doit ensuite apprécier l'état général du patient et rechercher la présence de comorbidités souvent associées comme la dépression, l'anxiété, les maladies cardiovasculaires, la dénutrition, l'insuffisance rénale ou les troubles du sommeil. L'examen clinique neurologique et somatique reste longtemps normal dans la maladie d'Alzheimer. L'absence de maladie cérébrale ou systémique sous-jacente pouvant expliquer les troubles écarte le diagnostic différentiel.

Les premiers symptômes de la maladie sont classiquement des troubles de la mémoire épisodique verbale, une désorientation spatiotemporelle, des troubles attentionnels et dyséxécutifs, des troubles du langage à type de manque du mot. Peuvent apparaître, dans les suites de la maladie, des troubles du comportement à type d'agitation, d'anxiété avec hallucinations ou de dépressions [4].

L'enjeu actuel est de poser le diagnostic le plus précocement possible, avant le stade démentiel ; l'examen clinique par un praticien averti garde une place prépondérante et permet souvent d'établir un diagnostic fiable qui sera ensuite confirmé par les examens paracliniques.

4.2. Le bilan neuropsychologique

Un examen neuropsychologique est essentiel dans la démarche diagnostique et comporte de nombreux tests et évaluations [59]. Ces outils permettent de mettre en évidence précisément et de quantifier les troubles cognitifs et comportementaux et participent au diagnostic différentiel de la maladie d'Alzheimer. Il convient, pour appréhender ces tests, de bien comprendre les étapes classiques de la mémorisation : l'encodage, le stockage et la récupération.

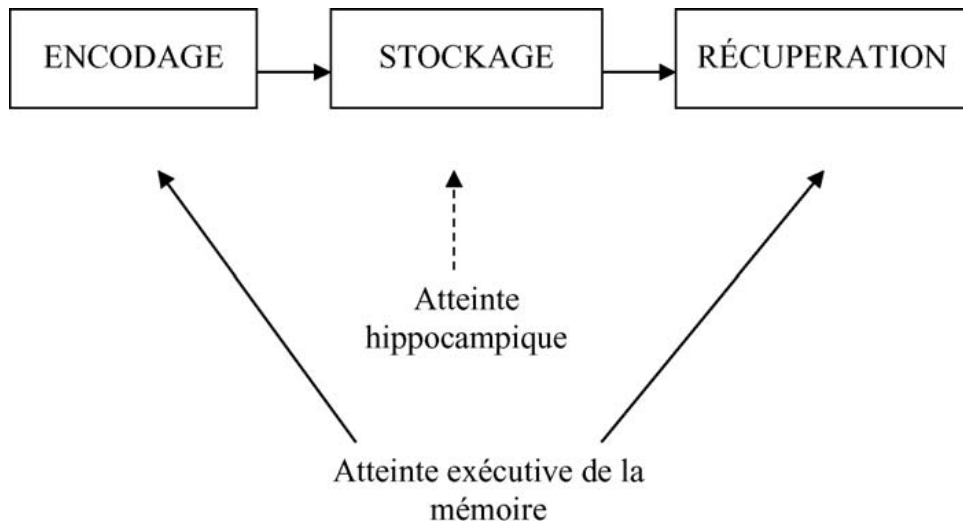


Figure 10 : Les étapes de la mémorisation [62].

Afin d'apprécier l'atteinte hippocampique touchant l'étape de stockage (*Figure 10*), le neuropsychologue utilise des tests comportant, par exemple, une mémorisation d'un certain nombre de mots associés à une catégorie ; le patient doit par la suite, se remémorer un maximum de mots, d'abord sans aide, le rappel libre, puis pour ceux manquants, avec l'aide de la catégorie donnée par l'examineur, le rappel indicé. C'est le RL/RI-16 items, également appelé Test de *Grober et Buschke* (Van der Linden, 2004). Ce test permet de contrôler les étapes d'encodage et de récupération afin d'isoler l'étape de stockage, défaillante dans la maladie d'Alzheimer. Le trouble de mémoire de rappel non amélioré par l'indication a une grande valeur dans le diagnostic de la maladie. Il existe d'autres tests utilisés par les neuropsychologues ; citons simplement le DMS-48 et le RI-48 items.

Ainsi, dans la maladie d'Alzheimer, le syndrome amnésique avec atteinte hippocampique est caractérisé par :

- un déficit du rappel libre malgré un encodage contrôlé
- une inefficacité de l'indication ou atteinte de la reconnaissance témoignant d'un défaut de stockage

- de nombreuses intrusions

L'examen neuropsychologique permet dans un second temps de rechercher des signes cognitifs associés autres que les troubles mnésiques. Différents instruments aident à l'évaluation des fonctions cognitives : des tests (ou échelles), validés par tranches d'âge des patients, explorent les différents champs de la cognition de manière standardisée et donnent rapidement une idée globale des perturbations cognitives du sujet au clinicien [63]. Il existe de nombreux autres tests permettant d'affiner l'ensemble des troubles du patient et apportant une aide précieuse au médecin lors du diagnostic [62].

Si l'évaluation neuropsychologique est primordiale à l'étape du diagnostic, sa poursuite tout au long de l'évolution de la maladie permet d'adapter la prise en charge globale du patient et de son entourage. Le principal intérêt d'un traitement est de ralentir l'évolution voire même de guérir les troubles cognitifs ; la neuropsychologie est aujourd'hui le meilleur outil d'évaluation de l'effet d'une molécule.

4.3. L'imagerie

Un examen de neuro-imagerie doit être systématique [59] : idéalement, une IRM encéphalique (scanner en cas de contre-indication) est réalisée lors de l'exploration initiale d'un patient présentant des troubles mnésiques. L'imagerie a principalement un rôle d'exclusion d'une autre étiologie à la démence : hypertension intracrânienne quelque soit sa cause, lésions vasculaires, tumeur [4]. Néanmoins, elle peut également aider au diagnostic différentiel des étiologies des démences dégénératives et représente donc un critère diagnostique essentiel. Les séquences requises sont une coupe coronale en haute résolution T1 perpendiculaire au grand axe de l'hippocampe pour rechercher l'atrophie et notamment l'atrophie temporale mésiale, une coupe coronale ou axiale T2 ou Flair, pour évaluer le parenchyme et tout particulièrement les lésions vasculaires et la leucoaraïose, les coupes T2* en écho de gradient à la recherche de microsaignements appelés aussi microbleeds et enfin une coupe en diffusion à la recherche de séquelles d'accident vasculaire cérébral ischémique récent. L'avantage de l'IRM par rapport au scanner en matière d'imagerie cérébrale n'est plus à démontrer. Dans le cadre de la maladie d'Alzheimer, l'analyse fine des lobes temporaux et plus particulièrement des régions hippocampiques possible en IRM sur des coupes coronales corrobore encore ce fait.

L'imagerie morphologique du cerveau d'un malade d'Alzheimer montre principalement un élargissement global des sillons, signe assez tardif dans l'évolution de la maladie. Cette atrophie pathologique est quantifiable plus précocement par l'analyse volumique en acquisition 3D sur les régions temporales. Cette technique reste peu utilisée : elle est très chronophage puisqu'elle nécessite un contourage manuel des zones d'intérêts pour le calcul volumique et est sujette à d'importantes variations interindividuelles de taille de cerveau [64]. De plus, il est difficile d'apprécier, dans les stades précoces, la part de la perte volumique dite physiologique, liée à l'âge, d'une véritable atrophie pathologique qui survient plus tardivement. Le signe morphologique le plus caractéristique est l'atrophie hippocampique, généralement absent lors du vieillissement normal [65]. Il convient donc au radiologue de distinguer l'atrophie liée à l'âge, globale, de l'atrophie des patients Alzheimer touchant en priorité les régions temporales internes. Il peut être intéressant d'évaluer la progression dans le temps de la perte de volume chez un même patient, nécessitant un suivi régulier [2]. L'imagerie morphologique fait partie des nouveaux critères diagnostiques de la maladie de Dubois [35]. Cependant, dans la révision 2010 de ces critères, les auteurs ont hiérarchisé la place de l'imagerie morphologique : plus tardive et moins spécifique, l'IRM est plus utile lorsque les troubles cognitifs commencent à se manifester [28].

Des techniques d'IRM de perfusion, évaluant le débit sanguin cérébral, semblent montrer une diminution du volume sanguin cérébral dans les régions temporopariétales des sujets atteints de maladie d'Alzheimer. Ce signe permet notamment de différencier la maladie d'Alzheimer de la DFT [37]. De même, l'IRM de diffusion, étudiant les mouvements des molécules d'eau libre, retrouve des anomalies dans les lobes temporaux des malades [64].

Des examens d'imagerie fonctionnelle (scintigraphie cérébrale de perfusion et tomoscintigraphie d'émission monophotonique cérébrale) peuvent préciser le diagnostic de démence. A l'aide de radiotraceurs isotopiques de type ECD (éthylcystéinate dimère) ou HMPAO (hexaméthylpropylèneamine oxime), la scintigraphie cérébrale de perfusion montre une réduction de perfusion dans les régions pariéto-temporales et le PET scan encéphalique au FDG (fluorodésoxyglucose) met en évidence un hypométabolisme dans ces mêmes régions mais plus précocement [55]. Ces examens permettent, entre autres, de différencier la maladie d'Alzheimer de la DFT touchant plus volontiers les régions frontales et préfrontales [2]. De plus, il semble qu'il existe dans la maladie d'Alzheimer des mécanismes compensatoires entraînant une augmentation des activations situées dans le cortex frontal [65].

Actuellement, ces examens d'imagerie fonctionnelle ne sont pas recommandés dans le diagnostic positif de maladie d'Alzheimer mais peuvent avoir un intérêt dans les cas atypiques [65] et font donc partie des nouveaux critères de la maladie [35].

Des techniques de tomographie avec traceur amyloïde (PIB ou composé B de Pittsburgh) permettent d'apprécier la localisation et l'étendue des plaques amyloïdes dans le cerveau [53]. La fixation de PIB chez les patients atteints de MCI semble corrélée avec le risque de conversion en maladie d'Alzheimer [66]. Cet examen semble être l'examen d'imagerie le plus précoce du processus neuropathologique mais n'est pas encore disponible en pratique clinique à l'heure actuelle.

4.4. La biologie

Les examens biologiques ont pour but, dans un premier temps, de rechercher une cause curable autre que dégénérative ou un facteur aggravant à la démence. Un bilan classique est souvent prescrit : TSH, hémogramme, ionogramme avec calcémie, glycémie, albuminémie, évaluation de la fonction rénale et de façon non systématique : sérologie VIH, dosage de la vitamine B12 et de folates, TPHA-VDRL, sérologie de la maladie de Lyme, bilan hépatique. La ponction lombaire (PL) est indiquée en fonction du contexte clinique notamment pour la recherche d'un processus infectieux ou dans les cas de présentation clinique atypique inquiétante et/ou rapidement évolutive, notamment chez le sujet jeune [59].

Actuellement, les biomarqueurs ne sont pas inclus dans la démarche diagnostique des formes classiques. Néanmoins, en cas de doute diagnostique, dans les formes frustres, notamment chez les patients jeunes, l'HAS recommande de pratiquer un dosage de peptide A β ₄₂, des protéines Tau et Phospho-Tau [59]. Le profil biologique évocateur d'une maladie d'Alzheimer associe une diminution du peptide A β ₄₂, une augmentation de la protéine Tau (proportionnelle à la dégénérescence neuronale) et une augmentation de pTau (signe d'une hyperphosphorylation). Ces anomalies orientent vers une maladie d'Alzheimer [67].

En pratique clinique courante, la PL pour le dosage des biomarqueurs est réalisée dans les formes atypiques et chez les patients jeunes afin d'avoir un argument supplémentaire pour affirmer ou infirmer le diagnostic de maladie d'Alzheimer. Le dosage est également précieux pour le diagnostic de maladie de Creutzfeldt-Jakob et le diagnostic de démence mixte ou d'hydrocéphalie à pression normale. Dans les stades précoces, lorsque le patient présente une

simple plainte mnésique avec un bilan neuropsychologique non contributif, les marqueurs aident à l'orientation diagnostique et au suivi ultérieur. La ponction est également réalisée dès lors qu'il y a une remise en cause d'un diagnostic de démence déjà établi.

4.5. Diagnostic différentiel

Le problème du diagnostic différentiel dans les démences est majeur : après avoir identifié le syndrome démentiel, il convient de l'étiqueter et malgré les connaissances des différentes pathologies, ce n'est pas toujours évident. Toutes ces pathologies peuvent se révéler sur un mode clinique atypique ; parfois seule l'évolution permet de rétablir le diagnostic. L'intérêt des marqueurs est de diagnostiquer correctement et précocement dès les premiers signes cliniques, qu'ils soient typiques ou non.

Maladie à corps de Lewy

La MCL, qui représente la 2^{ème} cause de démence d'origine dégénérative chez le sujet âgé [2], est caractérisée par la présence d'inclusions intraneurales d' α -synucléine appelées corps de Lewy. Les critères diagnostiques de la MCL ont récemment été réactualisés par Mc Keith en 2005 (*Annexe 6*). Cliniquement, cette démence se caractérise par des fluctuations des troubles cognitifs prédominant sur les fonctions exécutives et visuospatiales, des hallucinations précoces le plus souvent visuelles et un syndrome parkinsonien [4]. De plus, il est fréquemment retrouvé d'autres signes évocateurs : chutes à répétition, malaise ou perte de connaissance, agitation nocturne pendant les phases de sommeil paradoxal, syndrome dépressif [4]. Une hypersensibilité aux neuroleptiques interdit l'utilisation de la plupart de ces médicaments dans cette pathologie. La particularité neuropathologique est la présence de corps de Lewy, inclusions intracellulaires dans le cortex cérébral et les noyaux gris [2]. Ces inclusions sont constituées de filaments d' α -Synucléine, protéine cytoplasmique intracérébrale soluble dont le rôle n'est pas encore élucidé [68]. Parfois, il est également retrouvé des lésions neuropathologiques de la maladie d'Alzheimer : plaques séniles et dégénérescences neurofibrillaires, de même que l'on peut retrouver des corps de Lewy chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer [69]. L'imagerie morphologique n'apporte pas beaucoup d'aide au diagnostic : elle se caractérise par une atrophie moins sévère que dans la maladie d'Alzheimer [4]. Par contre, en imagerie fonctionnelle, on remarque un

hypométabolisme diffus avec réduction marquée dans le cortex associatif postérieur parfois associé à un hypométabolisme touchant le cortex visuel primaire et associatif occipital [2]. Au Dat-Scan, on observe un déficit dopaminergique du *striatum* [4]. Une polysomnographie à la recherche d'un syndrome de troubles du sommeil paradoxal peut également être envisagée [59].

La démence associée à la maladie de Parkinson est difficile à discerner de la MCL. Il n'y a d'ailleurs pas de différence anatomopathologique fondamentale entre les 2 maladies [2]. La séparation entre ces 2 types de démences reste aujourd'hui arbitraire. C'est la chronologie des troubles qui permettra dans la plupart des cas de corriger le diagnostic : on parle de MCL en cas de démence survenant dans les deux premières années d'évolution et de démence de la maladie de Parkinson dans les autres cas [59]. 30% des patients atteints de maladie de Parkinson présentent une démence au cours de l'évolution de leur pathologie.

Démence vasculaire

Le diagnostic de démence vasculaire s'appuie sur l'association de symptômes et signes neurologiques focaux et de maladies vasculaires affectant le cerveau [2]. C'est la 2^{ème} cause de démence, après les démences d'origine dégénérative. Les critères diagnostiques recommandés sont ceux du NINDS AIREN (*National Institute of Neurological Disorders and Stroke and Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement*). Cliniquement, c'est la chronologie d'apparition des troubles qui est marquante : apparition ou aggravation brutale des troubles cognitifs au décours d'un AVC et évolution en marches d'escaliers, par à-coups. Parfois, l'évolution peut être plus progressive et insidieuse en cas de lacunes multiples ou de leucoaraiose confluyente [4]. Le score d'Hachinski permet de différencier les démences vasculaires des démences dégénératives à partir de données cliniques (*Annexe 7*). L'imagerie apporte une grande aide en témoignant de la présence de lésions cérébrales vasculaires, bien mises en évidence à l'IRM ; cependant il n'est pas évident d'affirmer avec certitude le caractère contributif ou non des lésions à la démence [2]. L'élément déterminant du diagnostic est le lien chronologique entre l'évolution des lésions vasculaires cérébrales et celle des troubles cognitifs. La démence vasculaire pure est rare mais il est important d'en faire le diagnostic rapidement car son pronostic et sa prise en charge diffèrent nettement de la maladie d'Alzheimer. Par contre, chez le sujet âgé, la démence mixte, associant des lésions cérébrovasculaires et neurodégénératives est très fréquente. D'après de la Torre *et al.* (2002),

l'association de lésions de maladie d'Alzheimer et de maladies cérébrovasculaires atteint 30 à 40% des autopsies [70].

Dégénérescence lobaires frontotemporales

Les dégénérescences lobaires frontotemporales (DLFT) sont de 3 types :

- la démence frontotemporale (DFT) ou forme comportementale
- la démence sémantique
- l'aphasie primaire progressive

Elles sont plus fréquentes chez les sujets de moins de 65 ans et souvent d'origine familiale (40% des cas), pouvant nécessiter le recours à une consultation de génétique [59]. Le diagnostic de ce groupe hétérogène de démences est porté sur l'entretien neuropsychologique centré sur les fonctions exécutives, l'évaluation comportementale et le langage. L'imagerie morphologique et surtout fonctionnelle sont également utiles.

La plus fréquente, la DFT est considérée comme la 3^{ème} cause de démence neurodégénérative [2]. Les critères diagnostiques les plus récents sont ceux de Neary *et al.* (1998) (*Annexe 8*) [71]. C'est la précocité des troubles du comportement par rapport aux troubles cognitifs qui fait suspecter le diagnostic. Ces troubles du comportement, souvent au premier plan, se manifestent par des troubles du contrôle de soi, une désinhibition avec irritabilité, des troubles du contrôle des émotions, une instabilité motrice, une incurie et une apathie avec désintérêt social [4]. Il y a dans 90% des cas une modification des habitudes alimentaires et orales : tabagisme et alcoolisation excessif, grignotage, pouvant s'accompagner par une prise de poids [72]. Les troubles cognitifs, souvent relégués au second plan, sont caractérisés par une réduction du langage, des persévérations ou des stéréotypies, puis par les signes d'une atteinte des régions frontales : troubles de la planification ou de la prise de décision, collectionnisme, comportements d'utilisation et d'imitation. L'évolution est progressive et dure en moyenne 8 ans : le patient devient amimique, hypertonique et totalement apragmatique avec incontinence urinaire et fécale. L'imagerie morphologique est d'une grande aide et montre une atrophie lobaire, frontale et temporale antérieure bilatérale marquée. Parfois absente au stade initial, on constate à l'imagerie fonctionnelle une hypoperfusion des lobes frontaux et temporaux le plus souvent bilatérale [2].

La démence sémantique s'explique sur le plan cognitif par une atteinte longtemps isolée de la mémoire sémantique, c'est-à-dire des connaissances générales partagées par tout individu vivant dans une même société, en particulier les connaissances sur la langue [2]. Le tableau clinique associe une perte progressive de la signification des mots, de la reconnaissance des visages ou des objets [4]. Peuvent s'ajouter des troubles du comportement avec l'aggravation des troubles caractérisé notamment par un égocentrisme. Les patients sont souvent conscients de leurs troubles et consultent de leur propre initiative [72]. L'imagerie rapporte une atrophie le plus souvent asymétrique, prédominante à gauche, dans la partie antérolatérale des lobes temporaux.

Une réduction progressive et isolée de l'expression orale spontanée avec un manque du mot ou une anarthrie évoque une forme aphasique : l'aphasie primaire progressive est intégrée dans les DLFT. La compréhension du mot et les connaissances sémantiques s'y rattachant sont préservées. Durant l'évolution, apparaissent des troubles de la lecture et de l'écriture puis les troubles cognitifs s'aggravent : mutisme, atteintes des fonctions exécutives et troubles du comportement [4]. Le diagnostic peut être porté si la détérioration progressive du langage est isolée pendant au moins 2 ans [2]. Une atrophie périsylvienne de l'hémisphère gauche apparaît progressivement ainsi qu'une réduction du métabolisme dans les mêmes régions à l'imagerie.

Dégénérescence corticobasale

Il s'agit d'une forme rare de démence dégénérative, définie par des lésions touchant les noyaux gris centraux et le cortex, le plus souvent dans les régions pariétales ou frontales. Elle associe un trouble du mouvement et un syndrome parkinsonien asymétrique [4]. Des difficultés dans la programmation des gestes et des mouvements échappant à la volonté inaugurent la maladie. Les formes latéralisées représentent 50% des cas. Rapidement, s'y associe une détérioration cognitive touchant les fonctions exécutives. L'existence de nombreuses formes sémiologiques rend le diagnostic difficile. Il peut être observé une hémiparésie spatiale ainsi que des troubles du langage de type aphasie progressive. Il n'existe pas de critères diagnostiques validés [73]. A l'imagerie, il est parfois retrouvé une atrophie focale pariétale ou pariétofrontale. L'imagerie fonctionnelle apporte une aide lorsqu'elle montre une asymétrie de perfusion aux dépens des régions cliniquement touchées, cortex frontal postérieur et pariétal [2].

Paralysie supranucléaire progressive

Egalement appelée maladie de Steele Richardson Olszewski, la paralysie supranucléaire progressive est définie par les critères diagnostiques du NINDS de 1996 (*Annexe 9*). Elle se caractérise par une ophtalmoplégie supranucléaire avec atteinte des mouvements oculaires conjugués vers le bas et une instabilité posturale compliquée de chutes inexplicables. Le tableau clinique complet apparaît en moyenne 4 ans après les premiers signes : déséquilibre, troubles visuels à type de vision floue et troubles psychiques (dépression, labilité émotionnelle, apathie, modification de la personnalité et plainte mnésique). La phase d'état associe des troubles oculomoteurs, un syndrome extrapyramidal et une démence [74]. L'imagerie morphologique retrouve une atrophie caractéristique du mésencéphale et de la partie supérieure de la lame quadrijumelle tandis qu'il existe assez précocement un hypométabolisme frontal, prédominant dans les régions motrices et prémotrices [74].

Formes focales de maladie d'Alzheimer

Les variantes focales de la maladie d'Alzheimer regroupent un ensemble hétérogène de symptomatologie où prédomine un tableau clinique se rattachant à une région anatomique ou un système fonctionnel. Le syndrome d'atrophie focale postérieure, ou syndrome de Benson, associe des troubles visuels associatifs, visuoperceptuels et visuospatiaux en présence d'une fonction visuelle primaire intacte [75]. Des troubles de la lecture et de l'écriture, du calcul et du langage enrichissent la symptomatologie et sont présent parfois dès le début. L'imagerie, surtout métabolique, note une atrophie occipito-temporo-pariétale épargnant le plus souvent les régions frontales et mésiotemporales. Il existe des formes asymétriques, plus fréquemment à prédominance gauche. Toutes les formes touchant une fonction cognitive particulière peuvent se voir : agraphie progressive, acalculie progressive, agnosie progressive, prosopagnosie progressive, hémianopsie progressive, apraxie progressive [75]. Ces tableaux cliniques se chevauchent bien souvent entre eux. La topographie focale, symétrique ou asymétrique, intéressant un réseau fonctionnel est caractéristique de ces formes focales.

Maladie de Creutzfeldt-Jakob

La forme sporadique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, qui touche chaque année environ une personne par million d'habitants en France, réalise une démence à évolution très rapide. Le décès survient habituellement 6 à 8 mois après l'apparition des premiers signes. Outre, l'atteinte cognitive sévère, progressant sur quelques semaines, le tableau associe des troubles neurologiques précoces à type de myoclonies et de crises convulsives. Le diagnostic nécessite un EEG, une IRM et une PL avec dosage de la protéine 14-3-3 et de la protéine Tau [2].

Les processus physiopathologiques de ces démences dites non curables ne sont pas les mêmes : le tableau suivant classe les démences dégénératives en fonction de la protéine incriminée (*Tableau VII*).

Pathologie	Mécanisme
Maladie d'Alzheimer	Tauopathie + Amyloïdopathie
Maladie à corps de Lewy	Synuélinopathie
Certaines démences lobaires frontotemporales	Tauopathie, ubiquitinopathie
Paralyse supranuélaire progressive	Tauopathie
Dégénérescence corticobasale	Tauopathie

Tableau VI : Protéine incriminée en fonction des différentes démences dégénératives.

4.6. Conclusion

Il est clairement établi que la maladie d'Alzheimer est actuellement sous diagnostiquée en France. Seule la moitié des patients serait aujourd'hui identifiée [61]. De plus, les patients diagnostiqués le sont à des stades beaucoup trop tardifs [3]. Un des principaux freins au diagnostic est justement l'absence de marqueurs fiables et précoces de la maladie.

Aujourd'hui encore, l'identification de la maladie repose forcément sur l'apparition du syndrome démentiel. Hors, à ce stade clinique, la maladie est certainement trop avancée sur le plan physiopathologique pour optimiser la prise en charge. De plus, il n'existe pas de critères de certitude de conversion des formes prodromales ou prédéméntielles, dites MCI vers une maladie d'Alzheimer.

Ce diagnostic tardif provient en partie du fait que les critères diagnostiques classiques (NINCDS-ADRDA) ne prennent pas en compte les dernières avancées scientifiques. C'est pourquoi de nouveaux critères, utilisant les nouveaux marqueurs comme la biologie et l'imagerie, ont été proposés par Dubois *et al.* en 2007 et 2010, permettant un diagnostic au stade prédéméntiel [28, 35]. Un des principaux objectifs des recherches actuelles est de développer et d'évaluer de nouveaux biomarqueurs suffisamment robustes pour permettre le diagnostic le plus précocement possible mais aussi d'apporter des informations quant à l'évolution de la maladie et sa sévérité ainsi que sur l'efficacité des traitements en essais cliniques. Ces marqueurs représenteraient également des outils particulièrement intéressants pour améliorer le recrutement des patients dans les essais cliniques.

5. Traitements

La prise en charge des malades, résolument pluridisciplinaire, comprend une prise en charge médicamenteuse et une prise en charge non médicamenteuse. Le but pour le patient étant de retarder la progression des troubles cognitifs et comportementaux, de prolonger son autonomie et d'améliorer sa qualité de vie tout en maintenant son maintien à domicile. Actuellement, les seules thérapeutiques disponibles, en dehors des traitements des pathologies associées, se résument en 2 types de médicaments : les inhibiteurs de l'acétylcholine estérase et un antagoniste des récepteurs du glutamate, la mémantine, tout deux uniquement symptomatiques. Les molécules non spécifiques de type anti-inflammatoires, antihypertenseurs et vasodilatateurs ne sont pas recommandées dans le traitement de la maladie d'Alzheimer en raison de l'absence de preuve de leur efficacité et d'effets indésirables significatifs [76].

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont indiqués dans les stades légers à modérément sévères et ont pour but de ralentir le déclin cognitif. Ils empêchent la dégradation de l'acétylcholine après sa sécrétion par les neurones et augmentent ses capacités à stimuler les récepteurs nicotiniques et muscariniques. Le développement de ces inhibiteurs vient du fait que, dans la maladie d'Alzheimer, il existe un déficit de la transmission cholinergique. D'après les études, leur efficacité est aujourd'hui considérée comme moyenne, en comparaison à des groupes témoins ; ces molécules n'interrompent pas la cascade pathologique responsable de la maladie et n'ont donc peu d'effets sur l'évolutivité de la

maladie [77]. De plus, alors que le bénéfice clinique attendu est modeste et souvent temporaire, ces molécules sont onéreuses et non dépourvues d'effets secondaires, notamment digestifs [76].

Seule ou associée avec les précédents, la mémantine est indiquée dans les formes modérées à sévères et permet de renforcer l'action sur le déclin cognitif. Elle agit comme un antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA (N-Méthyl-D-Aspartate), bloquant l'effet du glutamate au niveau post-synaptique. Le glutamate est le neurotransmetteur excitateur principal du SNC ; dans la maladie d'Alzheimer, il serait impliqué dans l'activation excessive des récepteurs NMDA avec pour conséquence une entrée de Ca^{2+} participant à la mort neuronale [41]. La mémantine bloque cet effet du glutamate et prévient ces phénomènes de neurotoxicité excitatrice [42]. Une efficacité sur les fonctions cognitives est retrouvée, sans effet secondaire invalidant.

Déclarées par l'HAS apportant un service médical rendu jugé comme faible chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, ces deux classes thérapeutiques restent des médicaments purement symptomatiques. Ils ne sont pas recommandés au stade de MCI. Les bénéfices sur un éventuel ralentissement de la progression de la maladie ne sont pas encore parfaitement établis mais ils ne représentent que la 1^{ère} partie de la prise en charge thérapeutique des patients.

Les traitements non médicamenteux comprennent entre autres, en fonction des besoins individuels, une prise en charge orthophonique, kinésithérapique, psychosociale. Les thérapies stimulatrices de type exercice physique, entraînement cognitif, thérapie de groupe, musicothérapie et arthérapie retardent le déclin cognitif et préviennent les complications notamment anxiodépressives [76]. La prise en charge médico-sociale associe les mesures de protection juridiques et l'accompagnement des aidants. L'intégration de l'entourage dans cette prise en charge est primordiale et une aide adaptée doit lui être donnée.

Par ailleurs, il existe de nombreuses perspectives médicamenteuses basées sur la physiopathologie. Les avancées récentes dans ce domaine, concernant l'amyloïdogenèse et les DNF, ont permis le développement de pistes thérapeutiques intéressantes mais qui n'ont toujours pas abouties à la commercialisation de médicaments efficaces.

Ainsi de nombreuses stratégies visant à réduire la production du peptide A β ou à stimuler son catabolisme sont actuellement envisagées.

Des inhibiteurs de la β -sécrétase, enzyme clé dans la formation du peptide A β , sont à l'étude. Une réduction du peptide A β est retrouvée dans les modèles animaux lorsque le gène codant pour cet enzyme est invalidé [78]. De même la répression de la β -sécrétase par une approche ARN anti-sens diminue la production de peptide A β et les déficits cognitifs sur les modèles animaux [41]. Néanmoins, la principale difficulté rencontrée est la conception d'une molécule biodisponible et métaboliquement stable capable de passer au travers de la barrière hématoencéphalique. Pour cette raison, il n'y a, à ce jour, aucune molécule inhibant la β -sécrétase ayant atteint la phase 3 des essais cliniques [41].

Les inhibiteurs de la γ -sécrétase ont également été proposés mais leur développement est freiné par leurs effets secondaires. Cette enzyme possède de nombreux substrats, autres que la protéine APP, dont certains sont importants pour la physiologie cérébrale, ce qui limite la recherche aux études chez l'animal pour le moment [41]. Des études ont tout de même été menées et montrent une réduction de 60% du peptide A β en 14 semaines chez des patients Alzheimer et MCI, mais sans amélioration significative des fonctions cognitives [76].

La dernière enzyme clé, la α -sécrétase, est impliquée dans la maturation physiologique d'APP en sAPP α , puis en peptide p3 dans la voie non amyloïde. L'activation de l' α -sécrétase entraîne donc théoriquement une diminution de production du peptide A β et un effet bénéfique neuroprotecteur par l'intermédiaire de sAPP [41]. Là encore, la recherche rencontre des difficultés : certains agents stimulants l' α -sécrétase utilisés dans les études induisent des transformations néoplasiques [41]. De plus, les conséquences de l'augmentation chronique de cette voie ne sont pas connues [78].

Une autre voie potentielle visant à réduire les taux de peptides A β est l'activation des enzymes de dégradation physiologiques du peptide comme la néprilysine. A ce jour, peu de molécules ont été développées [41].

Une approche vaccinale dirigée contre le peptide A β est également à l'étude. L'immunothérapie active (induction de la réponse immunitaire chez l'hôte) et passive (administration d'anticorps monoclonaux) utilise le peptide A β comme antigène cible. Les résultats chez l'animal ont été très prometteurs : les plaques amyloïdes disparaissent et les fonctions cognitives s'améliorent sur modèles murins [41]. Le mécanisme d'action n'est pas clair : d'une part, les anticorps ont la capacité de désagréger les fibrilles amyloïdes et d'autre part, ils diminuent le taux d'A β circulant, déplaçant ainsi l'équilibre existant entre les formes centrales et circulantes vers le compartiment périphérique, ce qui entraîne une diminution des

taux de peptide A β dans le cerveau [41]. Cependant, les premiers essais cliniques chez l'homme en phase II ont du être stoppés à cause d'un nombre important de méningo-encéphalites chez les patients. A l'autopsie de ces patients, il a été mis en évidence une infiltration de lymphocytes T expliquant les encéphalites. Chez l'animal, la recherche est axée sur une immunothérapie présentant moins d'effets indésirables et surtout plus ciblée sur les formes pathologiques de peptide A β . De nombreux essais cliniques ont repris chez l'homme.

Une autre piste de recherche s'appuie sur des médicaments dissociant les agrégats de peptide A β . Après être passées à travers la barrière hémato-encéphalique, ces molécules sont capables de casser la structure secondaire des peptides A β et de dissocier les oligomères. Les essais thérapeutiques de phase III se mettent en place [42].

Les stratégies basées sur les mécanismes d'agrégation de la protéine Tau sont beaucoup moins développées en raison notamment de l'absence de modèles animaux. Des progrès récents dans ce domaine offrent de nouvelles pistes. Les études actuelles se lancent à la recherche d'inhibiteurs de kinases, d'activateurs de phosphatases ou d'autres régulateurs de la phosphorylation de Tau [41]. Des dérivés du taxol, permettant de stabiliser les microtubules, ont été proposés dans le traitement des tauopathies mais ces médicaments présentent de nombreux effets indésirables [41]. Des agents intercalants inhibant l'agrégation des protéines Tau ouvrent de nouvelles voies thérapeutiques des tauopathies mais n'en sont qu'au début des essais cliniques.

Ci-dessous, les molécules et leurs cibles en cours d'étude dans les essais randomisés en France en décembre 2009 (*Tableau VII*).

Phase	Molécule (promoteur)	Type de traitement	Etat d'avancement
I	V950 (Merck)	Immunothérapie active	Recrutement en cours
II	ACC-001 (Wyeth/Elan)	Immunothérapie active	Recrutement en cours
	BMS-708163 (Bristol-Myers Squibb)	Inhibiteur de la gamma secrétase	Recrutement en cours
	CAD106 (Novartis)	Immunothérapie active	Actif, pas de recrutement
	EGb 761 (Ipsen)	Ginkgo biloba	Recrutement en cours
	Galantamine et donepezil (Janssen-Cilag)	Anticholinestérasique	Recrutement en cours
	Mémantine	Inhibiteur des récepteurs NMDA	Recrutement en cours
III	3APS (Bellus Health)	Inhibiteur de l'agrégation de l'Aβ	Actif, pas de recrutement
	Bapineuzumab (Wyeth)	Immunothérapie passive	Recrutement en cours
	Galantamine (Johnson & Johnson)	Anticholinestérasique	Recrutement en cours
	LY2062430 (Eli Lilly)	Immunothérapie passive	Recrutement en cours
	LY450139 (Eli Lilly)	Inhibiteur de la gamma secrétase	Recrutement en cours / actif pas de recrutement (2 essais)
	RO5313534 (Hoffmann-La Roche)	Agoniste partiel des récepteurs alpha-7 nicotiniques	Recrutement en cours
	Rivastigmine (Novartis)	Anticholinestérasique	Actif, pas de recrutement
	Rosiglitazone XR (GlaxoSmithKline)	Anti-diabétique (thiazolidinedione)	Actif, pas de recrutement
IV	Donepezil (Eisai)	Anticholinestérasique	Actif, pas de recrutement
N/A	Jus riche en polyphénols	Supplément nutritionnel	Recrutement en cours
	Supplément d'oméga-3 + intervention multidomaine	Supplément nutritionnel + intervention non pharmacologique	Recrutement en cours

N/A : Non applicable (supplément nutritionnel)

Tableau VII : Etat d'avancement et mécanismes d'action de différentes molécules à l'essai comme thérapeutique de la maladie d'Alzheimer (d'après l'Observatoire nationale de la recherche sur la maladie d'Alzheimer).

De nombreuses approches thérapeutiques innovantes voient le jour mais les résultats ne sont pas encore au rendez-vous. L'attention portée sur ces nouvelles thérapeutiques est tout de même immense et la communauté médicale attend beaucoup de ces traitements.

III. APPORT DES MARQUEURS BIOLOGIQUES

1. Les biomarqueurs dans le LCR

1.1. Données générales

La mise au point de marqueurs biologiques diagnostiques et/ou pronostiques est un enjeu majeur pour la prise en charge des patients atteints de syndrome démentiel. Il est en effet indispensable de valider des marqueurs biologiques suffisamment robustes non seulement pour permettre un diagnostic le plus précoce possible et évaluer l'agressivité de la maladie mais aussi pour améliorer les conditions de recrutement des patients dans les essais cliniques et estimer l'efficacité des nouvelles thérapeutiques en développement.

Le LCR, en contact direct avec le cerveau et la moelle épinière, est le principal reflet de ce qui se passe au niveau cérébral. Ce liquide biologique apparaît donc comme le plus pertinent pour la recherche de biomarqueurs dans les maladies neurologiques.

Les connaissances de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer ont naturellement orienté la recherche de marqueurs biologiques vers le peptide β -amyloïde 42 ($A\beta_{42}$), la protéine Tau totale (Tau) et sa forme phosphorylée (pTau). Des études ont d'ailleurs montré la corrélation entre la présence de plaques amyloïdes et de DNF dans le cerveau de patients et des taux pathologiques de ces marqueurs. [3, 79, 80, 81]. Chacun de ces biomarqueurs a tout d'abord été étudié séparément puis conjointement [82].

Ils sont aujourd'hui dosés en routine dans de nombreux laboratoires hospitaliers français mais ils présentent toutefois certaines limites. Il est notamment indispensable de valider des biomarqueurs mesurables sur un prélèvement plus accessible, ce qui permettrait une utilisation plus précoce et chez le plus grand nombre.

1.2. Les 3 principaux marqueurs

1.2.1. La protéine Tau totale (Tau)

1.2.1.a. Tau dans la maladie d'Alzheimer

La protéine Tau est une protéine associée aux microtubules (MAP) impliquée dans la stabilisation du cytosquelette des neurones et dans le trafic vésiculaire, un processus clé dans la neurotransmission [11]. Elle est le constituant majeur des PHF qui conduisent aux DNF dans la maladie d'Alzheimer et dans les tauopathies [3] et elle est libérée en cas de mort neuronale aussi bien dans les neurodégénérescences que dans les accidents cérébraux aigus (AVC, traumatismes) [68].

La protéine Tau existe sous la forme de 6 isoformes, produits de l'épissage alternatif du transcrit d'un seul gène situé sur le chromosome 17 [12]. Dans le LCR et le tissu cérébral, Tau se trouve essentiellement sous forme partiellement protéolysée, principalement à l'extrémité C-terminale. Les dosages actuels utilisent des anticorps permettant de doser les 6 isoformes de Tau indépendamment de leur phosphorylation mais le dosage de l'ensemble des fragments de protéolyse nécessiterait l'utilisation de nombreux anticorps différents ce qui n'est pas le cas dans les dosages actuels [47].

La quantité de Tau mesurée dans le LCR augmente modérément avec l'âge : il est le reflet du vieillissement neuronal et notamment de la mort neuronale physiologique [32]. Dans le groupe contrôle de l'étude de Herukka *et al.* (2007), il existe une corrélation entre les valeurs de la protéine Tau dans le LCR et l'âge des patients [83]. Ainsi, les valeurs de Tau peuvent être ajustées à l'âge. La valeur normale est 263 pg/mL +/- 164. C'est Vandermeeren *et al.* (1993), à l'aide d'anticorps polyclonaux, qui a décrit pour la première fois une augmentation de Tau dans le LCR de patients Alzheimer par rapport à des sujets contrôles [84]. Par la suite, l'utilisation d'anticorps monoclonaux est devenue la règle : différents anticorps reconnaissant l'ensemble des isoformes de Tau ont été utilisés dans les études et toutes décrivent une augmentation de Tau dans le LCR de malades d'Alzheimer [85, 86]. Cette augmentation est, selon les études, de l'ordre de 200 à 300% par rapport aux sujets témoins [87]. Le dosage ELISA révèle des taux compris entre 150 et 450 pg/mL chez les sujets sains et entre 300 et 1100 pg/mL chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer [68]. Les valeurs seuils pathologiques retenues dépendent classiquement de l'âge : 300 pg/mL chez les moins de 50 ans, 450 pg/mL chez les 51-70 ans et 500 pg/mL pour les plus de 71 ans.

Une méta-analyse, incluant plus de 2000 patients Alzheimer et 1000 contrôles, affirme que les performances moyennes de Tau seule, pour discriminer un patient Alzheimer d'un sujet sain, sont les suivantes : sensibilité de 81% et spécificité de 91% [88] (*Tableau VIII*).

Study Number	Number of AD Cases	AD Sensitivity	Number of Controls	Controls Specificity	Comment	Ref.
1	70	100	19	100		62
2	44	84	31	97		14
3	43	95	18	94	Community-based study	63
4	69	89	17	100		64
5	93	40	41	100	Multicenter study	56
6	40	89	36	97		65
7	163	66	65	83	Multicenter study	66
8	150	79	100	70	Multicenter study	67
9	81	90	15	67		41
10	407	93	93	86	Community-based study	20
11	60	79	32	82		50
12	54	87	15	93		68
13	47	77	12	92		69
14	41	85	17	95		70
15	80	81.3	21	91		71
16	52	79	56	100		24
17	74	95	40	98		72
18	366	59	316	97	Multicenter study	73
19	49	88	49	96	3-year follow-up	74
20	39	72	12	93		75
Total	2022	81.4	1005	91.5		

Ref. = reference number.

Tableau VIII : Méta-analyse sur les performances de Tau totale [88].

Une autre méta-analyse donne des valeurs moyennes de sensibilité à 80% et de spécificité à 89% [82]. L'utilisation de la protéine Tau a été évaluée dans plus de 50 études, et toutes retrouvent une augmentation significative de sa concentration dans le LCR de patients Alzheimer par rapport à des contrôles [89].

Les valeurs augmentant physiologiquement avec l'âge, les performances de Tau totale pour discriminer des sujets Alzheimer des contrôles diminuent légèrement après 70 ans [86]. Dans l'étude de Bürger *et al.* (1999), les concentrations de Tau tendent à s'élever avec l'âge dans le groupe contrôle ; cette élévation n'est pas retrouvée dans le groupe démence Alzheimer suggérant que le processus neurodégénératif de la maladie d'Alzheimer masque l'effet de l'âge [90].

Plus récemment, il a été démontré la corrélation entre les valeurs de Tau et l'étendue des DNF en anatomopathologie observée *postmortem* [91]. Cette augmentation est corrélée à la physiopathologie : d'après Fagan *et al.* (2009), il existe une relation linéaire entre le taux de Tau dans le LCR et la quantité de plaques séniles dans le cerveau mesurée en imagerie fonctionnelle (PIB) [92].

L'évolution de la concentration de Tau dans le LCR a été évaluée dans une étude suédoise : les auteurs notent une légère augmentation des valeurs de Tau au cours du temps chez les malades d'Alzheimer (+16% en 2 ans) ; cette augmentation semble corrélée à la détérioration des fonctions cognitives. A l'inverse, dans le groupe contrôle, le suivi sur 4 ans ne permet pas d'observer une variation des valeurs de Tau [93].

La protéine Tau possède donc une très bonne sensibilité pour détecter les malades d'Alzheimer par rapport à des sujets sains, cependant, Tau est un marqueur de lyse neuronale ; or la maladie d'Alzheimer n'est pas la seule pathologie entraînant une lyse neuronale. Il existe donc un manque de spécificité de Tau dans le diagnostic différentiel des démences et des atteintes cérébrales aiguës associées à une mort neuronale massive [88].

1.2.1.b. Tau dans le diagnostic différentiel

La protéine Tau dans le LCR a été évaluée dans les cas des démences non Alzheimer. De nombreuses pathologies n'entraînent pas ou rarement de modifications de Tau : les démences d'origine alcoolique, la maladie de Parkinson, la paralysie supranucléaire progressive, la dégénérescence corticobasale ou les troubles psychiatriques notamment les dépressions [32].

A l'inverse, Tau s'élève dans de nombreuses pathologies neurologiques [94]. Les résultats d'études sur les valeurs de Tau dans les DFT sont plutôt contradictoires [85]. Cependant, ces études comportent rarement une confirmation histologique des diagnostics établis. Une étude ancienne ne note pas de différence significative entre les valeurs de Tau dans le groupe Alzheimer (802 pg/mL) et le groupe DFT (612 pg/mL) dont les valeurs sont augmentées par rapport au groupe contrôle (198 pg/mL) [95]. Néanmoins, une autre étude, plus récente, ne retrouve pas d'augmentation de Tau dans le groupe des DFT (320 pg/mL) tandis que le taux est plus élevé dans la maladie d'Alzheimer (730 pg/mL) et plus faible dans le groupe contrôle (230 pg/mL) [96]. Enfin, une étude avec confirmation anatomopathologique des diagnostics affirme que Tau est un marqueur significatif pour le diagnostic différentiel de la maladie d'Alzheimer et des DFT : les valeurs de Tau sont significativement plus faibles dans le groupe des DFT (266 pg/mL) et dans le groupe contrôle (261 pg/mL) que dans le groupe démence de type Alzheimer (523 pg/mL) [97].

Il n'est pas retrouvé d'élévation de Tau dans la MCL [98]. Mollenhauer *et al.* (2007) notent que les valeurs de Tau sont significativement plus faibles dans le groupe MCL (220 pg/mL) par rapport au groupe maladie d'Alzheimer (804 pg/mL) [99].

La maladie de Creutzfeldt-Jakob est caractérisée par des processus neurodégénératifs rapides associés à une lyse neuronale brutale et massive. Ceci explique que les valeurs de Tau retrouvées soient très élevées malgré l'absence de DNF dans le cerveau [98]. Cette élévation de Tau est considérablement plus importante que celle observée chez les patients Alzheimer. D'après une étude réalisée au Danemark, le taux médian de Tau retrouvé dans une population de patients Alzheimer est de 464 pg/mL (extrêmes de 75 à 1 200) tandis que celui dans la population de Creutzfeldt-Jakob atteint 2 740 pg/mL (extrêmes de 445 à 41 000) ; le taux médian du groupe témoin est de 150 pg/mL [100]. Cette étude affirme qu'il est possible de discriminer les patients Creutzfeldt-Jakob des patients Alzheimer avec une sensibilité de 90% et une spécificité de 85% en utilisant Tau seule avec un seuil à 500 pg/mL. La protéine Tau est aujourd'hui considérée comme le marqueur biologique le plus pertinent de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [101].

Il a également été montré que dans les AVC, il existe une élévation de Tau proportionnelle à la taille de l'infarctus mesuré par l'imagerie. De plus, cette élévation à la phase aiguë est bien souvent transitoire puisque les valeurs de Tau reviennent dans les normes 3 à 5 mois après l'accident [102]. Par contre, la démence vasculaire ne semble pas associée à une augmentation de Tau : l'étude de Boban *et al.* (2008) note des valeurs de Tau à 280 pg/mL dans le groupe démence vasculaire, contre 725 pg/mL dans le groupe Alzheimer et 192 pg/mL dans le groupe contrôle. Dans cette étude, Tau discrimine les 2 types de démences avec 100% de sensibilité et spécificité en utilisant un seuil à 350 pg/mL [103].

Une méta-analyse conclue que les valeurs de Tau sont augmentées dans la MCL, les démences vasculaires et les FTLN mais à des niveaux inférieurs à celles observées dans la maladie d'Alzheimer : Tau présente des performances insuffisantes pour être utilisée seule, à l'exception peut être du diagnostic de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [104].

Isolément, la protéine Tau présente donc un intérêt limité en tant que biomarqueur pour différencier la maladie d'Alzheimer des autres démences dégénératives [86]. Mais si elle n'est que peu spécifique de la maladie d'Alzheimer, elle reflète tout de même l'intensité globale de la mort neuronale dans les affections neurologiques chroniques et aiguës [105]. Elle est donc plutôt bien corrélée à la rapidité et à l'intensité du processus neurodégénératif quel qu'il soit [34].

1.2.2. Forme phosphorylée de la protéine Tau (pTau)

1.2.2.a. pTau dans la maladie d'Alzheimer

Au cours de la maladie d'Alzheimer, les protéines Tau isolées des PHF sont anormalement phosphorylées, quantitativement et qualitativement [48]. Il existe plus de 80 sites de phosphorylation de la protéine Tau à partir des acides aminés thréonine et sérine (*Figure 11*). Certains sont physiologiques, d'autres pathologiques et retrouvés dans les différentes tauopathies [41].

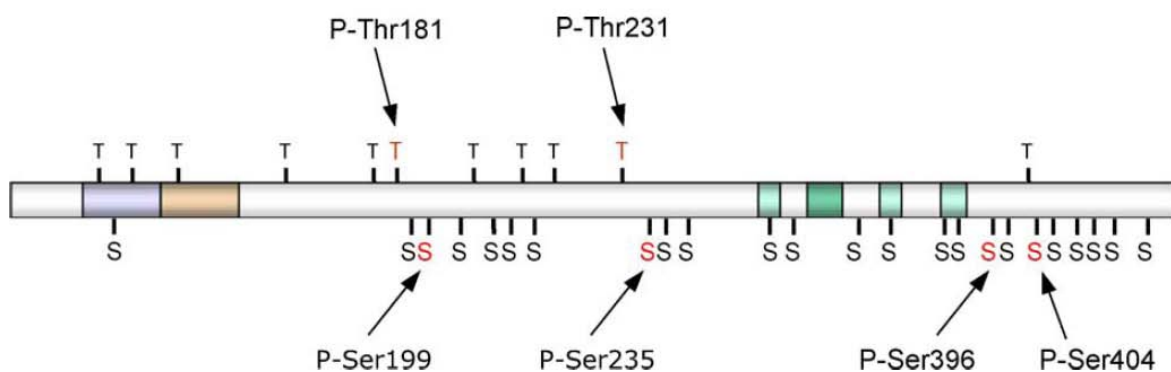


Figure 11 : Différents sites de phosphorylation du plus grand isoformes (441 acides aminés) de la protéine Tau [32].

Ces sites de phosphorylation diffèrent en fonction de l'isoforme de Tau [12]. Dans la maladie d'Alzheimer, de nombreux sites phosphorylés ont été identifiés. L'hyperphosphorylation de Tau étant responsable de son agrégation et de la formation des DNF, le dosage de ces formes phosphorylées s'est rapidement développé [82]. Il nécessite l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés spécifiquement contre ces épitopes. Différents sites sont visibles sur la figure illustrant pTau (*Image 11*) ; les anticorps les plus utilisés dans les kits disponibles sont les thréonines 181 et 231, la sérine 235 et la sérine 199. Les dosages effectués avec ces différents anticorps ont tous montré une augmentation de pTau chez les patients Alzheimer [85].

L'élévation moyenne de pTau, sur quatre études utilisant des épitopes phosphorylés différents, est de 250% chez les patients Alzheimer par rapport aux sujets contrôles [85]. Une méta-analyse montre une sensibilité de 81% et une spécificité de 91% [88] (*Tableau IX*) tandis qu'une autre donne 74% et 92% de sensibilité et spécificité respectivement [82].

Study Number	P-tau Epitope	Number of AD Cases	AD Sensitivity	Number of Controls	Controls Specificity	Comment	Ref.
1	P-Thr181	80	84	40	88		92
2	P-Thr181	41	44	17	95		70
3	P-Thr181	19	58	17	94		52
4	P-Thr181	108	85	23	91	Two-center study	93
5	P-Thr181	51	84	31	84		94
6	P-Thr181	42	88	43	100		26
7	P-Thr181	18	89	13	85		95
8	P-Ser199	36	94	20	80	“Non-AD” controls	22
9	P-Ser199	236	85	95	n.g.	Multicenter	86
10	P-Ser199	108	85	23	82	Two-center study	93
11	P-Thr231	27	85	31	97	“Non-AD” controls	23
12	P-Thr231	82	100	21	91		71
13	P-Thr231	108	85	23	96	Two-center study	93
14	P-Thr181 + P-Thr231	40	88	31	97		14
15	P-Thr231 + P-Ser235	36	53	20	100	“Non-AD” controls	22
16	P-Ser396+404	52	94	56	89	Cut-off P-tau > 100 pg/mL	24
Total		1084	81.3	504	91.2		

n.g. = not given.

Tableau IX : Méta-analyse sur les performances de pTau [88].

Hampel *et al.* (2004) ont comparé l'utilisation d'anticorps dirigés contre trois sites de phosphorylation différents pour le dosage de pTau (pTau₁₈₁, pTau₁₉₉ et pTau₂₃₁) dans un groupe témoin et dans un groupe de patients Alzheimer : les trois dosages ont retrouvé une nette élévation de pTau dans le groupe Alzheimer par rapport au groupe témoin, sans différence significative entre eux, suggérant que chacun de ces dosages puisse être utilisé indifféremment [106]. Les kits ELISA actuels utilisent le plus souvent la thréonine en position 181 comme épitope pour doser la protéine Tau phosphorylée (pTau₁₈₁) [105]. Le choix de cet épitope est simplement justifié par une raison analytique : il serait plus facile d'accès pour les anticorps car il est situé dans une région peu phosphorylée [107]. Ce choix peut être controversé puisqu'il s'agit d'un site de phosphorylation physiologique et donc peu spécifique de la maladie d'Alzheimer [47]. Toutefois, Tau étant hyperphosphorylée qualitativement et quantitativement au cours de la maladie d'Alzheimer, l'augmentation de la phosphorylation d'un site physiologique est compatible avec le mécanisme de formation des DNF [48]. Le dosage de pTau₁₈₁ (protéine Tau phosphorylée sur l'acide aminé 181) révèle des valeurs comprises entre 30 et 50 pg/mL chez les sujets sains et entre 75 et 100 pg/mL chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer [68]. La valeur seuil classiquement utilisée de pTau est 60 pg/mL.

La protéine Tau phosphorylée n'est pas un simple marqueur de lyse neuronale comme l'est la protéine Tau totale. Étant donné le rôle central qu'elle joue dans la formation des DNF, son dosage a permis d'améliorer le diagnostic différentiel des démences [34].

1.2.2.b. pTau dans le diagnostic différentiel

Le principal intérêt de la protéine Tau phosphorylée est sa bonne spécificité. Il semble que ce soit le marqueur le plus discriminant de la maladie d'Alzheimer par rapport aux autres démences [108]. Des valeurs normales ont été retrouvées dans toutes les pathologies suivantes : démences vasculaires, MCL et DFT, troubles psychiatriques, sclérose latérale amyotrophique, maladie de Parkinson, AVC [82].

Il a été noté des différences non significatives de sensibilité et spécificité pour différencier ces causes de démences de la maladie d'Alzheimer en fonction du site de phosphorylation de pTau : ainsi, le type pTau₁₈₁ possède la meilleure performance pour différencier la MCL de la maladie d'Alzheimer tandis que c'est le type pTau₂₃₁ qui permet le mieux de différencier les DFT de la maladie d'Alzheimer [106]. Dans tous les cas, l'apport de pTau pour différencier la maladie d'Alzheimer des autres démences, notamment les DFT et la MCL, est supérieur à la protéine Tau totale [104].

D'après Bahl *et al.* (2009), dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob, il n'y a pas de différence significative des valeurs de pTau avec la maladie d'Alzheimer : la valeur moyenne de pTau dans le groupe Creutzfeldt-Jakob est de 54 pg/mL contre 64 pg/mL dans le groupe Alzheimer. Néanmoins, cette étude ne montre pas non plus de différence significative entre le groupe Alzheimer et le groupe témoin [100].

A la différence de la protéine Tau totale, après un AVC, il n'y a pas d'élévation de pTau dans le LCR, dans les jours ou les mois qui suivent l'accident [102]. Dans la démence vasculaire, les valeurs de pTau (43 pg/mL) se situent en dessous de celles des contrôles (50,5 pg/mL) et de celles des malades d'Alzheimer (77 pg/mL). Phospho-Tau permet de discriminer la démence d'Alzheimer de la démence vasculaire avec une sensibilité de 77,8 % et une spécificité de 91,7% en utilisant un seuil à 64,5 pg/mL [103].

La protéine Tau totale étant généralement élevée dans les cas de souffrance neuronale quelque soit la cause, le rapport pTau/Tau totale apporte une précision pour identifier les tauopathies dont fait partie la maladie d'Alzheimer et la différencier des autres maladies neurodégénératives comme la maladie de Creutzfeldt-Jakob [109]. Une spécificité de 98% est obtenue en utilisant un seuil à 0,040 du *ratio* pTau/Tau totale pour différencier les malades de Creutzfeldt-Jakob (*ratio* moyen à 0,016) par rapport à des malades d'Alzheimer (*ratio* moyen à 0,13) [100].

1.2.3. Peptide β -amyloïde 1-42 ($A\beta_{42}$)

1.2.3.a. $A\beta_{42}$ dans la maladie d'Alzheimer

Le peptide $A\beta$ est le principal composant des plaques amyloïdes. Les premières études parues dosaient le peptide $A\beta$ total et les résultats étaient peu satisfaisants [44]. Il a rapidement été démontré que le peptide qui s'agrège pour former ces dépôts est l'espèce la plus hydrophobe, $A\beta_{42}$ [110]. Les dosages spécifiques ont montré une diminution des taux d' $A\beta_{42}$ d'environ 50% dans le LCR des patients Alzheimer par rapport aux sujets contrôles [82]. Cette diminution d' $A\beta_{42}$ est d'ailleurs bien corrélée, d'une part, avec la présence de nombreuses plaques amyloïdes dans le cerveau de patients observés *post mortem* [91] et, d'autre part, avec une importante fixation de composé B de Pittsburg en imagerie fonctionnelle [111].

La valeur normale d' $A\beta_{42}$ dans le LCR est de 794 pg/mL +/- 218 avec une valeur seuil pathologique en dessous de 500 pg/mL le plus souvent retenue. D'après Blennow *et al.* (2004), le dosage d' $A\beta_{42}$ seul permet de discriminer les patients Alzheimer des patients non déments avec une sensibilité de 86% et une spécificité de 89% en moyenne (*Tableau X*) [88].

TABLE 4. Performance of CSF $A\beta_{42}$ as a Biomarker for Alzheimer's Disease

Study Number	Number of AD Cases	AD Sensitivity	Number of Controls	Controls Specificity	Comment	Ref.
1	81	81	51	80		41
2	53	92	21	95	Community-based sample	49
3	150	78	100	81	Multicenter study	67
4	24	96	19	95		89
5	14	93	20	95	Numbers from graph	51
6	60	93	32	85		50
7	38	76	47	85		76
8	54	89	15	67	Numbers from graph	68
9	27	78	49	100		97
10	9	55	17	94		98
11	20	100	20	95		99
12	74	89	40	95		72
13	19	100	17	94		52
14	49	82	49	80	3-year follow-up	74
15	51	78	31	90		94
16	18	89	13	85	Moderate decrease; median	95
Total	660	85.9	541	88.5		

Tableau X : Méta-analyse sur les performances d' $A\beta_{42}$ [88].

Une étude comparant des sujets Alzheimer à des contrôles trouve les valeurs moyennes de peptide $A\beta_{42}$ suivantes : 370 pg/mL dans le groupe malade d'Alzheimer contre 865 pg/mL dans le groupe contrôle [112]. Plus d'une trentaine d'études mesurant le peptide $A\beta_{42}$ dans le LCR retrouve une diminution dans les cas de maladie d'Alzheimer par rapport aux contrôles non déments avec une sensibilité et une spécificité moyenne de plus de 85% [110].

La diminution d' $A\beta_{42}$ est corrélée à la présence de plaques amyloïdes dans lesquelles des agrégats du peptide se sont formés et serait donc le reflet de la séquestration du peptide dans les plaques amyloïdes [45]. D'autres hypothèses peuvent cependant être avancées pour expliquer cette diminution, en particulier que les anticorps utilisés dans les kits ELISA reconnaissent les monomères d' $A\beta_{42}$. Il est maintenant clairement établi que les monomères forment très rapidement, et bien avant la formation des plaques amyloïdes, des oligomères solubles, susceptibles de masquer certains épitopes reconnus par ces anticorps [45]. Cela pourrait conduire à une sous-estimation de la concentration d' $A\beta_{42}$ monomérique [113]. Des méthodes complexes et expérimentales de dosages des oligomères du peptide $A\beta$ corroborent cette hypothèse puisque toutes les études menées avec d'autres techniques capables de détecter les oligomères de peptide $A\beta$ montrent une augmentation de leurs concentrations dans le LCR des malades d'Alzheimer par rapport à des témoins non déments [45, 114, 115]. De plus, en raison de son hydrophobicité, le peptide $A\beta_{42}$ peut se fixer à d'autres molécules, comme l'apoE par exemple ou d'autres protéines chaperonnes telles que la protéine β -trace ou la cystatine C, limitant également sa reconnaissance par les anticorps. Enfin, il est possible que dans certaines conditions physiologiques ou non, $A\beta_{42}$ soit séquestré dans le compartiment intracellulaire et diffuse moins dans le LCR [110]. Toutes ces données suggèrent que la diminution du peptide $A\beta$ puisse résulter d'une interférence analytique et pas forcément d'une corrélation biopathologique.

Au cours du temps, la concentration d' $A\beta_{42}$ dans le LCR reste stable : que ce soit chez des malades Alzheimer suivis sur 2 ans ou chez des contrôles suivis sur 4 ans, il n'est pas retrouvé de variations des valeurs d' $A\beta_{42}$ [93]. Quelque soit le stade de la maladie, $A\beta_{42}$ est perturbé d'après l'étude de Stefani *et al.* (2006) : les auteurs ne notent pas de différence entre les valeurs d' $A\beta_{42}$ chez des patients Alzheimer à différents stades de sévérité de la maladie [116].

L'absence de corrélation entre $A\beta_{42}$ et le déclin cognitif au stade de démence le rend inutilisable en tant que marqueur d'évolution et de sévérité de la maladie : il semblerait que le processus pathologique d'amyloïdogenèse apparaisse très tôt dans l'évolution de la maladie

d'Alzheimer, au stade préclinique, puis se stabilise par la suite durant le stade clinique. $A\beta_{42}$ a donc un intérêt dans le diagnostic au stade prédéméntiel : l'intérêt des biomarqueurs au stade de MCI est développé dans un autre paragraphe.

1.2.3.b. $A\beta_{42}$ dans le diagnostic différentiel

Des taux normaux d' $A\beta_{42}$ sont retrouvés dans les affections psychiatriques comme la dépression et dans certaines maladies neurologiques chroniques comme la maladie de Parkinson, la paralysie supranucléaire progressive et la démence d'origine alcoolique [88, 117, 118].

Par contre, il semble délicat de discriminer les autres causes de démences à l'aide de ce marqueur seul puisque des valeurs diminuées sont observées dans la maladie d'Alzheimer mais aussi dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob [119], la MCL [98], les DFT [96], et même la démence vasculaire [117].

La MCL est une synucléinopathie au cours de laquelle des dépôts de peptides $A\beta$ sont fréquemment retrouvés dans le cerveau des patients [120]. Une diminution des valeurs de peptide $A\beta_{42}$ a été observée dans le LCR de patients souffrants de MCL (370 pg/mL) ainsi que dans le LCR de patients Alzheimer (410 pg/mL) [121]. Cette observation est confirmée par l'étude d'Andersson *et al.* (2011) qui retrouve des valeurs à 402 pg/mL chez des patients MCL et 409 pg/mL chez des patients Alzheimer [122]. L'étude de Mulugeta *et al.* (2011) ne retrouve pas de différence significative entre les valeurs d' $A\beta_{42}$ du groupe malade d'Alzheimer et du groupe MCL [123]. Ces constatations rendent difficile l'interprétation de la diminution d' $A\beta_{42}$ dans le diagnostic différentiel entre ces 2 pathologies, notamment lorsque cette diminution est isolée.

Dans les DLFT, les valeurs d' $A\beta_{42}$ restent normales. Dans l'étude de Pijnenburg *et al.* (2007), les valeurs moyennes de peptide $A\beta_{42}$ dans le LCR sont de 576 pg/mL chez des patients souffrant de DLFT, de 288 pg/mL chez des patients Alzheimer et de 629 pg/mL dans le groupe contrôle. La différence entre les 2 groupes malades est significative [124]. Les valeurs dans l'étude de Bibl *et al.* (2007) sont semblables : 700 pg/mL, 370 pg/mL et 860 pg/mL respectivement dans les groupes DLFT, Alzheimer et contrôle [96]. Dans une autre étude avec confirmation histologique cette fois, Bian *et al.* (2008) ne retrouvent pas non plus de diminution d' $A\beta_{42}$ dans les DLFT : les valeurs mesurées d' $A\beta_{42}$ sont de 532 pg/mL, 265 pg/mL et 429 pg/mL respectivement dans les groupes DLFT, Alzheimer et contrôle [97].

Une étude récente a comparé 3 groupes de malades atteints de maladie neurologiques différentes : maladie d'Alzheimer, DFT et aphasie primaire progressive. Des différences significatives entre le dosage d'A β ₄₂ sont retrouvées entre le groupe maladie d'Alzheimer (384 pg/mL) dont les valeurs sont basses et les 3 autres groupes dont les valeurs sont plus élevées : DFT (709 pg/mL), aphasie primaire progressive (754 pg/mL) et contrôle (971 pg/mL) [125].

Une diminution du peptide A β ₄₂ dans le LCR a toutefois été retrouvée dans certaines études menées sur des pathologies sans présence de plaques, comme la maladie de Creutzfeldt-Jakob [126], la sclérose latérale amyotrophique [127] l'hydrocéphalie à pression normale [128] suggérant que la présence de plaques amyloïdes dans le cerveau ne soit pas le seul facteur déterminant dans la baisse du taux de peptide A β dans le LCR [124]. D'après Mattsson *et al.* (2009), la diminution du peptide A β dans le LCR proviendrait de la réduction de la quantité d'APP et/ou de l'activité de BACE1 (-sécrétase) lié au phénomène inflammatoire locale dans les scléroses cérébrales [109]. De plus, les taux les plus faibles d'A β ₄₂ mesurés proviennent de LCR de patients souffrant de méningites bactériennes, affection sans présence de plaques amyloïdes mais avec une forte composante inflammatoire locale [129].

Par ailleurs, différentes méthodes de dosages d'A β ₄₂ retrouvent des résultats différents : les méthodes ELISA retrouvent fréquemment des valeurs plus faibles (jusqu'à 3 fois) que celles obtenues avec méthodes utilisant un pré-traitement analytique dénaturant [130].

1.2.4 Performances des tests et profil type du patient Alzheimer

Le profil type du patient Alzheimer associe un taux diminué de peptide A β ₄₂ et des valeurs élevées de Tau totale et de pTau. L'évolution des marqueurs dans les autres cas est résumée dans le tableau suivant (*Tableau XI*).

Atteinte neurologique	Tau total	Phospho-tau	Aβ ₄₂
Maladie d'Alzheimer	↗ modérée à forte	↗ modérée à forte	↘ modérée à forte
Vieillessement normal	Normal	Normal	Normal
Dépression	Normal	Normal	Normal
Démence alcoolique	Normal	Normal	Normal
Maladie de Parkinson	Normal	Normal	Normal
Creutzfeldt-Jacob	↗ très forte	Normal	Normal à ↘ modérée
		↗ faible dans quelques cas	
Démence frontotemporale	Normal à ↗ faible	Normal	↘ faible à modérée
Démence à corps de Lewy	Normal à ↗ faible	Normal à ↗ faible	↘ modérée
Démence vasculaire	Données discordantes	Normal	↘ faible à modérée
Accident vasculaire cérébral	↗ faible à très forte en fonction de la taille de la zone touchée	Normal	Normal

Tableau XI : Résumé de la spécificité des marqueurs de la maladie d'Alzheimer dans le LCR.

Chacun de ces marqueurs pris individuellement présente une sensibilité et une spécificité de plus de 80% pour détecter la maladie d'Alzheimer par rapport à des sujets non déments [82, 88, 110]. La performance de ces tests ne semble donc pas très supérieure aux différents tests cliniques (sensibilité moyenne de 81% et spécificité de l'ordre de 70%) [55].

Afin d'améliorer les performances, tant du point de vue spécificité que précocité, la combinaison de marqueurs a été proposée [68]. De plus, la combinaison des marqueurs amyloïdes (peptide Aβ) et de s marqueurs de DNF (protéine Tau) reflète les 2 processus pathologiques spécifiques de la maladie d'Alzheimer : amyloïdogenèse et DNF.

La combinaison de la protéine Tau et du peptide Aβ₄₂ permet de gagner en spécificité. Le *ratio* Tau/Aβ₄₂ est significativement plus élevé chez les malades d'Alzheimer par rapport à des patients contrôles mais également par rapport à des patients déments non Alzheimer (DFT, MCL et démences mixtes). Ceci a été confirmé par diagnostic histologique par Smach *et al.* (2007) [131]. Dans l'étude de Bian *et al.* (2008), avec confirmation anatomopathologique, le *ratio* Tau/Aβ₄₂ est de 2,22 dans le groupe Alzheimer contre 0,52 dans le groupe DFT et 0,74 dans le groupe contrôle [97]. En utilisant un seuil à 0,87, le *ratio* Tau/Aβ₄₂ permet de différencier les malades d'Alzheimer des contrôles mais également des déments non Alzheimer avec une sensibilité de 85,3% et une spécificité de 84,8% [132].

Si la combinaison de ces 2 marqueurs permet de gagner en spécificité, ce n'est pas encore suffisant pour son utilisation seule dans le diagnostic différentiel des démences [94].

L'index le plus utilisé est le IATI (*Innotest Amyloid Tau Index*). Sa formule complexe est la suivante : $IATI = A\beta_{42} / (240 + 1,18 \times \text{Tau})$ et fait donc intervenir Aβ₄₂ et Tau totale. Le IATI est considéré comme pathologique s'il est inférieur à 1. Il peut être représenté sur un graphique comme celui-ci-dessous (*Figure 12*).

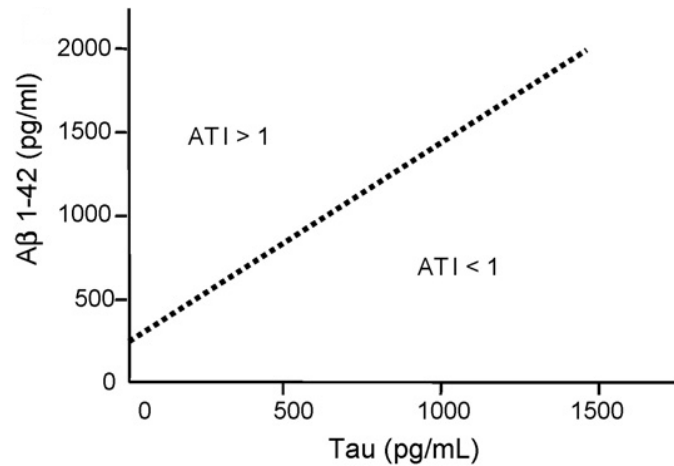


Figure 12 : Représentation du IATI (index incluant $A\beta_{42}$ et Tau totale).

Lorsque le IATI est inférieur à 1 (sous la ligne en pointillée), il est en faveur du diagnostic de maladie d’Alzheimer.

Il est également possible de combiner les 3 marqueurs en confrontant le résultat du IATI avec la valeur de pTau (*Figure 13*). On obtient un graphique composé de 4 zones [105] :

- la 1^{ère} zone (1) dans laquelle le IATI est normal (>1) ainsi que pTau (<60 pg/mL) correspond aux patients présentant un profil biologique de LCR normal.
- la 2^{ème} zone (2) dans laquelle le IATI est pathologique (<1) et pTau est élevée (>60 pg/mL) correspond classiquement au profil biologique d’un malade d’Alzheimer.
- les 3^{ème} et 4^{ème} zones (3 et 4) correspondent aux résultats discordants : un IATI pathologique (<1) mais une pTau non augmentée (<60 pg/mL) ou un IATI normal (>1) associé à une pTau pathologique (>60 pg/mL) ce qui correspond aux autres causes de démences ou des malades d’Alzheimer au profil atypique et non concluant biologiquement.

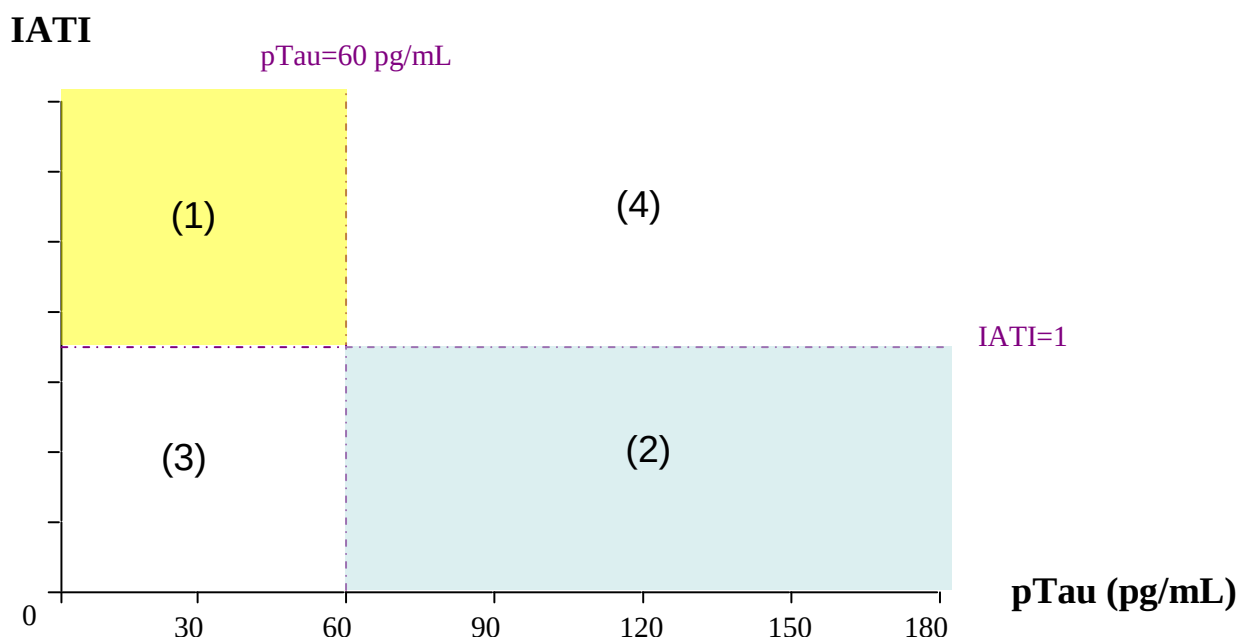


Figure 13 : Représentation du IATI en fonction de pTau.

Une autre combinaison associant $A\beta_{42}$ et pTau a été proposée par Maddalena *et al.* (2003) : le *ratio* $pTau/A\beta_{42}$ dans le LCR est plus performant que chacun des biomarqueurs pris séparément pour discriminer les patients Alzheimer : les valeurs du *ratio* sont élevées dans le groupe Alzheimer (0,147), tandis qu'elles sont plus faibles dans le groupe des sujets normaux (0,039) mais également dans le groupe des démences non Alzheimer (0,074) et des autres pathologies neurologiques (0,048) [132]. D'après Tapiola *et al.* (2009), le *ratio* $pTau/A\beta_{42}$ reflète la présence de lésions neuropathologiques (plaques séniles) dans le cerveau des patients confirmées par examen anatomopathologique : les valeurs supérieures à 0,0867 permettent de détecter les patients présentant ce type de lésions avec une sensibilité de 91,6% et une spécificité de 85,7% [91].

Le *ratio* inverse, c'est-à-dire $A\beta_{42}/pTau$ permet une autre représentation graphique des biomarqueurs avec $A\beta_{42}/pTau$ en ordonné et Tau totale en abscisse (Figure 14).

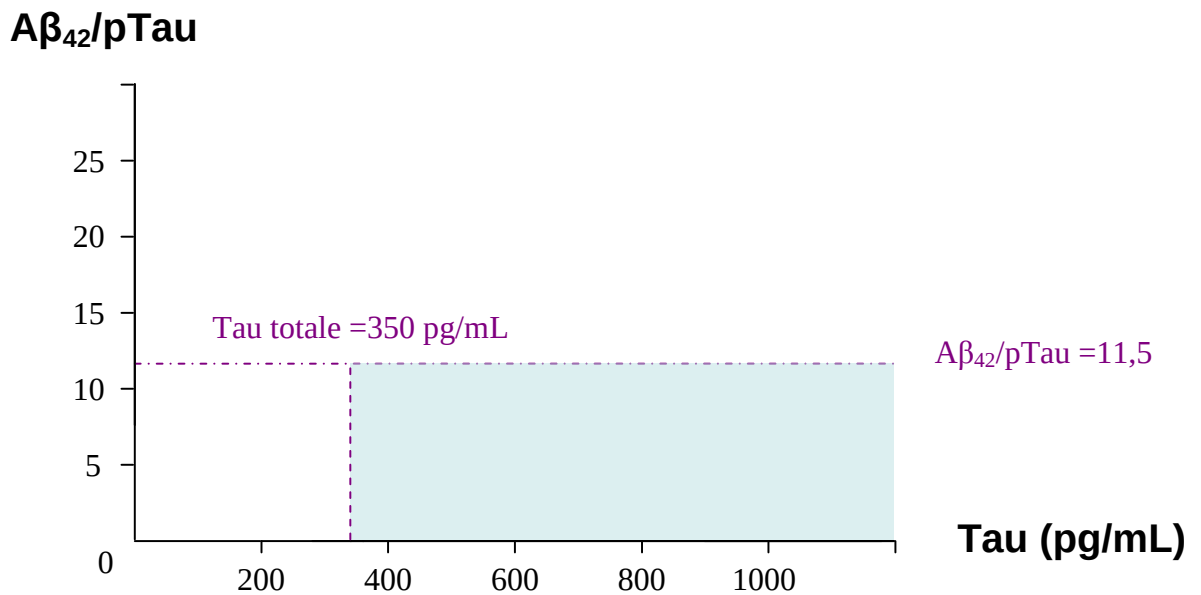


Figure 14 : Représentation du ratio $A\beta_{42}/pTau$ en fonction de Tau totale.

Le profil type d'un malade Alzheimer se situe dans la zone bleue : $ratio\ A\beta_{42}/pTau < 11,5$ (correspondant au $ratio\ pTau/A\beta_{42} > 0,0867$) associé à $Tau > 350\ pg/mL$.

A l'heure actuelle, le dosage des 3 biomarqueurs du LCR se généralise dans les centres mémoires de ressources et de recherches (CM2R). Ils sont d'ailleurs proposés dans les nouveaux critères diagnostiques de la maladie d'Alzheimer [35]. Toutefois, ils ne doivent absolument pas être interprétés de façon isolée : leur utilisation en routine repose sur leur intégration dans le bilan englobant la clinique, la neuropsychologie et l'imagerie.

Pour conclure, une étude hollandaise a évalué l'intérêt des biomarqueurs chez des patients présentant des troubles mnésiques dans un centre mémoire local des Pays-Bas. Le diagnostic biologique établi par les 3 dosages dans le LCR (Tau, pTau et $A\beta_{42}$) a été comparé avec le diagnostic établi par la démarche classique incluant un examen clinique, une évaluation neuropsychologique et une imagerie cérébrale. Le profil du LCR correspond dans 69% des cas avec le diagnostic clinique. Après avoir pris connaissance des résultats biologiques, 10% des diagnostics ont été modifiés et le niveau de confiance des cliniciens dans leur diagnostic est globalement renforcé, quelque soit le diagnostic retenu, dans près d'un tiers des cas. Bien que l'étude présente de nombreux biais et que le niveau de confiance d'un clinicien en son diagnostic est très subjectif, cette étude montre que les biomarqueurs sont un outil essentiel dans la démarche diagnostique d'un patient présentant des troubles de la mémoire [133].

1.2.5. Biomarqueurs et MCI

Un intérêt potentiel des biomarqueurs réside dans la prédiction de l'évolution des patients MCI. Environ 10 à 15% des sujets au stade MCI amnésique évoluent vers une maladie d'Alzheimer chaque année [134]. Un des enjeux actuels des marqueurs biologiques serait d'apporter des éléments prédictifs de cette conversion afin d'améliorer la prise en charge des patients. Les biomarqueurs dans le LCR ont donc été étudiés dans cette optique.

La littérature décrit, comme dans la maladie d'Alzheimer au stade démentiel, des altérations des 3 biomarqueurs dès le stade MCI : il est retrouvé une diminution des valeurs d' $A\beta_{42}$ et une augmentation des valeurs de Tau et pTau en comparaison à des sujets contrôles [32, 135].

L'étude de Hampel *et al.* (2004) retrouve des valeurs significativement différentes d' $A\beta_{42}$ et de Tau totale dans les groupes Alzheimer, MCI et contrôle : $A\beta_{42}$ (962 pg/mL, 678 pg/mL et 545 pg/mL respectivement dans les groupes contrôle, MCI et Alzheimer) et Tau totale (341 pg/mL, 611 pg/mL, 721 pg/mL respectivement dans les groupes contrôle, MCI et Alzheimer) [136].

D'après une étude italienne, chez des patients MCI, il est possible de prédire l'évolution en maladie d'Alzheimer à 1 an lorsque 2 marqueurs sur les 3 sont pathologiques avec une sensibilité de 82% et une spécificité de 97% : sur 11 patients MCI ayant converti en maladie d'Alzheimer, 10 avaient au moins 2 biomarqueurs pathologiques (tous présentaient une pTau élevée) tandis que 29 des 33 patients MCI qui n'ont pas converti présentaient au maximum 1 biomarqueur pathologique [137].

Dans une autre étude ayant suivi 137 patients MCI sur 5 ans, l'association d'une augmentation de Tau totale supérieure à 350 ng/mL et d'un *ratio* $A\beta_{42}/pTau_{181}$ inférieur à 6,5 permet de prédire la conversion en maladie d'Alzheimer à 5 ans avec une sensibilité de 95% et une spécificité de 87% [138]. L'incidence de la maladie d'Alzheimer chez les patients MCI ayant un profil pathologique est de 27% par an contre seulement 1% chez ceux ayant un profil normal. Par ailleurs, les auteurs n'ont pas mis en évidence de corrélation entre le délai de la conversion et les concentrations des biomarqueurs. Ceci corrobore le fait que les mécanismes entraînant les modifications des concentrations des biomarqueurs dans le LCR sont un événement précoce dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer et que les

biomarqueurs, perturbés très tôt, se stabilisent ensuite, ne permettant pas de suivre la progression de la maladie ni sa sévérité.

Une étude multicentrique menée par Mattsson *et al.* (2009) montre que le risque relatif de développer une maladie d'Alzheimer dans les 2 ans suivants le dosage chez un patient MCI lorsque le profil des biomarqueurs est pathologique est de 5,2. La spécificité des biomarqueurs dans la conversion de patients MCI vers une maladie d'Alzheimer par rapport à la conversion vers d'autres démences (démence vasculaire, MCL, DFT ou autres) varie entre 57% et 86% en fonction des différents diagnostics [139].

Ces études ont principalement recruté des patients MCI de type amnésique, c'est-à-dire les patients ayant la plus forte incidence de conversion vers une maladie d'Alzheimer. Une étude a comparé les dosages des biomarqueurs sur des patients MCI amnésiques mais également des patients MCI non amnésiques et sur des patients dits SCI (Subjective Cognitive Impairment) se plaignant de troubles cognitifs non objectivés par les tests neuropsychologiques sur une période de 3 ans. La conclusion des auteurs est que l'altération des biomarqueurs dans le LCR des patients MCI amnésiques mais également MCI non amnésiques est associé au déclin cognitif. De plus, les patients MCI amnésiques, non amnésiques et SCI dont l'état cognitif s'est amélioré avaient tous un profil normal [140]. Le terme de MCI ne préjugant pas de l'origine des troubles cognitifs, il est fort possible que ces patients présentaient initialement des pathologies réversibles, probablement de type dépression, ne perturbant pas les biomarqueurs.

Non seulement, les biomarqueurs prédisent la conversion au stade démentiel mais ils apportent également une information sur la quantification du déclin cognitif à venir chez les patients dès le stade prédémentiel : ainsi, Snider *et al.* (2009) affirment que le taux d'A β_{42} et le *ratio* Tau/A β_{42} sont directement associés à un déclin cognitif important, mesurable par le score CDR-SB (le Clinical Dementia Rating est un score évaluant la sévérité de la démence quelque soit son étiologie) [141]. La diminution du peptide A β_{42} , reflétant les changements dans l'homéostasie cérébrale du peptide A β , précède de plusieurs années le déclin cognitif : ceci est confirmé par la corrélation décrite entre la présence de dépôts amyloïdes dans le cerveau chez des patients sains sur le plan cognitif et les taux de peptide A β_{42} [111].

L'étude de Fagan *et al.* (2007) a par ailleurs évalué le potentiel des biomarqueurs à prédire le risque d'apparition d'une maladie d'Alzheimer dans une population de sujets sains, sans troubles cognitifs (CDR=0), âgés de plus de 60 ans : l'analyse des biomarqueurs chez les sujets ayant développé une démence lors du suivi (CDR > 0) révèle que les *ratios* Tau/A β_{42}

et pTau/A β_{42} prédisent cette conversion. Des valeurs du *ratio* Tau/A β_{42} > 1,15 sont associées à une détérioration cognitive rapide contrairement aux valeurs < 1,15 ; de même pour le *ratio* pTau/A β_{42} avec les valeurs > 0,214 [142].

Plusieurs études ont avancé que le peptide A β_{42} serait le marqueur le plus précocément perturbé. Dans l'étude de Stefani *et al.* (2006), les patients au stade de maladie d'Alzheimer débutante présentent déjà une baisse significative d'A β_{42} (336 pg/mL) par rapport aux sujets contrôles (867 pg/mL) ; en parallèle, l'augmentation de la protéine Tau n'est que très légère à ce stade de la maladie (269 pg/mL). A contrario, avec la progression de la maladie, les valeurs d'A β_{42} se stabilisent tandis que celles de Tau augmentent parallèlement [116]. Gustafson *et al.* (2007) ont montré qu'A β_{42} seul dans le LCR pourrait être utilisé comme indicateur prédictif du déclin cognitif chez des personnes âgées aux fonctions cognitives normales. Les sujets ayant une perte de moins de 5 points au MMSE ont des valeurs d'A β_{42} significativement plus élevées (880,1 pg/mL) que ceux ayant une perte de plus de 5 points (633,5 pg/mL) [143].

L'ensemble de ces informations prouve que les marqueurs biologiques représentent une aide précieuse pour classer les patients dès le stade MCI. L'apport des biomarqueurs dans ce contexte est une avancée majeure dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer ; un problème se profile toutefois à l'horizon : détecter le risque de conversion vers une maladie d'Alzheimer chez un sujet MCI voire un sujet sain soulève un ensemble de questionnements éthiques en l'absence de thérapeutique curative de la maladie d'Alzheimer. Il reste cependant indispensable d'être prêt à proposer des marqueurs efficaces et pertinents pour évaluer l'impact des nouvelles molécules en développement.

1. 3. Biomarqueurs et essais cliniques

L'intérêt des biomarqueurs ne se limite pas seulement au diagnostic clinique individuel de routine. Ils ont également leur place dans les essais cliniques en tant que marqueurs de suivi de réponses aux interventions thérapeutiques [144].

L'amélioration de la sélection des patients dans les essais cliniques est également un enjeu majeur. Le diagnostic de maladie d'Alzheimer reposant essentiellement sur des critères cliniques (NINCDS-ADRDA), il est établi que ces critères manquent de spécificité, surtout dans les formes précoces [55]. Les nombreuses recherches récentes sur les biomarqueurs ont montré un gain de performance dans le diagnostic autant au niveau biologique avec le dosage

des peptides amyloïdes et de la protéine Tau qu'au niveau de l'imagerie avec l'IRM, le Pet-scan et la scintigraphie [145].

Les biomarqueurs apportent une aide précieuse pour la stratification des patients Alzheimer et leur utilisation en complément des marqueurs cliniques, neuropsychologiques et radiologiques diminue les biais de recrutement.

Dans le but de sélectionner des patients MCI ayant une forte probabilité de convertir en maladie d'Alzheimer, l'utilisation des biomarqueurs améliore la puissance statistique de l'étude en ciblant mieux la population de départ puisqu'ils font parties des outils diagnostiques les plus prédictifs du déclin cognitif dans cette population comme on l'a vu dans le paragraphe précédent.

Même si actuellement, les marqueurs biologiques disponibles ne sont pas modulés par les molécules en développement et ne peuvent servir à mesurer leur efficacité potentielle, cette utilisation reste une perspective intéressante car ils représentent un moyen robuste et quantifiable de valider l'activité des traitements. On peut par exemple envisager qu'ils puissent être utilisés à moyen terme pour évaluer les nouvelles molécules ciblant la cascade amyloïde ou la protéine Tau.

La place des différents biomarqueurs dans les essais cliniques est résumée dans le tableau suivant (*Tableau XII*).

Type de biomarqueur		Diagnostic	Enrichissement de population	Stratification	Évaluation de l'effet	Mécanisme d'action
Bio-LCR	Aβ (40+42)	+++	?	+	+	+++
	Tau totale	++	?	-	+	++
	pTau	++	++	+	+	+++
	IATI	+++	?	?	+	+++
	BACE 1	+		-	?	+++
Bio-plasma	Aβ (40+42)	-	+	-	+	++
Bio-autres	Inflammatoires	-	-	-	-	+
	Vasculaires	-	-	-	-	+
Génétiques	Statut ApoE	-	+++	+++	-	+
	Kits et set de gènes	-	-	-	-	+
Imagerie	PET (charge amyloïde)	+++	+++	++	++	+++
	FDG-PET	++	++	++	+++	+
	fIRM	-	-	-	+	-
	SPECT	+	-	-	+	-
	IRM morphologique	++	+	++	+++ (+tolérance)	-
Neurophysiologie	EEG / Potentiels évoqués	-	+	+	?	-
Cognitif	Sd amnésique hippocampique	+++	+++	+	++	-

Tableau XII : Place des différents biomarqueurs dans les essais cliniques [146].

Un consensus a déterminé quels biomarqueurs sont à utiliser en fonction de l'essai clinique au stade précoce de la maladie d'Alzheimer (*Tableau XIII*).

	Biomarqueur diagnostique	Biomarqueur d'évaluation	Biomarqueur du mécanisme (molécule dépendant)
1ère intention	IRM + LCR	FDG	LCR + plasma
2 ^{ème} intention	IRM + imagerie amyloïde	IRMv	Imagerie amyloïde
3 ^{ème} intention	IRM + FDG		

Tableau XIII : Biomarqueurs à utiliser en fonction de l'essai clinique au stade précoce de la maladie d'Alzheimer [146].

Comme le montrent les tableaux XII et XIII, l'apport des biomarqueurs dans les essais cliniques se situe principalement au moment du diagnostic afin d'améliorer le recrutement des patients dans les études mais également au moment d'évaluer l'intérêt potentiel des différentes molécules à l'essai dont les mécanismes d'actions font intervenir les marqueurs [146].

Les principales recommandations pour l'utilisation des biomarqueurs dans les futurs essais cliniques sont les suivantes [144] :

- standardiser les aspects techniques de prélèvement, de conservation et de mesure chez l'animal et chez l'homme et valider les performances de chaque marqueur
- éviter l'utilisation d'un marqueur unique comme critère décisionnel dans un essai
- lorsqu'un biomarqueur est directement lié au mécanisme thérapeutique d'une molécule à l'essai, il peut être utilisé pour décider de la poursuite ou non de l'essai ; dans les autres cas, le biomarqueur n'est qu'un indicateur
- n'utiliser que les biomarqueurs validés actuellement : tous les nouveaux marqueurs ne peuvent être utilisés tant qu'ils n'ont pas été suffisamment étudiés et validés chez l'homme

L'apport réel des biomarqueurs dans les essais cliniques sera connu à la fin des études actuelles et futures. D'un point de vue du diagnostic initial des patients, il ne fait aucun doute que l'apport des biomarqueurs en plus des critères cliniques et/ou radiologiques est réel, notamment pour les recrutements aux phases prodromale et prédementielle [147]. Par contre, il est évident qu'une molécule n'entraînant qu'une modification de marqueurs sans bénéfice sur le plan clinique serait une déception, aussi bien pour l'intérêt thérapeutique de cette molécule que pour l'intérêt des biomarqueurs dans les essais cliniques.

1. 4. Limites de ces biomarqueurs

L'interprétation précise de ce bilan biologique nécessite de connaître les limites des biomarqueurs utilisés, aussi bien sur le plan analytique que sur le plan de la corrélation clinico-biologique [148].

Tout d'abord, il est important de préciser que la majorité des études sur le sujet catégorise les patients sur un diagnostic probabiliste de maladie d'Alzheimer utilisant des critères cliniques et paracliniques : le diagnostic de certitude, nécessitant une étude histologique, est donc rarement posé. De plus, les démences ne sont pas toujours des entités pures : des lésions neuropathologiques de maladie d'Alzheimer et de MCL sont souvent présentes simultanément dans le cerveau ainsi que des lésions de démence vasculaire. De même, les sujets considérés comme non déments dans les essais cliniques peuvent ne présenter aucun symptôme démentiel mais avoir d'ores et déjà des lésions neuropathologiques sous-jacentes [117].

Des biais de recrutement ne peuvent donc être exclus : les corrélations entre le diagnostic clinique et autopsique de la maladie d'Alzheimer varient de 67 à 90% selon les centres [149]. Des études sont en cours actuellement, mais les résultats ne seront connus que lorsque les patients ayant bénéficié d'une ponction lombaire décèderont et que leurs cerveaux pourront être observés. Une étude belge a tout de même comparé les performances du diagnostic clinique et du diagnostic biologique après confirmation anatomopathologique *postmortem*. La population de l'étude comprenait des patients Alzheimer, des patients déments non Alzheimer et des contrôles : la conclusion est l'absence de différence significative entre les 2 démarches : 81,6% des diagnostics cliniques sont exacts contre 82,7% des diagnostics biologiques [150].

Il faut noter également les difficultés techniques du dosage et notamment l'importance de l'étape préanalytique : du prélèvement au stockage des échantillons, différents facteurs peuvent influencer la fiabilité analytique du dosage des biomarqueurs [151]. A titre d'exemple, les facteurs influençant le dosage du peptide A β et les recommandations qui en découlent sont représentés dans le tableau suivant (*Tableau XIV*).

Facteurs influençant	Explications	Recommandations
Il existe un gradient des taux d'A β entre les ventricules et la moelle épinière	Le taux d'A β dans le LCR est 50% plus faible au niveau ventriculaire par rapport au niveau lombaire	Prélever un volume constant de LCR (10-12mL), bien homogénéiser et préciser la localisation
A β s'adsorbe sur les parois des tubes	Le taux d'A β diminue rapidement si le LCR est prélevé dans un tube plastique classique	Le LCR doit être prélevé dans un tube en polypropylène
A β ne se conserve pas bien à température ambiante	Une diminution de 20% du taux d'A β est observée lorsqu'il est conservé à 4°C ou à 18°C pendant 2 jours	Les échantillons doivent être stockés congelés à -80°C
A β est sensible à la congélation/décongélation	Plusieurs cycles de congélation/décongélation entraînent une diminution d'A β de 20%	Aliquoter plusieurs volumes faibles d'échantillon et décongeler aliquote par aliquote
Un prélèvement hémorragique interfère sur le dosage	Le dosage d'A β est altéré par la liaison avec différentes protéines plasmatiques	Eviter les prélèvements hémorragiques, centrifuger et aliquoter rapidement
Le taux d'A β varie dans le nyctémère	Il existe des variations en fonction du moment du prélèvement de 1,5 à 4 fois	Réaliser la ponction lombaire au même moment de la journée
A β est sensible à l'oxydation	Il existe une oxydation d'A β dépendante du temps de l'exposition à l'air	Eviter au maximum l'exposition à l'air de l'échantillon

Tableau XIV : Facteurs influençant le dosage du peptide A β et les recommandations qui en découlent [44].

La présence d'un gradient de concentration du peptide A β le long de la moelle épinière nécessite que le prélèvement soit réalisé au même endroit pour tous les patients : PL en L3-L4 ou L4-L5. Une hypothèse proposée pour expliquer ce phénomène serait qu'au cours de la maladie d'Alzheimer, l'atrophie cérébrale qui s'installe tend à élargir le volume ventriculaire et

pourrait créer un effet de dilution sur certaine protéine au niveau ventriculaire avec la création d'un gradient ventriculolombaire [128].

Une autre limite de ces biomarqueurs est l'absence de normes universelles reconnues ainsi que de contrôles standardisés : chaque laboratoire doit établir ses propres normes et seuils. De plus, des résultats différents sont retrouvés dans les études en fonction des centres, même lorsqu'ils utilisent la même technique ELISA : ainsi 2 études utilisant la même technique ELISA ont une variation de 354% des valeurs moyenne de Tau totale dans leur groupe contrôle respectif (106 pg/mL contre 375 pg/mL) [117]. Il est possible que cette différence provienne du recrutement des sujets contrôles non déments mais présentant des lésions infracliniques et donc des biomarqueurs déjà perturbés. Toujours est-il qu'il est difficile d'expliquer ces différences impressionnantes qui peuvent provenir de n'importe quelle étape du processus. Il est clair qu'une harmonisation des pratiques est nécessaire entre les centres. Un programme multicentrique international a réalisé récemment les dosages des 3 biomarqueurs standard par différents laboratoires sur les mêmes échantillons poolés et considérés comme un contrôle qualité ; les résultats de la 1^{ère} étape sont parues : les coefficients de variations entre les différents laboratoires varient de 13 à 36%. Dans cette étude, la phase pré-analytique étant bien contrôlée, il semble s'agir réellement d'un problème analytique pur [152].

Les observations des perturbations des biomarqueurs au cours de la maladie d'Alzheimer sont nombreuses et bien documentées. Néanmoins, les mécanismes ne sont toujours pas clairement compris. L'hypothèse expliquant que la réduction de la concentration d'A β ₄₂ dans le LCR soit corrélée à sa séquestration dans les plaques amyloïdes sous formes d'oligomères est séduisante mais elle n'explique pas tout et notamment pas qu'une réduction de ce peptide soit également décrite dans des pathologies en l'absence de plaque comme l'hydrocéphalie à pression normale [128] ou les méningites bactériennes [129]. Les perturbations observées sont certainement de mécanismes multiples et des études complémentaires sont encore nécessaires pour les identifier correctement.

Enfin, le problème majeur des biomarqueurs provient du fait que le seul dosage ne permet pas toujours de faire le diagnostic différentiel avec les autres causes de démences, principalement dégénératives. Même combinés et quelle que soit la formule choisie, il arrive que les biomarqueurs ne soient pas interprétables car discordants.

Les limites des biomarqueurs standards ont ouvert la voie à l'étude d'autres marqueurs biologiques susceptibles d'apporter de nouvelles solutions. L'utilisation d'autres biomarqueurs mais aussi des données cliniques, neuropsychologiques et radiologiques peuvent apporter des informations supplémentaires permettant d'améliorer les performances diagnostiques.

1. 5. Les autres marqueurs du LCR

Les 3 principaux biomarqueurs sont désormais précieux dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer. Pourtant, ils ne permettent pas toujours de conclure. Cette situation n'est pas si rare, c'est pourquoi d'autres marqueurs sont à l'étude.

1.5.1. Peptide β -amyloïde 1-40 ($A\beta_{40}$)

La maturation de la protéine APP aboutit à la formation de peptide $A\beta$ dont la forme majoritaire est le peptide $A\beta_{40}$. Le peptide $A\beta_{42}$ (environ 10% du peptide $A\beta$ total) est hydrophobe étant le principal constituant des plaques amyloïdes [153].

Par spectrométrie de masse, 3 formes majoritaires de peptide $A\beta$ sont retrouvées dans le LCR : $A\beta_{40}$, $A\beta_{38}$ et $A\beta_{42}$ comme le montre le graphe ci-dessous (*Figure 15*).

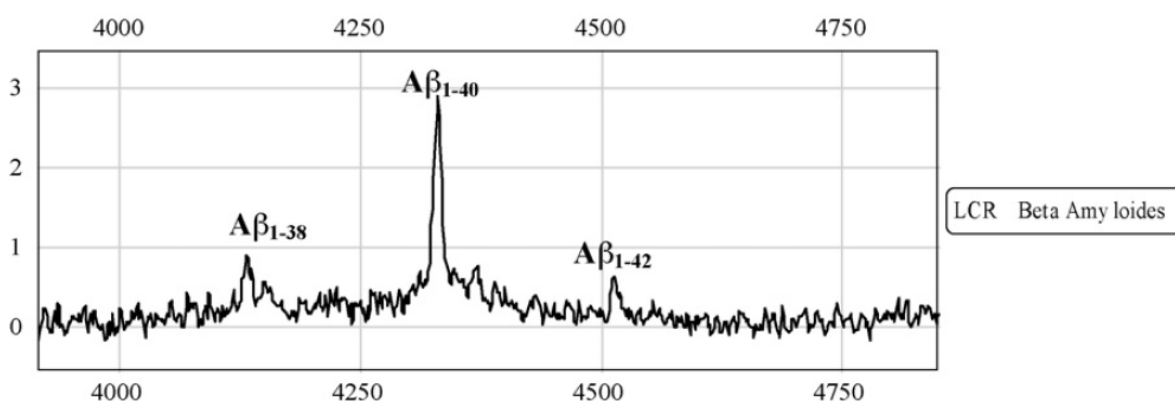


Figure 15: Formes majoritaires de peptide $A\beta$ caractérisées par spectrométrie de masse [68].

Le peptide $A\beta_{40}$, largement prédominant dans le cerveau et le LCR, est considéré comme étant le reflet de la charge globale en peptid β dans le cerveau. Wiltfang *et al.* (2007) ont établi que les concentrations d' $A\beta_{40}$ des patients suivent une distribution de type gaussienne. Dans son étude, la concentration moyenne est de 9426 pg/mL et les sujets peuvent être classés en fonction de leur charge amyloïde forte (supérieure à 12 139 pg/mL) ou faible (inférieure à 6 713 pg/mL) (*Figure 16*) [154].

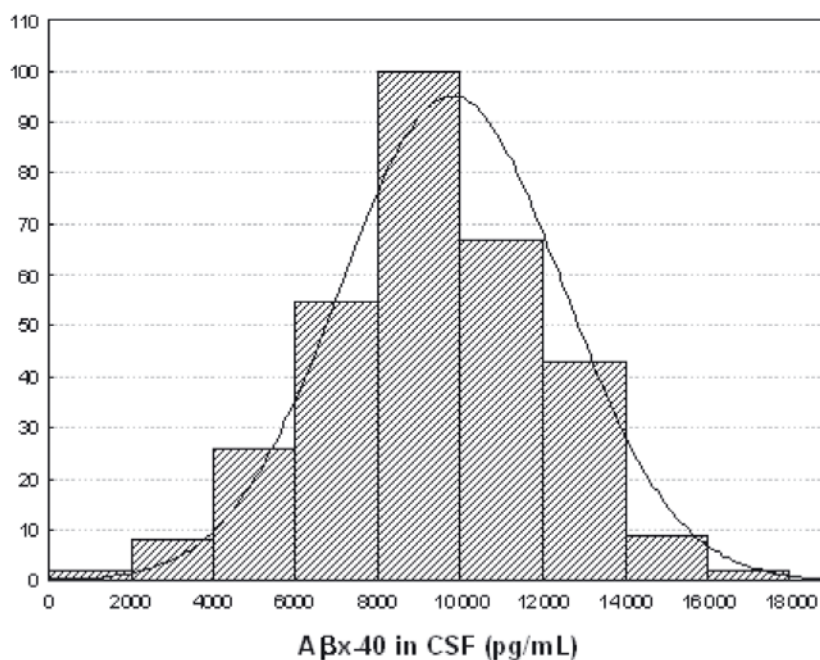


Figure 16 : Répartition des valeurs d' $A\beta_{40}$ dans le LCR, reflet de la charge amyloïde totale dans une population [154].

A l'inverse du peptide $A\beta_{42}$, le taux de peptide $A\beta_{40}$ dans le LCR ne varie pas ou augmente très faiblement au cours de la maladie d'Alzheimer [44, 88, 112, 155, 156, 157]. L'étude de Bibl *et al.* (2007) retrouve des valeurs moyennes de peptide $A\beta_{40}$ semblables chez des patients non déments (8 420 pg/mL), des patients Alzheimer (8 270 pg/mL) et des patients atteints de DFT (8 670 pg/mL) [96].

Dans les DLFT, plusieurs études notent des valeurs d' $A\beta_{40}$ plus faibles que dans les groupes contrôles ainsi que dans d'autres pathologies comprenant la maladie d'Alzheimer ou d'autres pathologies neurologiques [124, 125, 158].

Dans l'étude de Kester *et al.* (2011), les taux d' $A\beta_{40}$ s'élèvent avec le temps chez des patients non déments (+ 610 pg/mL/an), Alzheimer (+ 430 pg/mL/an) et MCI (+ 280 pg/mL/an) [159]. A l'inverse, une étude utilisant comme modèles animaux des chiens note que, malgré l'élévation de la charge en peptide $A\beta$ dans le cerveau des animaux avec l'âge,

les valeurs de peptide $A\beta_{40}$ dans le LCR restent stables contrairement aux taux de peptide $A\beta_{42}$ qui lui diminuent [160].

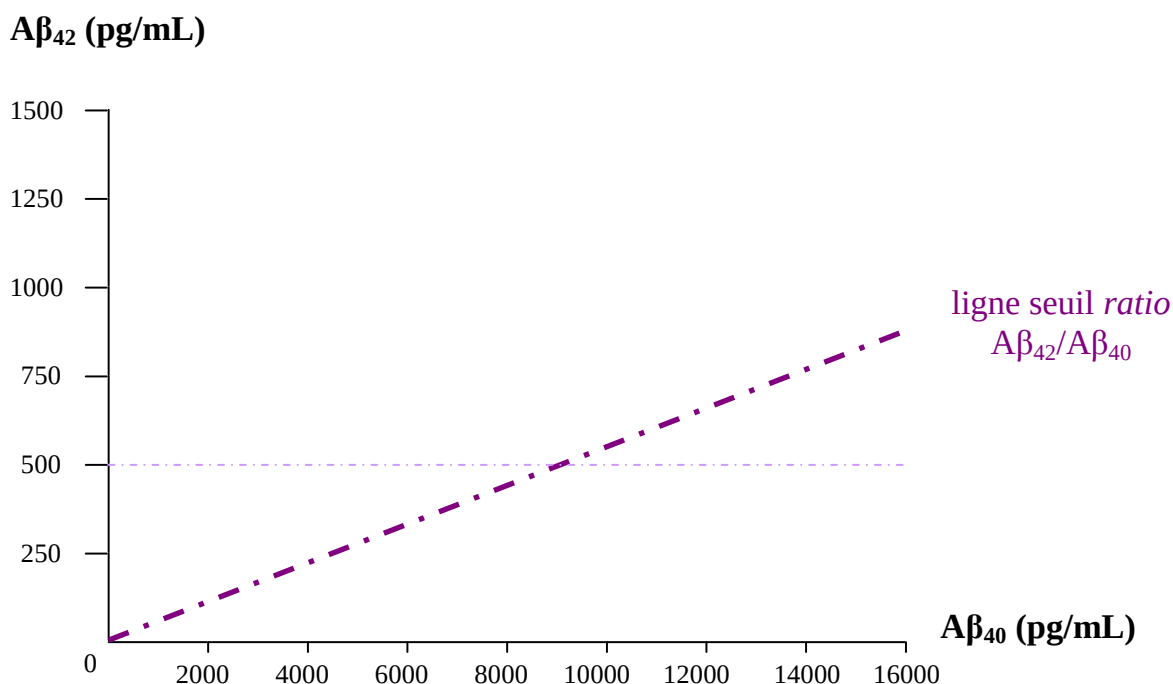
Certains auteurs suggèrent que le taux de peptide $A\beta_{42}$ dans le LCR ne soit pas suffisant et qu'il soit nécessaire de le rapporter à la charge amyloïde globale en utilisant le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ pour différencier les malades d'Alzheimer des sujets sains et des autres démences. En effet, on retrouve chez les patients ayant une charge amyloïde faible des taux de peptide $A\beta_{42}$ qui pourraient paraître faussement diminués [161, 162].

Des études ont donc évalué l'intérêt de ce *ratio* dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer. Les résultats de l'étude menée par Lewczuk *et al.* (2004) montrent que l'utilisation du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ pour discriminer des sujets non déments de sujets Alzheimer n'est pas significativement plus discriminante que le dosage d' $A\beta_{42}$ seul, même si sa spécificité est légèrement supérieure à celle du peptide $A\beta_{42}$ seul (94% vs 86,7%) [112]. En utilisant un seuil à 0,0975, le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ permet un diagnostic pertinent pour 90,8% des patients Alzheimer (*ratio* inférieur au seuil) par rapport à des patients sains contre 87% pour $A\beta_{42}$ seul [112].

En outre, plusieurs autres études ont montré que ce *ratio* pourrait présenter un intérêt réel dans le diagnostic différentiel des démences en améliorant la discrimination entre les patients Alzheimer et ceux atteints de démences non Alzheimer. Spies *et al.* (2010) observent une différence significative du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ entre le groupe Alzheimer (0,12) et les autres démences : DFT (0,23), MCL (0,18), démence vasculaire (0,23) et contrôle (0,21) [163]. D'autres études confirment ces résultats. Pour Bibl *et al.* (2011), la conclusion est la même puisqu'il y a une différence significative des valeurs du *ratio* entre le groupe non déments (0,158), le groupe DFT (0,158), le groupe aphasie primaire progressive (0,148) et le groupe Alzheimer (0,064) [125]. Pijnenburg *et al.* (2007) observent quant à eux une diminution du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ chez les sujets Alzheimer (0,017) par rapport aux sujets contrôles (0,035) ou atteints de DFT (0,057) [124].

Ces études s'accordent donc sur le fait qu'il existe une diminution du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ dans la maladie d'Alzheimer mais les valeurs retrouvées sont différentes entre les études ; $A\beta_{40}$ étant dosé dans le cadre de la recherche, les dosages ne sont pas encore standardisés entre les centres. Chaque laboratoire doit évaluer ses propres valeurs seuils qui ne sont pas forcément comparable entre les centres. De plus, nous avons vu précédemment qu'il existe de grande variabilité inter-laboratoires dans le dosage d' $A\beta_{42}$.

L'intérêt du dosage d' $A\beta_{40}$ est d'ajuster la variation interindividuelle de la charge amyloïde totale et de conclure grâce au *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ si le taux de peptide $A\beta_{42}$ est réellement diminué ou s'il est simplement corrélé à la quantité de peptide amyloïde produite [154]. Il est possible de représenter ce *ratio* sur un graphe : la ligne seuil du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ sépare les patients ayant une réelle diminution du peptide $A\beta_{42}$ (en dessous de la ligne) de ceux qui n'en ont pas (au dessus de la ligne) (*Figure 17*).



*Figure 17 : Représentation d' $A\beta_{42}$ en fonction d' $A\beta_{40}$ et ligne seuil du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$.*

Une étude non publiée menée par le laboratoire Innogenetics® a fixé le seuil décisionnel pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ à 0,05.

Le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ semble être plus performant ; il pourrait donc apporter une aide supplémentaire lorsque le dosage d' $A\beta_{42}$ seul ne permet pas de conclure ou lorsque les 3 principaux biomarqueurs sont discordants. Ci-dessous, la représentation d'un arbre décisionnel permettant de déterminer les cas où le peptide $A\beta_{40}$ pourrait être utile en complément des 3 autres marqueurs habituels (*Figure 18*).

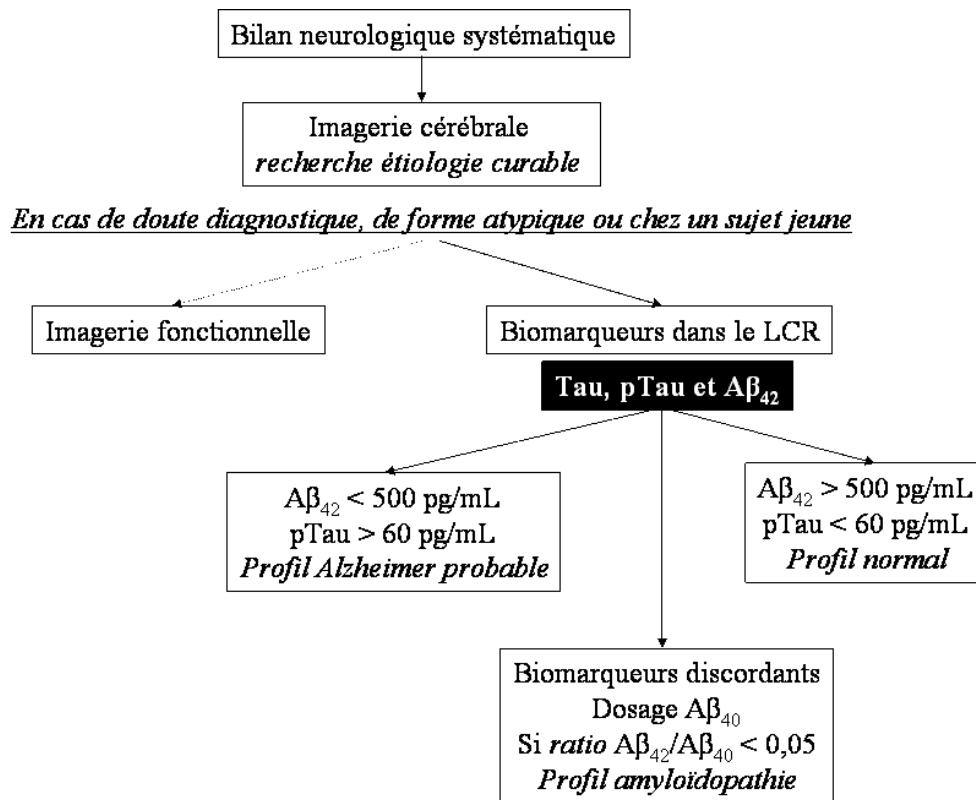


Figure 18 : Arbre décisionnel de la démarche diagnostique de la maladie d'Alzheimer incluant le peptide $A\beta_{40}$.

Le *ratio* a également été étudié dans une population de patients MCI : sur une période de 5 ans, le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ est significativement plus faible chez les patients qui ont développé une maladie d'Alzheimer par rapport aux patients dont l'état s'est stabilisé sur le plan cognitif mais également par rapport aux patients ayant développés une autre forme de démence : le seuil du *ratio* utilisé dans cette étude est 0,095 et il permet de prédire l'évolution en maladie d'Alzheimer chez des sujets MCI avec une sensibilité de 87% et une spécificité de 78% contre 93% et 53% pour $A\beta_{42}$ seul [154]. Une autre étude a calculé la valeur du *ratio* dans 3 groupes de patients à 2 ans d'intervalle : des contrôles, des MCI stables et des MCI ayant évolués en malades d'Alzheimer durant la période d'observation. Là encore, le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ est significativement plus faible dans le groupe MCI qui évolue en maladie d'Alzheimer par rapport aux 2 autres groupes ; l'étude ne note pas de différence entre les sujets contrôles et les MCI stables. Par ailleurs, les dosages effectués au début de l'étude et au terme des 2 ans du suivi ne notent pas d'évolution des valeurs du *ratio* dans les 3 groupes [164].

Les auteurs concluent que la diminution du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ semble plus précoce que la diminution d' $A\beta_{42}$ seul, ce qui pourrait permettre un diagnostic de maladie d'Alzheimer à un

stade prédémental. Cette constatation amène tout de même à une interrogation : il est difficile d'expliquer comment le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ puisse être plus précoce qu' $A\beta_{42}$ seul si l'on considère qu' $A\beta_{40}$ ne varie pas au cours de la maladie d'Alzheimer. Les auteurs ne donnent pas de justification de leur conclusion et d'autres études sont nécessaires pour conforter ou non cette observation.

1.5.2. Autres formes du peptide $A\beta$

En dehors des peptides $A\beta_{42}$ et $A\beta_{40}$, le LCR contient près de 20 formes tronquées de peptide $A\beta$ identifiées aussi bien aux extrémités N-terminale que C-terminale [44, 153]. La production de ces peptides hétérogènes est la conséquence de la capacité des β - et γ -secretases à agir au niveau de différents sites de clivage d' APP . La γ -sécrétase peut conduire à la libération de peptides de 38, 40, 42 ou 43 acides aminés. De plus, plusieurs autres espèces peuvent être détectées dans le LCR ($A\beta_{37}$, $A\beta_{39}$) ; ces formes font suite à l'action d'enzymes impliquées dans la dégradation du peptide $A\beta$ et présentes dans le cerveau et le LCR [110]. Les techniques utilisées pour la séparation de ces différentes formes sont principalement l'immunoélectrophorèse et la spectrométrie de masse (*Figure 19*).

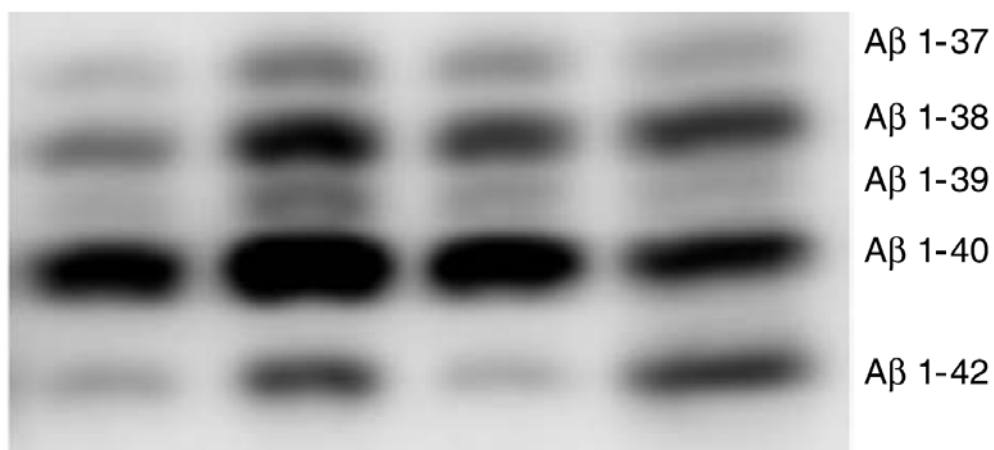


Figure 19 : Electrophorèse des différentes espèces de peptides $A\beta$ [96].

La quantification de ces peptides, dont les variations sont indépendantes du sexe et de l'âge, a permis de connaître leur proportion dans le LCR ($A\beta_{40} > A\beta_{38} > A\beta_{42} > A\beta_{39} \geq A\beta_{37}$) [130].

Des études ont donc cherché à savoir si le dosage de ces différentes formes tronquées pouvait avoir un intérêt dans le diagnostic des démences. Très récemment, Bibl *et al.* (2011) ont montré que les taux moyens de peptide $A\beta_{38}$ dans le LCR d'une population de sujets sains sont plus faibles (857 pg/mL) que ceux mesurés dans le groupe malades d'Alzheimer (984 pg/mL) alors que les taux du peptide $A\beta_{40}$ restent stables. Ainsi, le *ratio* $A\beta_{38}/A\beta_{40}$ est significativement augmenté dans le groupe Alzheimer (0,165) par rapport au groupe témoin (0,134). Les valeurs d' $A\beta_{38}$ dans la DFT (623 pg/mL) et l'aphasie primaire progressive (806 pg/mL) sont plus faibles suggérant que ce peptide soit le plus spécifique pour différencier les malades d'Alzheimer des patients souffrant de DFT [124].

L'intérêt du dosage d' $A\beta_{38}$ a également été évalué dans le diagnostic différentiel entre la maladie d'Alzheimer et la MCL. Aucune différence significative entre les deux pathologies n'a été observée dans l'étude de Bibl *et al.* (2006) [98]. Cependant, cette étude a mis en évidence un intérêt potentiel du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{38}$ qui serait plus discriminant que le dosage d' $A\beta_{42}$ seul pour différencier la maladie d'Alzheimer de la MCL. La valeur seuil de 0,438 discrimine les 2 pathologies avec 83% de sensibilité et 84% de spécificité [98].

Le dosage du peptide $A\beta_{37}$ a également été proposé et montre des taux légèrement plus élevés dans la maladie d'Alzheimer par rapport aux sujets non déments ou atteints d'autres démences tandis que les valeurs d' $A\beta_{42}$ sont plus faibles. Ainsi, des différences significatives ont été observées entre les groupes pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{37}$: groupe maladie d'Alzheimer (0,61), groupe non déments (1,33), groupe MCL (0,86) et groupe maladie de Parkinson (0,98). L'utilisation d'un seuil à 0,848 permet de discriminer les patients Alzheimer des sujets non déments avec une sensibilité et une spécificité de 87% [165].

En immunoprécipitation couplée à la spectrométrie de masse, Portelius *et al.* (2006) ont mis en évidence dans le LCR des peptides de taille inférieure à celle d' $A\beta_{37}$, dont le plus petit est $A\beta_{13}$. Ils ont ensuite cherché à discriminer des patients Alzheimer de sujets sains à l'aide de ces différentes formes tronquées : c'est le peptide A_{16} dont la concentration est élevée dans le LCR des patients Alzheimer qui discrimine le mieux ces 2 groupes, suivi par les peptides $A\beta_{42}$, $A\beta_{33}$ et $A\beta_{39}$ [166].

La représentation ci-dessous (*Figure 20*) montre qu'après analyse en spectrométrie de masse, les LCR d'un patient Alzheimer (au dessus) et d'un contrôle (en dessous) contiennent des formes et espèces différentes et diverses suggérant que ces peptides pourraient avoir un intérêt dans le diagnostic.

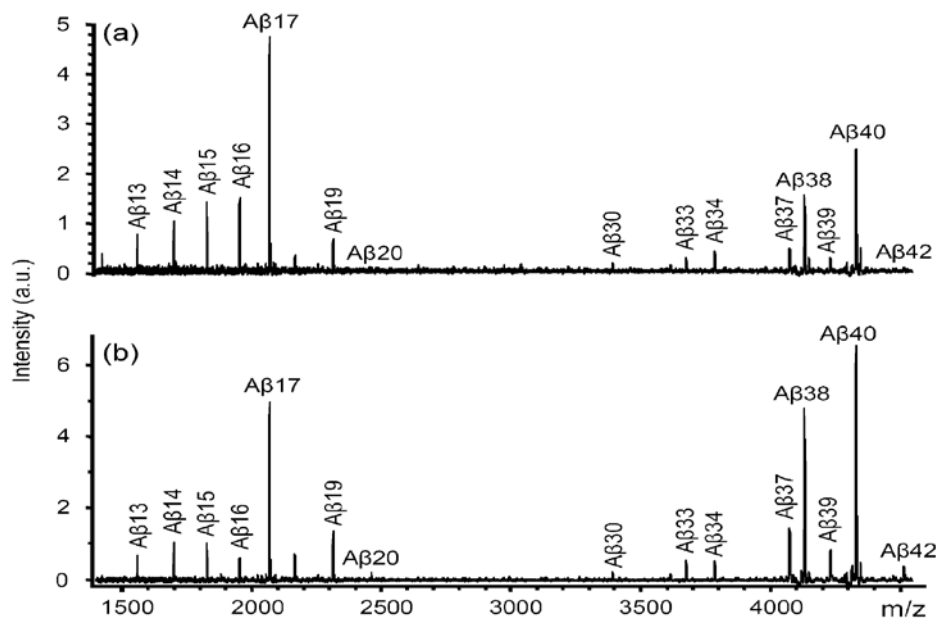


Figure 20 : Spectre des différents peptides A β chez un patient Alzheimer (au dessus) et un patient normal (en dessous) [166].

Bien que ces résultats soient encourageants, l'étude de ces isoformes dans les différentes pathologies neurodégénératives n'a, pour le moment, pas permis une avancée particulière dans le diagnostic. Cependant, la découverte assez récente de ces isoformes est tout de même prometteuse mais, à l'heure actuelle, la recherche doit encore persévérer, tant au niveau technique de dosage qu'au niveau implication diagnostique, pour faire la part des choses sur ce qui peut avoir un réel impact dans la maladie [109].

1.5.3. Les oligomères d'A β_{42}

Lorsqu'il s'accumule, le peptide A β_{42} s'agrège rapidement formant ainsi des oligomères solubles puis des fibrilles insolubles et toxiques. Les oligomères d'A β sont synaptotoxiques et largement impliqués dans l'initiation des processus neurodégénératifs de la maladie d'Alzheimer [45]. En effet, ils sont produits dans le cerveau bien avant l'apparition des plaques amyloïdes et bien avant les premiers signes cliniques de la maladie [44]. *In vitro*, une préparation d'oligomères de peptides A β est jusqu'à 40 fois plus toxique pour les neurones qu'une préparation de monomères de peptides A β [167].

Dès lors, l'idée de doser non plus les monomères de peptide A β_{42} mais les oligomères, agents toxiques précoces de la maladie, a été proposée. La taille de ces oligomères peut varier

de 8 kDa à plus de 100 kDa [45]. L'inconvénient majeur de ce dosage est l'hétérogénéité des espèces oligomériques rendant très difficile la standardisation du dosage et la nécessité d'utiliser des techniques extrêmement sensibles (cytométrie de flux, spectrométrie de masse, technique d'amplification du signal) [44, 162].

Dans toutes les études ayant mesuré les formes oligomériques d'A β dans le LCR, une augmentation de leur concentration a été mise en évidence, quelque soit la technique utilisée, suggérant que la diminution du taux de peptide A β_{42} mesuré à l'aide des kits ELISA standards puisse être corrélée à une augmentation des formes oligomériques. A titre d'exemple, l'étude de Georganopoulou *et al.* (2005), a permis de détecter des concentrations de peptide A oligomériques de l'ordre du fM et a mis en évidence une élévation de sa concentration dans le LCR de patients Alzheimer par rapport à des sujets contrôles [168]. Des techniques associant l'immunocapture à la spectrométrie de masse sont également à l'étude [110].

Le dosage par une technique compatible avec une analyse de routine comme l'ELISA nécessite soit une dénaturation des oligomères qui sont de tailles variables, soit l'utilisation d'un anticorps reconnaissant un épitope non masqué par l'oligomérisation [169]. Fukumoto *et al.* (2010) ont validé une technique ELISA spécifique des molécules de haut poids moléculaires et ont obtenu les mêmes conclusions [114]. De même, dans une étude calculant la proportion d'oligomères d'A β_{42} par rapport au peptide A β_{42} total à l'aide d'un ELISA et d'un Western blot, les auteurs notent une élévation des oligomères dans le groupe maladie d'Alzheimer (2,14) et dans le groupe MCI (1,96) tandis que le groupe contrôle présente une valeur plus faible (1,01) [45].

Von Helmond *et al.* (2009) ont également montré l'intérêt d'un dosage par méthode ELISA des oligomères d'A β_{42} dans le tissu cérébral à l'aide de 2 anticorps monoclonaux et retrouvent des quantités d'oligomères significativement plus élevées dans les cerveaux de patients souffrant de la maladie d'Alzheimer par rapport à des cerveaux contrôles alors que le dosage des oligomères d'A β_{40} n'est pas différents dans les 2 groupes [169]. Les auteurs ne donnent pas les valeurs retrouvées mais révèlent que si les dosages d'oligomères d'A β_{42} sont bien différents dans les 2 groupes quelque soit l'anticorps utilisé, les valeurs sont différentes et jusqu'à 10 fois plus importantes en fonction de l'anticorps choisi.

D'autres études ont tenté d'isoler ces oligomères dans le tissu cérébral par différentes techniques, comme l'ultracentrifugation avec extraction séquentielle, et les résultats sont variables : Kuo *et al.* (1996) rapportent que des cerveaux de patients Alzheimer contiennent 6 fois plus d'oligomères d'A β que des cerveaux sains tandis que Wang *et al.* (1999) trouvent que les oligomères d'A β_{40} et d'A β_{42} constituent la fraction majeure du peptide A β total dans

des cerveaux normaux et la fraction la plus faible dans des cerveaux Alzheimer [169, 170, 171].

Le lien entre l'augmentation des oligomères de peptides β dans le LCR et la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer semble tout de même particulièrement pertinent au vu des données publiées à partir d'expériences menées chez des animaux modèles de maladie d'Alzheimer qui montrent une corrélation entre le pool d' β soluble et les troubles cognitifs et synaptiques. Néanmoins, les difficultés analytiques limitent le nombre d'études validant ce marqueur.

1.5.4. L' α -Synucléine

L' α -Synucléine est le composant majeur des corps de Lewy, principale lésion touchant le cerveau des malades atteints de la MCL [69]. Présente également dans d'autres pathologies neurologiques comme la maladie de Parkinson, il a été développé le concept d' α -synucléinopathies, parallèlement à celui de tauopathies, englobant la MCL, la démence de la maladie de Parkinson et les atrophies multisystématisées [172]. Cette protéine cytoplasmique constituée de 180 acides aminés est principalement présente au niveau des régions terminales présynaptiques des neurones [173]. Son rôle exact n'est pas encore élucidé mais elle semble intervenir dans la neurotransmission par l'intermédiaire du transport et de la régulation des vésicules synaptiques [120]. Elle pourrait également avoir un rôle dans la plasticité synaptique et dans la synthèse de dopamine [174]. Elle est présente dans le cerveau à l'état physiologique mais s'oligomérisse pour former des filaments contenus dans des inclusions cytoplasmiques disséminées dans le cortex appelées corps de Lewy [68]. La perte neuronale et synaptique et la présence de ces corps de Lewy sont corrélées aux symptômes cliniques observés dans la MCL [172].

L' α -synucléine est présente dans le LCR et dans le plasma chez des sujets sains et de plus en plus d'études explorent le potentiel diagnostique de son dosage : une diminution de sa concentration dans le LCR a été retrouvée chez des sujets âgés en bonne santé, et de manière plus prononcée chez les patients atteints de la maladie de Parkinson tandis que parallèlement la concentration en oligomères semble accrue [175]. L'utilisation de ce marqueur pourrait ainsi apporter une aide dans le diagnostic de la maladie de Parkinson. Néanmoins, l'étude de Kasuga *et al.* (2010), retrouve des valeurs significativement plus faibles d' α -synucléine dans le LCR de patients atteints de MCL par rapport aux patients Alzheimer et aux autres

démences [176]. D'après cette étude, l'utilisation de l' α -synucléine pourrait aider au diagnostic de la MCL. A l'inverse, Ohrfelt *et al.* (2009) ont montré que les valeurs d' α -synucléine dans le LCR sont similaires dans les différents groupes à l'exception du groupe Alzheimer où les concentrations sont significativement plus faibles que dans les groupes contrôle, maladie de Parkinson et MCL [174]. Par ailleurs, les auteurs notent une corrélation entre les valeurs d' α -synucléine et le score au MMS des patients du groupe Alzheimer suggérant que le taux d' α -synucléine pourrait être inversement proportionnel à l'intensité de la perte synaptique et des troubles cognitifs dans la maladie d'Alzheimer [174]. Enfin, l'étude de Noguchi-Shinohara *et al.* (2009) n'a pas mis en évidence de différence significative entre les taux d' α -synucléine dans le LCR de patients Alzheimer (49,3 pg/mL) par rapport à des patients atteints de la MCL (44,7 pg/mL). Les auteurs ne retrouvent pas non plus de corrélation entre les scores au MMS et les taux d' α -synucléine, que ce soit dans le groupe Alzheimer ou dans le groupe MCL [177].

Les résultats d'études comparant le dosage d' α -synucléine dans diverses pathologies neurologiques sont contradictoires. Des problèmes analytiques et l'absence de standardisation limitent le nombre d'études comparables et pertinentes. En effet, les anticorps utilisés dans les dosages ELISA ne reconnaissent pas tous le même épitope et il n'existe pas, à l'heure actuelle, d'évaluation de ces différents anticorps. De plus, les concentrations mesurées sont très faibles et nécessitent une étape de concentration altérant potentiellement la protéine [178]. Tout comme la diminution du peptide $A\beta_{42}$ dans la maladie d'Alzheimer, la diminution de l' α -synucléine pourrait être liée à son oligomérisation puis à son agrégation ; les études futures devront comparer les dosages de ces formes oligomériques [68, 179]. Le *ratio* oligomère d' α -synucléine/ α -synucléine totale pourrait notamment être intéressant. De plus, comme la protéine Tau, α -synucléine subit des modifications post-traductionnelles, notamment des phosphorylations dont certaines favoriseraient son agrégation : le dosage de ces différentes formes pourrait être plus spécifique des synucléinopathies [178].

Il existe un lien entre MCL et maladie d'Alzheimer puisque les lésions neurologiques des 2 maladies sont fréquemment retrouvées simultanément dans le cerveau des malades [69] : ces 2 pathologies sont rarement pures et la présence d' α -synucléine dans les plaques amyloïdes des malades d'Alzheimer n'est pas rare ; ceci peut influencer en partie sur les concentrations d' α -synucléine dans le LCR de patients Alzheimer et biaiser les études comparant les taux dans les 2 pathologies [180]. *In vitro*, la synaptotoxicité des oligomères d' α -synucléine semble d'ailleurs être renforcée par la présence de peptide $A\beta_{42}$ tandis que ce phénomène n'est pas décrit avec le peptide $A\beta_{40}$ ce qui suggère un effet direct d' $A\beta_{42}$. Cette

potentialisation conforte les nombreuses observations anatomopathologiques de l'association de plaques amyloïdes et de corps de Lewy [181]. Une autre hypothèse justifiant les résultats discordants de ces différentes analyses vient d'une analyse retrouvant des taux d' α -synucléine très élevés dans le cerveau de patients *postmortem* suggérant que les concentrations d' α -synucléine soient plus influencées par la mort neuronale que par son accumulation dans le cerveau et que par conséquent le dosage soit principalement le reflet de la souffrance neuronale, quelque soit son origine [182].

A l'heure actuelle, il ne semble pas possible de différencier la maladie d'Alzheimer de la MCL ni même des autres démences à l'aide de ce marqueur [120]. Elle n'est pas un marqueur de diagnostic positif de la maladie d'Alzheimer. Son dosage dans le LCR ne peut pas être utilisé dans la démarche diagnostique des démences à l'heure actuelle, ni même dans le diagnostic positif de la MCL. Des études supplémentaires sont encore nécessaires pour valider ce marqueur.

2. Les biomarqueurs dans le sérum

Le marqueur idéal doit, entre autres, être facilement réalisable ; la PL, qui nécessite un préleveur expérimenté, un équipement médical adéquat et une préparation minimale du patient, ne répond pas à ce critère, notamment dans le cadre d'un dépistage généralisé. Si les conditions du prélèvement sont contraignantes, la PL demeure un geste simple, avec très peu de complications secondaires : d'après Andreasen *et al.* (2001), 4,1% des patients ont ressentis une céphalée après ponction lombaire, et seulement 2% dans l'étude de Blennow *et al.* (1993) [183, 184]. D'après Peskind *et al.* (2005), la prévalence du syndrome post-PL est inférieure à 1% dans la population de patients présentant des troubles cognitifs [185]. Chez les personnes âgées, le geste est tout de même rendu difficile par un rachis dégénératif avec des massifs articulaires volumineux associés à des troubles de la statique à type de scoliose ou de tassements vertébraux [186].

C'est pourquoi, le prélèvement veineux pour l'étude des marqueurs dans le sérum est indispensable. Il permettrait d'étendre le dépistage à une plus large population. De plus, dans les essais cliniques, le suivi d'efficacité d'un traitement nécessitant de réitérer une ponction lombaire à intervalle régulier est peu acceptable par les patients.

Aux vues des variations des marqueurs dans le LCR chez les malades d'Alzheimer par rapport aux contrôles, ce sont ces mêmes marqueurs qui ont été étudiés dans le sérum ou

le plasma. Les deux principaux peptides, $A\beta_{42}$ et $A\beta_{40}$, sont présents dans le sérum et peuvent être dosés par des méthodes de type ELISA [187].

Il convient avant tout de rappeler l'origine du peptide $A\beta$ circulant. Certes, une partie semble provenir du clivage de la protéine APP neuronale et être le reflet de la clairance du peptide $A\beta$ à travers la barrière hématoencéphalique [188]. Cependant, il existe une production périphérique dont la principale source est représentée par la protéine APP des plaquettes [189]. En effet, la quantité de protéine APP contenue dans les ~~granules~~ plaquettes est comparable à la quantité d'APP cérébrale. D'ailleurs, 90% de la production de peptide $A\beta$ circulant provient des plaquettes [190] et sa libération est augmentée lors de l'activation plaquettaire. Freeman *et al.* (2007) montrent d'ailleurs l'absence de corrélation entre les taux de peptides $A\beta_{40}$ et $A\beta_{42}$ mesurés dans le plasma et dans différentes régions cérébrales chez les mêmes patients atteints de la maladie d'Alzheimer [191]. Au vu de ces remarques, le lien physiopathologique entre les taux plasmatiques de peptides $A\beta$ et sa production cérébrale est peu convaincante et les dosages périphériques semblent peu pertinents.

D'ailleurs, les études menées sur la place du peptide $A\beta$ sanguin dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer montrent des résultats très variables. Les études animales chez la souris notent une association entre la progression des dépôts amyloïdes dans le cerveau et la diminution des taux de peptides $A\beta$ dans le LCR ainsi que dans le plasma [192]. Chez l'Homme, cette association au niveau plasmatique n'est pas retrouvée.

Giedraitis *et al.* (2007) notent une corrélation entre les taux de peptides $A\beta_{42}$ et $A\beta_{40}$ dans le LCR et le plasma mais seulement chez les sujets contrôles. La diminution d' $A\beta_{42}$ et du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ observé dans le LCR des patients Alzheimer n'est pas retrouvée dans le plasma : il n'a pas été observé de corrélation entre le plasma et le LCR qui traduirait une perturbation de l'équilibre du peptide $A\beta$ entre les 2 compartiments. Aucune différence significative entre les taux d' $A\beta_{42}$ et d' $A\beta_{40}$ dans le plasma entre le groupe contrôle et le groupe Alzheimer n'a été mise en évidence [187]. Sundelof *et al.* (2008) ont mené une étude prospective sur la pertinence des dosages plasmatiques d' $A\beta_{42}$ et d' $A\beta_{40}$ chez des patients non déments, âgés en moyenne de 77 ans, et retrouvent une augmentation du risque de développer une maladie d'Alzheimer lorsque les valeurs d' $A\beta_{40}$ plasmatiques sont faibles [193]. Par contre, la diminution du peptide $A\beta_{42}$ observée n'est pas significativement associée à ce risque. Pour Seppälä *et al.* (2010) une diminution des taux plasmatiques d' $A\beta_{42}$ et du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ est observée chez des patients présentant une diminution des fonctions cognitives sur une durée de suivi de 3 à 6 ans alors que ces taux augmentent chez les patients dont les

fonctions cognitives restent stables. Les taux plasmatiques d'A β ₄₀ sont stables dans les 2 groupes sur cette période [194].

D'autres études montrent des résultats différents. Pour Van Oijen *et al.* (2006), ce sont des valeurs élevées d'A β ₄₀ qui sont associées à un risque accru de développer une maladie d'Alzheimer [195] ; et pour Graff-Radford *et al.* (2007), ce sont les patients ayant un *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ faible dans le plasma qui ont un risque plus élevé de développer une maladie d'Alzheimer ou un MCI [196].

L'étude de Modrego *et al.* (2008) conclue que la détermination des taux plasmatiques de peptide A β ₄₀ pourrait être utilisée afin d'évaluer la réponse aux traitements de malades d'Alzheimer : les auteurs observent une diminution des taux d'A β ₄₀ plasmatiques inversement proportionnelle au score MMSE chez les patients traités sur une durée de 6 mois [197].

Dans les formes familiales de maladie d'Alzheimer, avec mutations des gènes intervenant dans le métabolisme d'APP, et chez les patients souffrant de trisomie 21, il a été retrouvé une augmentation des concentrations de peptide A β _{total} et d'A β ₄₂ dans le sang [198]. Néanmoins, ceci ne préjuge pas de l'origine de cette augmentation périphérique qui peut s'expliquer par le fait que la production d'A β en réponse à ces mutations est augmentée aussi bien dans le cerveau que dans les tissus périphériques et notamment les plaquettes.

En outre, les dosages plasmatiques se heurtent à de nombreux problèmes : la fonction rénale des sujets semble être un paramètre très influant sur les concentrations plasmatiques. De plus, le peptide A β ₄₂, par exemple, se lie à des protéines plasmatiques comme l'albumine, les lipoprotéines ou des fractions du complément et tout comme dans le LCR, il s'oligomérise [45]. Les épitopes du peptide reconnus par les anticorps peuvent donc être masqués par ces liaisons entraînant une sous-estimation de la concentration réelle de peptide A β . Des réactions croisées avec des protéines plasmatiques ont été décrites notamment avec des immunoglobulines G ou le fibrinogène [156]. Ces données peuvent expliquer que les résultats soient contradictoires en fonction des différents anticorps utilisés dans les kits ELISA.

Il pourrait cependant être utile dans des études cliniques de suivre l'évolution des taux plasmatiques de peptide A β chez un même patient et avec la même technique pour évaluer les effets pharmacologiques des molécules testées, notamment celles intervenant dans le métabolisme du peptide amyloïde [198]. Toutefois, pour le moment, les biomarqueurs sériques sont encore loin de pouvoir être utilisés dans les essais cliniques et en sont encore à la phase d'exploration [144].

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, d'autres marqueurs dans le sang vraiment spécifiques de la maladie d'Alzheimer. Il y a des études portant sur des marqueurs indirects reflétant la réaction inflammatoire dans l'environnement proche des plaques amyloïdes comme certaines cytokines proinflammatoires mais les résultats ne sont pas probants. Récemment, une combinaison de 18 marqueurs sériques, impliqués dans l'inflammation, la croissance cellulaire et la neuroprotection, dont 5 seraient les plus spécifiques, a été évaluée et apporterait de bons résultats dans la maladie d'Alzheimer et son diagnostic différentiel [199]. Comme dans le LCR, c'est peut être la combinaison de plusieurs marqueurs qui pourrait avoir les meilleurs résultats dans le diagnostic positif [200].

3. Conclusion

Les 3 biomarqueurs standards du LCR ($A\beta_{42}$, Tau totale et pTau) répondent à une partie des prérequis proposés pour les marqueurs de la maladie d'Alzheimer en 1998 [201] : leur développement repose en effet sur les connaissances fondamentales de la maladie ; la sensibilité et la spécificité pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer dépassent 80% ; la PL est un geste modérément invasif et présente peu d'effets secondaires et enfin le coût d'un dosage combiné des 3 biomarqueurs est 3 à 4 fois inférieur à celui d'une IRM [89].

C'est pourquoi ils sont inclus dans les nouveaux critères diagnostiques de la maladie d'Alzheimer, à côté de l'imagerie morphologique et fonctionnelle [28, 35] et sont actuellement largement utilisés dans la démarche diagnostique des démences en pratique médicale courante.

Néanmoins, ils présentent certaines limites dont l'absence de standardisation des dosages, aussi bien sur le plan des techniques, que sur l'établissement de valeurs de référence et de contrôles de qualité. Au-delà des 3 biomarqueurs standards, d'autres marqueurs complémentaires sont étudiés dont le peptide $A\beta_{40}$ qui pourrait avoir un intérêt lorsque les biomarqueurs sont discordants. De plus, à l'avenir, la mise en place et la validation des dosages sériques sont nécessaires pour rendre plus accessible le dépistage permettant sa généralisation.

IV. OBJECTIFS

Les dosages des biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer dans le LCR sont devenus des outils incontournables dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer et ont été mis en place au laboratoire de biochimie du CHU de Nancy depuis janvier 2009. Dans certains cas, les profils biologiques obtenus ne permettent pas de poser une conclusion biologique. Plusieurs travaux présentés dans la partie bibliographique ont proposé de compléter ce bilan par le dosage du peptide $A\beta_{40}$ afin d'améliorer l'interprétation des variations observées pour le peptide $A\beta_{42}$. A partir de ces données, nous avons décidé de sélectionner, parmi tous les patients ayant bénéficié des dosages des 3 biomarqueurs standards, les sujets pour lesquels les résultats étaient discordants. Nous avons complété leur bilan par un dosage de peptide $A\beta_{40}$ avec, comme objectif principal, de déterminer si la réalisation de cette analyse et le calcul du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ permettent, en pratique courante, d'augmenter la performance du bilan biologique dans le diagnostic différentiel de la maladie d'Alzheimer.

Nous avons par ailleurs identifié plusieurs objectifs secondaires qui consisteront à comparer les données démographiques des patients sélectionnées à celles de la population initiale afin de cibler une population pour laquelle le dosage d' $A\beta_{40}$ pourrait être réalisé d'emblée, à identifier le type de profil biologique rencontré chez les patients pour lesquels les biomarqueurs standards restent discordants après l'intégration du *ratio* dans le bilan et enfin à optimiser la valeur seuil du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ pour laquelle le test est le plus performant dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer.

V. MATERIELS ET METHODES

1. Méthodologie clinique

1.1. Sélection des patients

La population de l'étude a été recrutée parmi l'ensemble des patients ayant bénéficié d'un dosage des biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer dans le LCR dans le cadre du diagnostic de démence dans différents services du CHU de Nancy et hôpitaux de la région Lorraine du 1^{er} janvier 2009 au 28 février 2011. Les PL des patients des neurologues libéraux ont été réalisées au CHU de Nancy en collaboration avec le Dr Sauvé. Les dosages des 3 biomarqueurs standards ($A\beta_{42}$, Tau et pTau) ont été réalisés en utilisant les kits ELISA Innogenetics® (voir méthodologie analytique) dans le laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire du CHU de Nancy.

La PL pour l'analyse des biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer a été réalisée après avoir obtenu l'accord de chacun des patients. De plus, un formulaire d'information et de non opposition à la recherche a été signé par chaque patient et/ou un proche (*Annexe 10*). Ce formulaire permet notamment l'utilisation d'une partie de LCR pour des recherches médicales ou scientifiques dans les conditions de la loi n°2004-800 du 06 août 2004 relative à la bioéthique.

Critères d'inclusion

Après la réalisation et l'interprétation des dosages des 3 biomarqueurs standards chez l'ensemble des patients, nous avons constitué 4 groupes de la manière suivante :

- Groupe A « profil biologique Alzheimer » : $A\beta_{42} < 500$ pg/mL et pTau > 60 pg/mL.
- Groupe N « profil biologique sans anomalie » : $A\beta_{42} > 500$ pg/mL et pTau ≤ 60 pg/mL.

- Groupe I « profil biologique non concluant » : $A\beta_{42} < 500 \text{ pg/mL}$ et $p\text{Tau} \leq 60 \text{ pg/mL}$ ou $A\beta_{42} > 500 \text{ pg/mL}$ et $p\text{Tau} > 60 \text{ pg/mL}$.
- Groupe CJ « profil biologique Creutzfeldt-Jakob » : $\text{Tau totale} > 1250 \text{ pg/mL}$, $p\text{Tau} \leq 60 \text{ pg/mL}$ et $A\beta_{42} > 500 \text{ pg/mL}$

Nous avons choisi de baser notre analyse uniquement sur les résultats obtenus pour le peptide $A\beta_{42}$ et $p\text{Tau}$ car il est communément admis aujourd'hui par les praticiens, tant cliniciens que biologistes, que l'information apportée par Tau est à mettre au second plan, son augmentation dans le LCR au cours de la maladie n'étant pas systématique et peu spécifique.

Le groupe de l'étude est constitué des patients présentant un profil biologique non concluant (groupe I) selon les critères mentionnés ci-dessus.

Critères d'exclusion

Nous avons exclu de l'étude les patients présentant des valeurs de protéine Tau très faible ($< 100 \text{ pg/mL}$) pour lesquels un problème pré-analytique ne peut être exclu.

1.2. Déroulement de l'étude

1.2.a. Dosage et interprétation biologique

Pour tous les patients sélectionnés, le bilan biologique comprenant les dosages des 3 biomarqueurs standards a été complété par le dosage du peptide $A\beta_{40}$ et le calcul du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$. La valeur de ce *ratio* apporte une information sur la présence ou non d'une pathologie amyloïde [132]. D'après une étude menée par le laboratoire Innogenetics®, le seuil retenu pour distinguer les patients ayant une véritable diminution du peptide $A\beta_{42}$ des autres est de 0,05 (données non publiées).

Ainsi, après calcul du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$, il est possible de séparer les patients présentant un profil biologique initial non concluant en 4 nouveaux profils biologiques :

- profil biologique final évocateur d'une maladie d'Alzheimer : *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40} < 0,05$ associé à $p\text{Tau} > 60 \text{ pg/ml}$

- profil biologique final de type amyloïdopathie non Alzheimer: $ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40} < 0,05$ associé à $pTau \leq 60\text{ pg/ml}$
- profil biologique final sans anomalie : $ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40} \geq 0,05$ associé à $pTau \leq 60\text{ pg/ml}$
- profil biologique final non concluant : $ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40} \geq 0,05$ associée à $pTau > 60\text{ pg/mL}$

Ces 4 profils sont représentés sur le tableau suivant (*Tableau XV*).

	$ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40} < 0,05$	$ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40} \geq 0,05$
$pTau \leq 60\text{ pg/mL}$	Profil biologique final de type amyloïdopathie non Alzheimer	Profil biologique final sans anomalie
$pTau > 60\text{ pg/mL}$	Profil biologique final Alzheimer	Profil biologique final non concluant

Tableau XV : Différents profils biologiques après dosage d' $A\beta_{40}$ et calcul du $ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40}$.

Pour chacun des patients, le profil biologique final, comprenant les dosages des 3 biomarqueurs standards complétés par le dosage du peptide A_{40} et le calcul du $ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40}$, a été comparé au diagnostic final retenu par les cliniciens au terme de leur bilan complet.

1.2.b. Recueil des données

Afin de comparer les données biologiques au dossier clinique des patients, une fiche d'informations individuelle pour chaque patient a été envoyée aux médecins prescripteurs. Cette fiche a été remplie au terme de la démarche diagnostique comprenant l'ensemble des examens complémentaires nécessaires aux cliniciens.

Certains dossiers cliniques ont également été consultés directement ou *via* le logiciel informatique RAPID-NAT (Réseau d'aide au diagnostic, à la prise en charge des détériorations cognitives et de maladies neurologiques chroniques au niveau national) grâce auquel les dossiers médico-sociaux sont accessibles en ligne et soumis au secret médical. Cet

outil de travail commun renforce la cohérence entre les différents professionnels de santé (aussi bien médical que social, hospitalier ou libéral) qui l'utilisent autour d'un dossier unique pour chaque patient. De la démarche diagnostique au suivi thérapeutique, ce logiciel concerne la prise en charge globale des patients souffrant de troubles cognitifs et comportementaux quelle qu'en soit l'étiologie. Le logiciel RAPID a été retenu comme logiciel de référence des CM2R et des centres mémoire des régions Champagne-Ardenne, Lorraine, Alsace et Franche-Comté.

Certaines données ont également été recueillies à l'aide de l'application « Susie » permettant de récupérer les courriers de sortie des patients du service de Neurologie du CHU de Nancy.

Les patients ont été suivis par différents centres, services et cliniciens de la région Lorraine et les habitudes dans la démarche diagnostique ne sont pas forcément semblables et n'ont pas été standardisées pour cette étude.

1.2.c. Analyse des données

Nous avons séparé les diagnostics retenus par les cliniciens en 5 catégories suivantes :

- maladie d'Alzheimer et démence mixte
- MCI
- MCL
- autres pathologies ne présentant habituellement pas de perturbation d'A β ₄₂ ni de pTau : cette catégorie regroupe des troubles neurologiques (DLFT, paralysie supranucléaire progressive, démence corticobasale, démence vasculaire, maladie de Creutzfeldt-Jakob, SEP, hydrocéphalie à pression normale, tumeurs cérébrales) mais également des troubles psychiatriques (dépression, psychose maniaco-dépressive...)
- diagnostic en attente

Après la réalisation des analyses biologiques, nous avons observé si les diagnostics retenus par les cliniciens étaient compatibles avec le bilan biologique, d'une part pour le *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ seul puis pour l'association du *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ avec pTau.

2. Méthodologie analytique

2.1. Prélèvement

Les prélèvements de LCR sont impérativement réalisés dans des tubes en polypropylène par PL. Tout autre type de tube est à proscrire en raison de la capacité des protéines dosées à adhérer aux autres matériaux tels que le polycarbonate. Les prélèvements ont été acheminés à température ambiante, dans la glace ou congelés en fonction du délai d'acheminement au laboratoire (4h, moins de 24h ou plus de 24h respectivement). Les prélèvements hémorragiques ($> 500 \text{ GR}/\mu\text{L}$) ou purulents ne permettent pas la réalisation de ces dosages. Arrivés au laboratoire, les tubes sont centrifugés à 4000g pendant 10 minutes avant d'être échantillonnés par fractions de 400 μL dans des micro-tubes en polypropylène et conservés à -80°C . Les dosages sont réalisés en série, au laboratoire, après décongélation des aliquotes.

2.2. Dosage des marqueurs biologiques par ELISA

Les dosages de chaque biomarqueur sont réalisés par une technique ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) de type sandwich en phase solide. Le principe du dosage est le suivant : le fond de chaque puit d'une microplaque est recouvert d'un anticorps monoclonal dit de capture correspondant à la phase solide. Lors de la 1^{ère} étape du dosage, les échantillons de LCR à doser sont ajoutés dans chaque puit. Une première incubation permet la fixation de la molécule à doser sur les anticorps. Après plusieurs lavages successifs, l'anticorps dit de révélation marqué à la biotine est ajouté dans les puits. Après une nouvelle incubation permettant la fixation des anticorps à la molécule à doser, des lavages successifs permettent d'éliminer l'excès d'anticorps non fixés. L'étape de détection utilise une solution de streptavidine-peroxydase. L'ajout d'un substrat chromogène incolore transformé en produit coloré par l'action de la peroxydase entraîne une coloration dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de la molécule à doser présente dans l'échantillon. Cette coloration est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Quant, BIOTEK INSTRUMENTS. INC) et la concentration est déduite à partir d'étalons de concentration connue et analysés dans la même série que les échantillons patients.

Chaque échantillon est dosé en double dans la même série et le résultat obtenu pour chaque biomarqueur est la moyenne des valeurs de ces 2 dosages.

2.3. Dosage de la protéine Tau totale

Le kit de dosage utilisé est Innostest[®] hTau Ag de la société Innogenetics. L'anticorps monoclonal (AT120) fixé à la microplaque capture la protéine Tau humaine présente dans l'échantillon de LCR. Un mélange de 2 autres anticorps monoclonaux (HT7 et BT2) marqués à la biotine est utilisé pour l'étape de révélation (*Figure 21*) (*Annexe 11*).

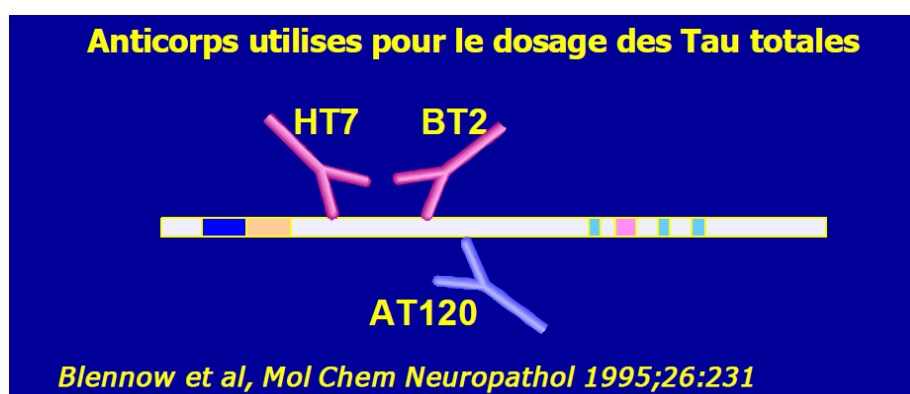


Figure 21 : Anticorps utilisés pour le dosage de Tau totales.

Après ajout du chromogène, la lecture de l'intensité de la réaction se fait par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 450 nm.

Le domaine de mesure du kit se situe entre 75 et 1200 pg/mL et la limite de détection est de 59,3 pg/mL.

2.4. Dosage de pTau

Le dosage Innostest[®] ptau 181 utilise un anticorps monoclonal spécifique du site phosphorylé thréonine en position 181. La protéine Tau phosphorylée contenue dans les échantillons de LCR est capturée par 2 anticorps (HT7 et AT270bio) comme le montre la figure 22. Après une phase d'incubation, le complexe antigène-anticorps est détecté par une solution de streptavidine-peroxydase. Après ajout du substrat chromogène, les échantillons positifs développent une coloration dont la densité est mesurée à une longueur d'onde de 450 nm (*Annexe 12*).

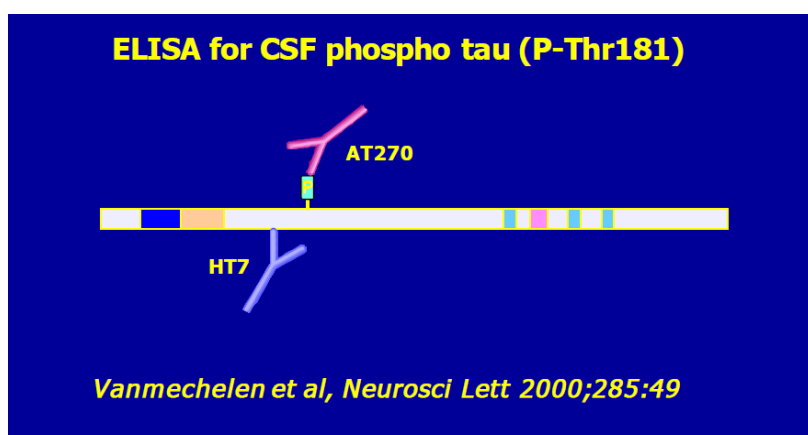


Figure 22 : Anticorps utilisés pour le dosage de pTau.

La limite de détection du kit est de 15,6 pg/mL et le domaine de mesure se situe dans la zone de concentrations comprises entre 25 et 250 pg/mL.

2.5. Dosage d'A β ₄₂

Le dosage spécifique du peptide A β ₄₂ Innotech[®] de la société Innogenetics repose sur une méthode ELISA utilisant des anticorps monoclonaux se fixant sur la partie C-terminale du peptide. C'est cette partie qui est variable en fonction de la longueur du peptide et qui permet ainsi de doser spécifiquement les peptides A β contenant 42 acides aminés. L'anticorps monoclonal (21F12) fixé au fond des puits de la microplaque capture le peptide A β ₄₂. Un anticorps biotinylé (3D6) est ajouté (*Figure 23*). Après une phase d'incubation, un conjugué streptavidine-peroxydase puis une solution de substrat chromogène sont ajoutés. Après coloration, la densité optique de la solution est lue à une longueur d'onde de 450 nm (*Annexe 13*).

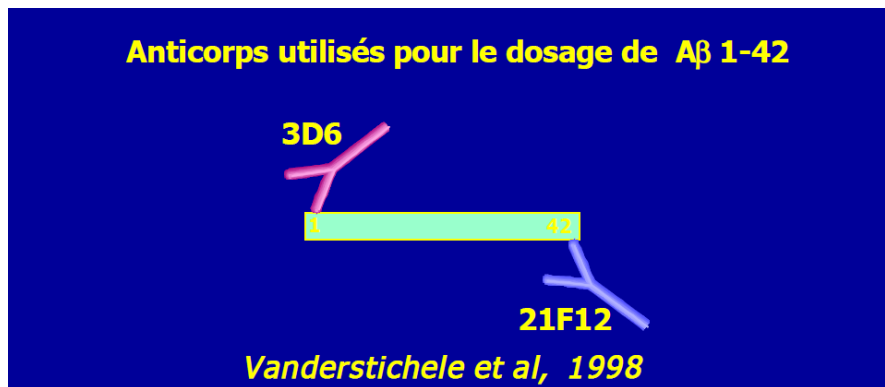


Figure 23 : Anticorps utilisés pour le dosage d'A β ₄₂.

Le domaine de mesure du peptide A β ₄₂ est de 125 à 2000 pg/mL. La limite de détection est de 50 pg/mL.

2.6. Dosage d'A β ₄₀

Le kit utilisé est Human Amyloid β (1 -40) Assay de la société IBL, commercialisé par Innogenetics[®]. C'est une méthode sandwich en phase solide utilisant 2 anticorps spécifiques du peptide A β ₁₋₄₀. L'anticorps de la phase solide présent sur la microplaque est spécifique de la partie 35-40 du peptide A β ₄₀ humain. Le second anticorps est quant à lui spécifique de la partie N-terminale du peptide A β ₄₀ (*Annexe 14*).

La quantité de peptide A β ₄₀ dans l'échantillon est proportionnelle à l'intensité de la coloration de la réaction après ajout d'un chromogène ; la concentration de peptide A β ₄₀ de chaque échantillon est lue à partir de l'absorbance moyenne observée par l'intermédiaire de la courbe de calibration.

Le domaine de mesure du peptide A β ₄₀ est de 450 à 30 000 pg/mL.

3. Méthodologie statistique

Les analyses statistiques sont réalisées en utilisant des tests paramétriques (test de Student) lorsque c'était possible et des tests non paramétriques (test de Wilcoxon) dans les autres cas. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme significative. Les performances du test sont exprimées en sensibilité et spécificité et ont été calculées en comparant les diagnostics retenus de maladie d'Alzheimer et démence mixte aux autres pathologies : nous

avons exclus du calcul les patients dont le diagnostic est en attente ainsi que les MCI et les MCL. Des courbes ROC ont été dessinées pour trouver le seuil apportant la meilleure performance (aire sous la courbe) pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et pour pTau.

VI. RESULTATS

1. Analyse des dosages des 3 biomarqueurs standards dans la population initiale

Sur la période du 1^{er} janvier 2009 au 28 février 2011, 386 échantillons de LCR ont été traités au laboratoire, parmi lesquels 10 ont été éliminés pour cause de non-conformité préanalytique (problème d'acheminement, de mauvaise conservation ou de tube en polycarbonate). Ils proviennent tous de la région Lorraine et leur répartition par service ou hôpital est la suivante (*Figure 24*) :

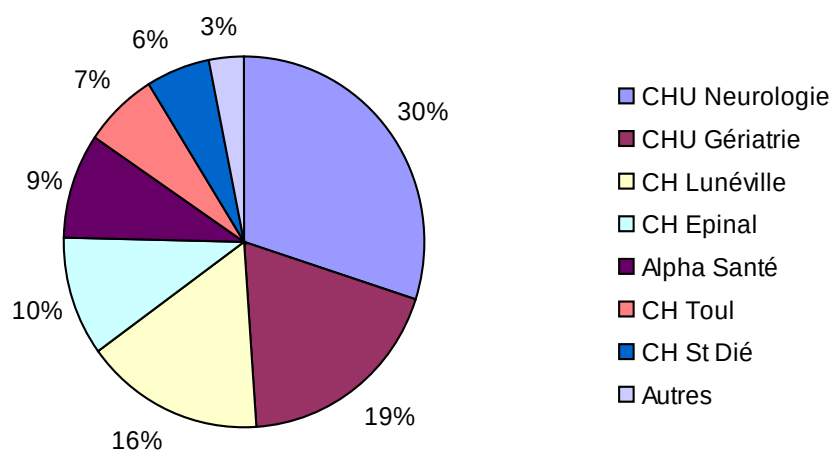


Figure 24 : Provenance des échantillons de LCR (n=376).

Près de la moitié (49%) des prélèvements proviennent du CHU de Nancy, et de deux services en particulier : la neurologie (61,4%) et la gériatrie (38,6%).

L'âge moyen des 376 patients est de 71,4 ans $\pm$ 10,6 avec des extrêmes allant de 24 à 96 ans. La répartition homme/femme est équilibrée puisqu'il y a 190 hommes (50,5%) pour 186 femmes (49,5%) ce qui correspond à un *sex ratio* de 1,02.

Les principales données démographiques des 376 patients sont indiquées dans le tableau XVI :

	Effectif	Moyenne d'âge ± ET [valeurs extrêmes] (en années)	Sexe : H/F (sex ratio)
CHU Neurologie et neurologues libéraux	113 (30%)	65,6 ± 12,3 [24-87]	56/57 (0,98)
CHU Gériatrie	71 (19%)	77,7 ± 7 [62-96]	32/39 (0,82)
CH Lunéville	60 (16%)	73,4 ± 8,6 [50-88]	23/37 (0,62)
CH Epinal	39 (10%)	71,2 ± 8,5 [52-85]	22/17 (1,29)
Alpha Santé	34 (9%)	71,9 ± 9,1 [54-90]	16/18 (0,89)
CH Toul	26 (7%)	73,2 ± 9,5 [47-87]	19/7 (2,71)
CH St Dié	21 (6%)	71,4 ± 10,7 [44-89]	16/5 (3,2)
Autres	12 (3%)	74,7 ± 5,9 [60-81]	6/6 (1)
Total	376	71,4 ± 10,6 [24-96]	190/186 (1,02)

Tableau XVI : Provenance et données démographiques de la population initiale (n=376).

La figure 25 montre que la tranche d'âge la plus représentée est celle des 71-80 ans avec 145 patients (38%) suivie par la tranche 61-70 ans avec 96 patients (26%). Les patients ayant 81 ans et plus sont 78 (21%) tandis que les patients de moins de 60 ans ne sont que 57 (15%).

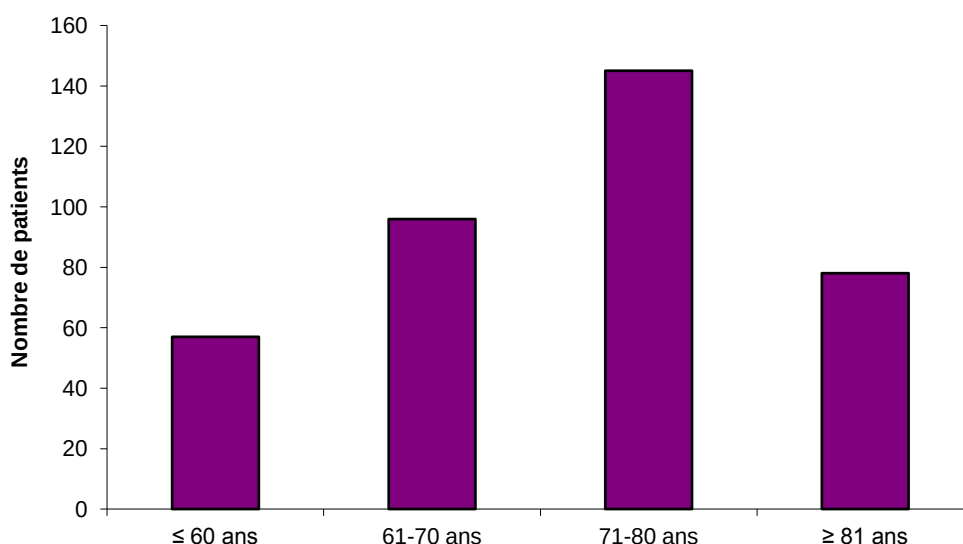


Figure 25 : Répartition par âge de la population initiale (n=376).

Les dosages des 3 biomarqueurs standards ont été réalisés chez ces 376 patients. Le tableau XVII montre que les valeurs moyennes d'A β_{42} diminuent significativement avec l'âge : elles passent de 581 pg/mL chez les moins de 60 ans à 444 pg/mL chez les 81 ans et plus (- 24%). A l'inverse du peptide A β_{42} , nous observons que les valeurs moyennes de Tau totale et de pTau augmentent significativement avec l'âge, passant de 363 pg/mL chez les moins de 60 ans à 456 pg/mL chez les 81 ans et plus (+ 26%) et de 57 pg/mL à 71 pg/mL (+ 24%) respectivement.

	Aβ_{42} (pg/mL) Moyenne $\pm$ ET	Tau totale (pg/mL) Moyenne $\pm$ ET	pTau (pg/mL) Moyenne $\pm$ ET
≤ 60 ans (n = 57)	581 $\pm$ 245	363 $\pm$ 303	57 $\pm$ 36
61-70 ans (n = 96)	522 $\pm$ 225	431 $\pm$ 319	68 $\pm$ 45
71-80 ans (n = 145)	484 $\pm$ 211	486 $\pm$ 322	76 $\pm$ 43
≥ 81 ans (n = 78)	444 $\pm$ 177	498 $\pm$ 292	74 $\pm$ 30
Total (n = 376)	500 $\pm$ 217 (p<0,001*)	456 $\pm$ 314 (p<0,01*)	71 $\pm$ 41 (p<0,01*)

Tableau XVII : Valeurs moyennes des 3 biomarqueurs standards par tranche d'âge.

* : Variation avec l'âge (test de Pearson)

La réalisation des dosages des biomarqueurs standards a permis de classer chaque patient en fonction de la conclusion du bilan biologique : patients dont le profil est évocateur d'une maladie d'Alzheimer (groupe A), profil biologique sans anomalie (groupe N), profil

non concluant (groupe I) et profil caractéristique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (groupe CJ) selon les critères mentionnés précédemment (*Figure 26*) :

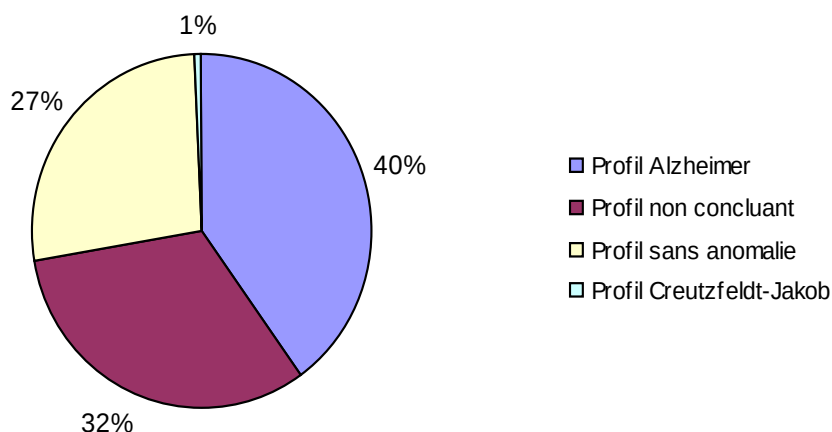


Figure 26 : Profil biologique initial après le dosage des 3 biomarqueurs standards (n=376).

Les résultats montrent qu'il est possible de poser une conclusion biologique à partir des biomarqueurs standards dans 68% des cas. 40% des patients ont un profil biologique typique d'une maladie d'Alzheimer, 27% un profil biologique sans anomalie et 1% un profil évocateur d'une maladie de Creutzfeldt-Jakob. Les 32% restant sont les patients présentant un profil biologique indéterminé ; ce sont ces patients qui vont bénéficier du dosage du peptide $A\beta_{40}$.

Les données démographiques des 4 groupes ont été répertoriés dans le tableau XVIII et indiquent que les patients présentant un profil biologique de type Alzheimer sont les plus nombreux (40%) et les plus âgés (74,1 ans $\pm$ 8,9) ; il s'agit de la catégorie où la proportion de femmes est la plus importante (*sex ratio* = 0,83). Les patients présentant un profil biologique sans anomalie représentent 27% des cas et sont plus jeunes (68,1 ans $\pm$ 10,9). Les 2 patients présentant un profil biologique initial Creutzfeldt-Jakob proviennent tous les 2 du service de Neurologie du CHU. Il est intéressant de noter que seul le groupe I (32% des patients) possède les mêmes caractéristiques démographiques que la population initiale.

	Effectifs	Moyenne d'âge ± écart-type [valeurs extrêmes] (en années)	Sexe : H/F (sex ratio)
Profil initial Alzheimer	150 (40%)	74,1 ± 8,9 [39-96] p<0,05*	68/82 (0,83)
Profil initial non concluant	122 (32%)	71 ± 11,4 [38-90] NS*	62/60 (1,03)
Profil initial sans anomalie	102 (27%)	68,1 ± 10,9 [24-87] p<0,05*	58/44 (1,32)
Profil initial Creutzfeldt- Jakob	2 (1%)	65,5 ± 4,9 [62-69] p<0,05*	2/0
Population initiale	376 (100%)	71,4 ± 10,6 [24-96]	190/186 (1,02)

Tableau XVIII : Caractéristiques des 4 profils biologiques initiaux.

* : Test de Student (comparaison avec population initiale)

La majorité des patients présentant un profil biologique initial de type Alzheimer provient du service de Gériatrie du CHU de Nancy (27%), ce qui correspond à 59% des patients pour lesquels ils ont demandé une recherche des marqueurs de la maladie d'Alzheimer. 30% des patients présentant un profil initial sans anomalie proviennent du service de Neurologie du CHU de Nancy, ce qui correspond à 28% de leurs patients.

Concernant les patients présentant un profil biologique initial indéterminé qui constitueront la population de l'étude, ils proviennent majoritairement du service de Neurologie du CHU de Nancy (39%) ce qui correspond à 37% des patients pour lesquels ce service a demandé une analyse des marqueurs de la maladie d'Alzheimer (*Tableau XIX*).

	Profil initial Alzheimer	Profil initial indéterminé	Profil initial normal	Profil initial Creutzfeldt- Jakob	Total
CHU Neurologie	33 (22%)	46 (39%)	32 (30%)	2 (100%)	113
CHU Gériatrie	42 (27%)	15 (12%)	14 (14%)	0	71
CH Lunéville	25 (17%)	15 (12%)	20 (20%)	0	60
CH Epinal	19 (13%)	10 (8%)	10 (10%)	0	39
Alpha Santé	10 (7%)	14 (11%)	10 (10%)	0	34
CH Toul	9 (6%)	8 (7%)	9 (9%)	0	26
CH St Dié	7 (5%)	10 (8%)	4 (4%)	0	21
Autres	5 (3%)	4 (3%)	3 (3%)	0	12
Total	150 (100%)	122 (100%)	102 (100%)	2 (100%)	376

Tableau XIX : Répartition des différents profils biologiques initiaux par service et hôpital.

La figure 27 montre que la proportion des profils biologiques initiaux de type Alzheimer augmente avec l'âge passant de 21% chez les moins de 60 ans à 51% chez les plus de 81 ans. Inversement, la proportion des profils biologiques sans anomalie diminue proportionnellement avec l'âge, passant de 40% chez les moins de 60 ans à 15% chez les plus de 80 ans.

La répartition des patients présentant un profil biologique initial non concluant est globalement constante quelque soit la tranche d'âge : 39% chez les moins de 60 ans, 33% chez les 61-70 ans, 29% chez les 71-80 ans et 33% chez les plus de 81 ans.

La répartition des valeurs moyennes des biomarqueurs de la population initiale (*Tableau XVII*) est directement dépendante de la répartition des différents profils biologiques dans chaque tranche d'âge (*Figure 27*) : l'augmentation de la proportion des profils Alzheimer et la diminution de celle des profils sans anomalie avec l'âge reflètent la diminution des valeurs médianes d' β_{42} et l'élévation de celles de Tau totale et pTau avec l'âge.

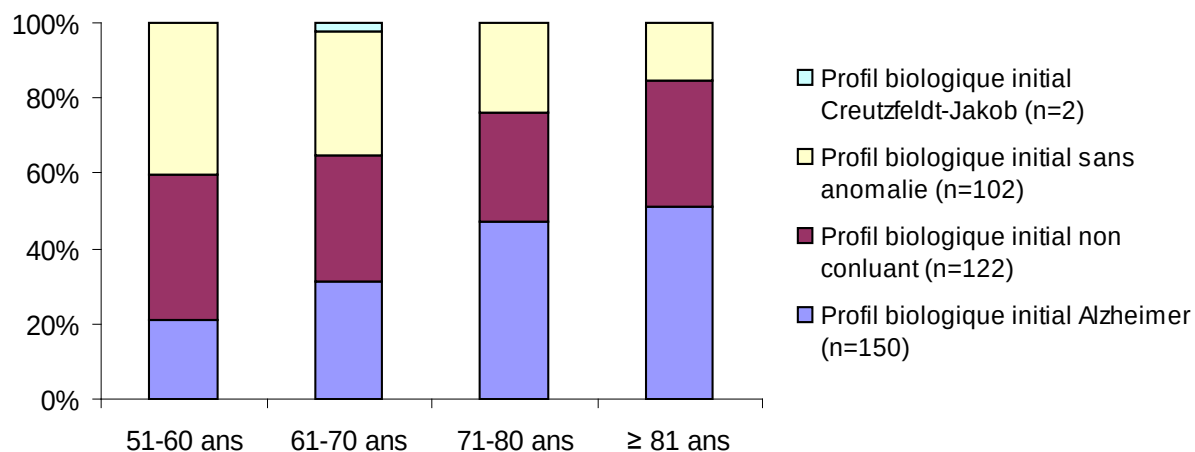


Figure 27 : Répartition des différents profils biologiques initiaux par tranches d'âge.

Les distributions des valeurs des différents paramètres biologiques mesurés ($A\beta_{42}$, Tau et pTau) et calculés (IATI, $ratio A\beta_{42}/pTau$) dans les différents groupes sont illustrées sur les figures ci-dessous (Figures 28, 29, 30, 31 et 32).

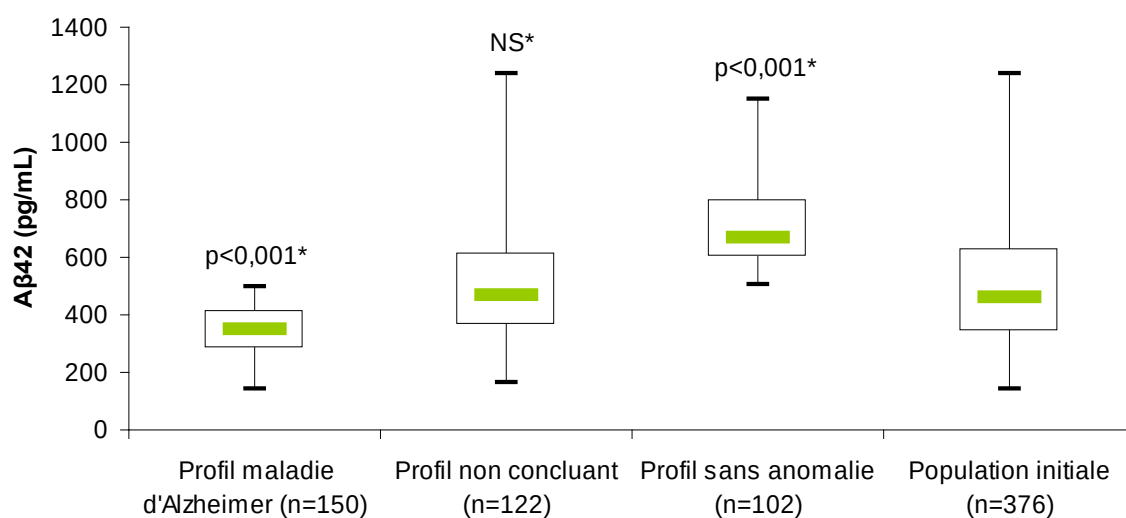


Figure 28 : Répartition des valeurs d' $A\beta_{42}$ dans les 3 profils et dans la population initiale.

* : Test de Wilcoxon (comparaison avec population initiale)

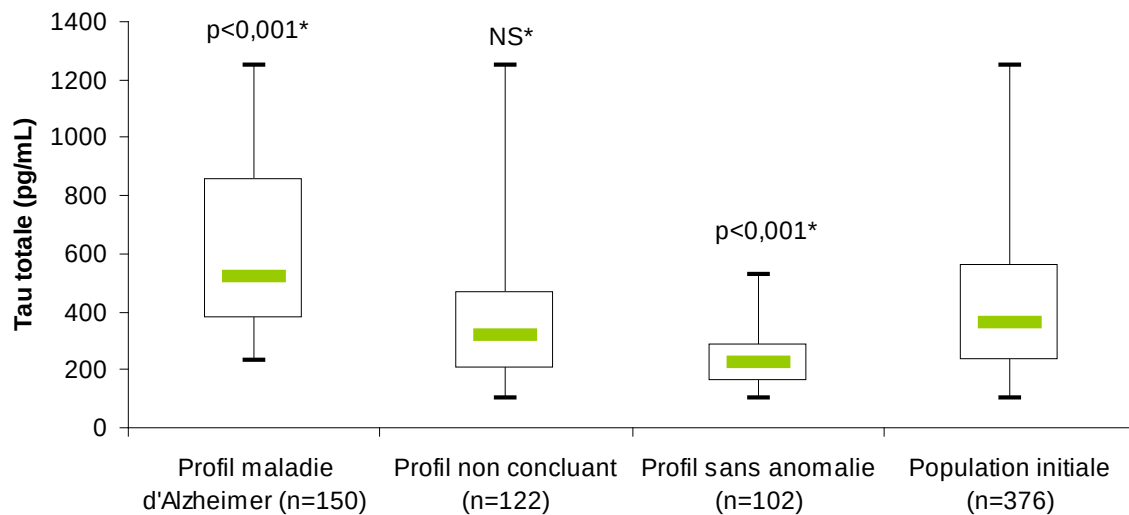


Figure 29 : Répartition des valeurs de Tau totale dans les 3 profils et dans la population initiale.

* : Test de Wilcoxon (comparaison avec population initiale)

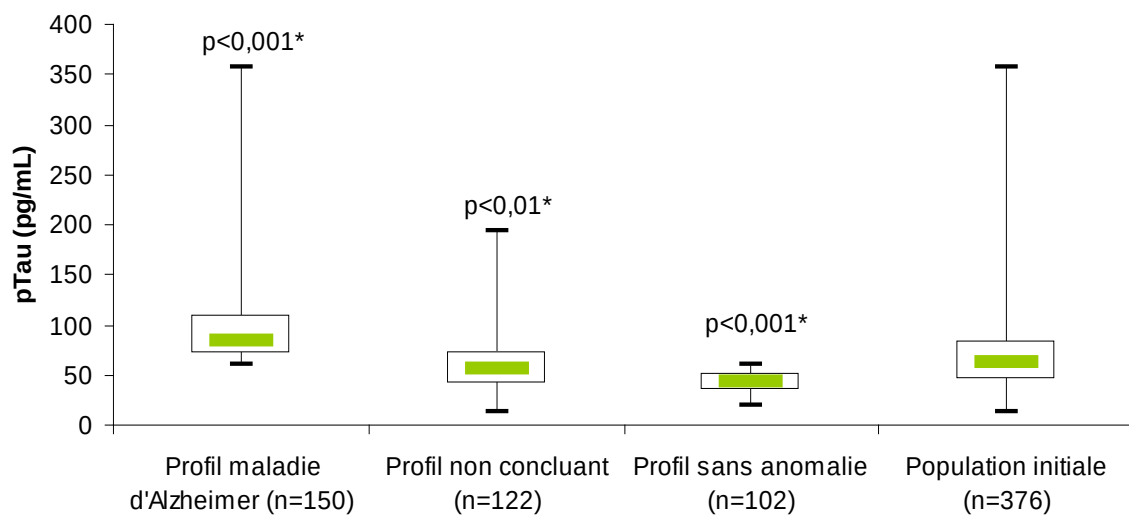


Figure 30: Répartition des valeurs de pTau dans les 3 profils et dans la population initiale.

* : Test de Wilcoxon (comparaison avec population initiale)

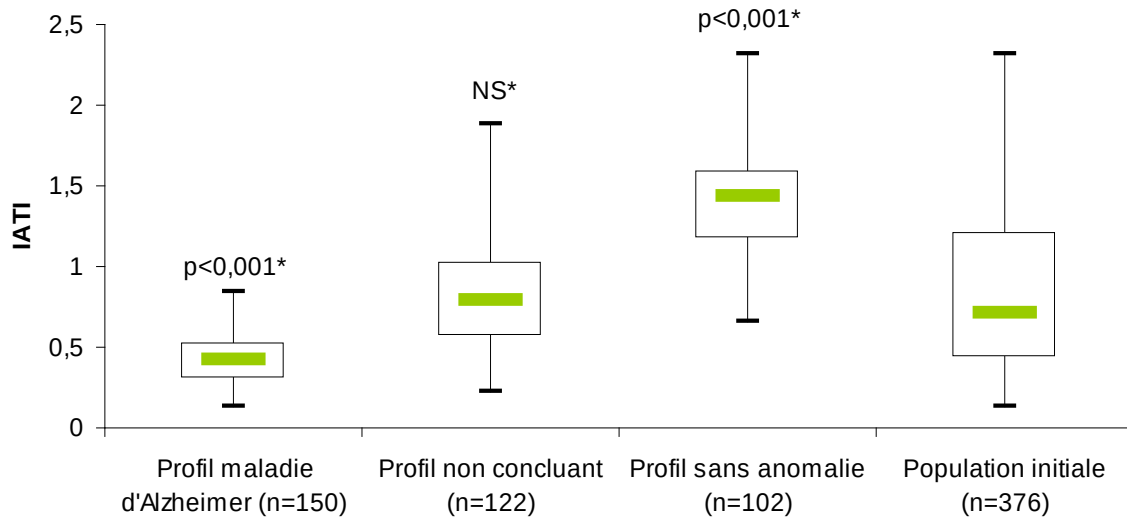


Figure 31 : Répartition des valeurs de IATI dans les 3 profils et dans la population initiale.

* : Test de Wilcoxon (comparaison avec population initiale)

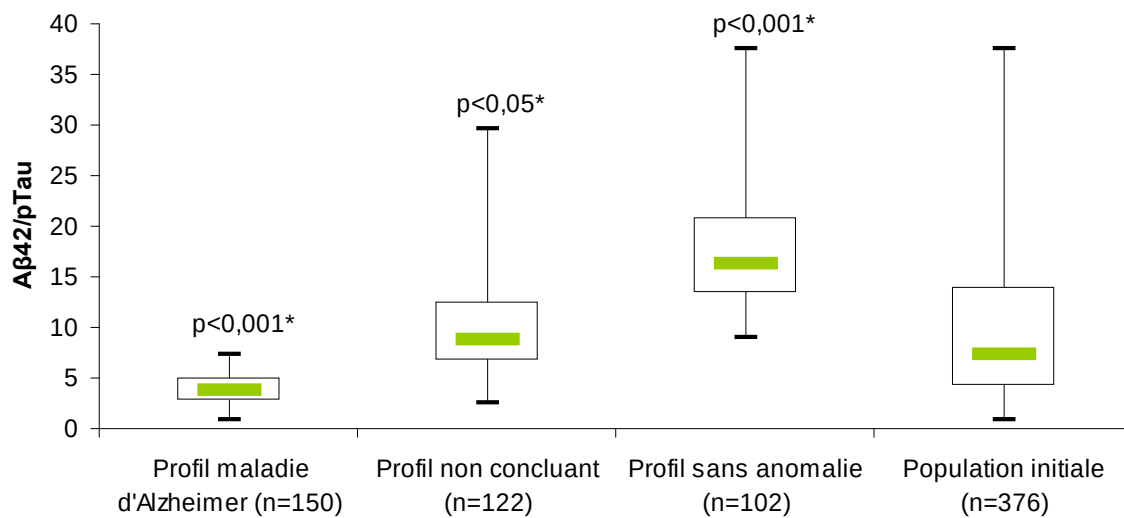


Figure 32 : Répartition des valeurs du ratio $A\beta_{42}/pTau$ dans les 3 profils et dans la population initiale.

* : Test de Wilcoxon (comparaison avec population initiale)

Comme attendu, les valeurs de peptide $A\beta_{42}$, de IATI et du ratio $A\beta_{42}/pTau$ des patients du groupe A sont plus basses que celles mesurées dans le groupe N. Inversement, les valeurs de Tau et de pTau sont plus élevées dans le groupe A que dans le groupe N. Concernant les patients du groupe I, il apparaît que, comme les caractéristiques démographiques (*Tableau XVIII*), les valeurs des biomarqueurs se rapprochent de celles

observées dans la population initiale : les distributions des valeurs d'A β ₄₂, de Tau totale et de IATI ne sont pas significativement différentes entre le groupe I et la population initiale.

Ces observations ne nous permettent pas d'identifier une population particulière pour laquelle le dosage du peptide A β ₄₀ pourrait être proposé d'emblée.

Nous nous sommes donc intéressés à ce groupe de patients afin d'évaluer si le dosage du peptide A β ₄₀ et le calcul du *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ peut apporter une nouvelle information permettant de conclure biologiquement.

2. Analyse du dosage du peptide A β ₄₀

Le dosage du peptide A β ₄₀ et le calcul du *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ ont été réalisés chez les 122 patients du groupe I pour lesquels les résultats biologiques des biomarqueurs standards n'ont pas permis de conclure.

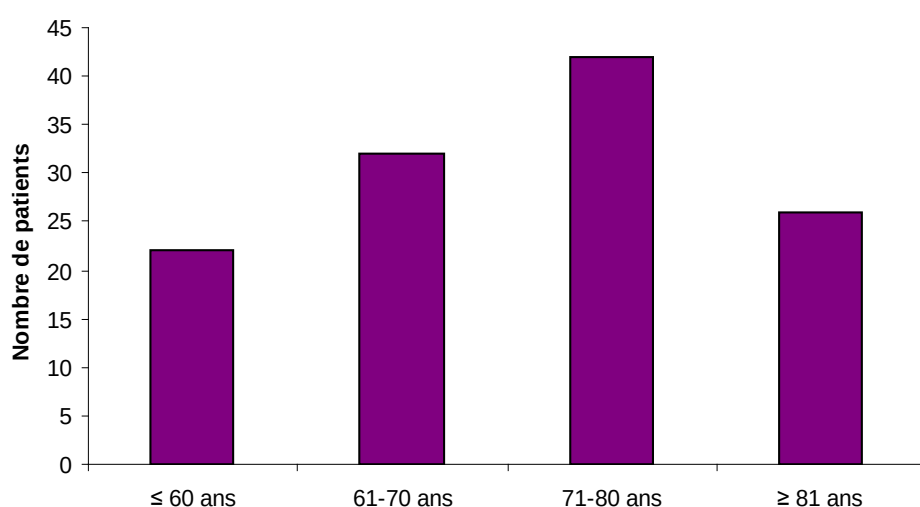


Figure 33 : Répartition par âge de la population de l'étude (n=122).

La figure 33 montre que la répartition par tranche d'âge de la population de l'étude est semblable à celle de la population initiale (*Figure 25*) : la moyenne d'âge est de 71 ans $\pm$ 11,4 et la tranche d'âge la plus représentée est celle des 71-80 ans (34%) suivie par la tranche 61-70 ans (26%).

La moyenne des valeurs d' $A\beta_{40}$ des 122 patients est de $11\,666 \pm 5\,933$ pg/mL avec des extrêmes allant de 2 467 à 24 749. La distribution des patients sur cette courbe est de type gaussien : 69% des patients ont un peptide $A\beta_{40}$ compris entre 4 000 et 16 000 pg/mL (*Figure 34*).

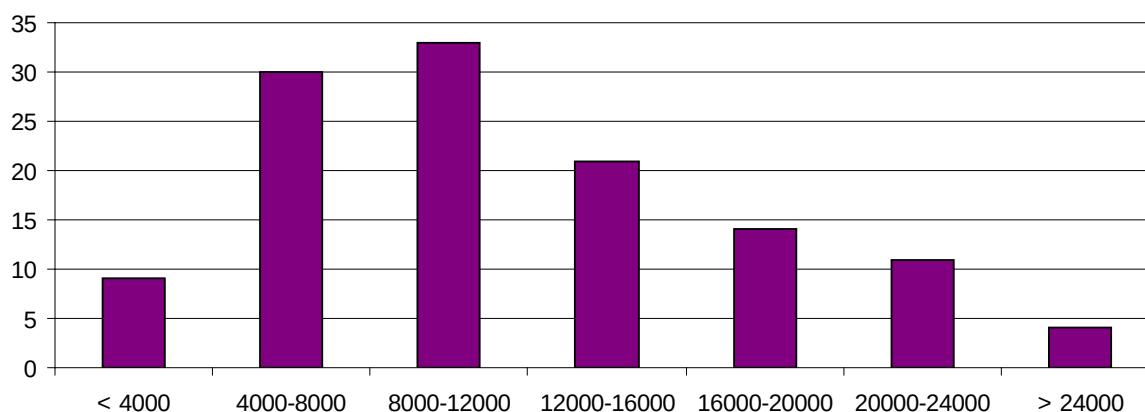


Figure 34 : Répartition des valeurs d' $A\beta_{40}$ dans la population de l'étude (n=122).

Le dosage du peptide $A\beta_{40}$ nous a permis de calculer le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ pour chaque patient. Le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ ne varie pas avec l'âge et la moyenne du *ratio* dans la population de l'étude est de $0,05 \pm 0,019$ avec des valeurs extrêmes allant de 0,023 à 0,11.

Le dosage d' $A\beta_{40}$ et le calcul du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ ont permis de séparer les 122 patients en fonction de la présence ou non d'une amyloïdopathie : 59% des patients présentent un *ratio* $< 0,05$ et 41% ont un *ratio* $\geq 0,05$.

L'intégration du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ avec les valeurs de pTau a permis de donner une nouvelle conclusion biologique pour chaque patient (*Tableau XX*).

	<i>ratio</i> $A\beta_{42}/A\beta_{40} < 0,05$	<i>ratio</i> $A\beta_{42}/A\beta_{40} \geq 0,05$
pTau ≤ 60 pg/mL	37 (Profil amyloïdopathie)	37 (Profil sans anomalie)
pTau > 60 pg/mL	35 (Profil Alzheimer)	13 (Profil non concluant)

Tableau XX : Répartition des patients après intégration du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ (n=122).

Le couple *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et pTau permet de poser une conclusion biologique pour 89% des patients : 29% des patients présentent un profil biologique final évocateur d'une maladie d'Alzheimer, 30% des patients n'ont finalement pas d'anomalie biologique et 30% présentent une diminution isolée du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ suggérant une amyloïdopathie (MCI ou état MCI). Dans seulement 11% des cas, le bilan reste discordant et ne permet toujours pas de conclure biologiquement : il s'agit des patients présentant une élévation de pTau, soit isolée, soit associée à une élévation de Tau (*Figure 35*).

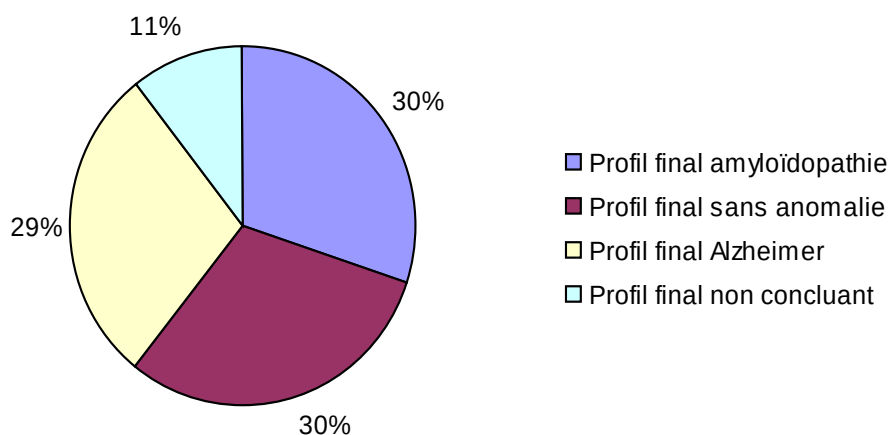


Figure 35 : Profil biologique final après l'intégration du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ (n=122).

Le peptide $A\beta_{40}$ a donc rempli ses fonctions de « marqueur de deuxième intention » pour 89% des patients de l'étude lorsqu'il est associé à pTau. Cependant, les patients présentant un profil biologique final de type amyloïdopathie non Alzheimer auraient déjà pu être classés de cette manière sans la valeur du peptide $A\beta_{40}$: le peptide $A\beta_{42}$ seul < 500

pg/mL permettait de conclure à la présence d'une amyloïdopathie ; le calcul du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ pour ces patients a simplement permis de confirmer cette amyloïdopathie.

Autrement dit, le dosage du peptide $A\beta_{40}$ a été le plus pertinent pour les patients présentant un profil biologique final Alzheimer ainsi que pour ceux présentant un profil biologique sans anomalie soit 72 patients (59%).

Par ailleurs, parmi les 122 patients de l'étude qui présentent des valeurs discordantes des biomarqueurs standards, 74 d'entre eux (61%) présentent une diminution du taux d' $A\beta_{42}$ associée à un niveau de pTau normal, tandis que 48 (39%) ont un peptide $A\beta_{42}$ normal associé à une élévation de pTau. Nos résultats montrent que le dosage du peptide $A\beta_{40}$ et le calcul du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ ont permis de conclure à un profil final sans anomalie chez 37 de ces 74 patients soit 50% et à un profil final Alzheimer chez 35 de ces 48 patients soit 73%. Au terme de l'ensemble des dosages biologiques, seuls 13 patients restent dans une impasse biologique puisqu'ils présentent une élévation isolée de pTau.

3. Confrontation clinico-biologique

Le profil biologique final de chaque patient a été comparé au diagnostic retenu par les cliniciens après leur démarche diagnostique complète. Nous avons classé les diagnostics en 5 catégories de la manière suivante :

- maladie d'Alzheimer et démence mixte
- MCI
- MCL
- autres pathologies ne présentant pas de perturbation d' $A\beta_{42}$ ni de pTau : cette catégorie regroupe aussi bien des troubles neurologiques (DLFT, paralysie supranucléaire progressive, démence corticobasale, démence vasculaire, maladie de Creutzfeldt-Jakob, SEP, hydrocéphalie à pression normale, tumeurs cérébrales) que psychiatriques (dépression, psychose maniaco-dépressive...)
- diagnostic en attente

Les diagnostics retenus chez les 122 patients en fonction du profil biologique final sont représentés dans le tableau suivant (*Tableau XXI*).

	Profil final autre amyloïdopathie (n = 37)	Profil final Alzheimer (n = 35)	Profil final sans anomalie (n = 37)	Profil final non concluant (n = 13)	Total (n = 122)
Maladie d'Alzheimer et démence mixte	7 (19%)	26 (74%)	4 (11%)	2 (15%)	39 (32%)
MCI	2 (5%)	5 (14%)	2 (5%)	1 (8%)	10 (8%)
MCL	3 (8%)	0	3 (8%)	0	6 (5%)
Autres pathologies	21 (57%)	1 (3%)	24 (65%)	8 (62%)	54 (44%)
Diagnostic en attente	4 (11%)	3 (9%)	4 (11%)	2 (15%)	13 (11%)

Tableau XXI : Diagnostics retenus dans la population de l'étude en fonction du profil biologique final (n=122).

Nous observons que parmi les 35 patients présentant un profil biologique évocateur de maladie d'Alzheimer, le diagnostic de maladie d'Alzheimer ou de démence mixte a été retenu dans 74% des cas et le stade MCI dans 14% des cas. Seul un patient de ce profil présente une autre pathologie soit 3% ; les 9% restant concernent les patients dont les diagnostics sont en attente. La majorité des patients présentant un profil biologique sans anomalie se trouve dans la catégorie des autres pathologies (65%).

Les profils de type autre amyloïdopathie et non concluant regroupent en majorité des patients dont le diagnostic retenu est une autre pathologie (57% et 62%) suivis dans les 2 profils par des malades d'Alzheimer (19% et 15%).

Chaque point de la figure suivante représente un patient en fonction de la catégorie de son diagnostic et des valeurs des peptides $A\beta_{42}$ et $A\beta_{40}$ (*Figure 36*). La ligne seuil *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ est à 0,05. Les patients se situant en dessous de cette ligne ont un *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40} < 0,05$, ce qui correspond à la présence d'une amyloïdopathie et inversement. Les 13 patients pour lesquels le diagnostic est en attente ne sont pas représentés.

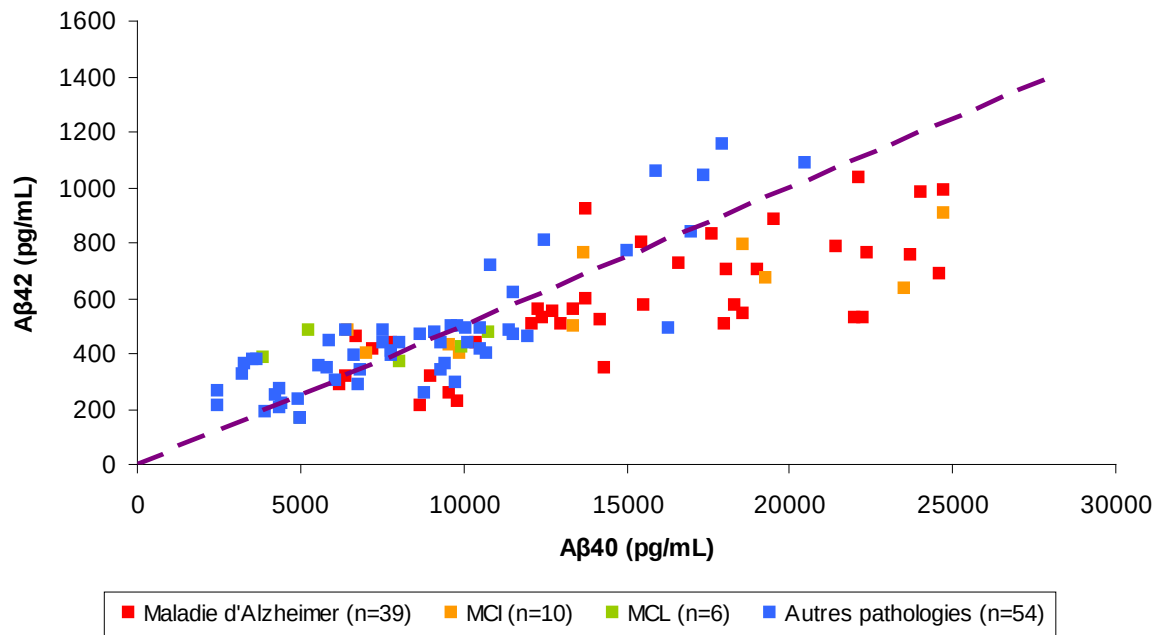


Figure 36 : Représentation des patients avec leurs diagnostics en fonction de la ligne seuil du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ (n=109).

Les points rouges représentent les malades d’Alzheimer : ils se situent majoritairement (85%) sous la ligne seuil fixée à 0,05, zone caractérisant la présence d’une amyloïdopathie. C’est également le cas concernant les points oranges, représentant les patients au stade MCI, qui sont eux aussi décrits comme présentant une amyloïdopathie (70%).

Les patients diagnostiqués comme porteurs de MCL sont représentés par les points verts : sur les 6 patients, la moitié se situe sous le seuil de 0,05 du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et présente une amyloïdopathie, l’autre moitié se situe au dessus.

Les patients du groupe des autres pathologies sont représentés par les points bleus : ils se situent de part et d’autre de la ligne seuil fixée à 0,05 : 22 patients sont sous la ligne (41%), zone considérée comme avec une anomalie de la voie amyloïde, tandis que les 32 autres se situent au dessus (59%).

Pour calculer les performances du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ seul, nous avons retiré les 13 patients dont le diagnostic est en attente ainsi les 16 patients diagnostiqués en MCI et MCL, chez lesquels il est classiquement décrit une diminution de $A\beta_{42}$. Dans les conditions de l’étude, le ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ seul avec le seuil de 0,05 possède une sensibilité de 85% et une spécificité de 59% pour le diagnostic de maladie d’Alzheimer par rapport aux autres pathologies n’entraînant classiquement pas de perturbations des biomarqueurs.

Après intégration de pTau avec le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$, nous obtenons la figure suivante représentant la situation biologique des 109 patients pour lesquels un diagnostic a été posé (nous avons exclu du graphique les patients pour lesquels le diagnostic est en attente). La ligne horizontale représente le seuil du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ fixé à 0,05 tandis que la ligne verticale représente le seuil de pTau fixé à 60 pg/mL. Les 4 zones du graphique représentent ainsi les 4 profils biologiques finaux (*Figure 37*).

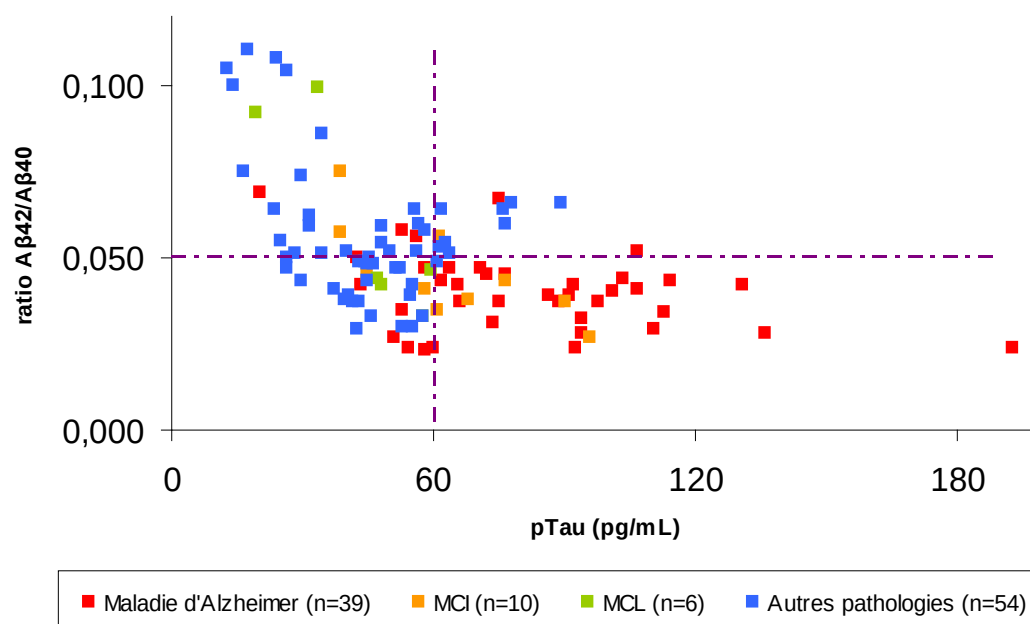


Figure 37 : Représentation de la situation biologique des patients en fonction du diagnostic retenu (n=109).

Comme sur la figure précédente, les points rouges représentent les malades d'Alzheimer : biologiquement, ils se situent en majorité (67%) dans le coin inférieur droit correspondant au profil biologique évocateur de maladie d'Alzheimer (*ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40} < 0,05$ et pTau > 60 pg/mL).

Les points oranges, représentant les patients au stade MCI, se répartissent globalement en dessous du seuil de 0,05 du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ (70%), correspondant à une amyloïdopathie et de part et d'autre de la valeur de 60 pg/mL de pTau (profil final Alzheimer (50%) et profil final autre amyloïdopathie (20%)).

Aucun patient porteur de MCL ne se situe dans la partie droite du graphique signifiant qu'aucun n'a une élévation de pTau, isolée ou pas.

Les autres maladies sans anomalie d' $A\beta_{42}$ ni de pTau sont représentées par les points bleus. On remarque qu'un seul point bleu (2%) se situe dans le coin inférieur droit.

Cependant, tous les points ne sont pas dans la partie supérieure gauche correspondant au profil biologique sans anomalie (44%) : de nombreux patients présentent un $ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40}$ abaissé correspondant au profil biologique de type amyloïdopathie (39%) ou une élévation de pTau correspondant au profil biologique non concluant (15%).

Nous avons évalué d'autres seuils pour le $ratio\ A\beta_{42}/A\beta_{40}$ ainsi que pour pTau. Les courbes ROC des différents seuils sont les suivantes (*Figures 38 et 39*) :

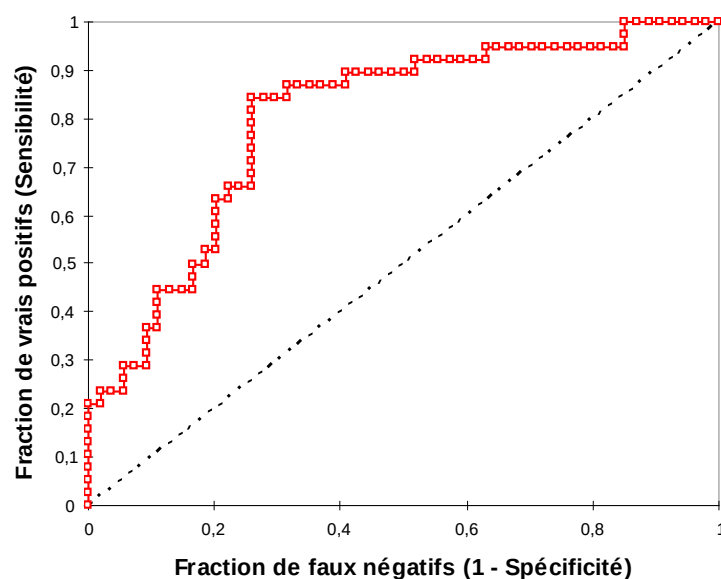


Figure 38 : Courbe ROC du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ pour la discrimination des sujets Alzheimer des sujets atteints d'autres pathologies.

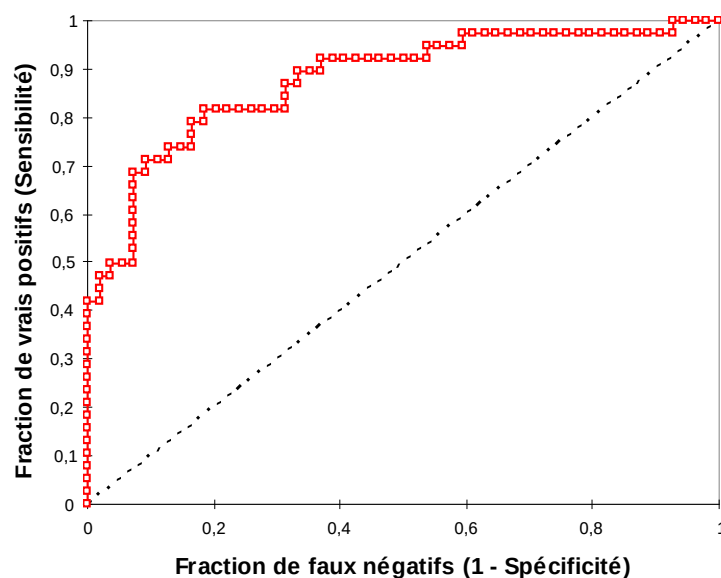


Figure 39 : Courbe ROC de pTau pour la discrimination des sujets Alzheimer des sujets atteints d'autres pathologies.

Les aires sous la courbe pour les 2 paramètres pour différencier les sujets Alzheimer des autres pathologies sont les suivantes : 0,798 pour le ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et 0,876 pour pTau.

En associant le résultat du *ratio* à celui de pTau, le couple *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et pTau avec les valeurs seuils retenues dans l'étude pour le diagnostic de maladie d'Alzheimer par rapport au groupes des autres pathologies possède une très bonne spécificité (98%) mais une sensibilité moyenne (67%) pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer.

Nous avons évalué d'autres seuils pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ ainsi que pour pTau. Le couple *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et pTau présente alors les sensibilités et spécificités suivantes (*Tableau XXII*) :

Sensibilité/Spécificité (%)		Valeur seuil de pTau (pg/mL)			
		54	56	58	60
Valeur seuil du <i>ratio</i> $A\beta_{42}/A\beta_{40}$	0,05	77/91	74/96	72/98	67/98
	0,048	77/93	74/98	72/100	67/100
	0,046	69/93	67/98	64/100	62/100

Tableau XXII : Sensibilité et spécificité du test en fonction des valeurs seuils du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et de pTau.

En utilisant les valeurs seuils fournies par le laboratoire Innogenetics[®], la sensibilité est de 67% et la spécificité de 98%. Dans notre étude et avec cette population particulière, la meilleure performance du test s'obtient avec les valeurs seuils suivantes : 56 pg/mL pour pTau et 0,048 pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$. La sensibilité est alors de 74% et la spécificité de 98%. Les résultats nous montrent qu'en utilisant les valeurs seuils de 0,048 pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et de 58 pg/mL pour pTau, nous obtenons 100% de spécificité et 72% de sensibilité : ce sont les seuils que nous proposons permettant d'affirmer que tous les patients présentant un profil biologique final de type Alzheimer se sont vus posée le diagnostic de maladie d'Alzheimer par les cliniciens.

Nous nous sommes intéressés aux patients pour lesquels le diagnostic posé est la maladie d'Alzheimer puisque c'est le diagnostic ciblé par les biomarqueurs. Sur les 122 patients de l'étude, 39 diagnostics de maladies d'Alzheimer ont été posés. Les résultats montrent que 67% de ces patients ont un profil biologique final évocateur d'une maladie d'Alzheimer et 18% un profil biologique final en faveur d'une autre amyloïdopathie (*Figure 38*). Cela signifie que pour 85% de ces patients le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ est inférieur à 0,05. Seuls 10% des patients diagnostiqués comme malades d'Alzheimer présentent un profil biologique sans anomalie et 5% un profil non concluant.

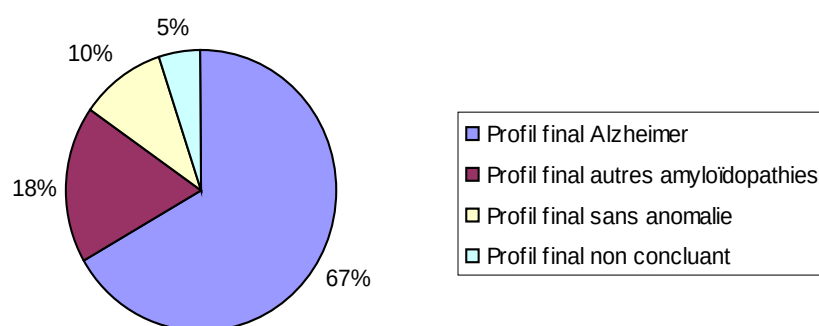


Figure 40 : Profil biologique final chez les malades d'Alzheimer (n=39).

En utilisant les seuils que nous proposons, à savoir 0,048 pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et 58 pg/mL pour pTau, la proportion de profil final Alzheimer s'élève à 72% et celle de profil autre amyloïdopathie diminue à 13%. Les proportions des 2 autres profils biologiques restent les mêmes.

VII. DISCUSSION

Afin d'évaluer l'intérêt du dosage complémentaire du peptide $A\beta_{40}$ dans la pratique courante au laboratoire, nous avons proposé de réaliser ce dosage chez tous les patients ayant bénéficiés des dosages des biomarqueurs standards et pour lesquels le bilan biologique ne permettait pas de conclure.

Dans un premier temps, nous avons réalisé une étude descriptive de la population initiale afin de connaître ses caractéristiques démographiques et biologiques. Nos critères de classification des patients dans les différents profils biologiques initiaux n'ont tenu compte que des valeurs du peptide $A\beta_{42}$ et de la protéine Tau phosphorylée. Le profil biologique typique d'un malade d'Alzheimer associe également une élévation de la protéine Tau totale, cependant, en pratique courante, les variations de ce marqueur passent au second plan par rapport à celles des 2 autres marqueurs, plus spécifiques de la maladie d'Alzheimer.

Au terme de ces dosages, nous avons montré que les caractéristiques des patients présentant un profil biologique évocateur de maladie d'Alzheimer sont en adéquation avec les données épidémiologiques. En effet, dans la population générale, la maladie voit sa prévalence fortement augmenter avec l'âge [15] et les femmes sont globalement plus touchées par la maladie que les hommes [6]. Dans notre population d'étude, la proportion des patients présentant un profil biologique initial évocateur de maladie d'Alzheimer augmente avec l'âge et le *sex ratio* de ce groupe de patients est de 0,83 contre 1,02 pour celui de l'ensemble de la population de l'étude. La majorité de ces patients proviennent du service de Gériatrie du CHU de Nancy (27%), service qui accueille une population plus âgée tandis que le service de Neurologie du CHU de Nancy, dont le recrutement touche des sujets plus jeunes et présentant des maladies neurologiques parfois de diagnostic difficile, a les proportions de profils biologiques sans anomalie (30%) et non concluant (39%) les plus importantes.

A partir des critères de classification, nos résultats montrent qu' $A\beta_{42}$ associée à pTau nous ont permis de conclure biologiquement dans 68% des cas soit une absence de conclusion claire pour près d'1 cas sur 3 en pratique médicale courante. Ce chiffre est supérieure à celui fourni par le laboratoire Innogenetics® qui relate une proportion moyenne d'environ 20% de profils biologiques discordants (données non publiées). Le laboratoire Innogenetics® ne communique cependant pas sur quels critères biologiques il considère les marqueurs comme discordants. L'identification d'une population cible pour laquelle le dosage d' $A\beta_{40}$ pourrait

être réalisé d'emblée était l'un de nos objectifs secondaires : l'analyse de la population d'étude montre que les critères démographiques et biochimiques sont semblables à ceux de la population initiale, ne permettant pas d'isoler un tel groupe.

Dans un second temps, le bilan biologique des patients présentant un profil biologique initial non concluant a été complété par le dosage du peptide βA_{40} afin d'ajuster la charge amyloïde totale de chaque patient [154] et de calculer le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$. Cela nous a permis d'apporter une nouvelle conclusion biologique à ces patients présentant des valeurs d' $A\beta_{42}$ et de pTau discordantes.

Du point de vue du biologiste, le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ associé à pTau a permis de conclure chez 89% de ces patients parmi les 3 profils suivants : profil évocateur de maladie d'Alzheimer (29%), profil sans anomalie (30%) et profil de type amyloïdopathie (30%). Seuls 11% des patients présentent une élévation isolée de pTau et restent sans conclusion biologique claire. L'élévation isolée de pTau correspond à une impasse biologique puisqu'aucune pathologie décrite ne présente ce profil. En observant ces 13 patients, on s'aperçoit que seuls 3 d'entre eux ont une élévation associée de la protéine Tau totale au-delà de 500 pg/mL tandis que 10 (77%) d'entre eux ont une élévation isolée de pTau. Aucun diagnostic retenu chez ces patients n'est plus fréquent qu'un autre : il semble que les cliniciens s'appuient sur d'autres arguments que la biologie pour poser leur diagnostic dans ces cas. Une étude plus approfondie et un suivi de ces sujets pourraient permettre d'identifier une population particulière.

Du point de vue du clinicien, seuls le profil final Alzheimer et celui sans anomalie sont pertinents : ils permettent d'affirmer ou d'infirmer directement le diagnostic de maladie d'Alzheimer en fonction des autres arguments du diagnostic. Dans notre étude, ces 2 profils représentent 59% des patients dont le profil biologique initial était discordant. Cela signifie qu'au terme de l'ensemble des dosages, la biologie apporte une conclusion pertinente aux cliniciens pour 87% des 376 patients. Le profil biologique final de type amyloïdopathie n'est pas directement pertinent pour le clinicien. Chez ces patients, le dosage d' $A\beta_{40}$ a peut être été moins intéressant étant donné que le peptide βA_{42} seul était déjà abaissé, néanmoins, il a permis de confirmer la présence de cette amyloïdopathie et renforce la certitude de cette conclusion biologique. La diminution isolée du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$, indiquant une baisse du peptide $A\beta_{42}$, pourrait traduire la présence, chez ces patients, de l'établissement du processus

amyloïde pathogène [116]. D'après plusieurs études, il s'agirait du marqueur le plus précocement perturbé dans la maladie d'Alzheimer [112] et prédirait la conversion en maladie d'Alzheimer chez les sujets au stade MCI [153]. Hansson *et al.* (2007) ont identifié, dans une population de MCI, les sujets évoluant vers une maladie d'Alzheimer sur une période de 4 ans en utilisant le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$. Cette étude montre 87% de sensibilité et 78% de spécificité [153]. Dans notre étude, nous comptons 10 patients au stade MCI ; parmi eux, 7 (70%) présentent une diminution du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40} < 0,05$ et 3 (30%) présentent un *ratio* normal. Nous n'avons pas la notion du type de MCI retenus pour ces patients : il serait intéressant de savoir si les MCI amnésiques présentent un *ratio* plus faible que les autres types de MCI. Il serait également intéressant de suivre l'évolution de ces 10 patients et d'observer si ceux présentant une amyloïdopathie vont plus convertir vers une maladie d'Alzheimer et dans quel délai.

De plus, dans la MCL, des plaques amyloïdes ont fréquemment été observées et une diminution du peptide $A\beta_{42}$ a été décrite [120, 121]. La moitié des cas de MCL de notre étude présente un profil de type amyloïdopathie. Bien qu'il ne s'agisse pas d'un argument typique pour le diagnostic de MCL, un profil biologique final de type amyloïdopathie, chez ces patients dont la MCL fait partie des hypothèses apporte un argument diagnostique. Actuellement, d'autres marqueurs sont à l'étude pour le diagnostic de MCL, comme l' - synucléine. Des études sont également en cours sur l'intérêt des formes tronquées du peptide $A\beta$. Le peptide $A\beta_{38}$ et le *ratio* $A\beta_{38}/A\beta_{42}$ seraient notamment intéressants pour le diagnostic différentiel entre la MCL et la maladie d'Alzheimer, d'après Mulugeta *et al.* (2011) [123].

Ainsi, bien que le profil biologique final de type amyloïdopathie ne soit pas toujours directement exploitable par le clinicien, il peut, dans certains cas, apporter une information intéressante. Au terme de l'ensemble des dosages, nous pouvons considérer qu'il s'agit d'une nouvelle conclusion biologique intéressante pour 89% des patients dont le profil initial était discordant, ce qui représente près de 97% de l'ensemble des patients pour lesquels une demande de dosage des biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer a été prescrite.

Nous avons confronté la conclusion biologique avec les diagnostics retenus par les cliniciens. Les performances du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ seul pour le diagnostic de maladie d'Alzheimer par rapport aux autres pathologies sans anomalie d' $A\beta_{42}$ ni de pTau sont de 85% pour la sensibilité et 59% pour la spécificité dans la population particulière de notre étude. Le *ratio* seul a une bonne sensibilité mais une spécificité moyenne. Ces résultats confirment la

nécessité d'utiliser ces marqueurs en combinaison pour optimiser leur performance et notamment leur spécificité.

En intégrant les valeurs de pTau au *ratio*, les performances du test dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer par rapport aux autres pathologies sans anomalie d'A β ₄₂ ni de pTau sont de 67% pour la sensibilité et 98% pour la spécificité. Dans la littérature, des valeurs plus élevées de sensibilité et spécificité ont été décrites, mais il s'agit d'études comparant des malades d'Alzheimer à des individus sains [82]. Pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer par rapport à d'autres pathologies comprenant notamment des démences neurodégénératives, la valeur de spécificité de notre étude est au-delà de celles des autres biomarqueurs actuels, qu'ils soient utilisés seuls ou en association. Une des difficultés diagnostiques majeures actuellement réside dans la différenciation de la maladie d'Alzheimer et des autres maladies neurologiques ou psychiatriques pouvant présenter des tableaux cliniques et/ou radiologiques atypiques ou difficiles à interpréter. Une bonne spécificité des marqueurs est donc un objectif majeur. Dans notre étude, nous obtenons des valeurs de spécificité au-delà de celles des autres biomarqueurs actuels, qu'ils soient utilisés seuls ou en association. Dans le cadre du diagnostic différentiel, le *ratio* A β ₄₂/Tau totale montre des valeurs de sensibilité et spécificité de 71% et 83% pour le diagnostic de maladie d'Alzheimer par rapport à des sujets présentant d'autres démences [202]. Dans l'étude de Maddalena *et al.* (2003), des valeurs de sensibilité à 80% et de spécificité à 73% ont été observées en utilisant la combinaison de pTau avec A β ₄₂ pour le diagnostic de maladie d'Alzheimer parmi des autres causes de démences [132]. Enfin le *ratio* pTau/Tau totale obtient, dans cette indication, des valeurs de sensibilité à 96% et de spécificité à 86%, d'après Hu *et al.* (2002) [81].

Nous avons cherché à optimiser les valeurs seuils afin d'augmenter les performances du test : il s'avère que la meilleure performance de l'association du *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ avec pTau (sensibilité de 74% et spécificité de 98%) s'obtient avec les seuils de 56 pg/mL pour pTau et 0,048 pour le *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀. Toutefois, ce sont 58 pg/mL pour pTau et 0,048 pour le *ratio* que nous proposons puisque ces valeurs seuils apportent 100% de spécificité sans trop diminuer la sensibilité (72%). Une valeur seuil de pTau inférieure à 60 pg/mL a également été décrite dans 2 études qui ont évalué le seuil optimal dans le diagnostic de maladie d'Alzheimer respectivement à 50,4 pg/mL [203] et 53 pg/mL [204].

Du fait de sa spécificité très élevée, l'intégration du *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ avec pTau en fait un bon test pour conforter l'hypothèse diagnostique de maladie d'Alzheimer. Ces résultats sont d'autant plus encourageants qu'il s'agit d'un test indiqué en seconde intention dans une

population d'individus malades et présentant des marqueurs biologiques discordants dans un 1^{er} temps. Cependant, la sensibilité reste moyenne (< 75%) : cela signifie que, dans notre population de patients biologiquement discordants, malgré les dosages des biomarqueurs standards, auxquels s'ajoutent le dosage d'A β ₄₀, 1 patient sur 4 dont le diagnostic retenu par les cliniciens est la maladie d'Alzheimer ne présente pas de profil biologique de type Alzheimer.

L'intérêt de ce travail par rapport aux études publiées par ailleurs réside dans le fait que nous avons recruté les patients sur la base d'une discordance dans le bilan biologique. Cela nous a permis de déterminer l'intérêt du *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ en pratique courante et en seconde intention lorsque les biomarqueurs habituels sont insuffisants. *A contrario*, cela ne nous permet pas de comparer les valeurs des différents marqueurs avec celles des autres études dont le recrutement est généralement basé sur le diagnostic final (maladie d'Alzheimer vs sujets témoins ou vs autres maladies neurodégénératives).

Enfin, concernant le groupe des autres pathologies n'entraînant pas d'anomalie d'A β ₄₂ ni de pTau, la répartition des patients dans les différents profils biologiques finaux est peu discriminante. Cette constatation corrobore le fait que les biomarqueurs sont spécifiques de la maladie d'Alzheimer et qu'il s'agit de leur principale indication. Leur utilisation dans le diagnostic différentiel des autres causes de démences, dégénératives ou autres, et des autres pathologies neurologiques ou psychiatriques, est peu contributive. Le diagnostic de ces diverses pathologies doit s'appuyer sur des marqueurs, biologiques ou autres, spécifiques de chacune d'entre elles.

Un seul patient du groupe des autres pathologies présente un profil biologique évocateur de maladie d'Alzheimer. Il s'agit d'un patient souffrant de maladie de Parkinson et les valeurs des biomarqueurs sont à la limite des seuils : *ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ à 0,049 et pTau à 61 pg/mL. En utilisant les seuils que nous proposons (*ratio* A β ₄₂/A β ₄₀ à 0,048 et pTau à 58 pg/mL), ce patient présenterait un profil biologique non concluant (élévation isolée de pTau). De plus, il faut ajouter que, comme dans toutes les études ne comportant pas de confirmation anatomopathologique, les diagnostics retenus de maladie d'Alzheimer ne sont pas certains et l'erreur diagnostique est toujours possible. En plus de l'absence de diagnostic de certitude, la démarche diagnostique n'a pas été standardisée entre les différents centres et cliniciens et les

erreurs diagnostiques peuvent être source de biais. D'autre part, l'interaction clinicien-biologiste, qui est de plus en plus fréquente, n'est pas encore généralisée à toute la région.

VIII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude a évalué l'intérêt du dosage du peptide $A\beta_{40}$ pour le diagnostic de maladie d'Alzheimer en pratique courante au laboratoire de biochimie spécialisée du CHU de Nancy. Ainsi, nous avons effectué ce dosage chez tous les patients ayant bénéficié d'une PL pour l'analyse des 3 biomarqueurs habituellement préconisés lors de la recherche d'une maladie d'Alzheimer chez des sujets présentant des signes cognitifs atypiques ou chez des sujets jeunes présentant des signes neuropsychologiques évocateurs de maladie d'Alzheimer. Nos résultats montrent que ce dosage est particulièrement intéressant dans cette population. En effet, il nous a permis d'améliorer l'interprétation biologique et d'augmenter la proportion de conclusions de 67% à 97% dont 87% directement pertinente pour le clinicien. Par conséquent, notre travail confirme le bénéfice de l'utilisation du *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ en seconde intention et l'intérêt de la prescription biologique de ce marqueur lorsque pTau et $A\beta_{42}$ présentent des résultats divergents.

Nous avons, par ailleurs, pu réajuster les seuils de ces 2 marqueurs dans cette population particulière. Les valeurs seuils de 0,048 pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et de 58 pg/mL pour pTau permettant d'atteindre une spécificité de 100% et une sensibilité de 72%. Ces résultats méritent évidemment d'être confirmés par d'autres centres et sur un nombre de patients plus conséquent. Il serait par ailleurs intéressant de suivre les patients MCI que nous avons identifiés dans la population d'étude puisque ce *ratio* est décrit dans la littérature comme étant un marqueur de risque de conversion vers une maladie d'Alzheimer et que la précocité du diagnostic est un enjeu majeur en terme de prise en charge. Ce travail confirme que les bilans biologiques pour lesquels il est impossible de conclure restent ceux présentant une valeur isolément élevée de pTau. Une étude plus approfondie et un suivi de ces patients pourrait apporter à l'avenir des éléments d'interprétations complémentaires. Enfin, pour les cas les plus complexes, les réunions de concertations pluridisciplinaires facilitant le dialogue clinico-biologique sont indispensables et apportent des points de vue différents pour une vision plus globale de chaque dossier.

ANNEXES

Annexe 1:

Critères diagnostiques pour la maladie d'Alzheimer selon le DSM IV

1. Apparition de déficits cognitifs multiples, comme en témoigne à la fois :
 - 1A. une altération de la mémoire (altération de la capacité à apprendre des informations nouvelles ou à se rappeler les informations apprises antérieurement) ;
 - 1B. une (ou plusieurs) des perturbations cognitives suivantes :
 - a. aphasie (perturbation du langage) ;
 - b. apraxie (altération de la capacité à réaliser une activité motrice, malgré des fonctions motrices intactes) ;
 - c. agnosie (impossibilité de reconnaître ou d'identifier les objets malgré des fonctions sensorielles intactes) ;
 - d. perturbation des fonctions exécutives (faire des projets, organiser, ordonner dans le temps, avoir une pensée abstraite).
 2. Les déficits cognitifs des critères 1A et 1B sont tous les deux à l'origine d'une altération significative du fonctionnement social ou professionnel et représentent un déclin significatif par rapport au niveau de fonctionnement antérieur.
 3. L'évolution est caractérisée par un début progressif et un déclin cognitif continu.
 4. Les déficits cognitifs des critères 1A et 1B ne sont pas dus :
 - 4a. à d'autres affections du système nerveux central qui peuvent entraîner des déficits de la mémoire et du fonctionnement cognitif (maladie cérébrovasculaire, maladie de Parkinson, maladie de Huntington) hématome sous-dural, hydrocéphalie à pression normale, tumeur cérébrale) ;
 - 4b. à des affections générales pouvant entraîner une démence (hypothyroïdie, carence en folates, B12, pellagre, hypercalcémie, neurosyphilis, infection VIH) ;
 - 4c. à des substances.
 5. Les déficits ne surviennent pas exclusivement au cours de l'évolution d'un delirium (confusion mentale).
 6. La perturbation n'est pas mieux expliquée par un trouble de l'axe 1 (trouble dépressif majeur, schizophrénie).
-

Annexe 2:

Critères de diagnostic de la maladie d'Alzheimer d'après le NINCDS-ADRDA (McKhann, 1984)

1-Critères de maladie d'Alzheimer probable :

Syndrome démentiel établi sur des bases cliniques et documenté par le *Mini-Mental State* (Folstein, 1975), le *Blessed Dementia Scale* (Blessed, 1968), ou tout autre test équivalent et confirmé par des épreuves neuropsychologiques

Déficits d'au moins deux fonctions cognitives

Altérations progressives de la mémoire et des autres fonctions cognitives

Absence de trouble de conscience

Survenue entre 40 et 90 ans le plus souvent au-delà de 65 ans

En l'absence de désordres systémiques ou d'une autre maladie cérébrale pouvant rendre compte, par eux-mêmes, des déficits mnésiques et cognitifs progressifs

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

La détérioration progressive des fonctions telles que le langage (aphasie), les habiletés motrices (apraxie), et perceptives (agnosie)

La perturbation des activités de vie quotidienne et la présence de troubles du comportement

Une histoire familiale de troubles similaires surtout si confirmés histologiquement

Le résultat aux examens standards suivants :

Normalité du liquide céphalo-rachidien

EEG normal ou siège de perturbations non-spécifiques comme la présence d'ondes lentes

Présence d'atrophie cérébrale d'aggravation progressive

3-Autres caractéristiques cliniques compatibles avec le diagnostic

de maladie d'Alzheimer probable après exclusion d'autres causes :

Périodes de plateaux au cours de l'évolution

Présence de symptômes tels que dépression, insomnie, incontinence, idées délirantes, illusions, hallucinations, réactions de catastrophes, désordres sexuels et perte de poids.

Des anomalies neurologiques sont possibles surtout aux stades évolués de la maladie, notamment des signes moteurs tels qu'une hypertonie, des myoclonies ou des troubles de la marche.

Crises comitiales aux stades tardifs

Scanner cérébral normal pour l'âge

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

Début brutal

Déficit neurologique focal tel que hémiparésie, hypoesthésie,

déficit du champ visuel, incoordination motrice à un stade précoce

Crises convulsives ou troubles de la marche en tout début de maladie

5-Le diagnostic clinique de maladie d'Alzheimer possible :

Peut être porté sur la base du syndrome démentiel, en l'absence d'autre désordre neurologique, psychiatrique ou systémique susceptible de causer une démence, et en présence de variante dans la survenue, la présentation ou le cours de la maladie

Peut être porté en présence d'une seconde maladie systémique ou cérébrale susceptible de produire un syndrome démentiel mais qui n'est pas considéré comme la cause de cette démence

Et pourrait être utilisé en recherche clinique quand un déficit cognitif sévère progressif est identifié en l'absence d'autre cause identifiable.

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

Les critères cliniques de maladie d'Alzheimer probable

Et la preuve histologique apportée par la biopsie ou l'autopsie

Annexe 3 :

Proposition de nouveaux critères diagnostiques de la maladie d'Alzheimer probable (d'après Dubois et coll., 2007)

Maladie d'Alzheimer probable
(Critère A + l'un ou plusieurs des critères secondaires B, C, D ou E)

Critère majeur

A. Un trouble de mémoire épisodique initial, constitué par :
Des troubles de mémoire fonctionnels progressifs rapportés par le patient
ou l'entourage depuis au moins six mois

La mise en évidence d'un trouble de mémoire épisodique significatif
dans les tests avec un déficit de rappel non significativement amélioré
ou non normalisé en situation d'indigence ou de reconnaissance,
alors que l'encodage initial de l'information a été contrôlé
Les troubles de la mémoire épisodique peuvent être isolés ou associés
à d'autres troubles cognitifs

Critères secondaires

B. Une atrophie des structures temporales internes :
Atrophie hippocampique, entorhinal ou amygdalienne
Mise en évidence en IRM par échelle visuelle qualitative
ou par volumétrie quantitative, en référence à des sujets contrôles de même âge

C. Une modification du taux de biomarqueurs dans le LCR :
Diminution des taux d'A β 1-42 et/ou augmentation
de la concentration totale de protéine Tau ou de phospho-Tau
Modification de tout autre marqueur validé dans le futur

D. Un profil spécifique à la TEMP ou à la TEP :
Diminution du métabolisme du glucose
dans les régions temporo-pariétales bilatérales
Toute autre anomalie de distribution de ligand validé dans l'avenir
E. Une mutation autosomale dominante dans la famille directe

Critères d'exclusion

Ils peuvent être liés :

Au mode d'installation :

- Début brutal
- Survenue précoce de troubles de la marche, de crises comitiales, de troubles comportementaux

À la présentation clinique :

- Déficit neurologique focal : hémiparésie, troubles sensoriels, déficit du champ visuel
- Signes extrapyramidaux précoces

À l'existence de conditions médicales pouvant rendre compte,
à elles seules, des troubles de mémoire ou cognitifs :

- Démences non Alzheimer
- Dépression majeure
- Pathologie cérébrovasculaire
- Troubles métaboliques ou toxiques
- Anomalies IRM en FLAIR ou en T2 dans la région temporale interne,
évoquant une atteinte infectieuse ou vasculaire

Critères pour la maladie d'Alzheimer définie

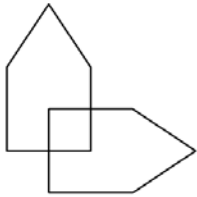
La maladie d'Alzheimer est considérée comme définie
si les deux critères suivants sont présents :

Le critère majeur A

L'existence d'une preuve histologique (biopsie corticale ou autopsie) ou génétique (mutation génique sur
le chromosome 1, 14 ou 21) de maladie d'Alzheimer

Annexe 4 :

MINI-MENTAL TEST DE FOLSTEIN

Score maximal	Score	
5		ORIENTATION (1 point par réponse juste)
		- En quelle année sommes-nous ?
		- Quelle saison ?
		- Quel mois ?
		- Quelle est la date ?
		- Quel est le jour ?
5		- Dans quelle pays sommes-nous ?
		- Quelle ville ?
		- Quel département ?
		- Quel est le nom de l'hôpital ? (ou adresse du médecin)
		- Quelle salle ? (ou endroit, cabinet, etc,...)
3		APPRENTISSAGE
		Donner 3 noms d'objets au rythme de un par seconde (ex : cigare, fleur, porte) ; à la répétition immédiate compter 1 par réponses correctes. Répéter jusqu'à ce que les 3 mots soient appris. Compter le nombre d'essais (ne pas coter).
5		ATTENTION ET CALCUL
		Compter à partir de 100 en retirant 7 à chaque fois. Arrêter après 5 soustractions. Noter le nombre de réponses correctes.
3		RAPPEL
		Demander les 3 noms d'objets présentés auparavant (1 point par mot correct)
9		LANGAGE
		- Dénommer un stylo, une montre (2 points)
		- Répéter : "Il n'y a pas de mais, ni de si, ni de et" (1 point)
		- Exécuter un ordre triple : "Prenez un papier dans la main droite, pliez le en deux et jetez le sur le plancher" (1 point par item correct)
		- Copier le dessin suivant (1 point) :
		Tous les angles doivent être présents
		
		- Ecrire une phrase spontanée (au moins 1 sujet et 1 verbe, sémantiquement correcte, mais la grammaire et l'orthographe son indifférentes (1 point)
TOTAL (30)		
Apprécier le niveau de vigilance sur un continuum : Vigile Obnubilé Stupeur Coma		

Annexe 5 :

Echelle d'Activités Instrumentales de la Vie Courante (IADL)¹

Identification du Patient :

Date :

--	--	--

Capacité à ...

Cocher puis relier les points pour visualiser l'évolution :

A – ... Utiliser le téléphone

- 1 – De sa propre initiative, cherche et compose les numéros
- 2 – Compose un petit nombre de numéros bien connus
- 3 – Répond au téléphone mais n'appelle pas
- 4 – Incapable d'utiliser le téléphone

☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

B – ... Faire les courses

- 1 – Fait les courses de façon indépendante
- 2 – Fait seulement les petits achats tout seul
- 3 – A besoin d'être accompagné quelque soit la course
- 4 – Totalement incapable de faire les courses

☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

C – ... Préparer les repas

- 1 – Prévoit, prépare et sert les repas de façon indépendante
- 2 – Prépare les repas si on lui fournit les ingrédients
- 3 – Est capable de réchauffer les petits plats préparés
- 4 – A besoin qu'on lui prépare et qu'on lui serve ses repas

☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

D – ... Entretien du domicile

- 1 – Entretiens seul la maison avec une aide occasionnelle pour les gros travaux
- 2 – Ne fait que les travaux d'entretien quotidiens
- 3 – Fais les petits travaux sans parvenir à garder un niveau de propreté suffisant
- 4 – A besoin d'aide pour toutes les tâches d'entretien du domicile
- 5 – Ne participe pas du tout à l'entretien du domicile

☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

E – ... Faire la lessive

- 1 – Fait toute sa lessive perso. ou la porte lui-même au pressing
- 2 – Lave les petites affaires
- 3 – Toute la lessive doit être faite par d'autres

☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

F – ... Utiliser les moyens de transport

- 1 – Peut voyager seul et de façon indépendante
- 2 – Peut se déplacer seul en taxi ou par autobus
- 3 – Peut prendre les transports en commun s'il est accompagné
- 4 – Transport limité au taxi ou à la voiture avec accompagnement
- 5 – Ne se déplace pas du tout

☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

G – ... Prendre les médicaments

- 1 – S'occupe lui-même de la prise (dosage et horaire)
- 2 – Peut les prendre par lui-même s'ils sont préparés à l'avance
- 3 – Incapable de les prendre de lui-même

☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

H – ... Gérer son budget

- 1 – Totalement autonome (fait des chèques, paye ses factures,...)
- 2 – Se débrouille pour les dépenses au jour le jour, mais a besoin d'aide pour gérer à long terme
- 3 – Incapable de gérer l'argent nécessaire à payer ses dépenses au jour le jour

☐	☐	☐
☐	☐	☐
☐	☐	☐

Identification de l'IDE (Paraphe) :

--	--	--

¹ Instrumental Activities of Daily Living

Annexe 6 :

Critères cliniques de démence à corps de Lewy (d'après McKeith et al, 2005)

- 1- **Critères principaux** (essentiels au diagnostic de possible ou probable DCL)
 - déclin cognitif de sévérité suffisante pour interférer avec les activités sociales ou professionnelles
 - troubles de la mémoire pouvant manquer au début de l'évolution
 - troubles attentionnels, visuo-spatiaux, profil d'atteinte cortico-sous-corticale
- 2- **Critères associés** (2 de ces critères sont suffisants pour le diagnostic probable de DCL, 1 pour le diagnostic possible de DCL)
 - fluctuation de l'état cognitif avec variations dans l'attention et la vigilance
 - hallucinations visuelles récurrentes et élaborées
 - syndrome parkinsonien spontané
- 3- **Critères évocateurs** (si un ou plus de ces critères est présent avec un ou plusieurs critères principaux, le diagnostic de probable DCL peut être fait. En l'absence d'un ou plusieurs critères principaux, un ou plusieurs critères évocateurs est suffisant pour le diagnostic de possible DCL. Le diagnostic de probable DCL ne doit pas être basé sur les seuls critères évocateurs)
 - troubles du sommeil paradoxal
 - sensibilité accrue aux neuroleptiques
 - diminution du transporteur de la dopamine en imagerie fonctionnelle (SPECT ou PET)
- 4- **Critères associés** (fréquemment présents mais non spécifiques)
 - chutes répétées et syncopes
 - pertes de connaissances brèves
 - dysautonomie sévère : hypotension orthostatique, incontinence urinaire
 - hallucinations d'autres modalités
 - délire systématisé
 - dépression
 - relative préservation des structures du lobe temporal médian au scanner ou à l'IRM
 - scintigraphie au MIBG anormale
 - ralentissement précoce avec des salves d'ondes dans les territoires temporaux à l'EEG
- 5- **Le diagnostic de DCL est moins vraisemblable**
 - en présence de maladie cérébrovasculaire évidente cliniquement ou en imagerie cérébrale
 - en présence de toute autre maladie somatique générale ou d'une autre pathologie cérébrale qui pourrait expliquer le tableau clinique et l'imagerie
 - si le parkinsonisme apparaît à un stade sévère de démence

Annexe 7 :

Score d'Hachinski :

- installation brutale	2
- aggravation par paliers	1
- évolution fluctuante	2
- hypertension artérielle	1
- antécédents d'AVC	2
- signes d'athérosclérose	1
- symptômes neurologiques focaux	2
- signes neurologiques focaux	2
- confusion nocturne	1
- conservation relative de la personnalité	1
- dépression	1
- plaintes somatiques	1
- labilité émotionnelle	1

Démence dégénérative si <4, démence vasculaire si >7 et démence mixte si compris entre 4 et 7

Annexe 8 :

Critères diagnostiques des démences fronto-temporales selon Neary

Eléments essentiels au diagnostic :

- début et progression insidieux
- déclin précoce dans la conduite sociale interpersonnelle
- atteinte précoce dans la conduite personnelle
- apathie précoce
- perte précoce de l'autocritique

Eléments appuyant le diagnostic :

- troubles du comportement : altération progressive de l'hygiène et des soins personnels, rigidité mentale, changements d'habitudes alimentaires, persévération, comportement d'utilisation
- parole et langage : changement du débit verbal, stéréotypie verbale, écholalie, persévération, mutisme

Imagerie :

- anomalies frontales dominantes

Annexe 9 :

Diagnostic clinique de la paralysie supranucléaire progressive selon les critères du NINDS

PSP

Symptômes essentiels

PSP possible :

- affection graduellement progressive
- début après 40 ans
- paralysie de regard conjugué supranucléaire vertical
- pas d'évidence d'autres maladies

PSP probable :

- signes de PSP possible et
- instabilité posturale marquée avec chutes dans la 1^{ère} année de la survenue des symptômes

PSP certaine :

- PSP cliniquement probable et évidence histopathologique

Signes secondaires

- rétrocolis
- réponse faible ou nulle au traitement à la Lévodopa
- dysphagie et dysarthrie précoces
- atteinte cognitive précoce

Critères d'exclusion

- encéphalite récente
- atrophie frontale ou temporopariétale
- hallucinations ou idées délirantes
- démence de type Alzheimer
- syndrome cérébelleux ou dysautonomie précoce
- signes parkinsoniens précoces et asymétriques

Annexe 10 :

Formulaire d'information et de non opposition du patient à l'utilisation de LCR à une fin de recherche scientifique et médicale :

Madame, Mademoiselle, Monsieur,

Grâce aux progrès réalisés dans la recherche médicale, il est désormais possible de réaliser, grâce à une ponction lombaire, le dosage de marqueurs biologiques de la maladie d'Alzheimer dans le liquide céphalorachidien. Les résultats de ces analyses peuvent renforcer le diagnostic de cette maladie et également fournir des informations importantes sur des caractéristiques de votre maladie.

Une meilleure connaissance de ces données pourra donc permettre dans l'avenir une prise en charge mieux adaptée pour chaque patient.

Dans le cadre des soins concernant votre maladie, vous allez subir une ponction lombaire.

- Une partie du prélèvement servira à la réalisation de ces dosages au laboratoire de biochimie spécialisée du CHU de Nancy.
- Une partie du prélèvement non utilisée pour le diagnostic sera conservée dans une « banque » de liquide céphalorachidien située dans le laboratoire de biochimie spécialisée de l'Hôpital central de Nancy pour une éventuelle utilisation ultérieure dans le cadre de votre prise en charge.
- Une autre partie de ce prélèvement pourra, sauf opposition de votre part, être utilisée pour la recherche médicale ou scientifique sur le thème du développement et de la validation de nouveaux marqueurs diagnostiques de la maladie d'Alzheimer, dans les conditions de la loi n°2004-800 du 06 août 2004 relative à la bioéthique. Cette banque de prélèvement est gérée conformément à la réglementation et sont déclarées auprès des autorités de Tutelle.

Par ailleurs, les données qui résultent des recherches peuvent faire l'objet de publications scientifiques. En aucun cas votre identité ne sera révélée. Nous nous engageons à préserver votre anonymat. Nous vous informons également que les prélèvements étudiés seront susceptibles d'être transmis à d'autres équipes de recherche avec lesquelles nous collaborons. Nous vous assurons que votre anonymat sera préservé.

Votre dossier médical restera naturellement confidentiel et ne pourra être consulté que sous la responsabilité des médecins s'occupant de votre prise en charge ainsi que par les autorités de santé et par les personnes dûment mandatées par l'organisateur de la recherche soumises au secret professionnel.

Dans tous les cas, elles seront exploitées dans les conditions garantissant leur confidentialité. Conformément à la loi (art16-1 et 16-6 du code civil), ce prélèvement ne pourra être cédé à titre commercial, ni donner lieu à une rémunération à votre bénéfice.

Si, une fois les prélèvements réalisés, vous avez le sentiment que les analyses ne doivent pas être effectuées, vous serez libre à tout moment de demander la destruction du matériel conservé, sans avoir à fournir de motif et sans aucun préjudice, par lettre auprès du responsable du lieu de stockage.

En application de la loi « informatique, fichiers et liberté » du 06 janvier 1978 modifiée, le fichier informatique utilisé pour réaliser le présent travail a fait l'objet d'une déclaration auprès de la CNIL (Commission Nationale Informatique et Libertés) enregistrée sous le numéro _____.

Seules les données nécessaires à la recherche seront recueillies. Vous avez néanmoins le droit de vous opposer à ce que les données vous concernant fassent l'objet d'un traitement automatisé. Si vous acceptez, vous aurez à tout moment le droit d'accéder aux données vous concernant. Vous aurez également le droit de demander à ce que les données inexacts ou devenues inexacts soient rectifiés. Vous pourrez à tout moment exercer ces droits auprès des personnes responsables de la

banque. Pour toutes les informations de nature médicale, ce droit pourra être exercé par l'intermédiaire d'un médecin de votre de votre choix (article 40-5 de la loi du 6 janvier 1978).

Votre non opposition au don doit être libre et volontaire. Votre participation est facultative et votre refus n'affectera en rien la qualité des soins et relations avec l'équipe médicale.

NON OPPOSITION A L'UTILISATION D'UNE PARTIE DU PRELEVEMENT A DES FINS DE RECHERCHE MEDICALE OU SCIENTIFIQUE

Mr/Mme/Melle (Nom, Prénom) _____

déclare avoir compris le but et les modalités de conservation de mes prélèvements.

Il a été répondu à toutes mes questions et j'en suis satisfait(e).

J'ai disposé d'un délai de réflexion suffisant avant de prendre ma décision.

Je ne m'oppose pas à la conservation de mes prélèvements et je donne mon autorisation pour que d'éventuelles recherches soient effectuées sur ceux-ci dans les conditions précisées dans la notice d'information ci-dessus.

Je confirme avoir reçu une copie de ce document signé et daté.

Fait en 2 exemplaires, à _____

A REMPLIR PAR LE PATIENT

Signature :

Date :

☐ Non opposition à l'utilisation de mes prélèvements

☐ Opposition à l'utilisation de mes

prélèvements

A REMPLIR PAR LE RESPONSABLE DE LA CONSULTATION

NOM et qualité du responsable de la Consultation :

.....

N° de téléphone:.....

Signature du responsable de la consultation/du service :

Date de délivrance de l'information :

.....

Annexe 11 :

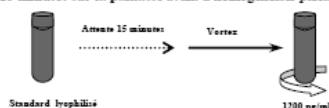
INNOTEST™ hTAU Ag

Ramener tous les composants à température ambiante. (20 - 25°C)

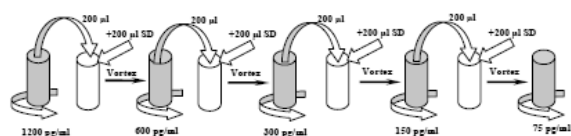
Solution de Lavage: 1 barrette (8 puits)	12 barrettes (96 puits)
WS (conc.)	5 ml
Eau Dist.	120 ml
	60 ml
	1440 ml

Préparation des Standards :

- Ajouter 500 µl de Diluant Echantillon (SD) au Standard lyophilisé et laisser reposer ± 15 minutes sur la paillasse avant d'homogénéiser parfaitement.



- Partir du Standard à 1200 pg/ml pour préparer les autres Standards.



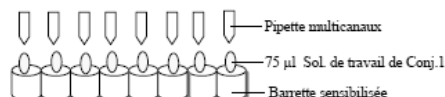
Note : Un Standard à 450pg/ml (120µl de 1200pg/ml +200µl SD) peut être ajouté.

- Un Blanc (0 pg/ml = Diluant Echantillon) doit être inclus à chaque série de tests.

Préparation de la Solution de travail de Conjugué 1 :

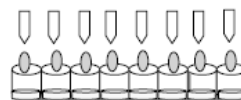
- Diluer le Conjugué 1 concentré 1:100 avec le Diluant Conjugué.

Distribuer 75 µl de Solution de travail de Conjugué 1 dans la microplaque sensibilisée.



Distribution des Standards/Echantillons dans la plaque INNOTEST hTAU Ag :

- Ajouter 25 µl de Standards/Echantillons dans la microplaque sensibilisée.



- Mélanger en tapotant légèrement le côté ou en utilisant un agitateur de microplaque.
- Couvrir la plaque avec un film adhésif.

INCUBATION : UNE NUIT 🕒 A 25°C (dans un incubateur)

Préparation de la Solution de travail de Conjugué 2 à la fin de l'incubation des échantillons :

- Diluer le Conjugué 2 concentré 1:100 avec le Diluant Conjugué

Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- Aspirer le mélange Standards/Echantillons + Solution de Conj. 1
- Assécher la plaque sur un papier absorbant
- Distribuer 400 µl de Solution de Lavage dans chaque puits, laisser tremper 30 secondes.
- Aspirer la Solution de Lavage
- Assécher la plaque sur un papier absorbant

Distribuer 100 µl de Solution de travail de Conjugué 2 dans les puits.



- Couvrir la plaque avec un film adhésif.

INCUBATION : 30 MIN 🕒 A 25°C (dans un incubateur)

INNOTEST™ hTAU Ag (suite)

Préparation de la Solution Substrat à la fin de l'incubation du Conjugué :

- Diluer le TMB concentré 1:100 avec le Tampon Substrat.

Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- Aspirer la Solution de Conj.2
- Assécher la plaque sur un papier absorbant
- Distribuer 400 µl de Solution de Lavage dans chaque puits, laisser tremper 30 secondes.
- Aspirer la Solution de Lavage
- Assécher la plaque sur un papier absorbant

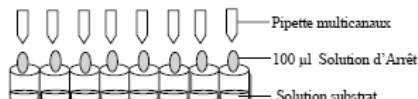
Distribuer 100 µl de Substrat dans les puits.



INCUBATION : 30 MIN 🕒 AU NOIR A TEMPERATURE AMBIANTE (20 - 25°C)

Arrêt de la réaction :

- Ajouter 100 µl de Solution d'Arrêt à chaque puits



- Mélanger en tapotant légèrement le côté ou en utilisant un agitateur de microplaque.

Lecture :

- Faire le Blanc du lecteur sur l'air.
- Lire l'absorbance à 450 nm dans les 15 minutes.
- Un filtre de référence à 620 ou 690 nm peut être utilisé.



INNOGENETICS FRANCE
Tel : +33 1 49 93 26 18
Fax : +33 1 64 59 14 54

Annexe 12 :

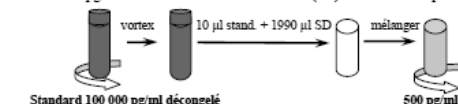
INNOTEST™ PHOSPHO-TAU_(181P)

Ramener tous les composants, sauf le Standard, à température ambiante. (18-30°C)

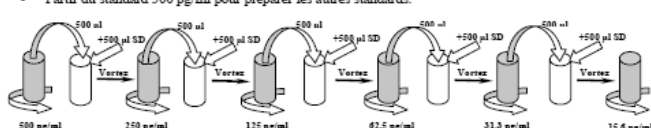
Solution de Lavage: 1 barrette (8 puits)	12 barrettes (96 puits)
WS (conc.) 5 ml	60 ml
Eau Distillée 120 ml	1440 ml

Préparation des standards :

- Décongeler le Standard 100 000 pg/ml sur la paillasse avant usage.
- N'utiliser que des tubes en polypropylène pour la préparation des Standards !
- Mélanger parfaitement le Standard décongelé et préparer un standard à 500 pg/ml en diluant le Standard 100 000 pg/ml au 1/200 en Diluant Echantillon (SD) dans un tube séparé en polypropylène.



- Partir du standard 500 pg/ml pour préparer les autres standards.

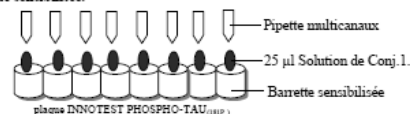


- Un Blanc (0 pg/ml = Diluant Echantillon) doit être inclus à chaque série de tests.

Préparation de la solution de travail de Conjugué 1 :

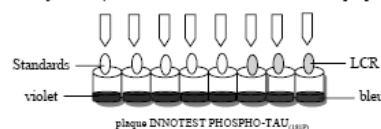
- Diluer le Conjugué 1 concentré 100x avec le Diluant Conjugué 1 (coloration violette).

Distribuer 25 µl de Solution de travail de Conjugué 1 dans la microplaque sensibilisée.



Distribution des Standards/Echantillons dans la microplaque sensibilisée INNOTEST PHOSPHO-TAU_(181P):

- Ajouter 75 µl de standard/Diluant Ech./Ech. dans la plaque sensibilisée.



- Note : lors de l'ajout des Echantillons de LCR, la solution de travail de Conjugué 1 doit virer du violet au bleu.
- Mélanger en tapotant légèrement le côté ou en utilisant un agitateur de microplaque.
- Couvrir la plaque avec un film adhésif

INCUBATION : 16 ± 2h @ 2-8°C (réfrigérateur)

Préparation de la Solution de travail de Conjugué 2 à la fin de l'incubation des échantillons :

- Diluer le Conjugué 2 concentré 100x avec le Diluant Conjugué 2 (coloration verte)

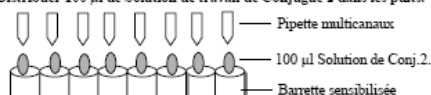
Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- Aspirer Standards/Echantillons + Solution de Conj. 1
- Assécher la plaque sur un papier absorbant
- Distribuer 400 µl de Solution de Lavage dans chaque puits, laisser tremper 30 secondes.
- Aspirer la Solution de Lavage
- Assécher la plaque sur un papier absorbant

5 X

INNOTEST™ PHOSPHO-TAU_(181P) (suite)

Distribuer 100 µl de Solution de travail de Conjugué 2 dans les puits.



- Couvrir la plaque avec un film adhésif.

INCUBATION : 60 ± 5 MIN @ TEMPERATURE AMBIANTE (18 - 30°C)

Préparation de la Solution Substrat à la fin de l'incubation du Conjugué :

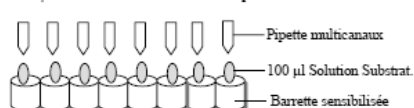
- Diluer le TMB concentré 100x avec le Tampon Substrat.

Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- Aspirer la solution de Conj. 2
- Assécher la plaque sur un papier absorbant
- Distribuer 400 µl de Solution de Lavage dans chaque puits, laisser tremper 30 secondes.
- Aspirer la Solution de Lavage
- Assécher la plaque sur un papier absorbant

5 X

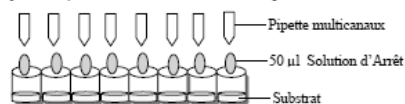
Distribuer 100 µl de Solution Substrat dans les puits.



INCUBATION : 30 ± 3 MIN @ AU NOIR A TEMPERATURE AMBIANTE (18 - 30°C)

Arrêt de la réaction :

- Ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans tous les puits.



- Mélanger en tapotant légèrement le côté ou en utilisant un agitateur de microplaque.

Lecture :

- Faire le Blanc du lecteur sur l'air.
- Lire l'absorbance à 450 nm dans les 15 minutes.
- Un filtre de référence à 595, 620 ou 690 nm peut être utilisé



INNOGENETICS FRANCE
Tel : +33 1 49 93 26 18
Fax : +33 1 64 59 14 54

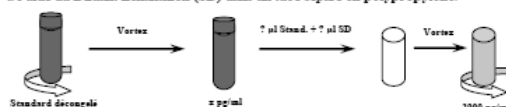
Annexe 13 :

INNOTEST™ β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎

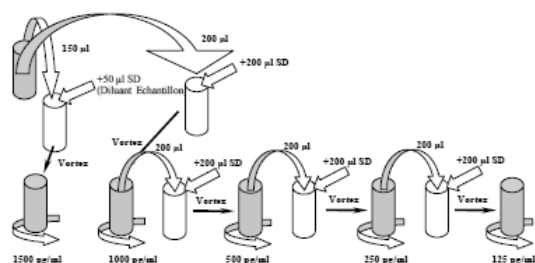
Ramener tous les composants, sauf le Standard, à température ambiante (18-30°C)

Solution de Lavage: 1 barrette (8 puits)	12 barrettes (96 puits)
WS (conc.)	5 ml
Eau Dist.	120 ml
	60 ml
	1440 ml

- Immédiatement avant usage, ramener le Standard à température ambiante (18-30°C).
- N'utiliser que des tubes en polypropylène pour préparer les dilutions Standards !
- Calculer le facteur de dilution nécessaire à la préparation, à partir du Standard décongelé, d'un Standard titré à 2000 pg/ml (le volume total doit avoisiner 1500 µl). Mélanger parfaitement le Standard décongelé et préparer le Standard à 2000 pg/ml à l'aide du Diluant Echantillon (SD) dans un tube séparé en polypropylène.



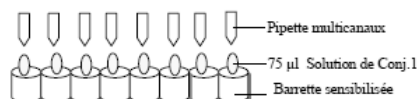
- Partir du Standard à 2000pg/ml pour préparer les autres Standards.



- Un Blanc (0 pg/ml = Diluant Echantillon) doit être inclus à chaque série de tests.

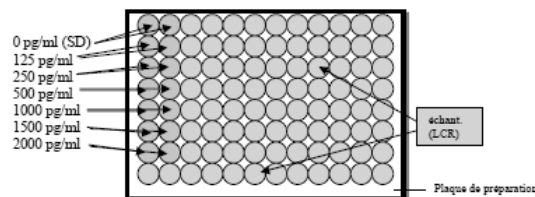
Préparation de la Solution de travail de Conjugué 1 :

- Diluer le Conjugué 1 concentré 1:100 avec le Diluant Conjugué 1.
- Distribuer 75 µl de Solution de travail de Conjugué 1 dans la microplaque sensibilisée.



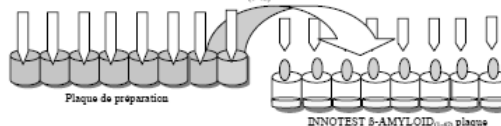
Plaque de préparation : lorsque plus de 6 barrettes sont à tester, distribuer d'abord ± 40 µl de Standards et d'échantillons dans une microplaque (non sensibilisée) en polypropylène. Transférer 25 µl de Standards/Echantillons de cette plaque vers la plaque INNOTEST β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎. Ceci minimise une dérive de réactivité.

- Mélanger parfaitement les Standards/Echantillons et distribuer ± 40 µl dans la plaque de préparation. Les Standards seront testés en double.



Distribution des Standards/Echantillons dans la microplaque sensibilisée INNOTEST β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ :

- Transférer 25 µl des Standard/Echant de la plaque de préparation vers la plaque sensibilisée INNOTEST β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎.



INNOTEST™ β -AMYLOID₍₁₋₄₂₎ (suite)

- Mélanger en tapotant légèrement le côté ou en utilisant un agitateur de microplaque.
- Couvrir la plaque avec un film adhésif

INCUBATION : 60 MIN ⌚ A TEMPÉRATURE AMBIANTE (18 - 30°C)

Préparation de la Solution de travail de Conjugué 2 à la fin de l'incubation des échantillons :

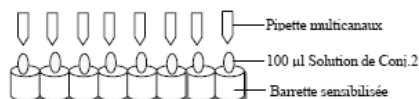
- Diluer le Conjugué 2 concentré 1:100 avec le Diluant Conjugué 2

Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- Aspirer le mélange Standards/Echantillons + Solution de Conj. 1
- Assécher la plaque sur un papier absorbant
- Distribuer 400 µl de Solution de Lavage dans chaque puits, laisser tremper 30 secondes.
- Aspirer la Solution de Lavage
- Assécher la plaque sur un papier absorbant

5 X

Distribuer 100 µl de Solution de travail de Conjugué 2 dans les puits.



- Couvrir avec un film adhésif

INCUBATION : 30 MIN ⌚ A TEMPÉRATURE AMBIANTE (18 - 30°C)

Préparation de la Solution Substrat à la fin de l'incubation du Conjugué :

- Diluer le TMB concentré 1x100 avec le Tampon Substrat.

Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- Aspirer la Solution de Conj. 2
- Assécher la plaque sur un papier absorbant
- Distribuer 400 µl de Solution de Lavage dans chaque puits, laisser tremper 30 secondes.
- Aspirer la Solution de Lavage
- Assécher la plaque sur un papier absorbant

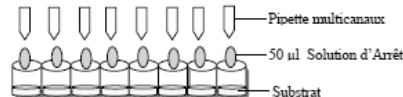
Distribuer 100 µl de Solution Substrat dans les puits



INCUBATION : 30 MIN ⌚ AU NOIR A TEMPÉRATURE AMBIANTE (18 - 30°C)

Arrêt de la réaction :

- Ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans tous les puits.



- Mélanger en tapotant légèrement le côté ou en utilisant un agitateur de microplaque.

Lecture :

- Faire le Blanc du lecteur sur l'air.
- Lire l'absorbance à 450 nm dans les 15 minutes.
- Un filtre de référence à 595, 620 ou 690 nm peut être utilisé



INNOGENETICS FRANCE
Tel +33.1.49.93.26.18
Fax +33.1.64.39.14.54

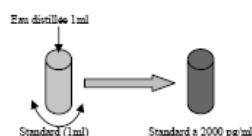
Annexe 14 :

ELISA HUMAN AMYLOID (1-40) (N)

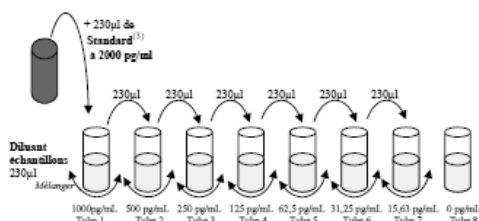
Ramener tous les composants à température ambiante (18-30°C) environ 30 minutes avant utilisation.

Solution de Lavage:	12 barrettes (96 puits)	6 barrettes	3 barrettes
WS (concentrée) ⁽¹⁾	50 ml	25 ml	12 ml
Eau Dist.	1950 ml	975 ml	468 ml

- N'utiliser que des tubes en polypropylène pour préparer les dilutions des Standards et des Echantillons !
- Verser 1ml d'eau distillée dans le flacon du Standard ⁽¹⁾. Mélanger parfaitement. Le Standard tiré à 2000 pg/ml est prêt.



- Préparer 8 tubes en polypropylène pour la dilution du standard en notant les concentrations finales mentionnées ci-dessous.
- Verser 230 µl de Diluant Echantillon (EIA Buffer ⁽⁴⁾) dans chaque tube.
- Partir du Standard à 2000pg/ml pour préparer les autres Standards.

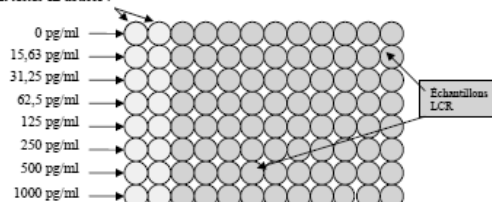


- Un Blanc (0 pg/ml = Diluant EIA Buffer ⁽⁴⁾) doit être inclus à chaque série de tests.

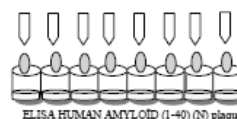
Statut non IVD - CE IBL27714 / Code n° 81013

Distribution des Standards/Echantillons dans la microplaque sensibilisée ELISA HUMAN AMYLOID (1-40) :

- Diluer au 1/30 les échantillons de liquide céphalo-rachidien (LCR) avec l'EIA Buffer ⁽⁴⁾ : 10µl Echantillon + 290µl Diluant
- Mélanger parfaitement les Standards/Echantillons dilués. Les Standards et Echantillons seront testés en double :



- Distribuer 100 µl des Standard/Echantillons dans la plaque sensibilisée ELISA HUMAN AMYLOID (1-40) (N).



- Couvrir la plaque avec un film adhésif

INCUBATION : UNE NUIT A 4°C

Procédure de Lavage : automatique et manuelle

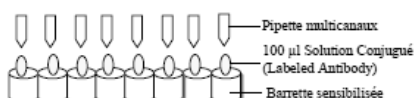
- Diluer la quantité nécessaire de solution de lavage concentrée ⁽¹⁾ au 1/40 en eau distillée
- Laver chaque puits vigoureusement avec la solution de lavage
- Remplir chaque puits de Solution de Lavage, laisser tremper 15/30 secondes.
- Aspirer la Solution de lavage
- Sécher la plaque sur un papier absorbant

Lavage automatique : 4 cycles, 1 trempage (1min.), 3 cycles - Sécher la plaque sur un papier absorbant

ELISA HUMAN AMYLOID (1-40) (N) (suite)

Préparation de la Solution de travail de Conjugué (Labeled antibody Conj.):

- Diluer le Conjugué concentré au 1/30 avec le tampon conjugué ⁽²⁾ (Solution for Labeled Conj.).
- Distribuer 100 µl de Solution de travail de Conjugué dans les puits.



- Couvrir avec un film adhésif

INCUBATION : 60 MIN. A 4°C

Procédure de Lavage : manuelle

- Laver chaque puits vigoureusement avec la solution de lavage
- Remplir chaque puits de Solution de Lavage, laisser tremper 15/30 secondes.
- Aspirer la Solution de lavage
- Assécher la plaque sur un papier absorbant

Lavage automatique : 4 cycles, 1 trempage (1min.), 3 cycles - Sécher la plaque sur un papier absorbant

Distribuer 100 µl de Solution Substrat (Chromogène ⁽³⁾): TMB solution) dans les puits

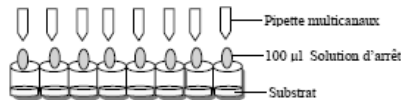


INCUBATION : 30 MIN AU NOIR A TEMPERATURE AMBIANTE (18 - 30°C)
→ la couleur vire au bleu au contact du Substrat

Statut non IVD - CE IBL27714 / Code n° 81013

Arrêt de la réaction :

- Ajouter 100 µl de solution d'arrêt ⁽⁷⁾ dans tous les puits.



- Mélanger en tapotant légèrement le côté (ou en utilisant un agitateur de microplaque.)
- Contrôler l'absence de bulles à la surface du liquide

→ La couleur vire au jaune après arrêt.

Lecture :

- Lire l'absorbance à 450 nm dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

Calcul quantitatif en pg/mL :

- L'utilisation d'une courbe de calibration de type sigmoïde est recommandée (Concentration en X-axis, Densité optique en Y-axis)

Ne pas inclure le blanc (0pg/mL) pour établir la courbe de calibration.



INNOGENETICS FRANCE
Tel +33 1 69 07 48 34
Fax: +33 1 69 07 45 00

BIBLIOGRAPHIE

- [1] American Psychiatric Association. Diagnostis and statistical manual of mental disorders, 4th ed (DSM-IV-TR).Text Revised ed. Washington, D.C.:2000
- [2] Bakchine S, Habert MO. Classification des démences : aspects nosologiques. Médecine Nucléaire 31 (2007) 278-293
- [3] INSERM. Maladie d'Alzheimer : enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux. Expertise collective 2007
- [4] Paulin M, Pasquier F. Syndrome démentiel : diagnostic et prise en charge. EMC.2010;5-0745
- [5] Dartigues JF, Helmer C, Dubois B, Duyckaerts C, Laurent B, Pasquier F, *et al.* Alzheimer's disease : a public health problem : yes, but a priority ? Rev Neurol (Paris) 2002;158:311-15
- [6] La maladie d'Alzheimer et les troubles apparentés. Rapport OPEPS n°2454. Juillet 2005
- [7] Gallez C. La prise en charge de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées. Rapport de l'Office Parlementaire d'Évaluation des Politiques de Santé (Opeps),2005:256
- [8] Maltsev AV, Bystryak S, Galzitskaya OV. The role of β -amyloid peptide in neurodegenerative diseases. Ageing Res Rev.2011 Mar 23
- [9] Guyant-Marechal L, Campion D, Hannequin D. Génétique de la maladie d'Alzheimer : formes autosomiques. Revue neurologique 165.223-231.2009
- [10] Waring SC. Rosenberg RS. Genome-wide association Studies in Alzheimer disease. Arch Neurol. 2008 Mar;65(3):329-34
- [11] Bogousslavsky J, Léger JM, Mas JM. Démences. Traité de Neurologie. Doin. 2002
- [12] Buée L, Delacourte A. Tauopathie et Maladie d'Alzheimer, un processus dégénératif à part entière. Psychol neuropsychiatr Vieil.4:261-73.2006
- [13] Lai F, Williams RS. A prospective study of Alzheimer disease in Down syndrome. Arch Neurol 1989;46:849–853
- [14] Moncaster JA, Pineda R, Moir RD, Lu S, Burton MA, Ghosh JC, *et al.* Alzheimer's disease amyloid-beta links lens and brain pathology in Down syndrome. PloS One. 2010 May 20;5(5):e10659
- [15] Dartigues JF, Berr C, Helmer C, Letenneur L. Epidémiologie de la maladie d'Alzheimer. Médecine/Sciences 2002;18:737-43
- [16] St Clair D, Rennie D, Slorach E, Norrman J, Yates C, Carothers A. Apolipoprotein E epsilon 4 allele is a risk factor for familial and sporadic presenile Alzheimer's disease in both homozygote and heterozygote carriers. J Med Genet.1995 Aug;32(8):642-4
- [17] El Kabiri Ait Seddik S. Prévention de la maladie d'Alzheimer. NPG 2006;6(36):12-22
- [18] Kim J, Basak JM, Holtzman DM. The Role of Apolipoprotein E in Alzheimer's Disease. Neuron. 2009 August 13;63(3):287–303
- [19] Voisin T, Lugardon S, Balardy L, Vellas B, and le groupe REAL.FR. Facteur de risque vasculaire et maladie d'Alzheimer. La revue de médecine interne.2003:288-291
- [20] Dickstein DL, Walsh J, Brautigam H, Stockton SD Jr, Grandy S, Hof PR. Role of Vascular Risk Factors and Vascular Dysfunction in Alzheimer's Disease. Mt Sinai J Med. 2010 January;77(1):82–102

- [21] Antoine V, Rigaud AS. Maladie d'Alzheimer : prendre en compte les facteurs de risque et pathologies cardiovasculaires. *La revue de médecine interne*.2006.27:21-31
- [22] Ott A, Stolk RP, Hofman A, van Harskamp F, Grobbee DE, Breteler MM. Association of diabetes mellitus and dementia : the Rotterdam study. *Diabetologia* 1996 Nov;39(11):1392-7
- [23] Kontush A, Chapman MJ. HDL et maladies neurodégénératives. *Médecine des maladies Métaboliques*.2009
- [24] Xu WL, Atti AR, Gatz M, Pedersen NL, Johansson B, Fratiglioni L. Midlife overweight and obesity increase late-life dementia risk : a population-based twin study. *Neurology*.2011 May 3;76(18):1568-74
- [25] Ramesh BN, Rao TS, Prakasam A, Sambamurti K, Rao KS. Neuronutrition and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*.2010.19(4):1123-1139
- [26] Patterson C, Feithghner JW, Garcia A, Robin hsiung GY, MacKnight C, Dessa Sadovnick A. Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease. *CMAJ*.2008.178: 548-556
- [27] Fratiglioni L, Wang HX, Ericsson K, Maytan M, Winblad B. Influenceof social network on occurrence of dementia : a community-based longitudinal study. *Lancet*.2000 Apr 15;355(9212):1315-9
- [28] Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Cummings JL, DeKosky ST, Barbeger-Gateau P, et al. *Lancet Neurol*. 2010 Nov;9(11):1118-27
- [29] Dubois B, Agid Y. Plainte mnésique, trouble cognitif léger et maladie d'Alzheimer au stade prédéméntiel.2002
- [30] Le Gall JY, Ardaillou R. *Biologie du vieillissement*.2009
- [31] Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. *Arch Neurol*.1999 Mar;56(3):303-8
- [32] Andreasen N, Blennow K. CSF biomarkers for mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg*. 2005 Apr;107(3):165-73
- [33] Dionet E, Frédérico D, Foyatier-Michel N, Dirson S, Cadet L, Thomas-Antérion C. Critères diagnostiques des troubles cognitifs légers dans une cohorte de 100 patients. *Revue Neurologique* 165: 1062-1070.2009
- [34] Forlenza OV, Diniz BS, Gattaz WF. Diagnosis and biomarkers of predementia in Alzheimer's disease.*BMC Med*. 2010 Dec 22;8:89
- [35] Dubois B, Feldman HH, Jacova C, De Kosky ST, Barbeger-Gateau P, Cummings J, et al. Research criteria for the diagnostis of Alzheimer's disease : revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*. 2007 Aug;6(8):734-46
- [36] Lopez-Tourres F, Lefebvre-Chapiro S, Fétéanu D, Trivalle C. Soins palliatifs et maladie d'Alzheimer. *La revue de médecine interne* (2009) 30:501-507
- [37] Fortin MP, Krolak-Salmon P. Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : vers un diagnostic plus précis et précoce. *La revue de médecine interne*. 2010 Dec. 31(12):86-853
- [38] Perl DP. Neuropathology of Alzheimer's Disease. *Mt Sinai J Med*. 2010.77:32-42
- [39] Najlerahim A, Bowen DM. Regional weight loss of the cerebral cortex and some subcortical nuclei in senile dementia of the Alzheimer type. *Acta Neuropathol*. 1988;75(5):509-12
- [40] Yardin C. Histopathologie de la maladie d'Alzheimer. *Morphologie*. 2007.91:199-201

- [41] Checler F, Buée L. Données fondamentales sur les pathologies amyloïdes et Tau dans la maladie d'Alzheimer : quelles perspectives thérapeutiques? *Annales Pharmaceutiques Françaises*.2009;67,136-153
- [42] Delacourte A, Campion D, Davous P. Maladie d'Alzheimer. *EMC Neurologie*. 2007
- [43] Duyckaerts C, Panchal M, Delatour B, Potier MC. Neuropathologie morphologique et moléculaire de la maladie d'Alzheimer. *Annales Pharmaceutiques Françaises*.67:127-135.2009
- [44] Portelius E, Zetterberg H, Gobom J, Andreasson U, Blennow K. Targeted proteomics in Alzheimer's disease : focus on amyloid- β . *Expert Rev Proteomics*. 2008;5:225-237
- [45] Englund H, Degerman Gunnarson M, Brundin RM, Hedlund M, Kilander L, Lannfelt L, *et al*. Oligomerization Partially Explains the lowering of A β 42 in Alzheimer's Disease Cerebrospinal Fluid. *Neurodegener Dis*. 2009;6(4):139-47.Epub 2009 Jun 12
- [46] Walsh DM, Selkoe DJ. A beta oligomers - a decade of discovery. *J Neurochem*.2007 Jun;101(5):1172-84
- [47] Sergeant N, Breteville A, Hamdane M, Caillet-Boudin ML, Grognet P, Bombois S, *et al*. Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert Rev Proteomics*. 2008. Apr;5(2):207-24
- [48] Buée L, Delacourte A. La maladie d'Alzheimer : une tauopathie parmi d'autres? *Médecine/Sciences* 2002;18:727-36
- [49] Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991;82(4):239-59
- [50] Spillantini MG, Goedert M. Trends Neurosci. 1998 Oct;21(10):428-33
- [51] Mestsars WP, Hauw JJ, van Welsem ME, Duyckaerts C. A grading system of Alzheimer disease lesions in neocortical areas. *Neurobiol Aging*. 2003 Jul Aug;24(4):563-72
- [52] Duyckaerts C, Colle MA, Dessi F, Grignon Y, Piette F, Hauw JJ. The progression of lesions in Alzheimer disease : insights from a prospective clinicopathological study. *J Neural Transm Supp* 1998;53:119-26
- [53] Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM.Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature*. 2009 Oct 15;461(7266):916-22
- [54] McKahn G. Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group. *Neurology*. 1984 Jul;34(7):939-44
- [55] Dubois B. Actualité de la maladie d'Alzheimer. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2009;67:116-26
- [56] Waldemar G, Dubois B, Emre M, Georges J, McKeith IG, Rossor M, *et al*. Recommendations for the diagnosis and management of Alzheimer's disease and other disorders associated with dementia: EFNS guideline. *Eur J Neurol*.2007 Jan;14(1):e1-26
- [57] Consensus Recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer's Disease. The National Institute of Aging, and Reagan Institute Working Group on Diagnostic Criteria of Neuropathological Assessment of Alzheimer's Disease. 1997
- [58] Lechowski L, Forette B, Teillet L. Démarche diagnostique devant un syndrome démentiel. *La revue de médecine interne*. 2004;25:363-75
- [59] HAS. Diagnostic et prise en charge de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées.2008
- [60] Michel BF, Sambuchi N. Principales échelles de mémoire utilisables par le neurologue dans le diagnostic des démences. *EMC Neurologie*.2011
- [61] Soto M, Reynish E, Nourashemi F, Vellas B. Aspects cliniques de la maladie d'Alzheimer. *La Presse Médicale*. Tome 36 n°10.2007

- [62] Hahn-Barma V. L'évaluation neuropsychologique dans le cadre des démences neurodégénératives. Illustration avec la maladie d'Alzheimer. *Pratiques psychologiques*. 11;2005:307-17
- [63] Michel BF, Sambuchi N. Principales échelles cognitives globales utilisables par le neurologue dans le diagnostic des démences. *EMC Neurologie*.2011
- [64] Boncoeur-Martel MP, Monteil J, Maubon A. Imagerie de la maladie d'Alzheimer : IRM et imagerie fonctionnelle. *Morphologie*. 2007;91:202-6
- [65] Desgranges B, Kalpouzos G, Eustache F. Imagerie cérébrale du vieillissement normal : contraste avec la maladie d'Alzheimer. *Revue Neurologique*. 2008;164:102-107
- [66] Forsberg A, Engler H, Almkvist O, Blomquist G, Hagman G, Wall A, *et al.* PET imaging of amyloid in deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2008 Oct 29(10):1456-65
- [67] Hort J, O'Brien JT, Gainotti G, Pirttilä T, Popescu BO, Rektová I, *et al.* EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2010 Oct;17(10):1236-48
- [68] Krolak-Salmon P, Seguin J, Perret-Liaudet A, Desestret V, Vighetto A, Bonnefoy M. Vers un diagnostic biologique de la maladie d'Alzheimer et des syndromes apparentés. *La revue de médecine interne*.2008;29:785-93
- [69] Michel BF, Becker H, Pelissier JF. Démence à corps de Lewy. *EMC Neurologie*.2007
- [70] de la Torre JC, Kalaria RN, Nakajima K, Nagata K. Alzheimer's disease : vascular etiology and pathology. *Ann NY Acad Sci* 2002;977:1-526
- [71] Neary D, Snowden JS, Gustafson L, Passant U, Stuss D, Black S, *et al.* Frontotemporal lobar degeneration : a consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* 1998 Dec;51(6):1546-54
- [72] Deramecourt V, Leber H, Pasquier F. Démences frontotemporales. *EMC Neurologie*.2007
- [73] Vidailhet M, Cochen V. Critères cliniques de diagnostic des dégénérescences corticobasales. *EMC Neurologie*.2006
- [74] Dubas F, Cassereau J, Lejeune P. Paralyse supranucléaire progressive (maladie de Steele-Richardson-Olszewski). *EMC Neurologie*.2006
- [75] Ghika J, Joray S, Brioshi A, Frackowiak RSJ. Atrophies focales. *EMC Neurologie*.2010
- [76] Wollen KA. Alzheimer's Disease : The Pros and Cons of Pharmaceutical, Nutritional, Botanical, and Stimulatory Therapies, with a Discussion of Treatment Strategies from the Perspective of Patients and Practitioners. *Alternative medicine review*.2010;15(3):223-44
- [77] Breihl D. Le bon usage du médicament dans la prise en charge du patient Alzheimer Perspectives et recommandations. *Le pharmacien hospitalier*. 2009 Sept ; 44(1): S5-S9
- [78] De Strooper B, Vassar R, Golde T. The secretases : enzymes with therapeutic potential in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2010 Feb;6(2):99-107
- [79] Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, *et al.* Reduction of beta-amyloid peptide42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995 October; 38(4):643-8
- [80] Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, van de Voorde D, Martin JJ, *et al.* Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem*.1993;61(5):1828-34

- [81] Hu YY, He SS, Wang XC, Duan QH, Khatoon S, Iqbal K, *et al.* Elevated levels of phosphorylated neurofilament proteins in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients. *Neurosci Lett.* 2002;8; 320(3):156-60
- [82] Formichi P, Battisti C, Radi E, Federico A. Cerebrospinal fluid Tau, A β , and Phosphorylated Tau Protein for the diagnosis of Alzheimer's Disease. *J Cell Physiol.* 2006 Jul;208:39-46
- [83] Herukka SK, Helisalmi S, Hallikainen M, Tervo S, Soininen H, Pirtillä T. CSF Abeta42, Tau and phosphorylated tau, APOE epsilon4 allele and MCI type in progressive MCI. *Neurobiol Aging.* 2007 Apr;28(4):507-14
- [84] Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, van de Voorde A, Martin JJ, *et al.* Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem* 1993 Nov;61(5):1828-34
- [85] Blennow K, Vanmechelen E. CSF markers for pathogenic processes in Alzheimer's disease: diagnostic implications and use in clinical neurochemistry. *Brain Res Bul.* 2003 Aug 15;61(3):235-42
- [86] Hampel H, Blennow K, Shaw LM, Hoessler YC, Zetterberg H, Trojanowski JQ. Total and phosphorylated tau protein as biological markers of Alzheimer's disease. *Exp Gerontol.* 2010 Jan;45(1):30-40
- [87] Blennow K, Vanmechelen E, Hampel H. CSF total tau, Ab42 and phosphorylated tau protein as biomarkers for Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol.* 2001 Aug Dec;24:87-97
- [88] Blennow K. Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *NeuroRx.* 2004 Apr;1(2):213-25
- [89] Schraen-Maschke S, Crinquette C, Bombois S, Pasquier F, Delacourte A, Buée L, *et al.* Les marqueurs biochimiques du LCR : un outil diagnostique de la maladie d'Alzheimer. *NPG.* 2007 Feb;37(7):25-29
- [90] Bürger née Buch K, Padberg F, Nolde T, Teipel SJ, Stübner S, Haslinger A, *et al.* Cerebrospinal fluid tau protein shows a better discrimination in young old (<70 years) than in old old patients with Alzheimer's disease compared with controls. *Neurosci Lett.* 1999 Dec 17;277(1):21-4
- [91] Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK, Parkkinen L, Hartikainen P, Soininen H, *et al.* Cerebrospinal Fluid β -Amyloid 42 and Tau Proteins as Biomarkers of Alzheimer-Type Pathologic Changes in the Brain. *Arch Neurol.* 2009 Mar;66(3):382-9
- [92] Fagan AM, Mintun MA, Shah AR, Aldea P, Roe CM, Mach RH, *et al.* Cerebrospinal fluid tau and ptau181 increase with cortical amyloid deposition in cognitively normal individuals : Implication for future clinical trials of Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med.* 2009 Nov;1(8-9):371-80
- [93] Buchhave P, Blennow K, Zetterberg H, Stomrud E, Londos E, Andreasen N, *et al.* Longitudinal Study of CSF Biomarkers in Patient with Alzheimer's Disease. *PloS One.* 2009 Jul 17;4(7):e6294
- [94] Hampel H, Goertiz A, Buerger K. Advances in the development of biomarkers for Alzheimer's disease : from CSF total tau and Abeta(1-42) proteins to phosphorylated tau protein. *Brain Res Bull.* 2003 Aug 15;61(3):243-53
- [95] Green AJ, Harvey RJ, Thompson EJ, Rossor MN. Increased tau in the cerebrospinal fluid of patients with frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 1999 Jan 8;259(2):133-5
- [96] Bibl M, Mollenhauer B, Wolf S, Esselmann H, Lewczuk P, Kornhuber J, *et al.* Reduced CSF carboxyterminally truncated Abeta peptide in frontotemporal lobe degenerations. *J Neural Transm.* 2007;114(5):621-8
- [97] Bian H, Van Swieten JC, Leight S, Massimo L, Wood E, Froman M, *et al.* CSF biomarkers in frontotemporal lobar degeneration with known pathology. *Neurology.* 2008 May 6;70:1827-18
- [98] Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, Lewczuk P, Trenkwalder C, Brechlin P, *et al.* CSF diagnosis of Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *J Neural Transm.* 2006 Nov;113(11):1771-8

- [99] Mollenhauer B, Bibl M, Esselmann H, Steinacker P, Trenkwalder C, Wiltfang J, *et al.* Tauopathies and synucleinopathies: do cerebrospinal fluid β -amyloid peptides reflect disease-specific pathogenesis ? *J Neural Transm.* 2007 Jul;114(7):919-27
- [100] Bahl JM, Heegaard NH, Falkenhorst G, Laursen H, Hogenhaven H, Molbak K, *et al.* The diagnostic efficiency of biomarkers in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease compared to Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2009 Nov;30(11):1834-41
- [101] Van Everbroeck B, Boons J, Cras P. Cerebrospinal fluid biomarkers of Creutzfeldt-Jacob disease. *Clin Neurol Neurosurg.* 2005 Aug;107(5):355-60
- [102] Hesse C, Rosengren L, Andreasen N, Davidsson P, Vanderstichele H, Vanmechelen E, *et al.* Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neurosoci Lett.* 2001 Jan 19;297(3):187-90
- [103] Boban M, Grbić K, Mladinov M, Hof PR, Süßmair C, Ackl N, *et al.* Cerebrospinal fluid markers in differential diagnosis of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Coll Antropol.* 2008 Jan;32 Suppl 1:31-6
- [104] van Harten AC, Kester MI, Visser PJ, Blankenstein MA, Pijnenburg YA, van der Flier WM, *et al.* Tau and p-tau as CSF biomarkers in dementia: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2011 Mar 49(3):353-56
- [105] Gabelle A, Roche S, Lehmann S. Les marqueurs biologiques protéiques du liquide céphalorachidien : caractéristiques et implications cliniques dans les démences. *Revue Neurologique.* 2009 Mar;165(3):213-22
- [106] Hampel H, Buerger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Goernitz A, Andreasen N, *et al.* Measurement of Phosphorylated Tau Epitopes in the Differential Diagnosis of Alzheimer Disease. *Arch Gen Psychiatry.* 2004 Jan;61(1):95-102
- [107] Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson P, Van Kerschaver E, Van Der Perre B, Sjögren M, *et al.* Quantification of Tau phosphorylated at threonine 181 in human cerebrospinal fluid : a sandwich ELISA with a synthetic phosphopeptide for standardization. *Neurosci Lett.* 2000 May 5;285(1):49-52
- [108] Mitchell AJ. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2009 Sep;80(9):966-75
- [109] Mattsson N, Blennow K, Zetterberg H. CSF Biomarkers: Pinpointing Alzheimer Pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2009 Oct;1180:28-35
- [110] Hampel H, Shen Y, Walsh DM, Aisen P, Shaw P, Zetterberg H, *et al.* Biological Markers of amyloid β -related mechanisms in Alzheimer's disease. *Exp Neurol.* 2010 Jun;223(2):334-46
- [111] Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, Lee SY, Dence CS, Shah AR, *et al.* *Ann Neurol.* 2006 Mar;59(3):512-9
- [112] Lewczuk P, Esselmann H, Otto M, Maler JM, Henkel MK, Eikenberg O, *et al.* Neurochemical diagnosis of Alzheimer's dementia by CSF A β 42, A β 42/A β 40 ratio and total tau. *Neurobiol Aging.* 2004 Mar;25(3):273-81
- [113] Sten H, Englund H, Lord A, Johansson AS, Almeida CG, Gellerfors P, *et al.* Amyloid- β oligomers are inefficiently measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Ann Neurol* 2005;58: 147-50
- [114] Fukumoto H, Tokuda T, Kasai T, Ishigami N, Hidaka H, Kondo M, *et al.* High-molecular-weight β -amyloid oligomers are elevated in cerebrospinal fluid of Alzheimer patients. *FASEB J.* 2010 Aug;24(8):2716-26
- [115] Xia W, Yang T, Shankar G, Smith IM, Shen Y, Walsh DM *et al.* A specific linked-enzyme immunosorbent assay for measuring β -amyloid protein oligomers in human plasma and brain tissue of patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2009;66(2):190-99

- [116] Stefani A, Martorana A, Bernardini S, Panella M, Mercati F, Orlacchio A, *et al.* CSF markers in Alzheimer disease patients are not related to the different degree of cognitive impairment. *J Neurol Sci.* 2006 Dec;25(1-2):124-8
- [117] Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2003 Oct;2(10):605-13
- [118] Zetterberg H, Blennow K, Hanse E. Amyloid β and APP as biomarkers for Alzheimer's disease. *Exp Gerontol.* 2010 Jan;45(1):23-9
- [119] Wiltfang J, Esselmann H, Smirnov A, Bibl M, Cepek L, Steinacker P, *et al.* Beta-amyloid peptides in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 2003 ; 54 : 263-7
- [120] Mukaetova-Ladinska EB, Monteith R, Perry EK. Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Dementia with Lewy Bodies. *Int J Alzheimer Dis.* 2010.536-38
- [121] Bibl M, Esselmann H, Lewczuk P, Trenkwalder C, Otto M, Kornhuber J, *et al.* Combined Analysis of CSF Tau, A β 42, A β 1–42% and A β 1–40% in Alzheimer's Disease, Dementia with Lewy Bodies and Parkinson's Disease Dementia. *Int J Alzheimers Dis.* 2010 Aug 24;2010
- [122] Andersson M, Zetterberg H, Minthon L, Blennow K, Londos E. The cognitive profil and CSF biomarkers in dementia with Lewy bodies and Parkinson disease dementia. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2011 Jan;26(1)100:5
- [123] Mulugeta E, Londos E, Ballard C, Alves G, Zetterberg H, Blennow K, *et al.* CSF amyloid β 38 as a novel diagnostic marker for dementia with Lewy bodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011 Feb;82(2):160-4
- [124] Pijnenburg YA, Schoonenboom SN, Mehta PD, Mehta SP, Mulder C, Veerhuis R, *et al.* Decreased cerebrospinal fluid amyloid beta (1–40) levels in frontotemporal lobar degeneration. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007 Jul;78(7):735–7
- [125] Bibl M, Mollenhauer B, Lewczuk P, Esselmann H, Wolf S, Otto M, *et al.* Cerebrospinal Fluid Tau, p-Tau 181 and Amyloid- β 38/40/42 in Frontotemporal Dementias and Primary Progressive Aphasias. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2011;31(1):37-44
- [126] Otto M, Esselmann H, Schulz-Schaeffer W, Neumann M, Schröter A, Ratzka P, *et al.* Decreased beta-amyloid1-42 in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology.* 2000 Mar 14;54(5):1099-102
- [127] Sjögren M, Davidsson P, Wallin A, Granérus AK, Grundström E, Askmark H, *et al.* Decreased CSF-beta-amyloid 42 in Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis may reflect mistmetabolism of beta-amyloid induced by disparate mechanisms. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2002;13(2):112-8
- [128] Thompson PW, Lockhart A. Monitoring the amyloid beta-peptide in vivo – caveat emptor. *Drug Discov Today.* 2009 Mar;14(5-6):241-51
- [129] Sjögren M, Gisslen M, Vanmechelen E, Blennow K. Low cerebrospinal fluid b-amyloid 42 in patients with acute bacterial meningitis and normalization after treatment. *Neurosci Lett.* 2001 Nov 13;314(1-2):33-6
- [130] Wiltfang J, Esselmann H, Bibl M, Smirnov A, Otto M, Paul S, *et al.* Highly conserved and disease-specific patterns of carboxyterminally truncated Abeta peptides 1-37/38/39 in addition to 1-40/42 in Alzheimer's disease and in patients with chronic neuroinflammation. *J Neurochem.* 2002 May;81(3):481-96
- [131] Smach MA, Charfeddine B, Ben Othman L, Lammouchi T, Dridi H, Nafati S, *et al.* Evaluation of Cerebrospinal Fluid Tau/ β -Amyloid(42) Ratio as Diagnostic Markers for Alzheimer Disease. *Eur Neurol.* 2009;62(6):349-55
- [132] Maddalena A, Papassotiropoulos A, Müller-Tillmanns B, Yung BB, Hegi I, Nitsch RM, *et al.* Biochemical diagnosis of Alzheimer disease by measuring the cerebrospinal fluid ratio of phosphorylated tau protein to beta-amyloid peptide42. *Arch Neurol.* 2003 Sep;60(9):1202-6

- [133] Kester M, Boelaarts L, Bouwman LH, Vogels RL, Groot ER, van Elk EJ, *et al.* Diagnostic Impact of CSF Biomarkers in a Local Hospital Memory Clinic. *Dement Geriatr Cogn Disord*.29:491-497.2010
- [134] DeCarli C. Mild cognitive impairment : prevalence, prognosis, aetiology, and treatment. *Lancet Neurol*. 2003 Jan;2(1):15-21
- [135] Shoji M, Biomarkers of the dementia. *Int J Alzheimers dis*.2011
- [136] Hampel H, Teipel SJ, Fuchsberger T, Andreasen N, Wiltfang NJ, Otto M, *et al.* Value of CSF beta-amyloid 1-42 and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Mol Psychiatry*. 2004 Jul;9(7):705-10
- [137] Parnetti L, Lanari A, Silvestrelli G, Saggese E, Reboldi P. Diagnosing prodromal Alzheimer's disease : Role of CSF biochemical markers. *Mech Ageing Dev*. 2006 Feb;127(2):129-32
- [138] Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment : a follow-up study. *Lancet Neurol*. 2006 Mar;5(3):228-34
- [139] Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, *et al.* CSF Biomarkers and Incipient Alzheimer Disease in Patients With Mild Cognitive Impairment. *JAMA*. 2009 Jul 22;302(4):385-93
- [140] Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund LO, Freund-Levi Y, *et al.* Prévalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study : a prospective cohort study. *Lancet Neurol*. 2009 Jul;8(7):619-27
- [141] Snider BJ, Fagan AM, Roe C, Shah AR, Grant EA, Xiong C, *et al.* Cerebrospinal fluid biomarkers and rate of cognitive decline in very mild dementia of the Alzheimer type. *Arch neurol*. 2009 May;66(5):638-45
- [142] Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM. Cerebrospinal Fluid tau/beta-Amyloid42 Ratio as a Prediction of Cognitive Decline in Nondemented Older Adults.*Arch Neurol*. 2007 Mar;64(3):343-9
- [143] Gustafson DR, Skoog I, Rosengren L, Zetterberg H, Blennow K. Cerebrospinal fluid beta-amyloid 1-42 concentration may predict cognitive decline in older women. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007 May;78(5):461-4
- [144] Hampel H, Wilcock G, Andrieu S, Aisen P, Blennow K, Broich K, *et al.* Biomarkers for Alzheimer's disease therapeutic trials. *Prog Neurobiol*. 2010 Dec
- [145] Truffinet P, Bordet R, Ménard J. Pertinence des critères d'évaluation utilisés dans les essais cliniques sur la maladie d'Alzheimer. *Thérapie* 2009 Mai;64(3):139-43
- [146] Table Ronde n°2 : Maladie d'Alzheimer : biomarqueurs, nouveaux schémas d'études, phases précoces
- [147] Bordet R, Dartigues JF, Dubois B, Goehrs JM, Vernoux L, Semah F, *et al.* Biomarkers for the early stages of clinical development in Alzheimer's disease. *Thérapie*. 2010 Jul-Aug;65(4):285-90
- [148] Malaplate-Armand C, Desbene C, Pillot T, Olivier JL. Diagnostic biologique de la maladie d'Alzheimer : avancées, limites et perspectives. *Revue Neurologique*.2009;165(6-7):511-21
- [149] Lopez OL, Becker JT, Klunk W, Saxton J, Hamilton RL, Kaufer DI, *et al.* Research evaluation and diagnosis of probable Alzheimer's disease over the last two decades. *Neurology* 2000 Dec 26;55(12):1854-62
- [150] Engelborghs S, De Vreese K, Van de Castele T, Vanderstichele H, Van Everbroeck B, Cras P, *et al.* Diagnostic performance of a CSF-biomarker panel in autopsy-confirmed dementia. *Neurobiol Aging*. 2008;29(8):1143-59

- [151] Schoonenboom NS, Mulder C, Vanderstichele H, Van Elk EJ, Kok A, Van Kamp GJ, *et al.* Effects of processing and storage conditions on amyloid beta (1–42) and tau concentrations in cerebrospinal fluid: implications for use in clinical practice. *Clin Chem.* 2005 Jan;51(1):189-95
- [152] Mattsson M, Andreasson U, Persson S, Arai H, Dev Batish S, Bernardini S, *et al.* The Alzheimer's Association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers. *Alzheimer Dement.* 2011 Jul;7(4):386-95
- [153] Gabelle A, Roche S, Gény C, Bennys K, Labauge P, Tholance Y, *et al.* Correlations between soluble α/β forms of amyloid precursor protein and A β 38, 40, and 42 in human cerebrospinal fluid. *Brian Res.* 2010 Oct 21;1357:175-83
- [154] Wiltfang J, Esselmann H, Bibl M, Hüll M, Hampel H, Kessler H, *et al.* Amyloid β peptide ratio 42/40 but not A β 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A β 40 load. *JNeurochem.* 2007 May;101(4):1053-9
- [155] Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Andreasson U, Londos E, Minthon L, *et al.* Prediction of Alzheimer's Disease Using the CSF A β 42/A β 40 Ratio in Patients with Mild Cognitive Impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2007;23(5):316-20
- [156] Mehta PD, Pirttilä T, Mehta SP, Sersen EA, Aisen PS, Wisniewski HM. Plasma and Cerebrospinal Fluid Levels of Amyloid β Proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer Disease. *Arch Neurol.* 2000 Jan;57(1):100-5
- [157] Riverol M, Lopez OL. Biomarkers in Alzheimer's disease. *Front Neurol.* 2011;2:46
- [158] Verwey NA, Veerhuis R, Twaalfhoven HA, Wouters D, Hoozemans JJ, Bollen YJ, *et al.* Quantification of amyloid-beta 40 in cerebrospinal fluid. *J Immunol Methods.* 2009 Aug 31;348(1-2):57-66
- [159] Kester MI, Scheffer PG, Koel-Simmelink MJ, Twaalfhoven H, Verwey NA, Veerhuis R, *et al.* Serial CSF sampling in Alzheimer's disease: specific versus non specific markers. *Neurobiol Aging.* 2011 Jul 6
- [160] Head E, Pop V, Sarsoza F, Kaye R, Beckett TL, Studzinski CM, *et al.* Amyloid β -peptide and oligomers in the brain and CSF of aged canines. *J Alzheimers Dis.* 2010;20(2):637-46
- [161] Anoop A, Singh PK, Jacob RS, Maji SK. CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Int J Alzheimers Dis.* 2010 Jun 23;2010
- [162] Craig-Schapiro R, Fagan AM, Holtzman DM. Biomarkers of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 2009 Aug;35(2):128-40
- [163] Spies PE, Slats D, Sjögren JM, Kremer BP, Verhey FR, Rikkert MG, *et al.* The cerebrospinal fluid amyloid beta42/40 ratio in the differentiation of Alzheimer's disease from non-Alzheimer's dementia. *Curr Alzheimer Res* 2010 Aug;7(5):470-6
- [164] Brys M, Glodzik L, Mosconi L, Switalski R, De Santi S, Pirraglia E, *et al.* Magnetic resonance imaging improves cerebrospinal fluid biomarkers in the early detection of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2009;16(2):351-62
- [165] Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, Lewczuk P, Klafki HW, Sparbier K, *et al.* CSF amyloid-beta-peptides in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. *Brain.* 2006 May;129(Pt5):1177-87
- [166] Portelius E, Zetterberg H, Andreasson U, Brinkmalm G, Andreasen N, Wallin A, *et al.* An Alzheimer's disease-specific β -amyloid fragment signature in cerebrospinal fluid. *Neurosci Lett.* 2006 Dec 6;409(3):215-9
- [167] Crouch PJ, Harding SM, White AR, Camakaris J, Bush AI, Masters CL. Mechanisms of A β mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Int Jbiochem Cell Biol.* 2008;40(2):181–98

- [168] Georganopoulou DG, Chang L, Nam JL, Thaxton CS, Mufson EJ, Klein WL, *et al.* Nanoparticle-based detection in cerebral spinal fluid of a soluble pathogenic biomarker for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Feb 15;102(7):2273-6
- [169] von Helmond Z, Heesom K, Love S. Characterisation of two antibodies to oligomeric A β and thier use in ELISAs on human brain tissue homogenates. *J Neurosci Methods.* 2009 Jan 30;176(2):206-12
- [170] Kuo YM, Emmerling MR, Vigo-Pelfrey C, Kasunic TC, Kirkpatrick JB, Murdoch GH, *et al.* Water-soluble Abeta (N-40, N-42) oligomers in normal and Alzheimer disease brains. *J Biol Chem.* 1996 Feb 23;271(8):4077-81
- [171] Wang J, Dickson DW, Trojanowski JQ, Lee VM. The levels of soluble versus insoluble brain Abeta distinguish Alzheimer's disease from normal and pathologic aging. *Exp Neurol.* 1999 Aug;158(2):328-37
- [172] Portet F, Gabelle A, Touchon J. Démence de la maladie de Parkinson et démence à corps de Lewy. *Psychol Neuropsychiatr Vieil* 2006;4(s1):35-50
- [173] Cheng F, Vivacqua G, Yu S. *J Chem Neuroanat.* The role of alpha-synuclein in neurotransmission and synaptic plasticity. 2010 Dec 16
- [174] Ohrfelt A, Grognet P, Andreasen N, Wallin A, Vanmechelen E, Blennow K, *et al.* Cerebrospinal fluid α -synuclein in neurodegenerative disorders-a marker of synapse loss? *Neurosci Lett.* 2009 Feb 6;450(3):332-5
- [175] Tokuda T, Qureshi MM, Ardah MT, Varghese S, Shehab SA, Kasai T, *et al.* Detection of elevated levels of α -synuclein oligomers in CSF from patients with Parkinson disease. *Neurology* 2010 Nov 16;75(20):1766-72
- [176] Kasuga K, Tokutake T, Ishikawa A, Uchiyama T, Tokuda T, Onodera O, *et al.* Differential level of alpha-synuclein, beta-amyloid42 and tau in CSF between patients with dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2010 Jun;81(6):608-10
- [177] Noguchi-Shinohara M, Tokuda T, Yoshito M, Kasai T, Ono K, Nakagawa M, *et al.* CSF α -synuclein levels in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *Brain Res.* 2009 Jan 28;1251:1-6
- [178] Ballard CG, Jones EL. CSF α -synuclein as a diagnostic biomarker for Parkinson disease and related demantias. *Neurology.* 2010 Nov 16;75(20):1760-1
- [179] Johansen KK, White LR, Sando SB, Aasly JO. Biomarkers: Parkinson disease with dementia and dementia with Lewy bodies. *Parkinsonism Relat Disord.* 2010 Jun;16(5):307-15
- [180] Wirths O, Bayer TA. Alpha-synuclein, Abeta and Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2003;27(1):103-8
- [181] Bate C, Gentleman S, Williams A. α -synuclein induced synapse damage is enhanced by amyloid- β 1-42. *Mol Neurodegener.* 2010 Dec 7;5:55
- [182] El-Agnaf OM, Salem SA, Paleologou AE, Curran MD, Gibson MJ, Court JA, *et al.* Detection of oligomeric forms of alpha-synuclein protein in human plasma as a potentiel biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J.* 2006 Mar;20(3):419-25
- [183] Andreasen N, Minthon L, Davidsson P, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Winblad B, *et al.* Evaluation of CSF-tau and CSF-Abeta42 as diagnostic markers for Alzheimer disease in clinical practice. *Arch neurol* 2001 Mar;58(3):373-9
- [184] Blennow K, Wallin A, Häger O. Low frequency of post-lumbar puncture headache in demented patients. *Acta Neurol Scand.* 1993 Sep;88(3):221-3
- [185] Peskind ER, Riekse R, Quinn JF, Kaye J, Clark CM, Farlow MR, *et al.* Safety and acceptability of the research lumbar puncture. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2005;19:220-5
- [186] Donnadiou S. Douleurs induites par les soins chez la personne âgée. *Douleurs.* 2008;9:22-27

- [187] Giedraitis V, Sundelöf J, Irizarry MC, Garevik N, Hyman BT, Wahlund LO *et al.* The normal equilibrium between CSF and plasma amyloid beta levels is disrupted in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2007 Nov 12;427(3):127-31
- [188] Sagare A, Deane R, Bell RD, Johnson B, Hamm K, Pendu R, *et al.* Clearance of amyloid-beta by circulating lipoprotein receptors. *Nat Med.* 2007 Sep;13(9):1029-31
- [189] Chen M, Inestrosa NC, Ross GS, Fernandez HL. Platelets are the primary source of amyloid bet-peptide in human blood. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995 Aug 4;213(1):96-103
- [190] Li QX, Fuller SJ, Beireuther K, Masters CL. The amyloid precursor protein of Alzheimer disease in human brain and blood. *J Leukoc Biol.* 1999 Oct;66(4):567-74
- [191] Freeman SH, Raju S, Hyman BT, Frosch MP, Irizarry MC. Plasma Abeta levels do not reflect brain Abeta levels. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2007 Apr;66(4):264-71
- [192] Kawarabayashi T, Younkin LH, Saido TC, Shoji M, Ashe KH, Younkin SG. Age-dependent changes in brain, CSF, and plasma amyloid (beta) protein in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2001 Jan 15;21(2):372-81
- [193] Sundelöf J, Giedraitis V, Irizarry MC, Sundström J, Ingelsson E, Rönemaa E, *et al.* Plasma beta amyloid and the risk of Alzheimer disease and dementia in elderly men: a prospective, population-based cohort study. *Arch Neurol.* 2008 Feb;65(2):256-53
- [194] Seppälä TT, Herukka SK, Hänninen T, Servo S, Hallikainen M, Soininen H, *et al.* Plasma Aβ42 and Aβ40 as markers of cognitive change in follow-up: a prospective, longitudinal, population-based cohort study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2010 Oct;81(10):1123-7
- [195] van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal HD, Breteler MM. Plasma Aβ(1-40) and Aβ(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study. *Lancet Neurol.* 2006 Aug;5(8):655-60
- [196] Graff-Radford NR, Crook JE, Lucas J, Boeve BF, Knopman DS, Ivnik RJ, *et al.* Association of Low Plasma Aβ42/Aβ40 Ratios With increased Imminent Risk for Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease. *Arch Neurol.* 2007 Mar;63(3):354-62
- [197] Modrego PJ, Monleon I, Sarasa M. The clinical significance of plasmatic amyloid Aβ40 peptide levels in Alzheimer's disease patients treated with galantamine. *Am J Alzheimers Dis Other Dement.* 2008 Jun-Jul;23(3):286-90
- [198] Irizarry MC. Biomarkers of Alzheimer disease in plasma. *NeuroRX.* 2004 Apr;1(2):226-34
- [199] Krolak-Salmon P. Quelle place pour les biomarqueurs dans le diagnostic de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées. *Psychol Neurol Psychiatr. Vieil.* 2010;8(1):25-31
- [200] Solfrizzi V, D'Introno A, Colacicco AM, Capurso C, Todarello O, Pellicani V, *et al.* Circulating biomarkers of cognitive decline and dementia. *Clin Chim Acta.* 2006 Feb;364(1-2):91-112
- [201] Thies B, Truschke E, Morisson-bogorad M, Hodes RJ. Consensus report of the Working Group on: molecular and biochemical markers of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 1999 Mar-Apr;20(2):247
- [202] Kanai M, Matsubara E, Ise K, Urakami K, Nakashima K, Arai H, *et al.* Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, A beta1-40, and A beta1-42(43) in Alzheimer's disease: a study in Japan. *Ann Neurol.* 1998 Jul;44(1):17-26
- [203] Koopman K, Le Bastard N, Martin JJ, Nagels G, De Deyn PP, Engelborghs S. Improved discrimination of autopsy-confirmed Alzheimer's disease (AD) from non-AD dementias using CSF P-Tau(181P). *Neurochem Int.* 2009 Sep;55(4):214-8

- [204] Schraen-Maschke S, Bombois S, Vercruysse O, Ravasi L, Pasquier F, Sablonnière B, *et al.* P2a-13
Biomarqueurs Tau, pTau et A β 1-42 dans le LCR : Propositions d'arbres décisionnels pour l'aide au diagnostic
des démences et de la MA. *Revue Neurologique*.2009;165:71-72

VU

NANCY, le **5 octobre 2011**

Le Président de Thèse

NANCY, le **7 octobre 2011**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur J-L. OLIVIER

Professeur H. COUDANE

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE 3799

NANCY, le 11/10/2011

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur J.P. FINANCE

RESUMÉ

Aujourd'hui, les marqueurs biologiques $A\beta_{42}$, protéine Tau et sa forme phosphorylée pTau dans le LCR, sont devenus incontournables dans la batterie d'outils diagnostiques disponibles de la maladie d'Alzheimer. De nombreuses études ont validé la pertinence et la performance des biomarqueurs chez des malades d'Alzheimer. Cependant, il arrive que l'utilisation de ces marqueurs ne permette pas de conclure biologiquement. Des études récentes ont proposé d'effectuer le dosage du peptide $A\beta_{40}$, peptide majoritairement présent dans le LCR et le cerveau et considéré comme le reflet de la charge amyloïde globale du patient. Afin d'évaluer l'intérêt de ce dosage complémentaire dans la pratique courante au laboratoire, nous avons proposé de réaliser ce dosage chez tous les patients ayant bénéficié des dosages des biomarqueurs standards et pour lesquels le bilan biologique ne permet pas de conclure. Le recrutement de notre population d'étude est basé sur ces critères biologiques. Les dosages des biomarqueurs standards et celui du peptide $A\beta_{40}$ ont été réalisés en utilisant les kits ELISA de la société Innogenetics®.

Dans ce contexte, nous avons montré que le dosage d' $A\beta_{40}$ permet de poser une conclusion biologique pour 109 patients sur 122 (89%) pour lesquels les biomarqueurs standards étaient pris en défaut. Nous proposons également d'optimiser les valeurs seuils à 0,048 pour le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ et à 58 pg/mL pour pTau apportant une sensibilité de 72% et une spécificité de 100% pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer par rapport à un ensemble d'autres pathologies neurologiques et psychiatriques.

Notre étude montre que ce dosage est pertinent et que l'intégration de pTau avec le *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ en fait un bon outil diagnostique de la maladie d'Alzheimer en seconde intention.

Titre en Anglais :

CONTRIBUTION OF $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ RATIO IN THE INTERPRETATION OF BIOLOGICAL ASSESSMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE IN 122 LORRAINE'S MEMORY CENTERS PATIENTS.

Thèse : Médecine spécialisée – Année 2011.

Mots clés :

Maladie d'Alzheimer, Marqueurs biologiques, Peptide $A\beta_{40}$, *ratio* $A\beta_{42}/A\beta_{40}$, Démences

Faculté de Médecine de Nancy

9, avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex
