

UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté de Médecine

ANNÉE 2013

THÈSE N°

**Etude de la pertinence du diagnostic biologique de la
maladie d'Alzheimer à partir de l'expérience
du CHU Dupuytren
Apport du dosage du peptide A β 1-40**

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

obtenu après soutenance du

MEMOIRE

Du diplôme d'Etudes Spécialisées de Biologie Médicale

présenté et soutenu publiquement

le 9 septembre 2013

par

Laure GUINDRE

née le 18 mai 1984, à Neuilly-sur-Seine

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. le Professeur F. STURTZPrésident et Directeur de thèse

M. le Professeur B. FUNALOT Juge

Mme le Professeur M.O. JAUBERTEAU-MARCHAN..... Juge

Mme le Professeur S. ROGEZ Juge

Mme le Docteur L. CARTZ-PIVER Membre invité

M. le Docteur T. CHIANEA Membre invité

UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté de Médecine

ANNÉE 2013

THÈSE N°

**Etude de la pertinence du diagnostic biologique de la
maladie d'Alzheimer à partir de l'expérience
du CHU Dupuytren
Apport du dosage du peptide A β 1-40**

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

obtenu après soutenance du

MEMOIRE

Du diplôme d'Etudes Spécialisées de Biologie Médicale

présenté et soutenu publiquement

le 9 septembre 2013

par

Laure GUINDRE

née le 18 mai 1984, à Neuilly-sur-Seine

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. le Professeur F. STURTZPrésident et Directeur de thèse

M. le Professeur B. FUNALOT Juge

Mme le Professeur M.O. JAUBERTEAU-MARCHAN..... Juge

Mme le Professeur S. ROGEZ Juge

Mme le Docteur L. CARTZ-PIVER Membre invité

M. le Docteur T. CHIANEA Membre invité

**UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE MEDECINE**

DOYEN DE LA FACULTE :

Monsieur le Professeur Denis **VALLEIX**

ASSESEURS :

Monsieur le Professeur Marc **LASKAR**

Monsieur le Professeur Jean-Jacques **MOREAU**

Monsieur le Professeur Pierre-Marie **PREUX**

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS :

ABOYANS Victor

CARDIOLOGIE

ACHARD Jean-Michel

PHYSIOLOGIE

ADENIS Jean-Paul

OPHTALMOLOGIE

ALAIN Sophie

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

ALDIGIER Jean-Claude

NEPHROLOGIE

ARCHAMBEAUD Françoise (CS)

MEDECINE INTERNE

ARNAUD Jean-Paul

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et

TRAUMATOLOGIQUE

AUBARD Yves (CS)

GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE

AUBRY Karine

O.R.L.

BEDANE Christophe (CS)

DERMATOLOGIE-VERERELOGIE

BERTIN Philippe (CS)

THERAPEUTIQUE

BESSEDE Jean-Pierre (CS)

O.R.L.

BONNAUD François

PNEUMOLOGIE

BORDESSOULE Dominique (CS)

HEMATOLOGIE

CHARISSOUX Jean-Louis

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et

TRAUMATOLOGIQUE

CLAVERE Pierre (CS)

RADIOTHERAPIE

CLEMENT Jean-Pierre (CS)

PSYCHIATRIE d'ADULTES

COGNE Michel (CS)

IMMUNOLOGIE

COLOMBEAU Pierre

UROLOGIE

CORNU Elisabeth

CHIRURGIE THORACIQUE et

CARDIOVASCULAIRE

COURATIER Philippe (CS)

NEUROLOGIE

DANTOINE Thierry (CS)

GERATRIE et BIOLOGIE du

VIEILLISSEMENT

DARDE Marie-Laure (CS)

PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE

DAVIET Jean-Christophe

MEDECINE PHYSIQUE et de

READAPTATION

DESCAZEAUD Aurélien

UROLOGIE

DESSPORT Jean-Claude

NUTRITION

DRUET-CABANAC Michel (CS)

MEDECINE et SANTE au TRAVAIL

DUMAS Jean-Philippe (CS)

UROLOGIE

ESSIG Marie (CS)

NEPHROLOGIE

FAUCHAIS Anne-Laure (CS)

MEDECINE INTERNE

FEISS Pierre

ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION

FEUILLARD Jean (CS)

HEMATOLOGIE

FOURCADE Laurent (CS)

CHIRURGIE INFANTILE

FUNALOT Benoît

BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE

GAINANT Alain

CHIRURGIE DIGESTIVE

GUIGONIS Vincent

PEDIATRIE

JACCARD Arnaud
JAUBERTEAU-MARCHAN M. Odile
LABROUSSE François (CS)

LACROIX Philippe
LASKAR Marc (CS)

LIENHARDT-ROUSSIE Anne (CS)

LOUSTAUD-RATTI Véronique

MABIT Christian (CS)

MAGY Laurent

MARQUET Pierre (CS)

MATHONNET Muriel

MELLONI Boris (CS)

MERLE Louis

MONTEIL Jacques (CS)

MOREAU Jean-Jacques (CS)

MOULIES Dominique

MOUNAYER Charbel

NATHAN-DENIZOT Nathalie (CS)

PARAF François (CS)

PLOY Marie-Cécile (CS)

PREUX Pierre-Marie (CS)

ROBERT Pierre-Yves (CS)

SALLE Jean-Yves (CS)

SAUTEREAU Denis (CS)

STURTZ Franck (CS)

TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre

TREVES Richard

TUBIANA-MATHIEU Nicole (CS)

VALLAT Jean-Michel

VALLEIX Denis (CS)

VERGNENEGRE Alain

VERGNE-SALLE Pascale

VIDAL Elisabeth

VIGNON Philippe (CS)

VINCENT François

VIROT Patrice (CS)

WEINBRECK Pierre (CS)

YARDIN Catherine (CS)

HEMATOLOGIE

IMMUNOLOGIE

ANATOMIE et CYTOLOGIE

PATHOLOGIQUES

MEDECINE VASCULAIRE

CHIRURGIE THORACIQUE et

CARDIOVASCULAIRE

PEDIATRIE

HEPATOLOGIE

ANATOMIE

NEUROLOGIE

PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

CHIRURGIE DIGESTIVE

PNEUMOLOGIE

PHARMACOLOGIE CLINIQUE

BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE

NEUROCHIRURGIE

CHIRURGIE INFANTILE

RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE

ANESTHESIOLOGIE-RENIMATION

MEDECINE LEGALE et DROIT de la SANTE

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE
et PREVENTION

OPHTALMOLOGIE

MEDECINE PHYSIQUE et de

READAPTATION

GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE

BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE

ENDOCRINOLOGIE, DIABETE et MALADIES

METABOLIQUES

RHUMATOLOGIE

CANCEROLOGIE

NEUROLOGIE

ANATOMIE CHIRURGIE GENERALE

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE
et PREVENTION

THERAPEUTIQUE

MEDECINE INTERNE

REANIMATION

PHYSIOLOGIE

CARDIOLOGIE

MALADIES INFECTIEUSES

CYTOLOGIE et HISTOLOGIE

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

BUCHON Daniel

BUISSON Jean-Gabriel

DUMOITIER Nathalie

PREVOST Martine

MEDECINE GENERALE

MEDECINE GENERALE

MEDECINE GENERALE

MEDECINE GENERALE

MAITRE DE CONFERENCE ASSOCIE A MI-TEMPS

MENARD Dominique

MEDECINE GENERALE

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AJZENBERG Daniel

PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE

ANTONINI Marie-Thérèse

PHYSIOLOGIE

BOURTHOUMIEU Sylvie

CYTOLOGIE et HISTOLOGIE

BOUTEILLE Bernard

PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE

CHABLE Hélène

BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE

DURAND-FONTANIER Sylvaine

ANATOMIE

ESCLAIRE Françoise

BIOLOGIE CELLULAIRE

HANTZ Sébastien

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

LAROCHE Marie-Laure

PHARMACOLOGIE CLINIQUE

LE GUYADER Alexandre

CHIRURGIE THORACIQUE et

CARDIOVASCULAIRE

MARIN Benoît

EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE
et PREVENTION

MOUNIER Marcelle

BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE
HOSPITALIERE

PICARD Nicolas

PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

QUELVEN-BERTIN Isabelle

BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE

TERRO Faraj

BIOLOGIE CELLULAIRE

P.R.A.G

GAUTIER Sylvie

ANGLAIS

BONNETBLANC Jean-Marie

Professeur des Universités Emérite

DENIS François

Professeur des Universités Emérite

SAUVAGE Jean-Pierre

Professeur des Universités Emérite

VANDROUX Jean-Claude

Professeur des Universités Emérite

**UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE**

DOYEN DE LA FACULTE :

1^{er} VICE-DOYEN :

2^{ème} VICE-DOYEN :

Monsieur le Professeur Jean-Luc **DUROUX**

Madame Catherine **FAGNERE**,

Maître de Conférences

Monsieur Serge **BATTU**, Maître de Conférences

PROFESSEURS :

BEYNETOUT Jean-Louis

BOTINEAU Michel

BROSSARD Claude

BUXERAUD Jacques

CARDOT Philippe

CHULIA Albert

CHULIA Dominique

DELAGE Christiane

DESMOULIERE Alexis

DREYFUSS Gilles

DUROUX Jean-Luc

MAMBU Lengo

ODART Nicole

ROUSSEAU Annick

VIANA Marylène

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE

PHARMACOCINETIQUE

CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

PHARMACOGNOSIE

PHARMACOTECHNIE

CHIMIE GENERALE ET MINERALE

PHYSIOLOGIE

MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-

IMMUNOLOGIE

BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET

INFORMATIQUE

PHARMACOGNOSIE

PHARMACOLOGIE

BIOSTATISTIQUE

PHARMACOCINETIQUE

**PROFESSEURS DES UNIVESRSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS DES
DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES :**

LACHATRE Gérard

MOESH Christian

ROGEZ Sylvie

TOXICOLOGIE

HYGIENE HYDROLOGIE

ENVIRONNEMENT

BACTERIOLOGIE ET VIROLOGIE

MAITRES DE CONFERENCES :

BASLY Jean-Philippe

BATTU Serge

BEAUBRUN-GIRY Karine

BILLET Fabrice

CALLISTE Claude

CLEDAT Dominique

COMBY Francis

COURTIOUX Bertrand

DELEBASSEE Sylvie

DEMIOT Claire-Elise

FAGNERE Catherine

FROISSARD Didier

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

PHARMACOTECHNIE

PHYSIOLOGIE

BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET

INFORMATIQUE

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE

PHARMACOLOGIE, PARASITOLOGIE

MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-

IMMUNOLOGIE

PHARMACOLOGIE

CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGAMIE

JAMBUT Anne-Catherine
LABROUSSE Pascal
LEGER David
LIAGRE Bertrand
LOFTI Hayat
MARION-THORE Sandrine
MARRE-FOURNIER Françoise
MILLOT Marion
MOREAU Jeanne

POUGET Christelle
SIMON Alain
TROUILLAS Patrick

VIGNOLES Philippe

PROFESSEUR CERTIFIE :

ROUMIEUX Gwenhaël

CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
TOXICOLOGIE
CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
PHARMACOGNOSIE
MICROBIOLOGIE-PARASITOLOGIE-
IMMUNOLOGIE
CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
CHIMIE GENERALE ET MINERALE
BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET
INFORMATIQUE
BIOPHYSIQUE, BIOMATHEMATIQUES ET
INFORMATIQUE

ANGLAIS

**ASSISTANT HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DES DISCIPLINES
PHARMACEUTIQUES :**

IMBERT Laurent

CHIMIE ANALYTIQUE ET BROMATOLOGIE

Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier le Professeur Franck STURTZ, pour m'avoir permis de mener ce projet au sein du Laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire, et d'avoir accepté de diriger ce travail.

Je souhaite témoigner mes remerciements tout aussi sincères au Docteur Thierry CHIANEA, co-directeur de cette thèse. Son soutien et sa maîtrise analytique ont fortement contribué à la conduite de ce projet.

Je les remercie tous deux pour leur confiance, leur aide et leur encouragement.

J'adresse également tous mes remerciements au Professeur Marie Odile JAUBERTEAU-MARCHAN qui me fait l'honneur de juger ce travail.

Mes remerciements s'adressent également au Professeur Sylvie ROGEZ pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je les remercie ensemble pour leur qualité humaine, leur écoute et leur talent pédagogique que j'ai pu apprécier tout au long de ma formation.

Je remercie le Professeur Benoit FUNALOT pour avoir accepté d'assister à ma soutenance et me fait l'honneur de juger ce travail.

Je remercie chaleureusement le Docteur Leslie CARTZ-PIVER pour sa participation à l'interprétation des dossiers cliniques, pour son investissement et son enthousiasme lors de nos multiples échanges.

Je remercie Marie-Françoise PIQUET pour toute son aide à la paillasse, sa gentillesse et sa bonne humeur. La qualité de sa technicité nous a permis d'obtenir de très bons résultats.

Je remercie Jean-Baptiste WOILLARD pour ses compétences en statistique qui m'ont été très précieuses.

Je remercie tous les biologistes, assistants et techniciens des différents laboratoires dans lesquels j'ai pu évoluer et qui ont contribué à ma formation au cours de ces années d'internat.

Je remercie tous mes co-internes pour leur sympathie et leur soutien : Jasmine, Sandra, Violaine, Coralie, Caroline, Céline, Thomas, Albertine, François, Isabelle, Guillaume, Ana,

Fanny, Yamen, Aurélie, Marc... La liste est longue et plusieurs d'entre vous sont devenus de véritables amis.

Merci à Magali pour tous les moments partagés ensemble depuis le début de ces longues années d'études.

Merci à Camille, Cécile, Anne et Julien tout simplement pour l'amitié qu'ils me portent depuis toutes ces années.

Merci à ma famille, mes parents, ma belle famille pour leur soutien. Merci à ma sœur, Pauline, pour sa force et son amour.

Enfin je remercie Nicolas. Merci pour tout le bonheur que tu m'apportes.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	19
I. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	23
I.1 DEFINITIONS.....	23
I.2 EPIDEMIOLOGIE	24
I.3 GENETIQUE ET FACTEURS DE RISQUE	25
I.4 PHYSIOPATHOLOGIE.....	27
I.4.1 <i>La substance amyloïde</i>	<i>28</i>
I.4.2 <i>La dégénérescence neurofibrillaire (DNF)</i>	<i>29</i>
I.4.3 <i>Neuropathologie.....</i>	<i>30</i>
I.5 DIAGNOSTIC.....	33
I.5.1 <i>Evolution des critères diagnostiques.....</i>	<i>34</i>
I.5.2 <i>Examen clinique.....</i>	<i>39</i>
I.5.3 <i>Examen neuropsychologique.....</i>	<i>39</i>
I.5.4 <i>Imagerie.....</i>	<i>40</i>
I.5.5 <i>Examens biologiques</i>	<i>41</i>
I.6 DIAGNOSTICS DIFFERENTIELS.....	41
I.7 TRAITEMENTS.....	46
I.8 DE LA PHYSIOPATHOLOGIE AUX BIOMARQUEURS DU LCR.....	48
I.8.1 <i>Protéine Tau-totale : T-Tau</i>	<i>48</i>
I.8.2 <i>La protéine Tau phosphorylée : P-Tau.....</i>	<i>49</i>
I.8.3 <i>Les peptides Aβ.....</i>	<i>50</i>
I.8.4 <i>Combinaisons des marqueurs</i>	<i>52</i>
I.8.5 <i>Limites des biomarqueurs du LCR.....</i>	<i>55</i>
I.8.6 <i>Dosages plasmatiques du peptide β amyloïde.....</i>	<i>57</i>
II. PARTIE EXPERIMENTALE	61
II.1 OBJECTIFS.....	61
II.2 PATIENTS ET METHODES	61

II.2.1	<i>Sélection des patients pour l'évaluation de la performance des biomarqueurs du LCR dans le diagnostic de la MA et pour l'évaluation de l'impact des résultats biologiques sur le diagnostic clinique.....</i>	61
II.2.2	<i>Sélection des patients pour l'évaluation des performances du ratio Aβ1-42/Aβ1-40 associé à la P-Tau</i>	62
II.2.3	<i>Critères d'exclusion.....</i>	62
II.2.4	<i>Classification biologique.....</i>	62
II.2.5	<i>Classification clinique</i>	63
II.3	ANALYSES BIOLOGIQUES	64
II.3.1	<i>Prélèvements de LCR</i>	64
II.3.2	<i>Dosage des biomarqueurs du LCR</i>	64
II.4	STATISTIQUES	66
III.	RESULTATS	69
III.1	EVALUATION DES PERFORMANCES DES BIOMARQUEURS DU LCR UTILISES EN ROUTINE PAR CONFRONTATION DES CONCLUSIONS BIOLOGIQUES AUX DIAGNOSTICS CLINIQUES INITIAUX	69
III.1.1	<i>Performances des trois biomarqueurs utilisés en routine permettant de discriminer les patients atteints de MA des patients sans processus neurodégénératifs. 75</i>	
III.1.2	<i>Performances des trois biomarqueurs utilisés en routine pour le diagnostic différentiel des patients atteints de MA des patients atteints d'autres démences.....</i>	77
III.1.3	<i>Performances des combinaisons de biomarqueurs (IAT1 et Aβ1-42/P-Tau) pour le diagnostic différentiel des patients atteints de MA des patients sans processus neurodégénératif.....</i>	79
III.1.4	<i>Performances des combinaisons de biomarqueurs (IAT1 et Aβ1-42/P-Tau) pour le diagnostic différentiel des patients atteints de MA des patients atteints d'autres démences.....</i>	81
III.1.5	<i>Performances des combinaisons de biomarqueurs : IAT1 associé à P-Tau et Aβ1-42/P-tau associé à T-Tau</i>	82
III.2	BILAN DE LA CONTRIBUTION DU IAT1 ASSOCIE A LA P-TAU POUR LE DIAGNOSTIC DE LA MA.....	83
III.3	EVALUATION DU DOSAGE DE L'Ab1-40 DANS L'ETABLISSEMENT D'UN DIAGNOSTIC POUR LES PROFILS NON-CONCLUANTS ISSUS DU SYSTEME COMBINE DU IAT1 ASSOCIE A LA P-TAU	84
III.4	BILAN DE L'IMPACT DES RESULTATS BIOLOGIQUES SUR LE DIAGNOSTIC CLINIQUE	90

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	101
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	105
ANNEXES	115
TABLE DES FIGURES	125
TABLE DES TABLEAUX	127

LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES

AA : Alzheimer's Association

ABSI : Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative

ACP : Atrophie corticale postérieure

AD : Autre démence

ADRDA : Alzheimer's Disease and Related Disorders Association

AICD : β APP Intracellular domain

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdiens

AIREN : Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement

AMM : Autorisation de mise sur le marché

APH-1 : Anterior pharynx defective 1 homolog

APL : Aphasie progressive logopénique

APNF : Aphasie progressive non fluente

APO E : Apolipoprotéine E

APP : Protéine précurseur du peptide amyloïde ou Aphasie primaire progressive

AUC : Area under curve

AVC : Accident vasculaire cérébral

BACE 1 : β APP cleaving enzyme 1

BREF : Batterie rapide d'efficacité frontale

CDK : Kinases dépendantes des cyclines

CERAD : Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease

CMRR : Centre Mémoire de Ressources et de Recherche

COGLIM : Réseau de dépistage des troubles cognitifs en Limousin

CV : Coefficient de variation

DCB : Dégénérescence corticobasale

DCL : Démence à corps de Lewy

DFT : Démence fronto-temporale

DLFT : Démence lobaire fronto-temporale

DMS : Delayed matching-to-sample

DNF : Dégénérescence neurofibrillaire

DS : Démence sémantique

DSM : Diagnostic and statistical manual of mental disorders

EEG : Electro-encéphalogramme

ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay

FDG : Fluorodéoxyglucose

FLAIR : Fluid attenuated inversion recovery

GSK3 : Glycogen synthase kinase 3

GWAS : Genome-wide Association Study

HAS : Haute Autorité de Santé

HRP : Horseradish peroxydase

IACHe : Inhibiteur de l'acétylcholinestérase

IADL : Instrumental activities of daily living

IATI : Innotest amyloid tau index

ICAM 1 : Intracellular adhesion molecule 1

ICD : Intracellular domain

IRM : Imagerie par résonance magnétique

LCR : Liquide céphalo-rachidien

MA : Maladie d'Alzheimer

MAP : Microtubule-associated proteins

MARK : Microtubule affinity-regulating kinase

MCI : Mild cognitive impairment

MCJ : Maladie de Creutzfeldt-Jakob

MIS : Memory impairment screen

MMSE ou MMS : Mini mental status examination

ND : Non neurodégénératif

NIA : National Institute on Aging

NINCDS : National Institute of Neurological and Communicative Disorder and Stroke

NIND: National Institute of Neurological Disorders and Stroke

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

Opeps : Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé

ORSL : Observatoire Régional de la Santé en Limousin

PEN 2 : Presenilin enhancer 2

PHF : Paired helical filaments

PhK : Phosphorylase kinase

PIB : Composé B de Pittsburg

pKA : Protéine kinase A

pKC : Protéine kinase C

PL : Ponction lombaire

PP : Polypropylène

PSEN1 : Préséniline 1

PSEN2 : Préséniline 2

PSP : Paralyse supranucléaire progressive

P-Tau : protéine Tau phosphorylée

RL/RI : Rappel libre/rappel indicé

ROC : Receiver operating characteristic

SLA : Sclérose latérale amyotrophique

SV : Streptavidine

Tau : Tubulin-associated unit

TEMP ou SPECT : Tomographie d'émission monophotonique ou Single photon emission computed tomography

TEP ou PET: Tomographie par émission de positrons

TSH : Thyroestimuline hypophysaire

T-Tau : protéine Tau totale

VPN : Valeur prédictive négative

VPP : Valeur prédictive positive

INTRODUCTION

En raison du vieillissement de la population, la maladie d'Alzheimer (MA) constitue, au niveau mondial, un problème majeur de santé publique. Davantage qu'économique, son impact sur la qualité de vie du patient et sur son entourage rend nécessaire le développement et l'utilisation d'outils diagnostiques précoces. Actuellement son diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques et paracliniques mais seule une preuve histologique provenant du cerveau établit le diagnostic de certitude.

Depuis quelques années, de nouveaux moyens d'exploration se positionnant au plus près du processus physiopathologique sont apparus tels que la neuro-imagerie et le dosage des biomarqueurs dans le LCR. Ceux-ci tendent à s'intégrer dans les nouveaux critères diagnostiques de la maladie et particulièrement dans le diagnostic différentiel des démences ainsi que dans les formes atypiques (présentations non amnésiques). Trois biomarqueurs sont dosés en routine dans les centres spécialisés : la protéine Tau totale (T-Tau), la protéine Tau phosphorylée (P-Tau) et le peptide amyloïde A β 1-42. Cependant leurs interprétations ne sont pas toujours aisées lorsqu'il existe une discordance entre ces trois biomarqueurs particulièrement entre la P-Tau et l'A β 1-42. Afin de corriger cette divergence, de plus en plus de centres dosent un nouveau biomarqueur : la protéine A β 1-40.

Le service de biochimie du CHU de Limoges effectue le dosage de ces trois biomarqueurs en routine depuis le mois d'octobre 2009. Dans un premier temps, nous déterminerons la performance du dosage de ces trois protéines dans le diagnostic de la MA. Dans un second temps, nous étudierons la valeur ajoutée du ratio A β 1-42/A β 1-40 pour les profils discordants. Enfin, nous déterminerons l'impact de nos conclusions biologiques sur le diagnostic clinique final établi par le praticien.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Définitions

Selon la dernière version du manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux, le DSM IV-TR (annexe 1), le syndrome démentiel se caractérise par une altération globale des fonctions cognitives (mémoire, langage, praxies, gnosies et fonctions exécutives) de survenue progressive, retentissant sur la vie sociale ou professionnelle et représentant un déclin par rapport au niveau de fonctionnement antérieur. Ces atteintes ne doivent pas survenir exclusivement au cours d'un épisode de confusion mentale et ne doivent pas être expliquées par un trouble psychiatrique [1].

Les grands cadres nosologiques des démences sont les suivants:

- La maladie d'Alzheimer (MA)
- Les démences vasculaires et les démences mixtes (association d'une MA à une pathologie cérébrovasculaire)
- Les démences avec atrophies focales (atrophies lobaires frontotemporales, atrophies corticales postérieures)
- Les démences striatales (démence à corps de Lewy, démence de la maladie de Parkinson, paralysie supranucléaire progressive, dégénérescence corticobasale, la chorée de Huntington...)
- Les démences par agents transmissibles (maladie de Creutzfeldt Jakob)
- Les démences curables regroupant les causes toxiques ou carencielles (éthylisme chronique, médicamenteuses, carences vitaminiques...), les causes neurochirurgicales (tumeurs cérébrales, hydrocéphalie à pression normale...), les causes métaboliques ou endocriniennes (hypothyroïdie...), les causes inflammatoires ou infectieuses (maladie de Whipple, neuro-syphilis, encéphalopathie à VIH...)
- Autres démences (non dégénératives et non vasculaires) : pathologie de système (lupus, syndrome de Gougerot-Sjögren), les syndromes paranéoplasiques, post-traumatiques, les maladies de surcharge, les maladies neuro-inflammatoires (sclérose en plaque)...[2]

La MA est une maladie neurodégénérative d'évolution progressive et constitue la première cause de syndrome démentiel. Elle représente la principale cause de dépendance du sujet âgé et le motif principal d'entrée en institution. Elle débute bien avant le stade démentiel par

l'apparition de troubles cognitifs, de troubles du comportement et de la personnalité. L'évolution de la maladie se déroule sur plusieurs années, aboutissant à une dépendance affectant les activités de la vie quotidienne et l'entourage. Elle est définie par un syndrome démentiel associé à l'existence de plaques amyloïdes, d'une dégénérescence neurofibrillaire et d'une perte neuronale à l'examen histologique du cerveau.

I.2 Epidémiologie

La MA est la plus fréquente des démences du sujet âgé (70% des cas).

Au niveau mondial, le nombre de cas de démences a déjà dépassé 24 millions dont 4,6 millions de nouveaux cas chaque année [3]. En France, en 2010, le nombre de cas de démences selon les études a été évalué entre 750 000 et 850 000, soit 1,2% de la population totale, dont plus de 70% de femmes, avec une incidence estimée à 152 000 nouveaux cas par an [4]. D'ici 2050 ce nombre devrait être multiplié par 2,4 soit 1 813 000 de cas ce qui représente 2,6% de la population totale (Figure 1). Environ 60% des cas vivent dans des pays développés. Après 85 ans, une femme sur 4 et un homme sur 5 sont touchés [5].

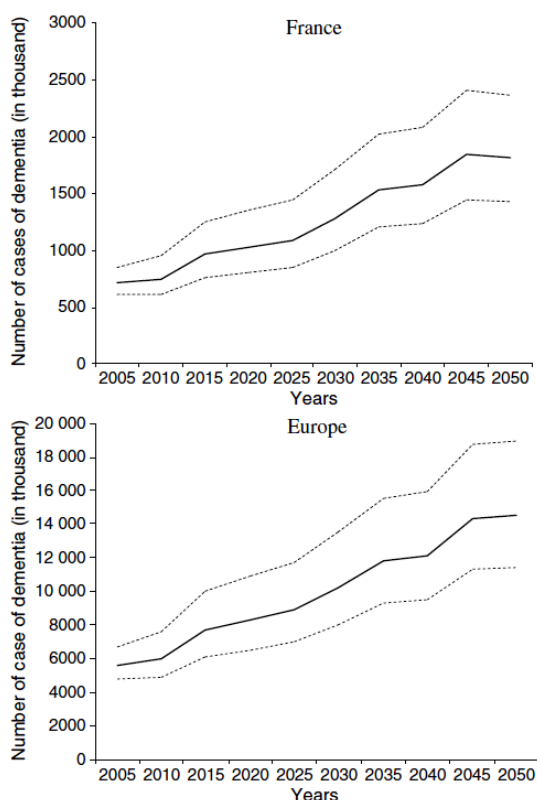


Figure 1: Evolution du nombre de cas de démences en France et en Europe jusqu'en 2050 [4]

Selon l'ORSL (Observatoire Régional de la Santé en Limousin), en 2006, 16 400 personnes de 65 ans ou plus étaient atteintes de démence (soit 9,7% de cette tranche d'âge et 2,2% de la population limousine) dont 12 500 cas environ de MA avec 4 400 nouveaux cas/an. Selon les

prévisions démographiques et avec une prévalence constante, en 2030, le nombre de cas atteindrait 21 300 soit 2,9% de la population régionale [6].

Le coût médico-social de cette maladie est très élevé et la famille serait le principal contributeur financier. Le rapport de l'Opeps (Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé) de 2005 sur la MA et les maladies apparentées évalue le coût annuel moyen par patient à 22 099 € dont 5 791 € de dépenses médicales et 16 307 € de dépenses médico-sociales (dont 55% à la charge des familles) [7]. Tous ces chiffres révèlent un réel problème de santé publique et ont motivé la création d'un Plan Alzheimer 2008-2012 se déclinant en 44 mesures spécifiques, regroupées en 3 axes majeurs couvrant les aspects sociaux (améliorer la qualité de vie des patients et de leur famille), médicaux et de recherche.

I.3 Génétique et facteurs de risque

Nous pouvons différencier deux formes de MA : la forme familiale à transmission autosomique dominante, associée à un âge de début précoce, et la forme commune dite « sporadique » qui résulte de l'interaction de facteurs environnementaux et génétiques.

Une grande partie des connaissances sur la physiopathologie de la MA provient des formes monogéniques autosomiques de la maladie qui représentent moins de 1% des maladies d'Alzheimer [8]. Elles sont dues à des mutations de la préséniline 1 ou PSEN1 (69%), de la protéine précurseur du peptide amyloïde ou APP (20,5%) et plus rarement de la préséniline 2 ou PSEN2 (2%) [9].

Les premières mutations décrites concernent le gène APP situé sur le chromosome 21 expliquant que les patients atteints de trisomie 21 ont un risque augmenté de développer une MA après 30 ans [10]. Il existe plus de 27 mutations décrites, la plus fréquente étant Val717Ile, et l'âge de début de la maladie se situe entre 37 et 64 ans. Le phénotype associé aux mutations du gène APP peut également se traduire par une angiopathie amyloïde, un syndrome extrapyramidal ou une démence à corps de Lewy [10].

Décrit depuis 1995, le gène le plus fréquent dans la forme familiale de la MA code pour la préséniline 1 (PSEN1) situé sur le chromosome 14 [11]. Plus de 166 mutations décrites sont associées à un âge de début précoce de la maladie. Les phénotypes associés peuvent être très divers (paraplégie spastique, anomalie de la substance blanche, ataxie, forme frontale, syndrome extrapyramidal et démence à corps de Lewy) [10].

Les mutations concernant le gène PSEN2 situé sur le chromosome 1 également identifié en 1995 sont rares (10 mutations décrites) [12]. Le phénotype associé est celui d'une MA classique avec un âge de début plus tardif (jusqu'à 85 ans) [10].

Toutes ces mutations augmentent la production du peptide A β constituant les plaques séniles. En effet, la mesure des niveaux d'expression d'A β 1-40 et d'A β 1-42 *in vitro* dans des cellules transfectées avec différentes mutations PSEN1/2 a révélé une augmentation du rapport A β 1-42/A β 1-40, liée à la surproduction d'A β 1-42 et une diminution d'A β 1-40 pour quelques mutations [13].

L'étude de ces formes autosomiques dominantes est également utile pour la compréhension de la physiopathologie de la forme sporadique, notamment la cascade amyloïde. Toutefois environ 10% des formes autosomiques dominantes restent inexplicées.

En pratique clinique, pour ces familles, les apparentés peuvent bénéficier d'une consultation génétique au sein d'une structure adaptée lorsqu'une mutation est détectée.

Dans les formes communes de la MA, plusieurs facteurs de risque environnementaux et génétiques sont reconnus : l'âge, le sexe, le niveau socio-éducatif, des facteurs de risque vasculaire et des facteurs génétiques.

D'après plusieurs études la prévalence de la MA augmenterait à partir de l'âge de 60 ans et son incidence serait plus élevée chez les femmes après 80 ans [14](Tableau 1). Ce constat peut s'expliquer par des facteurs biologiques et hormonaux (effet des œstrogènes), génétiques, socioculturels et par l'espérance de vie [5].

Tableau 1 : Prévalence de la MA (%) en fonction de l'âge et du sexe selon différentes études [7]

Classe d'âge (ans)	Eurodem Europe ¹	Paquid France ²	Faenza et Granarolo Italie ³	Cardiovascular Health study Etats-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 Ramarason et coll., 2003 3 De Ronchi et coll., 2005 4 Fitzpatrick et coll., 2004

Un faible niveau d'étude augmenterait le risque de développer une démence dans plusieurs études de cohorte [15]. En ce qui concerne les facteurs de risque vasculaire plusieurs auteurs s'accordent sur l'existence d'une corrélation significative entre l'hypertension artérielle et l'altération cognitive [16]. De même, il est établi une association entre l'existence d'un diabète et la survenue d'une démence résumée dans une méta-analyse qui conclut que l'incidence de la démence est multipliée par 1,5 à 2 chez les sujets diabétiques [17]. En ce qui concerne les dyslipidémies, les études sont contradictoires mais il semblerait que l'exposition chronique à des taux élevés de cholestérol augmenterait le risque de développer une démence [18] [16] [19].

De nombreux autres facteurs de risques restent controversés tels que les antécédents de dépression, les facteurs nutritionnels, la consommation de sels d'aluminium, la prise d'AINS...

Le facteur de risque génétique le plus connu implique le gène de l'Apolipoprotéine E (APO E) situé sur le chromosome 19. Cette glycoprotéine joue un rôle dans le transport du cholestérol et représente un ligand aux récepteurs permettant l'endocytose des lipoprotéines [20]. Il existe trois isoformes de cette protéine: l'Apo E2 (7-8%), l'Apo E3 (75-80%) et Apo E4 (14-15%). L'allèle E4 est le principal facteur de risque génétique de la forme sporadique de la MA. Les porteurs hétérozygotes E3/E4 auraient un risque de développer la maladie 3,2 fois supérieur à celui des E3/E3. Les porteurs homozygotes E4/E4, quant à eux, auraient un risque 11,6 fois supérieur aux E3/E3 [21]. L'allèle E2 serait un allèle protecteur [19] [22]. Une étude d'association pan-génomique (GWAS pour Genome-wide Association Study) a identifié récemment de nouveaux gènes de prédisposition tels que le gène de la clusterine (CLU) situé sur le chromosome 8 et celui du récepteur 1 du composant 3b/4b du complément (CR1) localisé sur le chromosome 1. Cependant leurs rôles ne sont pas encore entièrement connus [23].

I.4 Physiopathologie

Ce sont les lésions neuropathologiques qui permettent d'établir le diagnostic de la MA de façon certaine. Deux types de lésions cérébrales associés à une perte neuronale et synaptique sont visibles sur les cerveaux de patients atteints de la MA : les dépôts de substance amyloïde et la dégénérescence neurofibrillaire (DNF) faisant intervenir respectivement deux protéines présentes naturellement dans le cerveau : le peptide amyloïde (A β) et les protéines tubulin-

associated unit (Tau). Néanmoins les mécanismes physiopathologiques de la DNF et de l'amyloïdopathie ne sont pas encore totalement élucidés.

I.4.1 La substance amyloïde

La protéine APP (Amyloid Precursor Protein), précurseur du peptide β -amyloïde, est une protéine transmembranaire composée de 695 à 770 acides aminés, dont le gène est situé sur le chromosome 21. L'APP peut subir un clivage de sa partie extracellulaire par une α -sécrétase conduisant à la sécrétion de la portion N-terminale (sAPP α). Le fragment C-terminal ou C83 est métabolisé en un fragment p3 par une γ -sécrétase. La voie faisant intervenir l' α -sécrétase est dite « non amyloïdogène » [24]. Celle-ci prévient la production de peptide A β et libère un fragment sAPP α («s» pour soluble) qui est neuroprotecteur [25].

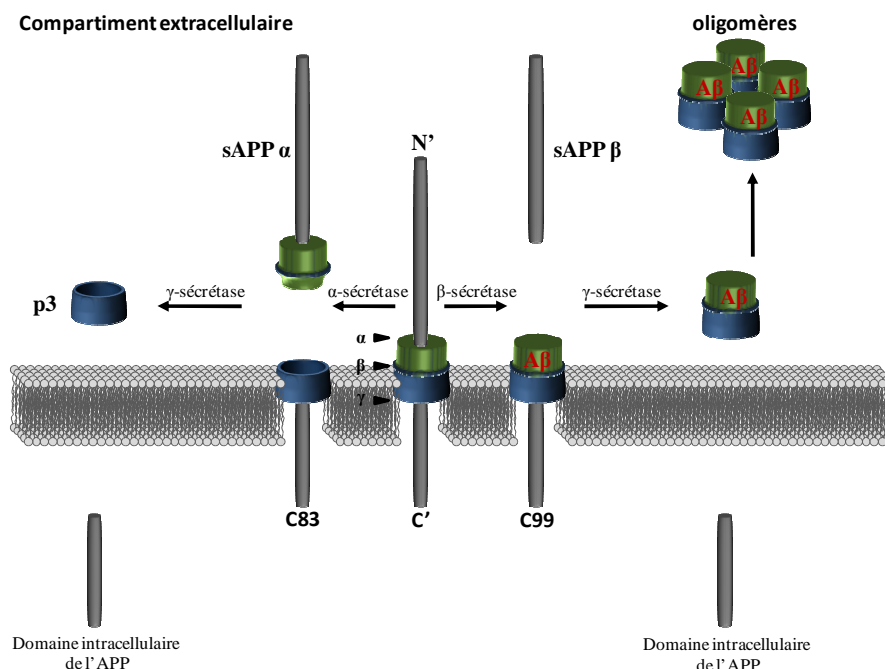


Figure 2: Clivage de la protéine APP et formation du peptide A β

La voie dite « amyloïdogène » fait intervenir une β -sécrétase clivant l'APP et aboutissant à la sécrétion d'un fragment N-terminal (sAPP β). Le fragment C-terminal ou C99 est clivé par une γ -sécrétase conduisant à la formation du peptide A β (Figure 2). Une coupure additionnelle (coupure ϵ) qui intervient en aval du site de la γ -sécrétase libère un fragment ICD ou AICD pour β APP Intracellular Domain qui jouerait le rôle de facteur de transcription [26]. Le clivage de l'APP par la γ -sécrétase conditionne la nature de l'extrémité C-terminale du peptide A β qui peut être de 40 (A β 1-40) ou de 42(A β 1-42) acides aminés. Il a été démontré que les formes constituées de 42 acides aminés, plus hydrophobes, ont la capacité de s'agréger plus facilement dans le domaine extracellulaire. Alors que les peptides A β 1-42

seraient produits en moins grande quantité, les peptides A β 1-40, eux, se formeraient de façon plus précoce et représenteraient les formes majoritaires de peptides A β . La β -sécrétase est une protéase acide appelée β APP cleaving enzyme 1 (BACE 1) ou memapsin 2 [26]. L'activité γ -sécrétase est portée par un complexe multiprotéique de haut poids moléculaire impliquant au moins quatre protéines: la préséniline 1, la nicastrine, l'APH-1 (Anterior pharynx defective 1 homolog) et la PEN 2 (presenilin enhancer 2) [20]. Il existe encore d'autres formes tronquées à l'extrémité N-terminale que nous développerons plus loin [27] [28].

I.4.2 La dégénérescence neurofibrillaire (DNF)

La protéine Tau est le constituant principal des paires de filaments en hélice (PHF pour paired helical filaments) qui représentent l'entité pathologique de la dégénérescence neurofibrillaire de la MA. Dans ce processus, les protéines Tau sont agrégées et anormalement phosphorylées au niveau du corps cellulaire du neurone et dans leurs prolongements dendritiques et axonaux. La DNF se rencontre dans de nombreuses pathologies neurodégénératives appelées « tauopathies ». Elles incluent la dégénérescence cortico-basale, la paralysie supranucléaire progressive, la maladie de Parkinson post-encéphalitique, le syndrome de l'île de Guam, la maladie de Steinert et certaines démences fronto-temporales. La DNF n'est donc pas spécifique à la MA, c'est son association avec la pathologie amyloïde qui permettra d'établir le diagnostic [26].

La protéine Tau, dont le gène est localisé sur le chromosome 17, est une protéine intraneuronale associée aux microtubules (filaments du cytosquelette). Elle appartient à la famille des microtubule-associated proteins (MAP) et joue un rôle dans la formation des microtubules en polymérisant des dimères de tubuline. Il existe 6 isoformes (352 à 441 acides aminés) de protéine Tau dans le cerveau adulte. Le domaine carboxyterminal de ces protéines contrôle la stabilité des microtubules. C'est la balance phosphorylation-déphosphorylation (ou kinases-phosphatases) de ces protéines qui permet la stabilisation des microtubules et le transport axonal correct [26].

Il existe plus d'une trentaine de résidus sérine et thréonine sur les protéines Tau qui peuvent être phosphorylés. En particulier, l'apport de groupements phosphate sur le site Thr231 dans une région riche en proline ainsi que la phosphorylation des résidus sérine 262 et 356 entraîneraient la dépolymérisation des microtubules en diminuant l'affinité des protéines Tau avec ces derniers [36]. De nombreuses kinases interviennent dans la phosphorylation telles que les kinases dépendantes des cyclines (cdk), la GSK3 β , les MAP kinases, les MARK, la

PhK, la pKA, la pKC et la Tau-tubuline kinase. Les phosphatases 1, 2A, 2B et 5 sont quant à elles, impliquées dans la déphosphorylation (Figure 3) [26].

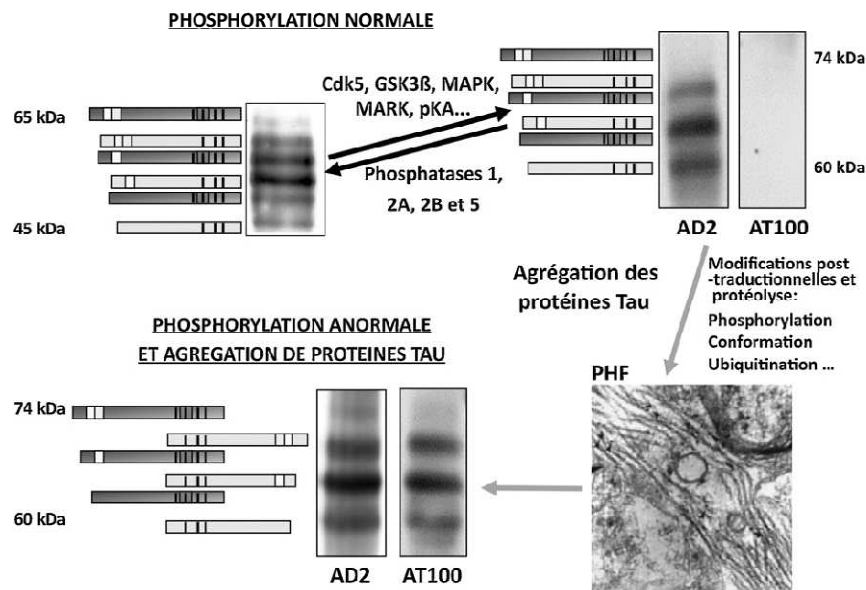


Figure 3: Représentation schématique des changements conduisant à l'agrégation des protéines Tau dans la MA. La phosphorylation normale (révélée par exemple par l'anticorps AD2) des protéines Tau est caractérisée par un équilibre de la balance kinases-phosphatases. Les protéines Tau agrégées en filaments (PHF) sont hyperphosphorylées et anormalement phosphorylées (identifiées par des anticorps spécifiques comme AT100) [20].

Dans la MA deux processus pathologiques post-traductionnels interviennent : l'hyperphosphorylation et la phosphorylation anormale des protéines Tau. L'hyperphosphorylation se produit sur des épitopes physiologiques, soit en plus grand nombre que chez un adulte sain, soit lorsque pour un site donné un plus grand nombre de protéine Tau est phosphorylé. La phosphorylation anormale se produit, quant à elle, sur des épitopes non-physiologiques qui ne sont normalement pas concernés par la phosphorylation et révélés par des anticorps tels que AT100, TG-3, AP422, PHF-27, CP-3 et PG-5. (Figure 3). D'autres modifications post-traductionnelles en dehors de la phosphorylation ont été décrites telles que l'oxydation et l'ubiquitination. Ces protéines Tau anormalement phosphorylées s'agrègent en paquets de filaments pathologiques déstabilisant les microtubules à l'origine de la perte du transport axonal [26].

I.4.3 Neuropathologie

Les dépôts de substance amyloïde

Ces dépôts extracellulaires constituent les plaques séniles ou neuritiques composées de peptides A β . Ils s'effectuent dans la substance grise corticale de toutes les régions cérébrales et également dans la paroi des vaisseaux formant l'angiopathie amyloïde [29]. Leur

conformation en feuillets β plissés (identifiable par coloration au rouge Congo et biréfringente en lumière polarisée) est responsable de leur insolubilité et de leur résistance à la protéolyse. Le cœur de la plaque sénile classique contient des peptides $A\beta$ comportant majoritairement 40 acides aminés ($A\beta_{1-40}$) alors que les dépôts diffus également appelés dépôts pré-amyloïdes sont constitués de peptides $A\beta_{1-42}$. Ces derniers sont très fréquemment rencontrés dans le cerveau de personnes âgées asymptomatiques. Les autres constituants des plaques séniles sont l'apolipoprotéine E, différentes interleukines témoins d'une inflammation et de nombreux composants de la matrice extracellulaire comme l'ICAM1 (Intercellular adhesion molecule 1), la thrombospondine, le sulfate d'héparane [30] [31]. Le noyau des plaques séniles est entouré par une couronne de neurites dystrophiques qui sont fortement colorés par les mêmes imprégnations argentiques que pour l'identification des enchevêtrements neurofibrillaires. Ces plaques séniles résultent donc des deux processus caractéristiques de la MA : l'amyloïdogénèse et la DNF [29].

Les lésions fibrillaires

Elles sont constituées de trois types de lésions: la DNF (formée de filaments appariés et enroulés en PHF), les fibres tortueuses (ou neurites composés de PHF et formant les prolongements des plaques séniles) et la couronne de plaques séniles [30]. En 1991, Braak et Braak définissent six stades anatomo-cliniques en fonction de la localisation des lésions : les stades I et II relatifs à l'apparition de la DNF dans le cortex transentorhinal et correspondant respectivement à une phase asymptomatique et prodromale de la maladie; les stades III et IV montrent une atteinte du lobe limbique croissante et correspondent aux premiers signes cliniques; les stades V et VI pointent une atteinte du néocortex et correspondent cliniquement à des stades modéré et sévère de la maladie [32]. Puis en 1999, Delacourte et al. ont décrit dix stades selon l'extension de la DNF [33] (Figure 4).

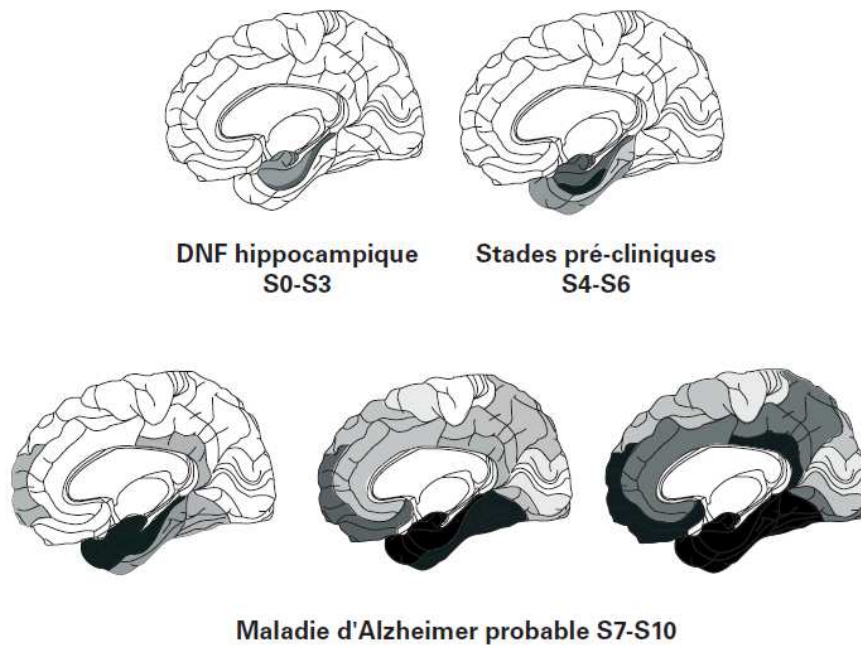


Figure 4 : Chemin séquentiel et hiérarchisé de la DNF. Elle commence au niveau de la région hippocampique (cortex trans-entorhinal S1, entorhinal S2, puis hippocampe S3) et s'étend aux régions temporales (S4-S6) puis elle touche les régions associatives polymodales (S7). Dans les cas les plus sévères elle touche les régions sensibles primaires (S10) [33].

Récemment de nouveaux critères consensuels concernant le diagnostic neuropathologique de la MA ont été rédigés par des experts américains, suisses et français. Trois paramètres ont été définis A (Amyloïde), B (Braak), C (CERAD) permettant d'établir un score ABC. Les méthodes immunohistochimiques permettent de révéler dans les DNF les protéines Tau et P-tau ainsi que les dépôts de peptides β -amyloïdes (A). Les stades de Braak et Braak permettent de suivre la répartition des DNF dans le temps (B). Enfin la plaque neuritique doit être identifiée avec la thioflavine selon le protocole CERAD (C) (Figure 5). Ainsi un résultat A0B0C0 correspond à l'absence de peptides β -amyloïdes, de DNF et de plaques neuritiques [34]

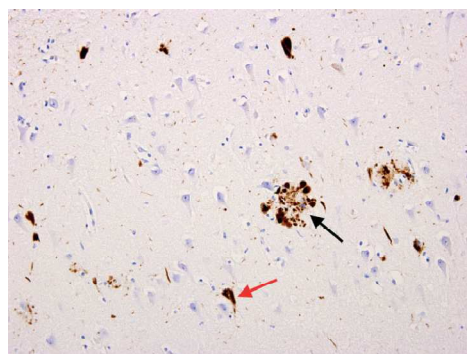


Figure 5 : Coupe de tissu cérébral (cortex temporal) d'un patient atteint de MA. Technique d'immunohistochimie mettant en évidence des plaques séniles (flèches noires) et des enchevêtrements neurofibrillaires (flèche rouge) [35].

Les pertes neuronales et synaptiques

La perte neuronale est très difficile à quantifier. Toutefois elle paraît parfaitement corrélée à la densité des neurones en DNF puisque nous la retrouvons de manière significative dans les régions où l'atrophie corticale est marquée. De plus, il semblerait qu'il existe un lien entre la mort cellulaire programmée (apoptose) et la DNF. Les observations microscopiques ont révélé que la perte des connexions synaptiques engendrerait une zone de spongieuse laminaire. Il existerait également une toxicité synaptique directe des oligomères d'A β [30].

La cascade amyloïde

Plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que c'est la production et l'accumulation du peptide amyloïde qui est au cœur de la pathogénèse de la MA. Cette hypothèse de la « cascade amyloïde » consiste en une surproduction de peptide A β 1-42 formant des oligomères à l'origine de dommages synaptiques et d'une inflammation (activation astrocytaire et microgliale). Ces oligomères neurotoxiques entraîneraient également une perturbation de l'homéostasie calcique et un stress oxydatif. Ces processus peuvent moduler les activités protéines kinases et phosphatases impliquées dans l'hyperphosphorylation de Tau responsable de la DNF. Dans cette hypothèse la pathologie Tau surviendrait bien en aval de la cascade d'évènements à l'origine de la démence [20] (Figure 6).

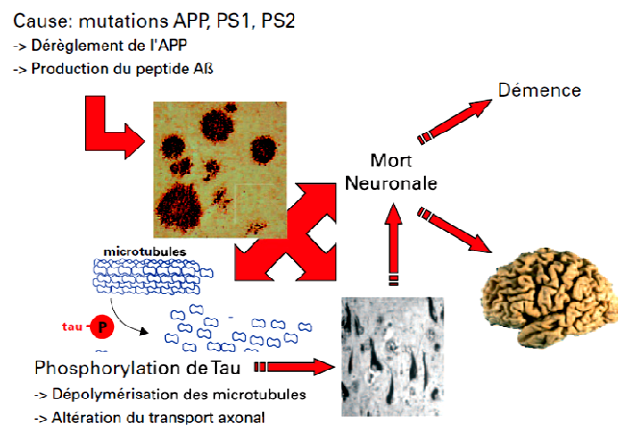


Figure 6 : Hypothèse de la cascade amyloïde : les altérations génétiques sur le métabolisme du peptide A β considérées comme *primum movens* de la MA[36].

I.5 Diagnostic

L'ensemble des données cliniques, neuropsychologiques, neuroradiologiques et biologiques permet d'établir un diagnostic probable dans la forme typique de la maladie. Le diagnostic de certitude résulte de l'examen neuropathologique du cerveau après autopsie ou biopsie, ce qui est donc impossible du vivant du patient.

I.5.1 Evolution des critères diagnostiques

Depuis 1984, les critères diagnostiques du NINCDS (National Institute of Neurological and Communicative Disorder and Stroke) et de l'ADRDA (Alzheimer's Disease and Related Disorders Association) de Mc Khann et al. sont ceux retenus pour le diagnostic de la MA [37](annexe 2). Ces critères permettaient d'établir un diagnostic de MA avec une spécificité de 70% lorsqu'ils étaient confrontés à l'examen post-mortem [38]. Ils ont été ensuite révisés en 2007 par Bruno Dubois et ses collaborateurs internationaux incluant les variations des marqueurs biologiques dans le LCR, les anomalies de l'imagerie anatomique (IRM) et métabolique (SPECT, TEP au fluorodéoxyglucose ou TEP avec traceur amyloïde) [39]. La découverte de phases prédéméntielles et de présentations cliniques initiales autres que l'amnésie hippocampique ainsi que les avancées sur l'analyse des biomarqueurs du LCR et sur les nouvelles techniques d'imagerie ont conduit à l'élaboration de nouveaux critères diagnostiques publiés très récemment en avril 2011. En effet, l'enjeu actuel du diagnostic de la MA se situe au stade prédéméntiel. De plus, l'avènement de traitements ciblés sur les processus physiopathologiques de la maladie (immunothérapie, inhibiteurs de sécrétases) nécessite de nouveaux critères pour établir un diagnostic précoce. Ces nouvelles recommandations présentées à Hawaii en juillet 2010 écrites par trois groupes d'experts sollicités par le NIA (National Institute on Aging) et l'AA (Alzheimer's Association) reprennent trois aspects : les aspects précliniques; le mild cognitive impairment (MCI) dû à la MA et la démence due à la MA [40] [41] [42]. Soulignons que tous les référentiels pour le diagnostic clinique de la MA ont en commun une même démarche: dans un premier temps établir le diagnostic de démence puis dans un second temps le diagnostic de démence due à la MA.

La phase préclinique

Toutes les recommandations concernant cette phase sont destinées à la recherche et n'ont aucune application pour la pratique clinique. Cette phase asymptomatique correspondrait au processus physiopathologique et aboutirait au bout de dix ans ou plus à l'apparition des symptômes. Les auteurs divisent cette phase en trois stades parmi lesquels seuls les biomarqueurs (biochimiques et imagerie) sont positifs :

- Stade 1 correspondant à une amyloïdose cérébrale asymptomatique
- Stade 2 associant une amyloïdose cérébrale et une neurodégénérescence

- Stade 3 combinant une amyloïdose, une neurodégénérescence et déclin cognitif minime

Le mild cognitive impairment dû à une MA

Les auteurs proposent tout d'abord quatre critères pour le diagnostic du MCI seul. La seconde étape consiste à affirmer que le MCI est dû à une MA en éliminant les autres étiologies. A ce stade les biomarqueurs peuvent être utilisés afin de confirmer ou d'éliminer la probabilité que le MCI soit dû à la MA. Le NIA distingue les marqueurs de dépôts amyloïdes (réduction d'Aβ42 dans le LCR et rétention d'un ligand amyloïde en PET) et les marqueurs d'agression neuronale (atrophie hippocampique à l'IRM, hypoperfusion et hypométabolisme en TEMP et TEP-FDG et augmentation des taux de protéine Tau et P-Tau dans le LCR). L'apport des biomarqueurs permet donc de préciser le mécanisme étiologique du MCI avec différents degrés de probabilité diagnostique (Tableau 2) [43].

Tableau 2 : Critères du mild cognitive impairment intégrant les biomarqueurs de la MA [43].

Catégories diagnostiques	Apport des biomarqueurs à la probabilité étiologique de MA	Biomarqueurs physiopathologiques : amyloïde Aβ (PET au PIB ou LCR)	Biomarqueurs structurels (lésions neuronales) : Tau, FDG, IRM structurelle
Critères cliniques cardinaux de MCI	Non informatifs	Conflictuels, non déterminants, non testés	Conflictuels, non déterminants, non testés
MCI dû à la MA : probabilité intermédiaire	Intermédiaire	Non testés	Non testés
MCI dû à la MA : probabilité élevée	Très élevée	+	+
MCI non dû à la MA	Très faible	-	-

Les quatre critères cardinaux du syndrome clinique et cognitif du mild cognitive impairment sont les suivants [41]:

1. Plainte cognitive avec l'apparition de difficultés ou d'une inquiétude relatives à un changement cognitif, par rapport au niveau antérieur.
2. Déficit d'un ou plusieurs domaines cognitifs, plus important que ne le voudraient l'âge et le niveau socio-éducatif du patient. Le plus souvent il s'agit de la mémoire mais le déficit peut également concerner le langage, les fonctions exécutives, l'attention et le secteur visuo-spatial.

3. Préservation relative des activités de la vie quotidienne et de l'indépendance, malgré une gêne fonctionnelle légère pour exécuter les tâches complexes par rapport au passé.
4. Absence de démence

Démence due à une MA

La différence avec le MCI repose sur la présence d'un impact de la maladie sur les activités de la vie quotidienne évalué à partir d'informations fournies par le patient et par un témoin fiable.

Les auteurs définissent tout d'abord des critères généraux de démence puis les critères de démence due à la MA selon quatre classifications :

- MA probable
- MA possible
- MA probable ou possible avec preuve du mécanisme physiopathologique
- MA avec preuve anathomopatologique.

Les biomarqueurs du LCR et les techniques d'imagerie (IRM et PET) sont donc pris en compte. Les critères des deux premières catégories s'utilisent en pratique clinique et l'utilisation des biomarqueurs est inutile alors que dans les critères des deux dernières catégories la recherche des biomarqueurs est utile. La classification en démence par MA probable intègre des présentations initiales non amnésiques telles que l'aphasie primaire progressive logopénique, l'atrophie corticale postérieure et le variant frontal de MA.

Les critères de démence par MA probable sont les suivants [42]:

1 – Une démence par MA probable est envisagée s'il existe les critères de démence et s'il existe en plus :

A – Un début insidieux : les symptômes ont un début progressif durant des mois voire des années, ils ne sont pas apparus soudainement.

B – Une histoire claire d'une aggravation nette des symptômes cognitifs, rapportée ou observée,

C – Les déficits cognitifs initiaux les plus marqués, d'après l'anamnèse et l'examen, concernent nettement un des domaines suivant:

a – Présentation amnésique : c'est la présentation syndromique dans la démence due à la MA. Les déficits doivent comporter une altération de l'apprentissage et du rappel d'informations nouvelles. Un déficit net dans au moins un autre des domaines cognitifs doit être présent.

b – Présentations non amnésiques:

- Aphasique : un manque du mot est la principale difficulté
- Visuospatiale : les déficits sont surtout marqués dans les domaines de cognition spatiale, d'agnosie d'objet, de prosopagnosie, de simultagnosie, et d'alexie.
- Exécutives : les déficits sont surtout des difficultés de raisonnement, de jugement et de résolution de problèmes.
- Dans ces trois cas, des difficultés dans d'autres domaines cognitifs doivent être également présentes.

D – Le diagnostic de démence par MA probable ne doit pas être envisagé s'il existe:

a – Une maladie cérébrovasculaire concomitante et substantielle, définie par un antécédent d'AVC coïncidant soit avec l'apparition ou l'aggravation des troubles cognitifs, soit avec présence d'infarctus ou d'anomalies sévères de la substance blanche.

b – Des signes de maladie à corps de Lewy.

c - Des symptômes comportementaux évocateurs du variant frontal de DFT

d – Des symptômes évocateurs des variantes sémantiques ou non fluentes d'aphasie progressive.

e - Une autre maladie neurologique active concomitante, soit une comorbidité non neurologique, ou encore des thérapeutiques qui pourraient avoir un impact cognitif significatif.

2 – Démence par MA probable avec un niveau de preuve plus élevé

Les critères de démence par MA probable sont renforcés:

- Si un déclin cognitif est documenté et mis en évidence par des évaluations neuropsychologiques successives et des informations reposant sur l'interrogatoire de l'aidant. Cela traduit l'existence d'un processus actif sans accroître la certitude d'une physiopathologie de MA biologique.

- Si des mutations génétiques sur l'APP ou sur les présénilines 1 ou 2 peuvent être mises en évidence. Le fait d'être porteur d'un allèle de l'APOE 4 n'est pas retenu comme un élément diagnostique suffisant.

Les critères diagnostiques de MA possible sont caractérisés soit par une évolution atypique de la maladie, soit par des présentations mixtes.

Ainsi la définition clinico-pathologique initiale de la maladie fait place à une définition clinico-biologique, où les biomarqueurs se substituent à la preuve histologique. Dans ces conditions les critères NINCDS-ADRDA qui stipulaient que le diagnostic de MA soit fait selon des degrés de probabilité: possible, probable ou certifié par la confirmation neuropathologiques sont obsolètes. Si les biomarqueurs sont le reflet de la pathologie Alzheimer, le diagnostic peut être établi *in vivo* grâce à eux [43].

Aisen et al. ont modélisé la chronologie des altérations cliniques et des biomarqueurs dans la MA. Selon ce graphique, l'accumulation de peptide amyloïde se produit très précocement, à la phase présymptomatique pour atteindre un plateau et reste stable tout au long de la maladie quelle que soit sa sévérité. En revanche le taux de protéine Tau semble corrélé à la symptomatologie et au stade d'évolution de la maladie (Figure 7) [44].

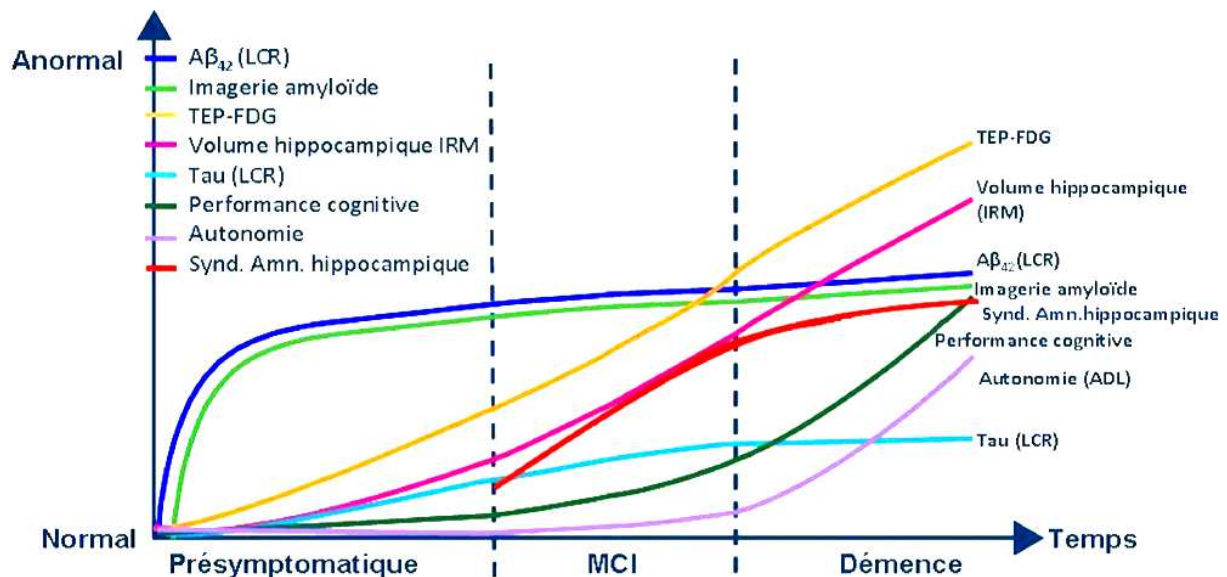


Figure 7 : Chronologie des altérations cliniques et des biomarqueurs dans la MA [43].

Les recommandations HAS 2008 proposent comme critères diagnostiques ceux du DSM-IV-TR et du NINCDS-ADRDA.

I.5.2 Examen clinique

L'évaluation initiale du patient comporte un entretien si possible avec un accompagnant afin de préciser au mieux les antécédents médicaux notamment familiaux de MA. Sont également évalués les antécédents et les facteurs de risques cérébro-vasculaires, le type de la plainte initiale, la prise de médicaments, d'alcool et de toxiques pouvant être à l'origine des troubles cognitifs ou susceptibles de les aggraver. L'entretien permettra également de préciser le mode de vie du patient (environnement social et familial, type d'habitat...) et de retracer l'histoire de la maladie. Sera recherchée une atteinte de chacune des fonctions cognitives: une atteinte de la mémoire des faits anciens et récents; une désorientation temporo-spatiale; une atteinte des fonctions exécutives, du jugement et de la pensée abstraite; un trouble du langage; une apraxie (difficulté à réaliser des gestes et des actes de la vie courante malgré des fonctions motrices intactes) et une agnosie (difficulté ou impossibilité à reconnaître des personnes ou des objets, malgré des fonctions sensorielles intactes). L'évaluation fonctionnelle, c'est-à-dire le retentissement de ces troubles cognitifs sur les actes de la vie quotidienne doit être mesuré à l'aide d'une échelle comme l'IADL (Instrumental Activities of Daily Living) ou d'une échelle simplifiée évaluant l'utilisation du téléphone, des transports, la prise des médicaments et la gestion des finances. L'entretien doit rechercher une dépression, des troubles affectifs, comportementaux, ou psychiatriques. L'examen clinique comporte un examen général avec une recherche de comorbidités, de troubles cardiovasculaires, un examen neurologique et apprécie le degré de vigilance du patient [45].

I.5.3 Examen neuropsychologique

Une évaluation cognitive globale est nécessaire à l'aide du Mini Mental Status Examination (MMSE) (annexe 3) en tenant compte de l'âge du patient, de son niveau socio culturel, de son activité professionnelle et sociale, de son état affectif (anxiété et dépression) et de son niveau de vigilance. D'autres tests sont utilisés pour une évaluation rapide de la mémoire : l'épreuve de rappel des 5 mots de Dubois, les tests de fluences verbales, le test de l'horloge, le Memory Impairment Screen (MIS)...etc. Il existe des batteries de tests pouvant être réalisées lors de consultations spécialisées neuropsychologiques. Ces consultations ont pour but d'évaluer chacune des fonctions cognitives du patient et plus particulièrement : la mémoire épisodique, la mémoire sémantique, les fonctions exécutives, l'attention et les fonctions instrumentales (langage, praxie, gnosie, fonctions visuo spatiales, calcul) [45].

La principale altération rencontrée dans la MA est la mémoire épisodique. Elle est caractérisée par un déficit de stockage et de consolidation de l'information correspondant à une atteinte hippocampique. L'épreuve RL/RI-16 items utilisant la procédure proposée par Grober et Buschke et appréciant la mémoire épisodique comporte un contrôle de l'encodage, des rappels libres, indicés, immédiats et différés. Le syndrome amnésique hippocampique met en évidence des performances effondrées en rappel libre, une réactivité insuffisante aux indices sémantiques, des performances réduites en rappel total (libre et indicé) et de nombreuses intrusions. D'autres tests sont utilisés pour évaluer la mémoire épisodique comme le RI-48 items et le DMS-48 [46].

I.5.4 Imagerie

Une imagerie structurale par résonance magnétique nucléaire (IRM) est recommandée avec des temps T1, T2, T2* et FLAIR et des coupes coronales permettant de visualiser l'hippocampe. Cet examen a deux buts essentiels : éliminer une autre cause de démence éventuellement curable (processus expansif intracrânien, hydrocéphalie à pression normale, séquelles d'accident vasculaire cérébral...) et d'objectiver une éventuelle atrophie corticale hippocampique associée ou non à des lésions vasculaires. Il est établi que la mesure du volume de l'hippocampe et du cortex entorhinal permet de discriminer les patients atteints de MA des témoins avec une sensibilité de 80-100% et une spécificité de 80-85% [47]. De plus, une étude a montré que la morphologie hippocampique en trois dimensions permet d'identifier les patients MCI « convertisseurs » un an avant le diagnostic clinique de MA avec une sensibilité de 77% et une spécificité de 80% [48]. Trois types de neuro-imagerie métaboliques permettent d'identifier certains substrats physiopathologiques avant que les anomalies structurales n'apparaissent à l'IRM :

La tomographie par émission monophotonique (TEMP) ou single proton emission computed tomography (SPECT) permet de mesurer le débit sanguin cérébral. Dans la MA, il révèle une hypoperfusion dans les régions cingulaires postérieures ainsi qu'au niveau du cortex temporopariétal et frontal. Sa sensibilité varie de 80 à 90%. L'association d'une hypoperfusion hippocampique à un déficit mnésique permet de distinguer les sujets MCI « convertisseurs » avec une sensibilité de 77-82% et une spécificité de 77-93% [49] [50].

La tomographie par émission de positrons (TEP) au fluorodéoxyglucose (FDG) permet de mesurer la consommation cérébrale régionale en glucose par l'intermédiaire d'un traceur, le FDG. Dans la MA, il permet d'objectiver très précocement un hypométabolisme dans les trois

régions citées précédemment avec une sensibilité et une spécificité supérieure à 90%. Lorsque le diagnostic est comparé à l'examen post-mortem, le TEP-FDG permet de différencier les patients MA des témoins avec une sensibilité de 89-99% et une spécificité de 60-87% [51]. Dans cette dernière étude, l'hypométabolisme du cortex cingulaire postérieur et des régions temporo-pariétales chez les MCI est un marqueur de risque d'évolution vers une MA.

La tomographie par émission de positrons (TEP) avec traceur amyloïde permet de visualiser les dépôts amyloïdes grâce à un de ses ligands: le PIB (composé B de Pittsburg), marqué au carbone. Dans la MA le PIB se fixe particulièrement au niveau des régions corticales frontales, pariétales et temporales latérales. Sa spécificité pour établir le diagnostic de MA varie de 73 à 96% [51].

I.5.5 Examens biologiques

Des examens biologiques sont prescrits afin de rechercher une autre cause aux troubles cognitifs. Il est recommandé un dosage de la thyroïdostimuline hypophysaire (TSH), un hémogramme, un ionogramme sanguin, une calcémie, une glycémie, une albuminémie, un bilan rénal (créatininémie et sa clairance), un dosage de la vitamine B12, un dosage de folates, un bilan hépatique (transaminases, gamma GT), une sérologie syphilitique, VIH et de la maladie de Lyme [45].

I.6 Diagnostics différentiels

Parallèlement à la MA qui domine largement le groupe des affections dégénératives cérébrales d'autres démences moins bien connues sont décrites. Ces affections apparentées comportent les démences vasculaires, les syndromes d'atrophies lobaires frontotemporales, les atrophies lobaires postérieures de Benson et le groupe des démences stiales (démence à corps de Lewy et la dégénérescence corticobasale) [2].

I.6.1 Les démences vasculaires

Le diagnostic de démence vasculaire s'appuie sur l'association de symptômes neurologiques focaux et de facteurs de risque vasculaires (HTA, diabète). La démence vasculaire est moins fréquente (< 8%) que la MA, la démence à corps de Lewy et les démences frontotemporales. Toutefois l'association d'une MA et d'une neuropathologie vasculaire est fréquente (30-40%) et forme ainsi une démence mixte (part égale des deux pathologies) ou MA avec composante cérébrovasculaire [2] Cependant il semble qu'il ne soit pas si aisé de les distinguer puisque les

deux pathologies ont en commun certains facteurs de risque comme l'âge, ou des facteurs génétiques (l'allèle E4 de l'apolipoprotéine E). L'HAS distingue deux formes de démence vasculaire. L'une démontre un lien chronologique entre l'évolution des lésions vasculaires cérébrales et celle des troubles cognitifs, évoluant par à-coups (en marche d'escalier). L'autre plus progressive est évoquée sur un profil de troubles neuropsychologiques prédominant sur les fonctions exécutives et comportementales. Il est recommandé d'utiliser des critères NIND-AIREN (National Institute of Neurological Disorders and Stroke and Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement) ou ceux du DSM-IV-TR [52]. Une imagerie par IRM à la recherche de lésions cérébrales vasculaires est également indispensable pour établir le diagnostic [45].

I.6.2 Les démences lobaires frontotemporales

Les DLFT regroupent les syndromes cliniques dépendants des régions cérébrales atrophiées (régions frontales et/ou temporales antérieures) : la démence fronto-temporale (variant comportemental) et l'aphasie primaire progressive (variante temporale). Elle apparaît plus fréquemment chez les patients de moins de 65 ans et touche plus l'homme que la femme [2].

La démence fronto-temporale

La DFT est la troisième cause de démence dégénérative après la MA et la démence à corps de Lewy (10-15%). Elle représente le phénotype le plus fréquent des DLFT. La maladie de Pick (en neuropathologie présence de cellules ballonnées et corps de Pick marqués par des anticorps anti-Tau et anti-ubiquitine) est la plus ancienne forme décrite. La forme frontale aspécifique est la plus fréquente (60%) et la DFT associée à la sclérose latérale amyotrophique (SLA) s'observerait dans 5% des SLA. Il existe de nombreuses formes familiales autosomiques dominantes liées à des mutations du gène de la protéine Tau (chromosome 17) et des formes génétiques associées à un parkinsonisme précoce [2]. Les critères diagnostiques sont ceux de Neary et al. 1998 [53]. La prédominance frontale de l'atrophie est responsable d'un syndrome frontal associant des troubles de la personnalité (irritabilité, désinhibition verbale et comportementale), et des conduites sociales avec une difficulté de contrôle de soi, une hyperoralité, des conduites alcooliques, une incurie physique, une indifférence affective, une apathie et un désintérêt social. Les patients atteints de DFT bousculent les codes sociaux et ont un comportement inadapté. Ces troubles cognitifs se traduisent par une réduction de langage, des persévérations ou stéréotypies puis par des symptômes d'une atteinte frontale (troubles de la planification, persévérations,

collectionnisme, imitation) [54]. L'aggravation est progressive, le patient devient amimique, hypertonique et apragmatique. L'évaluation comportementale, les tests neuropsychologiques sur les fonctions exécutives (BREF), le langage et les épreuves de cognition sociale sont alors progressivement altérés révélant un syndrome dysexécutif, des troubles de l'attention, et une atteinte plus ou moins marquée de la mémoire sémantique. A l'imagerie morphologique (TDM ou IRM) une atrophie lobaire frontale et temporale antérieure bilatérale se majore progressivement au cours de l'évolution de la maladie et la TEMP caractérise une hypoperfusion des lobes frontaux et temporaux [55].

L'aphasie primaire progressive

L'APP décrite par Mesulam est la variante temporale de la DLFT [56].

Il existe trois types d'APP : l'aphasie progressive non fluente (APNF), la démence sémantique (DS) et l'aphasie progressive logopénique (APL).

APNF : elle se caractérise par un discours laborieux, non fluent, un agrammatisme, des paraphasies phonologiques et apraxie de la parole. Les troubles de la compréhension sont dus aux difficultés syntaxiques. L'évolution se fait vers le mutisme.

DS : La mémoire sémantique se caractérise par les connaissances générales partagées par tout individu vivant dans une même société. La démence sémantique est un phénotype peu fréquent de DLFT (15%) et se traduit par un manque du mot progressif alors que la fluence verbale est conservée. Son atteinte doit être évoquée face à un trouble de la compréhension des mots isolés ou une perte de reconnaissance des visages ou des objets.

APL : elle se caractérise par la réduction du débit verbal, des manques du mot et des pauses à la prononciation de phrases syntaxiquement correctes. Il n'existe aucun trouble de la compréhension ni de trouble de la mémoire sémantique. L'APL se distingue de l'APNF par l'absence d'apraxie et d'agrammatisme [56].

En neuropathologie, les lésions neuronales sont aspécifiques et il est important de préciser que d'autres affections peuvent se présenter sur ce mode clinique comme la MA, la démence à corps de Lewy ou la dégénérescence corticobasale [54].

I.6.3 L'atrophie corticale postérieure ou syndrome de Benson

L'atrophie corticale postérieure (ACP) est un syndrome rare décrit en 1988. Il associe une plainte visuelle à une atrophie des régions corticales postérieures (les régions associatives occipitopariétales et occipitotemporales). L'évolution se fait habituellement vers l'installation tardive d'une cécité corticale associée à une détérioration cognitive réalisant *in fine* un tableau démentiel. L'imagerie cérébrale morphologique et métabolique révèlent une atteinte bilatérale, souvent symétrique des aires visuelles associatives. Certains auteurs définissent l'ACP comme « variante visuelle de la MA » et ce syndrome est très souvent considéré comme une forme atypique de MA [2].

I.6.4 La démence à corps de Lewy et la démence de la maladie de Parkinson

La démence à corps de Lewy (DCL) est la seconde cause de démence du sujet âgé (15%). La neuropathologie révèle la présence de corps de Lewy qui sont des inclusions ubiquitine-plus (caractéristiques de la maladie de Parkinson), contenant une protéine, l'alphasynucléine, abondantes dans le cortex cérébral et les noyaux gris. La présence d'hallucinations visuelles précoces, de symptômes parkinsoniens, de fluctuations de la motricité et de l'état cognitif doit faire évoquer une DCL. Les idées délirantes, les symptômes dépressifs, les chutes, les troubles du sommeil paradoxal font également parti du tableau clinique. Les critères diagnostiques recommandés sont ceux de Mc Keith, 2005 [57]. Ce diagnostic peut être retenu lorsque les troubles cognitifs, neuropsychologiques et les signes parkinsoniens s'installent sur une courte période, environ un an. En cas de doute après une évaluation neuropsychologique et une IRM, une scintigraphie cérébrale (DATscan®) peut être proposée. En utilisant le marquage présynaptique des protéines transporteuses de la dopamine, elle révèle un déficit dopaminergique du *striatum*. Il existe des DCL pures mais beaucoup de patients présentent l'association de corps de Lewy et de lésions de la MA (plaques séniles et DNF) constituant une « variante à corps de Lewy » de la MA [2].

La démence de la maladie de Parkinson concerne des patients atteints de cette maladie depuis plusieurs années chez lesquels se développent des troubles cognitifs. Pour certains auteurs, la différenciation entre démence de la maladie de Parkinson et DCL est totalement arbitraire, basée sur la chronologie d'apparition des troubles démentiels. Ainsi on parlera de DCL en cas de démence survenant dans la première année d'évolution et de démence de la maladie de Parkinson si elle apparaît plus tard. D'un point de vue neuropathologique il n'y a pas de différence fondamentale puisque des corps de Lewy sont présents dans les deux cas [2].

I.6.5 La paralysie supranucléaire progressive

La PSP ou maladie de Steele Richardson Olszewski est une pathologie rare qui associe dans la première année de la maladie une paralysie de la verticalité du regard et des chutes par instabilité posturale. L'IRM montre des signes indirects d'atrophie du tronc cérébral, en particulier du mésencéphale [58].

I.6.6 La dégénérescence corticobasale

La dégénérescence corticobasale (DCB) est une forme rare de démence neurodégénérative, à l'origine de lésions au niveau des noyaux gris centraux (thalamus, striatum) et du cortex pariétal ou frontal. Sa forme dite «latéralisée» (50% des cas) peut être évoquée face à des troubles sévères de la programmation motrice du geste, associés d'un sentiment de perte d'appartenance de la main concernée et de mouvements échappant à la volonté du patient (dystonie). Ces troubles moteurs s'accompagnent d'un syndrome extrapyramidal asymétrique dopa-résistant puis d'une détérioration cognitive progressive reliée à un syndrome dysexécutif et frontal. L'existence de très nombreuses formes sémiologiques rend le diagnostic de la DCB difficile. Une atrophie focale pariétale ou pariétofrontale peut s'observer à l'IRM et la scintigraphie révèle une distribution asymétrique de la perfusion ou du métabolisme au niveau du cortex frontal postérieur et pariétal [2].

I.6.7 La maladie de Creutzfeldt-Jakob

L'encéphalopathie subaiguë spongiforme transmissible est une maladie neurodégénérative rare. Elle se caractérise par une spongiose, une mort neuronale et une gliose astrocytaire ainsi que par l'accumulation d'une protéine prion dont le constituant principal est la PrP (protéine résistante à la protéase). Sur le plan clinique, la période d'incubation est longue, l'installation est marquée par des troubles du caractère, de la personnalité, une perturbation du sommeil et des troubles cognitifs. A la phase d'état, des troubles psychiatriques (apathie, confusion, stupeur) et neurologiques (myoclonies, dysarthrie, signes déficitaires praxiques, gnosiques et phasiques) apparaissent. Le dernier stade est un stade végétatif avec mutisme, akinésie, rigidité, myoclonies, crises convulsives et troubles neurovégétatifs d'issue fatale en quelques mois à un an et demi après le début des signes [2]. Chez l'homme, Il existe plusieurs formes cliniques de la maladie:

la forme sporadique, majoritaire, la forme familiale d'origine génétique (l'insomnie fatale familiale et le syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker) très rare, les formes iatrogènes (par hormone de croissance extractive contaminée ou par greffe de dure-mère), la forme variante (vMCI) liée à l'encéphalopathie spongiforme bovine et le Kuru (contamination par rites cannibales funéraires en Papouasie décrite en 1957) [59]. Le diagnostic est délicat et nécessite un EEG, une IRM et une PL avec un dosage de la protéine 14-3-3 et de la protéine Tau dans le LCR [2].

I.7 Traitements

La prise en charge de la MA doit être pluridisciplinaire. Il s'agit d'une prise en charge thérapeutique, médico-psychosociale et environnementale du patient et de son entourage. Le médecin généraliste est le pivot de l'organisation des soins centrée sur le patient. Il collabore au diagnostic et au suivi avec un neurologue, un gériatre ou un psychiatre. Soulignons que l'HAS en octobre 2011 a émis une synthèse d'avis de la commission de la transparence concernant les médicaments du traitement symptomatique de la MA : le donépézil, la rivastigmine, la galantamine qui sont trois inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (IACHÉ) et un antiglutamate, la mémantine qui est un antagoniste des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) [60]. En effet la commission de la transparence de la HAS a estimé que le service rendu de ces molécules était faible. Leur efficacité, au mieux modeste et de pertinence clinique discutable a été démontrée essentiellement sur la cognition et les activités de la vie quotidienne, alors qu'aucun impact n'a été démontré sur le délai d'entrée en institution, la qualité de vie ou la morbi-mortalité. De plus ces médicaments entraînent de nombreux effets indésirables cardiovasculaires, digestifs et neuropsychiatriques auxquels s'ajoutent une méconnaissance de toutes les interactions médicamenteuses se produisant chez des patients âgés et souvent polymédiqués. Les IACHÉ bloquent la dégradation par la cholinestérase de l'acétylcholine cérébrale, neurotransmetteur dont la production diminue chez les personnes atteintes de la MA. La mémantine est un inhibiteur des récepteurs NMDA du glutamate, neurotransmetteur dont la libération excessive pourrait jouer un rôle dans la dégénérescence neuronale. En effet, dans la MA, le glutamate serait impliqué dans l'activation de ces récepteurs responsable d'une entrée excessive de Ca^{2+} aboutissant à la mort neuronale (excitotoxicité).

L'instauration d'un traitement médicamenteux spécifique doit prendre en compte les préférences du patient et le rapport bénéfice/risque du traitement envisagé. Le

primoprescripteur peut proposer au stade léger, modéré et modérément sévère, un inhibiteur de la cholinestérase et au stade sévère seule la mémantine a l'AMM. Il n'y a pas d'intérêt à prescrire une bithérapie (deux IACHÉ ou un IACHÉ et un antiglutamate). Un électrocardiogramme est recommandé avant la prescription d'IACHÉ. Au-delà de six mois de traitement, si le patient a atteint les objectifs fixés et en l'absence d'effet indésirable grave et/ou altérant la qualité de vie, le traitement pourra être poursuivi six mois supplémentaires. Si l'efficacité à 1 an a été maintenue, la poursuite du traitement peut être décidée en concertation avec le patient, l'aidant et tous les acteurs médico-psycho-sociaux [61].

Plusieurs interventions non médicamenteuses sont envisageables, dont une prise en charge psychologique, psychiatrique, sociale, juridique, orthophonique, ainsi que des interventions portant sur la qualité de vie, la cognition (stimulation cognitive) et l'activité motrice. Elles nécessitent une coordination entre les acteurs sociaux, en particulier les aidants familiaux, dont le rôle est essentiel. Une évaluation médicale de l'aidant et des proches est indispensable relevant fréquemment une fatigue, un épuisement, une souffrance voire un syndrome dépressif.

Par opposition aux thérapeutiques symptomatiques vues précédemment d'autres molécules sont actuellement à l'étude et sont basées sur la modulation de la production ou de la dégradation du peptide amyloïde, sur la pathologie Tau ainsi que sur l'immunothérapie.

La thérapeutique basée sur la modulation de la production du peptide amyloïde repose sur les différentes enzymes capables de cliver l'APP. Ainsi des inhibiteurs de la γ -sécrétase empêcheraient la libération de l'extrémité N-terminale du peptide A β . Il semblerait toutefois que leur action catalytique soit trop peu spécifique. Des inhibiteurs de la β -sécrétase sont également étudiés mais une nouvelle fois leur manque de spécificité est à l'origine de nombreux effets secondaires. D'autre part une approche contraire c'est-à-dire par augmentation de la voie non amyloïdogène visant à augmenter l'activité de l' α -sécrétase est également à l'étude [26]. D'autres molécules capables d'inhiber l'agrégation du peptide amyloïde après le clivage des β puis γ -sécrétases ont été développées. Ces essais thérapeutiques ont été stoppés en raison d'une toxicité et d'une absence d'efficacité significative chez l'homme. En ce qui concerne les thérapies anti-Tau, des phosphatases ainsi que des anticorps monoclonaux anti-Tau ont été étudiés sur des modèles animaux. Concernant l'immunothérapie, une nouvelle génération de vaccins composés de fragments N terminaux d'A β 1-42 est en cours de développement. Plusieurs essais d'immunothérapie par

administration directe d'anticorps anti-A β sont également en cours. A ce stade, l'utilité et la tolérance d'un vaccin anti-A β ou des anticorps monoclonaux chez l'homme sont à démontrer [26].

I.8 De la physiopathologie aux biomarqueurs du LCR

Actuellement, trois biomarqueurs sont dosés dans le LCR en routine : la protéine Tau totale, la protéine P-Tau et le peptide A β 1-42. La majorité des études visant à évaluer la sensibilité et la spécificité de ces dosages utilisent des critères cliniques et paracliniques (imagerie et examen neuropsychologiques) pour établir le diagnostic de MA. Peu d'études ont corrélié les résultats de ces dosages aux examens anatomopathologiques du cerveau des sujets. Plusieurs techniques sont employées pour ces dosages, des méthodes biphotoniques (électroluminescence) ou les méthodes enzymatiques (test ELISA) qui sont les plus utilisées. Le liquide biologique utilisé pour ces dosages est le LCR qui est en contact direct avec les structures cérébrales et semble donc être la matrice la plus appropriée pour rechercher les marqueurs pathologiques de la MA.

I.8.1 Protéine Tau-totale : T-Tau

Une augmentation de la concentration intrathécale de la protéine T-Tau est observée dans la MA [62]. Sa concentration dans le LCR serait corrélée avec la quantité de DNF intracérébrale [63]. Dans le LCR, nous la retrouvons en fragments des six isoformes produits par protéolyse. Ce sont ces fragments qui sont dosés par des anticorps monoclonaux indépendamment de leur état de phosphorylation. La concentration en protéine T-Tau augmente de façon physiologique avec l'âge. Sur 231 sujets témoins les valeurs de T-Tau ont été déterminées : 136 ± 89 pg/ml entre 21 et 50 ans; 243 ± 127 pg/ml entre 50 et 70 ans; 341 ± 171 pg/ml au dessus de 70 ans [64]. Les valeurs seuils pathologiques pour le test ELISA varient donc en fonction de l'âge des patients : 300 pg/ml de 20 à 50 ans, 450 pg/ml de 51 à 70 ans et 500 pg/ml au-delà de 70 ans. Une méta-analyse de 36 études comprenant 2500 patients atteints de la MA et 1400 témoins montre que la sensibilité du dosage de la protéine T-Tau pour discriminer un patient MA d'un sujet sain est de 81% et sa spécificité est de 90% [65](Figure 8).

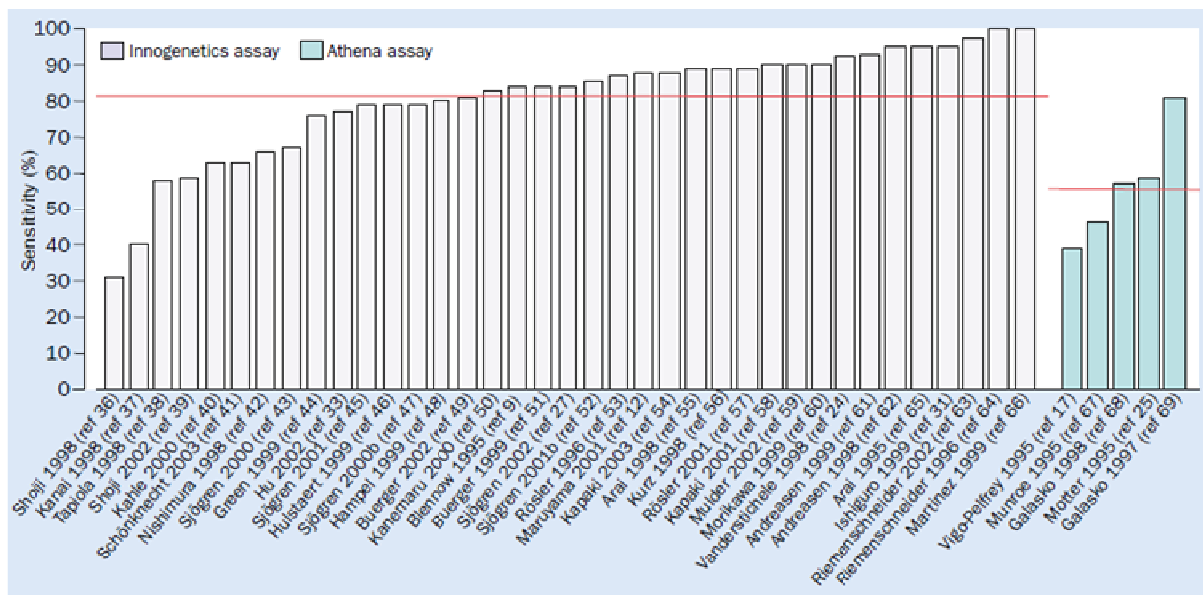


Figure 8: Protéine T-Tau comme biomarqueur de la MA : différentes sensibilités de la T-Tau obtenues par 2 tests ELISA (les lignes rouges représentent les sensibilités moyennes pour distinguer les patients MA des sujets sains). [65]

Cependant, la protéine Tau totale n'est pas spécifique de la MA puisqu'elle s'élève dans d'autres tauopathies (DFT, PSP et DCB). Sa concentration semble refléter l'intensité de la lyse neuronale. Ainsi, elle s'élève de façon considérable dans la MCJ (seuil à 1200 pg/ml), dans la phase aiguë d'un AVC et en post-critique dans la crise comitiale [66] [67] [68]. Dans la DFT, les études sont contradictoires puisqu'elles relatent des concentrations intrathécales augmentées, normales voire diminuées. Chez les patients atteints de DCL, T-Tau est légèrement augmentée mais semble plus diminuée que dans la MA [69]. Chez les patients MCI qui vont convertir en MA, sa concentration est augmentée [70]

I.8.2 La protéine Tau phosphorylée : P-Tau

Une augmentation de la concentration de la P-Tau dans le LCR est observée dans la MA au stade démentiel et prodromal [70] [71]. Le dosage de la P-Tau a permis un gain de spécificité par rapport à la T-Tau. Une méta analyse comprenant 11 études avec 800 patients atteints de MA et 370 témoins affiche une sensibilité de 80% et une spécificité de 92% [65] L'utilisation d'anticorps phospho-dépendants dans le LCR a révélé que la P-Tau était phosphorylée sur de nombreux sites. Les différentes P-Tau peuvent être analysées par ELISA sur différents épitopes dont principalement les thréonines 181, 231 et les sérines 199, 235, 396 et 404 (Figure 9). Une valeur prédictive équivalente a été retrouvée pour P-Tau 231, P-Tau 235 et P-Tau 181. Le dosage le plus couramment utilisé est celui dirigé contre l'épitope en thréonine

181 développé par la société Innogenetics®. La valeur seuil pour ce dosage est supérieure à 60 pg/ml (Vanderstichele et al. 2006).

Dans le cadre du diagnostic différentiel, c'est l'isoforme P-Tau 181 qui permettrait de différencier la DCL et la démence vasculaire de la MA [72] [73]. Il semblerait que sa concentration soit diminuée dans la DFT et la démence vasculaire [72]. Plusieurs études s'accordent sur le fait que sa concentration est augmentée chez les patients atteints de MCI [70] [71]. En ce qui concerne les autres épitopes, l'isoforme P-Tau 231 permettrait de distinguer les patients Alzheimer de ceux souffrants de DFT avec une spécificité supérieure à 90% et de prédire une conversion du stade MCI vers la démence avec une sensibilité de 80%. Cependant pour distinguer les patients atteints d'autres démences il présente une spécificité de seulement 63%. La P-Tau 199 discrimine les patients atteints de MA des patients atteints d'une autre démence avec une sensibilité de 85% mais avec une spécificité de seulement 70% [72].

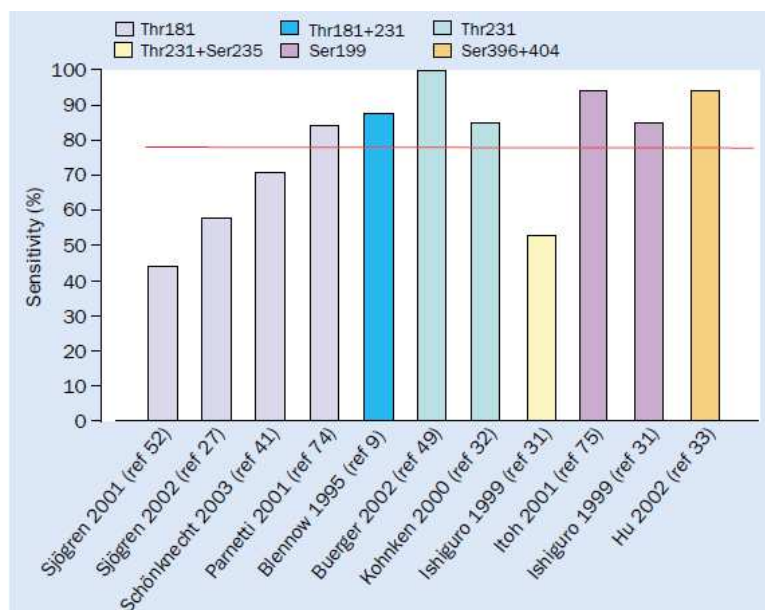


Figure 9 : P-Tau dans le diagnostic de la MA : sensibilités de P-Tau sur différents épitopes pour le diagnostic de la MA (la ligne rouge représente la sensibilité moyenne) [65].

I.8.3 Les peptides A β

Dans une méta analyse regroupant 13 études avec 600 patients atteints de MA et 450 contrôles, la sensibilité et la spécificité du dosage du peptide A β 1-42 pour établir le diagnostic de MA étaient respectivement de 86% et 89% (Figure 10) [65].

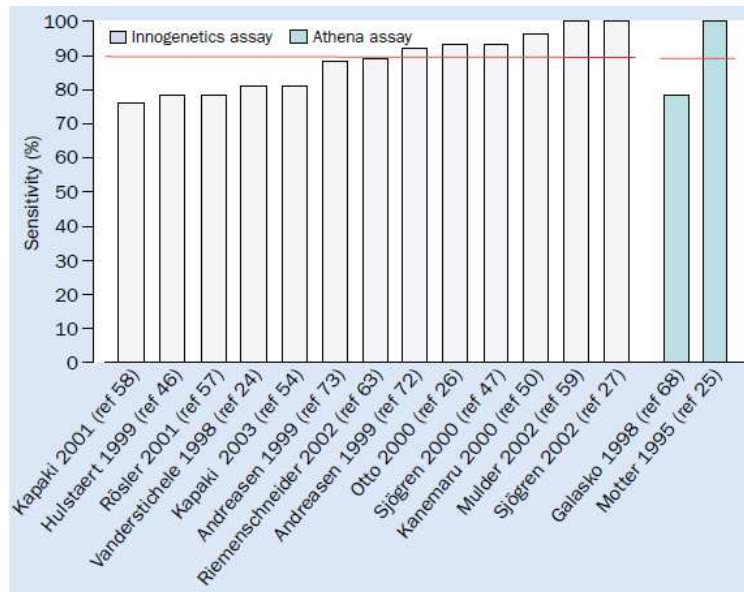


Figure 10 : Aβ1-42 dans le diagnostic de la MA : différentes sensibilités de l'Aβ1-42 obtenues par 2 tests ELISA (les lignes rouges représentent les sensibilités moyennes). [65]

Une diminution de la concentration du peptide Aβ1-42 intrathécale est observée dans la MA, ainsi que dans la DCL, la démence vasculaire et la MCJ, pathologies dans lesquelles des plaques séniles sont observées [69] [66]. Des valeurs de référence sur des populations non atteintes par des affections dégénératives ont été calculées et s'élèvent pour l'Aβ1-42 à 794 ± 218 pg/ml (Sjögren 2001). La diminution de sa concentration dans le LCR pourrait être due à son agrégation dans les plaques amyloïdes mais également à un défaut de sa clairance dans le LCR. En effet, la diminution de l'Aβ1-42 intrathécale serait corrélée au nombre de plaques séniles dans une étude autopsique [74]. Son niveau diminuerait avant les premiers symptômes de la maladie puisque la quantité de peptides Aβ1-42 dans le LCR est significativement plus basse chez les sujets asymptomatiques porteurs d'une anomalie sur le gène de la préséniline 1 que chez les sujets sains [75]. De la même manière concernant le génotype de l'ApoE, la présence de l'allèle E4 est associée à des niveaux d'Aβ1-42 diminués avec des valeurs inférieures chez les homozygotes par rapport aux sujets hétérozygotes [76]. La valeur seuil du test ELISA est de 500 pg/mL. Le peptide Aβ majoritaire dans le LCR est le peptide Aβ1-40 puis par ordre de concentration décroissante viennent les peptides Aβ1-38 et Aβ1-42 [28] [27]. Le peptide Aβ1-40 reflète la charge totale de peptide amyloïde produite. Ainsi, les gros producteurs de peptide Aβ atteint de MA peuvent présenter une concentration anormalement élevée de peptide Aβ1-42 dans le LCR. Le rapport Aβ1-42/Aβ1-40 permettrait donc de corriger cette variation interindividuelle de peptide amyloïde et révélerait la vraie charge en peptide Aβ du patient [77]. Les formes retrouvées dans le LCR sont par ordre de quantité décroissante : le peptide Aβ1-40 , Aβ1-38, Aβ1-42 (Figure 11) [27] [28].

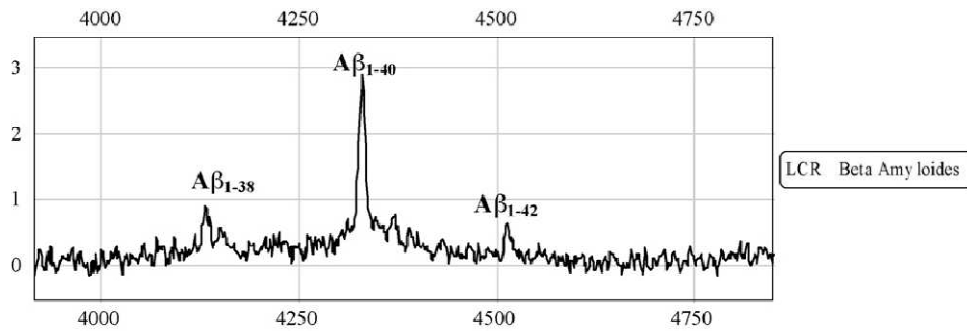


Figure 11 : Spectre de masse des formes majoritaires d'Aβ retrouvées dans le LCR [28].

Il existe encore d'autres formes tronquées à l'extrémité N-terminale du peptide à 42 acides aminés mais leurs valeurs diagnostiques ne sont pas encore bien établies [78].

Les variations des taux de ces trois biomarqueurs sont résumées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Résumé des variations des biomarqueurs du LCR en fonction de la pathologie [79]

Situation	Tau	P-Tau (181)	Peptide A-β1-42
Sénescence normale(N)	<450 pg/mL	<60 pg/mL	>500 pg/mL
MA	↗ modérée	↗ modérée	↘
Dépression	N	N	N
Parkinson	N	N	N
Alcoolique	N	N	N
Démence frontotemporale	N ou ↗ modérée	N ou ↘ modérée	N ou ↘ modérée
Démence à corps de Lewy	N ou ↗ modérée	N	↘ modérée
MCJ	↗↗↗	N ou ↗	↘
Accident vasculaire cérébral	↗↗ transitoire	N	N
Démence vasculaire	Variable	N	N ou ↘ modérée

MA : maladie de Alzheimer ; MCJ : maladie de Creutzfeld-Jacob.
AD : Alzheimer disease ; CDJ : Creutzfeld-Jacob disease

Ainsi, l'étude de ces différents biomarqueurs permet une approche *in vivo* des modifications neurochimiques induites par les démences neurodégénératives. Les valeurs de sensibilité et de spécificité des biomarqueurs prises isolément sont supérieures à 80% pour différencier les patients MA des témoins. La meilleure spécificité est obtenue avec la P-Tau. Plusieurs travaux ont donc évalué les performances de différentes combinaisons de ces biomarqueurs.

I.8.4 Combinaisons des marqueurs

L'utilisation combinée des marqueurs du LCR permet d'augmenter les performances du diagnostic biologique des démences et du diagnostic différentiel en termes de sensibilité et de spécificité. Ainsi Hulstaert et al. en 1999 ont combiné la concentration du peptide Aβ1-42 et la concentration de Tau totale afin d'établir une ligne seuil permettant de distinguer les

patients atteints d'une MA probable, des sujets sains, avec une sensibilité de 85% et une spécificité de 86%. Cette ligne discriminante est une droite d'équation : $A\beta 1 - 42 = 240 + 1,18 \times \text{Tau}$ (équation 1). Le IATI (Innotest Amyloid Tau Index) correspond au rapport de l'A β 1-42 mesurée sur l'A β 1-42 calculée (équation 1). Lorsque ce rapport est inférieur à 0,8 le diagnostic évoqué est une MA. L'analyse conjointe du IATI et de la concentration en P-Tau forme 4 secteurs (Figure 12).

- secteur ①: IATI > 1,2 et P-Tau < 60 $\mu\text{g/ml}$ correspondant à un profil normal.
- secteur ②: IATI < 0,8 et P-Tau > 60 $\mu\text{g/ml}$ correspondant à un profil de MA probable avec une sensibilité de 85% et une spécificité de 95% [80].
- secteur ③: IATI < 0,8 et P-Tau < 60 $\mu\text{g/mL}$ correspondant à une neurodégénérescence ainsi que certaines MA.
- secteur ④: augmentation isolée de la concentration en P-Tau.

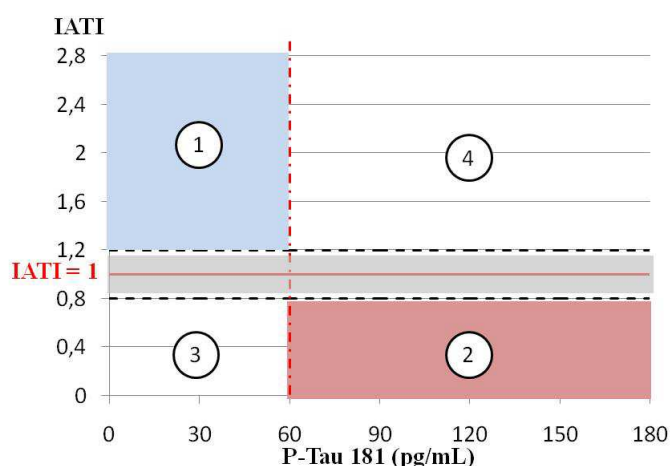


Figure 12 : Représentation graphique du IATI associé à la P-Tau.

Lorsque l'examen neuropathologique est utilisé comme gold standard, la sensibilité et la spécificité, des trois biomarqueurs combinés, sont respectivement supérieures à 90% et 85% [81]. La concentration élevée en T-Tau et P-Tau associée à une baisse du taux de peptide A β 1-42 permet d'identifier les patients atteints de MCI risquant de convertir en MA dans les cinq ans avec une sensibilité de 95% et une spécificité de 83% [82] [70]. Dans cette dernière étude, le risque pour un patient MCI de développer une MA est multiplié par 18 lors de l'utilisation du ratio T-Tau /A β 1-42.

Ce ratio permet de distinguer les patients atteints de MA de ceux atteints de DFT avec une sensibilité et une spécificité de 85% [83] Il permet également de distinguer une MA d'une

démence vasculaire avec une spécificité supérieure à 80%, il est toutefois moins performant pour discriminer une MA d'une DCL en raison de similitudes de lésions caractéristiques [84]. Enfin, dans une autre étude, le risque de développer une démence à 8 ans est multiplié par 5 lorsque ce rapport est élevé [85].

De même le ratio P-Tau/A β 1-42 permet d'établir le diagnostic de MA avec une sensibilité de 91,6% et une spécificité de 85,7% lorsque le ratio est supérieur à 0,0867 (A β 1-42/P-Tau < 11,5) avec une concentration en protéine T-Tau supérieure à 350 pg/mL (Tableau 4).

Tableau 4: Détermination des seuils optimaux d'après les courbes de ROC . Sensibilité et spécificité des biomarqueurs établies par l'analyse neuropathologique des cerveaux [86]

Variable ^a	Optimum Cutoff	AUC (95% CI)	%		
			Sensitivity ^b	Specificity ^b	Accuracy
A β 42, NPs	515 pg/mL	0,866 (0,778-0,953)	80,0	82,1	80,5
Tau, Braak	350 pg/mL	0,756 (0,581-0,931)	75,5	76,9	75,6
P-tau, Braak	52,5 pg/mL	0,816 (0,680-0,953)	69,1	84,6	70,7
P-tau to A β 42 ratio, Braak	>0,0867	0,936 (0,983-0,999)	82,7	100,0	84,6
Tau to A β 42 ratio, Braak	>0,6769	0,866 (0,738-0,994)	79,1	92,3	80,5
P-tau to A β 42 ratio, NPs	>0,0867	0,909 (0,844-0,975)	91,6	85,7	90,2
Tau to A β 42 ratio, NPs	>0,7121	0,899 (0,829-0,970)	84,2	89,3	85,4

Un ratio A β 1-42/P-Tau < 9 permet d'établir un diagnostic de MA avec une sensibilité de 95% et une spécificité de 92%. (Figure 13) [87].

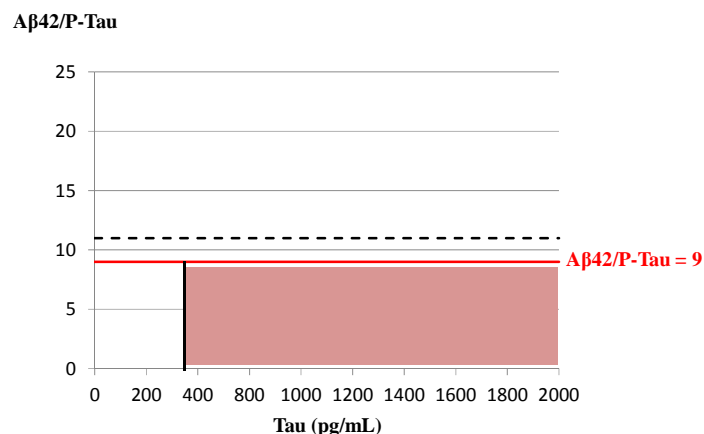


Figure 13: Représentation graphique du ratio A β 1-42/P-Tau181 associé à la protéine Tau.

Plusieurs études ont récemment montré l'intérêt du rapport A β 1-42/ A β 1-40 et sa supériorité par rapport au dosage de l'A β 1-42 seul (Tableau 5) non seulement pour différencier les MA des témoins et des patients atteints d'autres démences mais également pour détecter les MCI qui convertiront en MA.

Tableau 5: Synthèse d'études concernant les sensibilités et les spécificités du ratio A β 1-42/A β 1-40

Auteurs	Groupes	Nombre total de patients	Sensibilité	Spécificité
Hansson et al. 2007	137 MCI	137	Conversion MCI vers MA 91%	Conversion MCI vers AD 86%
Wiltfang et al. 2007	74 MA ; 28 AD ; 141 conversions MCI vers MA et 69 MCI vers AD	312	Le ratio A β 1-42/A β 1-40 devrait remplacer l'A β 1-42 seule pour améliorer le diagnostic biochimique de la MA	
Beyreuther et al. 2008	24 MA ; 3 DCL ; 5 DFT ; 8 TP ; 2 DV ; 36 CON	102	MA vs AD : 96% MA vs CON : 92%	MA vs AD : 86% MA vs CON : 91%
Lewczuk et al. 2004	22 MA ; 11 AD ; 35 CON	68	MA vs AD : 95,2% MA vs CON : 95,2%	MA vs AD : 91% MA vs CON : 80%

MA: MA; AD: autre démence MCI: Mild Cognitive Impairment; DCL: Démence à Corps de Lewy; DFT : Démence Fronto-Temporale; TP: Troubles Psychiatriques; DV: Démence Vasculaire; CON: Contrôles.

Une étude menée par le laboratoire d'Innogenetics® a retenu le seuil de 0,05 (Figure 14).

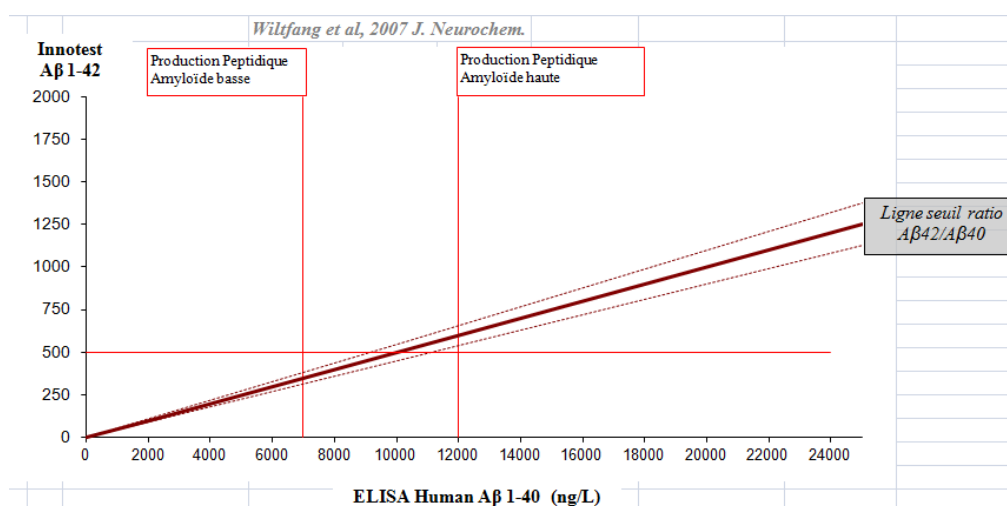


Figure 14 : Représentation graphique de l'A β 1-40 en fonction de l'A β 1-42 et ligne seuil du ratio A β 1-42/A β 1-40 (INNOGENETICS®).

Ce ratio permettrait également de mieux discriminer les patients atteints de DCL de ceux atteints de MA par rapport au dosage de l'A β 1-42. L'utilisation des ratios A β 1-42/A β 1-38 ainsi que A β 1-42/A β 1-37 associés à la T-Tau permettraient également cette distinction avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 92% [88] [89]. D'autres études et travaux de thèse ont montré une valeur ajoutée au dosage de l'A β 1-40 et du ratio A β 1-42/A β 1-40 par rapport au dosage de l'A β 1-42 seule, notamment lorsque les dosages des 3 biomarqueurs n'apportaient pas de conclusion biologique [90] [91] [92].

I.8.5 Limites des biomarqueurs du LCR

Comme nous l'avons vu précédemment peu d'études ont vérifié la sensibilité et la spécificité de ces marqueurs par l'examen neuropathologique *post-mortem*.

Dans le stade pré-démontiel, l'utilisation de ces biomarqueurs soulèvent d'importants problèmes éthiques par l'absence de traitement efficace au stade prodromal de la MA.

La ponction lombaire demeure un acte invasif et anxiogène pour le patient même si une étude démontre la très bonne acceptation et sa faisabilité avec des effets secondaires rares dans 18 CMRR français [93].

Un programme de contrôle de qualité externe avec 40 laboratoires participants révèle une grande variabilité inter-laboratoire due aux différentes procédures pré-analytiques et analytiques [94]. Ces laboratoires utilisaient des techniques immunométriques monoplexes et multiplexes. Les coefficients de variations (CV) entre les différents laboratoires variaient de 13% à 36% et notamment pour le kit ELISA Innogenetics® variant de 16% à 28%. Il était donc nécessaire de standardiser la phase préanalytique (comme par exemple le type du tube à utiliser, le nombre de cycles de congélation/décongélation permis, la température de congélation) puisqu'elle influence le résultat final de l'analyse. Les recommandations de l'ABSI (Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative) sont résumées dans le Tableau 6 [95]:

Tableau 6 : Résumé des recommandations de l'ABSI sur les aspects préanalytiques et analytiques pour la recherche des biomarqueurs de la MA dans le LCR [95]

Paramètres pré-analytiques	Recommandations
Variation diurne	Pas de meilleur moment dans la journée pour effectuer la PL
Volume de LCR à prélever	1,5 mL minimum
Aiguille	0,7 mm et 22 G
Prévention du syndrome post PL	Repos au lit pendant 1h30 après la PL
Tubes et aliquotes	Tubes en polypropylène (pas de verre ni de polystyrène) Dès que possible dans les 2 heures après la ponction
Centrifugation du LCR	Centrifugation à 2000g pendant 10 minutes (non obligatoire si LCR non hémorragique)
Durée et température avant stockage	Transport inférieur à 5 jours à température ambiante
Durée de stockage après congélation	Plus de 2 mois à -80° 2 mois à -20°C
Nombres de cycles congélation/décongélation	1 à 2 cycles permis
interférences	PL traumatique : échantillon avec un nombre de GR > 500 µL doit être centrifugé

Le paramètre le plus influent sur le résultat est la composition des tubes utilisés pour le recueil du LCR pendant la PL, pour l'aliquotage et également lors du dosage (tubes de dilution de la gamme). Une étude a montré une grande variabilité des biomarqueurs, notamment l'Aβ1-42, résultant d'une adsorption rapide sur la surface en moins de 15 minutes en fonction du tube

utilisé. D'une manière surprenante, dans cette étude les tubes en PP purs n'ont pas donné les meilleurs résultats [96]. Une étude a montré que la composition des tubes interfère moins sur le ratio A β 1-42/ A β 1-40 que sur l'A β 1-42 seule [97].

En ce qui concerne la phase analytique, les variabilités peuvent s'expliquer par les différentes techniques qui n'utilisent pas les mêmes anticorps. De plus, il n'existe pas de consensus concernant les cut-offs de positivité pour les trois biomarqueurs. Ainsi une étude européenne montre une très grande hétérogénéité selon les pays des valeurs seuils pour l'A β 1-42 allant de 300 à 849 pg/ml, pour la protéine Tau totale de 195 à 450 pg/ml et pour la protéine P-Tau de 40 à 85 ng/ml [98]. Dans la plupart des cas, les valeurs seuils sont déterminées pour chaque laboratoire à partir de la littérature ou à la suite des résultats de leur propre étude.

I.8.6 Dosages plasmatiques du peptide β amyloïde

Plusieurs dosages plasmatiques du peptide A β (A β 1-42, A β 1-40 et A β tronqués) ont été étudiés par méthode ELISA, mais les résultats des études sont discordants. Il a été démontré une absence de corrélation entre les taux d'A β 1-42 dans le LCR et dans le plasma [99]. Dans cette dernière étude, il n'y avait pas de corrélation dans la probabilité de progression de MCI vers une MA liée aux taux plasmatiques d'A β . Ces divergences peuvent s'expliquer par l'incidence de covariables comme l'âge, la fonction rénale, les atteintes cérébrovasculaires sur les taux plasmatique d'A β [100]. Ainsi une étude a montré qu'après l'intégration de ces variables dans l'analyse des données, les dosages d'A β 1-40 et A β 1-42 plasmatiques apportaient peu d'éléments diagnostiques pour une MA [101]. De plus, le peptide A β plasmatique peut interagir avec de nombreuses protéines circulantes (albumine, α 1-antichymotrypsine, protéines du complément, transthyrétine, apoferritine, apolipoprotéine et lipoprotéines) et les complexes ainsi formés pourraient gêner la détection de ce peptide [102].

En conclusion, les trois biomarqueurs du LCR (T-Tau, P-Tau et A β 1-42) occupent une place importante dans le diagnostic du MCI dû à la MA et devant les formes cliniques atypiques de la maladie. Ils définissent la phase pré-clinique de la MA proposée pour la recherche sur l'histoire naturelle de la maladie et les essais thérapeutiques. Leurs capacités à diagnostiquer précocement la maladie soulèvent toutefois des questions éthiques. De surcroît, lorsqu'ils sont combinés, leurs négativités permettent d'éliminer une MA avec une spécificité supérieure à 90%.

Comparé à une IRM cérébrale, qui constitue un examen complémentaire systématique dans le bilan d'une démence, l'outil diagnostique biologique présente l'avantage d'être abordable en matière de coût. En effet, en affichant un prix de 57,6 € celui-ci est trois à quatre fois moins cher qu'une IRM.

Néanmoins, plusieurs inconvénients subsistent. Parmi lesquels nous pouvons citer l'absence de contrôle interne, l'insuffisance d'évaluation externe de la qualité ainsi que le défaut de standardisation entre les centres. Un défaut qui se traduit par de grandes discordances entre les phases pré-analytiques et les déterminations des valeurs seuil. Quoiqu'il en soit ces nouveaux moyens d'investigation n'étant pas accessible à tous les centres, le diagnostic de la MA reste avant tout clinique.

PARTIE EXPERIMENTALE

II. PARTIE EXPERIMENTALE

II.1 Objectifs

Le dosage des biomarqueurs du LCR de la MA s'effectue au laboratoire de Biochimie et Génétique Moléculaire du CHU de Limoges depuis le mois d'octobre 2009. Le profil type de ces biomarqueurs dans la MA est une augmentation de la concentration en protéine Tau et P-Tau associée à une diminution de la concentration en peptide A β 1-42 dans le LCR.

L'utilisation combinée des ces marqueurs permet d'augmenter remarquablement les performances du diagnostic biologique de la MA en termes de sensibilité et spécificité.

Cependant dans des cas encore trop nombreux, les résultats de ces dosages ne permettent pas de conclure. De plus, l'apport de ces dosages pour le clinicien dans sa démarche diagnostique n'a pas été évalué, et nos conclusions diagnostiques respectives n'ont pas été confrontées.

Dans un premier temps, nous déterminerons les performances de ces trois biomarqueurs dosés en routine depuis leur mise en place dans le laboratoire de Biochimie. Dans un second temps, nous étudierons l'apport du ratio A β 1-42/A β 1-40 dans les situations où nous ne pouvons pas conclure biologiquement, ceci en vue du dosage du peptide A β 1-40 en routine au sein de notre laboratoire. Enfin nous évaluerons l'impact des résultats des biomarqueurs sur le diagnostic clinique final.

II.2 Patients et méthodes

II.2.1 Sélection des patients pour l'évaluation de la performance des biomarqueurs du LCR dans le diagnostic de la MA et pour l'évaluation de l'impact des résultats biologiques sur le diagnostic clinique

La population de l'étude a concerné tous les patients ayant bénéficié d'une ponction lombaire dans le cadre d'une recherche des biomarqueurs de la MA dans le LCR du mois d'octobre 2009 au mois de septembre 2012.

Les dosages des trois biomarqueurs effectués en routine ont été réalisés avec les kits ELISA de la société INNOGENETICS : Innotest hTAU Ag®, Innotest PHOSPHO-TAU (181P)® et Innotest β -AMYLOID (1-42)®.

II.2.2 Sélection des patients pour l'évaluation des performances du ratio A β 1-42/A β 1-40 associé à la P-Tau

Le dosage du peptide A β 1-40 et le calcul du rapport A β 1-42/A β 1-40 ont été effectués pour les patients présentant un profil biologique atypique après le dosage des trois biomarqueurs utilisés en routine. Le dosage du peptide A β 1-40 a été réalisé avec le kit ELISA Human Amyloid β (1-40) Assay® de la société IBL.

II.2.3 Critères d'exclusion

Les patients pour lesquels le dosage de la protéine Tau était inférieur à 100 pg/mL et P-Tau inférieur à 20 pg/mL ont été exclus reflétant probablement une dénaturation de ces protéines due à un problème pré-analytique.

II.2.4 Classification biologique

Suite à l'interprétation des résultats des trois dosages effectués en routine, le IATI et la P-Tau ont permis de diviser les patients en trois groupes Figure 15 :

- **Profil biologique normal (Aire 1) :** IATI > 1,2 et P-Tau \leq 60 pg/mL
- **Profil biologique probable MA (Aire 2) :** IATI < 0,8 et P-Tau > 60 pg/mL
- **Profil biologique atypique** regroupant tous les résultats se trouvant dans :
 - **L'aire 3 :** IATI < 0,8 et P-Tau \leq 60 pg/mL correspondant à un profil de neurodégénérescence ainsi que certaines MA.
 - **L'aire 4 :** IATI \geq 1,2 et P-Tau > 60 pg/mL
 - **La zone grise :** $1,2 \geq$ IATI \geq 0,8
 - **IATI non calculable :** Tau > 1200 pg/mL

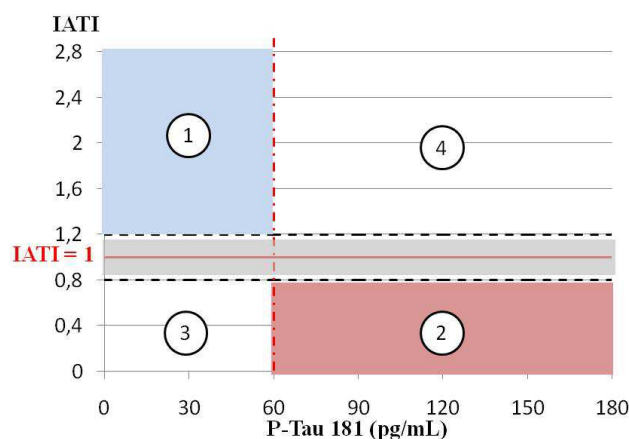


Figure 15 : Représentation graphique du IATI associé à la P-Tau.

Suite au dosage du peptide A β 1-40, le résultat du ratio A β 1-42/A β 1-40 associé à la P-Tau nous a permis d'établir une nouvelle classification biologique :

- Profil biologique en faveur d'une MA : A β 1-42/A β 1-40 < 0,5 et P-Tau > 60 pg/ml
- Profil biologique normal : A β 1-42/A β 1-40 > 0,5 et P-Tau < 60 pg/ml
- Profil biologique en faveur d'un processus amyloïdogène (en dehors d'une MA) : A β 1-42 / A β 1-40 < 0,5 et P-Tau < 60 pg/ml
- Profil biologique non concluant : A β 1-42 / A β 1-40 > 0,5 et P-Tau > 60 pg/ml

II.2.5 Classification clinique

Les diagnostics cliniques initiaux, avant la prise de connaissance par les cliniciens des résultats biologiques et les diagnostics finaux, après la prise de connaissance des résultats des biomarqueurs du LCR ont été recueillis à partir de données cliniques disponibles *via* les logiciels informatiques Cyberlab et Crossway du CHU de Limoges.

Le logiciel Cyberlab est un logiciel qui collecte tous les résultats biologique et d'imagerie des patients et le logiciel Crossway permet de consulter les comptes rendus de consultations médicales et d'hospitalisations des patients. Les conclusions des courriers du CMRR du limousin ont également été recueillies et pour les cas « difficiles », certains diagnostics ont pu être discutés avec le Dr Cartz-Piver, neurologue au CMRR du limousin et médecin directeur du réseau COGLIM (Réseau de Dépistage des Troubles Cognitifs en Limousin). Le score MMS de la plupart des patients a également été recueilli.

Suite à l'étude de ces données, les patients ont été classés dans les 4 catégories diagnostiques suivantes :

- MA (MA)
- Mild cognitive impairment (MCI)
- Autre démence neurodégénérative (AD) : démence vasculaire, démence à corps de Lewy, démence fronto-temporale, paralysie supra-nucléaire progressive, démence cortico-basale, aphasie primaire progressive, atrophie corticale postérieure, démence sémantique, maladie de Creutzfeldt Jacob.
- Processus non neurodégénératif (ND) : pathologies psychiatriques, démence alcoolique, épilepsie, pathologies infectieuses et tumorales.

II.3 Analyses biologiques

II.3.1 Prélèvements de LCR

Les LCR acceptés au laboratoire de biochimie en vue du dosage des biomarqueurs de la MA devaient impérativement être recueillis dans un tube en polypropylène et la quantité souhaitée était de 3 à 5 mL. Les tubes devaient être acheminés au laboratoire rapidement (délai après la ponction lombaire inférieur à 2 heures). Dès la réception des échantillons, les tubes étaient centrifugés à 4000 g pendant 10 minutes puis aliquotés dans des petits tubes de 5 mL en polypropylène et conservés à -80°C. Aucun autre cycle de congélation/décongélation n'était permis avant d'effectuer les dosages. Le dosage de l'A β 1-40 s'effectuait à partir d'aliquotes surnuméraires congelés à -80°C.

II.3.2 Dosage des biomarqueurs du LCR

Les protéines T-Tau, P-Tau, A β 1-42 et A β 1-40 ont été dosées en suivant les fiches techniques fournies avec les kits ELISA de la société INNOGENETICS®.

Pour chaque série de dosages, les échantillons étaient dosés en double et deux contrôles de qualité interne (LCR avec des concentrations connues en protéine T-Tau, P-Tau, A β 1-42 et A β 1-40) ont permis de valider les résultats.

Les échantillons de LCR qui présentaient un coefficient de variation supérieur à 15% ou qui sortaient de la gamme de linéarité ont été redosés.

Tous ces dosages étaient réalisés manuellement au laboratoire de Biochimie.

Dosage de la protéine Tau totale

Le dosage s'effectue par un kit ELISA (INNOTEST®hTAU Ag) commercialisé par la société Innogenetics (Figure 16) (annexe 4). Il s'agit d'un test immunoenzymatique de type sandwich en phase solide au cours duquel la protéine Tau humaine est capturée par un premier anticorps monoclonal (AT120) fixé au fond des puits de la microplaque. Cette étape permet la fixation des molécules à doser sur les anticorps. Après plusieurs lavages successifs deux anticorps monoclonaux biotinylés (HT7 et BT2) sont ajoutés dans les puits. Les trois anticorps monoclonaux reconnaissent différents épitopes de la protéine Tau. Après une nouvelle incubation, une autre série de lavages successifs permet d'éliminer l'excès d'anticorps non fixés. Ces anticorps sont ensuite détectés à l'aide d'un conjugué streptavidine-peroxydase.

Après ajout d'une solution de substrat, les échantillons positifs développent une coloration bleue. La réaction est stoppée par l'addition d'acide sulfurique qui produit une couleur jaune. La densité optique est alors mesurée à 450 nm par un spectrophotomètre. La réaction est ainsi quantifiée par colorimétrie à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec des concentrations connues d'antigènes. Les concentrations standards de la protéine Tau se situent entre 75 et 1200 pg/ml (domaine de mesure) et la limite de détection est de $\pm 59,3$ pg/ml.

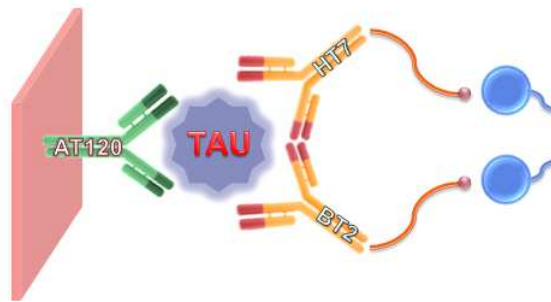


Figure 16 : Dosage de la protéine T-Tau avec le kit ELISA (INNOTEST®hTAU Ag)

Dosage du peptide A β 1-42

Le dosage s'effectue par le kit INNOTEST® β -AMYLOID (1-42) (Figure 17) (annexe 5). De la même manière, le peptide amyloïde est d'abord capturé par un anticorps monoclonal (21F12) lié sur la phase solide. Les échantillons de LCR sont ajoutés puis incubés avec un anticorps biotinylé (3D6). Cet anticorps est ensuite détecté par un conjugué streptavidine-peroxydase. Après addition de substrat les échantillons positifs développent une coloration bleue. La réaction est stoppée et ensuite la densité optique est mesurée à 450 nm. Le fournisseur précise que les anticorps monoclonaux sont hautement spécifiques puisqu'ils se lient à l'extrémité C terminale des peptides contenant 42 acides aminés. Les concentrations standards de la protéine A β 1-42 se situent entre 125 et 2000 pg/ml et la limite de détection est de ± 50 pg/ml.

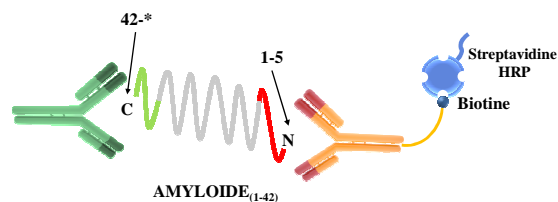


Figure 17 : Dosage de l' A β 1-42 avec le kit INNOTEST® β -AMYLOID (1-42).

Dosage de la protéine phospho-Tau

Le dosage s'effectue avec le kit INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181P) (Figure 18) (annexe 6). La protéine Tau phosphorylée ou des fragments sont capturés par un premier anticorps

monoclonal HT7. Les échantillons de LCR sont ajoutés puis incubés avec un anticorps biotinylé, AT270bio. Cet anticorps est spécifique du site phosphorylé thréonine en position 181. Le complexe antigène-anticorps est ensuite détecté par un conjugué streptavidine marquée à la peroxydase. Après addition de substrat, les échantillons positifs se colorent en bleu et la densité optique est mesurée à 450 nm. La limite de détection est de 15,6 pg/ml et les concentrations standards de la protéine P-Tau se situent entre 25 et 250 pg/ml.

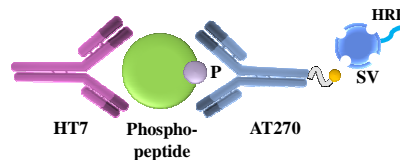


Figure 18 : Dosage de la P-Tau avec le kit INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181P)

Dosage du peptide A β 1-40

Le dosage s'effectue avec le kit ELISA Human Amyloid β (1-40) Assay de la société IBL (annexe 7). Ce test immunoenzymatique de type sandwich en phase solide utilise deux anticorps monoclonaux spécifique de l'A β 1-40. L'anticorps fixé sur la phase solide est spécifique des acides aminés 35 et 40. Le deuxième anticorps couplé à la peroxydase est spécifique de l'extrémité N terminale du peptide A β 1-40. Après ajout du substrat, les échantillons positifs développent une coloration bleue. Puis la réaction est stoppée et la densité optique est mesurée à 450 nm. Les concentrations standards du peptide A β 1-40 se situent entre 470 et 30000 pg/ml.

II.4 Statistiques

Les concentrations en protéines pour chaque groupe ont été comparées avec le test de Kruskal Wallis. Les courbes de ROC ont été réalisées en excluant les patients MCI. Les courbes de ROC ont été réalisées avec le logiciel R® version 2.15.3. La comparaison des courbes de ROC a été réalisée avec le logiciel XLSTAT2013® utilisant le calcul de la matrice de covariance des AUC. Le seuil de significativité statistique était $p < 0,05$. Le test du Chi2 a été utilisé pour comparer les proportions d'hommes et de femmes dans chaque groupe.

RESULTATS

III. Résultats

Entre le 21 octobre 2009 et le 7 septembre 2012, 325 échantillons de LCR ont été analysés au laboratoire de Biochimie. Parmi lesquels, 13 ont été exclus, dont 11 en raison d'une concentration en protéine Tau inférieure à 100 pg/mL et d'une concentration en P-Tau inférieure à 20 pg/mL ainsi que 2 suites à des données cliniques non transmises par les centres hospitaliers de Brive et d'Esquirol.

Ainsi, dans cette étude, nous avons pris en compte 312 LCR prélevés dans 6 services cliniques différents. Parmi ces échantillons, 229 provenaient du service de neurologie, 72 du service de gériatrie, 4 du service de psychiatrie, 4 du service de médecine interne, 2 du service de dermatologie et 1 du service de neurochirurgie.

La cohorte de cette étude était âgée en moyenne de $69,7 \pm 10,5$ ans, avec des extrêmes d'âge allant de 39 à 91 ans. Les hommes, plus nombreux, représentaient 53% (n = 165) de la population et les femmes 47% (n = 147).

La première phase de l'étude a donc consisté à évaluer l'efficacité du dosage de la T-Tau, de la P-Tau et de l'A β 1-42 pour le diagnostic de la MA. Afin d'apprécier les performances de ces analyses, les résultats biologiques ont été confrontés aux diagnostics cliniques initiaux.

III.1 Evaluation des performances des biomarqueurs du LCR utilisés en routine par confrontation des conclusions biologiques aux diagnostics cliniques initiaux

Etablir cette intercomparaison a nécessité tout d'abord de répartir les patients en 4 groupes en fonction de leur diagnostic clinique initial. Cette distribution est illustrée par le Tableau 7 et représente les médianes et intervalles interquartiles des concentrations en T-Tau, A β 1-42, IATI, A β 1-42/P-Tau et des MMS pour les 4 groupes de patients. Ainsi le diagnostic clinique initial a décelé 109 patients (60 femmes et 49 hommes) atteints d'une MA, 118 patients (49 femmes et 69 hommes) atteints d'autres démences (AD), 61 patients (29 femmes et 32 hommes) sans processus neurodégénératifs (ND) et 24 patients (8 femmes et 16 hommes) présentaient des troubles cognitifs légers (MCI).

Tableau 7 : Médianes et intervalles interquartiles des concentrations de T-Tau, P-Tau, A β 1-42, des IATI, du ratio A β 1-42/P-Tau et des MMS selon les différents groupes de patients :

		PARAMETRES							
		Sexe (F/M)	âge	T-Tau (pg/ml)	P-Tau (pg/ml)	A β 1-42 (pg/ml)	IATI	A β 1-42/P- Tau	MMS
G R O U P E S	MA (n = 109)	60/49	74 [65-80]	478,39 [335,35-743]	82,8 [67,77- 112,74]	549 [404,16- 691,35]	0,59 [0,4-0,99]	5,9 [4-9,9]	22 [17-26]
	AD (n = 118)	49/69	72 [65-79]	271 [182,9-410,82]	53,69 [37,6-73,8]	654,05 [511,7- 974,97]	1,36 [0,7-1,81]	15,4 [7,4-20]	22 [17,75- 24,25]
	ND (n = 61)	29/32	61 [57-72]	176 [141-255,16]	45,2 [36,1-54,57]	847,06 [701,78- 1007,5]	1,91 [1,55- 2,19]	19,4 [15,4-22,95]	24,5 [22-28]
	MCI (n = 24)	8/16	72 [65-79]	306,14 [177,53-446,25]	59,5 [47,78- 84,69]	715,71 [543,15- 906,02]	1,29 [0,72- 1,73]	10,95 [6,25-18,4]	26 [25-28]

Toutefois, ce dernier n'exprime qu'une tendance générale des résultats biologiques pour chaque catégorie de patients et ne permet en aucun cas d'établir une corrélation entre le dosage des biomarqueurs et les diagnostics cliniques initiaux de manière à apporter davantage de lisibilité à cette analogie nous avons opté pour une représentation graphique, basée sur le système des boîtes à moustaches. Cet outil créé par John Tukey en 1970, permet une interprétation de données statistiques par intercomparaisons de plusieurs groupes de tailles différentes pour un même paramètre.

Comme interpréter une boîte à moustaches ?

Pour lire et interpréter ce type de graphique il est nécessaire d'en connaître sa construction. La boîte à moustaches utilise 5 valeurs qui résument des données : Le minimum ; les 3 quartiles : Q1, Q2 (médiane), Q3 et le maximum (Figure 19).

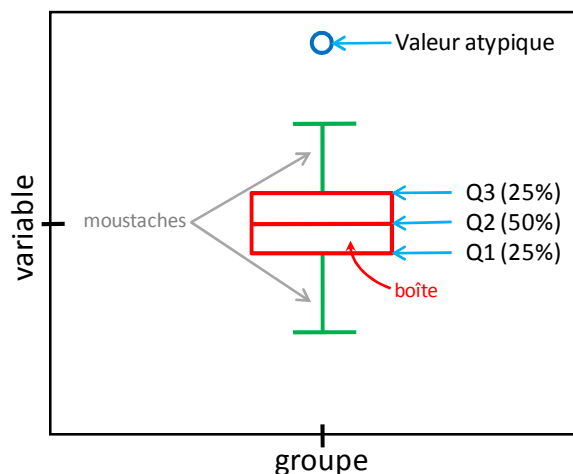


Figure 19 : Représentation graphique d'une « boîte à moustache »

On repère sur la boîte à moustaches d'une variable :

- L'échelle des valeurs de la variable située sur l'axe vertical.
- La valeur du 1^{er} quartile Q1 (25% des effectifs), correspondant au trait inférieur de la boîte.
- La valeur du 2^{ème} quartile Q2 (50% des effectifs), représentée par un trait horizontal à l'intérieur de la boîte.
- La valeur du 3^{ème} quartile Q3 (75% des effectifs), correspondant au trait supérieur de la boîte.
- Les deux moustaches inférieures et supérieures représentées sur le schéma par les traits verticaux de part et d'autre de la boîte délimitent les valeurs adjacentes qui sont déterminées à partir de l'écart interquartile (Q3-Q1).
- Les valeurs dites extrêmes ou atypiques, situées au-delà des valeurs adjacentes sont individualisées. Elles sont représentées par des marqueurs (dans notre cas : un cercle).

De manière comparable, nous avons donc représenté les 4 groupes de patients répartis par les diagnostics cliniques initiaux selon des paramètres que sont les concentrations en protéines dans leurs LCR (Figure 20).

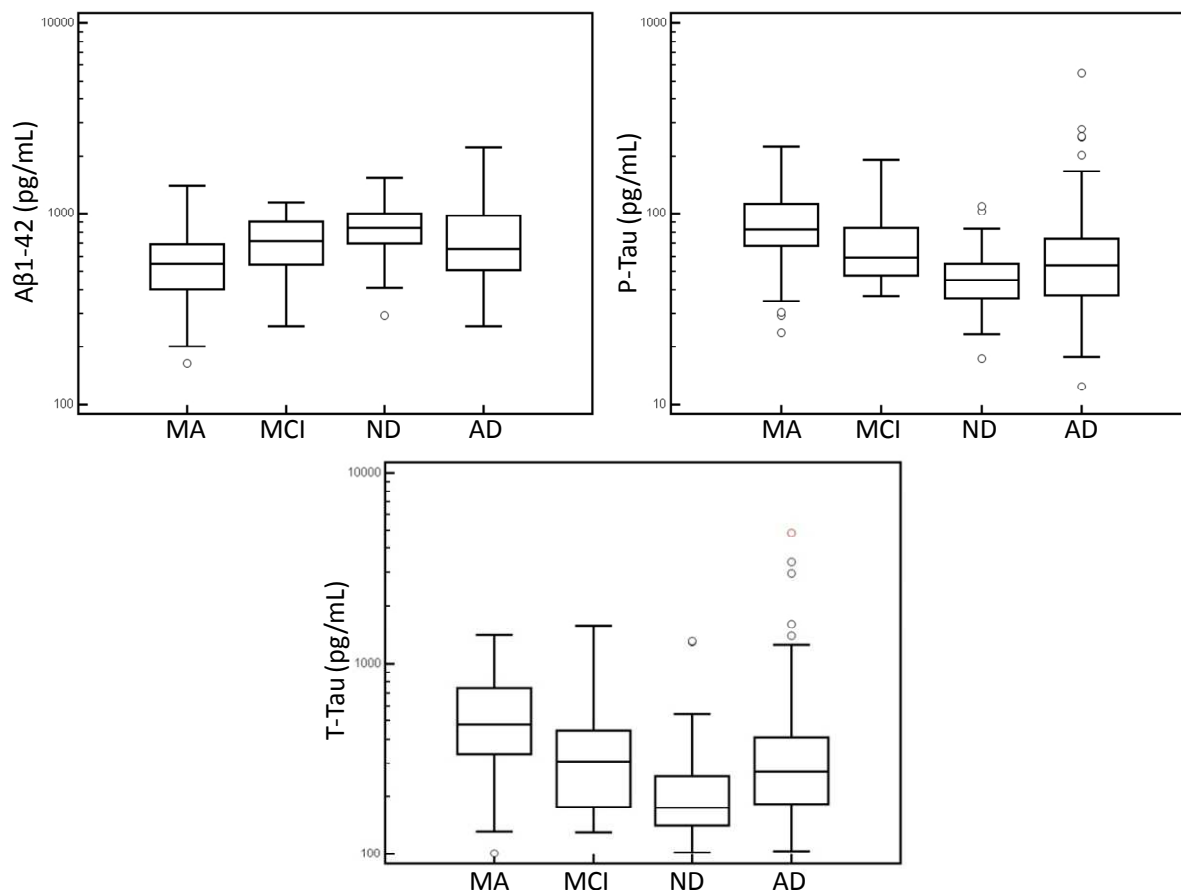


Figure 20 : Concentrations (médianes et quartiles) en protéines T-Tau, P-Tau et Aβ1-42 dans les LCR des patients atteints de MA, d'autres démences (AD), de MCI et de ceux sans processus neurodégénératif (ND).

Ainsi, nous pouvons constater que les patients atteints de MA présentent des concentrations intrathécales en protéine T-Tau et P-Tau significativement plus élevées que les patients atteints de MCI ($p < 0,05$), d'AD ($p < 0,05$) et ND ($p < 0,05$). Les patients sans processus neurodégénératif présentent quant à eux des concentrations significativement plus basses que les patients atteints de MCI ($p < 0,05$), d'AD ($p < 0,05$) et de MA ($p < 0,05$). Nous pouvons noter que la valeur de la T-Tau la plus élevée (4845 pg/mL), représentée sur la Figure 20 par un cercle rouge comme valeur atypique a été retrouvée chez un patient atteint de MCI.

De la même manière, les concentrations intrathécales en peptide Aβ1-42 sont significativement plus basses chez les patients atteints de MA que ceux souffrants de MCI ($p < 0,05$), d'AD ($p < 0,05$) et de ND ($p < 0,05$), alors que ceux sans processus neurodégénératif présentent des concentrations significativement plus élevées que les patients atteints de MCI ($p < 0,05$), d'AD ($p < 0,05$) et de MA ($p < 0,05$).

Cette première lecture témoigne donc d'ores et déjà que le dosage de ces trois protéines est bien corrélé aux diagnostics cliniques initiaux et permet de façon effective de distinguer les

patients atteints de MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératif. En poursuivant la lecture des graphiques, nous observons également que les patients souffrants de MCI et d'AD ont des concentrations en protéine T-Tau et P-Tau significativement plus élevées que les patients sans processus neurodégénératif ($p < 0,05$) et significativement plus basses que chez les patients atteints de MA ($p < 0,05$).

De la même manière, concernant le peptide A β 1-42, les patients souffrants de MCI et d'AD ont des concentrations significativement diminuées par rapport à celles affichées par les patients sans processus neurodégénératif ($p < 0,05$) et significativement plus élevées que celles développées par les patients atteints de MA ($p < 0,05$).

Cette deuxième lecture indique que les patients atteints de MCI ou d'AD peuvent être distingués de ceux atteints de MA ou de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératif. Toutefois, aucune différence notable ne peut-être effectuée entre les patients atteints de MCI de ceux présentant une AD. De plus, ces deux groupes de patients présentent tout de même de fortes zones de recouvrement concernant l'étude de l'A β 1-42 entre les groupes MA et ND. Afin de réduire ces zones de recouvrement, nous avons décidé de contraster ces résultats en recourant à des lectures combinées, celles du IATI et du ratio A β 1-42/P-Tau (Figure 21).

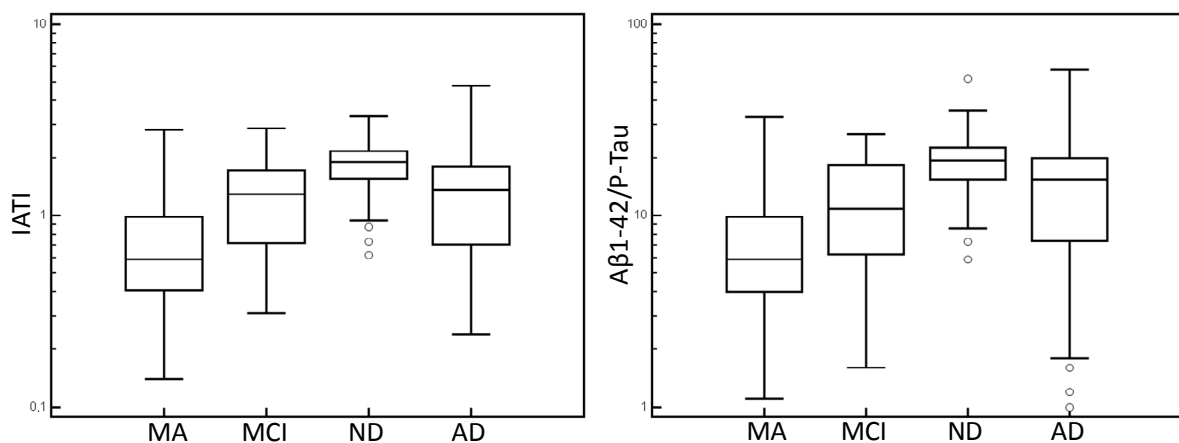


Figure 21 : Valeurs (médianes et quartiles) du IATI et du ratio A β 1-42/P-Tau entre les patients atteints de MA, ceux atteints d'autres démences (AD), les patients MCI et ceux sans processus neurodégénératif (ND).

De manière similaire à l'interprétation des valeurs de P-Tau, la T-Tau et l'A β 1-42, nous constatons que les valeurs du IATI et du ratio A β 1-42/P-Tau sont significativement plus basses chez patients atteints de MA que chez ceux atteints de MCI ($p < 0,05$), d'AD ($p < 0,05$) ou de ND ($p < 0,05$). Les patients sans processus neurodégénératif présentent quant à eux des valeurs significativement plus élevées que celles affichées par les patients atteints de

MCI ($p < 0,05$), d'AD ($p < 0,05$) et de MA ($p < 0,05$). Les patients atteints de MCI ou d'AD affichent des valeurs de IATI et d'A β 1-42/P-Tau significativement plus basses que les patients sans processus neurodégénératif ($p < 0,05$) et plus élevées que chez les patients atteints de MA ($p < 0,05$).

Cette nouvelle lecture ne nous permet donc pas davantage de faire une distinction entre les patients atteints de MCI de ceux présentant d'autres démences. Néanmoins, ces deux modèles combinés présentent tout de même l'avantage de réduire fortement les zones de recouvrement précédemment rencontrées. Nous pouvons également affirmer qu'un de ces modèles peut se substituer à l'autre puisque leurs graphiques respectifs nous apparaissent visuellement comme quasiment superposables.

Concernant les scores de MMS, les patients atteints de MA affichent des scores significativement plus bas que les patients atteints de MCI ($p < 0,05$) et que ceux sans processus neurodégénératif ($p < 0,05$). En revanche, il n'a pas été observé de différence significative des scores de MMS entre les patients atteints de MA et ceux atteints d'autres démences. De la même manière, les patients sans processus neurodégénératifs avaient des scores de MMS significativement plus élevés que les patients atteints de MA ($p < 0,05$) et ceux atteints d'autres démences. Toutefois, il n'a pas été observé de différence significative des scores du MMS entre les patients atteints de MCI et ceux sans processus neurodégénératif.

Concernant l'âge des patients, une différence significative a été retrouvée entre les patients atteints de MA et d'autres démences et ceux sans processus dégénératif.

Concernant la répartition des sexes dans les différents groupes de patients, aucune différence n'a été retrouvée ($p = 0,109$).

Afin de confirmer ces résultats et de s'assurer que les seuls modèles d'études du IATI et/ou du ratio A β 1-42/P-Tau suffisent toujours à la constitution d'un diagnostic biologique de la meilleure qualité possible, nous avons décidé de réaliser des études de performances selon plusieurs angles d'observation. Avec une démarche similaire à la confrontation des diagnostics biologiques aux diagnostics cliniques initiaux, nous avons opté dans cette étude pour une représentation graphique des performances appelée courbe de ROC (Receiver Operating Characteristic). Nous avons commencé cette étude en considérant dans un premier

temps l'efficacité de la T-Tau, la P-Tau et l'A β 1-42 à discriminer les patients atteints de la MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératif.

III.1.1 Performances des trois biomarqueurs utilisés en routine permettant de discriminer les patients atteints de MA des patients sans processus neurodégénératifs

Les diagrammes de ROC sont des outils de mesure, inventés durant la seconde guerre mondiale pour faire ressortir les signaux radar de leurs bruits de fond. Adaptés depuis 1960 aux études médicales, ce système permet de mettre en évidence les performances diagnostiques d'un test en corrélant sa sensibilité à sa spécificité. Idéalement, le nombre de faux positifs (1-Specificity) doit être proche de 0 et celui de la sensibilité doit être proche de 1. En d'autres termes, plus l'aire sous la courbe (AUC : Area Under Curve) est importante plus le test est performant. Cet outil présente également l'avantage de déterminer des valeurs seuils permettant d'atteindre les meilleures sensibilités et spécificités du test. Les diagrammes de ROC pour chaque biomarqueur afin d'évaluer leurs performances respectives à différencier les patients atteints de MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératif, sont disponibles Figure 22.

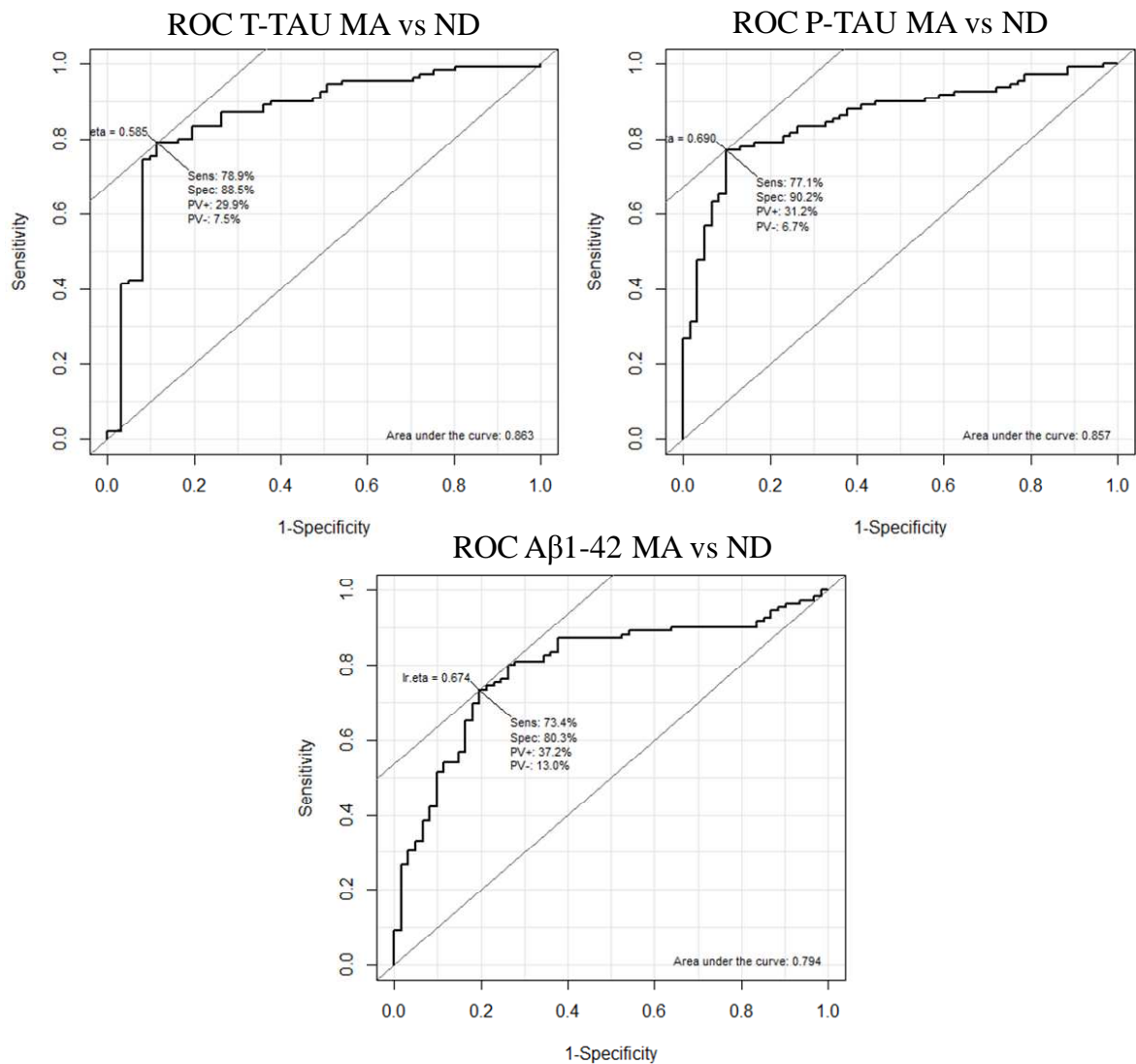


Figure 22 : Courbes de ROC des 3 biomarqueurs pour le diagnostic de MA par rapport aux patients sans processus neuro-dégénératifs.

Nous constatons que ces trois biomarqueurs présentent tous de bonnes performances diagnostiques. Un léger avantage peut-être attribué à la T-Tau et la P-Tau qui affichent des AUC respectives de 0,863 et de 0,857 contre 0,794 dans le cas de l'Aβ1-42. A l'aide de ces courbes, nous avons pu déterminer les valeurs seuils pour lesquelles la sensibilité et la spécificité des biomarqueurs sont optimales (Tableau 8).

Tableau 8 : Performances et valeurs seuils expérimentales pour les protéines T-Tau, P-Tau et Aβ1-42.

	Valeurs seuils (pg/mL)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
T-Tau	314	78,9	88,5	92,5	70,1
P-Tau	67	77,1	90,2	93,3	68,8
Aβ1-42	675	73,4	80,3	87	62,8

VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

Afin de pouvoir réellement se fier à ces résultats, nous pouvons les comparer à ceux que nous aurions obtenus si nous avions utilisé les valeurs seuils proposées par INNOGENETICS® (Tableau 9).

Tableau 9 : Performances à partir des valeurs seuils du fabricant.

	Valeurs seuils (pg/mL)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
T-Tau	450	56	91,8	92,4	53,8
P-Tau	60	78,9	80,3	87,8	68,1
Aβ1-42	500	45	90	89,3	48,2

Nous observons que la performance de la P-Tau constructeur est relativement bien respectée et ce même si nous constatons qu'elle peut être discrètement améliorée pour une valeur seuil légèrement différente. En revanche, nos résultats concernant les performances de l'Aβ1-42 et la T-Tau n'offrent que peu matière à la comparaison. En effet, bien que nous puissions nous fier à la spécificité des tests, une grande disparité existe concernant leurs sensibilités. Ces résultats sont le fruit d'une discordance importante entre la valeur seuil affichée par le fabricant et celle que nous obtenons par la courbe de ROC. Quoiqu'il en soit ces trois biomarqueurs offrent d'excellentes valeurs prédictives positives (>85%) et sont de fait des indicateurs de choix pour distinguer les patients atteints de MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératifs. De la même manière, nous avons étudié leurs performances dans la différenciation des patients atteints de MA de ceux présentant une autre démence.

III.1.2 Performances des trois biomarqueurs utilisés en routine pour le diagnostic différentiel des patients atteints de MA des patients atteints d'autres démences

Les différentes courbes de ROC réalisées pour cette étude sont représentées Figure 23.

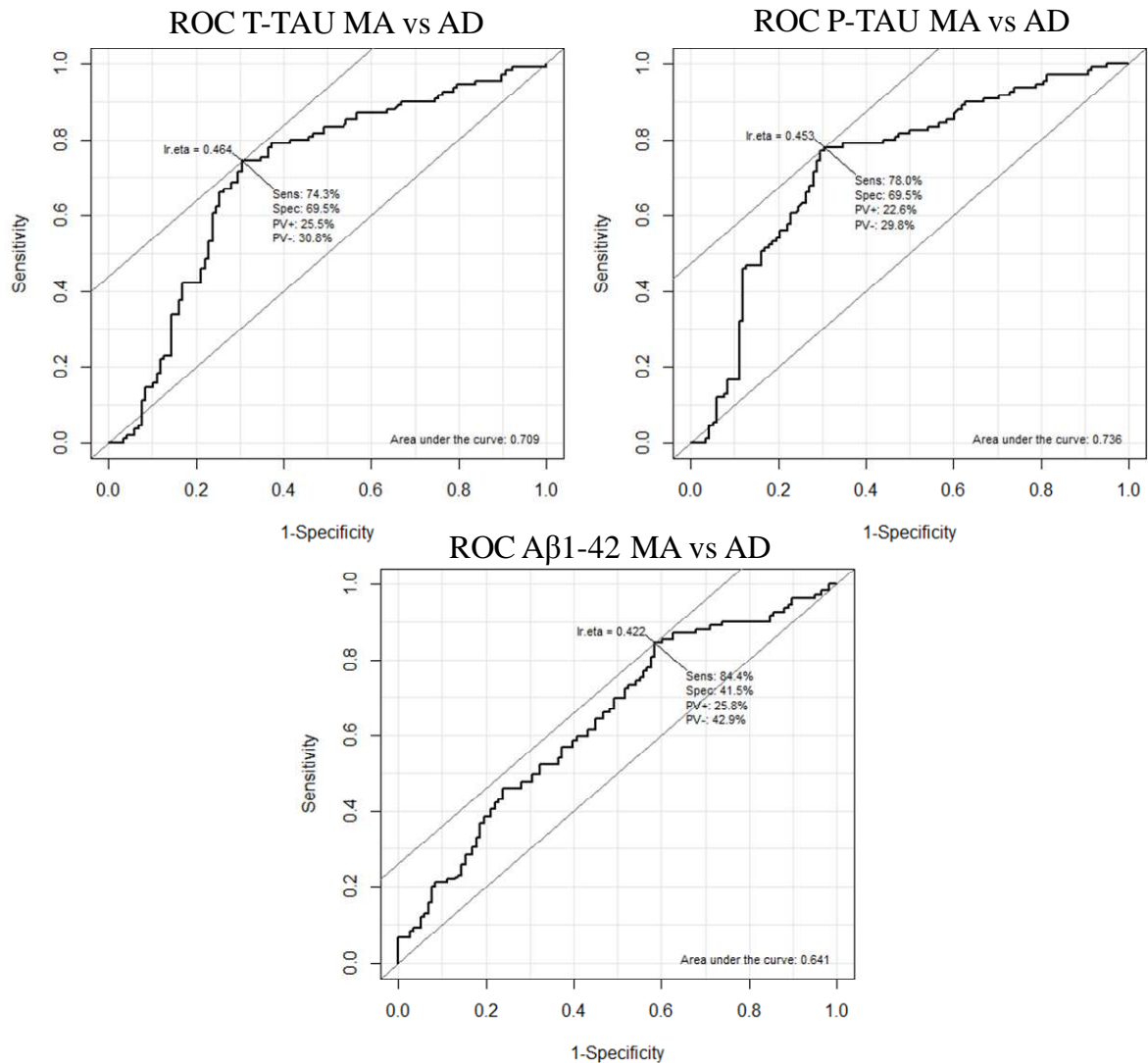


Figure 23 : Courbes de ROC des 3 biomarqueurs pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA et les patients atteints d'autres démences.

Bien que nous observons que la T-Tau et la P-Tau offrent des performances diagnostiques encore acceptables avec des AUC respectives de 0,709 et 0,736, l'Aβ1-42 nous révèle son inutilité à ce niveau d'étude. Une nouvelle fois, nous décidons de comparer nos résultats à ceux qu'ils auraient pu être en prenant pour référence, les valeurs seuils fixées par INNOGENETICS® (Tableau 10).

Tableau 10 : Performances des protéines T-Tau, P-Tau et A β 1-42 pour les valeurs seuils expérimentales et du fabricant.

		Valeurs seuils (pg/mL)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
INNOGENETICS®	T-Tau	450	56	76,3	68,5	65,2
	P-Tau	60	78,9	61,9	65,6	76
	A β 1-42	500	45	76,3	63,6	60
Valeurs expérimentales	T-Tau	349,9	74,3	69,5	69,2	74,5
	P-Tau	65,5	78	69,5	70,2	77,4
	A β 1-42	782,6	84,4	41,5	57,1	74,2

De nouveau, les valeurs obtenues par l'utilisation de la P-Tau sont tout à fait comparables à celles pronostiquées par le fabricant. Cependant et davantage que lors de l'étude précédente, l'emploi de l'A β 1-42 présente son incapacité totale à produire des résultats exploitables puisque les discordances sont trop fortes surtout en matière de spécificité. Quant aux valeurs de la T-Tau, l'utilisation de la valeur seuil du fournisseur améliore la spécificité au détriment de la sensibilité. Etudiée séparément, seule la P-Tau présente un intérêt à la distinction des patients atteints de MA de ceux atteints d'autres démences. Ces résultats, sans être médiocres restent tout de même modestes. La P-Tau est le meilleur marqueur discriminant avec une AUC de 0,736 et une VPP de 70%. C'est pourquoi, comme dans le cas des boîtes à moustaches, nous avons décidé d'évaluer ces performances par le biais des systèmes combinés.

III.1.3 Performances des combinaisons de biomarqueurs (IATI et A β 1-42/P-Tau) pour le diagnostic différentiel des patients atteints de MA des patients sans processus neurodégénératif

Avant d'apprécier le bénéfice qu'apporte les systèmes combinés à la différenciation des patients atteints de MA de ceux atteints d'autres démences, nous nous sommes au préalable assuré de la performance des diagnostics biologiques concernant les patients ne présentant pas de processus neurodégénératifs. Les courbes ainsi obtenues, sont présentées Figure 24.

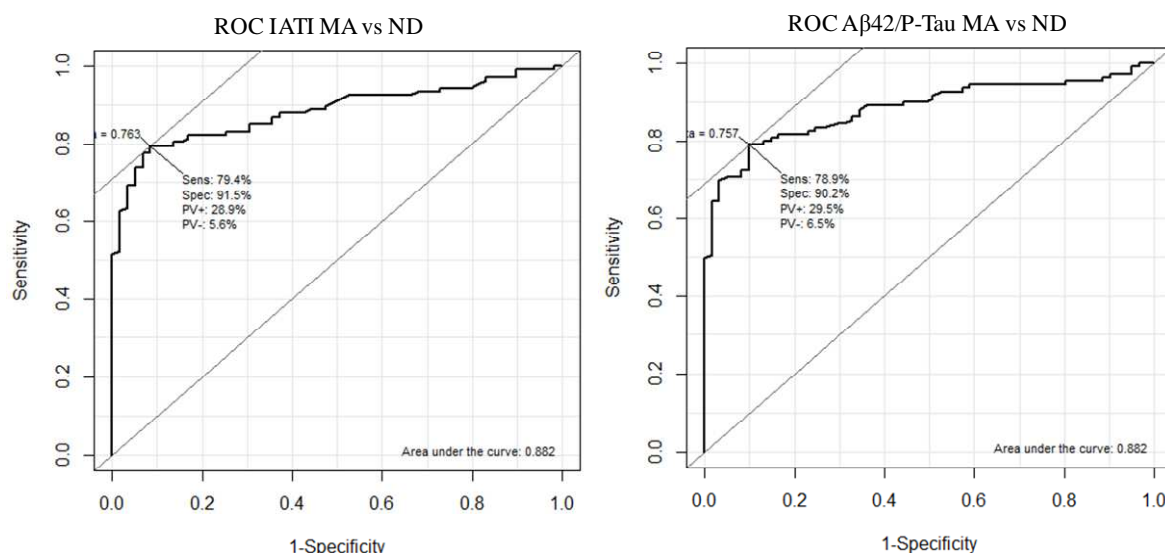


Figure 24 : Courbes de ROC du IATI et du ratio Aβ1-42/P-Tau pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératif.

Nous constatons qu'en utilisant le système du IATI ou celui du ratio l'Aβ1-42/P-Tau, les résultats obtenus sont de bien meilleure qualité comparés aux seuls biomarqueurs étudiés séparément. En effet, qu'il s'agisse de la sensibilité, de la spécificité ou encore des valeurs prédictives, ces systèmes combinés offrent des performances diagnostiques supérieures qui se traduisent par des AUC de 0,882. De manière analogue à nos précédentes études, nous avons comparé ces résultats à ceux qu'ils auraient été si nous avions pris les valeurs seuils fixées par INNOGENETICS® (Tableau 11).

Tableau 11 : Performances du IATI et du ratio Aβ1-42/P-tau pour les valeurs seuils expérimentales et du fabricant.

		Valeurs seuils	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
INNOGENETICS®	IATI	0,8	64	96,6	97,2	60
	Aβ1-42/P-Tau	9	72	90,2	92,9	64,7
Valeurs expérimentales	IATI	1,07	79,4	91,5	94,4	71,1
	Aβ1-42/P-Tau	10,6	78,9	90,2	93,5	70,5

Au même titre que l'étude des biomarqueurs appliqués séparément pour discriminer les patients atteints de MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératif, nous constatons que le IATI et le ratio l'Aβ1-42/P-Tau sont des indicateurs de choix. Plus performants pour cette discrimination que la T-Tau ou la P-Tau, ils présentent également une particularité. En effet, ils sont tous les deux dépendant de la concentration en Aβ1-42 qui

seule ne présentait que peu d'intérêt à ce niveau d'étude. De ce constat résulte une conclusion, le dosage de l'A β 1-42 est nécessaire et doit être étudié conjointement à la T-Tau ou à la P-tau. Mais une question subsiste toujours, est-ce que ces systèmes permettent de différencier les patients atteints de MA de ceux souffrants d'autres démences ?

III.1.4 Performances des combinaisons de biomarqueurs (IATI et A β 1-42/P-Tau) pour le diagnostic différentiel des patients atteints de MA des patients atteints d'autres démences

A en juger les résultats exposés par les courbes de ROC Figure 25 ou dans le Tableau 12, les performances du IATI ou du ratio A β 1-42/P-Tau ne se distinguent guère de celles affichées par l'étude de la T-Tau ou de la P-Tau seules.

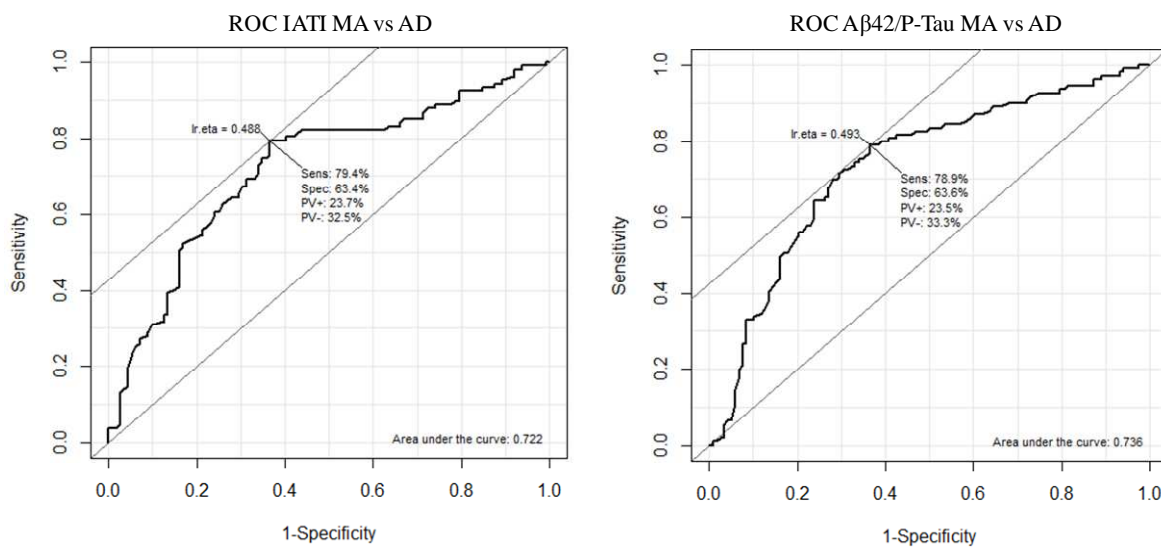


Figure 25 : Courbes de ROC du IATI et du ratio A β 1-42/P-Tau pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA de ceux atteints d'autres démences.

Tableau 12 : Performances du IATI et du ratio A β 1-42/P-tau pour les valeurs seuils expérimentales et du fabricant.

		Valeurs seuils	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
INNOGENETICS [®]	IATI	0,8	64	72,3	69	68,1
	A β 1-42/P-Tau	9	72	68,6	68,1	73
Valeurs expérimentales	IATI	1,07	79,4	63,4	67,5	76,3
	A β 1-42/P-Tau	10,8	78,9	63,6	66,7	76,5

Une des raisons que nous pouvons invoquer à ce manque de résolution réside peut-être dans le fait que le IATI comme le ratio $A\beta 1-42/P\text{-Tau}$ ne sont les reflets que de deux biomarqueurs. Toujours dans l'objectif de distinguer les patients atteints de la MA de ceux souffrants d'autres démences, nous avons décidé d'évaluer cette fois, des systèmes d'études complets prenant en compte simultanément l' $A\beta 1-42$, la P-Tau et la T-Tau.

III.1.5 Performances des combinaisons de biomarqueurs : IATI associé à P-Tau et $A\beta 1-42/P\text{-tau}$ associé à T-Tau

Invariablement, nous nous sommes auparavant attachés à confirmer l'habileté qu'ont ces nouveaux systèmes combinés à distinguer les patients atteints de MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératifs (Figure 26).

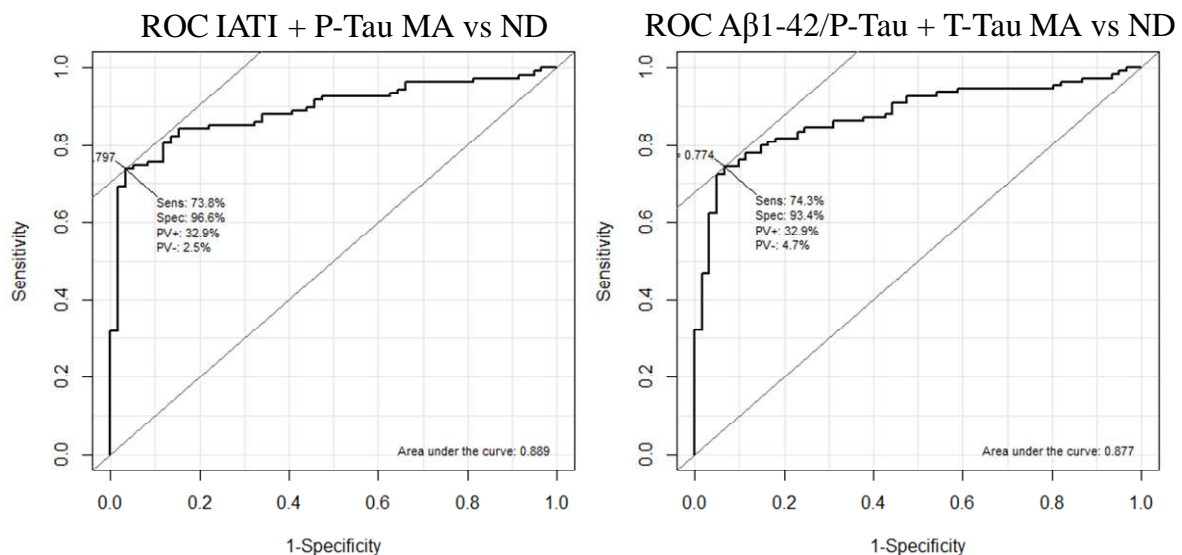


Figure 26 : Courbes de ROC du IATI et du ratio $A\beta 1-42/P\text{-Tau}$ associés à la P-Tau pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA de ceux sans processus neurodégénératif.

Ces combinaisons offrent une prestation incontestable, dont la qualité se voit de nouveau améliorée comme en témoignent les AUC qui atteignent les valeurs remarquables de 0,889 et de 0,877. Constituent-ils pour autant des modèles de références pour discriminer les patients atteints de MA de ceux souffrants d'autres démences ? Pour s'en convaincre, nous avons considéré les courbes de ROC suivantes (Figure 27) :

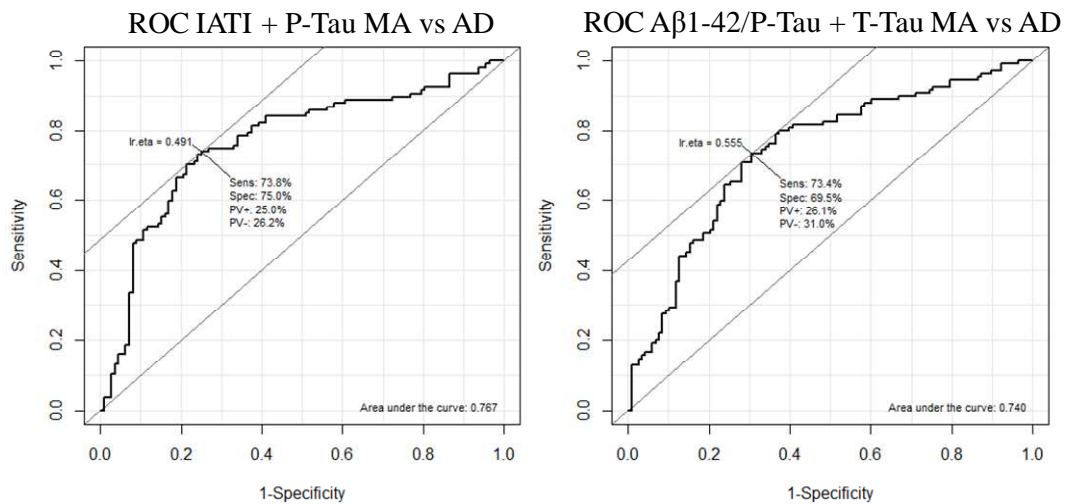


Figure 27 : Courbes de ROC des combinaisons de marqueurs pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA et les patients atteints d’autres démences.

Un modèle retient en particulier notre attention, celui de l’étude conjointe du IATI et de la P-tau. Il représente, en effet, jusqu’à présent le système qui offre les meilleures performances, en affichant une spécificité de 75% et une sensibilité de 73,8%. Il s’inscrit également comme étant la première des méthodes pour distinguer les patients atteints de MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératifs avec une spécificité de 96,6% et une sensibilité de 73,8%.

Nous savons à présent que le système d’analyse du IATI combiné à la P-Tau constitue le meilleur dispositif pour établir un diagnostic biologique de MA. Son usage est donc indispensable, néanmoins permet-il toujours d’établir un diagnostic ? Pour s’en assurer, nous pouvons faire l’inventaire de ces résultats en termes de présence et d’absence de conclusions biologiques.

III.2 Bilan de la contribution du IATI associé à la P-Tau pour le diagnostic de la MA

Afin d’évaluer la force du système biologique dans la constitution d’un diagnostic, nous avons représenté par la Figure 28 la répartition des patients en fonction de la conclusion biologique apportée par le IATI associé à la P-Tau.

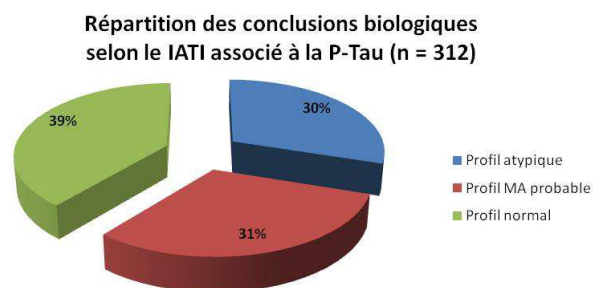


Figure 28 : Répartition des conclusions biologiques selon le IATI associé à la P-Tau dans notre échantillon de 312 patients.

Nous constatons que malgré de bonnes performances diagnostiques, 30% des échantillons ne nous permettent pas de formuler de conclusion. Ce constat résulte en fait de discordances existantes entre les concentrations entre l'Aβ1-42 et P-Tau pour 79% de ces profils. En effet, la majorité d'entre eux (34%) présentent un IATI < 0,8 ou compris entre 0,8 et 1,2 associé à une concentration en P-Tau < 60 pg/mL (zone ③ et zone A : Figure 29). Ces valeurs de IATI sont dues principalement à des concentrations en Aβ1-42 < 500 pg/mL. Encore en raison d'une diminution de la concentration en Aβ1-42, 25% des profils atypiques affichent un IATI compris entre 0,8 et 1,2 associé à une concentration en P-Tau > 60 pg/mL (zone B). Une concentration en P-Tau > 60pg/mL isolément est responsable de 28% de ces profils (zone ④). Enfin, 13% présentaient des valeurs de T-Tau > 1200 pg/mL empêchant le calcul du IATI.

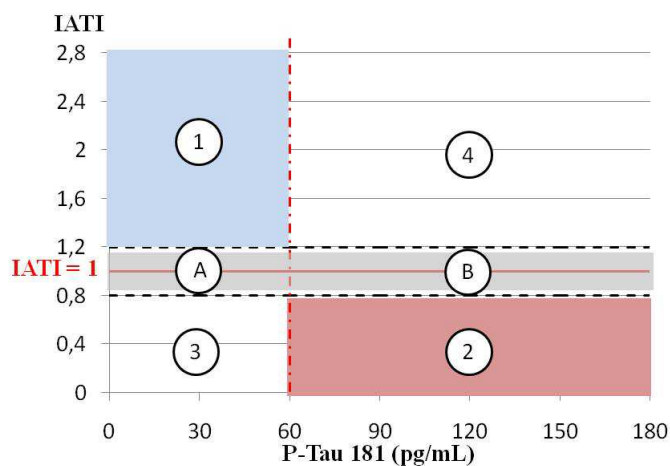


Figure 29 : Représentation graphique du IATI associé à la P-Tau.

Afin d'apporter plus de précision diagnostique pour la population présentant un profil atypique, une autre mesure peut être réalisée. En effet, l'analyse de l'Aβ1-40 comme mentionnée au § I.9.1. présente une fonction corrective de la valeur de l'Aβ1-42 qui peut, chez certains patients, présenter des concentrations singulières, trop ou trop peu représentatives de la charge en peptide amyloïde totale. Nous avons donc décidé d'introduire ce paramètre à notre système d'analyse dans l'objectif d'apporter davantage de résolution aux profils non-concluants résultants du IATI associé à la P-Tau.

III.3 Evaluation du dosage de l'Aβ1-40 dans l'établissement d'un diagnostic pour les profils non-concluants issus du système combiné du IATI associé à la P-Tau

Parmi les 92 patients présentant un profil atypique, seuls 58 échantillons ont pu bénéficier d'un dosage de l'Aβ1-40 en raison de quantités insuffisantes de LCR congelés pour les autres.

Le ratio $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ associé à la P-Tau a permis d'établir de nouvelles conclusions biologiques comme en témoigne le schéma présenté Figure 30.

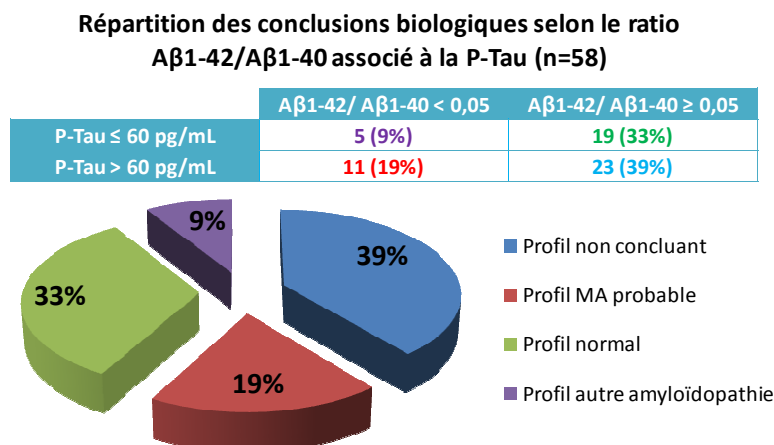


Figure 30 : Répartition des conclusions biologiques selon le ratio $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ associé à la P-Tau.

En effet nous pouvons constater que cette nouvelle combinaison contribue dans 61% des cas à la constitution de nouvelles conclusions biologiques représentées par 19% de profils en faveur d'une MA, 33% de profils normaux et 9% de profils type amyloïdopathie autre que MA. Cependant 39% des profils demeurent non concluants.

Cette nouvelle distribution est-elle arbitraire ? Ou pouvons nous établir une corrélation entre certains profils atypiques initiaux et ces nouvelles conclusions biologiques ? Pour le déterminer nous les avons confrontés dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Confrontation des profils atypiques initiaux aux conclusions biologiques finales.

		Nouvelles conclusions biologiques					
		Nb de patients	Zone graphique	MA	Amyloïdopathie	Normal	Non concluant
Profils atypiques initiaux	IATI<0,8 et P-Tau<60 pg/mL	12	③	-	3	9	-
	0,8<IATI<1,2 et P-Tau < 60 pg/mL	12	A	-	2	10	-
	IATI>1,2 et P-Tau>60 pg/mL	12	④	2	-	-	10
	0,8<IATI<1,2 et P-Tau > 60 pg/mL	18	B	7	-	-	11
	T-Tau>1200 pg/mL	4	-	2	-	-	2

Il apparaît clairement que cette distribution n'est pas le fruit du hasard. En effet, bien qu'il réside encore de nombreux profils non-concluants, nous constatons que chez les patients présentant des concentrations en P-Tau > 60 pg/mL (zones ④ et B), le ratio Aβ1-42/Aβ1-40 a permis d'établir une conclusion biologique en faveur d'une MA (30%). Nous pouvons également observer ce phénomène dans le cas des patients dont la T-Tau dépasse 1200 pg/mL (50%). D'autre part, 100% des patients situés dans les zones ③ et A, c'est-à-dire affichant un IATI < 1,2 et une concentration en P-Tau < 60 pg/mL ont tous bénéficiés de conclusions biologiques orientés soit vers une amyloïdopathie soit vers un profil normal. Plus précisément, 79% des patients des zones ③ et A ont vu leur charge amyloïde corrigée par le ratio Aβ1-42/Aβ1-40 permettant d'établir un profil biologique normal. Malgré tout, même s'il apparaît que le dosage de l'Aβ1-40 semble le plus contributif pour les profils situés dans les zones ③ et A, il apporte tout de même une valeur ajoutée à nos conclusions pour chaque profils atypiques.

Afin de garantir ces résultats nous avons décidé de confronter ces conclusions biologiques finales aux diagnostics cliniques initiaux (Tableau 14).

Tableau 14 : Confrontation des conclusions biologiques finales aux diagnostics cliniques initiaux.

		Profil biologique	Profil biologique	Profil biologique	Profil biologique	Total (n = 58)
		MA (n = 11)	autre amyloïdopathie (n = 5)	normal (n = 18)	non concluant (n = 23)	
Diagnostics cliniques	MA	9	1	1	7	18
	AD	2	3	11	10	26
	MCI	0	1	0	1	2
	ND	0	0	6	6	12

Parmi 11 conclusions biologiques en faveur d'une MA, 9 patients (82%) ont un diagnostic clinique concordant. Parmi les 18 profils biologiques normaux, 11 patients (61%) présentent une autre démence et 6 (33%) n'ont pas de processus neurodégénératif. Un seul patient atteint de MA présente un profil biologique normal. La majorité des profils non concluants (43%) appartient aux patients atteints d'autres démences. Notons que parmi les 5 profils type amyloïdopathie, un diagnostic clinique était en faveur d'une DCL.

Enfin, dans cette deuxième partie, afin d'établir la sensibilité et la spécificité du ratio $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ pour le diagnostic de MA, nous avons tracé les courbes de ROC suivantes (Figure 31 et Tableau 15) :

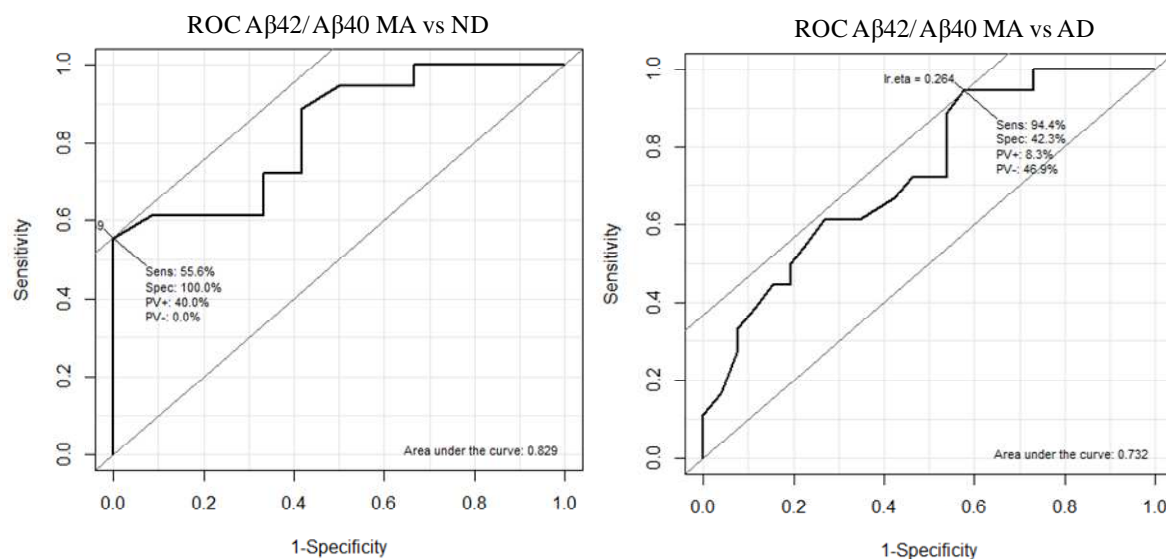


Figure 31 : Courbes de ROC du ratio $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA et d'autres démences et sans processus neurodégénératif.

Tableau 15 : Performances et valeurs seuils expérimentales du ratio A β 1-42/ A β 1-40 dans la distinction des patients atteints de MA et des patients sans processus neurodégénératif.

	Valeurs seuils (pg/mL)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
Aβ1-42/ Aβ1-40	0,05	55,6	100	100	60

Une valeur seuil du ratio A β 1-42/A β 1-40 à 0,05, similaire à celle du fournisseur, permet d'obtenir le maximum de spécificité soit 100% mais une sensibilité de seulement 55,6%. Pour différencier une MA d'une AD une valeur seuil du ratio A β 1-42/A β 1-40 à 0,066 offre une spécificité de 42,3% et une sensibilité de 94,4% alors qu'une valeur seuil à 0,05 apporte une spécificité de 80,8%. Dans cette population, une valeur seuil de P-Tau à 65,5 pg/mL offre la meilleure sensibilité et spécificité (respectivement 89% et 70%).

Toujours dans l'objectif d'améliorer les performances diagnostiques de cet outil biologique nous avons décidé d'associer la P-Tau au ratio A β 1-42/A β 1-40 (Figure 32).

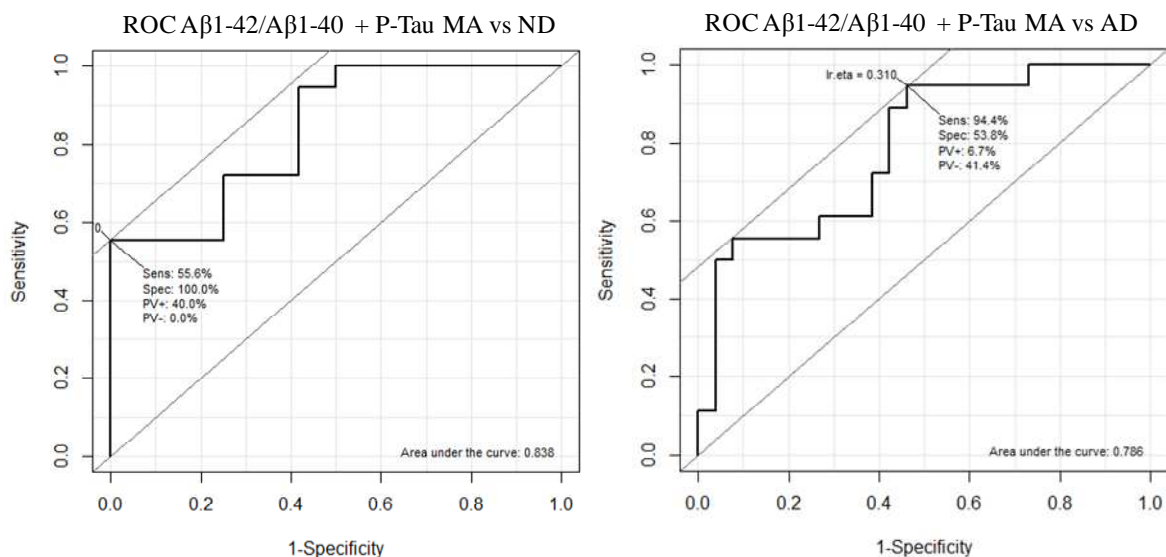


Figure 32 : Courbes de ROC de la combinaison de marqueurs A β 1-42/A β 1-40 associé à la P-Tau pour le diagnostic de la MA.

Pour distinguer les patients MA des patients ND, l'AUC est excellente (0,838). Alors que les deux courbes sont relativement semblables concernant la différenciation des patients MA *versus* ND, l'ajout de la P-Tau augmente la spécificité du ratio pour la distinction des patients MA *versus* AD.

Pour garantir ces résultats, nous avons comparé les courbes de ROC testant le ratio A β 1-42/A β 1-40 aux courbes de ROC testant l'A β 1-42 seule sur nos 58 échantillons discordants (Figure 33).

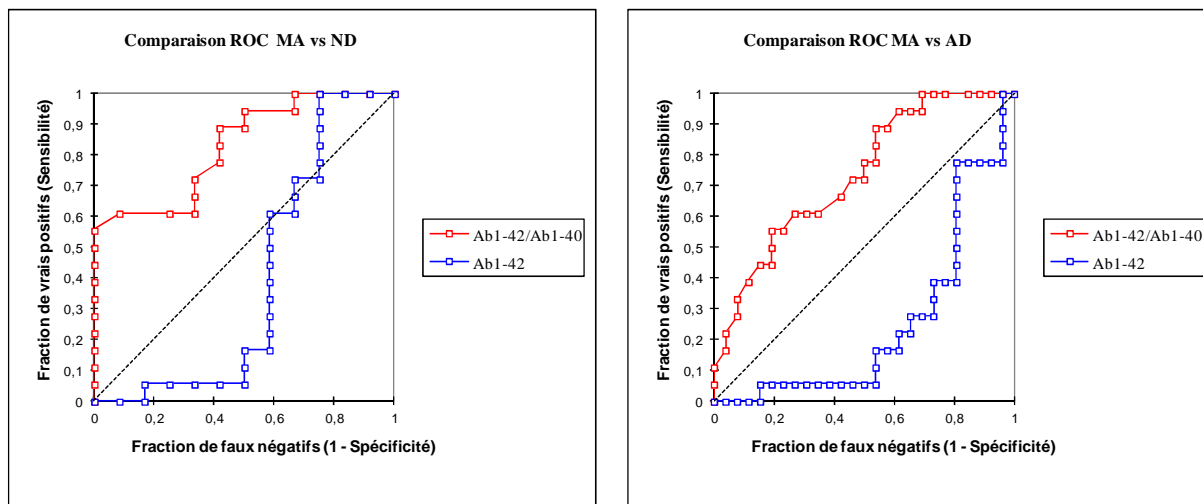


Figure 33 : Comparaison des courbes de ROC $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ versus $A\beta 1-42$ seule pour différencier les patients MA des patients ND et AD sur les 58 échantillons discordants.

Incontestablement, le ratio $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ augmente considérablement le pouvoir diagnostique sur cette population offrant une nette amélioration de la sensibilité et de la spécificité comparé à l'utilisation de l' $A\beta 1-42$ ($p < 0,0001$) pour distinguer les patients MA des patients ND et AD. Le dosage de l' $A\beta 1-42$ pour cette population est même contre performante si nous considérons le test positif pour une valeur inférieure à 500 pg/mL offrant une spécificité de seulement 50%.

Ainsi, les meilleures AUC (0,889 et 0,877) pour établir le diagnostic de MA ont été établies avec l'utilisation du IATI associé à la P-Tau. Cependant ce système ne nous permet pas de conclure biologiquement pour un tiers des dosages. L'apport de l' $A\beta 1-40$ a permis de conclure pour 61% de ces profils atypiques. Malgré une spécificité parfaite avec un seuil à 0,05 dans la différenciation des patients MA *versus* ND, la sensibilité du ratio $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ associé ou non à la P-Tau est décevante.

En conclusion, le IATI combiné à la P-Tau et l'utilisation du ratio $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ associé à la P-Tau pour les profils discordants apportent une conclusion biologique pour 92% des dosages effectués.

Ces performances biologiques remarquables influent-elles pour autant sur les conclusions du clinicien ? Pour y répondre nous avons relevé les réorientations diagnostiques effectuées par les praticiens.

III.4 Bilan de l'impact des résultats biologiques sur le diagnostic clinique

Considérons tout d'abord l'organigramme (Figure 34) qui reprend la distribution des conclusions biologiques apportées par le IATI associé à la P-Tau pour les 4 groupes de patients. Celui-ci nous informe que les biomarqueurs sont principalement prescrits afin d'éliminer une MA puisqu'ils sont demandés pour 179 patients (57%) pour lesquels le diagnostic initial est une pathologie autre qu'une MA. D'un autre côté les biomarqueurs sont prescrits pour 109 patients (35%) afin de confirmer ce diagnostic. De manière surprenante, peu de patients MCI (24 patients) ont bénéficié de ces dosages. Avec les valeurs seuils du fournisseur, pour le diagnostic clinique de MA, la concordance avec les résultats biologiques est de 62% et 15 profils biologiques normaux (14%) sont retrouvés. Lorsque le diagnostic initial n'est pas en faveur d'un processus neurodégénératif, la concordance est de 70% pour des profils biologiques normaux et un seul profil était en faveur d'une MA. Concernant le groupe AD, la concordance clinico-biologique est de 80%. Enfin dans le groupe MCI, 5 profils biologiques (21%) sont en faveur d'une MA et la majorité des dosages révèle un profil biologique normal (46%). La majorité des profils atypiques (45%) sont retrouvés dans le groupe AD qui représente 35% des profils de ce groupe.

L'existence d'une discordance entre un diagnostic clinique initial MA et un profil biologique normal, a réorienté le diagnostic clinique en faveur du diagnostic biologique pour 73% des patients.

D'autre part, une discordance entre un diagnostic clinique initial d'AD et un profil biologique en faveur d'une MA, a conduit, pour seulement 39% des patients, à une adaptation du diagnostic clinique en faveur du diagnostic biologique.

Le patient présentant un profil biologique en faveur d'une MA dans le groupe ND a vu son diagnostic clinique transformé en MA.

Enfin, concernant les patients MCI, une réorientation du diagnostic clinique en faveur du diagnostic biologique a été proposée pour 50% d'entre eux (8 profils normaux et 4 profils en faveur d'une MA). Lorsque le profil biologique était en faveur d'une MA, 80% des profils ont été confirmés.

Hormis chez les patients présentant un diagnostic initial en faveur d'une autre démence, nous pouvons dire que la confiance qu'accorde les cliniciens aux résultats biologiques est relativement forte.

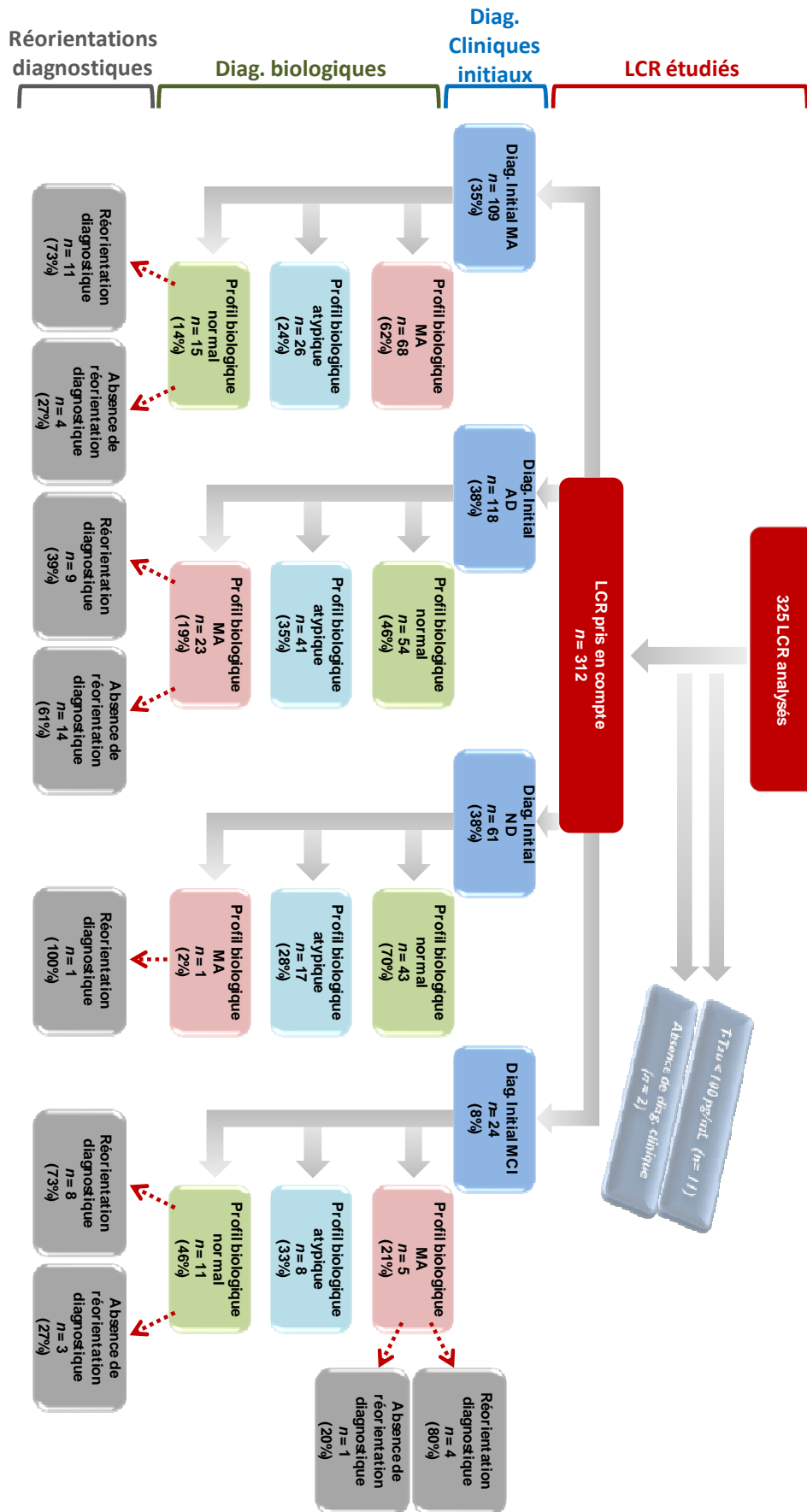


Figure 34 : Représentation graphique de l'étude.

D'une manière générale, les biomarqueurs ont confirmé le diagnostic clinique pour 170 patients (54,5% de la population totale) et ils ont permis d'établir un nouveau diagnostic pour 33 patients (60% des profils discordants) permettant d'établir un diagnostic de MA pour 14 patients et d'éliminer une MA pour 19 patients. En d'autres termes lorsqu'il existe une incertitude, dans plus de la moitié des cas le praticien choisi de faire confiance au diagnostic biologique.

DISCUSSION

Au cours de cette étude, nous avons eu dans un premier temps l'occasion d'évaluer les performances diagnostiques des 3 biomarqueurs dosés en routine dans notre laboratoire.

Les performances des dosages de la protéine Tau-T et P-Tau pour le diagnostic de la MA étaient tout à fait comparables aux études bibliographiques puisqu'ils présentaient des spécificités supérieures à 85%. En accord avec la littérature, un léger avantage a pu être accordé à la P-Tau pour discriminer les patients MA de ceux ND. En effet, les plus importantes études ont montré des spécificités de 92% pour la P-Tau et de 90% pour la T-Tau [65].

Quant à leurs performances pour le diagnostic différentiel entre MA et AD, nous avons obtenu 70% de spécificité. Une diminution de leur efficacité a également été établie dans plusieurs travaux. Aussi, la valeur seuil optimale déterminée par le biais des courbes de ROC s'est avérée similaire à celles du fournisseur pour la P-Tau.

Concernant la performance de l'A β 1-42 seule, les résultats se sont révélés médiocres avec une sensibilité de seulement 45% et une spécificité de 90% avec les valeurs seuils du fournisseur. Pour discriminer les patients atteints de MA des patients AD, sa spécificité a chuté de 13,7% pour atteindre 76,3% avec une valeur seuil à 500 pg/mL. Déjà rencontrée dans d'autres études, cette baisse de spécificité peut être attribuée à l'existence de dépôts amyloïdes présents dans d'autres démences telles que la DCL [88]. Cependant, nos valeurs restent très éloignées de celles retrouvées dans la littérature qui affiche des spécificités supérieures à 85%. De la même manière, l'étude européenne menée par Hort et al. en 2010 a révélé des valeurs seuils mesurées d'A β 1-42 très différentes de celles du fournisseur avec une valeur de 675 pg/mL dans la discrimination des patients MA des patients ND et une valeur de 782,6 pg/mL pour distinguer les patients MA des patients AD.

Nous nous sommes, ensuite, intéressés au pouvoir diagnostic des différentes associations de biomarqueurs. Dans chaque cas, les performances ont été considérablement améliorées. L'utilisation du ratio A β 1-42/P-Tau associé à la T-Tau et le IATI associé à la P-Tau offraient des spécificités remarquables pour discriminer les patients MA des patients ND. Un léger avantage a pu être attribué à cette dernière association (96,6% *versus* 93,4%). Des valeurs semblables de spécificité sont fréquemment retrouvées dans la littérature (95% *versus* 92%). Les valeurs seuils respectives sont, quant à elles, légèrement plus élevées que celles du fournisseur (10,6 *versus* 9 et 1,07 *versus* 0,8). En revanche, la spécificité de ces associations s'est révélée modeste comparée à d'autres études pour distinguer les patients atteints de MA

de ceux atteints d'AD : 69,5% pour le ratio d'A β 1-42/P-Tau associé à la T-Tau et 75% pour le IATI associé à la P-Tau.

Cependant, l'utilisation du IATI associé à la P-Tau ne permettait pas d'établir de conclusion biologique dans un tiers des cas, principalement en raison d'une discordance entre les résultats des dosages de l'A β 1-42 et de la P-Tau. En effet, les patients atteints de MA hyperproducteurs de peptides amyloïdes peuvent afficher une concentration intrathécale en peptide A β augmentée (> 500 pg/mL) et donc, une quantité de peptides A β 1-42 anormalement élevée. De manière réciproque, les hypoproducteurs de ces peptides auront des concentrations anormalement basses (<500 pg/mL) conduisant à tort à un diagnostic biologique en faveur d'une amyloïdopathie. Le peptide A β 1-40 reflétant la charge totale en peptide A β dans le LCR, le calcul du ratio A β 1-42/A β 1-40 permettrait donc de corriger ces variations interindividuelles et par la même occasion, éviterait des erreurs d'interprétation des résultats biologiques. C'est pourquoi nous avons testé le dosage de l'A β 1-40 et calculé le ratio A β 1-42 /A β 1-40 dans le cas des profils atypiques. L'objectif a été partiellement atteint puisque ce ratio associé à la P-Tau nous a permis de conclure pour 61% des dosages effectués. Néanmoins, nous avons tout de même pu établir 11 profils en faveur d'une MA révélant ainsi chez ces patients une charge amyloïde forte. Nous avons pu également aboutir à 19 nouvelles conclusions biologiques en faveur d'un profil biologique normal révélant dans ce cas une charge amyloïde faible. Les valeurs de sensibilité et de spécificité de cette nouvelle association de biomarqueurs ont ensuite été déterminées. Le ratio A β 1-42/A β 1-40 seul et associé à la P-Tau offrent une excellente spécificité avec une valeur seuil de 0,05 mais une faible sensibilité (55%). Ce ratio produit des performances significativement supérieures à l'utilisation de l'A β 1-42 seule pour cette population conduisant à un gain de spécificité de 50%. L'association à la P-Tau offre une meilleure spécificité dans la différenciation des patients atteints de MA de ceux atteints d'AD. Notons que cette détermination est issue d'un nombre limité d'échantillons (n=58). La sensibilité est nettement meilleure dans la littérature, puisque dans l'étude de Lewczuk et al en 2004, qui comportait 68 patients elle était de 95,2%. Dans deux autres travaux de thèse le ratio A β 1-42 /A β 1-40 seul et associé à la P-Tau offraient une sensibilité de 72% et 96% [91][92]. Dans un de ces travaux, le ratio A β 1-42 /A β 1-40 associé à la P-Tau permettait de conclure pour 89% des patients présentant un profil biologique atypique (n = 122) [91].

Enfin nous avons évalué l'impact des résultats biologiques sur le diagnostic clinique. Nous en avons conclu que le degré de confiance des cliniciens dans les résultats biologiques est

relativement fort hormis chez les patients présentant un diagnostic initial en faveur d'une autre démence. Ceci peut s'expliquer par l'existence de pathologies neurodégénératives mixtes. En cas de discordances clinico-biologiques, le dosage des biomarqueurs a permis d'établir une réorientation diagnostique pour 60% des patients. Une autre étude a déterminé l'impact diagnostique des biomarqueurs et a conclu à une augmentation de la confiance des cliniciens dans leurs diagnostics ainsi qu'à 10% de réorientations diagnostiques [103]. De plus, les biomarqueurs sont prescrits en majorité devant un diagnostic clinique d'AD, ce qui est en accord avec les dernières recommandations. En effet, l'usage de ces biomarqueurs devant une présentation clinique atypique telles qu'un syndrome frontal ou une aphasia progressive permettrait d'établir un diagnostic différentiel entre une MA et une DLFT. Egalement ils paraissent utiles pour différencier une MA d'une pathologie psychiatrique associée à des troubles cognitifs. La faible utilisation des biomarqueurs du LCR au stade MCI pourrait s'expliquer par des problèmes éthiques. En effet, en l'absence de traitement curatif, un résultat biologique en faveur d'une MA à ce stade entraînerait d'importants problèmes psychologiques et sociaux pour le patient.

Les biais de cette étude concernent les déterminations des sensibilités et spécificités. En effet, les résultats biologiques ont été comparés aux diagnostics cliniques initiaux et non pas au gold standard qui est l'analyse neuropathologique des cerveaux. De plus, ces déterminations n'ont pas été effectuées en comparaison avec des individus sains. Enfin, l'apport du dosage de l'A β 1-40 a été évalué exclusivement dans le cadre des profils biologiques atypiques et sur un faible échantillon (n = 58) en raison d'une quantité trop faible de LCR congelée pour les autres patients. Ce dernier constat devrait inciter à prélever davantage de LCR, ceci en vue d'un éventuel rajout du dosage de l'A β 1-40.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Les biomarqueurs du LCR représentent une avancée majeure dans le diagnostic de la MA. Cet outil biologique doit toujours être associé aux données de l'examen clinique et aux résultats des bilans d'imagerie.

Dans notre étude, la protéine P-Tau combinée au IATI qui est issu de l'association entre l'A β 1-42 et la protéine Tau offrent les meilleures sensibilités et spécificités pour le diagnostic de la MA. Cependant une discordance entre le peptide A β 1-42 et la protéine P-Tau rend l'interprétation des résultats difficile. Dans ce cas, le dosage de l'A β 1-40 et le calcul du ratio A β 1-42/A β 1-40 permet d'apporter une conclusion biologique pour la majorité des profils discordants. Son dosage en routine dans notre laboratoire paraît donc indispensable. En outre, persuadés de ces performances, de plus en plus de centres cliniques l'ont déjà totalement intégré au sein de leur bilan biologique de démences. D'autre part, c'est au travers d'un dialogue entre cliniciens et biologistes que son utilisation sera rendue optimale.

Notre étude a également montré que conformément aux dernières recommandations, les biomarqueurs sont principalement prescrits en cas de doute diagnostique notamment face à des présentations atypiques de la maladie. De surcroît, nos conclusions biologiques sont parfaitement intégrées à celles du clinicien dans la confirmation ou l'élimination du diagnostic de MA pour ses patients.

Néanmoins, de trop grandes variations inter-centres subsistent concernant les résultats du dosage de ces protéines. L'inconvénient majeur que représente la ponction lombaire rend nécessaire le développement de nouveaux biomarqueurs. Même si les premiers résultats se sont révélés décevants, de nombreux travaux sur la recherche de marqueurs sériques et tissulaires sont en cours tels que la détection des isoformes du peptide A β et sont encourageants.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] *Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-IV-TR*. Washington, DC : American Psychiatric Association, 2000.
- [2] BAKCHINE S., HABERT M. O. « Classification des démences: aspects nosologiques ». *Médecine Nucléaire*, 2007, 31, 6, p. 278–293.
- [3] FERRI C. P., PRINCE M., BRAYNE C., et al. « Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study ». *The Lancet*, 2006, 366, 9503, p. 2112-2117.
- [4] MURA T., DARTIGUES J.-F., BERR C. « How many dementia cases in France and Europe? Alternative projections and scenarios 2010-2050 ». *European Journal of Neurology*, 2010, 17, 2, p. 252-259.
- [5] DARTIGUES J.-F., BERR C., HELMER C., et al. « Épidémiologie de la maladie d'Alzheimer ». *médecine/sciences*, 2002, 18, 6-7, p. 737-743.
- [6] ROCHE-BIGAS B., FERLEY J. . *La maladie d'Alzheimer et les troubles apparentés en limousin*. 2009. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.ors-limousin.org/publications/4pages/2009/Fiche_alzheimer_09.pdf>.
- [7] GALEZ C. *Rapport sur la maladie d'Alzheimer et les maladies apparentées au nom de l'Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé*. 2005. [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.assemblee-nationale.fr/12/rap-off/i2454.asp>>
- [8] CAMPION D., BRICE A., HANNEQUIN D., et al. « A large pedigree with early-onset Alzheimer's disease: clinical, neuropathologic, and genetic characterization ». *Neurology*, 1995, 45, 1, p. 80-85.
- [9] GUYANT-MARÉCHAL L., CAMPION D., HANNEQUIN D. « Génétique de la maladie d'Alzheimer : formes autosomiques dominantes ». *Revue Neurologique*, 2009, 165, 3, p. 223-231.
- [10] GOATE A., CHARTIER-HARLIN M. C., MULLAN M., et al. « Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease ». *Nature*, 1991, 349, 6311, p. 704-706.
- [11] SHERRINGTON R., ROGAEV E. I., LIANG Y., et al. « Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease ». *Nature*, 1995, 375, 6534, p. 754-760.
- [12] LEVY-LAHAD E., WASCO W., POORKAJ P., et al. « Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus ». *Science*, 1995, 269, 5226, p. 973-977.
- [13] KUMAR-SINGH S., THEUNS J., VAN BROECK B., et al. « Mean age-of-onset of familial alzheimer disease caused by presenilin mutations correlates with both increased Aβ42 and decreased Aβ40 ». *Human Mutation*, 2006. 27, 7, p. 686-695.

- [14] LETENNEUR L., GILLERON V., COMMENGES D., et al. « Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease? Incidence data from the PAQUID project ». *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 1999, 66, 2, p. 177-183.
- [15] STERN Y., GURLAND B., TATEMACHI T. K., et al. « Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease ». *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 1994, 271, 13, p. 1004-1010.
- [16] QIU C., WINBLAD B., FRATIGLIONI L. « The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia ». *The Lancet Neurology*, 2005, 4, 8, p. 487-499.
- [17] BIESELS G. J., DEARY I. J., RYAN C. M. « Cognition and diabetes: a lifespan perspective ». *The Lancet Neurology*, 2008, 7, 2, p. 184-190.
- [18] SHOBAB L. A., HSIUNG G.-Y. R., FELDMAN H. H. « Cholesterol in Alzheimer's disease ». *The Lancet Neurology*, 2005, 4, 12, p. 841-852.
- [19] ANSTEY K. J., LIPNICKI D. M., LOW L.-F. « Cholesterol as a risk factor for dementia and cognitive decline: a systematic review of prospective studies with meta-analysis ». *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 2008, 16, 5, p. 343-354.
- [20] LAMBERT J.-C., AMOUYEL P. « Genetic heterogeneity of Alzheimer's disease: complexity and advances ». *Psychoneuroendocrinology*, 2007, 32, 1, p. 62-70.
- [21] CORDER E. H., SAUNDERS A. M., STRITTMATTER W. J., et al. « Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families ». *Science*, 1993, 261, 5123, p. 921-923.
- [22] CORDER E. H., SAUNDERS A. M., RISCH N. J., et al. « Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease ». *Nature Genetics*, 1994, 7, 2, p. 180-184.
- [23] LAMBERT J.-C., HEATH S., EVEN G., et al. « Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease ». *Nature Genetics*, 2009, 41, 10, p. 1094-1099.
- [24] CHECLER F. « Processing of the beta-amyloid precursor protein and its regulation in Alzheimer's disease ». *Journal of Neurochemistry*, 1995, 65, 4, p. 1431-1444.
- [25] MATTSON M. P. « Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives ». *Physiological Reviews*, 1997, 77, 4, p. 1081-1132.
- [26] CHECLER F., BUÉE L. « Données fondamentales sur les pathologies amyloïde et Tau dans la maladie d'Alzheimer : quelles perspectives thérapeutiques ? » *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 2009, 67, 2, p. 136-153.

- [27] KROLAK-SALMON P., SEGUIN J., PERRET-LIAUDET A., et al. « Vers un diagnostic biologique de la maladie d'Alzheimer et des syndromes apparentés ». *La Revue de Médecine Interne*, 2008, 29, 10, p. 785-793.
- [28] WILTFANG J., ESSELMANN H., BIBL M., 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 ». *Journal of Neurochemistry*, 2002, 81, 3, p. 481-496.
- [29] YARDIN C. « Histopathologie de la maladie d'Alzheimer ». *Morphologie*, 2007, 91, 295, p. 199-201.
- [30] DUYCKAERTS C., PANCHAL M., DELATOUR B., et al. « Neuropathologie morphologique et moléculaire de la maladie d'Alzheimer ». *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 2009, 67, 2, p. 127-135.
- [31] DUYCKAERTS C., DELATOUR B., POTIER M.-C. « Classification and basic pathology of Alzheimer disease ». *Acta Neuropathologica*, 2009, 118, 1, p. 5-36.
- [32] BRAAK H., BRAAK E. « Neuropathological staging of Alzheimer-related changes ». *Acta Neuropathologica*, 1991, 82, 4, p. 239-259.
- [33] DELACOURTE A., DAVID J. P., SERGEANT N., et al. « The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease ». *Neurology*, 1999, 52, 6, p. 1158-1165.
- [34] HYMAN B. T., PHELPS C. H., BEACH T. G., et al. « National Institute on Aging–Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease ». *Alzheimer's & Dementia*, 2012, 8, 1, p. 1-13.
- [35] PERL D. P. « Neuropathology of Alzheimer's Disease ». *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*, 2010, 77, 1, p. 32-42.
- [36] BUEE L., DELACOURTE A. « Tauopathie et maladie d'Alzheimer, un processus dégénératif à part entière » *Psychology et NeuroPsychiatrie du Vieillessement*, 2006, 4, 4, p. 261-73
- [37] MCKHANN G., DRACHMAN D., FOLSTEIN M., et al. « Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease ». *Neurology*, 1984, 34, 7, p. 939-939.
- [38] KAZEE A. M., ESKIN T. A., LAPHAM L. W., et al. « Clinicopathologic correlates in Alzheimer disease: assessment of clinical and pathologic diagnostic criteria ». *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 1993, 7, 3, p. 152-164.
- [39] DUBOIS B., FELDMAN H. H., JACOVA C., et al. « Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS–ADRDA criteria ». *The Lancet Neurology*, 2007, 6, 8, p. 734-746.

- [40] JACK C. R., ALBERT M. S., KNOPMAN D. S., et al. « Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease ». *Alzheimer's & Dementia*, 2011, 7, 3, p. 257-262.
- [41] ALBERT M. S., DEKOSKY S. T., DICKSON D., et al. « The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease ». *Alzheimer's & Dementia*, 2011, 7, 3, p. 270-279.
- [42] MCKHANN G. M., KNOPMAN D. S., CHERTKOW H., et al. « The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease ». *Alzheimer's & Dementia*, 2011, 7, 3, p. 263-269.
- [43] CROISILE B., AURIACOMBE S., ETCHARRY-BOUYX F., et al. « Les nouvelles recommandations 2011 du National Institute on Aging et de l'Alzheimer's Association sur le diagnostic de la maladie d'Alzheimer : stades précliniques, mild cognitive impairment et démence ». *Revue Neurologique*, 2012, 168, 6-7, p. 471-482.
- [44] TROJANOWSKI J. Q., VANDEERSTICHELE H., KORECKA M., et al. « Update on the biomarker core of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative subjects ». *Alzheimer's and Dementia*, 2010, 6, 3, p. 230-238.
- [45] HAS. *Diagnostic et prise en charge de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées*. 2008.
- [46] THOMAS-ANTÉRION C., MAHIEUX F. « Les troubles cognitifs de la maladie d'Alzheimer et des syndromes apparentés : pourquoi et comment les explorer ? » *NPG Neurologie - Psychiatrie - Gériatrie*, 2009, 9, 52, p. 183-190.
- [47] LEHÉRICY S., MARJANSKA M., MESROB L., et al. « Magnetic resonance imaging of Alzheimer's disease ». *European Radiology*, 2007, 17, 2, p. 347-362.
- [48] COSTAFREDA S. G., DINOVI I. D., TU Z., et al. « Automated hippocampal shape analysis predicts the onset of dementia in mild cognitive impairment ». *NeuroImage*, 2011, 56, 1, p. 212-219.
- [49] BORRONI B., ANCHISI D., PAGHERA B., et al. « Combined 99mTc-ECD SPECT and neuropsychological studies in MCI for the assessment of conversion to AD ». *Neurobiology of Aging*, 2006, 27, 1, p. 24-31.
- [50] HABERT M.-O., HORN J.-F., SARAZIN M., et al. « Brain perfusion SPECT with an automated quantitative tool can identify prodromal Alzheimer's disease among patients with mild cognitive impairment ». *Neurobiology of Aging*, 2011, 32, 1, p. 15-23.
- [51] NOBLE J. M., SCARMEAS N. « Chapter 7 Application of Pet Imaging to Diagnosis of Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment1 ». In : *International Review of Neurobiology* : Elsevier, 2009. p. 133-149.

- [52] ROMÁN G. C., TATEMICHU T. K., ERKINJUNTTI T., et al. « Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop ». *Neurology*, 1993, 43, 2, p. 250-260.
- [53] NEARY D., SNOWDEN J. S., GUSTAFSON L., et al. « Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria ». *Neurology*, 1998, 51, 6, p. 1546-1554.
- [54] HANNEQUIN D., WALLON D., MARTINAUD O., et al. « Nosologie des dégénérescences lobaires frontotemporales ». *Pratique Neurologique - FMC*, 2011, 2, 2, p. 53-63.
- [55] LE BER I., DUBOIS B. « Démences frontotemporales ». *La Presse Médicale*, 2007, 36, 10, p. 1477-1484.
- [56] LACOSTE L. « Nouvelle classification des aphasies progressives primaires et leur évaluation ». *NPG Neurologie - Psychiatrie - Gériatrie*, 2012, 12, 67, p. 31-34.
- [57] MCKEITH I. G., DICKSON D. W., LOWE J., et al. « Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium ». *Neurology*, 2005, 65, 12, p. 1863-1872.
- [58] BENATRU I. « La paralysie supranucléaire progressive : nouveaux concepts cliniques et neuropathologiques ». *Pratique Neurologique - FMC*, 2012, 3, 3, p. 206-215.
- [59] BARON T., CALAVAS D. « L'encéphalopathie spongiforme bovine ». *Pathologie Biologie*, 2005, 53, 4, p. 229-236.
- [60] HAS. *Synthèse d'avis de la commission de transparence*. 2011.
- [61] HAS. *Place des médicaments du traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer*. 2012.
- [62] ANDREASEN N., MINTHON L., DAVIDSSON P., et al. « Evaluation of CSF-tau and CSF-Abeta42 as diagnostic markers for Alzheimer disease in clinical practice ». *Archives of Neurology*, 2001, 58, 3, p. 373-379.
- [63] TAPIOLA T., OVERMYER M., LEHTOVIRTA M., et al. « The level of cerebrospinal fluid tau correlates with neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease ». *Neuroreport*, 1997, 8, 18, p. 3961-3963.
- [64] SJÖGREN M., VANDERSTICHELE H., AGREN H., et al. « Tau and Abeta42 in cerebrospinal fluid from healthy adults 21-93 years of age: establishment of reference values ». *Clinical Chemistry*, 2001, 47, 10, p. 1776-1781.
- [65] BLENNOW K., HAMPEL H. « CSF markers for incipient Alzheimer's disease ». *The Lancet Neurology*, 2003, 2, 10, p. 605-613.
- [66] WILTFANG J., ESSELMANN H., SMIRNOV A., et al. « Beta-amyloid peptides in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease ». *Annals of Neurology*, 2003, 54, 2, p. 263-267.

- [67] BLENNOW K., HAMPEL H., WEINER M., et al. « Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease ». *Nature Reviews Neurology*, 2010, 6, 3, p. 131-144.
- [68] OTTO M., WILTFANG J., TUMANI H., et al. « Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease ». *Neuroscience Letters* 1997, 225, 3, p. 210-212.
- [69] MOLLENHAUER B., BIBL M., TRENKWALDER C., et al. « Follow-up investigations in cerebrospinal fluid of patients with dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease ». *Journal of Neural Transmission*, 2005, 112, 7, p. 933-948.
- [70] HANSSON O., ZETTERBERG H., BUCHHAVE P., et al. « Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study ». *The Lancet Neurology*, 2006, 5, 3, p. 228-234.
- [71] HERUKKA S.-K., HALLIKAINEN M., SOININEN H., et al. « CSF Abeta42 and tau or phosphorylated tau and prediction of progressive mild cognitive impairment ». *Neurology*, 2005, 64, 7, p. 1294-1297.
- [72] HAMPEL H., BUERGER K., ZINKOWSKI R., et al. « Measurement of phosphorylated tau epitopes in the differential diagnosis of Alzheimer disease: a comparative cerebrospinal fluid study ». *Archives of General Psychiatry*, 2004, 61, 1, p. 95-102.
- [73] BUERGER K., ZINKOWSKI R., TEIPEL S. J., et al. « Differential diagnosis of Alzheimer disease with cerebrospinal fluid levels of tau protein phosphorylated at threonine 231 ». *Archives of Neurology*, 2002, 59, 8, p. 1267-1272.
- [74] STROZYK D., BLENNOW K., WHITE L. R., et al. « CSF Abeta 42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study ». *Neurology*, 2003, 60, 4, p. 652-656.
- [75] MOONIS M., SWEARER J. M., DAYAW M. P. E., et al. « Familial Alzheimer disease: decreases in CSF Abeta42 levels precede cognitive decline ». *Neurology*, 2005, 65, 2, p. 323-325.
- [76] SHAW L. M., VANDERSTICHELE H., KNAPIK-CZAJKA M., et al. « Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects ». *Annals of Neurology*, 2009, 65, 4, p. 403-413.
- [77] WILTFANG J., ESSELMANN H., BIBL M., 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 ». *Journal of Neurochemistry*, 2007, 101, 4, p. 1053-1059.
- [78] VANDERSTICHELE H., DE MEYER G., ANDREASEN N., et al. « Amino-truncated beta-amyloid42 peptides in cerebrospinal fluid and prediction of progression of mild cognitive impairment ». *Clinical Chemistry*, 2005, 51, 9, p. 1650-1660.

- [79] BLENNOW K., VANMECHELEN E., HAMPEL H. « CSF total tau, Abeta42 and phosphorylated tau protein as biomarkers for Alzheimer's disease ». *Molecular Neurobiology*, 2001, 24, 1-3, p. 87-97.
- [80] VANDERSTICHELE H., DE VREESE K., BLENNOW K., et al. « Analytical performance and clinical utility of the INNOTEST PHOSPHO-TAU181P assay for discrimination between Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies ». *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006, 44, 12, p. 1472-1480.
- [81] TAPIOLA T. « Cerebrospinal Fluid β -Amyloid 42 and Tau Proteins as Biomarkers of Alzheimer-Type Pathologic Changes in the Brain ». *Archives of Neurology*, 2009, 66, 3, p. 382.
- [82] MATTSSON N., ZETTERBERG H., HANSSON O., et al. « CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment ». *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 2009, 302, 4, p. 385-393.
- [83] RIEMENSCHNEIDER M., WAGENPFEIL S., DIEHL J., et al. « Tau and Abeta42 protein in CSF of patients with frontotemporal degeneration ». *Neurology*, 2002, 58, 11, p. 1622-1628.
- [84] GÓMEZ-TORTOSA E., GONZALO I., FANJUL S., et al. « Cerebrospinal fluid markers in dementia with lewy bodies compared with Alzheimer disease ». *Archives of Neurology*, 2003, 60, 9, p. 1218-1222.
- [85] FAGAN A. M., ROE C. M., XIONG C., et al. « Cerebrospinal fluid tau/beta-amyloid(42) ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults ». *Archives of neurology*, 2007, 64, 3, p. 343-349.
- [86] TAPIOLA T., ALAFUZOFF I., HERUKKA S. K., et al. « Cerebrospinal fluid beta-amyloid 42 and tau proteins as biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the brain ». *Archives of neurology*, 2009, 66, 3, p. 382.
- [87] WELGE V., FIEGE O., LEWCZUK P., et al. « Combined CSF tau, p-tau181 and amyloid- β 38/40/42 for diagnosing Alzheimer's disease ». *Journal of Neural Transmission*, 2009, 116, 2, p. 203-212.
- [88] SPIES P., SLATS D., SJÖGREN M., et al. « Cerebrospinal fluid amyloid beta40 and the amyloid beta42/40 ratio in differentiating Alzheimer's disease from other dementias ». *Alzheimer's and Dementia* 2009, 5, 4, p. P341-P342.
- [89] BIBL M., MOLLENHAUER B., ESSELMANN H., et al. « CSF diagnosis of Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies ». *Journal of Neural Transmission*, 2006, 113, 11, p. 1771-1778.
- [90] TABARAUD F., LEMAN J. P., MILOR A. M., et al. « Alzheimer CSF biomarkers in routine clinical setting ». *Acta Neurologica Scandinavica*, 2012, 125, 6, p. 416-423.
- [91] DIDIERLAURENT G. *Intérêt du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ dans l'interprétation du bilan biologique de la maladie d'Alzheimer chez 122 patients recrutés dans les centres mémoire lorrains*. [Thèse de médecine]. Nancy : Université de Nancy, 2011, 174p.

- [92] SEGUIN J. *Apport d'outils biologique pour la caractérisation de tauopathies en regard de diverses présentations cliniques de pathologies neurodégénératives*. [Thèse de doctorat d'université]. Lyon : Université de Lyon, 2011, 290p.
- [93] PAQUET C., LATOUR F., SAULNIER I., et al. « Multicenter study on lumbar puncture indication, clinical practice and feasibility ». *Revue Neurologique*, 2012, 168, 1, p. 28-32.
- [94] MATTSSON N., ANDREASSON U., PERSSON S., et al. « The Alzheimer's Association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers ». *Alzheimer's & Dementia*, 2011, 7, 4, p. 386-395.
- [95] VANDERSTICHELE H., BIBL M., ENGELBORGHS S., et al. « Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: A consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative ». *Alzheimer's and Dementia*, 2012, 8, 1, p. 65-73.
- [96] PERRET-LIAUDET A., PELPEL M., LEHMANN S., et al. « Sampling Tube, a Critical Factor in Alzheimer's Disease Biomarker Standardization ». *Alzheimer's & Dementia*, 2010, 6, 4, p. 44-45.
- [97] LEWCZUK P., BECK G., ESSELMANN H., et al. « Effect of sample collection tubes on cerebrospinal fluid concentrations of tau proteins and amyloid beta peptides ». *Clinical Chemistry*, 2006, 52, 2, p. 332-334.
- [98] HORT J., BARTOS A., PIRTILÄ T., et al. « Use of cerebrospinal fluid biomarkers in diagnosis of dementia across Europe ». *European Journal of Neurology*, 2010, 17, 1, p. 90-96.
- [99] HANSSON O., ZETTERBERG H., VANMECHELEN E., et al. « Evaluation of plasma A β 40 and A β 42 as predictors of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment ». *Neurobiology of Aging*, 2010, 31, 3, p. 357-367.
- [100] ARVANITAKIS Z., LUCAS J. A., YOUNKIN L. H., et al. « Serum creatinine levels correlate with plasma amyloid Beta protein ». *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 2002, 16, 3, p. 187-190.
- [101] LOPEZ O. L., KULLER L. H., MEHTA P. D., et al. « Plasma amyloid levels and the risk of AD in normal subjects in the Cardiovascular Health Study ». *Neurology*, 2008, 70, 19, p. 1664-1671.
- [102] MALAPLATE-ARMAND C., DESBENE C., PILLOT T., et al. « Diagnostic biologique de la maladie d'Alzheimer : avancées, limites et perspectives ». *Revue Neurologique*, 2009, 165, 6-7, p. 511-520.
- [103] KESTER, MAARTJE I., BOELAARTS L., BOUWMAN, FEMKE H., et al. « Diagnostic impact of CSF biomarkers in a local hospital memory clinic ». *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 2010, 29, 6, p. 491-497.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1

Critères diagnostiques de la démence de type Alzheimer selon les critères du DSM-IV-TR

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

1. une altération de la mémoire (altération de la capacité à apprendre des informations nouvelles ou à se rappeler les informations apprises antérieurement) ;

2. une (ou plusieurs) des perturbations cognitives suivantes :

a) aphasie (perturbation du langage)

b) apraxie (altération de la capacité à réaliser une activité motrice malgré des fonctions motrices intactes)

c) agnosie (impossibilité de reconnaître ou d'identifier des objets malgré des fonctions sensorielles intactes)

d) perturbation des fonctions exécutives (faire des projets, organiser, ordonner dans le temps, avoir une pensée abstraite).

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

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

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

1. à d'autres affections du système nerveux central qui peuvent entraîner des déficits progressifs de la mémoire et du fonctionnement cognitif (par exemple : maladie cérébrovasculaire, maladie de Parkinson, maladie de Huntington, hématome sous-dural, hydrocéphalie à pression normale, tumeur cérébrale) ;

2. à des affections générales pouvant entraîner une démence (par exemple : hypothyroïdie, carence en vitamine B12 ou en folates, pellagre, hypercalcémie, neurosyphilis, infection par le VIH) ;

3. à des affections induites par une substance.

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

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

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

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

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

Préciser le sous-type :

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

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

Annexe 2

Critères diagnostiques de la Maladie d'Alzheimer selon les critères de la NINCDS-ADRDA d'après McKhann et al. 1984

1-Critères de maladie d'Alzheimer probable:

- Syndrome démentiel établi sur des bases cliniques et documenté par le Mini-Mental State, le Blessed Dementia Scale, ou tout autre test équivalent et confirmé par des épreuves neuropsychologiques
- Déficiences 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 et

-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

- | | | |
|-----|----|--------------------------|
| 14. | 93 | <input type="checkbox"/> |
| 15. | 86 | <input type="checkbox"/> |
| 16. | 79 | <input type="checkbox"/> |
| 17. | 72 | <input type="checkbox"/> |
| 18. | 65 | <input type="checkbox"/> |

Pour tous les sujets, même pour ceux qui ont obtenu le maximum de points, demander :

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

Rappel

/ 3

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

- | | | | | | |
|------------|--------|----------|--------------------------|--------|--------------------------|
| 11. Cigare | Citron | Fauteuil | <input type="checkbox"/> | | |
| 12. Fleur | ou | Clé | ou | Tulipe | <input type="checkbox"/> |
| 13. Porte | Ballon | Canard | <input type="checkbox"/> | | |

Langage

/ 8

Montrer un crayon. 22. Quel est le nom de cet objet ?*

Montrer votre montre. 23. Quel est le nom de cet objet ?**

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

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

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

26. Pliez-la en deux,

27. Et jetez-la par terre. »****

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

28. « Faites ce qui est écrit ».

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

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

Praxies constructives

/ 1

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

Annexe 4

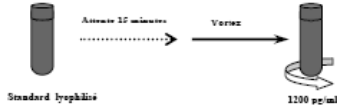
INNOTEST™ hTAU Ag

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

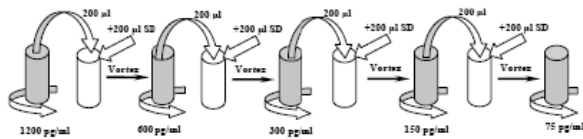
Solution de Lavage: 1 barrette (8 puits)	12 barrettes (96 puits)
WS (conc.)	5 ml / 60 ml
Eau Dist.	120 ml / 1440 ml

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.

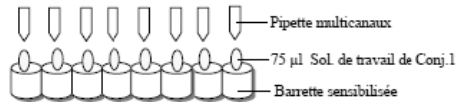


- Note : Un Standard à 450pg/ml (120µl de 1200pg/ml +200µl SD) peut être ajouté.
- Un Blanc (0 pg/ml = Diluant Echantillon) doit être inclus à chaque série de tests.

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.



INNOTEST™ hTAU Ag (suite)

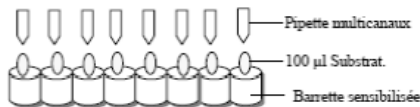
Préparation de la Solution Substrat à la fin de l'incubation du Conjugué:

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

Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- 4 X
- 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

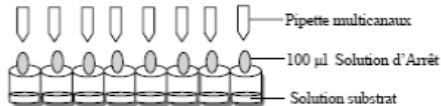
Distribuer 100 µl de Substrat dans les puits.



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

Arrêt de la réaction :

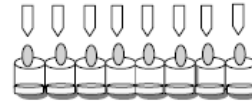
- Ajouter 100 µl de Solution d'Arrêt à chaque puits



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

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)

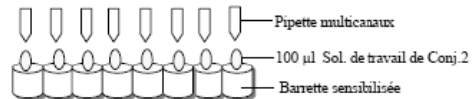
Préparation de la Solution de travail de Conjugué 2 à la fin de l'incubation des échantillons :

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

Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- 4 X
- 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)

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.

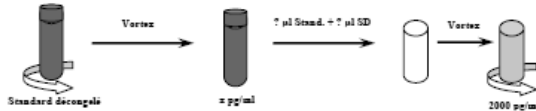
Annexe 5

INNOTEST™ β-AMYLOID₍₁₋₄₂₎

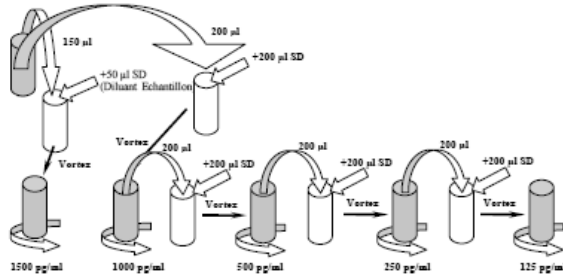
Ramener tous les composants, **sauf le Standard**, à température ambiante (18-30°C)

Solution de Lavage: 1 barrette (8 puits)	12 barrettes (96 puits)
WS (conc.)	5 ml / 60 ml
Eau Dist.	120 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 Standard :
- Calculer le facteur de dilution nécessaire à la préparation, à partir du Standard décongelé, d'un Standard tiré 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.



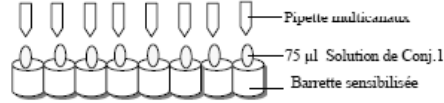
- Partir du Standard à 2000pg/ml pour préparer les autres Standards.



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

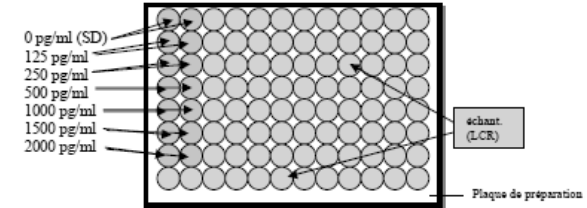
Préparation de la Solution de travail de Conjugué 1 :

- 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.



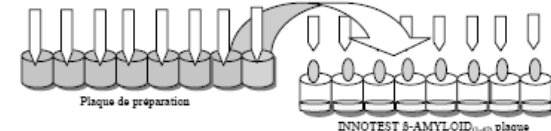
Plaque de préparation : lorsque plus de 6 barrettes sont à tester, distribuer d'abord ± 40 µl de Standards et d'échantillons dans une microplaque (non sensibilisée) en polypropylène. Transférer 25 µl de Standards/Echantillons de cette plaque vers la plaque INNOTEST β-AMYLOID₍₁₋₄₂₎. Ceci minimise une 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)

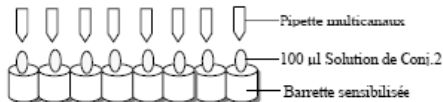
Préparation de la Solution de travail de Conjugué 2 à la fin de l'incubation des échantillons :

- 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

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)

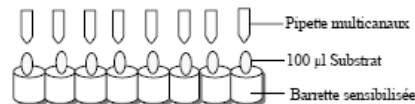
Préparation de la Solution Substrat à la fin de l'incubation du Conjugué :

- 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

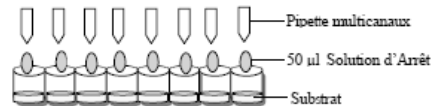
Distribuer 100 µl de Solution Substrat dans les puits



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



DNOGENETICS FRANCE
Tel +33 1 49 93 26 18

Annexe 6

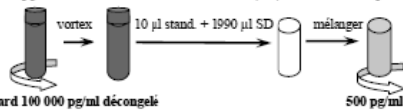
INNOTEST™ PHOSPHO-TAU_(181P)

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

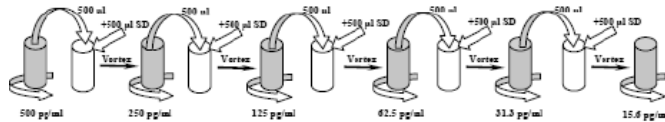
Solution de Lavage: 1 barrette (8 puits)	12 barrettes (96 puits)
WS (conc.) 5 ml	60 ml
Eau Distillée 120 ml	1440 ml

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:

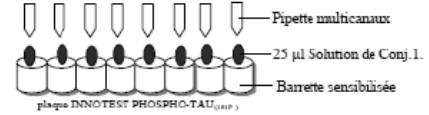


- Un Blanc (0 pg/ml = Diluant Echantillon) doit être inclus à chaque série de tests.

Préparation de la solution de travail de Conjugué 1 :

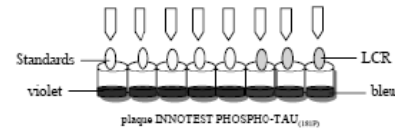
- Diluer le Conjugué 1 concentré 100x avec le Diluant Conjugué 1 (coloration violette).

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)

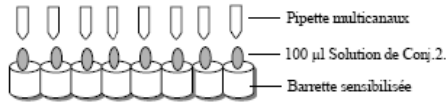
Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- 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 @ A TEMPERATURE AMBIANTE (18 - 30°C)

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

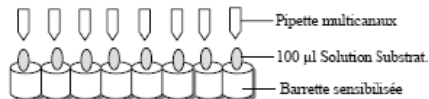
- Diluer le TMB concentré 100x avec le Tampon Substrat.

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

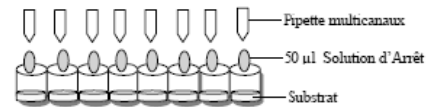
Distribuer 100 µl de Solution Substrat dans les puits.



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

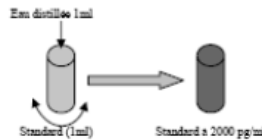
Annexe 7

ELISA HUMAN AMYLOID (1-40) (N)

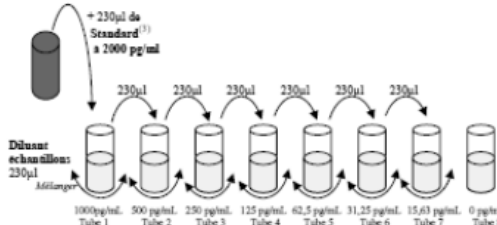
Ramener tous les composants à température ambiante (18-30°C) environ 30 minutes avant utilisation.

Solution de Lavage:	12 barrettes (96 puits)	6 barrettes	3 barrettes
WS (concentrée) (5)	50 ml	25 ml	12 ml
Eau Dist.	1950 ml	975ml	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.

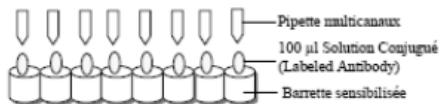


- Un Blanc (0 pg/ml = Diluant EIA Buffer (4)) doit être inclus à chaque série de tests.

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 (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

- 9 X
- 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

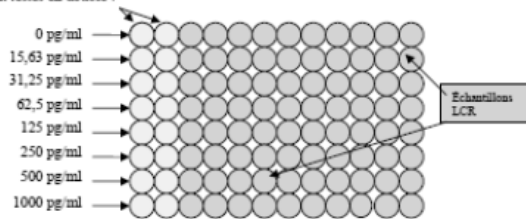
Distribuer 100 µl de Solution Substrat (Chromogen (6)): TMB solution) dans les puits



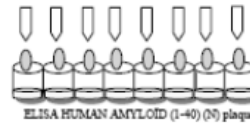
INCUBATION : 30 MIN ⌚ AU NOIR A TEMPERATURE AMBIANTE (18 - 30°C)
→ la couleur vire au bleu au contact du Substrat

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

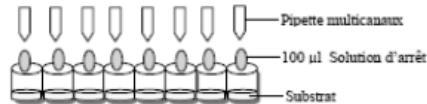
Procédure de Lavage : automatique et manuelle

- 7 X
- Diluer la quantité nécessaire de solution de lavage concentrée (5) 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

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.

TABLE DES FIGURES

Figure 1: Evolution du nombre de cas de démences en France et en Europe jusqu'en 2050 ..	24
Figure 2: Clivage de la protéine APP et formation du peptide A β	28
Figure 3: Représentation schématique des changements conduisant à l'agrégation des protéines Tau dans la MA.	30
Figure 4 : Chemin séquentiel et hiérarchisé de la DNF	32
Figure 5 : Coupe de tissu cérébral (cortex temporal) d'un patient atteint de MA.....	32
Figure 6 : Hypothèse de la cascade amyloïde : les altérations génétiques sur le métabolisme du peptide A β considérées comme <i>primum movens</i> de la MA	33
Figure 7 : Chronologie des altérations cliniques et des biomarqueurs dans la MA.....	38
Figure 8: Protéine T-Tau comme biomarqueur de la MA.....	49
Figure 9 : P-Tau dans le diagnostic de la MA.....	50
Figure 10 : A β 1-42 dans le diagnostic de la MA	51
Figure 11 : Spectre de masse des formes majoritaires d'A β retrouvées dans le LCR	52
Figure 12 : Représentation graphique du IATI associé à la P-Tau.	53
Figure 13: Représentation graphique du ratio A β 1-42/P-Tau181 associé à la protéine Tau. ...	54
Figure 14 : Représentation graphique de l'A β 1-40 en fonction de l'A β 1-42 et ligne seuil du ratio A β 1-42/A β 1-40 (INNOGENETICS®).....	55
Figure 15 : Représentation graphique du IATI associé à la P-Tau.	62
Figure 16 : Dosage de la protéine T-Tau avec le kit ELISA (INNOTEST®hTAU Ag)	65
Figure 17 : Dosage de l' A β 1-42 avec le kit INNOTEST® β -AMYLOID (1-42).....	65
Figure 18 : Dosage de la P-Tau avec le kit INNOTEST® PHOSPHO-TAU (181P)	66
Figure 19 : Représentation graphique d'une « boîte à moustache »	71
Figure 20 : Concentrations (médianes et quartiles) en protéines T-Tau, P-Tau et A β 1-42 dans les LCR des patients atteints de MA, d'autres démences (AD), de MCI et de ceux sans processus neurodégénératif (ND).....	72
Figure 21 : Valeurs (médianes et quartiles) du IATI et du ratio A β 1-42/P-Tau entre les patients atteints de MA, ceux atteints d'autres démences (AD), les patients MCI et ceux sans processus neurodégénératif (ND).....	73
Figure 22 : Courbes de ROC des 3 biomarqueurs pour le diagnostic de MA par rapport aux patients sans processus neuro-dégénératifs.	76
Figure 23 : Courbes de ROC des 3 biomarqueurs pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA et les patients atteints d'autres démences.....	78

Figure 24 : Courbes de ROC du IATI et du ratio $A\beta 1-42/P\text{-Tau}$ pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA de ceux ne présentant pas de processus neurodégénératif... 80	80
Figure 25 : Courbes de ROC du IATI et du ratio $A\beta 1-42/P\text{-Tau}$ pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA de ceux atteints d'autres démences..... 81	81
Figure 26 : Courbes de ROC du IATI et du ratio $A\beta 1-42/P\text{-Tau}$ associés à la P-Tau pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA de ceux sans processus neurodégénératif..... 82	82
Figure 27 : Courbes de ROC des combinaisons de marqueurs pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA et les patients atteints d'autres démences. 83	83
Figure 28 : Répartition des conclusions biologiques selon le IATI associé à la P-Tau dans notre échantillon de 312 patients..... 83	83
Figure 29 : Représentation graphique du IATI associé à la P-Tau. 84	84
Figure 30 : Répartition des conclusions biologiques selon le ratio $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ associé à la P-Tau. 85	85
Figure 31 : Courbes de ROC du ratio $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ pour le diagnostic différentiel entre les patients atteints de MA et d'autres démences et sans processus neurodégénératif..... 87	87
Figure 32 : Courbes de ROC de la combinaison de marqueurs $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ associé à la P-Tau pour le diagnostic de la MA. 88	88
Figure 33 : Comparaison des courbes de ROC $A\beta 1-42/A\beta 1-40$ <i>versus</i> $A\beta 1-42$ seule pour différencier les patients MA des patients ND et AD sur les 58 échantillons discordants..... 89	89
Figure 34 : Représentation graphique de l'étude. 91	91

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Prévalence de la MA (%) en fonction de l'âge et du sexe selon différentes études	26
Tableau 2 : Critères du mild cognitive impairment intégrant les biomarqueurs de la MA.....	35
Tableau 3 : Résumé des variations des biomarqueurs du LCR en fonction de la pathologie ..	52
Tableau 4: Détermination des seuils optimaux d'après les courbes de ROC . Sensibilité et spécificité des biomarqueurs établies par l'analyse neuropathologique des cerveaux.....	54
Tableau 5: Synthèse d'études concernant les sensibilités et les spécificités du ratio A β 1-42/A β 1-40.....	55
Tableau 6 : Résumé des recommandations de l'ABSI sur les aspects préanalytiques et analytiques pour la recherche des biomarqueurs de la MA dans le LCR.....	56
Tableau 7 : Médianes et intervalles interquartiles des concentrations de T-Tau, P-Tau, A β 1-42, des IATI, du ratio A β 1-42/P-Tau et des MMS selon les différents groupes de patients : .	70
Tableau 8 : Performances et valeurs seuils expérimentales pour les protéines T-Tau, P-Tau et A β 1-42.....	76
Tableau 9 : Performances à partir des valeurs seuils du fabricant.	77
Tableau 10 : Performances des protéines T-Tau, P-Tau et A β 1-42 pour les valeurs seuils expérimentales et du fabricant.....	79
Tableau 11 : Performances du IATI et du ratio A β 1-42/P-tau pour les valeurs seuils expérimentales et du fabricant.....	80
Tableau 12 : Performances du IATI et du ratio A β 1-42/P-tau pour les valeurs seuils expérimentales et du fabricant.....	81
Tableau 13 : Confrontation des profils atypiques initiaux aux conclusions biologiques finales.	86
Tableau 14 : Confrontation des conclusions biologiques finales aux diagnostics cliniques initiaux.....	87
Tableau 15 : Performances et valeurs seuils expérimentales du ratio A β 1-42/ A β 1-40 dans la distinction des patients atteints de MA et des patients sans processus neurodégénératif.	88

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Laure GUINDRE – Etude de la pertinence du diagnostic biologique de la Maladie d’Alzheimer partir de l’expérience du CHU DUPUYTREN. Apport du dosage du peptide A β 1-40 – Thèse : méd. ; Limoges ; 2013.

RESUME : Les biomarqueurs de neurodégénérescence du LCR (protéine Tau, protéine Tau phosphorylée et peptide A β 1-42) représentent une avancée majeure dans le diagnostic de la maladie d’Alzheimer.

L’objectif de notre étude était de valider la performance diagnostique de ces biomarqueurs dosés en routine au laboratoire de Biochimie du CHU de Limoges. Cependant, une discordance entre les dosages du peptide A β 1-42 et de la protéine Tau phosphorylée rend l’interprétation des résultats difficile. Dans le cas de ces profils biologiques atypiques nous avons apprécié l’apport du dosage de l’A β 1-40, peptide reflétant la charge amyloïde totale du patient. Enfin nous avons évalué l’impact des résultats biologiques sur le diagnostic clinique établi par le praticien.

Conformément à la littérature, dans notre étude, l’association des trois biomarqueurs offrent les meilleures sensibilités et spécificités pour le diagnostic de la maladie d’Alzheimer. Cependant pour un tiers des résultats nous ne pouvions pas conclure biologiquement. Dans ce cas le dosage de l’A β 1-40 et le calcul du ratio A β 1-42/A β 1-40 a permis d’apporter une conclusion pour 61% des profils biologiques discordants avec une spécificité de 100%. Notre étude a également montré que conformément aux dernières recommandations, les biomarqueurs sont principalement prescrits en cas de doute diagnostique notamment face à des présentations atypiques de la maladie. De surcroît, nos conclusions biologiques sont parfaitement intégrées à celles du clinicien dans la confirmation ou l’élimination du diagnostic pour ses patients.

MOTS CLES : biomarqueurs, maladie d’Alzheimer, protéine Tau, protéine P-Tau, peptide A β 1-42, ratio A β 1-42/A β 1-40

TITLE

Study of the biological diagnosis relevance and the A β 1-40 peptide contribution in the Alzheimer's disease from the Dupuytren University Hospital Center experience

SUMMARY

The CSF biomarkers of neurodegeneration (Tau, phosphorylated Tau and A β 1-42 proteins) represent a major advance in the Alzheimer’s disease diagnosis.

The aim of this study consists in validating the diagnostic performance of these biomarkers which are oftently measured in the biochemistry laboratory of the University Hospital Center of Limoges. However, a discordance between the assays of the A β 1-42 peptide and phosphorylated Tau protein makes interpretation difficult. Concerning these atypical biological profiles, we have appreciated the contribution of the determination of the A β 1-40 peptide which reflects the total amyloid load of the patient. Finally we have evaluated the impact of biological results on the clinical diagnosis established by the clinician.

According to the literature, in this study, the combination of three biomarkers offers the best sensitivity and specificity for the Alzheimer’s disease diagnosis. However we can not conclude biologically for a third of results. In this case the determination of the A β 1-40 peptide and the calculation of the A β 1-42/A β 1-40 ratio have allowed conclusion for 61% of the discordant biological profiles with a specificity of 100%. This study has also shown that, in accordance with the latest recommendations, biomarkers are mainly prescribed in case of doubtful diagnosis, especially those presenting atypical profiles of the disease. Furthermore, our biological conclusions are perfectly integrated by the clinician who can confirmed or eliminated the diagnosis for his patients.

KEY WORDS : biomarkers, Alzheimer’s disease, Tau protein, P-Tau protein, A β 1-42 peptide, A β 1-42/A β 1-40 ratio.