

Maladie d'Alzheimer : les marqueurs biologiques du diagnostic précoce et différentiel

ARMAND
PERRET-LIAUDET

En 1906, Aloïs Alzheimer décrit pour la première fois les lésions neuropathologiques caractéristiques de cette démence à partir du cerveau d'une jeune patiente de 51 ans, à savoir :
- des plaques séniles (PS) appelées encore plaques amyloïdes riches en protéines amyloïdes
- des dégénérescences neurofibrillaires (DNF) formées d'amas de fibrilles riches en protéines Tau

Cette démence pré-sénile fut dénommée en 1912 «Maladie d'Alzheimer» en opposition à la démence sénile. Les dénominations démences séniles ou préséniles n'ont plus cours aujourd'hui.

La démence d'Alzheimer représente environ 80% des cas de démences (1). Actuellement, le diagnostic étiologique en France et dans les pays industrialisés n'est porté que dans 2/3 des cas et seulement 30% des patients bénéficient d'un traitement adéquat.

Le nombre de cas de démences en France serait environ de 1 million, soit 10% en Région Rhône Alpes. L'incidence de la MA est dépendante de l'âge avec environ 4 cas pour mille avant 75 ans et 60 cas au-delà de 90 ans. On estime qu'en 2050, le nombre de malades Alzheimer âgés de plus de 75 ans aura triplé (2). Dans le monde, le nombre de malades pourrait passer de 24 millions actuellement à 42 millions en 2020 et 81 millions en 2040, selon de récentes estimations (3). En Tunisie, d'après une étude initiée en 2002 par l'Institut National de Santé, 3,7% des plus de 65 ans seraient atteints de MA. Bien que ce soit un pays à l'âge médian encore jeune, le recul de la mortalité générale et infantile associé à une diminution très nette de l'indice de fécondité ces trente dernières années ont fait rentrer la Tunisie dans le dernier stade de la transition démographique caractérisé par un vieillissement rapide de la population (4). En effet, d'après les données de l'institut National de Statistique, la proportion des plus de 60 ans a doublé de 1966 à 1999 (9% de la population totale) et devrait passer à 18% en 2030.

Ainsi, la Tunisie ne sera pas épargnée par l'explosion du nombre de patients atteints ce qui constitue un problème de santé majeur.

Les critères de diagnostic cliniques d'une démence sont donnés dans la classification DSM version IV (1994-2000). On parle de démence quand se développe un déficit progressif cognitif multiple conduisant à une perte d'autonomie : la mémoire et un autre symptôme (aphasie, apraxie, agnosie ou dysfonctionnement exécutif). Ce déficit entraîne un retrait de la vie professionnelle et l'apparition d'un dysfonctionnement social.

La MA est une maladie dégénérative progressive affectant les fonctions cognitives et comportementales conduisant à une démence. Il existe des formes génétiques représentant 2 à 3% des formes totales, impliquant des mutations du gène codant la protéine amyloïde, la protéine préséniline. Les formes sporadiques touchent le sujet plus âgé et présentent des variabilités cliniques.

Service de Neurobiologie.
CBPE - Groupement
Hospitalier Est - Hôpitaux
de Lyon

Nous sommes confrontés à un problème de sous diagnostic du fait :

- d'un manque de spécificité vis-à-vis d'autres états démentiels (démences non neurodégénératives, Démence à corps de Lewy (DCL), Démences fronto-temporales (DFT),

Maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ)... conduisant à une prise en charge souvent inadéquate,

- d'un manque de sensibilité entraînant un diagnostic tardif de la MA et conduisant donc à une prise en charge très lourde de ces patients, supportée par les familles et par la société.

Le diagnostic de certitude est encore porté par l'étude neuropathologique du cerveau après autopsie. Du vivant du patient, le diagnostic de probabilité est assuré par des marqueurs cliniques, et il est proposé depuis l'année dernière d'y associer des marqueurs neuropsychologiques, de l'imagerie et des marqueurs biologiques.

Diagnostic clinique de la MA

L'année dernière, il a été proposé par un groupe international de redéfinir les critères de diagnostic cliniques notamment pour détecter les formes précoces et assurer une prise en charge adéquate du patient (5).

Ainsi, les formes débutantes anciennement nommées «MCI» pour «Mild Cognitive Impairment» sont appelées prédémença de la MA.

Le critère majeur retenu par le Pr Dubois est la présence d'un trouble de la mémoire épisodique, observé par le patient ou ses proches depuis plus de 6 mois et confirmé par des tests de mémoire qui montrent un syndrome amnésique de type hippocampique. Ce déficit se traduit par "l'incapacité à transformer une information perçue en trace mnésique".

Evaluation clinique et neuropsychologique de la MA

L'évaluation débute par un entretien en présence du patient et d'un aidant généralement appartenant à la famille afin de confronter entre le vécu du patient et celui de la famille. Le patient est ensuite interrogé sur ses habitudes de vie. Plusieurs tests peuvent être réalisés.

Le Mini mental Score (MMS) est systématiquement réalisé pour des patients qui sont encore capables de le faire. Ce test n'est pas un test de diagnostic de la MA ; il permet d'évaluer sur une échelle de 30 la sévérité de la démence en évaluant sa désorientation spatio-temporelle, sa capacité de calcul et de l'attention, la présence

d'une aphasie, sa capacité de construction verbale...

Une batterie de tests neuropsychologiques va pouvoir amener le diagnostic dans une bonne proportion des patients. Parmi les différents tests, citons, le Trail Making Test, le Stroop test, l'Empan Digital Test et surtout le test de rappel des mots selon le paradigme de Grober et Buschke. Ce dernier test permet de différencier très précocement une MA d'une autre démence (démence fronto-temporale). La mise en œuvre de ces tests demande une demi-journée par patient.

Apport de l'imagerie pour le diagnostic de la MA

L'IRM permet de mettre en évidence l'atrophie hippocampique, critère secondaire proposé par le groupe international. De plus, il permet d'éliminer d'autres étiologies pouvant être responsables de la démence, comme, l'hydrocéphalie à pression normale, les lésions vasculaires...

De même, la mise en évidence d'un métabolisme et d'une perfusion réduits dans les régions temporale et pariétale du cerveau, par neuroimagerie fonctionnelle (PET/SPECT) a été également proposée comme nouveau critère de diagnostic (5).

Apport de la biologie pour le Diagnostic de la MA

Les mesures des concentrations céphalorachidiennes des protéines Tau (TAU), Tau anormalement phosphorylée (P-TAU en 181, 231...) et de la protéine beta amyloïde 1-42 (AB 42) sont depuis l'année dernière proposées comme critères de diagnostic (5).

Ces marqueurs ont été développés à partir des lésions principales neuropathologiques caractéristiques de la MA : les protéines TAU et P-TAU reflètent les dégénérescences neuro-fibrillaires (DNF) (6) et la protéine AB 42 la présence de plaques séniles (7). Classiquement, dans la MA, les concentrations dans le LCR de la protéine AB 42 sont diminuées, celles des protéines TAU et P-TAU sont anormalement augmentées (8). Pour la protéine TAU, pour une spécificité fixée à 90% vis-à-vis de contrôles normaux, on retrouve une sensibilité supérieure à

de 80% pour le diagnostic de MA. La valeur diagnostique de l'AB 42 est similaire alors que pour les P-TAU, la sensibilité semble un peu plus élevée (90%) (9).

Pour le diagnostic précoce, ces marqueurs permettent de détecter les patients présentant une prédémençe au moins 5 ans avant la survenue de la démence avec une sensibilité et spécificité environ de 90% (10). Chez des patients présentant une démence modérée (MMS > 23), la sensibilité de ces marqueurs est équivalente à celle trouvée à des stades plus graves. La sensibilité de ces marqueurs est aussi influencée par le phénotype de la maladie : ces marqueurs permettraient de discriminer les différents phénotypes cliniques (11).

Pour le diagnostic différentiel, ces marqueurs permettent de différencier facilement une MA de démences d'origine carencielle, éthylique, vasculaires ou de syndromes psychiatriques (12).

La DCL est le diagnostic clinique le plus difficile avec la MA. Il n'existe finalement que très peu de corrélation entre la clinique et la neuropathologie de cette alpha synucléopathie ayant des plaques séniles et parfois des DNF. L'AB 42 et la protéine TAU sont peu discriminantes alors que la protéine P-TAU permettrait de donner une spécificité supérieure à 80% (13,14).

Les DFT restent un problème de diagnostic différentiel avec la MA touchant des patients jeunes d'autant plus important que le traitement par des anti cholinestérases n'est pas indiqué dans les DFT. La normalité de TAU et P-TAU chez les patients DFT permet de les discriminer des patients MA avec une bonne spécificité [résultats propres].

Enfin, le problème de diagnostic entre MA et MCJ n'est pas si facile quand la MA se présente sous un tableau anormalement rapide et brutal ou que la durée d'évolution de la MCJ est anormalement longue. L'addition des protéines TAU et P-TAU à la protéine p 14.3.3 permet d'améliorer significativement le diagnostic différentiel important entre ces deux pathologies : la P-TAU est généralement normale dans la MCJ alors que la TAU est significativement beaucoup plus élevée dans la MCJ que dans la MA, un cutoff à 1500 pg/ml ayant été décrit comme sensible et spécifique à 95% (15).

La protéine AB 42 ne semble pas discriminante.

Les différentes études publiées ne semblent pas permettre d'isoler de marqueur isolé idéal que ce soit pour le diagnostic précoce ou pour le diagnostic différentiel. L'ensemble des équipes semblent s'entendre sur le fait d'associer ces marqueurs pour arriver à augmenter sensibilité et spécificité. Pour le diagnostic de MA, plusieurs rapports ont été proposés : la société Innogenetics propose le ratio IATI (Innogenetics Amyloid Tau Index) combinant les valeurs de TAU et de AB42 et une proposition diagnostique individuelle en répartissant le patient en 4 secteurs fonction des valeurs du IATI en ordonnée et de P-TAU en abscisse. Pour le diagnostic précoce, il a été récemment démontré l'intérêt d'utiliser un rapport utilisant AB 42 et TAU ou P-TAU (le meilleur restant à déterminer) pour prédire les patients avec plainte mnésique allant évoluer vers une MA [Hansson 2006]. Par ailleurs, pour différencier MCJ de MA, le rapport TAU / P-TAU permettrait d'augmenter la spécificité par rapport aux valeurs isolées et comprises dans des valeurs autour du cutoff de 1500 pg/ml.

Concernant le diagnostic différentiel, nous présentons nos résultats partiels obtenus au cours d'une étude financée par un Projet Hospitalier de Recherche Clinique et relayé par un projet de recherche européen FP6 «Neuroscreen».

Dans le LCR, il ne semble pas y avoir de modifications significatives des concentrations de ces marqueurs en fonction de l'évolution clinique au décours de la MA même si la concentration TAU a pu être corrélée à l'atrophie hippocampique.

Perspectives pour le diagnostic biologique

Du fait du geste invasif de la ponction lombaire, seules les formes cliniques atypiques ou les patients jeunes bénéficient de ces marqueurs en complément des tests neuropsychologiques. Cependant, le développement du dosage de l'alpha synucléine permettrait d'améliorer la spécificité du diagnostic différentiel entre MA et DCL et démences parkinsoniennes (17).

Pour développer un marqueur sanguin, il faut résoudre deux écueils majeurs : perte de sensibilité et pollution par des marqueurs plus ou moins neurospécifiques.

Le dosage isolé de l'AB 42 ne semble pas présenter d'intérêt dans le diagnostic (18) alors que le ratio AB 40

sur AB 42 est en cours d'évaluation. Récemment, des travaux laissent entrevoir le potentiel diagnostique de la MA d'un panel de marqueurs de type cytokines inflammatoires et proinflammatoires (19), et l'intérêt du dosage de dimères d'alpha synucléine pour le diagnostic d'alpha synucléopathies. Enfin, tout reste ouvert pour les autres marqueurs TAU et Alpha synucléine notamment, axe prioritaire pour notre laboratoire.

References

- 1- Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2006; 368: 387-403.
- 2- Helmer C, Pasquier F, Dartigues JF. Epidemiology of Alzheimer disease 506 and related disorders. *Med Sci (Paris)* 2006;22:288-96.
- 3- Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Scazufca M. Global prevalence of dementia : a Delphi consensus study. *Lancet*. 2005 ; 366 : 2112-7.
- 4- Ben Brahim A. Transition des structures par âge et vieillissement en Tunisie. *Séminaires du CICRED*. Paris, February 23rd-26th, 2004
- 5- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, Meguro K, O'Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease : revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*. 2007 ; 6 : 734-46.
- 6- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci US A*. 1986; 83: 4913-7.
- 7- Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease : initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1984;120 : 885-90.
- 8- Andreasen N, Minthon L, Davidsson P, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Winblad B, et al. Evaluation of CSF-tau and CSF-Abeta42 as diagnostic markers for Alzheimer disease in clinical practice. *Arch Neurol* 562 2001;58:373-9.
- 9- Blennow K. Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *Neurox*. 2004. 1. 214-225.
- 10- Herukka SK, Helisalmi S, Hallikainen M, Tervo S, Soininen H, Pirttila T. CSF A₄₂, Tau and phosphorylated Tau, APOE epsilon4 allele and MCI type in progressive MCI. *Neurobiol Aging*. 2007; 28:507-14.
- 11- Iqbal K, Flory M, Khatoon S, Soininen H, Pirttila T, Lehtovirta M, Alafuzoff I, Blennow K, Andreasen N, Vanmechelen E, Grundke-Iqbal I. Subgroups of Alzheimer's disease based on cerebrospinal fluid molecular markers. *Ann Neurol*. 2005 Nov;58(5):748-57.
- 12- Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2003 Oct;2(10) : 605-13
- 13- Mollenhauer B, Bibl M, Wiltfang J, Steinacker P, Ciesielczyk B, Neubert K, Trenkwalder C, Otto M. Total tau protein, phosphorylated tau (181p) protein, _-amyloid(1-42),and _-amyloid(1-40) in cerebrospinal fluid of patients with dementia with Lewy bodies. *Clin Chem Lab Med*. 2006; 44: 192-5.
- 14- Vanderstichele H, De Vreese K, Blennow K, Andreasen N, Sindic C, Ivanoiu A, 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;44:1472-80.
- 15- Otto M, Wiltfang J, Tumani H, Zerr I, Lantsch M, Kornhuber J, et al. Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 1997;225: 210-2.
- 16- Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment : a follow-up study. *Lancet Neurol*. 2006 ; 5 : 228-34.
- 17- El-Agnaf OM, Salem SA, Paleologou KE, Curran MD, Gibson MJ, Court JA, et al. Detection of oligomeric forms of alpha-synuclein protein in human plasma as a potential biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J* 2006;20:419-25.
- 18- Freeman SH, Raju S, Hyman BT, Frosch MP, Irizarry MC. Plasma A₄₂ levels do not reflect brain A₄₂ levels. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007; 66: 264-71.
- 19- Ray S, Britschgi M, Herbert C, Takeda-Uchimura Y, Boxer A, Blennow K, Friedman LF, Galasko DR, Jutel M, Karydas A, Kaye JA, Leszek J, Miller BL, Minthon L, Quinn JF, Rabinovici GD, Robinson WH, Sabbagh MN, So YT, Sparks DL, Tabaton M, Tinklenberg J, Yesavage JA, Tibshirani R, Wyss-Coray T. Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nat Med*. 2007; 13: 1359-62.