

Diagnostic biologique de la maladie d'Alzheimer : apport des biomarqueurs du liquide céphalorachidien

CSF biomarkers and biological diagnosis of Alzheimer's disease

M. Sarazin*, F. Lamari**, L. Cruz de Souza*

L'approche diagnostique de la maladie d'Alzheimer (MA) repose avant tout sur sa présentation phénotypique, définie principalement par une amnésie progressive et sévère due à l'atteinte des régions temporales internes. L'aggravation des symptômes conduit à une démence de type cortical, et suit la progression des lésions neurofibrillaires (stades entorhinal, limbique puis isocortical) [1]. L'examen neuropsychologique, l'IRM cérébrale et les imageries de médecine nucléaire, tomoscintigraphie (SPECT) ou tomographie par émission de positrons au fluorodésoxyglucose (TEP au FDG), permettent de définir un profil syndromique indicateur d'une topographie lésionnelle, et ainsi d'un diagnostic. Comme pour toute maladie neurodégénérative (en dehors des maladies génétiques), c'est donc avant tout sur le raisonnement clinico-topographique que repose le diagnostic.

Une petite révolution s'est pourtant produite ces dernières années dans la démarche diagnostique de la MA : en complément de l'approche phénotypique (neuropsychologie, imagerie) sont apparus des outils offrant des informations sur le processus lésionnel neuropathologique sous-jacent. Il s'agit, d'une part, de la biologie, qui permet le dosage des peptides amyloïdes et des protéines tau totales et hyperphosphorylées dans le liquide céphalorachidien (LCR) [2], et, d'autre part, de l'imagerie cérébrale en TEP, qui permet l'analyse du dépôt amyloïde fibrillaire intracérébral. Il est alors devenu possible de confronter, in vivo, le diagnostic clinique avec le processus lésionnel. Même si ces outils physiopathologiques ont leurs limites, ils ont modifié le raisonnement diagnostique,

ouvert la porte à de nouveaux critères de diagnostic de la maladie et permis de développer un champ nouveau de la recherche clinique.

Nous réserverons ainsi cet article à l'analyse des biomarqueurs du LCR, ce test biologique étant accessible à la pratique clinique.

Ce que l'on attend d'un marqueur biologique

(D'après la conférence de consensus du Working Group on Molecular and Biochemical Measures, 1998)

Un marqueur biologique, qui a la capacité de détecter un processus lésionnel neuropathologique fondamentalement associé à la maladie, doit :

- être validé par des études autopsiques (neuropathologiques) ;
- avoir une sensibilité supérieure ou égale à 80 % pour dépister la MA par rapport à des sujets témoins, et une spécificité supérieure ou égale à 80 % pour distinguer les patients souffrant de MA des sujets sains ;
- être fiable, reproductible, non invasif, simple à exécuter et peu coûteux.

Biomarqueurs du LCR : reflet du processus neuropathologique

Les principales lésions neuropathologiques observées au cours de la MA associent la pathologie neuro-

* Institut de la mémoire et de la maladie d'Alzheimer, département de neurologie, hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, et Cricm, Inserm UMRS 975, UPMC Paris-6.

** Département de biochimie métabolique, hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris.

Résumé

La réalisation d'une ponction lombaire permet la mesure combinée du peptide amyloïde A β et des protéines T-tau et P-tau. L'analyse combinée des biomarqueurs (dont le ratio P-tau/A β) est un outil utile pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer (MA), surtout au stade débutant de la maladie lorsque les troubles cognitifs sont légers, avec une sensibilité et une spécificité supérieures ou égales à 80 %.

Les biomarqueurs sont également une aide pour le diagnostic différentiel avec les DLFT (sensibilité et spécificité > 80 % pour le ratio P-tau/A β). Ils pourraient identifier les formes atypiques de MA, telles que l'atrophie corticale postérieure et l'APP logopénique. Leur valeur pronostique reste à démontrer (une élévation importante du dosage de la protéine tau pourrait être le reflet d'une lyse neuronale plus sévère). L'utilisation des biomarqueurs du LCR dans le diagnostic de la MA est proposée dans les nouveaux critères diagnostiques de la maladie.

fibrillaire, qui est due à l'accumulation intracellulaire de protéine tau (*Tubulin-Associated-Unit*) anormalement phosphorylée, et les dépôts extracellulaires du peptide β -amyloïde (peptide A β). La plaque sénile est une lésion composite, comprenant à la fois un dépôt de peptide A β (le cœur) et des neurites dystrophiques (la couronne).

Le peptide amyloïde β_{1-42} (A β 42) résulte de l'action protéolytique des β - puis des γ -sécrétases sur la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) transmembranaire. Cette voie dite amyloïdogène conduit à la formation de peptides transmembranaires extrêmement hydrophobes, d'abord sous la forme de monomères qui vont vite s'agréger en oligomères, puis de polymères, prenant alors un aspect β plissé constituant les plaques amyloïdes intracérébrales. Dans sa forme dite soluble (monomère et oligomère), le peptide amyloïde est mesurable dans le LCR et le plasma.

Outre le peptide A β 42, d'autres peptides A β sont mesurables dans le LCR des sujets atteints de MA : l'A β 40 et l'A β 38 (constitués de 40 et 38 acides aminés). Le peptide A β 42 est considéré comme étant le plus impliqué dans la cascade amyloïde de la MA, car il s'agrège plus facilement et conduit à la formation de la plaque amyloïde. Le dosage du peptide A β 42 dans le LCR permet d'avoir un reflet indirect de la charge amyloïde intracérébrale.

Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) sont composées de dépôts de paires de filaments hélicoïdaux constitués de protéines tau anormalement phosphorylées. Différentes isoformes de la protéine tau sont normalement présentes dans les cellules et dans les axones. Ces protéines sont associées aux microtubules du cytosquelette et jouent un rôle dans le maintien de l'architecture neuronale et dans le transport vésiculaire le long des axones. L'hyperphosphorylation de la protéine tau modifie ses capacités fonctionnelles en se dissociant des microtubules : ces derniers n'assurent plus leur fonction de maintien de l'architecture neuronale, provoquant ainsi la mort neuronale. L'augmentation de la concentration des protéines tau totales (T-tau) dans le LCR est un reflet de lyse tissulaire (mort neuronale) mais aspécifique (3, 4). Le dosage de la protéine P-tau est le reflet de la formation des DNF (5) et il est, de ce fait, plus spécifique de la MA. Plusieurs sites de phosphorylation ont été

identifiés par des techniques d'immuno-histochimie (la thréonine 181, la thréonine 231 et la sérine 199). Ces 3 isoformes sont mesurables dans le LCR par des anticorps monoclonaux.

Méthode de dosage

La méthode la plus communément utilisée pour le dosage de ces différents marqueurs dans le LCR est une méthode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) double sandwich. La détection des différents marqueurs est possible grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux spécifiques de chaque marqueur. Cette méthode permet, à partir de 1 demi-millilitre de LCR, de mesurer le peptide A β 42, la protéine T-tau et la protéine P-tau en position 181.

Une deuxième méthode, plus récente et fondée sur la technologie Luminex™, est de plus en plus utilisée dans les laboratoires. Elle présente l'avantage de mesurer les différents marqueurs en 1 seule fois, permettant un gain de temps non négligeable.

Par manque de standardisation, les résultats obtenus avec ces 2 méthodes ne sont pas comparables, car les valeurs usuelles et les valeurs seuils sont totalement différentes.

Ces marqueurs, en particulier les peptides A β , sont particulièrement sensibles et fragiles. De ce fait, des conditions spécifiques de prélèvement, de transport et de conservation doivent être strictement respectées pour une bonne interprétation des résultats. Avant de réaliser la ponction lombaire, il convient de se renseigner auprès du laboratoire sur les tubes de recueil à utiliser et les conditions de conservation et de transport.

Intérêt des dosages A β , T-tau et P-tau

Dosage combiné des protéines A β , T-tau et P-tau

Les biomarqueurs ont tout d'abord été testés dans la MA légère à modérée par rapport à des groupes témoins. Une méta-analyse a montré une sensibilité de plus de 80 % de chacun de ces marqueurs

Mots-clés

Alzheimer

MCI

LCR

Biomarqueurs

Summary

The challenges for establishing an early diagnosis of Alzheimer's disease (AD) have created a need for biomarkers that reflect core pathological elements of the disease.

The CSF levels of total tau (T-tau), phosphorylated tau (P-tau) and beta-amyloid peptide 1-42 (A β) can distinguish controls from AD subjects, with a sensitivity and specificity between 80 to 90% even in early stages of the disease. The combination of low A β and high levels of T-tau and P-tau, or, even more specifically, the abnormal ratio of T-tau/A β , are associated with very high rates of progression from amnesic MCI to AD dementia with sensitivity of 95% and specificity of 87%. The combined analysis of the CSF biomarkers is also helpful for the differential diagnosis between AD and frontotemporal lobar degeneration (FTLD), or for identifying atypical AD such as logopenic primary progressive aphasia, or posterior cortical atrophy.

Keywords

Alzheimer's disease

MCI

CSF

Biomarkers

et une spécificité de plus de 90 % par rapport à des groupes témoins (3). C'est cependant l'approche combinée des 3 biomarqueurs qui s'avère classer le plus correctement les patients souffrant de MA par rapport à des sujets témoins (6). Une diminution du peptide amyloïde associée à une augmentation de la protéine tau et à une augmentation de la protéine P-tau correspond au profil typique de MA (comme si le peptide amyloïde était retenu dans les plaques amyloïdes, et la protéine tau, au contraire, relarguée par la mort neuronale). Plusieurs ratios combinés des marqueurs ont été proposés : le IATI (*Innotest Amyloid Tau Index*), défini par le ratio $A\beta_{42}/(240 + 1,18 \times \text{tau})$ [6], et les ratios tau/ $A\beta$ et P-tau/ $A\beta$. Le IATI est considéré comme très évocateur d'une MA lorsque son score est inférieur à 0,8. C'est actuellement le ratio le plus utilisé dans les pratiques cliniques françaises, car c'est celui promu par le fabricant du réactif le plus employé actuellement, bien que l'essentiel des études publiées ait montré que le ratio $A\beta$ /P-tau est plus pertinent.

Profil biologique évocateur de MA

- Une diminution de la concentration du peptide $A\beta$ associée à une élévation de celle des protéines T-tau et P-tau.
- Un IATI inférieur à 0,8 (France).
- Une augmentation des ratios tau/ $A\beta$ et/ou P-tau/ $A\beta$ (pas de norme internationale).
- Une concentration normale ou élevée du peptide $A\beta$ doit faire rediscuter le diagnostic.

Biomarqueurs du LCR dans les stades prédéméntiels ou prodromaux de la MA

Pour tester l'intérêt des biomarqueurs dans les phases débutantes de la MA, plusieurs études ont évalué leur valeur diagnostique au sein de populations de patients présentant des troubles cognitifs légers (*Mild Cognitive Impairment* [MCI]) et suivis longitudinalement (**tableau I**).

Une première étude menée auprès de 137 patients MCI suivis pendant 4 à 6 ans (5,2 ans en moyenne) a démontré que le meilleur paramètre de détection de la MA prodromale était l'association d'une élévation de la protéine T-tau supérieure à 350 pg/ml et un ratio $A\beta_{42}$ /P-tau inférieur à 6,5, avec une sensibilité de 95 % et une spécificité de 87 % (7).

Dans cette population, 42 % des sujets ($n = 57$) avaient développé une MA au terme du suivi.

Dans l'étude de L. Parnetti et al. (8), sur 55 patients atteints de MCI et suivis pendant 1 année, l'état de 33 patients est resté stable et 11 ont développé une MA. L'analyse des biomarqueurs du LCR avait montré que 88 % des sujets dont l'état est resté stable avaient des valeurs initiales de biomarqueurs normales, alors que 95 % des patients ayant développé une MA au terme du suivi avaient initialement au moins 2 biomarqueurs anormaux.

S.K. Herukka et al. (9) ont suivi 60 sujets témoins et 79 sujets atteints de MCI pendant 3,5 ans. Trente-trois sujets sur 79 ont développé une MA (MMS initial à $24 \pm 2,6$) alors que 46 sont restés stables cliniquement (MMS initial à $24 \pm 2,5$). Le groupe de MCI qui a développé une MA se différencie du groupe MCI stable par les dosages initiaux des biomarqueurs dans le LCR, qui se caractérisent par une diminution de la concentration de l' $A\beta_{42}$, ainsi qu'une augmentation des protéines T-tau et P-tau.

Deux publications récentes ont permis de souligner 2 limites essentielles, liées au manque de standardisation des méthodes utilisées. En effet, les valeurs seuils utilisées diffèrent significativement d'un centre à l'autre, et ce pour une même méthode.

L'étude de N. Mattsson et al. (10) est une étude multicentrique menée entre 1990 et 2007 dans 12 centres européens et aux États-Unis. Un total de 750 sujets MCI, 529 sujets MA et 304 sujets témoins ont été suivis pendant 2 ans (ou jusqu'au premier diagnostic de syndrome démentiel). Deux cent soixante et onze sujets ont développé une MA. Les auteurs montrent que les ratios $A\beta_{42}$ /P-tau et $A\beta_{42}$ /T-tau ont une sensibilité de 83 % et une spécificité de 72 % pour le diagnostic de la MA. Cependant, la principale information de cette étude est la considérable hétérogénéité des concentrations en valeur absolue, avec une variation très importante entre les différents centres investigateurs (par exemple, le taux d' $A\beta_{42}$ au sein du groupe témoin variait de 182 à 1 897 ng/l, et dans la population Alzheimer, de 85 à 1 354 ng/l). Si la moyenne des dosages permet de distinguer les populations, il est clair qu'individuellement les données sont peu comparables entre les centres. Cette étude a donc permis de souligner la nécessité de valider des critères méthodologiques pour éviter les variabilités intersites. En France et en Europe, une réflexion des différents centres d'expertise et des biologistes impliqués est en cours, afin d'améliorer le transfert des résultats entre laboratoires.

P.J. Visser et al. (11) ont analysé les données issues de 20 centres mémoire européens et provenant d'une population constituée de 71 sujets avec un MCI de type amnésique, 37 sujets avec un MCI de type non amnésique, 60 sujets avec une plainte mnésique subjective isolée, et des sujets témoins. Les malades ont été suivis annuellement pendant 3 ans. Les auteurs ont défini un profil biologique de MA par un score de IATI inférieur à 1. Ils confirment les bonnes sensibilité et spécificité de l'outil comme marqueur du risque de conversion vers une MA. Plus étonnante dans cette étude est la prévalence des profils biologiques de type MA dans leur population, puisqu'un profil biologique de type MA est observé chez 31 % des sujets témoins et chez 52 % des sujets avec plainte mnésique. Les sujets témoins n'ont pas été suivis, et, chez les patients avec plainte mnésique, le risque biologique n'est pas associé à un risque cognitif à 3 ans. La définition de "MA biologique" par un IATI inférieur à 1 semble donc peu spécifique pour une utilisation en pratique clinique.

Rappelons que la majorité des articles proposent d'utiliser le ratio A β /tau ou A β /P-tau. Une étude récente (12) a confirmé que le ratio A β 42/P-tau était le meilleur marqueur de MA au stade démentiel et au stade de MCI. Ainsi, en appliquant des valeurs seuil de biomarqueurs établies à partir des données d'une grande cohorte américaine (*Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative* [ADNI]) à 57 sujets d'une autre cohorte suivie pendant 5 ans, 100 % des sujets ayant développé une MA étaient correctement classés par rapport à ces seuils. De plus, en appliquant ces mêmes seuils à 68 sujets dont le diagnostic de MA avait été confirmé par neuropathologie en post mortem, 64 de ces sujets étaient correctement classés, démontrant ainsi une spécificité de 94 %.

Dans notre expérience, le ratio P-tau/A β 42 supérieur à 0,140 a une sensibilité de 98,3 % et une spécificité de 100 % pour distinguer des sujets souffrant de MA de ceux ayant une plainte mnésique d'origine fonctionnelle (13).

Validation du diagnostic biologique par le diagnostic neuropathologique

L'intérêt des ratios A β /tau ou A β /P-tau pour identifier la MA a été confirmé par les études ayant comparé le diagnostic posé par les biomarqueurs à celui obtenu par neuropathologie en post mortem (tableau II).

Tableau I. Valeur diagnostique des biomarqueurs du LCR dans la MA prodromale et risque de conversion du MCI vers une MA.

	Nombre de patients Durée du suivi	Rapports utilisés et seuils des biomarqueurs	Conclusion de l'étude
Hansson et al. 2006	137 MCI 39 témoins Suivi de 4 à 6 ans (moyenne 5,2 ans)	T-tau > 350 ng/l et A β 42/P-tau181 < 6,5	Se = 95 % Spe = 87 %
Visser et al. 2009	60 plaintes mnésiques 71 MCI amnésiques (MCI-a) 89 témoins Suivi de 3 ans (<i>Descripta study</i>)	IATI < 1	Un score de IATI < 1 observé chez 52 % des sujets PM et chez 80 % des MCI-a. Risque de MA élevé à 3 ans chez les MCI-a avec IATI+
Mattsson et al. 2009	750 MCI 529 MA 304 témoins Suivi de 2 ans	A β 42/P-tau181 Seuil variable d'un site à l'autre	Se = 83 % Spe = 72 %
De Meyer et al. 2010	57 MCI Suivi de 5 ans	A β 42/P-tau181	Se = 100 % Spe = 94 %

MCI : troubles cognitifs légers; Mild Cognitive Impairment; Se : sensibilité ; Spe : spécificité.

Une étude récente (14) réalisée chez 123 sujets ayant tous eu un diagnostic de MA confirmé par neuro-pathologie en post mortem a permis de valider la pertinence des biomarqueurs du LCR (ratio P-tau/A β 42). Dans cette étude, les biomarqueurs avaient une sensibilité de 91,6 % et une spécificité de 85,7 %, ce qui conforte les données issues des études cliniques.

Des études de corrélation entre le dosage des biomarqueurs et la sévérité des lésions neuropathologiques ont également été réalisées. Il apparaît que la concentration dans le LCR du peptide A β 42 est corrélée au nombre de plaques amyloïdes. Par ailleurs, la concentration de la protéine P-tau dans le LCR semble également corrélée à l'intensité des DNF (5, 14). Seule une étude semble ne pas confirmer ces données.

Il est actuellement possible d'avoir une mesure de la charge amyloïde in vivo chez les patients grâce à l'utilisation du ligand amyloïde PIB (*Pittsburgh compound B*) en TEP. La concentration de l'A β 42 dans le LCR est corrélée à la charge lésionnelle mesurée en TEP au PIB (15, 16).

Tableau II. Validation du diagnostic biologique par le diagnostic neuropathologique.

	Population	Rapports utilisés	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Tapiola et al. 2009	MA versus témoins	P-Tau/A β 42	91,6	85,7
Bian et al. 2007	MA versus DFT	Tau/A β 42	78,9	96,6
De Meyer et al. 2010	MCI versus témoins MA versus témoins	A β 42/P-tau181	100	94

Intérêt des biomarqueurs dans le diagnostic différentiel de la MA avec d'autres démences

Le dosage des biomarqueurs dans le LCR s'avère être un outil pertinent pour le diagnostic différentiel de la MA par rapport aux démences lobaires fronto-temporales (DLFT). On sait que ces 2 pathologies sont sous-tendues par des processus neuropathologiques différents. Dans l'étude de E. Kapaki et al. (17), 93 sujets témoins, 76 patients atteints de MA et 34 patients atteints de DLFT (démence fronto-temporale, n = 24 ; aphasie primaire progressive, n = 5 ; DFT avec maladie du motoneurone, n = 5) ont été inclus. Le diagnostic clinique a été validé par un suivi des patients à 2 ans. L'usage des ratios tau/A β et P-tau/A β montre ainsi une bonne sensibilité et une bonne spécificité dans le diagnostic différentiel (tableau III). Cela a été confirmé par une étude incluant des patients ayant un diagnostic avéré par l'autopsie ou la génétique auprès de 30 sujets ayant une DLFT (MMS moyen = 22), 19 sujets atteints de MA (MMS = 17) et 13 sujets témoins. Le ratio tau/A β avec un seuil à 1,06 a une sensibilité de 78,9 % et une spécificité de 96,6 % (tableau III).

Le ratio P-tau/A β permet de distinguer les patients MA de ceux ayant une DFT comportementale ou une démence sémantique avec de très bonnes sensibilité et spécificité (13).

À noter qu'une étude portant sur 6 sujets atteints de la maladie à prion (Creutzfeldt-Jakob) a montré une élévation très importante des concentrations de la protéine T-tau, qui équivalaient à 2 fois celles observées dans le groupe MA, reflet du processus actif de mort neuronale, alors que les concentrations de A β 42 et de la protéine tau phosphorylée étaient normales.

Enfin, la question se pose d'utiliser les biomarqueurs du LCR, non pas pour différencier la MA des DLFT (DFT et démence sémantique), mais pour identifier des malades ayant une forme atypique focale de la MA. Les études autopsiques ont montré que certaines formes d'aphasie progressive (APP logopénique) et la plupart des atrophies corticales postérieures (ACP) sont en fait une MA atypique (18). Par ailleurs, un profil des biomarqueurs semblable à celui des patients atteints de MA (défini par un ratio P-tau/A β 42 > 0,211) est observé chez 62 % des APP (16 patients sur 26) et chez 60 % des ACP (9 patients sur 15) [13]. Cela méritait d'être confirmé par des données neuropathologiques.

Intérêt pronostique

Le dosage des biomarqueurs du LCR a été également proposé comme indicateur de la sévérité de la MA (19-21). Ainsi, la concentration de la protéine tau phosphorylée 231 est corrélée à la progression annuelle de l'atrophie hippocampique chez 22 patients atteints de MA (MMS = 23,1 \pm 4), suivis pendant 18 mois en moyenne (22). Dans une autre étude clinique réalisée chez 151 patients Alzheimer (MMS = 22 \pm 4) et suivis pendant 2 ans en moyenne, il a été montré que l'intensité de la baisse de l'A β 42, de l'augmentation de la protéine tau et du ratio tau/A β était associée à la rapidité du déclin cognitif (20). Dans cette étude, la diminution du ratio P-tau/T-tau semble le paramètre le plus prédictif de la rapidité du déclin cognitif.

Le rôle de la protéine tau comme indicateur pronostique s'est également confirmé dans une étude de corrélation biologie/SPECT. L'élévation de T-tau et P-tau est corrélée à la sévérité de l'hypoperfusion du précuneus, du cortex pariétal inférieur et du gyrus angulaire gauche, régions que l'on sait associées à un mauvais pronostic évolutif de la MA (23).

Conclusion

Les biomarqueurs de la MA s'avèrent être un outil pertinent dans la démarche étiologique des troubles cognitifs légers et des syndromes démentiels.

La mesure combinée des peptides A β et des protéines T-tau et P-tau dans le LCR, et plus précisément le ratio P-tau/A β , permet un diagnostic précoce de la maladie avec une sensibilité et une spécificité supérieures ou égales à 80 %.

Tableau III. Intérêt des biomarqueurs du LCR dans le diagnostic différentiel de la MA et des DLFT.

	Population	Marqueurs étudiés	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Kapaki et al. 2008	76 MA 34 DLFT 93 témoins	P-Tau/A β Tau/A β	77,2 90,3	80,7 64,5
Bian et al. 2007	19 MA 30 f-DFT 13 témoins	Tau/A β 42	78,9	96,6
De Souza et al. 2011	60 MA 27 f-DFT 19 DS	P-Tau/A β MA versus f-DFT MA versus DS MA versus fDFT	98,3 91,7 91,7	84,2 92,6 89,1

DLFT : démence lobaire fronto-temporale ; DS : démence sémantique ; f-DFT : démence fronto-temporale (variante frontale comportementale).

La congruence entre le diagnostic biologique de MA par le ratio P-tau/A β et le diagnostic neuropathologique est supérieure à 90 %.

Le ratio P-tau/A β permet un diagnostic différentiel avec les DLFT, avec une sensibilité et une spécificité supérieures ou égales à 80 %.

L'utilisation des biomarqueurs du LCR comme outil pronostique, et plus précisément des concentrations des protéines tau et P-tau, mérite d'être confirmée. Néanmoins, la ponction lombaire, nécessaire à la mesure de ces biomarqueurs, reste un geste relativement invasif. C'est la raison pour laquelle plusieurs études tentent de trouver des marqueurs dans des fluides biologiques plus facilement accessibles, notamment le plasma, mais elles ne sont pas concluantes à l'heure actuelle.

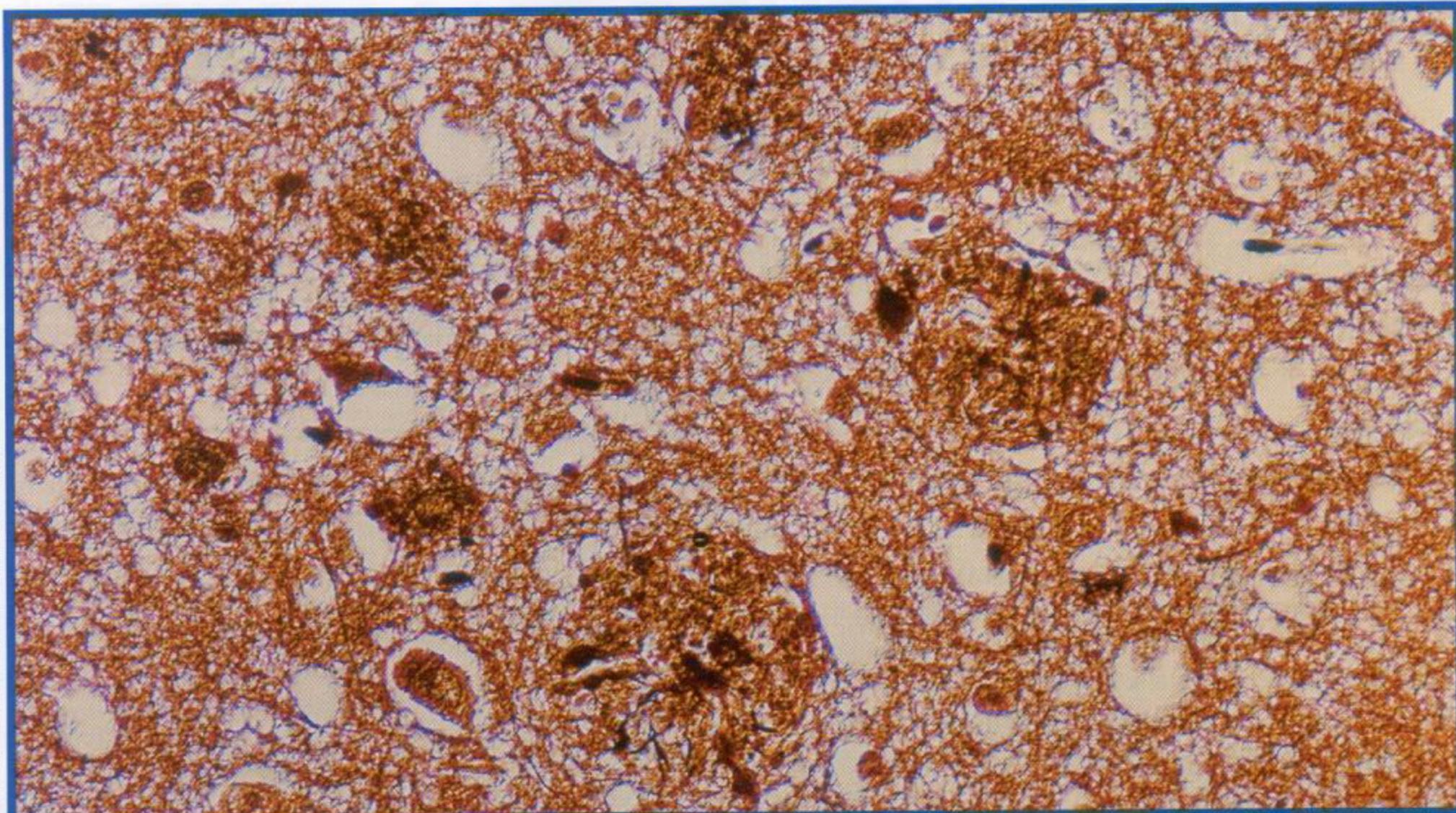
- Une analyse standard du LCR (cellules, protéines, glucose, électrophorèse des protéines) est recommandée chez les patients avec une présentation clinique atypique inquiétante et/ou rapidement évolutive (suspicion de maladie inflammatoire, infectieuse, paranéoplasique ou de Creutzfeldt-Jakob/dosage de la protéine 14-3-3).
- Le dosage dans le LCR des protéines T-tau, P-tau et A β 42 peut être réalisé en cas de doute diagnostique et en particulier chez les patients jeunes.

Encadré. Recommandations de l'HAS (mars 2008).

Les recommandations de la Haute Autorité de santé (HAS) proposées en mars 2008 sont résumées dans l'**encadré**. Cependant, la place des dosages des biomarqueurs dans le LCR n'est pour le moment pas déterminée. Ils sont proposés dans les nouveaux critères de la MA, sans être imposés (24).

Références bibliographiques

1. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991;82:239-59.
2. Blennow K, Hampel H, Weiner M et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 2010;6:131-44.
3. Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003;2:605-13.
4. De Leon MJ, Mosconi L, Blennow K et al. Imaging and CSF studies in the preclinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci* 2007;1097:114-4.
5. Buerger K, Ewers M, Pirttilä T et al. CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain* 2006;129:3035-41.
6. Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A et al. Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1-42) and tau levels in CSF. *Neurology* 1999;52:1555-62.
7. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P. 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.
8. Parnetti L, Lanari A, Silvestrelli G et al. Diagnosing prodromal Alzheimer's disease: role of CSF biochemical markers. *Mech Ageing Dev* 2006;127:129-32.
9. Herukka SK, Helisalmsi S, Hallikainen M et al. CSF A β 42, Tau and phosphorylated Tau, APOE epsilon4 allele and MCI type in progressive MCI. *Neurobiol Aging* 2007;28:507-14.
10. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 2009;302:385-93.
11. Visser PJ, Verhey F, Knol DL et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol* 2009;8:619-27.
12. De Meyer G, Shapiro F, Vanderstichele H et al. Diagnosis-independent Alzheimer disease biomarker signature in cognitively normal elderly people. *Arch Neurol* 2010;67(8):949-56.
13. De Souza LC, Lamari F, Belliard S et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of Alzheimer's disease from other cortical dementias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011;82(3):240-6.
14. Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK et al. Cerebrospinal fluid beta-amyloid 42 and tau proteins as biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the brain. *Arch Neurol* 2009;66:382-9.
15. Fagan AM, Mintun MA, Mach RH et al. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid A β 42 in humans. *Ann Neurol* 2006;59:512-9.
16. Grimmer T, Riemenschneider M, Forstl H et al. Beta amyloid in Alzheimer's disease: increased deposition in brain is reflected in reduced concentration in cerebrospinal fluid. *Biol Psychiatry* 2009;65:927-34.
17. Kapaki E, Paraskevas GP, Papageorgiou SG et al. Diagnostic value of CSF biomarker profile in frontotemporal lobar degeneration. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2008;22:47-53.
18. Alladi S, Xuereb J, Bak T et al. Focal cortical presentations of Alzheimer's disease. *Brain* 2007;130(Pt 10):2636-45.
19. Henneman WJ, Vrenken H, Barnes J et al. Baseline CSF p-tau levels independently predict progression of hippocampal atrophy in Alzheimer disease. *Neurology* 2009;73:935-40.
20. Kester MI, Van der Vlies AE, Blankenstein MA et al. CSF biomarkers predict rate of cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurology* 2009;73:1353-8.
21. Wallin AK, Blennow K, Zetterberg H et al. CSF biomarkers predict a more malignant outcome in Alzheimer disease. *Neurology* 2010;74:1531-7.
22. Hampel H, Bürger K, Pruessner JC et al. Correlation of cerebrospinal fluid levels of tau protein phosphorylated at threonine 231 with rates of hippocampal atrophy in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2005;62(5):770-3.
23. Habert MO, de Souza LC, Lamari F et al. Brain perfusion SPECT correlates with CSF biomarkers in Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010;37(3):589-93.
24. Dubois B, Feldman HH, Jacova C et al. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol* 2010;9(11):1118-27.



BIOMARQUEURS DU LIQUIDE CÉPHALORACHIDIEN

Intérêt diagnostique dans les démences

Stéphanie Bombois, Susanna Schraen, Bernard Sablonnière, Luc Buée,
Florence Pasquier (Lille)

L'utilisation des biomarqueurs du LCR pour le diagnostic des démences dans la pratique quotidienne pourrait être actuellement envisagée pour distinguer une maladie d'Alzheimer, même à un stade précoce, d'un vieillissement physiologique, sous réserve de lésions vasculaires parfois cliniquement silencieuses. Il s'agit d'un outil diagnostique qui ne doit pas être utilisé seul, mais en corrélation avec les éléments cliniques et les résultats des autres investigations paracliniques. Pour le diagnostic des autres démences, il est nécessaire de développer d'autres marqueurs pour améliorer leur intérêt dans une pratique courante.

BIOMARQUEURS DU LIQUIDE CÉPHALORACHIDIEN

Intérêt diagnostique dans les démences

Le diagnostic de démence dégénérative est porté sur un faisceau d'arguments cliniques et paracliniques. L'objectif actuel est de développer des outils diagnostiques permettant un diagnostic précoce, à un stade pré-déméntiel, afin de proposer une prise en charge thérapeutique efficace à ce stade, et de quantifier l'efficacité des thérapeutiques mises en œuvre. Les démences sont caractérisées par des lésions histopathologiques et biochimiques localisées

dans le cerveau. Le liquide céphalorachidien étant en contact direct avec les structures cérébrales, les changements physiopathologiques survenant au cours des démences se reflètent dans ce liquide. La quantification des marqueurs biochimiques du LCR représente donc un outil diagnostique intéressant à développer.

Stéphanie Bombois*,

Susanna Schraen**, Bernard Sablonnière**,

Luc Buée**, Florence Pasquier*

Les pays industrialisés, ayant une population vieillissante, connaissent un véritable problème de santé publique consécutif aux démences. La maladie d'Alzheimer (MA) est la plus répandue des démences dégénératives et sa prévalence en France est estimée à environ 850 000 sujets (OPEPS, 2005). Près de 50 % des personnes de plus de 85 ans sont concernées par un syndrome démentiel.

Actuellement, le diagnostic de démence dégénérative est porté sur un faisceau d'arguments cliniques et paracliniques et les traitements proposés sont symptomatiques. Bien qu'il y ait eu, ces dernières années, des avancées significatives dans la prise en charge des patients déments, il n'en reste pas moins important de développer des outils diagnostiques permettant un diagnostic précoce, c'est-à-dire à un stade pré-déméntiel, afin de proposer une prise en charge thérapeu-

tique efficace à ce stade, avant que les conséquences cliniques liées aux lésions dégénératives soient significatives. L'utilisation des biomarqueurs ne se résumerait pas uniquement à un outil diagnostique, elle pourrait également quantifier l'efficacité des thérapeutiques mises en œuvre. Depuis plus de 10 ans, les publications dans le domaine des biomarqueurs du LCR dans les démences se sont multipliées, concernant essentiellement la MA, mais aussi toutes les autres démences dégénératives, vasculaires ou infectieuses.

Les pathologies dégénératives sont caractérisées par des lésions histopathologiques et biochimiques localisées exclusivement dans le cerveau. Dans la mesure où le liquide céphalorachidien (LCR) est en contact direct avec les structures cérébrales, les changements physiopathologiques survenant au cours des démences se reflètent dans ce liquide. La quantification des marqueurs biochimiques du LCR représente donc un outil diagnostique intéressant à développer.

CHOIX DES BIOMARQUEURS DU LCR

L'utilisation d'un test diagnostique biologique est soumise à différents critères (1).

- Il doit exister une relation entre le marqueur et la ou les lésions pathologiques de la maladie sous-jacente. Le LCR étant au contact direct des structures cérébrales, on peut s'attendre à retrouver dans ce liquide les marqueurs pathologiques de la démence étudiée.
- Le biomarqueur doit être fiable, précis, reproductible et doit provenir d'un geste non invasif comme le prélèvement sanguin, ou modérément invasif, comme la ponction lombaire dont les effets secondaires chez les sujets de plus de 60 ans ont une incidence inférieure à 2 % (2).
- Un marqueur biologique idéal devrait avoir une sensibilité de 80 % pour détecter les patients ayant une MA et une spécificité de 80% pour différencier les patients ayant une MA

*Centre Mémoire de Ressources et de Recherche, CHRU de Lille.

**INSERM unité 815, CHRU de Lille.

des témoins ou de ceux ayant une autre démence.

Les marqueurs actuellement les plus prometteurs et les plus étudiés sont ceux dérivant de la protéine tau et du peptide amyloïde. Des anomalies biochimiques interviennent sur ces protéines lors de la MA, les rendant particulièrement intéressantes à étudier pour le diagnostic étiologique et différentiel de la MA avec les autres démences.

La protéine tau

Dans les conditions normales, la protéine tau permet d'assembler et de stabiliser les microtubules au niveau axonal.

Il existe 6 isoformes de cette protéine, en raison de l'épissage alternatif de son ARN messenger (Fig. 1B).

Lors de la MA, la protéine tau est anormalement hyperphosphorylée, perd ses fonctions de lésion aux microtubules et s'agrège en paires de filaments appariés pour conduire à la dégénérescence neurofibrillaire (DNF) (Fig. 1A). Cette pathologie de la protéine tau, ou tauopathie, n'est pas spécifique à la MA et se retrouve, dans des conditions différentes, dans d'autres pathologies neurodégénératives comme la démence à corps de Lewy, la démence frontotemporale, la paralysie supranucléaire progressive ou la dégénérescence corticobasale (3).

Dans le LCR, la protéine tau n'est pas complète et apparaît sous formes protéolysées, c'est-à-dire en différents fragments des six isoformes de tau, de tailles comprises entre 25 et 52 kDa et entre 65 et 80 kDa pour les variants mineurs (Fig. 1C). Par méthode ELISA, il est possible de doser dans le LCR la majeure partie de ces fragments de protéines tau (T-tau). Les anticorps monoclonaux permettent de détecter les isoformes de tau, indépendamment de leur statut de phosphorylation. T-tau pourrait dériver directement des DNF, processus pathologique, ou

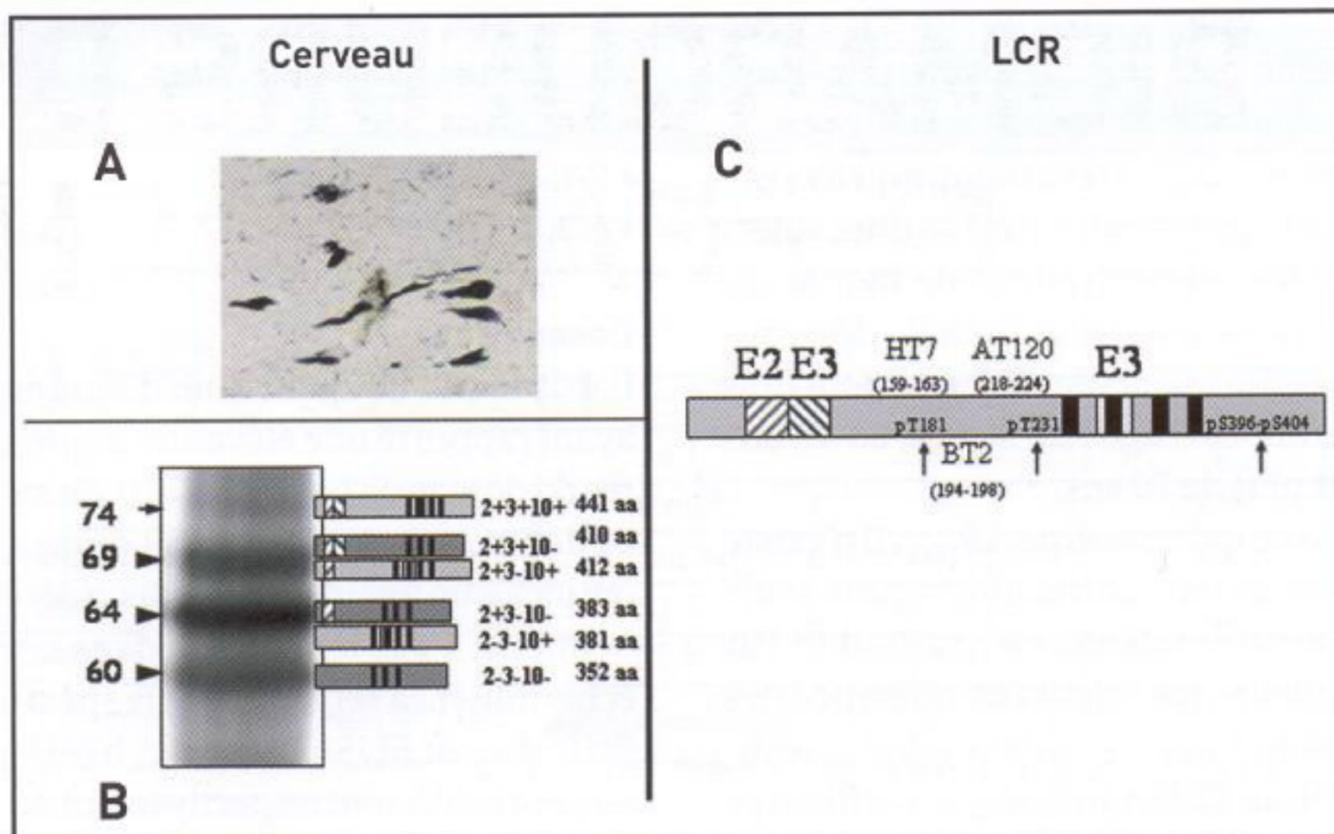


Figure 1 - Dans le cerveau d'un patient Alzheimer. **A :** coupe histologique cérébrale montrant des dégénérescences neurofibrillaires intra-neuronales. **B :** technique biochimique de Western blot. Identification des bandes contenant les 6 isoformes de la protéine tau hyperphosphorylée (60-74 kDa). **C :** dans le liquide céphalorachidien (LCR), sites de phosphorylation de la protéine tau, et anticorps utilisés contre ces épitopes.

de la mort neuronale, quel qu'en soit le processus, physiologique au cours du vieillissement, ou lésionnel, vasculaire par exemple. Différentes méthodes ELISA ont également été développées pour doser la phosphorylation de tau (P-tau) sur différents épitopes (thréonine 181+231, thréonine 181, thréonine 231 + sérine 235, sérine 199, thréonine 231, sérine 396 + 404) (2). P-tau dosé dans le LCR correspond probablement au statut de phosphorylation de la protéine tau et plus spécifiquement aux DNF. Avec la technique ELISA, seule une partie de la protéine tau de 66 acides aminés au plus, peut être détectée dans le LCR.

La protéine amyloïde

La protéine amyloïde provient du clivage d'une protéine transmembranaire précurseur (*amyloid precursor protein* = APP) et est normalement métabolisée dans les espaces extracellulaires sous forme soluble (Fig. 2). Suivant le site de clivage de l'APP, une protéine $A\beta_{1-40}$ ou $A\beta_{1-42}$ est produite. Lors de la MA, les peptides amyloïdes s'agrègent et se déposent pour

former des plaques amyloïdes extracellulaires. Les dépôts du peptide $A\beta_{1-42}$ représentent l'altération pathologique la plus précocement détectable dans les cerveaux de patients Alzheimer, alors que le peptide $A\beta_{1-40}$ est essentiellement présent aux stades évolués de la maladie. Des techniques ELISA ont été développées pour doser dans le LCR la concentration en protéines $A\beta$ totale, $A\beta_{1-40}$ et $A\beta_{1-42}$ (2).

VARIATION DE LEUR CONCENTRATIONS EN FONCTION DES DÉMENCES

Il existe des variations des concentrations des biomarqueurs du LCR en fonction du diagnostic étiologique de démence.

Concentrations physiologiques

Les trois marqueurs T-tau, P-tau et $A\beta_{1-42}$ sont présents dans le LCR de sujets contrôles, indiquant que la mort neuronale, la phosphorylation de tau et la voie amyloïdogène sont des événements qui existent à bas bruit de manière physiologique.

Une étude, portant sur 231 sujets témoins, a cherché à déterminer des valeurs de référence pour tau et $A\beta_{1-42}$ dans le LCR (4) et a montré qu'il existe une corrélation entre l'âge des sujets et les concentrations de tau. Ainsi, les auteurs préconisent de déterminer des valeurs de référence pour trois groupes d'âge : 21-50 ans, 50-70 ans et plus de 70 ans.

En ce qui concerne $A\beta_{1-42}$, il n'existe pas de telle corrélation et une seule valeur de référence est suffisante. Par ailleurs, les valeurs de référence des biomarqueurs varient selon la technique ELISA utilisée, les anticorps étant de nature différente.

En utilisant les tests ELISA d'Innogenics®, Sjögren et al. (4) ont déterminé les valeurs de référence suivantes :

Pour tau :

- 136 ± 89 pg/ml entre 21-50 ans ;
- 243 ± 127 pg/ml entre 50-70 ans ;
- 341 ± 171 pg/ml au dessus de 70 ans.

Pour $A\beta_{1-42}$:

- 794 ± 218 pg/ml.

Quelle que soit la technique utilisée, les intervalles des valeurs de référence sont larges, du fait des variations interindividuelles de la concentration des biomarqueurs chez les contrôles.

■ Dans la maladie d'Alzheimer

La MA est la première cause de démence dégénérative et se caractérise par des lésions neuropathologiques et biochimiques bien définies (5, 6). Les deux lésions pathologiques de la MA, les dépôts intra-neuronaux de protéines tau hyperphosphorylées et les dépôts extracellulaires de protéines amyloïde $A\beta$, résultent de deux processus dégénératifs différents, qui se potentialisent pour provoquer la mort neuronale, avec dégénérescence axonale et synaptique.

Trois marqueurs du LCR ont largement été étudiés dans la MA :

- T-tau,
- P-tau,
- et $A\beta_{1-42}$.

Dosage de tau

Il existe une cinquantaine d'études ayant rapporté une élévation modérée du dosage de T-tau dans le LCR des patients Alzheimer (7). Ces études ont inclus un total de 2 500 patients Alzheimer et 1 300 témoins et, dans cet échantillon, la sensibilité et la spécificité du test ELISA Innostest™ hTAU-Ag pour la MA sont respectivement de 82 % et 88 % (2). Concernant le dosage de P-tau, quelle que soit la méthode ELISA choisie, les études sont concordantes et montrent une augmentation de ce marqueur dans le LCR des sujets Alzheimer, avec une sensibilité de 80 % et une spécificité de 92 % (2).

P-tau semble être le marqueur le plus direct de la MA, reflétant le stade de phosphorylation. Considérant le choix de l'épitope de phosphorylation de tau, une seule étude a comparé les sensibilités et spécificités des différents épitopes de P-tau (P-tau₁₉₉, P-tau₁₈₁ et P-tau₂₃₁) dans une population de patients déments (MA, DCL, DFT et VaD) et il semble qu'isolément, les 3 marqueurs discriminent de la même façon les sujets Alzheimer des témoins (8).

Peptide amyloïde

Pour le peptide amyloïde, il existe une légère diminution du dosage de l'ensemble des isoformes du peptide $A\beta$, et une absence de modification du dosage d' $A\beta_{1-40}$.

Les valeurs de ces deux marqueurs dans le LCR des patients Alzheimer présentent un recouvrement important avec celles des sujets témoins, réduisant l'intérêt de l'utilisation de ces deux marqueurs dans le diagnostic de MA. Par contre, de nombreuses études convergent pour trouver une diminution significative d' $A\beta_{1-42}$ par rapport aux témoins sains ou à ceux

ayant une pathologie neurologique (7). Cependant, plus que le peptide $A\beta_{1-42}$ seul, le ratio $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ pourrait permettre de mieux diagnostiquer les patients Alzheimer (9).

Une étude autopsique (10) a permis de corréler la chute du peptide $A\beta_{1-42}$ dans le LCR prélevé en post-mortem, avec un nombre élevé de plaques amyloïdes dans le cortex cérébral. Ainsi, la diminution du peptide $A\beta_{1-42}$ dans le LCR des patients Alzheimer pourrait être consécutive à la moindre solubilité de ce peptide au cours de la maladie, c'est-à-dire à son agrégation dans les plaques amyloïdes, mais un défaut de sa clairance dans le LCR est également à envisager. Le test ELISA Innostest™ a été utilisé dans 13 études incluant un total de 600 patients Alzheimer et 450 témoins avec une sensibilité et une spécificité pour la MA à plus de 80 % (2). En associant la baisse d' $A\beta_{1-42}$ et l'augmentation de T-tau, la spécificité pour le diagnostic de MA se situe entre 70 et 96 % et sa sensibilité entre 60 et 94 %.

Il existe très peu d'études ayant corrélié les dosages des biomarqueurs du LCR avec le diagnostic neuropathologique de démence.

Clark et al. (11) ont comparé les dosages de T-tau et d' $A\beta_{1-42}$ dans le LCR prélevé avant le décès de 60 MA, 3 DCL, 10 MA + DCL, 10 DFT et 8 maladies à prions, avec le diagnostic neuropathologique.

Dans la MA, T-tau était nettement élevé (627 ± 446 pg/ml), contrairement aux dosages dans la DFT (272 ± 120 pg/ml) et dans la DCL (282 ± 22 pg/ml). Notons que le dosage de T-tau chez les sujets ayant une association de lésions pathologiques de MA et DCL, était plus bas que celui des patients ayant une MA seule (449 ± 258 pg/ml), ce qui est concordant avec certaines études montrant que les DNF sont moins importantes que dans la MA seule. Le dosage d' $A\beta_{1-42}$ était réduit dans la MA (67 ± 128 fmol/ml) comparé à celui de la DFT (133 ± 117 fmol/ml) et à celui des sujets

témoins (109 ± 61 fmol/ml), mais pas par rapport à celui de la DCL (14 ± 6 fmol/ml) ou des maladies à prions (60 ± 41 fmol/ml). Dans cette étude, T-tau plus qu'A β_{1-42} permet de discriminer la MA des autres démences.

Des équipes se sont intéressées à la variation des biomarqueurs au cours du temps. Il est rapporté que des sujets qui débutent une MA avant 65 ans ont un dosage d'A β_{1-42} dans le LCR significativement plus bas que ceux qui débutent la maladie après 65 ans. Après un suivi de 10 mois de cette cohorte, le contrôle du dosage d'A β_{1-42} était stable, quel que soit le sous-groupe de patients (12).

D'autres études ont montré que l'évolution des concentrations dans le LCR de T-tau et d'A β_{1-42} semble stable après 1 à 2 ans d'évolution de la MA. Cependant, il est possible que T-tau évolue suivant une courbe bi-phasique, avec une augmentation en début de maladie et une décroissance en fin d'évolution (13). P-tau₂₃₁ pourrait décroître linéairement avec le temps (14).

Enfin, les études qui ont inclus des patients Alzheimer à un stade léger montrent des concentrations de T-tau et P-tau augmentées et des concentrations d'A β_{1-42} diminuées, avec une sensibilité équivalente à celle des stades plus évolués de la MA (15).

■ Dans le "mild cognitive impairment"

L'enjeu actuel dans les démences est de pouvoir définir le processus lésionnel sous-jacent, afin de pouvoir développer des outils pour le diagnostic précoce et proposer le plus tôt possible une prise en charge thérapeutique adaptée.

Dans cet objectif, le concept clinique de *mild cognitive impairment* (MCI) a été défini par Petersen et al. (16) comme étant un état de transition entre le vieillissement normal et la démence. Ce concept est sous-tendu par le fait que les dépôts de protéines

Tableau 1 - Concentrations des différents marqueurs dans le LCR des démences, comparées à celles des témoins.

	T-tau	P-tau	A β_{1-42}
MA	↑	↑↑	↓↓↓
MCI (phase pré-clinique de MA)	↑	↑↑	↓↓↓
DCL	± ↑	↑ ou ↓	↓↓↓
DLFT	± ↑	↑	↓
PSP	N ou ↑	N	↓↓
CBD	↑↑ ou N	N	↓↓
DVa	± ↑	N ou ± ↑	↓ ou ↑
MCJ	↑↑↑	N ou ± ↑	↓↓↓

MA = maladie d'Alzheimer ; MCI = mild cognitive impairment ; DCL = démence à corps de Lewy ; DLFT = dégénérescences lobaires fronto-temporales ; PSP = paralysie supranucléaire progressive ; DCB = dégénérescence corticobasale ; DVa = démence vasculaire ; MCJ = maladie de Creutzfeldt-Jakob. Variations des valeurs en fonction de celles des témoins : ↑ = augmentation ; N = égalité ; ↓ = diminution.

tau anormalement phosphorylées débutent probablement 20 à 30 ans avant les premiers symptômes cliniques de la MA (17). Le mode d'évolution du MCI est variable, certains patients vont évoluer vers une démence et dans ce cas le MCI correspond à la phase pré-démence de la maladie, d'autres vont rester stables et d'autres vont retrouver un état cognitif normal. Cependant, le risque de conversion en démence des patients MCI référés dans un centre mémoire, est estimé entre 10 et 15 % par an (16). Actuellement, les outils disponibles pour diagnostiquer et caractériser les patients ayant un MCI sont cliniques, neuropsychologiques et radiologiques (18). Il semble que la recherche des biomarqueurs dans le LCR de ces patients soit également prometteuse.

Toutes les études sur les biomarqueurs du LCR des patients MCI ayant converti en MA, comparés aux témoins, montrent des concentrations de T-tau et P-tau élevées et des concentrations d'A β_{1-42} diminuées, avec une sensibilité quasi équivalente à celle de la MA (15). Ces marqueurs apportent donc une aide au diagnostic étiologique, mais ne corrélaient pas avec le stade clinique de la maladie. Plusieurs études ont montré l'intérêt du dosage des biomarqueurs du LCR

pour discriminer les patients qui vont développer une MA (augmentation significative de T-tau et P-tau et diminution d'A β_{1-42}) de ceux qui vont rester stables (19-21).

Chacun des marqueurs T-tau, P-tau et A β_{1-42} considéré isolément, permet de différencier les sujets MCI qui vont progresser des témoins, mais aucun ne permet de différencier seul les sujets MCI qui vont évoluer de ceux qui vont rester stables. Par contre, la combinaison des résultats de T-tau ou P-tau avec A β_{1-42} est hautement spécifique pour ce diagnostic évolutif. L'augmentation du ratio A β_{1-40} /A β_{1-42} semble également intéressant pour diagnostiquer les patients MCI avec un risque de conversion, ce ratio étant augmenté avant l'apparition des premiers symptômes cliniques de MA (22). L'analyse de P-tau₂₃₁, P-tau₁₈₁ et P-tau₁₉₉ a montré qu'une augmentation dans le LCR des 3 protéines était significative des patients avec un MCI, P-tau₂₃₁ et P-tau₁₈₁ étant les deux marqueurs significativement corrélés au déclin cognitif (23). Après 1 an de suivi, la concentration de P-tau₂₃₁ augmentait progressivement (14). Par ailleurs, les patients MCI porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ de l'apolipoprotéine E avaient un dosage de P-tau₂₃₁ plus élevé que les non porteurs de

cet allèle, résultat non retrouvé pour P-tau₁₈₁ et P-tau₁₉₉ (24).

Récemment, des formes tronquées du peptide amyloïde ont été mises en évidence dans le cerveau (25) et le LCR de patients Alzheimer (Fig. 2). Vanderstichele et al. (26) ont montré que l'utilisation des ratios des formes tronquées en N-terminal d'Aβ-42, c'est à dire Aβ_{42-3D6}/Aβ_{42-6E10}, Aβ_{42-3D6}/Aβ_{42-4G8} et Aβ_{42-3D6}/Aβ_{42-WO2} associés au dosage de T-tau et P-tau₁₈₁ pouvait permettre de discriminer les sujets MCI qui allaient convertir vers la MA de ceux qui resteraient stables.

Notons que les études publiées se réfèrent au MCI comme stade pré-clinique de la MA, sans qu'il existe de données pour les MCI précédant les autres démences.

■ Dans la démence à corps de Lewy

La démence à corps de Lewy (DCL) est la deuxième cause de démence dégénérative après la MA, avec qui elle partage de nombreux points communs cliniques et neuropathologiques (27). En effet, l'alpha-synucléine anormalement phosphorylée, marqueur pathologique de la DCL située dans les neurites et corps de Lewy corticaux, est très souvent associée à des plaques amyloïdes et à des dégénérescences neurofibrillaires (28).

Dans le LCR des patients ayant une DCL, T-tau est légèrement augmenté et semble être significativement plus bas que dans la MA (29). Concernant P-tau, les résultats sont contradictoires, son seuil serait élevé dans la DCL pour certains avec une majoration de sa concentration au cours du temps (28) ou d'emblée abaissé pour d'autres (30). L'utilisation de P-tau₁₈₁ permettrait de différencier plus spécifiquement la MA de la DCL (8), ce résultat restant à confirmer. La concentration d'Aβ₁₋₄₂ dans le LCR des patients DCL serait diminuée, comme dans la MA (29).

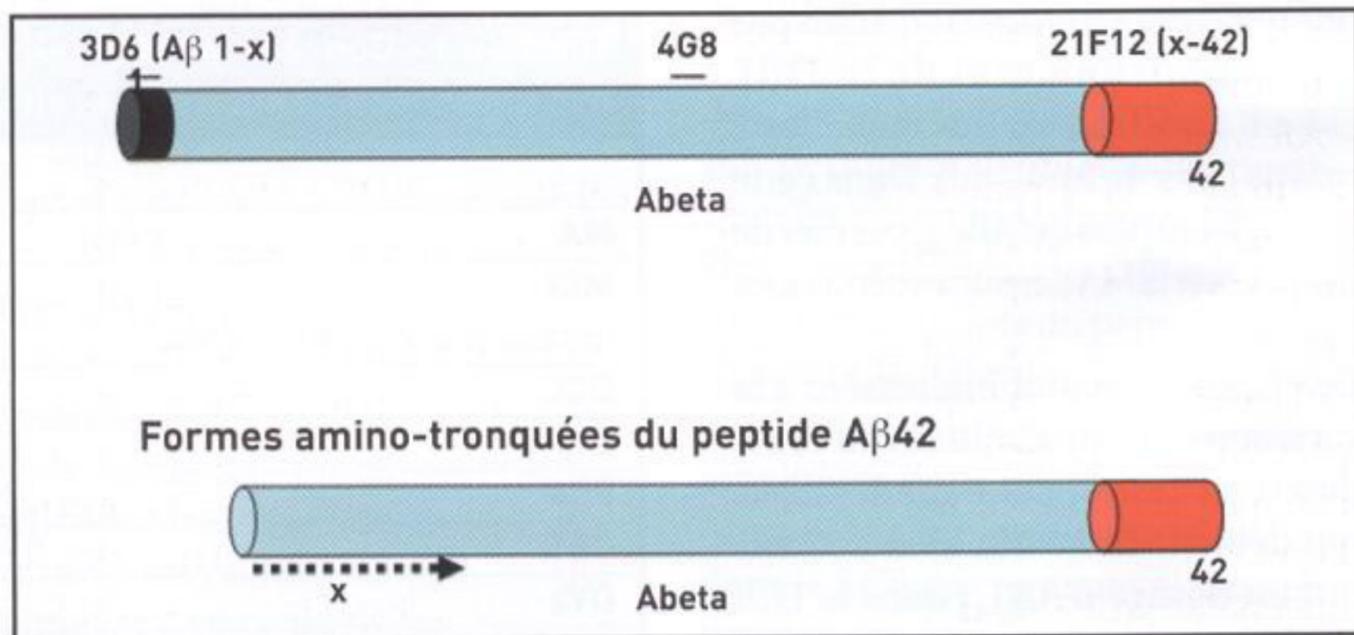


Figure 2 - Formes complètes et amino-tronquées du peptide Aβ₁₋₄₂. L'anticorps 3D6 permet de détecter la partie N-terminale du peptide Aβ₁₋₄₂ et l'anticorps 21F12 la partie C-terminale.

■ Dans les dégénérescences lobaires fronto-temporales

Sous ce terme de dégénérescences lobaires fronto-temporales (DLFT) sont regroupées la démence fronto-temporale, l'aphasie progressive et la démence sémantique, associant de façon variable et schématique un syndrome dysexécutif, des troubles psychocomportementaux et des difficultés de langage.

D'un point de vue physiopathologique, ces maladies sont sous-tendues par des lésions neuropathologiques et biochimiques différentes, ne corrélant pas avec un phénotype clinique précis. Il existe des DLFT avec des inclusions de neurofilaments, inclusions ubiquitines positives ou corps de Pick contenant des protéines tau agrégées, et d'autres sans lésion pathologique spécifique.

Concernant les biomarqueurs du LCR dans les DFTL, les publications sont nombreuses et les résultats contradictoires, avec notamment des recouvrements avec les résultats des sujets Alzheimer et témoins (31), probablement en raison de l'hétérogénéité des lésions pathologiques. Chez les patients ayant une DLFT prouvée à l'autopsie, le dosage de T-tau est significativement abaissé par rapport aux patients Alzheimer (32). Riemenschneider et al. (33) ont montré que le dosage de T-tau et d'Aβ₁₋₄₂ des patients DLFT était

intermédiaire entre celui des témoins et celui des patients Alzheimer, quel que soit le phénotype de la DLFT, et Andersen et al. (34) ont montré que le dosage de T-tau des patients ayant une démence sémantique est significativement plus élevé que celui des témoins. L'utilisation de P-tau₂₃₁ permettrait de mieux différencier la MA de la DFT (8).

■ Dans la paralysie supranucléaire progressive et la dégénérescence corticobasale

Très peu d'études se sont intéressées aux biomarqueurs dans ces deux tauopathies, et leurs résultats sont contradictoires.

Par rapport aux sujets témoins, la concentration de T-tau serait significativement plus importante chez les patients ayant une paralysie supranucléaire progressive (PSP) ou une dégénérescence corticobasale (CBD), et cette augmentation serait significativement plus importante chez les patients ayant une CBD (35). Cette différence de concentration entre les deux pathologies serait d'autant plus importante que les prélèvements de LCR seraient réalisés à des stades précoces de la maladie (35). Cependant, une étude récente (36) n'a pas mis en évidence de modification des dosages de T-tau et P-tau dans la PSP et la

DCB. Par contre, il existerait une diminution d'A β ₁₋₄₂ dans les deux pathologies, sans différence significative entre elles, et le ratio P-tau/A β ₁₋₄₂ permettrait de bien séparer PSP et CBD de la MA (36). Les différences de résultats entre les études pourraient venir de la sélection des patients, ce d'autant plus qu'il existe des recouvrements cliniques importants dans ces pathologies. D'autres évaluations des biomarqueurs dans la PSP et la DCB sont donc nécessaires, notamment couplées à des études histopathologiques.

■ Dans la démence vasculaire

En phase aiguë d'un accident vasculaire cérébral (AVC), l'analyse du LCR révèle une augmentation transitoire de T-tau, avec une normalisation en 3 à 5 mois (37). La concentration de T-tau dans le LCR des patients ayant une Démence vasculaire (DvA) est augmentée, comme dans la MA et la MA avec lésions cérébrovasculaires, la concentration de P-tau n'est pas, ou légèrement augmentée, dans la DvA, mais augmentée de façon significative et identique dans la MA avec ou sans lésions vasculaires (38, 39). Concernant le dosage d'A β ₁₋₄₂, il est diminué pour certains auteurs (39) ou significativement plus élevé que dans la MA pour d'autres (38).

■ Dans la maladie de Creutzfeldt-Jakob

Il existe une dégénérescence neuronale intense lors de cette pathologie, conduisant à des concentrations de T-tau dans le LCR très élevées. La concentration de P-tau est normale ou discrètement élevée et celle d'A β ₁₋₄₂ est significativement plus basse que pour les témoins (40).

LIMITES ET PERSPECTIVES

Au terme de cette revue, le dosage dans le LCR des biomarqueurs dérivant des protéines tau et amyloïde semble pouvoir affirmer la présence de lésions Alzheimer avec une sensibilité et une spécificité > 80 %.

Cependant, différencier la MA d'une autre démence semble plus difficile (7).

Par ailleurs, les techniques de dosage des biomarqueurs peuvent être différentes d'un laboratoire à l'autre, et il existe aussi des variations de résultats dans un même laboratoire. Il est donc difficile à l'heure actuelle d'harmoniser toutes les données de la littérature et de les comparer strictement entre elles. De plus, sensibilité et spécificité des marqueurs sont données en fonction des diagnostics cliniques, eux même correctement corrélés aux résultats autopsiques à 85 à 90 %, dans les centres mémoire experts.

Afin d'améliorer le diagnostic précoce et différentiel de la MA avec les autres démences par les biomarqueurs du LCR, plusieurs perspectives sont possibles.

- D'une part, l'utilisation d'autres marqueurs pourrait être développée et validée, comme par exemple des isoformes d'A β ou de tau. Certains auteurs ont choisi d'étudier des marqueurs différents de tau et du peptide amyloïde comme la neprilysine (enzyme impliquée dans le catabolisme physiologique du peptide amyloïde), l'ubiquitine (protéine associée à la protéine tau anormalement phosphorylée), la neuromoduline (protéine pré-synaptique retrouvée dans les plaques amyloïdes lors de la MA), ou des protéines de l'inflammation comme les interleukines. Certains résultats sont prometteurs, mais d'autres études sont nécessaires pour valider l'utilisation de ces marqueurs dans le diagnostic des démences.

- D'autre part, il pourrait être intéressant de développer l'utilisation d'autres techniques pour doser les marqueurs dans le LCR. La spectrométrie de masse de type SELDI-TOF, qui permet de détecter et d'identifier des protéines en fonction de leurs propriétés biochimiques, et la technologie Luminex®, qui utilise des

microsphères d'anticorps ayant une fluorescence différente permettant de tester plusieurs dizaines d'antigènes différents lors d'une même manipulation, sont des techniques innovantes qui pourraient permettre de mieux caractériser des marqueurs plus spécifiques de chaque type de démence.

Enfin, mieux comprendre les variations des biomarqueurs dans le LCR des patients ayant une démence pourrait permettre de développer de nouvelles cibles thérapeutiques. En effet, la baisse de concentration d'A β ₁₋₄₂ dans le LCR des patients Alzheimer est interprétée comme liée à l'agrégation des protéines A β ₁₋₄₂ dans les plaques amyloïdes intracérébrales. Cependant, il pourrait s'agir d'un mécanisme différent, et en l'occurrence d'un défaut de clairance du peptide d'A β ₁₋₄₂ dans le LCR. Cette hypothèse reste à démontrer.

CONCLUSION

L'utilisation des biomarqueurs du LCR pour le diagnostic des démences dans la pratique quotidienne pourrait être actuellement envisagée pour distinguer une MA, même à un stade précoce, d'un vieillissement physiologique, sous réserve de lésions vasculaires parfois cliniquement silencieuses. Il s'agit d'un outil diagnostique qui ne doit pas être utilisé seul mais en corrélation avec les éléments cliniques et les résultats des autres investigations paracliniques. Pour le diagnostic des autres démences, il est nécessaire de développer d'autres marqueurs pour améliorer leur intérêt dans une pratique courante. ■

MOTS-CLÉS :

Démences, Maladie d'Alzheimer, Biomarqueurs, Protéine tau, Peptide amyloïde, Liquide céphalorachidien

Bibliographie

1. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and biochemical markers of Alzheimer's disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. *Neurobiol Aging* 1998 ; 19 : 109-16.
2. Andreasen N, Blennow K. CSF biomarkers for mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg* 2005 ; 107 : 165-73.
3. Buée L, Bussiere T, Buee-Scherrer V et al. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 2000 ; 33 : 95-130.
4. Sjogren 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. *Clin Chem* 2001 ; 47 : 1776-81.
5. Braak H, Braak E. Demonstration of amyloid deposits and neurofibrillary changes in whole brain sections. *Brain Pathol* 1991 ; 1 : 213-6.
6. Delacourte A, Sergeant N, Champain D et al. Nonoverlapping but synergetic tau and APP pathologies in sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* 2002 ; 59 : 398-407.
7. Blennow K. Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *Neuro Rx* 2004 ; 1 : 213-25.
8. 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. *Arch Gen Psychiatry* 2004 ; 61 : 95-102.
9. Lewczuk P, Esselmann H, Bibl M et al. Neurochemical diagnosis of Alzheimer's dementia by CSF Abeta42, Abeta42/Abeta40 ratio and total tau. *Neurobiol Aging* 2004 ; 25 : 273-81.
10. Strozyk D, Blennow K, White LR et al. CSF Abeta 42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study. *Neurology* 2003 ; 60 : 652-6.
11. Clark CM, Xie S, Chittams J et al. Cerebrospinal fluid tau and beta-amyloid: how well do these biomarkers reflect autopsy-confirmed dementia diagnoses? *Arch Neurol* 2003 ; 60 : 1696-702.
12. Andreasen N, Hesse C, Davidsson P et al. Cerebrospinal fluid beta-amyloid(1-42) in Alzheimer disease: differences between early- and late-onset Alzheimer disease and stability during the course of disease. *Arch Neurol* 1999 ; 56 : 673-80.
13. Isoe K, Urakami K, Shimomura T et al. Tau proteins in cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's disease: a longitudinal study. *Dementia* 1996 ; 7 : 175-6.
14. Hampel H, Buerger K, Kohnken R, et al. Tracking of Alzheimer's disease progression with cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at threonine 231. *Ann Neurol* 2001 ; 49 : 545-6.
15. Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003 ; 2 : 605-13.
16. Petersen RC, Doody R, Kurz A et al. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2001 ; 58 : 1985-92.
17. Davies L, Wolska B, Hilbich C et al. A4 amyloid protein deposition and the diagnosis of Alzheimer's disease: prevalence in aged brains determined by immunocytochemistry compared with conventional neuropathologic techniques. *Neurology* 1988 ; 38 : 1688-93.
18. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M et al. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med* 2004 ; 256 : 240-6.
19. Herukka SK, Hallikainen M, Soininen H et al. CSF Abeta42 and tau or phosphorylated tau and prediction of progressive mild cognitive impairment. *Neurology* 2005 ; 64 : 1294-7.
20. Arai H, Morikawa Y, Higuchi M et al. Cerebrospinal fluid tau levels in neurodegenerative diseases with distinct tau-related pathology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997 ; 236 : 262-4.
21. Maruyama M, Higuchi M, Takaki Y et al. Cerebrospinal fluid neprilysin is reduced in prodromal Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2005 ; 57 : 832-42.
22. Kanai M, Matsubara E, Isoe K et al. Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, A beta1-40, and A beta1-42(43) in Alzheimer's disease: a study in Japan. *Ann Neurol* 1998 ; 44 : 17-26.
23. Buerger K, Ewers M, Andreasen N et al. Phosphorylated tau predicts rate of cognitive decline in MCI subjects: a comparative CSF study. *Neurology* 2005 ; 65 : 1502-3.
24. Buerger K, Teipel SJ, Zinkowski R et al. Increased levels of CSF phosphorylated tau in apolipoprotein E epsilon4 carriers with mild cognitive impairment. *Neurosci Lett* 2005 ; 391 : 48-50. Epub 2005 Sep 13.
25. Sergeant N, Bombois S, Ghestem A et al. Truncated beta-amyloid peptide species in pre-clinical Alzheimer's disease as new targets for the vaccination approach. *J Neurochem* 2003 ; 85 : 1581-91.
26. 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. *Clin Chem* 2005 ; 51 : 1650-60. Epub 2005 Jul 14.
27. McKeith IG, Dickson DW, Lowe J et al. Consortium on DLB. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. *Neurology* 2005 ; 65 : 1863-72. Epub 2005 Oct 19.
28. Deramecourt V, Bombois S, Maurage CA et al. Biochemical staging of synucleinopathy and amyloid deposition in dementia with Lewy bodies. *JNEN* 2006 ; sous presse.
29. Mollenhauer B, Cepek L, Bibl M et al. Tau protein, Abeta42 and S-100B protein in cerebrospinal fluid of patients with dementia with Lewy bodies. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2005 ; 19 : 164-70. Epub 2005 Jan 5.
30. Parnetti L, Lanari A, Amici S et al. Phospho-Tau International Study Group. CSF phosphorylated tau is a possible marker for discriminating Alzheimer's disease from dementia with Lewy bodies. *Phospho-Tau International Study Group. Neurol Sci* 2001 ; 22 : 77-8.
31. Pijnenburg YA, Schoonenboom NS, Rosso SM et al. CSF tau and Abeta42 are not useful in the diagnosis of frontotemporal lobar degeneration. *Neurology* 2004 ; 62 : 1649.
32. Grossman M, Farmer J, Leight S et al. Cerebrospinal fluid profile in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2005 ; 57 : 721-9.
33. Riemenschneider M, Wagenpfeil S, Diehl J et al. Tau and Abeta42 protein in CSF of patients with frontotemporal degeneration. *Neurology* 2002 ; 58 : 1622-8.
34. Andersen C, Froelich Fabre S, Ostberg P et al. Tau protein in cerebrospinal fluid from semantic dementia patients. *Neurosci Lett* 2000 ; 294 : 155-8.
35. Urakami K, Wada K, Arai H et al. Diagnostic significance of tau protein in cerebrospinal fluid from patients with corticobasal degeneration or progressive supranuclear palsy. *J Neurol Sci* 2001 ; 183 : 95-8.
36. Noguchi M, Yoshita M, Matsumoto Y et al. Decreased beta-amyloid peptide42 in cerebrospinal fluid of patients with progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J Neurol Sci* 2005 ; 237 : 61-5.
37. Hesse C, Rosengren L, Vanmechelen E et al. Cerebrospinal fluid markers for Alzheimer's disease evaluated after acute ischemic stroke. *J Alzheimers Dis* 2000 ; 2 : 199-206.
38. Stefani A, Bernardini S, Panella M et al. AD with subcortical white matter lesions and vascular dementia: CSF markers for differential diagnosis. *J Neurol Sci* 2005 ; 237 : 83-8.
39. Nagga K, Gottfries J, Blennow K et al. Cerebrospinal fluid phospho-tau, total tau and beta-amyloid(1-42) in the differentiation between Alzheimer's disease and vascular dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002 ; 14 : 183-90.
40. Van Everbroeck B, Boons J, Cras P. Cerebrospinal fluid biomarkers in Creutzfeldt-Jakob disease. *Clin Neurol Neurosurg* 2005 ; 107 : 355-60. Epub 2005 Jan 12.