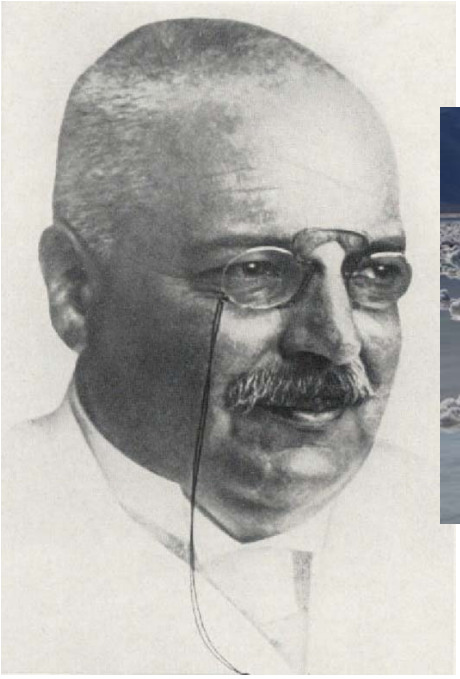
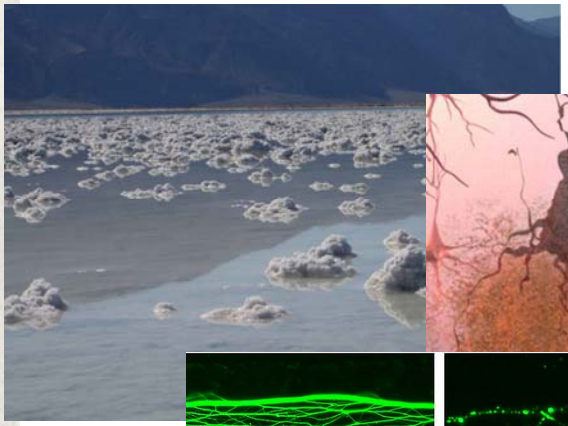
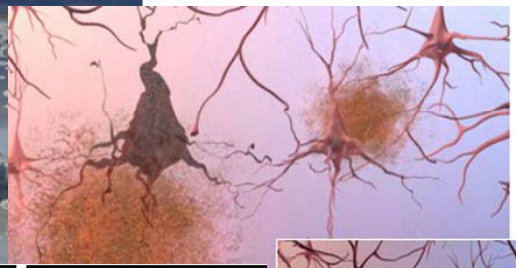
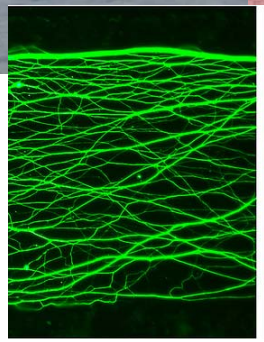
Biomarqueurs de la maladie d'Azheimer

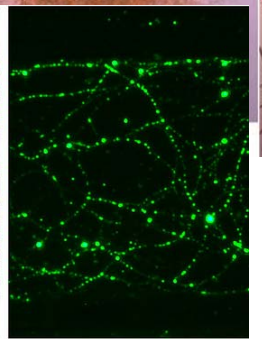
Dr Christian Vincent, Toulouse

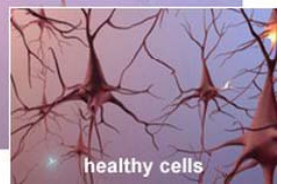






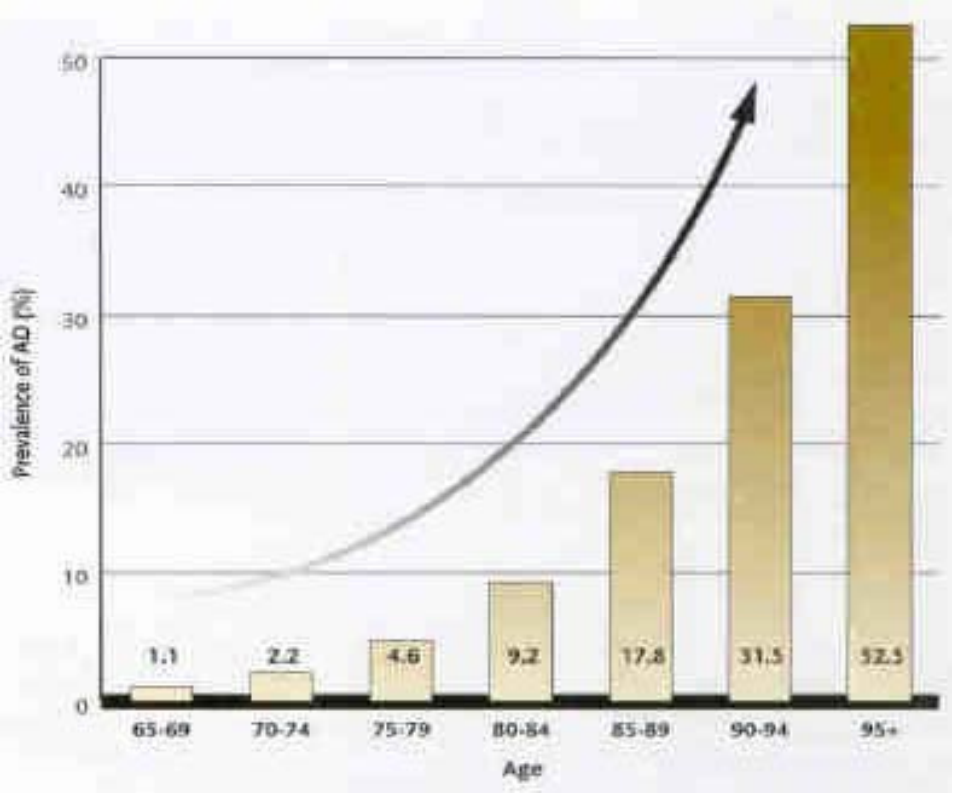






Quelques rappels

- MA et démences = Problème majeur de santé publique
- 15% des personnes de plus de 75 ans sont atteint de démence
- Prévalence liée à l'age !
- 800 000 Maladie d'Alzheimer (MA)
- 180 000 nouveaux cas par an
- Diagnostic non fait dans 50% des cas



Marqueurs génétiques

Chromo-some	gène	% MA en relation	âge de début	Tableau clinique
21	APP	0,4%	45-60ans	MA familiale autosomique dominante
14	PS1	5,6%	35-60ans	MA familiale autosomique dominante
1	PS2	0,1%	35-60ans	MA familiale autosomique dominante
19	ApoE ε4	65%	>55ans	Risque > de MA

- 2001 : ➔ marqueur microsatellite D10S1423 ?
- 2006 : Pas de locus de susceptibilité pour la MA sur le chromosome 10p12-14

Gohlke H et al. Neurobiology of Aging, 2006

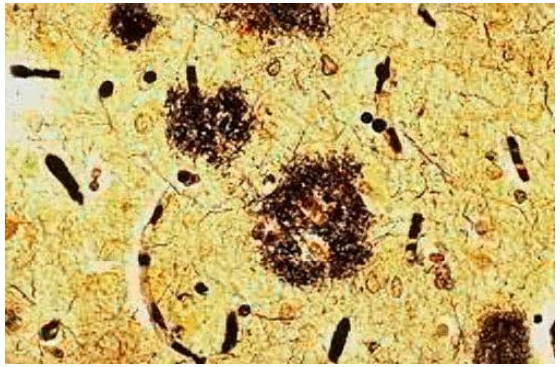
- 2009 : deux nouveaux gènes de prédisposition de la MA: Clusterin (ApoJ) sur le chromosome 8 et CR1, sur le chromosome 1.

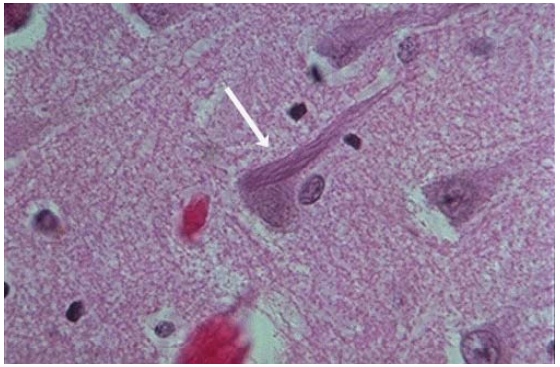
Lambert JC et al. Nat Genet. 2009

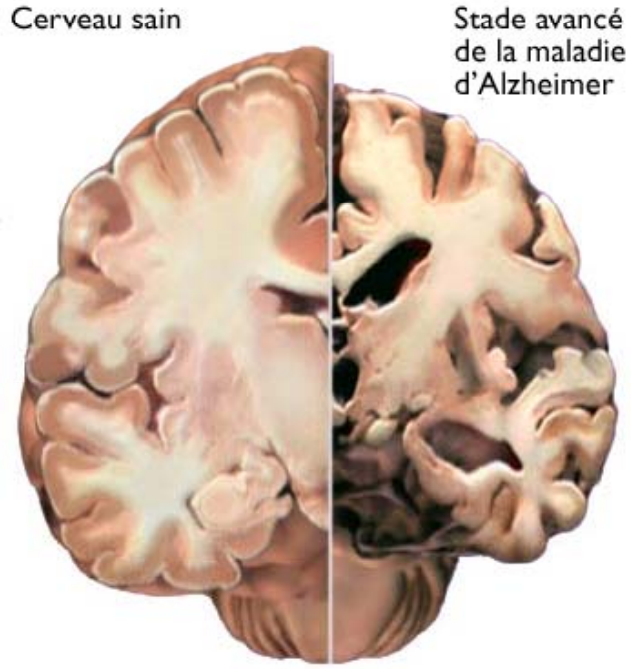
Peu d'intérêt pour le diagnostic prédictif

Lésions caractéristiques

- Plaques séniles (substance amyloïde)
- Dégenérescence neurofibrillaire

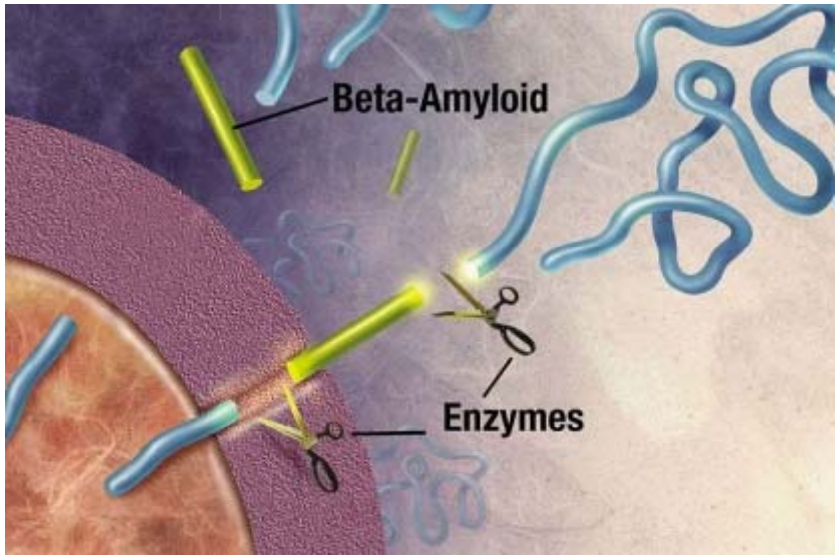


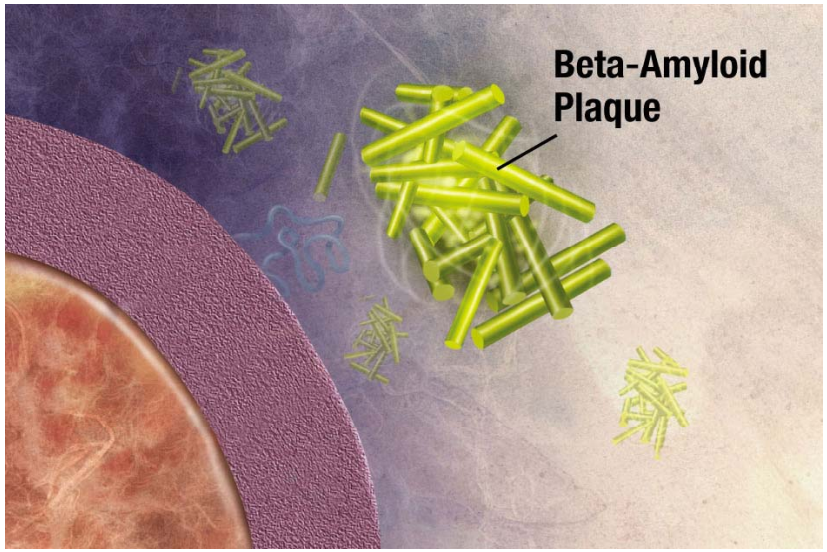




- Mort neuronale massive

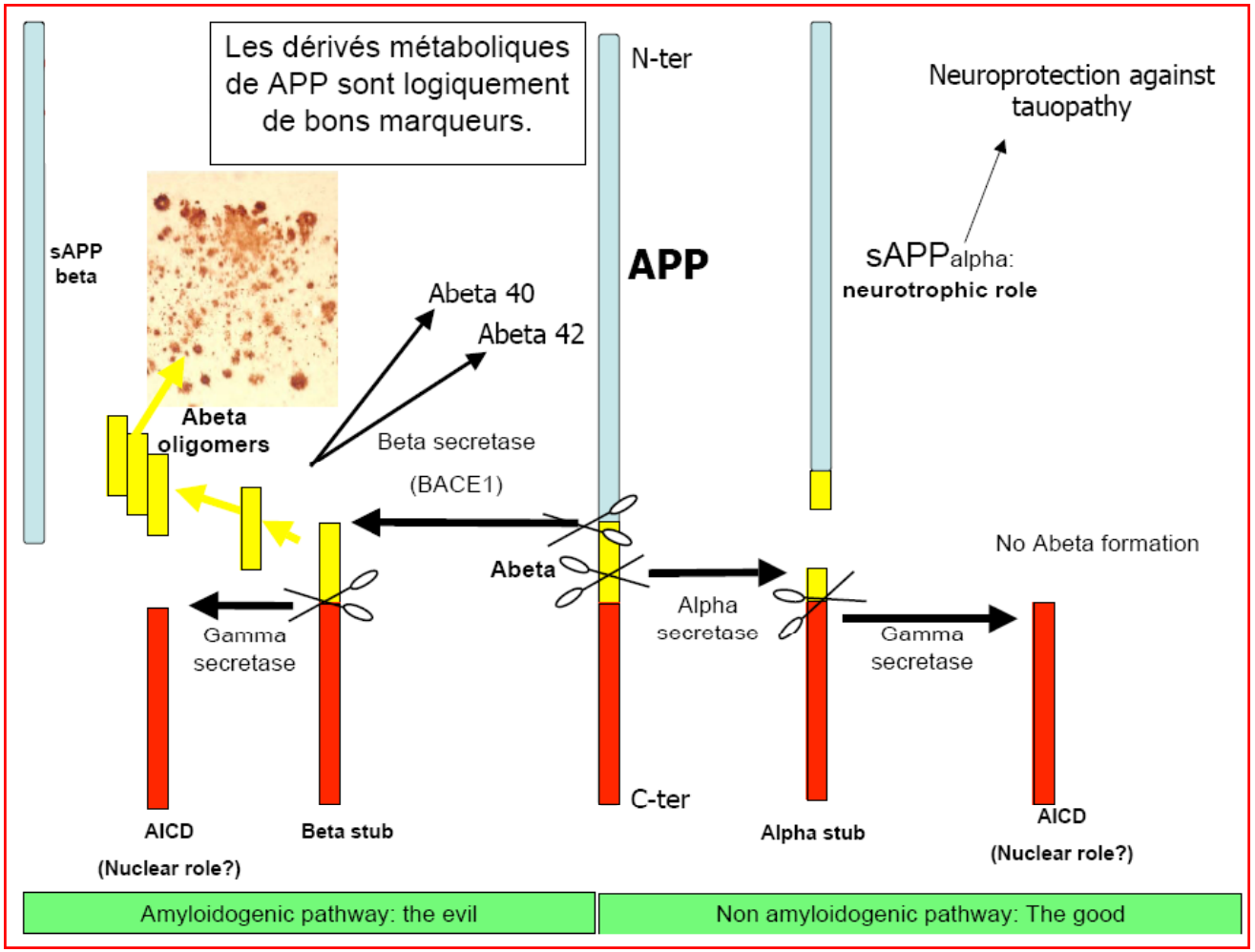
Les peptides amyloïdes





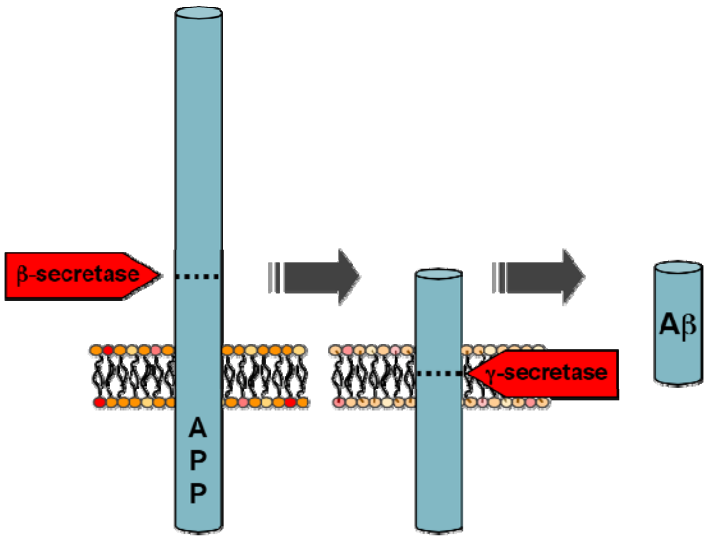
- L'APP (amyloid protein precursor) et clivée par des protéases membranaires (α,β et γ-sécrétase)
- Certaines voies conduisent à la formation de peptides amyloïdogènes

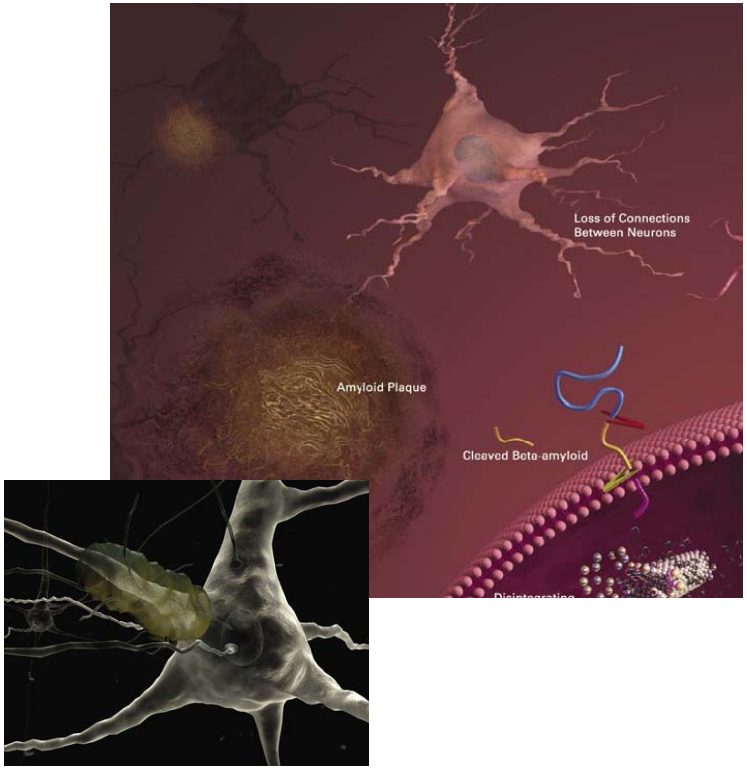
Peptides amyloïdes



Plaques séniles (substance amyloïde) ➔ peptides amyloïdes Aβ 1-40 et ++ **Aβ 1-42**

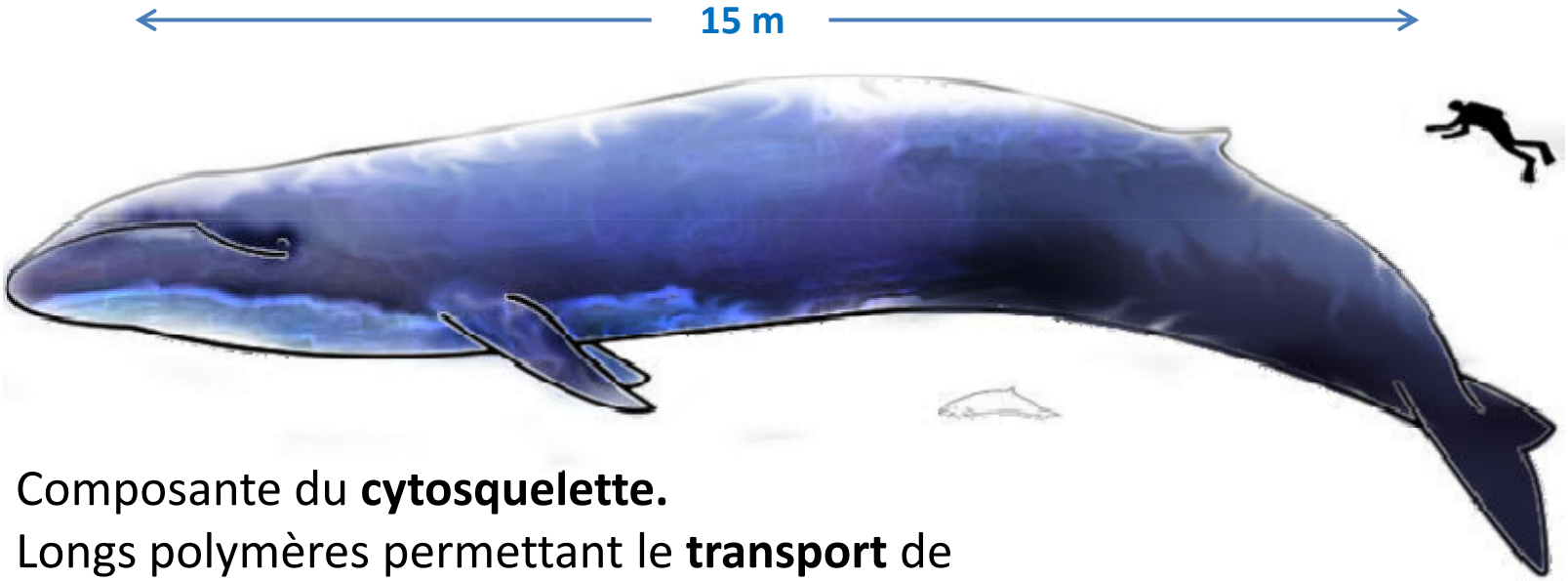
Les peptides amyloïdes





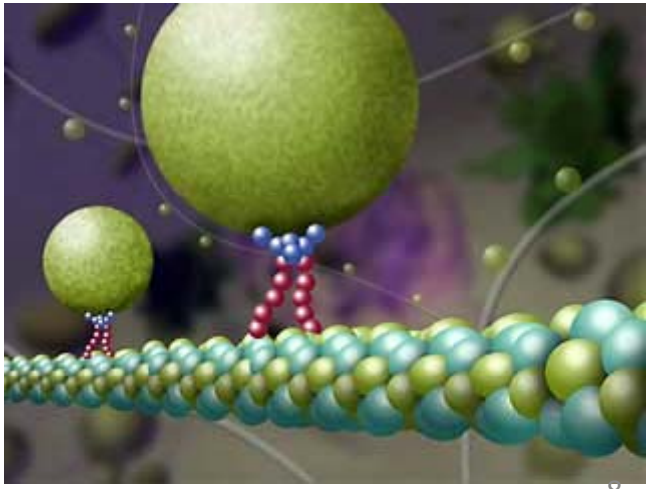
La voie β-sécrétase → γ-sécrétase conduit à la formation de peptides amyloïdes qui peuvent s'accumuler en particulier au niveau des synapses → **mort neuronale**

Microtubules et protéine Tau

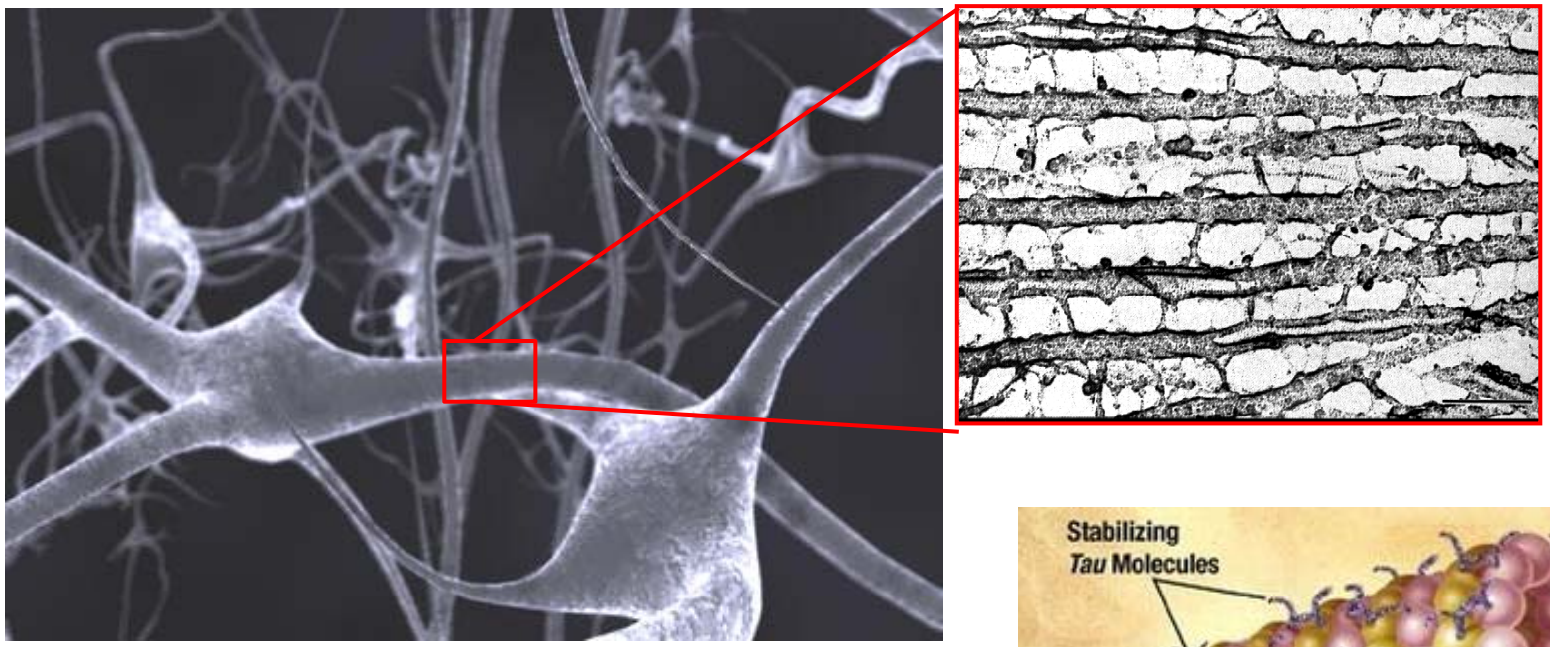


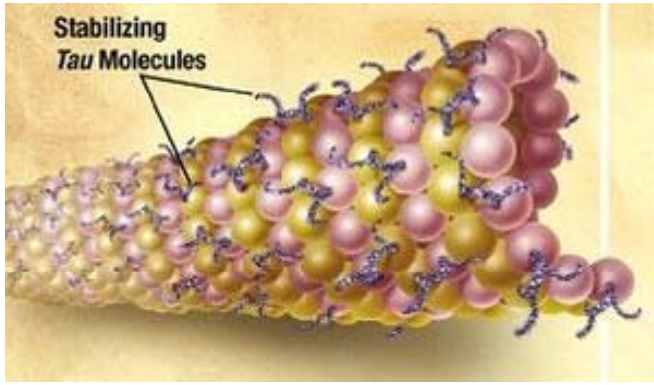
- Composante du **cytosquelette.**
- Longs polymères permettant le **transport** de cargaisons, en particulier du corps cellulaire vers l'**extrémité des axones/dendrites.**

- **Fragiles** !
- **Stabilisés** par des protéines accessoires (MAP2, **Tau**, …) .



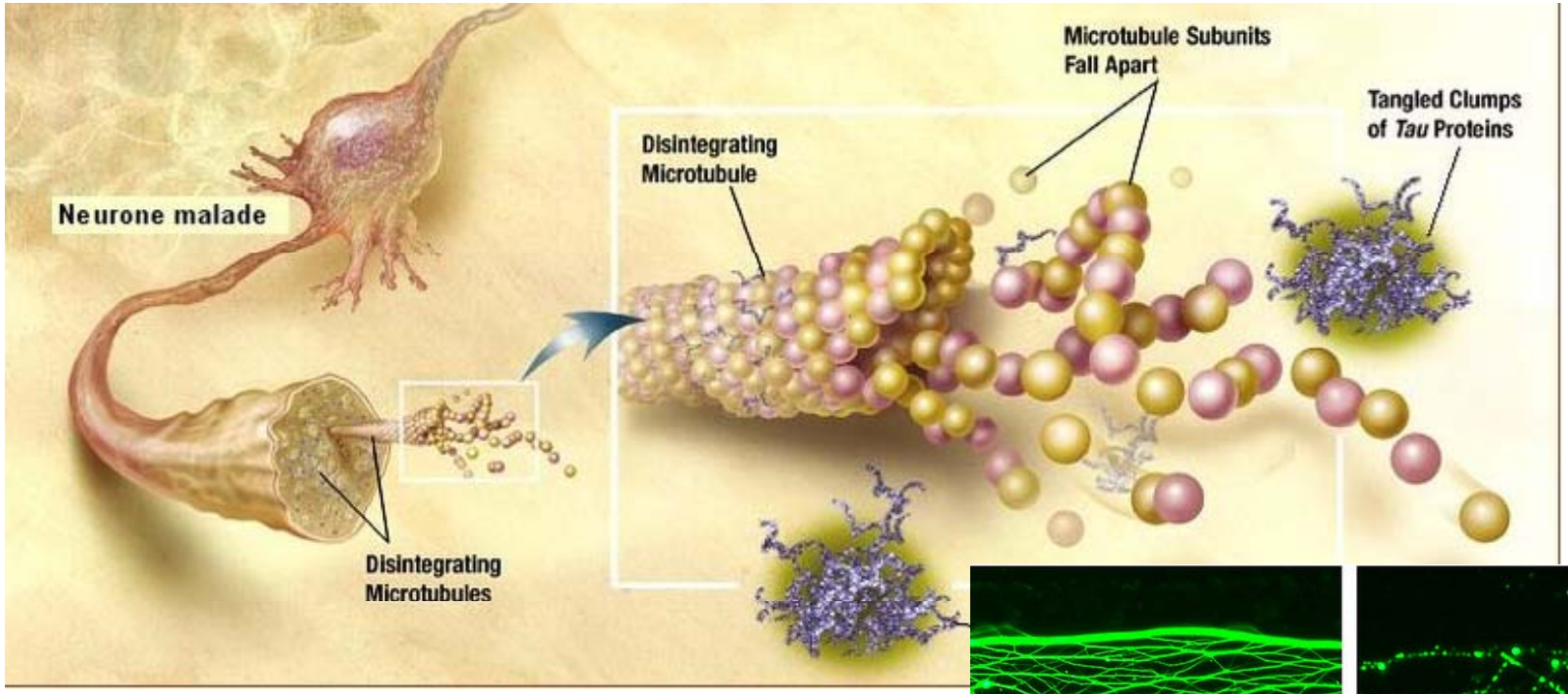
Protéine Tau (Tubulin associated unit)

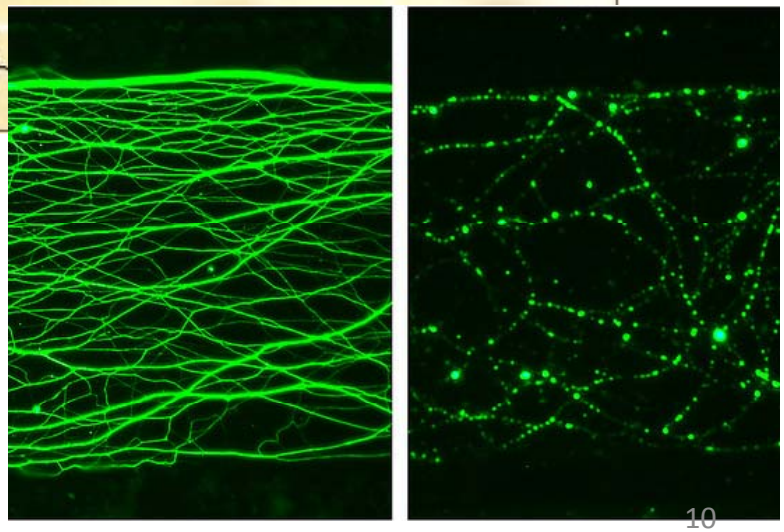




- Protéine associée aux microtubules, particulièrement abondante dans les axones.
- Régulation de sa liaison aux MT par **phosphorylation/déphosphorylation**

Hyperphosphorylation de Tau



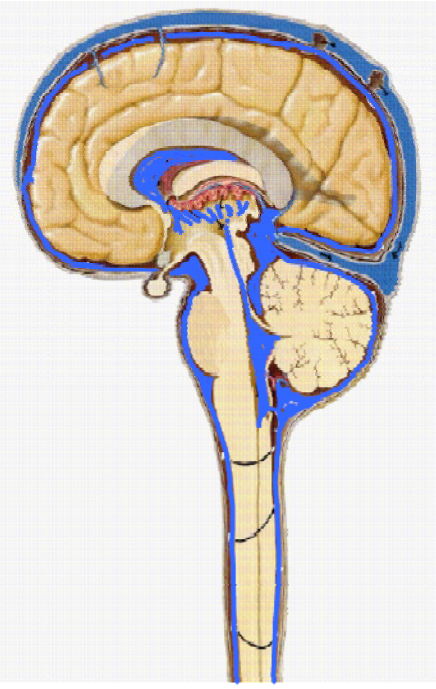


- Dépolymérisation massive et irréversible des microtubules
- Formations **d'agrégats** cytoplasmiques (PHF) résistants à la protéolyse

→ mort neuronale

Recherche de marqueurs spécifiques des lésions histopathologiques de la MA :

Tau, p-Tau et Aβ42 dans le LCR



Marqueurs biologiques ?

- Peptides amyloïdes ++ Aβ 1-42 : piégé dans les plaques séniles (substance amyloïde) : concentration moindre dans le LCR
- Protéine Tau hyperphosphorylée : Dégénérescence neurofibrillaire ➔ formation d'agrégats intracellulaires de PHF mort des neurones : libérée dans le LCR
- Protéine Tau totale : mort neuronale massive ➔ libération de protéines cytoplasmiques « spécifiques » dans le LCR

Ces protéines/peptides se retrouvent dans le liquide céphalo-rachidien

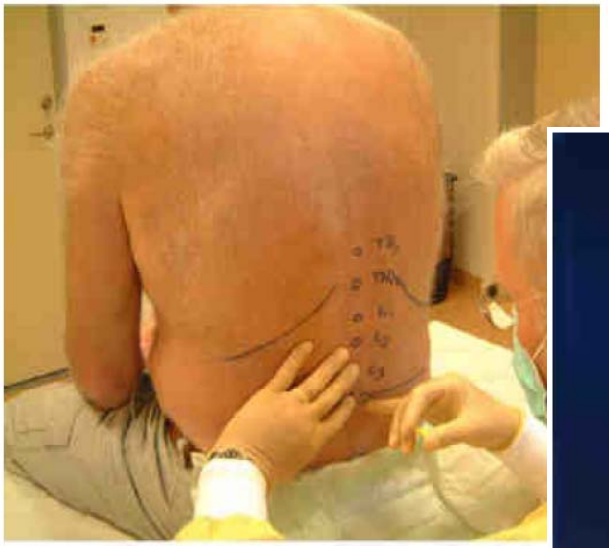
Marqueurs biologiques !

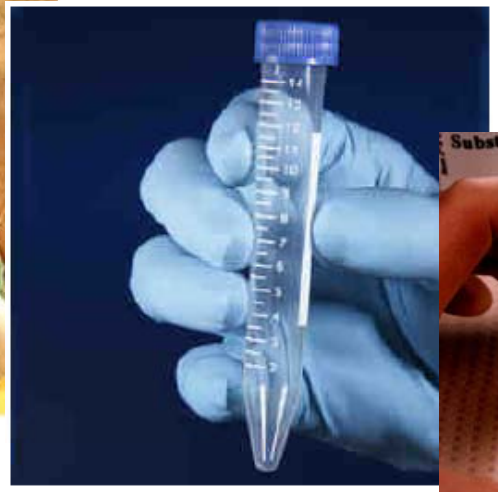
Révision des critères de diagnostic des démences

incluant les paramètres biologiques

(Dubois B, Lancet Neurol 2007; 6: 734–46)

L’analyse de ces trois marqueurs est un élément important pour le diagnostic (précoce) et le pronostic de la MA



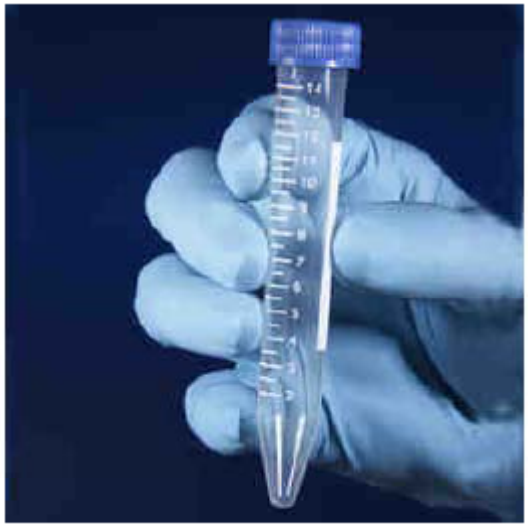


Conditions de prélèvement/acheminement

- PL non traumatique : pas de dosage fiable en cas de piqûre vasculaire (GR > 1000)

Conditions de prélèvement/acheminement

- Tube en **polypropylène**
- Acheminement à température ambiante (maximum quelques heures)
- Centrifugation, aliquotage et stockage à -80°C jusqu'au dosage



Technique de dosage

Kits ELISA Innogenetics®

- 3 ELISA distincts (1 par paramètre)
- ELISAs sandwich utilisant des AcMc, amplification streptavidine/biotine
- Séries de 10 prélèvements
- Dosages en duplicate
- Durée 2j (incubation 12h pour 1 des paramètres)

Réponse en 10-15j, variable en fonction du nombre de prélèvements à traiter.

Tau, Aβ42 et Phospho-Tau : valeurs de référence dans le LCR

Seuils			
Aβ1-42	>	500 pg/ml	
Tau	<	300 pg/ml	(21 – 50 ans)
		450 pg/ml	(51 – 70 ans)
		500 pg/ml	(> 71 ans)
pTau	<	60 pg/ml	

Aβ42, Tau et pTau : grille d'interprétation

Valeurs normales	< 450 pg/ml	>60 pg/ml	>500 pg/ml
Pathologie	**Tau total**	**Tau -181P**	**Aβ1-42**
Sénescence normal	Normal	Normal	normal
Mal. Alzheimer	↗	↗	↘
Dépression	Normal	Normal	Normal
Mal. Parkinson	Normal	Normal	Normal
Démence alcoolique	Normal	Normal	Normal
Dem. fronto-temporale	Normal ou ↗ faible	Normal ou ↗ faible	Normal ou ↘ faible
Dem. Corps Lewy	Normal ou ↗ faible	Normal	Faiblement ↘
Mal. Creutzfeldt-Jakob	↗↗↗	Normal ou ↗	↘
Acc.Vascul.Cérébra	↗↗ transitoire	Normal	Normal
Dem. vasculaire	Données divergentes	Normal	Normal ou ↘

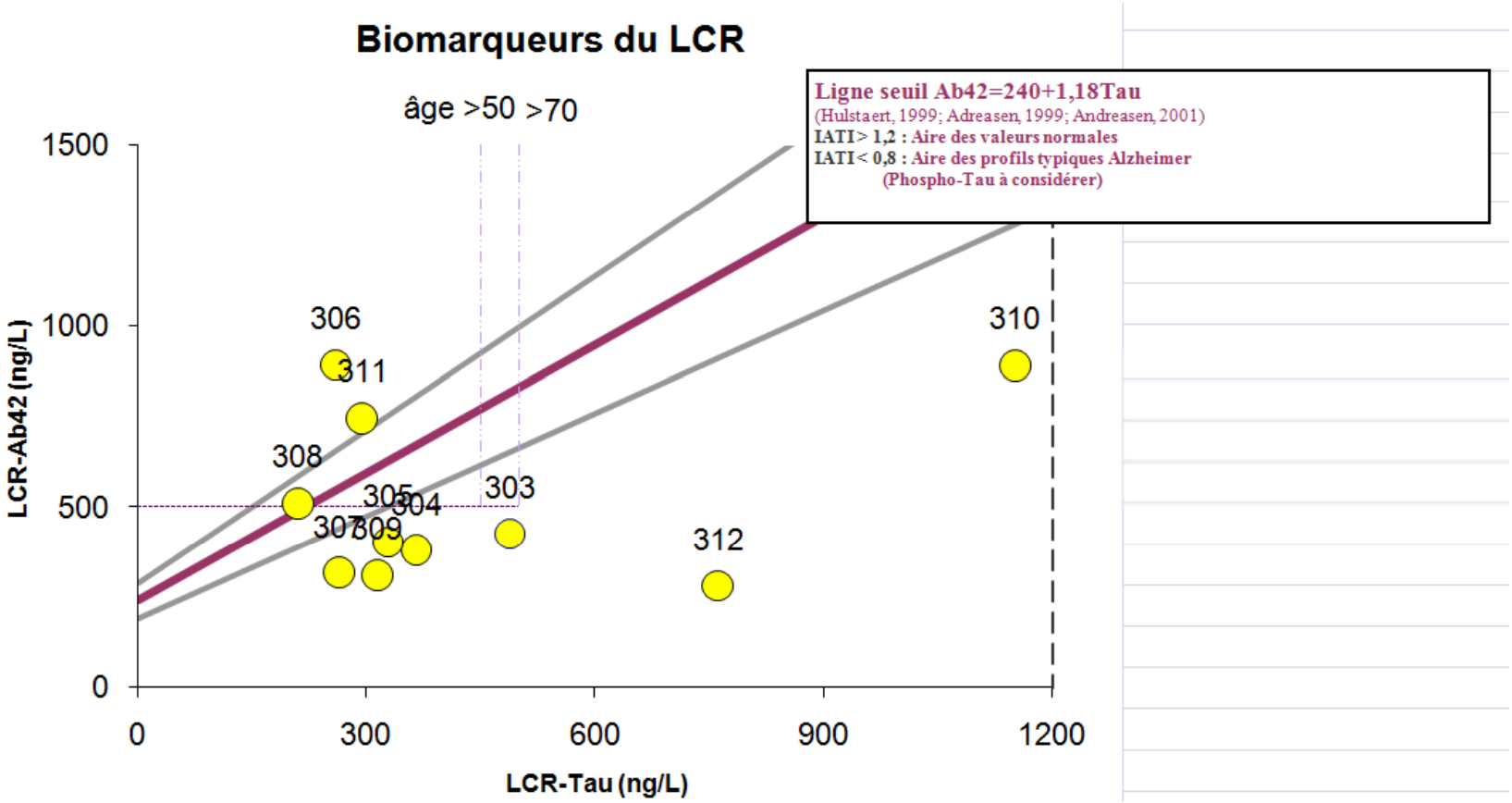
Blennow C, Clin Lab Int, 2001: 8-10

Analyse multivariée

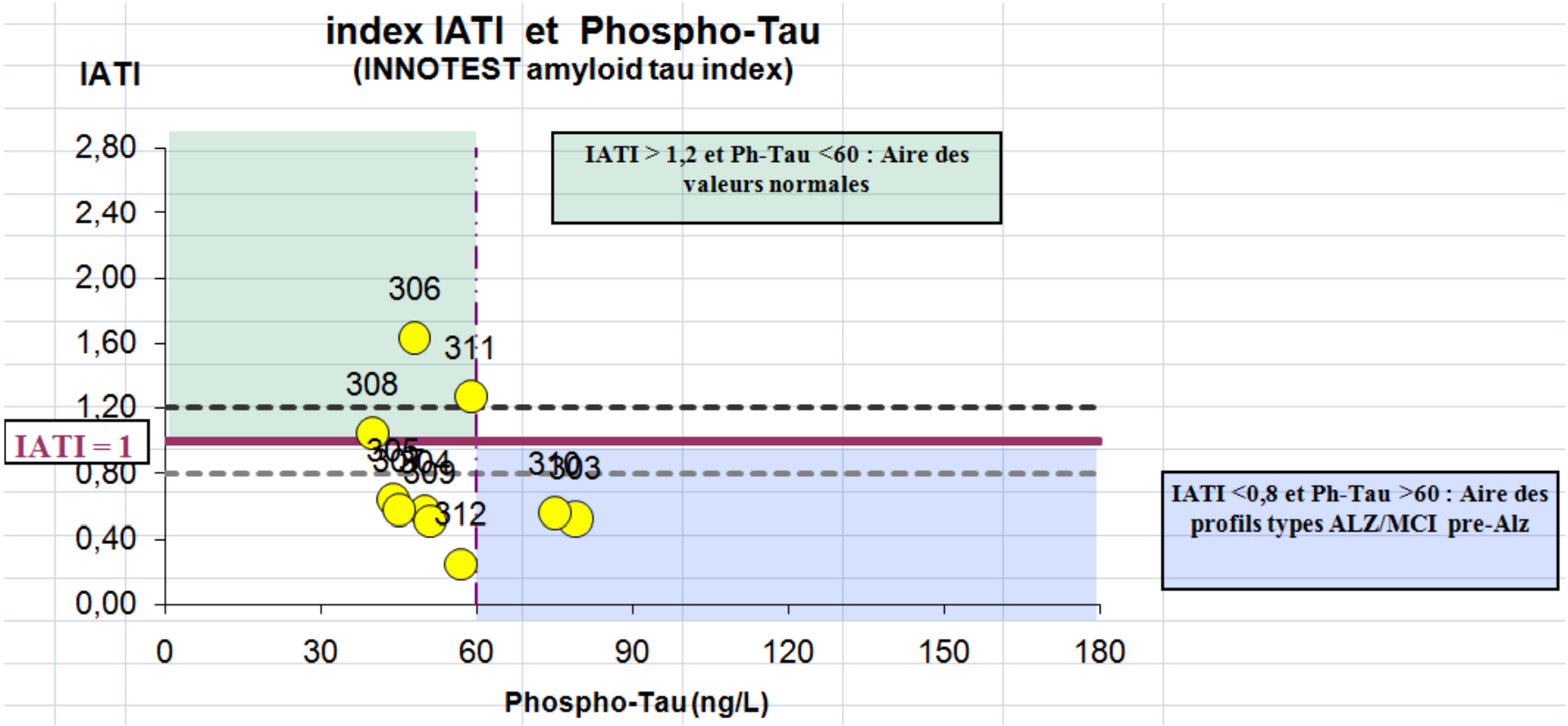
Patient ID	Tau (pg/ml)	Ab42 (pg/ml)	phTau (pg/ml)	IATI
303	488	426	79	0,52
304	365	380	50	0,57
305	328	402	44	0,64
306	259	892	48	1,63
307	264	317	45	0,57
308	210	510	40	1,05
309	314	310	51	0,51
310	1151	890	75	0,56
311	294	745	59	1,27
312	761	280	57	0,25

$$\mathrm{IATI} = \frac{[\mathrm{A}\beta]}{240 + 1.18[\mathrm{Tau}]}$$

Analyse multivariée

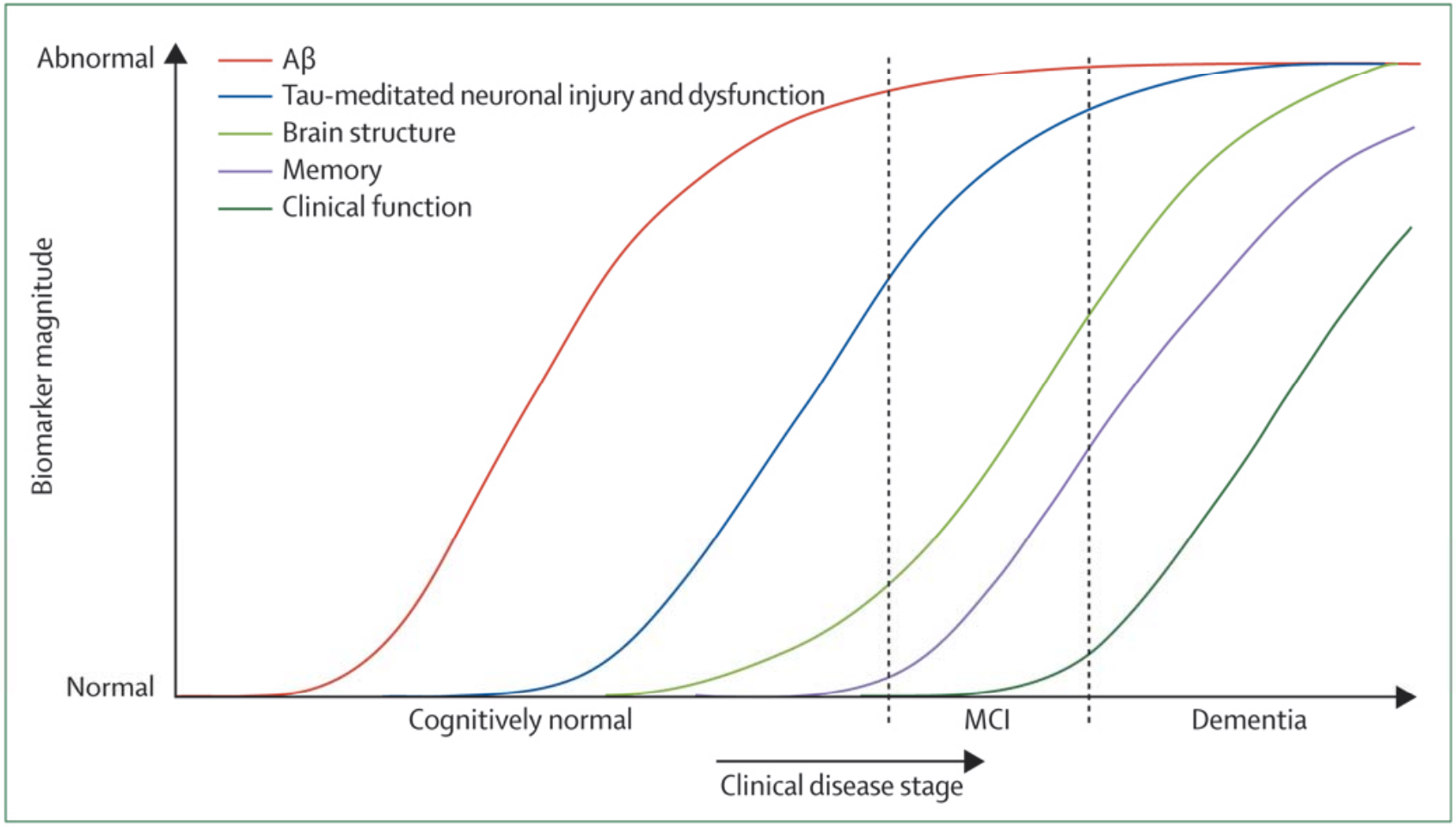


Analyse multivariée



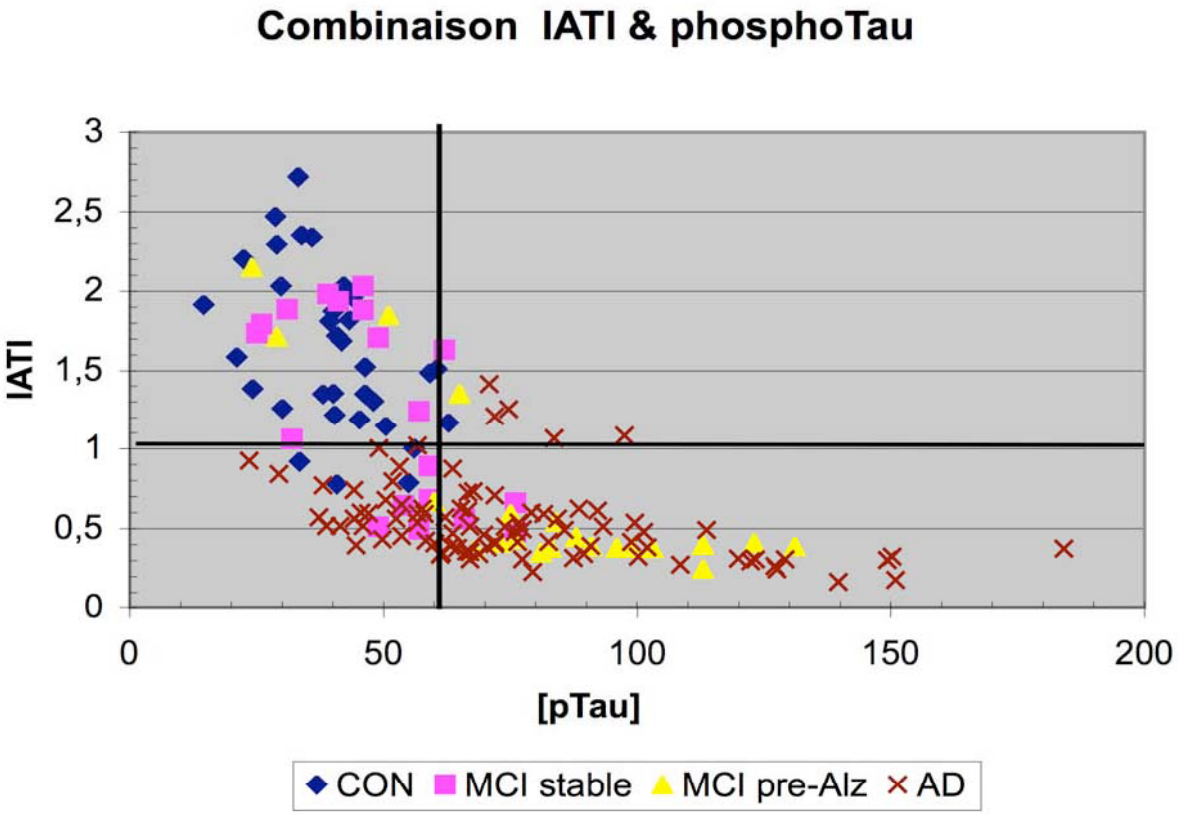
- Se = 90% - Sp = 90% - OR = 17
  (variable selon les études et les cohortes de témoins)

Cinétique d'apparition



Clifford R Jack, Jr, Lancet Neurol. 2010 Jan;9(1):119-28.

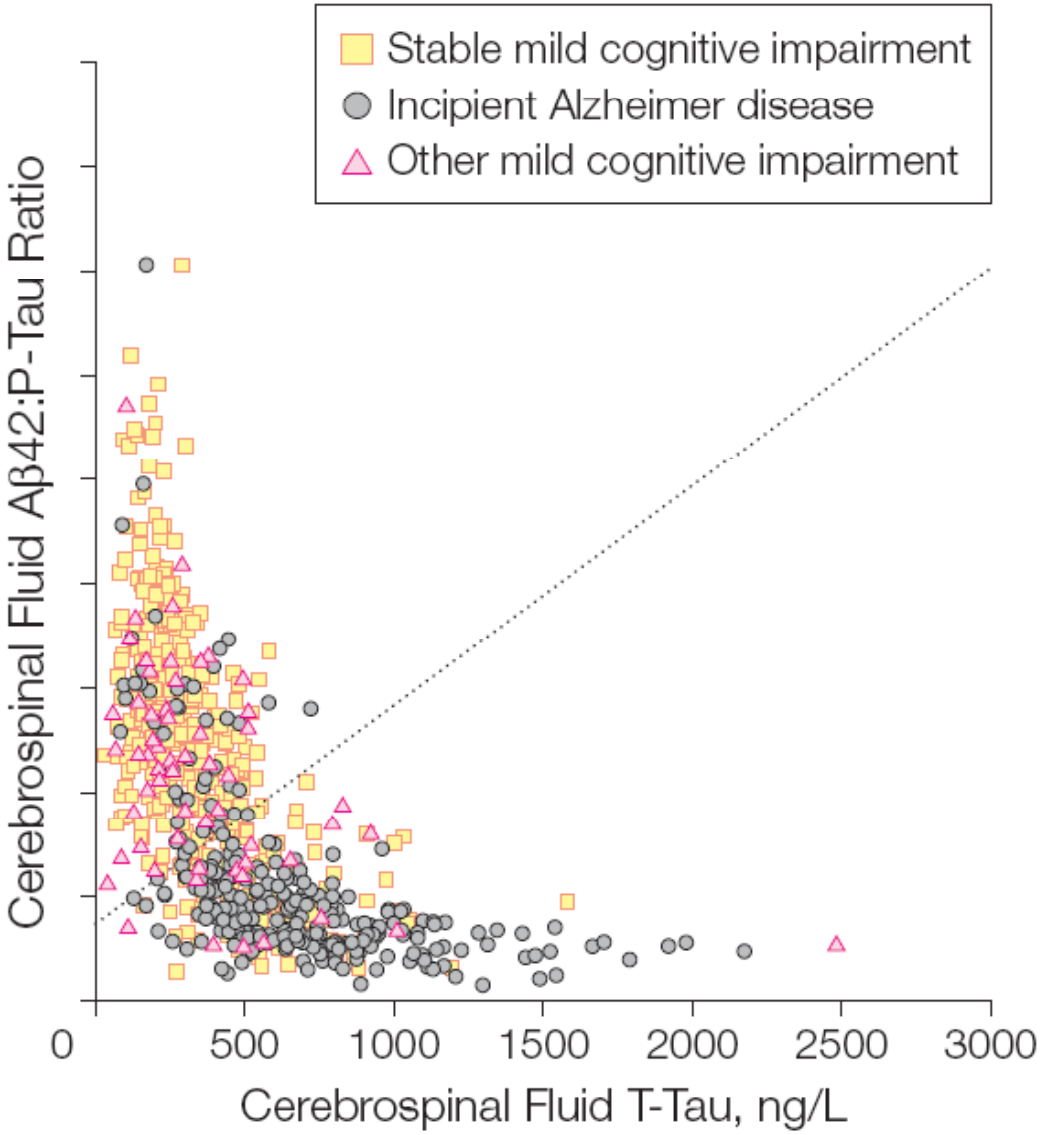
Valeur prédictive : évolution MCI → DTA



La majorité des MCI ayant évolué vers une DTA présentaient un profil comparable aux DTA avérées

Données Innogenetics ®

Diagnostic prédictif

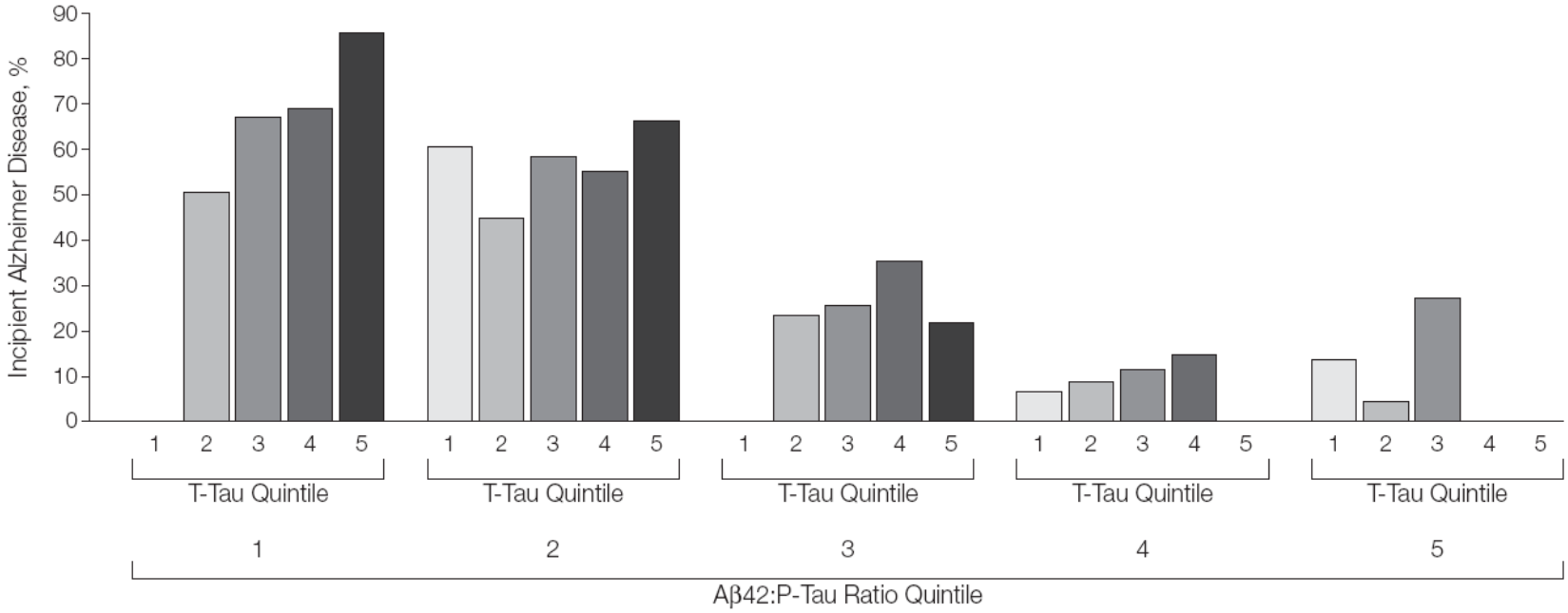


Etude multicentrique (12 centres en europe et aux USA).

750 MCI dont 271 ont évolué vers une MA à 2 ans

Mattsson N. JAMA ; oct 2009

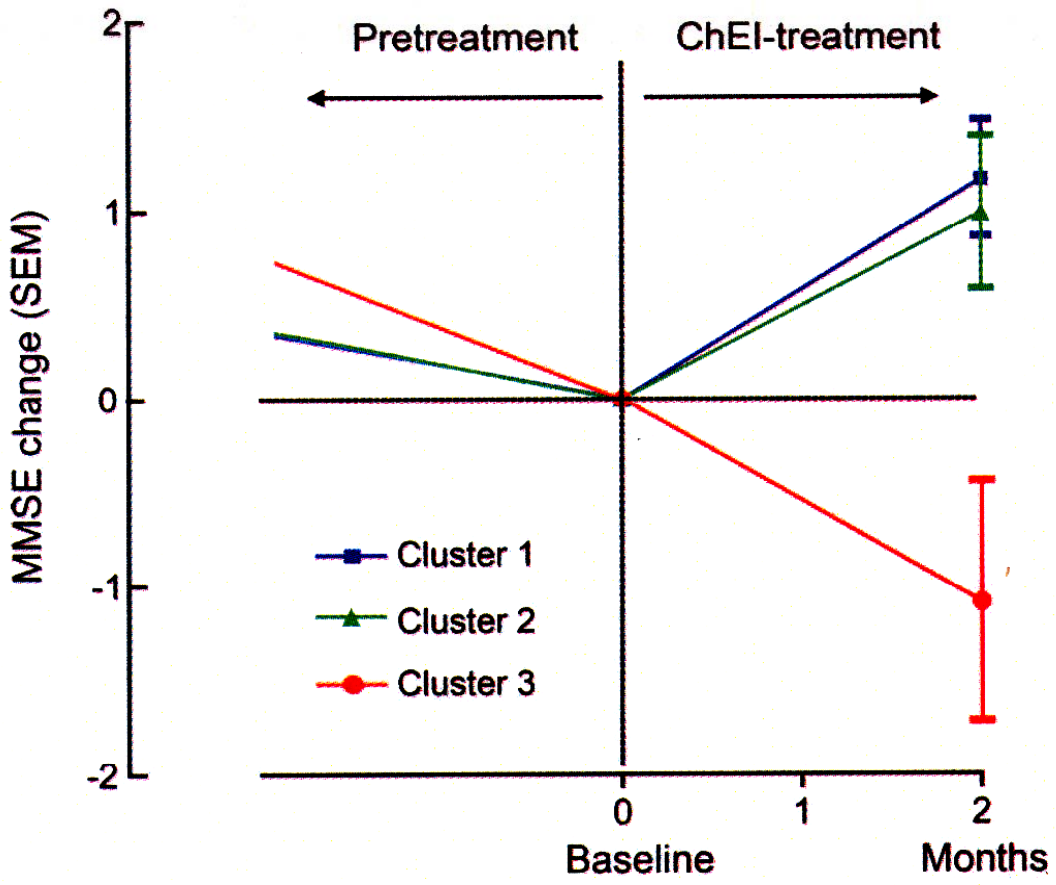
Valeur prédictive : évolution MCI → DTA



La concentration de Tau, associée au rapport Aβ42/pTau, permet de **prédire l'évolution** d'un trouble cognitif modéré vers une démence de type Alzheimer

Mattsson N, JAMA. 2009 Jul 22;302(4):385-93.

Valeur pronostique



- Tau et pTau prédisent un déclin **plus rapide** des fonctions cognitives (MMSE).
- Aβ42, Tau et pTau permettent de prévoir **l'efficacité** potentielle des **anti-cholinestérase**

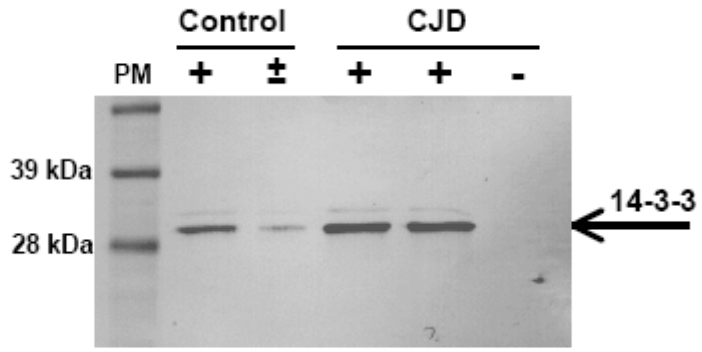
Wallin AK, Neurology 2010 74:1531-1537

MCJ ?

« A **diagnostic sensitivity of 94%, a diagnostic specificity of 90%, and a positive predictive value of 92%** were achieved for **tau-protein** at a cut-off of 1,300 pg/mL. These results are **comparable with those of the 14-3-3 immunoblot**. »

Tau protein and 14-3-3 protein in the differential diagnosis of Creutzfeldt–Jakob disease. M. Otto, MD, J. et al. *Neurology* 2002;58:192-197

14-3-3 proteins (Creutzfeldt-Jakob)



Valeur diagnostique précoce pour la MCJ

- Une concentration de protéine **Tau > 1300 pg/ml**, avec des valeurs normales ou à la limite de la normale de pTau et Aβ42 constitue un **marqueur plus efficace et précoce** de la MCJ sporadique que la recherche des protéines 14-3-3.

Marqueur	Tau	14-3-3
PPV (%)	93	87
NPV (%)	93	88

Pennington C. Neurosci Lett. 2009, 455(1):56-9.

Conclusions

- La recherche de Aβ1-42, Tau et pTau dans le LCR constitue une aide au **diagnostic (précoce) et au pronostic de la MA**.
- La protéine Tau dans le LCR est le **meilleur marqueur biologique de la MCJ**, même aux stades **précoces**.

Mais…

- La **standardisation** des méthodes reste un problème majeur, en particulier pour la comparaison des résultats des différentes études (*Teunissen CE, Int J Alzheimer Dis. 2010*)
- Il n'existe pas encore de « **disease modifying drugs** » qui justifieraient le diagnostic systématique du type de démence (**?**).

Perspectives

- Aβ1-40

La production de peptides Aβ est **très variable** d'un individu à l'autre.

Le peptide Aβ1-40 est de très loin le plus abondant dans les LCR et peut donc servir **d'étalon** pour évaluer l'amyloïdose.

Une valeur isolément élevée ou faible de Aβ1-42 pourra être corrigée en fonction de **l'activité globale des sécrétases**.

309	314	310	51	0,51

Perspectives

- Collections et recherches de nouveaux marqueurs.
- À Toulouse, nous gérons avec nos collègues cliniciens, plusieurs projets prospectifs dans le but de trouver de nouveaux biomarqueurs dans le sang, le sérum ou le plasma (collaboration avec **l'IRIS**, projet multicentrique **MAPT**, …)
- Nous disposons par ailleurs d'une collection de plus de **2200 LCR** qui peuvent être valorisés sur la demande de chercheurs (cliniciens ou fondamentalistes).
- Plusieurs projets sont actuellement en cours (**FKBP52** – EE Baulieu)