



UNIL | Université de Lausanne

Faculté de biologie  
et de médecine

TRAVAIL DE MASTER EN MÉDECINE

# **Maladie d'Alzheimer : Etude des marqueurs pathologiques dans le cortex frontal humain et corrélations anatomocliniques**

---

Freymond Jean-Marie

Décembre 2012



Département de Psychiatrie, Centre de Neurosciences psychiatriques, site de Cery, 1008 Prilly

Tuteur du travail de Master : Dr Geneviève Leuba Gfeller (PD, MER)

Expert : Dr Armand Savioz (PD)

## Résumé

La maladie d'Alzheimer (MA), forme de démence la plus fréquente, est caractérisée précocement par des troubles de la mémoire, puis par une détérioration cognitive progressive, corrélée avec la progression des lésions cérébrales que sont les dépôts de protéine  $\beta$ -amyloïde, notamment dans les plaques séniles, et la dégénérescence neurofibrillaire qui touche en priorité les grands neurones pyramidaux de l'hippocampe et du cortex cérébral. La perte ou les dommages synaptiques sont aussi prépondérants et conduisent à la mort neuronale et à la perte de réseaux fonctionnels notamment au niveau des protéines présynaptiques comme la synaptophysine et postsynaptiques comme PSD-95 (Leuba et al. 2008), ainsi que des récepteurs NMDA (NMDAR) liés à PSD-95 et jouant un rôle prédominant dans le fonctionnement synaptique. Notre étude s'est portée sur une des régions du cortex frontal correspondant à l'aire de Brodmann 10, encore peu étudiée dans la littérature scientifique, qui peut être touchée de manière plus ou moins importante dans la MA, entraînant des troubles de l'humeur et du comportement ainsi que des répercussions sur les fonctions exécutives. L'étude a pour but d'identifier et de quantifier les dépôts de protéine  $\beta$ -amyloïde et les lésions neurofibrillaires ainsi que les changements de protéines synaptiques et de récepteurs NMDA dans cette région entre une population contrôle et AD, et de la comparer avec d'autres régions déjà partiellement étudiées dans le laboratoire, notamment l'aire 9 qui lui est adjacente et les aires cingulaires 24 et 25. L'analyse est faite de manière qualitative et semi-quantitative au microscope optique sur des coupes colorées avec des méthodes immunohistochimiques. De possibles corrélations anatomo-cliniques sont recherchées dans les cas AD.

La région FC10 est touchée par la MA avec une présence de plaques séniles et de dégénérescences neurofibrillaires plus marquées chez les cas atteints de la MA ce qui n'est pas le cas des protéines synaptiques. Le comportement des deux marqueurs pathologiques dans FC10 est comparable aux autres régions cérébrales étudiées notamment à la région adjacente, FC9, contrairement aux marqueurs synaptiques qui selon la région ont un comportement plus variable. L'effet de l'âge dans l'évolution de la physiopathologie de la MA pour les marqueurs pathologiques a été mis en évidence dans la région FC10. Les régions EC et FC9 n'ont pas montré de microhémorragie synonyme d'une possible contribution vasculaire.

L'étude de cette région a permis de mettre en évidence l'implication de FC10 dans la MA. Elle montre des points communs avec les autres régions cérébrales notamment vis-à-vis des plaques séniles et des DNF.

## Abstract

Alzheimer's disease (AD), the most common form of dementia, is precociously characterized by memory disorders, followed by a progressive cognitive deterioration, correlated with the progression of cerebral lesions, i.e. deposits of  $\beta$ -amyloid protein located notably in senile plaques, and neurofibrillary tangles which mainly affect the large pyramidal neurons of the hippocampus and the cerebral cortex. The loss or the damage of the synaptic connections are also extensive and lead to neuronal death and to the loss of functioning networks, particularly with presynaptic proteins such as synaptophysin and postsynaptic proteins like PSD-95 (Leuba et al., 2008), but also NMDA receptors (NMDAR) associated with PSD-95 and the ones playing a key role in synaptic functioning. Our study focused on one of the regions of the frontal cortex namely the Brodmann area 10, a region very little studied to date by the scientific community, which can be affected more or less importantly in AD, resulting in mood and behavior disorders as well as causing a strong impact on executive functions. The study aims to identify and quantify  $\beta$ -amyloid protein deposits, neurofibrillary lesions along with the change of synaptic proteins and NMDA receptors in this region between AD cases and a control population, so that a comparison can then be made with other regions that were already studied partially in the laboratory, especially area 9 which is adjacent to the one studied and cingulate areas 24 and 25. The analysis is applied in a qualitative and semi-quantitative way using optical microscopy on stained sections that were prepared by immunohistochemical staining methods. Possible clinicopathological correlations are focused on in AD cases.

The FC10 region is affected by AD with the presence of senile plaques and more pronounced neurofibrillary tangles, whereas this is not the case with synaptic proteins. The behavior of the two pathological markers FC10 is comparable to the studies done on other brain regions, including the adjacent area FC9, contrary to the synaptic markers, where variable behavior is exhibited depending on the region. The effect of aging in the evolution of the pathophysiology of AD pathological markers was highlighted in the FC10 region. The EC and FC9 region did not show micro-hemorrhages, a sign of the contribution of vascular damage.

The study of this region has highlighted the involvement of FC10 in AD. It illustrates similarities with other brain regions particularly in the case of senile plaques and NFT.

# Tables des matières

Résumé.....	1
Abstract .....	2
1. Introduction.....	4
1.1 Historique .....	4
1.2 Définitions .....	4
1.3 Epidémiologie.....	4
1.4 Clinique et pronostic .....	5
1.5 Diagnostic .....	6
1.6 Physiopathologie .....	6
1.7 Facteurs de risque et de protection .....	9
1.8 Traitements .....	10
2. Background et but du travail.....	11
2.1 Région FC10.....	12
3. Matériel et méthodes.....	13
3.1 Cas étudiés .....	13
3.2 Méthodes immunohistochimiques .....	14
3.3 Analyse au microscope optique .....	14
3.4 Analyse semi-quantitative de la région FC10.....	14
3.5 Analyse statistique .....	15
4. Résultats .....	15
4.1 Analyse qualitative et montages .....	15
4.2 Analyse semi-quantitative et analyse statistiques de la région FC10 .....	21
5. Discussion.....	32
5.1 Pathologie et rôle de la région FC10 .....	32
5.2 Spécificités des régions préfrontales FC9 et FC10.....	34
5.3 Rôle de l'âge dans la MA .....	35
6. Conclusion générale .....	36
7. Remerciements.....	37
8. Bibliographie.....	38

# 1. Introduction

## 1.1 Historique



Figure 1. Alois Alzheimer

En 1906, Alois Alzheimer (1864-1915), médecin allemand, découvre la maladie qui portera son nom en mettant en évidence grâce à une coloration à l'aniline et à des imprégnations argentiques, des lésions spécifiques, les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires, dans le cerveau d'une de ses patientes décédée qui présentait de son vivant des troubles cognitifs.

## 1.2 Définitions

La maladie d'Alzheimer (MA) est une forme de démence ; la plus fréquente de l'âge avancé.

Selon la **CIM-10** (10e classification internationale des maladies), les critères de démence sont les suivants :

Déficit de mémoire et d'au moins une autre fonction cognitive qui se péjore avec le temps

Les déficits sont suffisamment importants pour interférer avec la vie quotidienne

Il existe un changement du comportement émotionnel et/ou social, du niveau de motivation

Les troubles existent depuis au moins 6 mois

Il n'y a pas de trouble de la vigilance

Il existe cependant d'autres classifications pour la démence, notamment la classification DSM IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) et la classification CDR (*Clinical Dementia Rating*).

La classification DSM IV a comme critères des troubles de la mémoire, des troubles des fonctions exécutives, des troubles du langage, des troubles praxiques et une agnosie, responsables de répercussions négatives sur la vie sociale et professionnelle. L'évolution est progressive et irréversible et les troubles cognitifs ne s'expliquent pas par une autre maladie.

La classification CDR évalue 6 critères : la mémoire, l'orientation, le jugement et la résolution de problèmes, l'activité sociale, les activités à la maison et les loisirs ainsi que les soins personnels. Le score CDR indique la présence ou non d'une démence et le degré de sévérité (CDR 0 = absence de démence ; CDR 0.5 = démence très légère ; CDR 1 = démence légère ; CDR 2 = démence modérée ; CDR 3 = démence sévère).

## 1.3 Épidémiologie

En 2011, en Suisse, selon l'Association Alzheimer Suisse, 107'000 personnes étaient atteintes de la MA ou d'une autre forme de démence. Le vieillissement de la population et le fait que l'âge constitue le facteur de risque principal de la MA, laisse prévoir une augmentation du nombre de malades dans les années à venir. D'ici 10 ans, ce nombre pourrait atteindre 150'000 et tripler d'ici 2050.

Une étude (**Kraft et al. 2010**) rapporte que les coûts pour la MA constituent 6,3% du budget pour la santé en Suisse sur une année soit 6,26 milliards de CHF. L'institutionnalisation des patients et leur prise en charge par l'entourage (famille, amis) représentent respectivement 48% et 44% des dépenses totales soit >90% à elles deux.

Le nombre important et croissant d'individus atteints par la MA lié à une augmentation des coûts de la santé, pose un problème de santé publique qui nécessite notamment des interventions des autorités politiques et du milieu médical afin d'y faire face aussi bien dans le présent que dans le futur.

#### 1.4 Clinique et pronostic

La maladie progresse avec le temps et les symptômes se péjorent. On différencie 3 stades dans l'évolution de la MA (**Association Alzheimer Suisse Neuchâtel, 2006** : <http://www.alzheimer-schweiz.ch/ne/html/alzheimer+29.html>).

##### Stade précoce

Le patient a des troubles de la mémoire à court terme. Il oublie ainsi son rendez-vous chez le médecin. Il présente également des troubles de l'orientation dans l'espace dans des lieux qu'il ne connaît pas, ainsi que des troubles de l'orientation dans le temps qui se manifestent par un oubli de la date et de l'heure. Des troubles du langage apparaissent, notamment une difficulté à trouver les mots et une tendance à moins parler. Le besoin d'activité physique augmente. Si on s'y oppose, on est confronté à une réaction agressive de sa part. Le patient se referme sur lui-même avec un possible état anxieux et/ou dépressif.

##### Stade modéré

Les symptômes s'aggravent. La perte de mémoire progresse si bien que le malade oublie le nom des membres de sa famille ou de ses amis ainsi que le déroulement de sa journée. Il se perd dans des endroits qu'il connaît comme dans son propre appartement. Il peut quitter ce dernier et ne plus retrouver le chemin du retour. Il oublie maintenant aussi le mois de l'année et la saison. La communication devient très difficile. En effet, sa capacité à nous comprendre diminue. C'est d'autant plus problématique que le malade devient dépendant dans les activités de la vie quotidienne. En effet, se laver, manger, s'habiller etc. devient possible uniquement grâce aux indications qu'on lui donne.

##### Stade avancé

Le patient a maintenant des troubles de la mémoire à long terme. Il oublie donc son passé, ses souvenirs et les gens qu'il a connus. Il ne parle presque plus. La prise des repas est un réel problème. En effet, le malade a des problèmes de mastication, de déglutition et de fausses routes avec un risque de broncho aspiration et de pneumonie. Il devient aussi plus fragile face à de simples infections comme la grippe et les infections urinaires qui peuvent lui être fatales. Il devient également incontinent et multiplie les chutes. Pour finir, il ne marche plus. Il nécessite une assistance complète.

La patient atteint de la MA souffre aussi fréquemment de symptômes comportementaux et psychologiques des démences (SCPD) que sont la dépression, l'anxiété, les hallucinations, les délires ainsi que les troubles du sommeil (**Monsch et al. 2008**).

Les symptômes sont multiples et associés à la localisation des lésions dans les différentes régions cérébrales. Les lésions de la région temporale provoquent un syndrome amnésique touchant premièrement la mémoire à court terme et secondairement la mémoire à long terme (mémoire épisodique et mémoire sémantique). Les lésions de la région pariéto-occipitale sont responsables de troubles visio-spatiaux comprenant des troubles de l'orientation dans l'espace et de l'identification visuelle. Les fonctions du langage (parlé et écrit) sont également affectées. Pour finir, les lésions de la région frontale ont pour conséquence des dysfonctions exécutives comprenant des troubles de la capacité de planification et d'abstraction, des troubles du jugement et une agnosie. Il y a également des troubles praxiques (gestes intentionnels) (**Leuba, 2008**).

Le pronostic est mauvais. En effet, aucun traitement curatif n'existe actuellement pour la MA et l'état de santé du patient décline progressivement conduisant finalement au décès. Selon une étude américaine (**Larson et al. 2004**), la survie moyenne depuis le diagnostic est de 4,2 ans pour les hommes et 5,7 ans pour les femmes.

## 1.5 Diagnostic

(Selon Monsch al. 2000)

Le diagnostic de la MA doit être posé le plus rapidement possible pour démarrer au plus vite un traitement et permettre une meilleure évolution de la maladie.

Le médecin généraliste se trouve en première ligne. Il est confronté à des patients qui oublient leur rendez-vous, ou qui se plaignent de troubles de la mémoire mais aussi à l'entourage du patient qui rapporte des pertes cognitives et des modifications du comportement chez leur proche. L'anamnèse est alors source de précieuses informations. En plus des symptômes de la MA, le médecin doit rechercher des facteurs de risques notamment une anamnèse familiale positive.

Cependant, l'origine des troubles cognitifs peut être multiple : autre forme de démence (vasculaire), trouble psychiatrique (dépression), trouble métabolique (hypo/hyperglycémie), changement dans l'environnement du patient, vieillissement physiologique. Il est donc important de bien identifier l'origine des troubles au risque de prescrire un traitement inadapté.

Le médecin devrait donc faire une anamnèse minutieuse, un examen clinique ainsi qu'un *Mini Mental State Examination* (MMSE) (score entre 0-30 points), questionnaire permettant de détecter des troubles cognitifs. Il pourrait aussi procéder à des examens complémentaires comme une analyse de sang à la recherche d'anomalies de la formule sanguine, de troubles glycémiques, électrolytiques mais aussi vitaminiques (B1, B9, B12) et thyroïdiens.

En cas de doute diagnostique face à une présentation clinique atypique ou face à une situation particulière (patient jeune), le patient peut être orienté dans une clinique de la mémoire où des examens plus spécifiques sont effectués. Des tests neuropsychologiques sont faits afin d'évaluer les capacités cognitives. L'imagerie cérébrale morphologique (CT-SCAN et IRM) permet d'exclure des formes secondaires de démence et de mettre en évidence des lésions macroscopiques comme une atrophie corticale de l'hippocampe (Schuff et al. 2009) tandis que l'imagerie fonctionnelle met en évidence la perfusion sanguine grâce à un marqueur radioactif (glucose le plus souvent). Les régions touchées par la maladie sont alors moins perfusées et moins actives (Büla et al. 2004). Un prélèvement de liquide céphalo-rachidien (LCR) par ponction lombaire permet aussi d'orienter le diagnostic. On y cherche une diminution du peptide  $\beta$ -amyloïde et une augmentation des protéines Tau hyperphosphorylées (Chu, 2012). Cependant, cet examen comporte des risques de complications. On procède également à des tests génétiques dans le cas de forme familiale de la MA.

Cependant, l'examen neuropathologique (postmortem) reste aujourd'hui le seul moyen d'observer avec certitude les lésions typiques de la MA. Il permet de confirmer le diagnostic clinique.

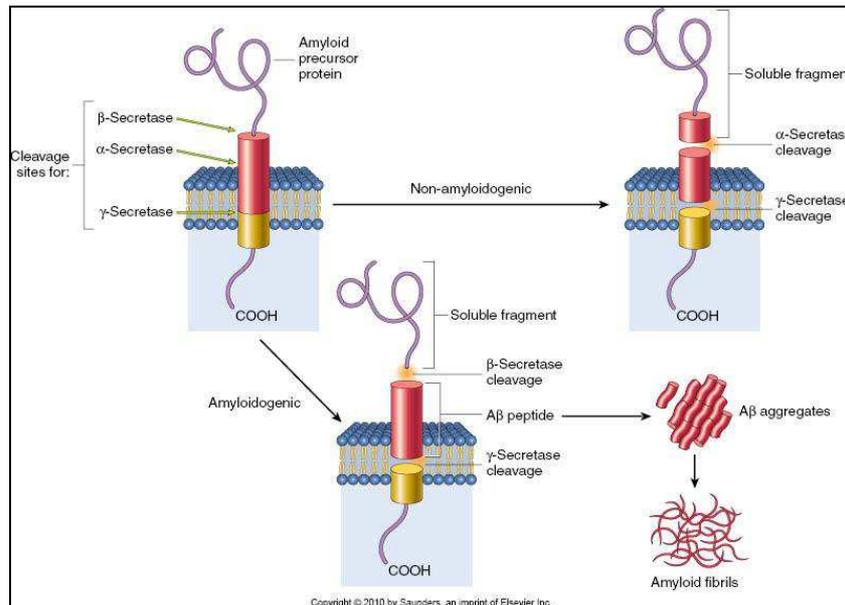
Il ne faut pas oublier de rechercher chez le patient des co-morbidités notamment psychiatriques mais aussi des maladies cardiovasculaires qui peuvent jouer un rôle important dans la MA.

## 1.6 Physiopathologie

Plusieurs mécanismes pathologiques caractérisent la MA.

### Peptide $\beta$ -amyloïde

Le dépôt de peptide  $\beta$ -amyloïde dans le cerveau est un des mécanismes pathologique caractéristique de la MA. Son précurseur (APP/ *amyloid protein precursor*) est scindé par deux enzymes ; la sécrétase  $\beta$  et la sécrétase  $\gamma$ . Il est composé de 36 à 43 acides aminés. Sa synthèse est initialement un phénomène physiologique résultant de l'activité synaptique. La sécrétase- $\alpha$  scinde également ce précurseur mais permet un équilibre car elle inhibe la synthèse du peptide  $\beta$ -amyloïde. Cependant, un déséquilibre entre sa production et son élimination provoque son accumulation extra cellulaire dans le tissu cérébral (Querfurth et al. 2010). La formation des plaques séniles dont la protéine  $\beta$ -amyloïde est le principal composant, se fait en plusieurs étapes. On trouve tout d'abord une plaque primitive composée d'une forme partiellement soluble de  $\beta$ -amyloïde. Par la suite, la plaque devient mature ou neuritique et est constituée d'un noyau fibrillaire de  $\beta$ -amyloïde entouré d'une couronne de neurites dégénérés. Le stade final, la plaque compacte, se caractérise par un unique centre compact de  $\beta$ -amyloïde (Savioz, 2010).

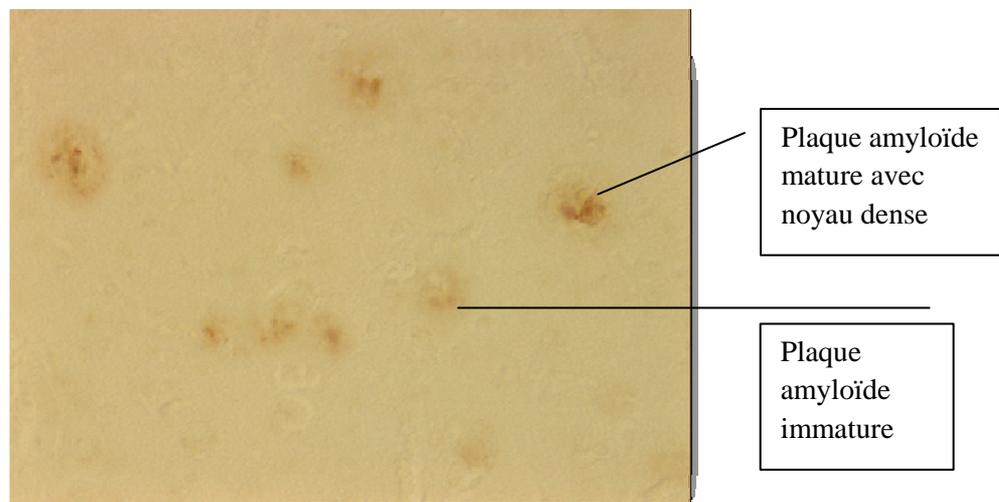


**Figure 2. Physiopathologie du peptide  $\beta$ -amyloïde**

On distingue 3 stades (A-C) (**Braak H., Braak E., 1996**) dans l'évolution de la localisation des dépôts  $\beta$ -amyloïde dans la MA. Dans le stade A, on les trouve dans le néocortex basal. Dans le stade B, ils continuent leur progression et atteignent les aires corticales adjacentes. Pour finir, dans le stade C, c'est tout le cortex qui est touché.

L'hypothèse de la cascade  $\beta$ -amyloïde soutient le rôle central et initiateur du peptide  $\beta$ -amyloïde dans la genèse de la MA. Les mutations génétiques sur les gènes APP, PS1 et PS2, responsables de la forme précoce de la maladie, provoquent une augmentation du peptide amyloïde. Ce dernier s'accumule sous forme d'oligomères, ces derniers étant responsables de la perte synaptique, et sous forme de plaques. Il s'ensuit un état inflammatoire par l'activation de la microglie et des astrocytes ce qui provoque un stress oxydatif et des troubles de l'homéostasie ionique notamment calcique. Ces deux derniers phénomènes perturbent la fonction des enzymes kinase et phosphatase, ce qui initie l'hyperphosphorylation de la protéine Tau avec pour finalité, la dégénérescence neurofibrillaire. La mort des neurones lui succède (**Fotuhi et al. 2009**).

Le rôle attribué au peptide  $\beta$ -amyloïde peut cependant être contesté car on retrouve chez des sujets très âgés épargnés par la MA, des dépôts de peptide  $\beta$ -amyloïde dans le tissu cérébral. (**Leuba et al. 2001**). Sa présence ne serait donc pas un bon marqueur du stade de la maladie.



**Figure 3. Plaques séniles chez un cas AD (n°9), région FC10, couche III**

### Dégénérescence neurofibrillaire et corrélation anatomoclinique

La DNF tient un rôle important dans la pathologie de la MA. On la retrouve dans le cytoplasme cellulaire. La protéine cytosquelettique Tau est en le principal composant. Elle a tout d'abord un rôle physiologique. En effet, elle intervient dans la structure des microtubules (MTs) et dans le transport vésiculaire. Hyperphosphorylée, elle se détache des MTs (**Querfurth et al. 2010**). La protéine Tau évolue ensuite successivement d'une forme oligomère à granulaire puis fibrillaire. La DNF est ensuite suivie de la mort neuronale (**Takashima et al. 2009**).

L'évolution de la DNF est corrélée avec les stades de la maladie. Elle est classée selon les stades de Braak (**Braak H., Braak E., 1996**) qui différencient leur répartition dans le cerveau. Dans le stade I, les DNF se situent dans le cortex transentorhinal et dans la région CA1 de l'hippocampe. Le stade II est lui caractérisé par une progression des DNF. Ces deux premiers stades forment le stade entorhinal. Il y a des troubles de la mémoire à court terme et on parle d'un stade préclinique. Dans le stade III et IV qui correspondent au stade limbique, les DNF ont dépassé le cortex entorhinal et s'étendent à tout le système limbique. Le malade présente à ce moment-là des troubles mnésiques et on parle d'un stade clinique débutant. Les deux derniers stades (stade cortical), V et VI, voient tout le cortex cérébral touché par les DNF. La démence est bien présente. On est au stade clinique.

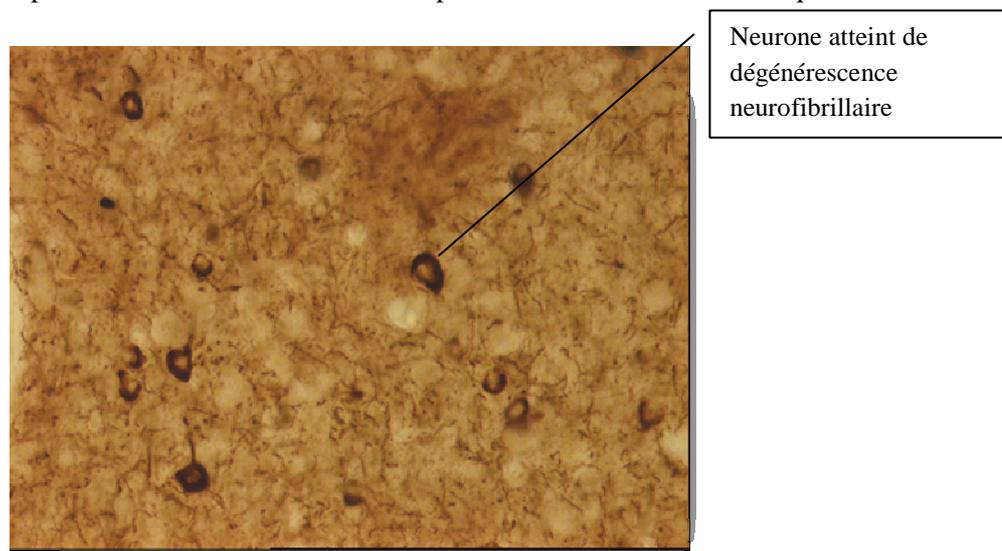


Figure 4. Dégénérescences neurofibrillaires chez un cas AD (n°9), région Fc10, couche III

### Perte synaptique

Les épines dendritiques forment le compartiment postsynaptique et permettent la transmission d'un signal excitateur.

Les oligomères du peptide  $\beta$ -amyloïde sont toxiques pour ces synapses et provoquent leur perte. Dans les deux à quatre ans qui suivent le début de la MA, les régions cérébrales frontales et temporales subissent respectivement une perte de 25% à 35% et de 15% à 35% par neurone (**Davies et al. 1987**). L'hippocampe est rapidement et fortement touché. La perte se situe entre 44% et 55% (**Scheff et al. 2007**). Au début, les synapses réagissent en activant des mécanismes de compensation qui par la suite s'effondrent. Leur perte serait bien corrélée avec le stade de la MA.

### Protéines synaptiques

#### PSD-95

PSD-95 (*postsynaptic density protein 95*) est une protéine du compartiment post-synaptique. On le retrouve aussi au niveau pré-synaptique notamment dans le cervelet (**Hunt et al. 1996**). Son poids moléculaire se situe entre 90 et 95 kDa et se compose de 3 domaines PDZ (PSD-95, Dlg-A, ZO-1), un domaine SH3 (*src homology 3*) et un domaine GK (*guanylate kinase*) (**Hata et al. 1999**).

PSD-95 intervient dans la transmission synaptique et la plasticité synaptique. Il joue aussi un rôle important dans la structure du compartiment post-synaptique. On parle d'une protéine architecturale

(Hata et al. 1999). Il est en contact aussi bien avec des composants membranaires que cytoplasmiques, notamment le récepteur NMDA, des canaux ioniques (canal K<sup>+</sup>), des molécules d'adhérence et de signalisation. Cette connexion permet une meilleure transmission des signaux (Kim et Sheng, 2004).

On trouve dans le cortex entorhinal et dans la région FC9, une augmentation de PSD-95 chez des sujets atteints de la MA ce qui pourrait être un mécanisme de compensation (Leuba et al. 2008).

## NMDAR

*N-Methyl-D-Aspartate Receptor* (NMDAR) est un récepteur glutamatergique situé sur la membrane post synaptique. Il est composé de 4 sous-unités dont il existe plusieurs types : la sous-unité NR1, la sous-unité NR2 qui possède 4 sous-types (NR2 A-D) et la sous-unité NR3 qui en possède deux (NR3 A-B). Chaque sous-unité contient 4 domaines différents : l'ATD (*amino-terminal domain*), l'ABD (*agonist binding domain*), le TMD (*transmembrane domain*) et le CTD (*carboxy-terminal domain*). Le récepteur est composé fréquemment de deux sous-unités NR1 et de deux sous-unités NR2. Ces dernières confèrent des propriétés différentes selon le type de NMDAR, notamment vis-à-vis de l'affinité pour le glutamate et de la probabilité d'ouverture. Pour l'activation du récepteur, il est nécessaire que le glutamate et la glycine se lient simultanément aux sous-unités NR1 et aux sous-unités NR2 respectivement et qu'il se produise une dépolarisation permettant la libération d'ions Mg<sup>+2</sup> initialement liés au récepteur NMDA empêchant son ouverture. Ces conditions réunies, le canal s'ouvre et les ions calciques rentrent dans le compartiment intracellulaire (Traynelis et al. 2010).

NMDAR joue un rôle important notamment dans la plasticité synaptique, la synaptogénèse et dans les processus de mémorisation et d'apprentissage (Traynelis et al. 2010). Il est lié par son domaine cytoplasmique à PSD-95 ce qui permet une meilleure transmission synaptique pour les voies de signalisation cellulaire responsable de la plasticité synaptique (Hata et al. 1999).

La liaison du peptide  $\beta$ -amyloïde au récepteur à l'acétylcholine  $\alpha$ -7 nicotinique provoque une entrée de Ca<sup>+2</sup> qui active la calcineurine, une phosphatase. Cette dernière active à son tour STEP (*striatal-enriched tyrosine phosphatase*), une autre phosphatase qui déphosphoryle pour finir la sous-unité NR2B. Ce mécanisme pathologique internalise NMDAR (Snyder et al. 2005). La transmission synaptique glutamatergique et la plasticité synaptique sont ainsi altérées.

## Synaptophysine

La synaptophysine est une glycoprotéine localisée dans les vésicules présynaptiques. Son poids moléculaire est de 38kDa (Wiedenmann et Franke, 1985). Une étude (Head et al. 2009) chez des sujets de plus de 90 ans a pu mettre en évidence dans le cortex frontal une diminution de cette glycoprotéine chez des cas atteints de démence. Cependant, la synaptophysine présente une augmentation chez des cas présentant des troubles cognitifs mais qui ne rentrent pas encore dans les critères de la démence ce qui pourrait être un mécanisme de compensation transitoire. De plus, il a été mis en évidence que la présence de la synaptophysine est corrélée avec le score du test cognitif MMS.

## 1.7 Facteurs de risque et de protection

Les facteurs de risques de la MA sont nombreux. L'âge est le facteur de risque principal.

### Facteurs génétiques

Il existe plusieurs mutations génétiques responsables d'une forme précoce de la MA qui concerne au maximum 5% des cas de la maladie.

On trouve 28 mutations sur le gène précurseur de la protéine  $\beta$ -amyloïde (*amyloid precursor protein/APP*) situé sur le chromosome 21. Les protéines présénilines 1 et 2 (PS1, PS2) qui se trouvent respectivement sur les chromosomes 14 et 1 sont également porteuses de mutations. On connaît pour PS1, 165 mutations mais seulement 10 mutations pour PS2. Toutes ces mutations ont une caractéristique commune; elles ont pour effet une surproduction du peptide  $\beta$ -amyloïde. Elles se transmettent selon un mode autosomal dominant avec une pénétrance complète sauf PS2 (pénétrance incomplète) (Williamson J., et al. 2009). Le syndrome de Down, caractérisé par 3 chromosomes 21, est aussi un facteur de risque génétique pour la MA. En effet, on retrouve 3 gènes APP au lieu de 2.

L'apolipoprotéine E (APOE) est le principal transporteur de cholestérol dans le cerveau. Elle a également un rôle dans la réparation cellulaire. Cette molécule possède différents allèles qui peuvent être des facteurs de risque ou des facteurs protecteurs selon le type. La présence de l'allèle E4 est un facteur de risque génétique qui multiplie entre 2 et 12x le risque de survenue d'une MA (**Farrer et al. 1997**). APOE4 perturbe ainsi les mécanismes de réparation cellulaire et diminue l'élimination des plaques séniles et des DNF (**Tiraboschi et al. 2004**) (**Drzezga et al. 2009**). Il agit également sur le métabolisme du cholestérol en provoquant une hypercholestérolémie, conséquence délétère vis-à-vis de la MA (voir facteurs de risque cardiovasculaires).

### Facteurs oxydatifs

Le peptide  $\beta$ -amyloïde est notamment toxique pour la mitochondrie ce qui provoque la libération de ses radicaux libres. Ces derniers, délétères pour la cellule sont responsables d'un état de stress oxydatif. Les radicaux libres agissent notamment au niveau de la perméabilité de la membrane cellulaire, des enzymes et du transport de glucose. Ces différents mécanismes provoquent la mort neuronale (**Querfurth et al. 2010**), mais ne sont pas encore complètement élucidés.

### Facteurs inflammatoires

La microglie contribue à éliminer le peptide  $\beta$ -amyloïde. Cependant, son activation prolongée due à l'accumulation de ce peptide, provoque un état inflammatoire par la libération de molécules inflammatoires notamment des cytokines ce qui exacerbe le processus dégénératif (**Akiyama et al. 2000**).

### Facteurs cardiovasculaires

L'hypertension artérielle (HTA), le diabète, le tabac, la sédentarité, l'hypercholestérolémie et l'obésité sont des facteurs de risques cardiovasculaires (FRCV). Ils sont à l'origine de lésions vasculaires cérébrales avec pour conséquence une altération du tissu cérébral et l'apparition d'une démence vasculaire. Chez des patients atteints de la MA, ce processus augmenterait la sévérité clinique de la maladie (**Snowdon et al. 1997**). En effet, la démence vasculaire provoque par exemple une perte neuronale dans l'hippocampe (**Kril et al. 2002**), région cérébrale également affectée dans la MA. On peut en déduire que les FRCV sont communs aux deux types de démences.

### Facteurs psycho-sociaux

Un niveau éducatif et/ou socioprofessionnel élevé est un facteur protecteur. Il permet la constitution d'une plus grande réserve de connexions et de synapses (**Ngandu et al. 2006**). Le début de la maladie et ses symptômes sont ainsi respectivement retardés et diminués.

## 1.8 Traitements

Il n'existe actuellement aucun traitement curatif pour la MA. Les bénéfices thérapeutiques des traitements disponibles sont uniquement symptomatiques. On différencie les traitements pharmacologiques des traitements non-pharmacologiques.

### Traitements pharmacologiques

(Selon le consensus sur le diagnostic et la prise en charge des patients atteints de démence en Suisse, **Monsch et al. 2008**)

Une anamnèse médicamenteuse est tout d'abord nécessaire afin d'identifier et éradiquer d'éventuels médicaments contre-indiqués vis-à-vis de la MA comme les médicaments anticholinergiques qui exacerberaient l'évolution de la maladie ou les psychotropes, responsables de graves effets cardiovasculaires.

Il existe deux types de traitements dits procognitifs qui permettent de diminuer les symptômes de la MA momentanément. Le premier type agit sur le système cholinergique comme inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChE). On a à disposition 3 médicaments: le donépézil (Aricept®), la galantamine (Reminyl®) et la rivastigmine (Exelon®). On en prescrit un pour une durée de 3 à 6 mois dans le stade précoce de la maladie quand le score du MMSE est >10 points. Un traitement précoce permet une meilleure efficacité. La galantamine (Reminyl®) permettrait de gagner entre 2 et 7 mois d'évolution symptomatique (**Raskind et al. 2004**). Dans le stade modéré et dans le stade sévère (score MMSE entre 3-19 points), on utilise la mémantine (Axura®, Ebixa®), qui agit sur le système

glutamatergique en inhibant le récepteur NMDA. Cependant, le patient peut être non répondeur au traitement. Dans ce cas, on procède à un changement d'où la nécessité d'un suivi médical régulier pour contrôler l'évolution (**Monsch et al. 2008**).

Le traitement des symptômes comportementaux et psychologiques des démences (SCPD) consiste avant tout à en rechercher la cause. Une adaptation de l'environnement du patient par exemple peut s'avérer suffisante. Dans le cas contraire, on recourt au traitement médicamenteux. On prescrira un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (SSRI) pour la dépression. La rispéridone (Risperdal®, Risperidon Sandoz®), neuroleptique, est utilisée en cas de symptômes psychotiques (hallucinations) ou en cas d'agitation et d'agressivité. L'utilisation des neuroleptiques doit par contre être prudente. En effet, leur prescription augmente le risque de mortalité en provoquant de graves effets cardiovasculaires. Face à un trouble du sommeil et plus généralement, on veille à ne pas prescrire un médicament avec une action anticholinergique.

L'implication des FRCV dans la MA nécessiterait la mise en place d'un traitement des facteurs de risques afin de les réduire (statines, antihypertenseur, activité physique).

### Traitements non pharmacologiques

Les interventions thérapeutiques non-pharmacologiques jouent un rôle essentiel. Ce ne sont pas des alternatives aux thérapies médicamenteuses. Elles s'y associent.

Le patient a notamment besoin de rester stimulé physiquement et psychologiquement. Ainsi, des activités physiques (gymnastique, promenades), manuelles (cuisine, peinture), interactives (jeux de société, lecture des journaux par un soignant) qui favorisent le contact social avec les proches, le personnel soignant et les autres patients sont bénéfiques. Elles permettent de maintenir plus longtemps certaines capacités aussi bien cognitives que fonctionnelles et donc une autonomie prolongée. Il en est de même pour les exercices qui ont pour but l'entraînement de la mémoire ainsi qu'une adaptation adéquate de l'environnement du patient (logement, organisation de la journée) (**Association Alzheimer Suisse, 2012** : <http://www.alz.ch/index.php/traitements.html>).

La prise en charge du malade comprend aussi le soutien aux proches. En effet, l'accompagnement est difficile pour la famille qui peut s'épuiser. En tant que soignant, nous devons donc pouvoir répondre à leurs questions, être à l'écoute de leurs émotions et savoir les diriger vers les différentes possibilités d'aide (associations, soins à domicile, institutionnalisation). Il est aussi important d'offrir des conditions de travail et une formation adéquates aux équipes soignantes qui sont confrontées à des patients qui deviennent progressivement dépendants et qui peuvent être agressifs à leur rencontre. On diminue ainsi le risque d'épuisement du personnel de soins et le glissement vers des comportements inacceptables de la part de ce dernier (maltraitements des patients) (**Association Alzheimer Suisse, 2012**).

### Espoirs thérapeutiques

De nouveaux traitements sont à l'étude notamment plusieurs vaccins (immunothérapie active ou passive) contre le peptide  $\beta$ -amyloïde ou la protéine Tau (**Delrieu et al. 2012**). Une immunothérapie active, testée chez la souris ciblant la protéine Tau, permet une diminution de cette dernière et une conservation de la mémoire à court terme (**Troquier et al. 2012**). D'autres axes sont explorés notamment dans une étude chez la souris qui démontre l'efficacité du Bexarotène (Targretin®), traitement initialement pour le lymphome cutané à cellules T, qui améliore l'élimination du peptide  $\beta$ -amyloïde et permet un rétablissement des fonctions cognitives (**Cramer et al. 2012**). L'efficacité de ces deux dernières études doit maintenant être testée sur l'être humain.

## 2. Background et but du travail

Il existe de nombreuses études sur l'hippocampe et la région entorhinale responsables de troubles de la mémoire, symptômes qu'on associe souvent à la MA. Cependant, elle atteint également d'autres régions du cerveau notamment le lobe frontal en provoquant des troubles de la capacité de planification et d'abstraction (dysfonctions exécutives), des troubles du jugement et une agnosie. L'étude se porte plus précisément sur la région FC10, encore peu connue que nous décrivons ci-dessous.

## 2.1 Région FC10

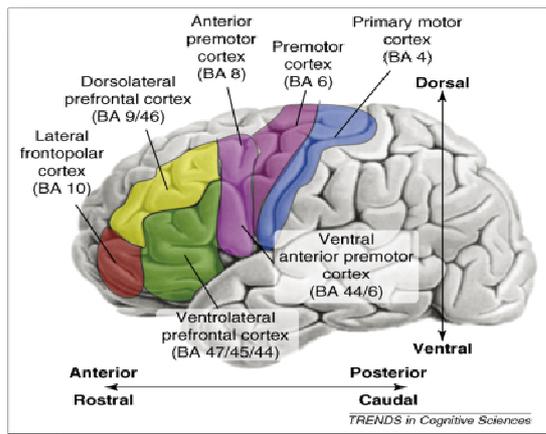


Figure 5. Région FC10 (rouge), Badre D. 2008

La couche I représente 11% de l'épaisseur du cortex. La couche II possède des cellules granulaires et des cellules pyramidales. La couche III, la plus épaisse, associée à la couche II, représentent 43% de l'épaisseur du cortex. Dans la couche III, la taille des cellules pyramidales augmente au fur et mesure qu'on se rapproche de la couche IV. Cette dernière est fine et possède des cellules granulaires et pyramidales. La couche V est épaisse et possède aussi des cellules pyramidales mais elle est divisée en deux parties, Va et Vb, la première ayant une densité cellulaire supérieure à l'autre. Les couches IV et V représentent 40% du cortex alors que la couche VI en représente 6 % et contient des cellules pyramidales et fusiformes. La région FC 10 contiendrait 254,4 millions de cellules dans l'hémisphère droit (Semendeferi, 2001). FC10, comparé aux autres aires corticales, contient une plus grande densité d'épines dendritiques et un plus grand nombre d'épines par cellule. Par contre, elle contient une densité cellulaire moins importante (Jacobs et al. 2001).

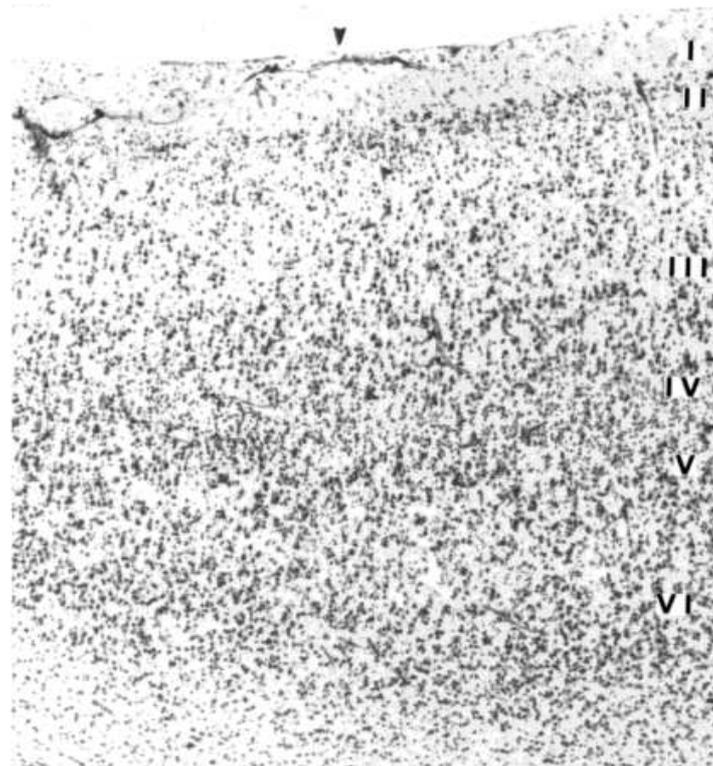


Figure 6. Région FC10 chez l'humain, Semendeferi et al. 2001

FC10 est impliquée dans différentes fonctions cognitives supérieures comme la prise d'initiative, la planification d'actions, la mémoire de travail (Okuda et al. 1998; Lepage et al. 2000; Daffner et al. 2000), la résolution de problèmes, le raisonnement et la modulation du comportement.

FC10 est impliqué dans la mémoire prospective qui permet de maintenir en mémoire une action future tout en effectuant une autre activité. On différencie la mémoire prospective temporelle qui permet la mémorisation d'une action à un temps donné ultérieur, de la mémoire prospective des événements qui permet de mémoriser une action à effectuer dans une situation future précise. Le cortex préfrontal antérieur droit est responsable de la mémoire prospective temporelle (Volle et al. 2011)

Selon la *gateway hypothesis*, le cortex préfrontal antérieur décide si le comportement ou la pensée sont dépendants (*stimulus-oriented cognition*) ou non (*stimulus-independent cognition*: pensées autogénérées) de signaux sensoriels extérieurs (Burgess et al. 2007).

En premier lieu, l'étude a pour objectif d'identifier qualitativement et de quantifier semi-quantitativement au microscope optique, grâce à des méthodes immunohistochimiques, différents marqueurs de la MA comme les dépôts de protéines bêta-amyloïde et les lésions neurofibrillaires (NFT), ainsi que les changements de certaines protéines synaptiques (NMDAR1, PSD-95, synaptophysine), dans deux groupe de population (cas contrôles et AD). La région FC10 peut ensuite être comparée avec d'autres régions préalablement étudiées avec la même méthode, notamment la région préfrontale FC9, les régions cingulaires CG24 et CG25 et la région entorhinale, EC.

En parallèle, on cherche à identifier des microlésions vasculaires avec une analyse qualitative du tissu cérébral au microscope optique. Pour ce faire, on recherche des hémorragies par la présence de dépôts de fer mis en évidence par une coloration de bleu de Prusse, méthode immunohistochimique, dans la région entorhinale et la région FC9, la région FC10 n'étant pas disponible, de cas AD et de cas contrôles.

Enfin, on cherche à trouver des corrélations possibles avec des marqueurs cliniques de la MA (tests neurocognitifs effectués avant le décès chez les patients AD).

### 3. Matériel et méthodes

#### 3.1 Cas étudiés

La première partie de l'étude porte sur 18 cas (voir tableau ci-dessous): 6 cas contrôles âgés (entre 71 ans et 89 ans) et 2 cas contrôles jeunes (32 ans et 43 ans) qui ne présentent pas de troubles neurologiques, et 10 patients diagnostiqués cliniquement par la Dresse S. Joray, gériatre, pour la MA (cas AD) puis confirmés à l'autopsie.

Cas	Sexe	Age	Délai post-mortem (heures)	Groupe	Cause du décès
1	M	32	10	C	Insuffisance cardiaque
2	M	43	10	C	Insuffisance cardiaque
3	M	71	48	C	Insuffisance cardiaque
4	F	71	72	C	Hémorragie péritonéale
5	M	72	7	C	Infarctus du myocarde
6	F	75	96	C	Insuffisance cardiaque
7	F	77	48	C	Carcinome pulmonaire
8	F	89	24	C	Carcinome rénal
9	F	64	6	AD	Bronchopneumonie
10	F	80	>26	AD	Embolie pulmonaire
11	F	87	<24	AD	Bronchopneumonie
12	F	87	>60	AD	Bronchopneumonie
13	F	89	7	AD	Bronchopneumonie
14	F	90	<24	AD	Hémorragie digestive
15	F	92	<12	AD	Bronchopneumonie
16	F	94	<24	AD	Hémorragie digestive
17	F	96	7	AD	Choc septique
18	F	101	37	AD	Bronchopneumonie

Tableau 1 : Présentation des cas contrôles et AD de la région FC10. M : masculin ; F : féminin ; C : contrôle ; AD : cas Alzheimer

La deuxième partie de l'étude porte elle sur des cas AD et des cas contrôles de la région FC9 et EC qui répondent aux mêmes critères de sélection que les cas ci-dessus.

L'Institut Universitaire de pathologie (IUP) de Lausanne pratique une autopsie autorisée et prélève le cerveau, puis sur ce dernier, différentes régions cérébrales (région FC10, FC9 et EC dans notre cas). Les prélèvements sont ensuite conservés dans le formaldéhyde. L'IUP pose un diagnostic anatomopathologique pour la MA afin de confirmer le diagnostic clinique. Il établit notamment les stades de Braak.

Le protocole d'étude a été accepté préalablement par la commission d'éthique de la recherche clinique (FBM, protocole 121/05).

### **3.2 Méthodes immunohistochimiques**

Dans notre laboratoire, le tissu cérébral des régions FC10, FC9 et EC, est enrobé dans un bloc de paraffine, ensuite coupé en tranches de 20 µm d'épaisseur avec le microtome (Reichert-Jung®). Les coupes de paraffine et de tissu sont enfin montées sur des lames (Menzel-Glaser®).

Dans la première partie de l'étude, les coupes sont colorées avec une méthode d'immunohistochimie différente pour chaque bio-marqueur (deux coupes par cas et par coloration) (procédures immunohistochimiques en annexes) :

- Amyloïde (DAKO M0872)
- AD2 (BIORAD 56484)
- Synaptophysine (ABCAM AB 7837)
- PSD-95 (ABR MA1-045)
- NMDAR1 (BD Pharmingen 556308)

Pour la deuxième partie de l'étude, on utilise une technique de coloration de bleu de Prusse sur la base d'un protocole établi à partir de publications et d'autres protocoles puis selon le protocole de l'IUP (protocoles en annexes).

### **3.3 Analyse au microscope optique**

Les coupes de tissu cérébral colorées et montées sur des lames peuvent être analysées au microscope optique à différents grossissements (1.0X, 2.5X, 10X, 20X). Les différents marqueurs de la MA et les protéines synaptiques peuvent ainsi être analysés selon une observation qualitative, semi-quantitative ou quantitative. On travaille dans une pièce sans lumière afin d'optimiser la qualité de l'analyse (voir procédure en annexe).

### **3.4 Analyse semi-quantitative de la région FC10**

#### **Choisir une zone à analyser sur la coupe**

On dessine au crayon sur une feuille A4 pour chaque cas un croquis d'une coupe en dessinant les limites entre la substance grise et la substance blanche. On fait une première sélection des zones potentiellement analysables sur ce croquis. On observe ensuite au microscope les deux coupes du 1<sup>er</sup> cas pour toutes les colorations au grossissement 1.25x puis 2.5x puis 10x puis 20x. On choisit un endroit de la coupe où la substance grise est rectiligne (pas dans une courbe du tissu) et suivie plus profondément de substance blanche. Le tissu doit également être intact et sans bulle d'air. On préfère les zones où la présence de marquage amyloïde et AD2 est claire. Pour un cas, la zone est la même sur toutes les coupes. On fait pour chaque coupe des photos de repérage au grossissement 1.25x de la zone sélectionnée tout en marquant la limite (trait rouge) entre la substance blanche et la substance grise. L'opération est à répéter pour tous les cas. On fait aussi des photos au grossissement 1.0x et 2.5x selon la procédure en annexe.

## Analyse

L'analyse semi-quantitative consiste à observer la zone sélectionnée à un grossissement de plus en plus fort jusqu'à 20x. On analyse alors la substance grise non pas en comptant le nombre de cellules marquées ou de plaques mais en appréciant quantitativement le nombre de ces éléments au grossissement 20x.

On établit des critères reproductibles pour tous les cas en utilisant l'échelle suivante : 0 = zéro ; 0+ = 0,5 ; + = 1 ; +(+) = 1,5 ; ++ = 2 ; ++(+) = 2,5 ; +++ = 3 ; +++(+) = 3,5 ; ++++ = 4.

0 (zéro) correspond à une absence totale de marquage. 0+ correspond à une trace de marquage (si une seule cellule est marquée sur toute la coupe, on la notera 0+). + correspond à un faible marquage, ++ à un marquage intermédiaire, +++ à un fort marquage et ++++ au plus fort marquage.

Pour chaque coloration, les résultats de la région cérébrale FC9 ont été pris comme référence (précédemment analysée par N. Fernandez).

Pour chaque cas, il y a deux coupes. Le résultat d'un cas pour un marqueur est la moyenne de l'évaluation de ses deux coupes (exemple : ++ et ++++ → +++). En cas de moyenne intermédiaire, entre ++ et ++(+) par exemple, on choisira l'évaluation qui représente le plus les deux coupes.

On analyse semi-quantitativement le nombre et la taille des plaques pour le marqueur bêta-amyloïde, le nombre de NFT pour le marqueur AD2, le nombre de cellules pour les marqueurs NMDAR1 et PSD-95 et la densité du marqueur pour la synaptophysine. On règle la lumière à 5,4 V pour les marqueurs bêta-amyloïde, AD2, NMDAR1, PSD-95 et à 5.7 V pour la synaptophysine.

### 3.5 Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats semi-quantitatifs est effectuée avec le logiciel *R Project for Statistical Computing* (<http://www.r-project.org/>).

Afin de vérifier l'homogénéité et la normalité des données, un test de Shapiro et un test de Bartlett ont été effectués. La majorité des résultats a montré que des valeurs ne respectaient pas la loi normale, la p-value étant nettement plus élevée que 0,05. Par conséquent, un test non paramétrique, le test de Wilcoxon a été effectué pour comparer la quantité des différents marqueurs dans les cas contrôles et dans les cas AD. Pour l'analyse des corrélations entre marqueurs, on utilise le test de Spearman.

## 4. Résultats

La région FC10 a été analysée qualitativement et semi-quantitativement pour les 5 marqueurs (amyloïde, AD2, NMDAR1, PSD95, synaptophysine). Les résultats de l'analyse semi-quantitative ont permis de comparer dans la région FC10 les cas contrôles et les cas AD mais aussi de comparer cette région avec d'autres régions préalablement étudiées. On a également cherché à mettre en évidence des corrélations entre le comportement des marqueurs et les stades de Braak et le score de tests neurocognitifs dans les cas AD. Une corrélation entre les marqueurs et l'âge a aussi été cherchée chez les deux populations de la région FC10.

### 4.1 Analyse qualitative et montages

#### Marqueurs dans la région FC10

Sur les 8 cas contrôles, 5 cas n'ont pas montré la présence du marqueur amyloïde. 3 cas contrôles sont donc porteurs de ce marqueur. Chez les deux cas AD les plus âgés (n°23 et n°24), on remarque une absence du marqueur amyloïde. On peut par contre observer des plaques  $\beta$ -amyloïde matures et immatures dans les cas AD n°9, n°10 et n°13 (voir illustrations).

Pour le marqueur AD2, 2 cas contrôles (n°1 et n°2), les plus jeunes n'en sont pas porteurs. On trouve par contre ce marqueur chez tous les cas AD ce qui permet d'observer les dégénérescences neurofibrillaires comme par exemple dans les cas n°9, n°10 et n°13 (voir illustrations).

Le marquage cellulaire à PSD-95 et à NMDAR1 est présent chez tous les cas dans les deux populations. Le marquage à la synaptophysine l'est également (voir illustrations pour les cas contrôles n°4/6/8 et les cas AD n°9/10/13).

## Région FC10: illustrations des coupes immunohistochimiques

**Cas contrôles** : n°4, n°6, n°8, grossissement : 2,5x, lumière : 5.4V; 5.7 V pour la synaptophysine

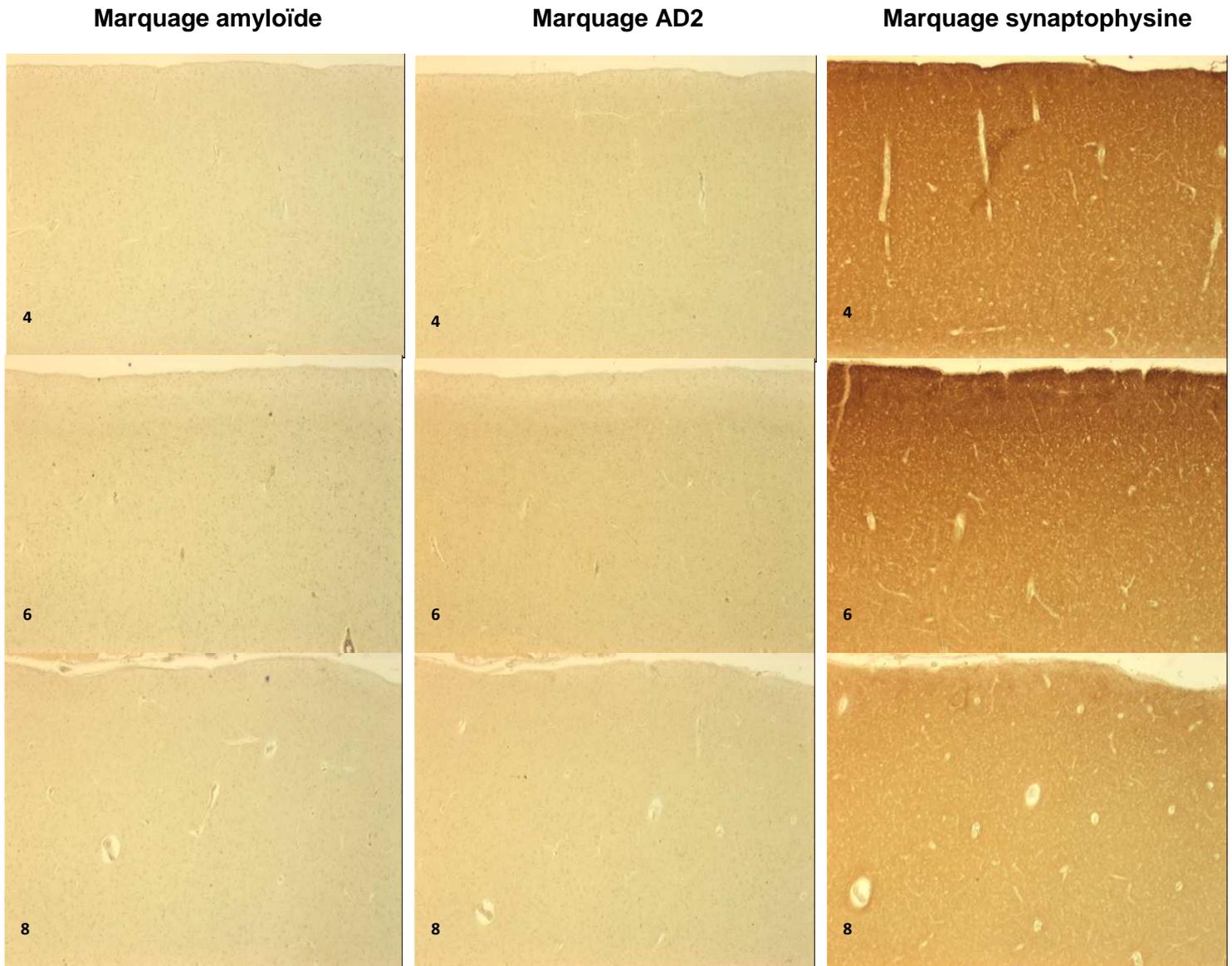


Figure 7 : Photos au microscope (grossissement 2,5x) de coupes de tissu cérébral de 20 $\mu$  d'épaisseur de la région FC10 avec un marquage pour l'amyloïde, AD2 et la synaptophysine chez 3 cas contrôles. Il y a absence de marquage pour l'amyloïde et AD2 mais présence d'un marquage à la synaptophysine chez ces 3 cas, plus fort dans les deux premiers (N°4 et N°6).

## Région FC10: illustrations des coupes immunohistochimiques

**Cas AD** : n°9, n°10, n°13, grossissement : 2,5x, lumière : 5.4 V ; 5.7 V pour la synaptophysine

Marquage amyloïde

Marquage AD2

Marquage synaptophysine

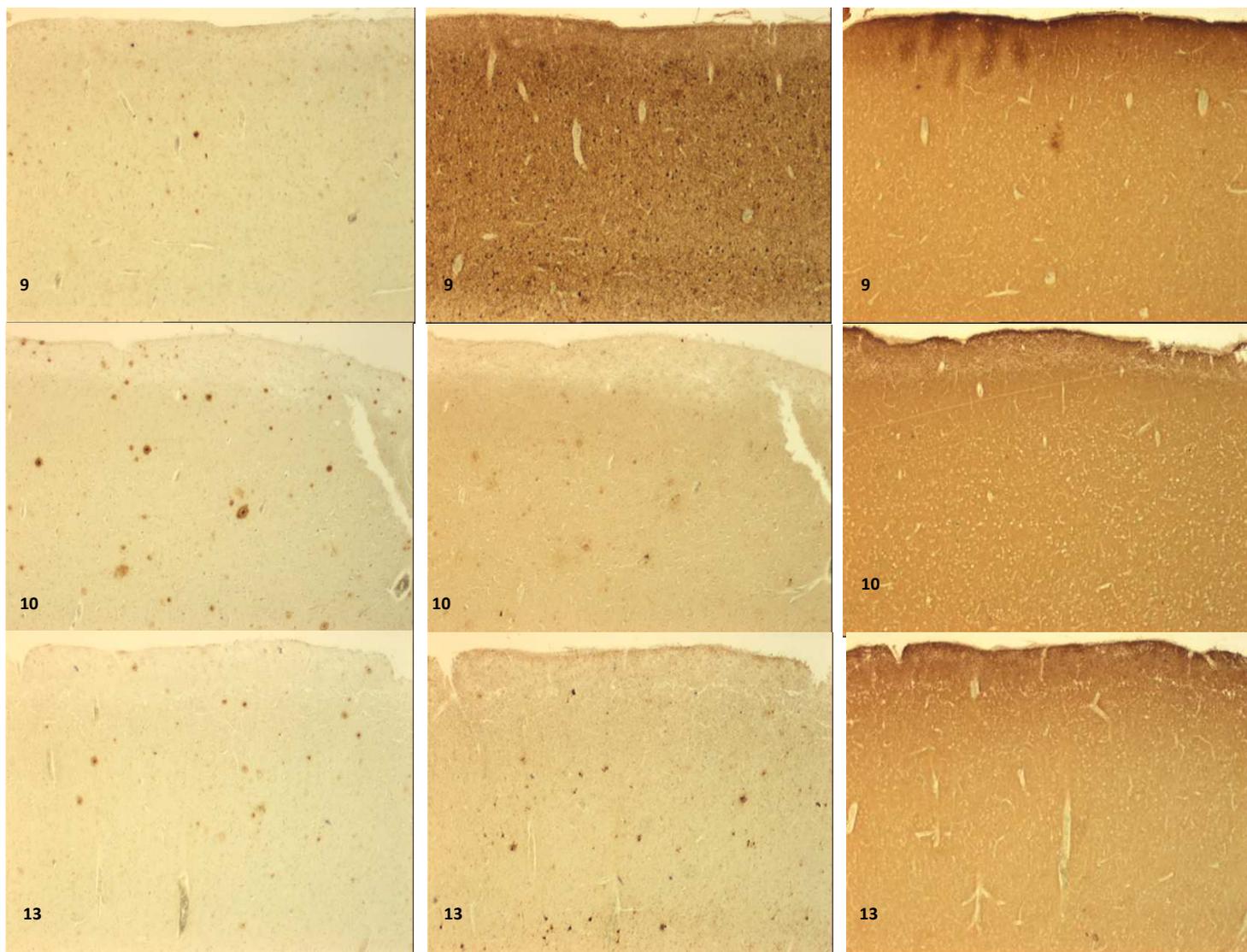
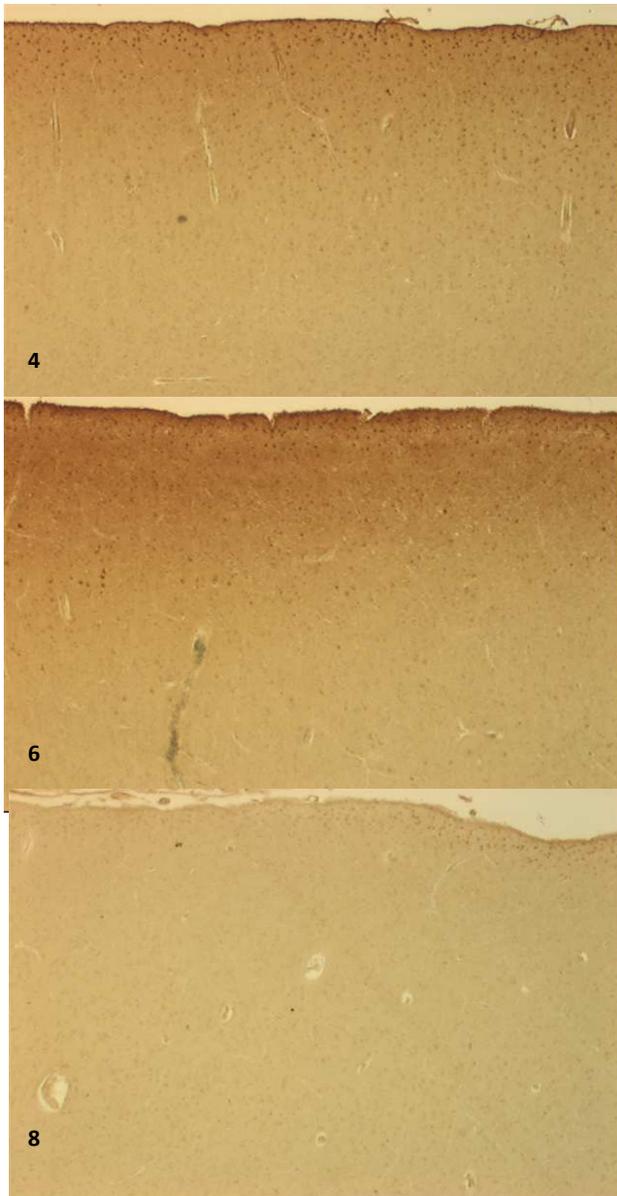


Figure 8 : Photos au microscope (grossissement 2,5x) de coupes de tissu cérébral de 20 $\mu$  d'épaisseur de la région FC10 avec un marquage pour l'amyloïde, AD2 et la synaptophysine chez 3 cas AD. On observe un marquage pour l'amyloïde (plaques matures et immatures, pour AD2 (dégénérescence neurofibrillaire) et pour la synaptophysine chez les 3 cas AD.

## Région FC10: illustrations des coupes immunohistochimiques

Cas contrôles : n°4, n°6, n°8, grossissement : 2,5x, lumière : 5.4 V

### Marquage NMDAR1



### Marquage PSD-95

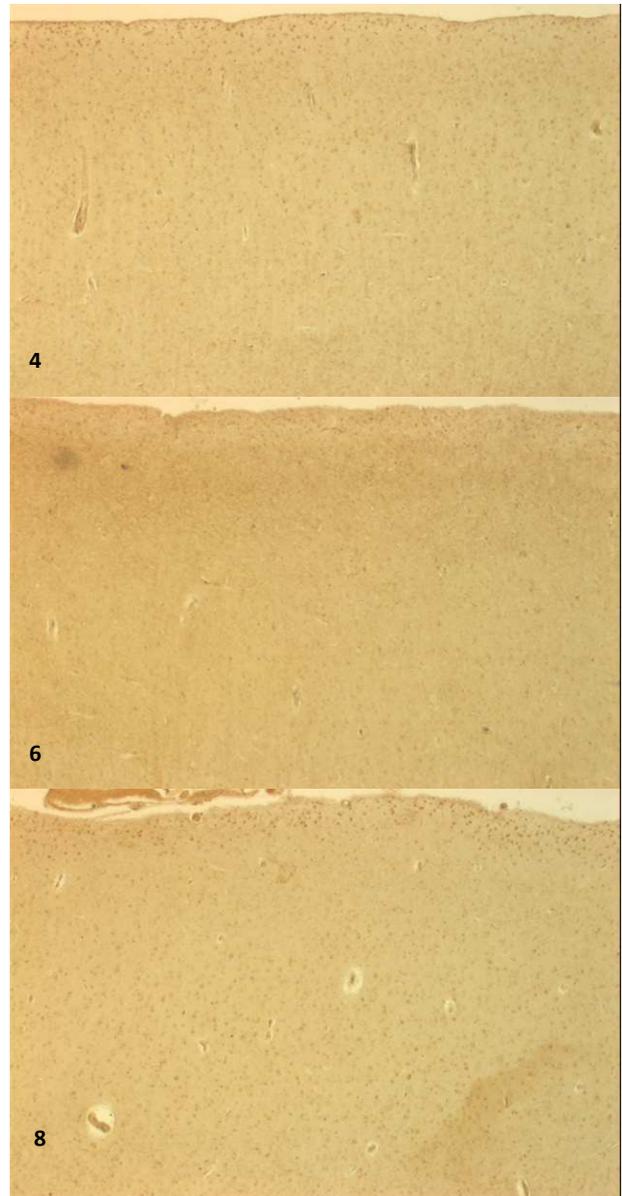
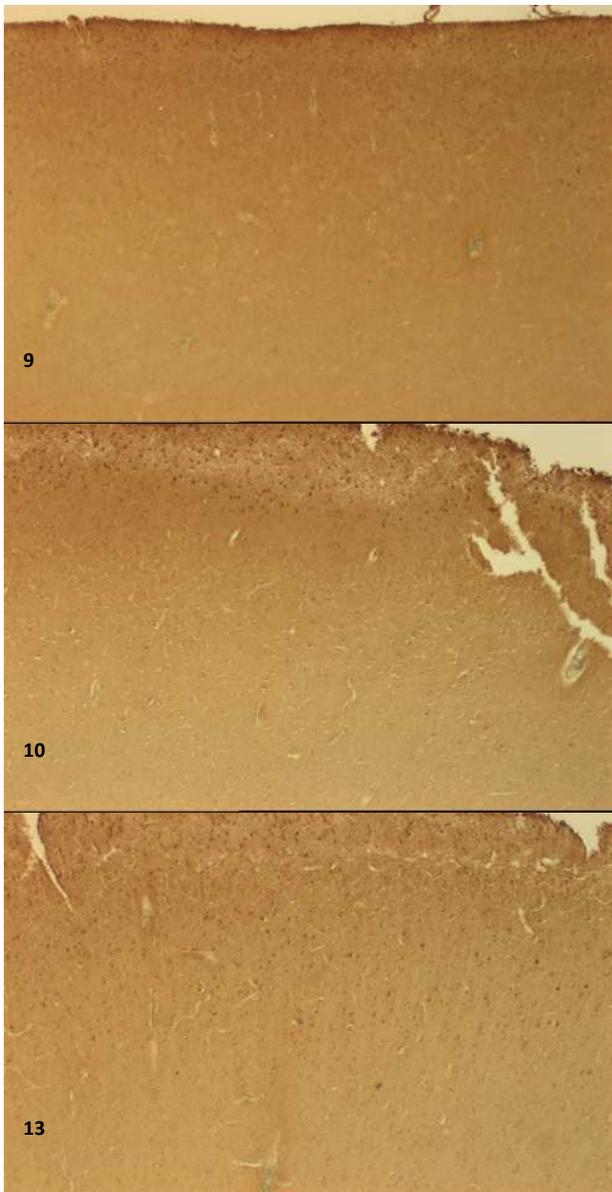


Figure 11 : Photos au microscope (grossissement 2,5x) de coupes de tissu cérébral de 20 $\mu$  d'épaisseur de la région FC10 avec un marquage pour NMDAR1 et PSD-95 chez 3 cas contrôles. On y observe un marquage à NMDAR1 mais plus faible chez le cas n°8. Le marquage à PSD-95 est présent dans les 3 cas.

## Région FC10: illustrations des coupes immunohistochimiques

**Cas AD** : n°9, n°10, n°13, grossissement : 2,5x, lumière : 5.4 V

### Marquage NMDAR1



### Marquage PSD-95

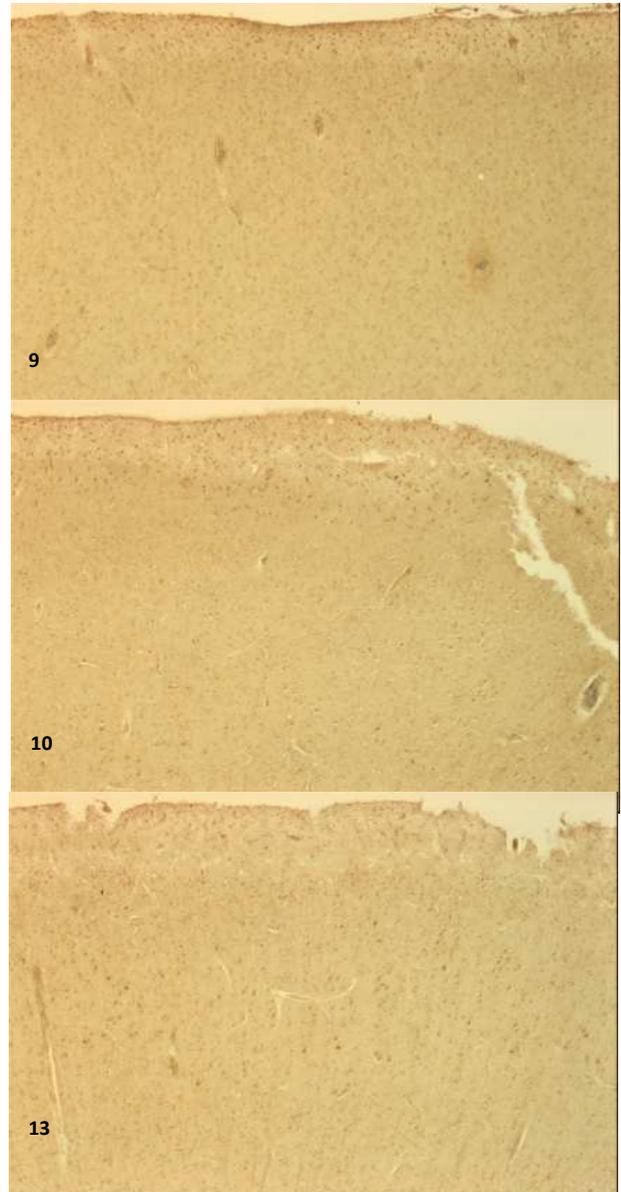


Figure 12 : Photos au microscope (grossissement 2,5x) de coupes de tissu cérébral de 20 $\mu$  d'épaisseur de la région FC10 avec un marquage pour NMDAR1 et PSD-95 chez 3 cas AD. On y observe un marquage à NMDAR1 et à PSD95.

### Analyse vasculaire qualitative

Dans les analyses basées sur notre protocole, des points bleus ont pu être observés dans les vaisseaux (voir Figure 16) mais étant beaucoup trop petits, ils ne peuvent être considérés comme un résultat positif à la coloration. Un grand nombre de tâches bleues diffuses dans la substance grise ainsi qu'une coloration des fibres de myéline (voir Figure 17) dans certains cas a également pu être observés. Mais il s'agit en fait d'artefacts. Dans les analyses basées sur le protocole de l'IUP, aucune coloration positive n'a pu être mise en évidence.

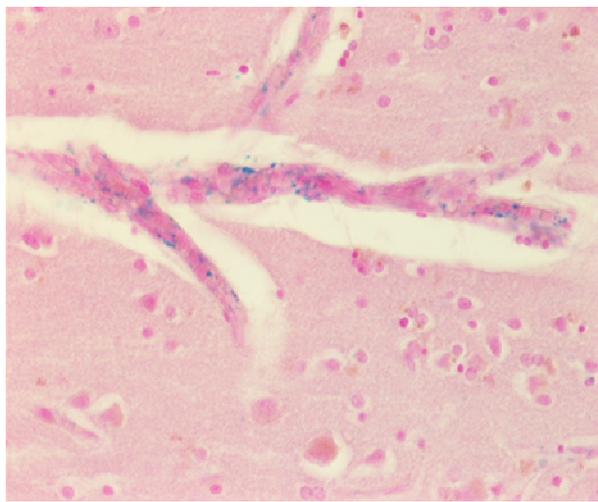


Figure 16: cas AD, région EC, grossissement 20X

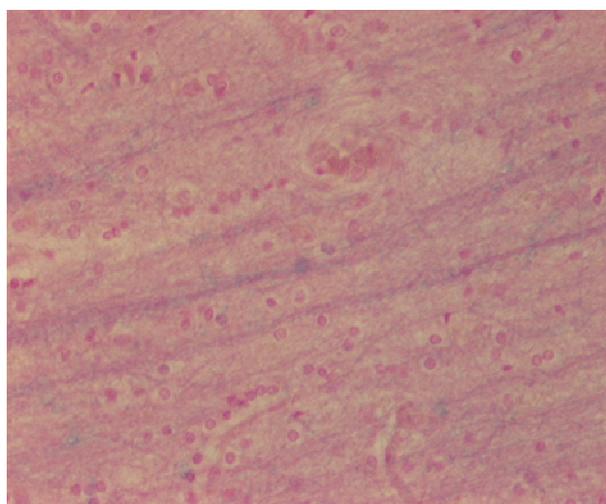


Figure 17: cas AD, région FC9, grossissement 20X

## 4.2 Analyse semi-quantitative et analyse statistiques de la région FC10

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques des cas contrôles et des cas AD (sexe, âge) ainsi que les résultats de l'analyse semi-quantitative.

Données des cas					Marqueurs				
Cas	N°	Groupe	Sexe	Age	Amyloïde	AD2	Synaptophysine	NMDAR1	PSD95
					Nombres de plaques	Nombres de cellules	Densité	Nombre de cellules	Nombre de cellules
LA06-14	1	C	M	32	0	0	++++	+	++
LA05-186	2	C	M	43	0	0	++++	+(+)	++
A19-10	3	C	M	71	+	+(+)	+++(+)	++	++(+)
A41-10	4	C	F	71	0	+	+++(+)	+	++(+)
LA06-47	5	C	M	72	0	+	++++	++	++(+)
A40-10	6	C	F	75	0+	+	+++(+)	+	++
A50-10	7	C	F	77	+	0+	+++(+)	+	+++
A32-10	8	C	F	89	0	0+	++(+)	0+	+++
A24-10	9	AD	F	64	+++(+)	++++	+++(+)	0+	+++
A112-08	10	AD	F	80	++(+)	++(+)	+++(+)	+	++(+)
A132-07	11	AD	F	87	++(+)	+(+)	+++(+)	+	++(+)
A55-08	12	AD	F	87	0+	0+	+++	+	++
A56-08	13	AD	F	89	++	+++	+++(+)	+(+)	+++
A199-07	14	AD	F	90	+(+)	+	+++(+)	++++	+++(+)
A47-08	15	AD	F	92	0+	0+	++++	+(+)	+++
A06-08	16	AD	F	94	+	0+	++(+)	0+	0+
A75-08	17	AD	F	96	0	+++	++++	+	+
A77-08	18	AD	F	101	0	0+	+++	+	+++

Tableau 2: Présentation des cas et résultats de l'analyse semi-quantitative de la région FC10. C : cas contrôle ; AD : cas Alzheimer ; M : masculin ; F : féminin ; 0 : absence de marquage ; 0+ : présence de trace de marquage ; + : faible marquage ; ++ : marquage intermédiaire ; +++ : marquage important ; ++++ : marquage très important

Le tableau ci-dessous illustre pour une partie des cas AD, l'âge, le stade de Braak, le score MMS, CDR, NPI.

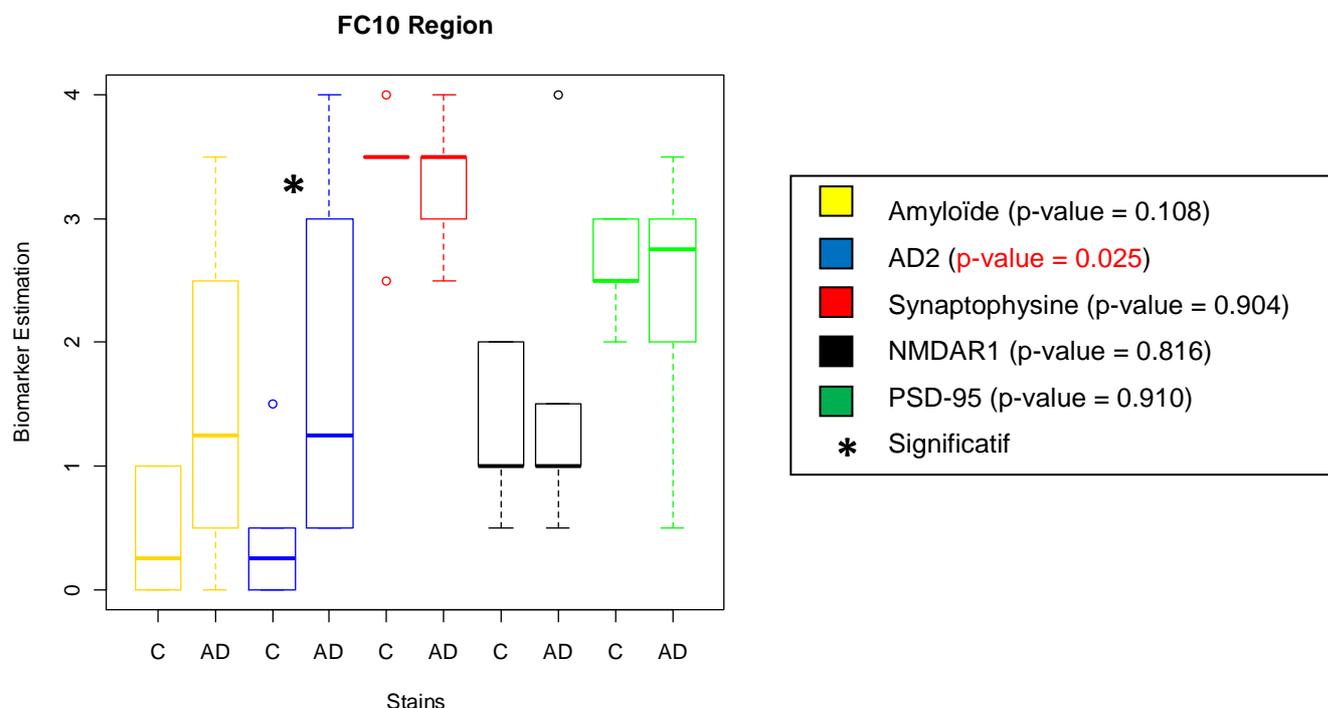
Cas	Age	Stade de Braak	MMS	CDR	NPI
10	80	IV	18	2	17
11	87	V	0	3	24
12	87	III	6	3	44
13	88	IV	20	1	4
14	90	V	20	1	16
17	95	IV	26	0.5	4
18	101	III	13	2	4

Tableau 3 : Présentation de 7 cas AD (10-14 ; 17-18) avec les stades de Braak (I-II-III-IV-V-VI) et le score des tests cognitifs connus: score MMS:Mini-mental state (0-30); score CDR: Clinical dementia rating (0.5-1-2-3); score NPI: Neuropsychiatric Inventory (0-40).

## Région FC10 : comparaison entre les cas contrôles et les cas AD

L'analyse se porte sur 6 cas contrôles (n°3 à n°8) et les 10 cas AD (n°9 à n°18). Les deux premiers cas contrôles (n°1 et n°2) ne sont pas inclus du fait de leur jeune âge, respectivement 32 ans et 43 ans.

On a ainsi comparé nos deux types de population pour mettre en évidence des différences pour chaque marqueur (amyloïde, AD2, synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) dans le graphique ci-dessous (Box-plots).



Graphique 1 : Box-plots illustrant la quantité estimée (0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4) pour chaque marqueur (amyloïde, AD2, synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) dans les cas contrôles (C) et les cas AD de la région FC10.

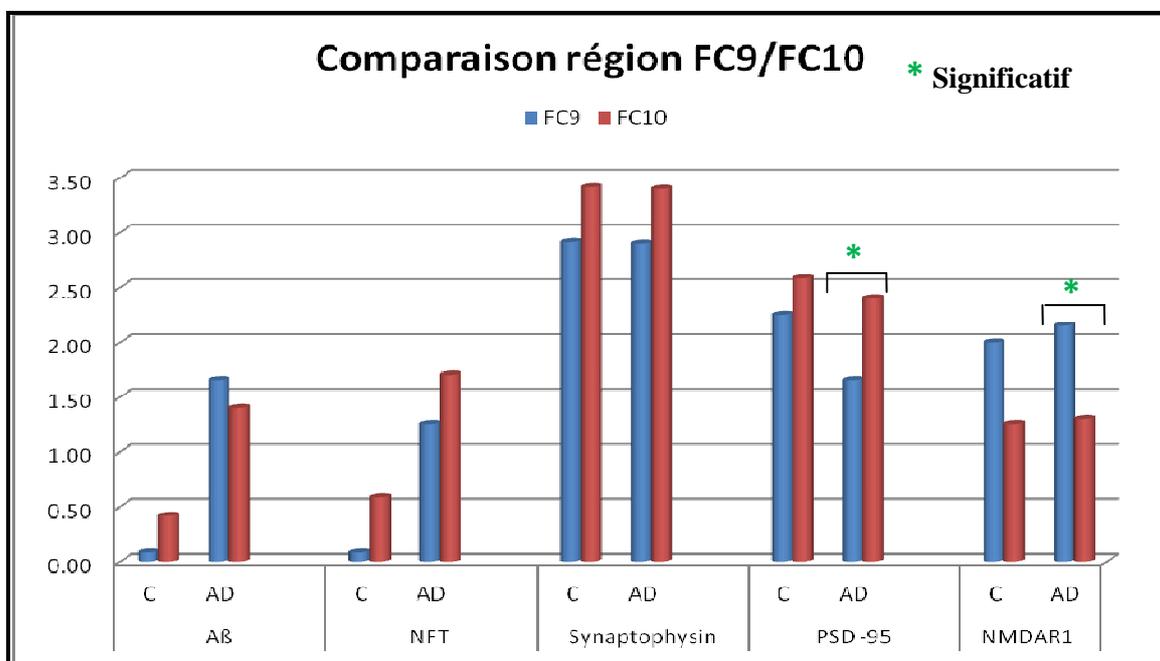
Dans la région FC10, on constate que le marqueur AD2 est significativement plus élevé dans les cas AD comparé aux cas contrôles avec le test de Wilcoxon ( $p$ -value = 0.025). On observe aussi une augmentation non significative de l'amyloïde dans les cas AD comparé aux cas contrôles ainsi qu'une légère augmentation de PSD-95 également dans les cas AD. La synaptophysine et NMDAR1 ne montrent aucune différence significative entre les deux types de populations. Leur présence y est comparable.

En utilisant le test de Spearman, on trouve aussi une corrélation positive dans les cas contrôles entre la synaptophysine et NMDAR1 ( $p$ -value = 0.045 et le coefficient de corrélation:  $\rho = 0.821$ ).

On trouve donc dans les cas atteints par la MA, plus de DNF (Significatif = S), une tendance plus marquée de plaques  $\beta$ -amyloïde et dans une moindre mesure de protéine synaptique PSD-95.

## Comparaison des régions préfrontales FC10 et FC9

On a comparé pour chaque marqueur (amyloïde, AD2, synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) les cas contrôles de la région FC10 avec ceux de la région FC9 ainsi que les cas AD entre ces deux régions afin de mettre en évidence des différences dans le graphique ci-dessous (6 cas contrôles et 10 cas AD communs aux deux régions).



**Graphique 2 :** Colonnes illustrant la quantité estimée (0 ; 0.5 ; 1 ; 1.5 ; 2 ; 2.5 ; 3 ; 3.5 ; 4) pour chaque marqueur (amyloïde, AD2, synaptophysine, PSD-95, NMDAR1) dans les cas contrôles et les cas AD de la région FC10 et de la région FC9.

Il y a une différence significative entre les cas AD et les cas contrôles dans la région FC10 et dans la région FC9 pour les DNF et les plaques séniles ont tendance à être plus présents dans les cas AD dans ces deux régions.

Il n'y a pas de différence significative entre les cas AD pour les marqueurs pathologiques entre FC10 et FC9.

Et la présence de ces plaques dans les cas AD est corrélée entre les régions préfrontales ( $\beta$ -amyloïde : p-value = 0.00083, rho = 0.878)

Pour les protéines synaptiques, il n'y a pas de différence significative entre les cas contrôles et les cas AD dans la région FC10 et FC9. On remarque cependant que PSD-95 a tendance à être plus présent dans les cas contrôles que dans les cas AD dans la région FC9 alors que dans la région FC10, PSD-95 est présent de manière comparable entre les deux populations ce qui également le cas du récepteur NMDA et de la synaptophysine dans les deux régions.

En les comparant, on met en évidence que PSD-95 est plus présent dans la région FC10 avec une tendance entre les cas contrôles et une différence significative entre les cas AD (S: p-value = 0.037).

Le récepteur NMDA est plus présent dans la région FC9 que dans la région FC10 avec une tendance dans les cas contrôles et une différence significative dans les cas AD (S: p-value = 0.042). La présence de la synaptophysine a tendance à être plus importante dans la région FC10 dans les deux populations.

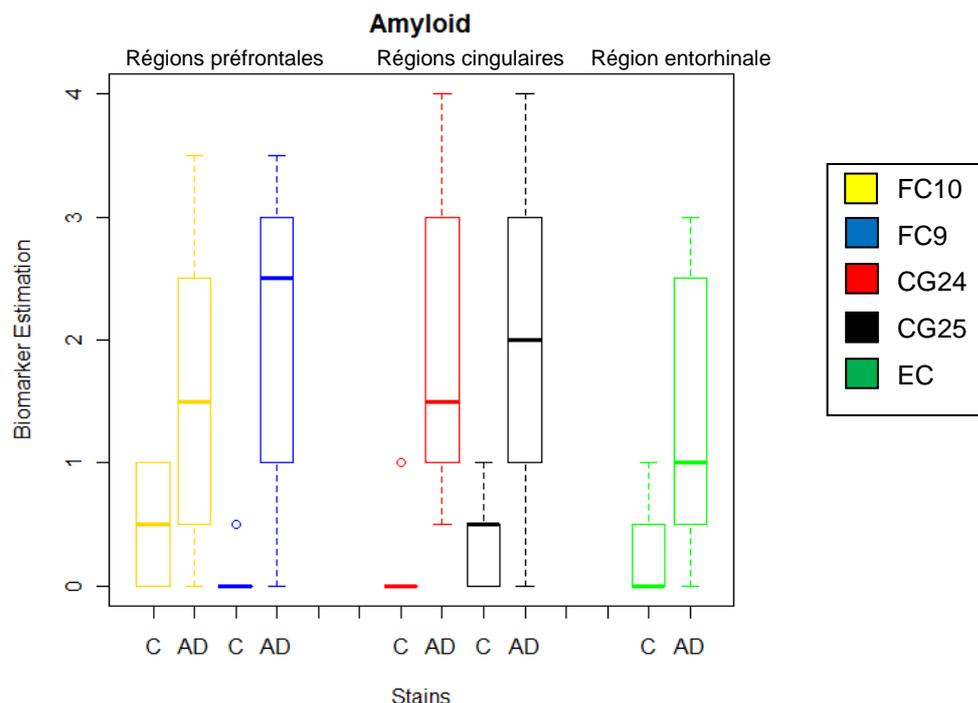
Et dans les cas AD, la présence de la synaptophysine est corrélée entre les régions préfrontales (synaptophysine: p-value = 0.0028, rho = 0.832).

Ainsi, dans les deux régions, on constate une plus grande quantité de DNF (S) et de plaques séniles (tendance) dans les cas atteints de la MA. Entre les cas AD des deux régions préfrontales, il n'y a pas de différence significative pour les marqueurs pathologiques. La présence des DNF et de la synaptophysine est corrélée entre les deux régions préfrontales. Cependant, on constate une présence plus marquée (S) de la protéine synaptique NMDAR1 dans la région FC9 et une présence plus marquée (S) de PSD-95 dans la région FC10.

### Comparaison par régions fonctionnelles : FC9/FC10, CG24/CG25/EC pour chaque marqueur

On a regroupé des régions cérébrales selon leur fonction afin de les comparer entre elles (15 cas communs à toutes les régions : 5 cas contrôles et 10 cas AD): la région FC10 et la région FC9 forment les régions préfrontales, les régions CG24 et CG25 forment les régions cingulaires. A ceci, s'ajoute la région EC, région entorhinale. On compare ces différentes régions fonctionnelles afin de mettre en évidence des différences vis-à-vis du comportement de chaque marqueur (amyloïde, AD2, synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) selon les régions (15 cas communs à toutes les régions : 5 cas contrôles et 10 cas AD). Les régions FC9, cingulaires et entorhinale ont été étudiées antérieurement par N. Fernandez et T. Volonakis.

Le graphique ci-dessous (Box-plots) représente la quantité estimée pour le marqueur amyloïde chez les deux types de populations dans les régions préfrontales, cingulaires et entorhinale.



**Graphique 3 :** Box-plots illustrant la quantité estimée (0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4) du marqueur amyloïde dans les cas contrôles (C) et les cas AD des régions frontales (FC10/FC9), des régions cingulaires (CG24/CG25) et de la région enthorinale (EC).

On observe une plus grande quantité de marquage amyloïde dans toutes les régions dans les cas AD. Cependant, il n'y a pas de différence significative avec les cas contrôles. De plus, on ne trouve pas de différence significative entre les cas contrôles de toutes les régions. Il en est de même pour les cas AD. On ne trouve donc pas de différence significative entre les différentes régions fonctionnelles dans les deux types de populations.

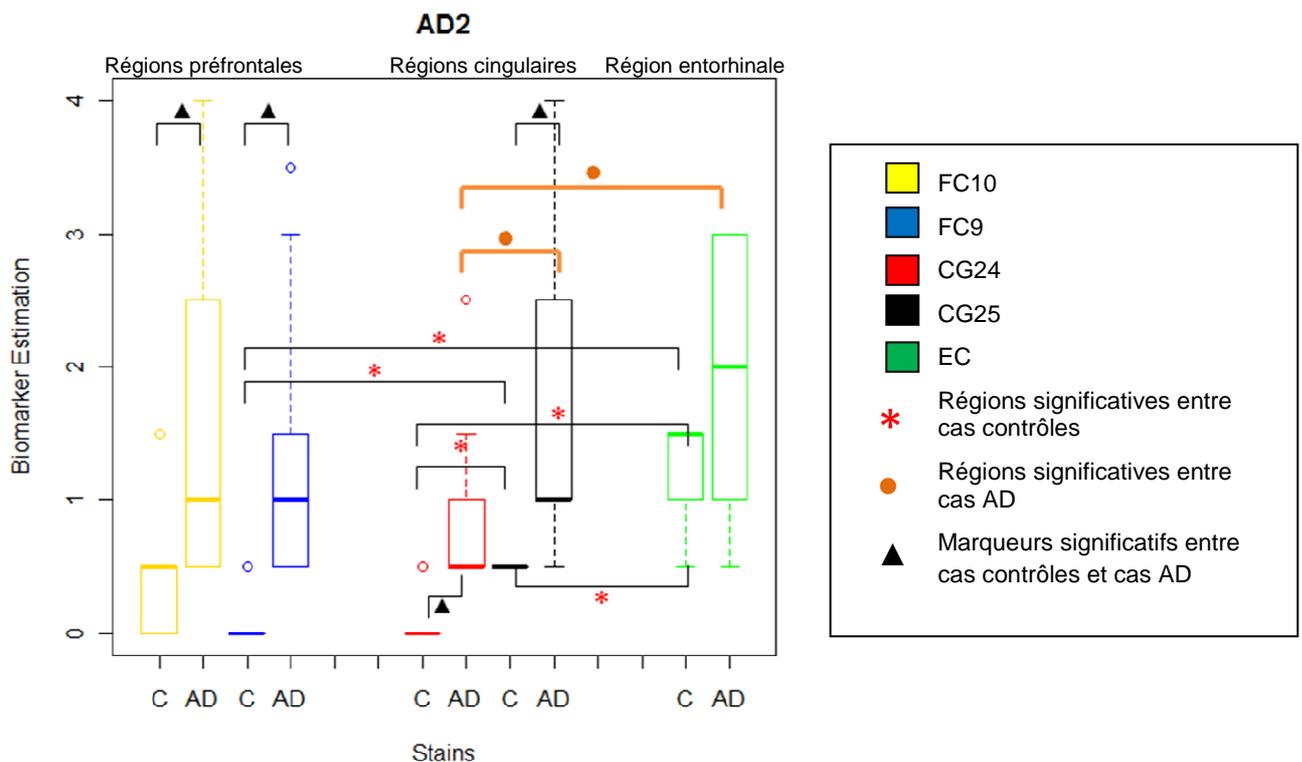
Dans les cas contrôles, la présence du marqueur  $\beta$ -amyloïde dans la région FC10 est corrélée avec celle de la région CG25 (p-value = 0.028, rho = 0.916) et celle de la région EC (p-value = 0.046, rho = 0.883) alors que la

présence de ce marqueur dans la région FC9 est corrélée avec celle de la région CG24 (p-value =  $< 2.2 \times 10^{-16}$ , rho= 1).

Dans les cas AD, la présence du marqueur  $\beta$ -amyloïde est corrélée dans les régions frontales (p-value = 0.004, rho= 0.846) et dans les régions cingulaires (p-value =  $6.859 \times 10^{-5}$ , rho= 0.953). De plus, sa présence dans les régions préfrontales est corrélée avec celle dans les régions cingulaires (FC10-CG24 : p-value = 0.00045, rho= 0.919 ; FC10-CG25 : p-value =  $9.146 \times 10^{-5}$ , rho= 0.949; FC9-CG24: p-value = 0.001, rho= 0.798 ; FC9-CG25: p-value = 0.0029, rho= 0.859). Pour finir, sa présence dans la région CG24 est corrélée avec celle de la région EC (p-value = 0.054, rho= 0.656).

Dans les cas atteints de la MA, on constate donc que les plaques  $\beta$ -amyloïde ont tendance à être plus présentes que dans les cas épargnés par la maladie dans toutes les régions étudiées. De plus, la présence des plaques dans les régions préfrontales est corrélée à celle des régions cingulaires. Entre ces dernières, leur présence est également corrélée dans les cas AD. Toujours chez ces derniers, la présence des plaques dans la région CG24 est corrélée avec celle de la région entorhinale.

Le graphique ci-dessous (Box-plots) représente la quantité estimée pour le marqueur AD2 chez les deux types de populations dans les régions préfrontales, cingulaires et entorhinale.



Graphique 4 : Box-plots illustrant la quantité estimée (0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4) du marqueur AD2 dans les cas contrôles (C) et les cas AD des régions frontales (FC10/FC9), des régions cingulaires (CG24/CG25) et de la région entorhinale (EC).

Dans les régions cingulaires, les régions préfrontales et la région entorhinale, le marqueur AD2 est plus élevé dans les cas AD. Cependant, la différence n'est pas significative dans la région entorhinale.

Dans les cas contrôles, le marqueur AD2 est significativement plus élevé dans la région CG25 et dans la région EC que dans la région FC9 et dans la région CG24 (CG25-FC9 : p-value = 0.019; EC-FC9 et CG24: p-value = 0.0117). Dans les régions cingulaires, AD2 est donc significativement plus élevé dans la région CG25 que dans la région CG24 (p-value = 0.019). De plus, AD2 est significativement plus élevé dans la région EC que dans la région CG25 (p-value = 0.023).

Dans les cas AD, le marqueur AD2 est significativement plus élevé dans les régions CG25 et EC comparé à la région CG24 (CG24-CG25: p-value = 0.038; CG24-EC : p-value = 0.024). Comme dans les cas contrôles, on remarque une différence significative entre les régions cingulaires.

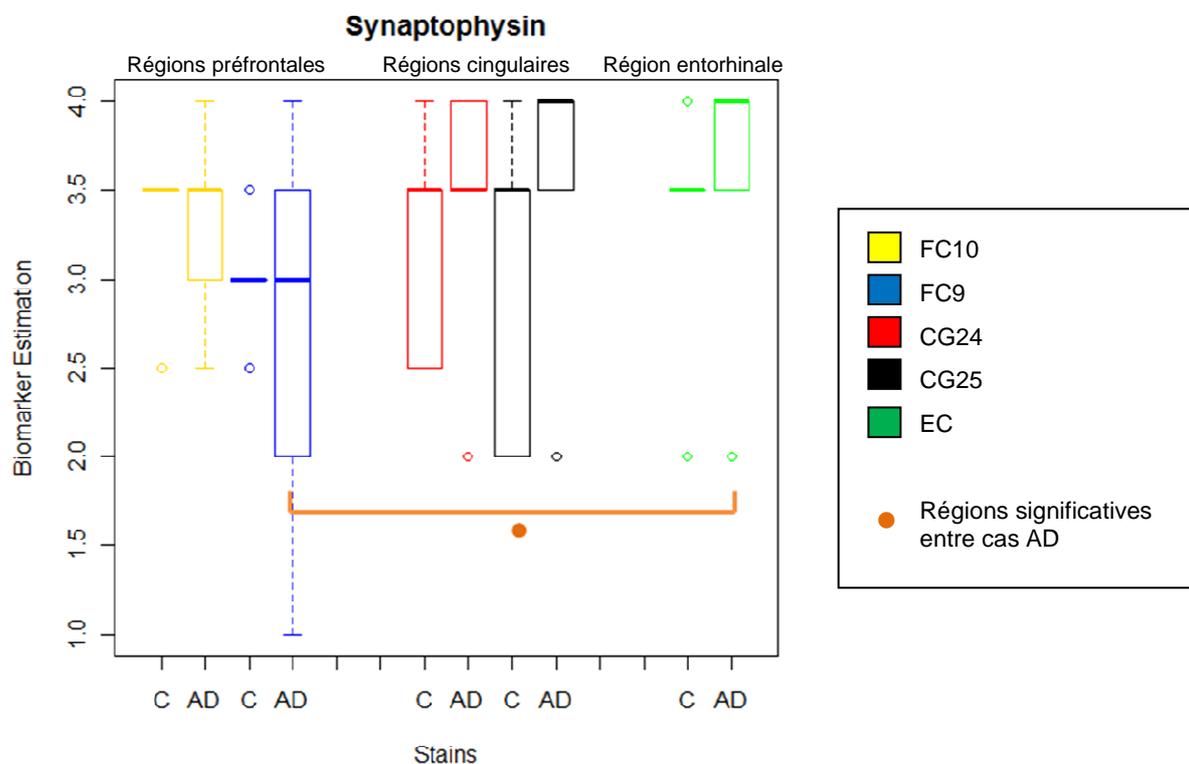
Dans les cas contrôles, la présence du marqueur AD2 dans la région FC9 est corrélée avec celle de la région CG24 (p-value < 2.2e-16, rho= 1).

Dans les cas AD, la présence du marqueur AD2 est corrélée dans les régions préfrontales (p-value = 0.038, rho= 0.694) et cingulaires (p-value = 0.008, rho= 0.806). Sa présence est aussi corrélée entre les régions cingulaires et la région entorhinale (CG24-EC: p-value = 0.056, rho= 0.653; CG25-EC: p-value = 0.004, rho= 0.846). Pour la région FC10, la présence du marqueur AD2 est corrélée avec celle des autres régions soit la région FC9, les régions cingulaires (CG24 : p-value = 0.008, rho= 0.806; CG25 : p-value = 0.00025, rho= 0.931) et la région entorhinale (p-value = 0.0048, rho= 0.837).

En résumé, on peut relever les points suivants :

- Les DNF montrent seulement une tendance à l'augmentation dans la région entorhinale vis à vis des contrôles.
- De plus, les cas contrôles montrent dans la région EC une quantité de DNF importante, supérieure aux régions cingulaires (S), à la région FC9 (S) et à la région FC10 (tendance). On peut dire que c'est la région la plus touchée chez les contrôles.
- Au contraire, les DNF sont significativement (S) plus présentes dans les régions préfrontales et cingulaires des cas atteints de MA comparés aux cas contrôles.
- Toujours dans les cas de MA, les DNF montrent aussi une tendance à être plus présentes dans la région EC que dans la région CG25, mais elles sont plus présentes dans ces deux régions que dans la région CG24 (S) et dans les régions préfrontales (tendance).
- Il y a donc une différence significative entre les deux régions cingulaires CG24 et CG25.
- D'autre part, dans les deux régions préfrontales FC9 et FC10, on trouve un niveau similaire de DNF, comparable à la région CG24.
- De plus, la présence de DNF dans la région FC10 est corrélée à celle de toutes les autres régions.

Le graphique ci-dessous (Box-plots) représente la quantité estimée pour la synaptophysine chez les deux types de populations dans les régions préfrontales, cingulaires et entorhinales.



**Graphique 5 :** Box-plots illustrant la quantité estimée (0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4) de la synaptophysine dans les cas contrôles (C) et les cas AD des régions frontales (FC10/FC9), des régions cingulaires (CG24/CG25) et de la région entorhinal (EC).

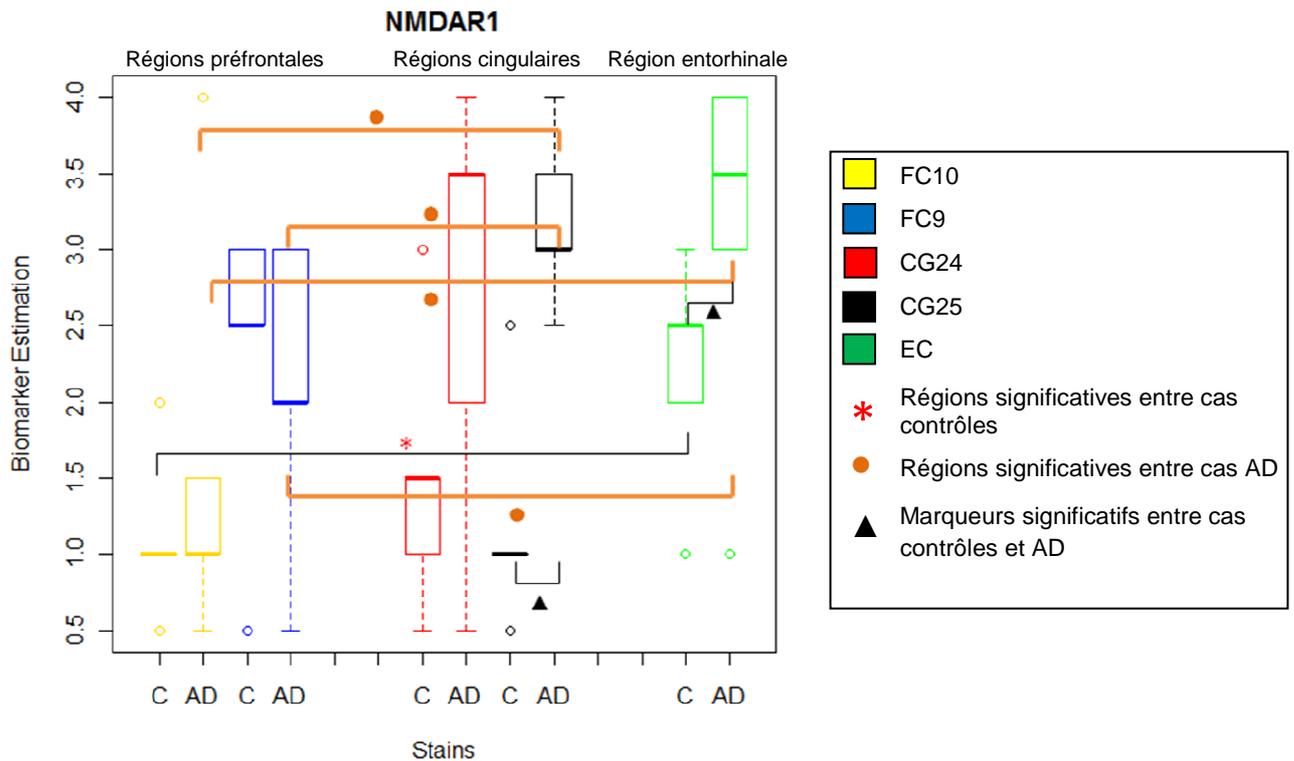
Dans les cas AD, la synaptophysine est significativement plus élevée dans la région EC que dans la région FC9 ( $p$ -value = 0.050). Dans les cas contrôles, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les différentes régions fonctionnelles.

Dans les cas contrôles, la présence de la synaptophysine dans la région FC9 est corrélée avec celle dans la région EC ( $p$ -value <  $2.2e-16$ ,  $\rho=1$ ).

Dans les cas AD, la présence de la synaptophysine est corrélée dans les régions préfrontales ( $p$ -value = 0.001,  $\rho= 0.892$ ) et cingulaires ( $p$ -value = 0.0305,  $\rho= 0.714$ ). Sa présence dans les régions cingulaires est corrélée avec celle de la région FC10 (FC10-CG24 :  $p$ -value = 0.016,  $\rho= 0.763$ ; FC10-CG25 :  $p$ -value = 0.0008,  $\rho= 0.904$ ) ainsi que celle de la région EC (CG24-EC :  $p$ -value = 0.056,  $\rho= 0.653$  ; CG25-EC :  $p$ -value = 0.058,  $\rho= 0.648$ ). De plus, la présence de la synaptophysine dans la région FC9 est corrélée avec celle de la région CG25 ( $p$ -value = 0.005,  $\rho= 0.832$ ).

On constate donc dans les cas atteints de la MA, une présence plus marquée (S) de synaptophysine dans la région entorhinal que dans la région FC9 mais corrélée entre les deux régions cingulaires. Une corrélation existe également entre la région FC9 et la région CG25 et entre les régions cingulaires et la région FC10 ainsi que la région entorhinal. La présence dans la région EC et CG25 est similaire entre les cas AD.

Le graphique ci-dessous (Box-plots) représente la quantité estimée pour le marqueur NMDAR1 chez les deux types de populations dans les régions préfrontales, cingulaires et entorhinales.



**Graphique 3 :** Box-plots illustrant la quantité estimée (0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4) du marqueur NMDAR1 dans les cas contrôles (C) et les cas AD des régions frontales (FC10/FC9), des régions cingulaires (CG24/CG25) et de la région entorhinale (EC).

Dans la région CG25 et la région EC, le marqueur NMDAR1 est significativement plus élevé dans les cas AD.

Dans les cas contrôles, le marqueur NMDAR1 est significativement plus élevé dans la région EC que dans la région FC10 (p-value = 0.05).

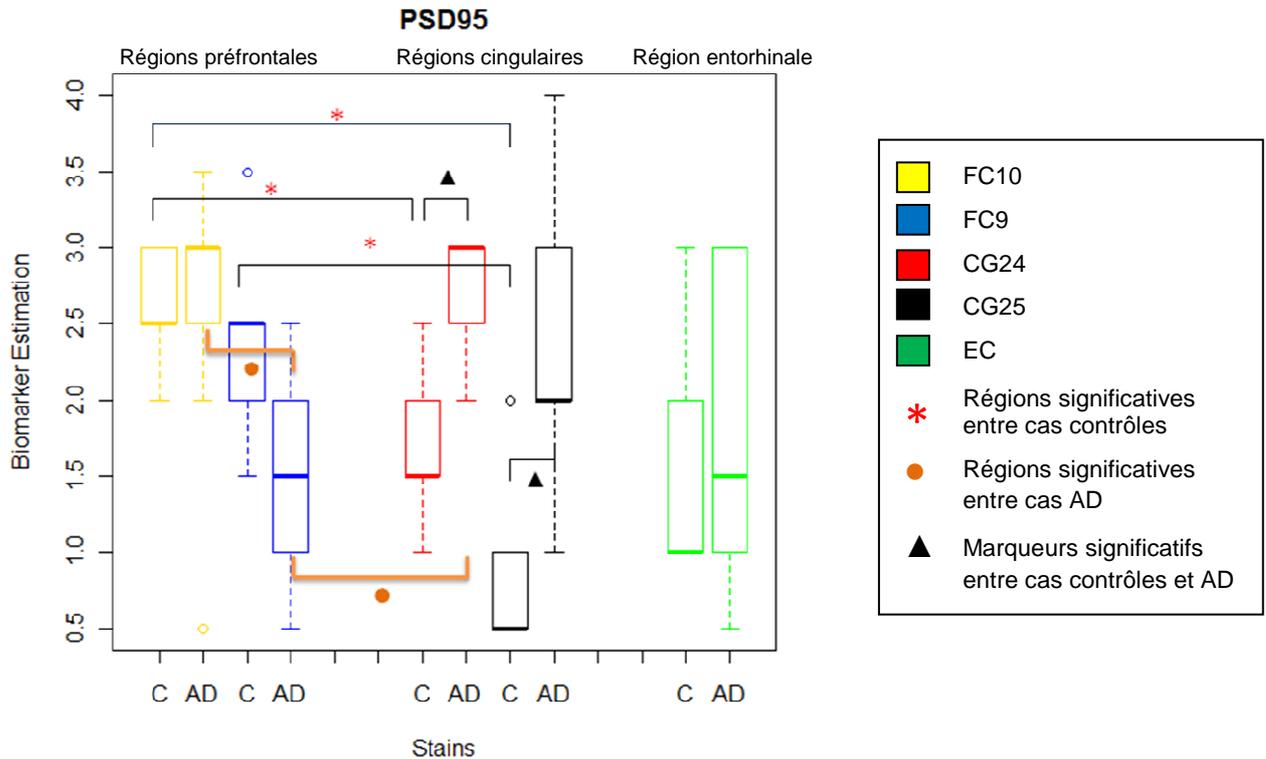
Dans les cas AD, le marqueur NMDAR1 est significativement plus élevé dans la région CG25 et la région EC que dans les régions préfrontales (FC10-CG25: p-value = 0.004; FC10-EC : p-value = 0.01; FC9-CG25 p-value = 0.009; FC9-EC : p-value = 0.008).

Dans les cas contrôles, la présence de NMDAR1 dans la région FC10 est corrélée avec celle de la région CG25 (p-value < 2.2e-16, rho=1).

Dans les cas AD, la présence de NMDAR1 dans la région CG25 est corrélée avec celle de la région EC (p-value = 0.0007, rho= 0.906).

On retrouve donc dans les cas atteints de la MA, une présence plus importante (S) du récepteur NMDAR1 dans la région CG25 et dans la région entorhinale que dans les cas épargnés par la maladie ainsi qu'une tendance dans la région CG24. De plus, ce récepteur est plus présent (S) dans la région CG25 et dans la région entorhinale que dans les régions préfrontales dans les cas AD. Par contre, sa présence dans la région CG25 est corrélée à celle de la région entorhinale.

Le graphique ci-dessous (Box-plots) représente la quantité estimée pour le marqueur PSD-95 chez les deux types de populations dans les régions préfrontales, cingulaires et entorhinale.



**Graphique 4 :** Box-plots illustrant la quantité estimée (0 ; 0.5 ; 1 ; 1.5 ; 2 ; 2.5 ; 3 ; 3.5 ; 4) du marqueur PSD-95 dans les cas contrôles (C) et les cas AD des régions frontales (FC10/FC9), des régions cingulaires (CG24/CG25) et de la région enthorinale (EC).

Dans les régions cingulaires, le marqueur PSD-95 est significativement plus élevé dans les cas AD. Dans les cas contrôles, le marqueur PSD-95 est significativement plus élevé dans les régions préfrontales que dans la région CG25 (FC10-CG25: p-value = 0.014; FC9-CG25: p-value = 0.025) et également plus élevée dans la région FC10 que dans les régions cingulaires (FC10-CG24: p-value = 0.042; FC10-CG25: p-value = 0.014).

Dans les cas AD, PSD-95 est significativement plus élevé dans la région CG24 que dans la région FC9 (p-value = 0.002). Il en est de même dans les régions préfrontales où PSD-95 est significativement plus élevé dans la région FC10 que dans la région FC9 (p-value = 0.017).

Dans les cas contrôles, la présence de PSD-95 dans la région FC10 est corrélée avec celle de la région CG24 (p-value = 0.005, rho= 0.973).

Dans les cas AD, la présence de PSD-95 dans la région CG25 est corrélée avec celles de les régions préfrontales (FC10-CG25 : p-value = 0.045, rho= 0.677 ; FC9-CG25 : p-value = 0.001, rho= 0.897).

On retrouve donc dans les cas atteints de la MA des régions cingulaires, plus de PSD-95 (S) que dans les cas épargnés par la maladie ainsi qu'une légère tendance dans la région EC. PSD-95 est également moins présent dans les cas AD de la région FC9 comparé à la région CG24. Une corrélation est cependant constatée entre les régions préfrontales et la région CG25. La présence de PSD-95 y est similaire à celle de la région CG24.

### Région FC10 : corrélation entre les stades de Braak et les marqueurs (cas AD)

Une corrélation entre les stades de Braak (I-II-III-IV-VI) et chaque marqueur (Amyloïde, AD2, Synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) a été cherchée chez les 10 cas AD de la région FC10, illustrée dans le graphique ci-dessous (Box-plots).

Cependant, aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence.

### Région FC 10 : corrélation entre l'âge et les marqueurs (cas contrôles)

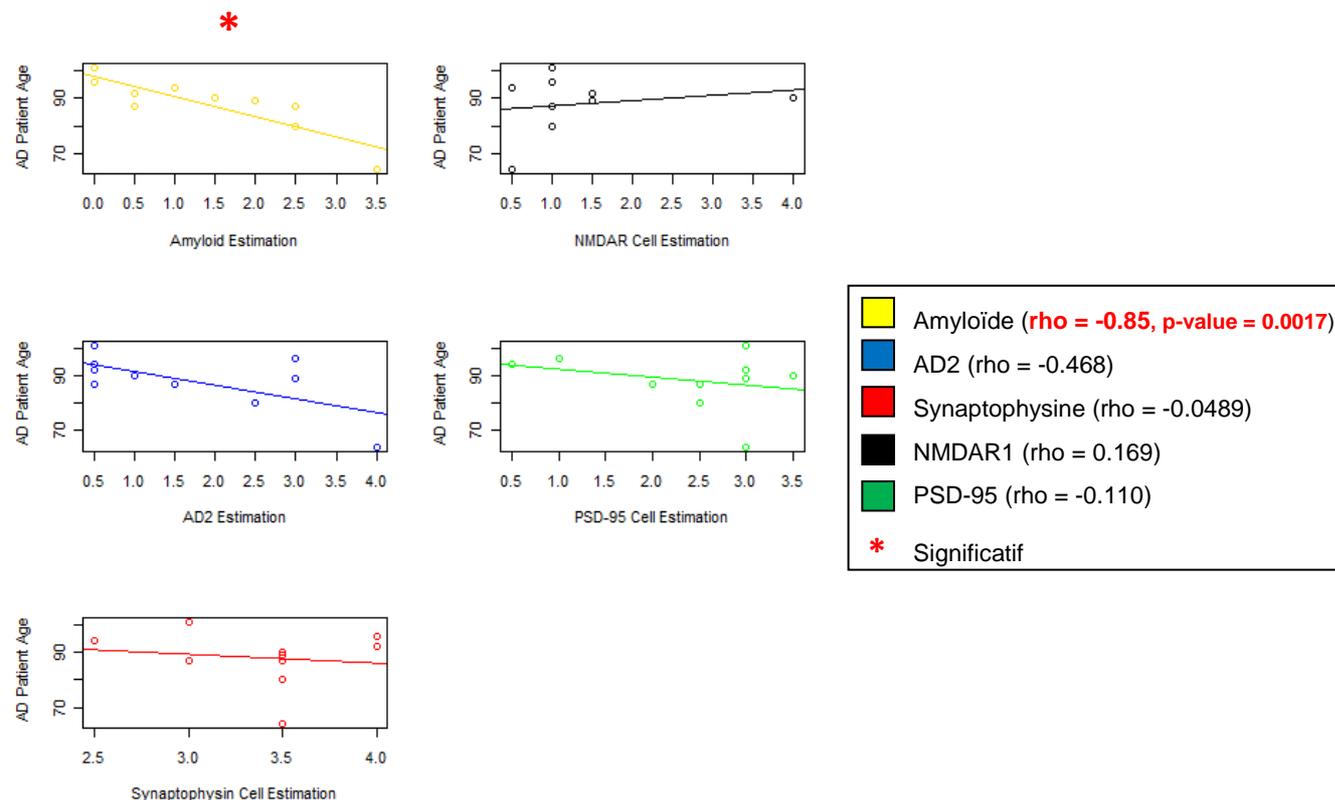
Une corrélation entre l'âge des 6 cas contrôles et chaque marqueur (Amyloïde, AD2, Synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) a été cherchée, illustrée dans le graphique ci-dessous.

Cependant, aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence.

Une corrélation entre l'âge des 10 cas AD et chaque marqueur (Amyloïde, AD2, Synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) a été également cherchée, illustrée dans le graphique ci-dessous.

Une corrélation négative entre l'âge et le marqueur amyloïde a été mise en évidence. Ainsi, avec l'âge, la quantité de  $\beta$ -amyloïde diminue dans les cas atteints de la MA dans la région FC10.

On observe cependant sur le graphique que la quantité de DNF et de PSD-95 diminuent avec l'avancement en âge.



Graphique 5 : Représentation de la relation entre l'âge des cas AD et la quantité estimée (0 ; 0.5 ; 1 ; 1.5 ; 2 ; 2,5 ; 3 ; 3,5 ; 4) de chaque marqueur (amyloïde, Ad2, Synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) dans la région FC10.

### Région FC10 : corrélation entre les tests cognitifs et les marqueurs

Une corrélation entre le score de trois tests neurocognitifs (MMS, CDR, NPI) avec chaque marqueur (Amyloïde, AD2, Synaptophysine, NMDAR1, PSD-95) chez les 10 cas AD a été cherchée, illustrée dans les graphiques ci-dessous.

Aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence entre les 3 tests et les marqueurs.

## 5. Discussion

### 5.1 Pathologie et rôle de la région FC10

L'étude de la région FC10 a pour but de comprendre l'implication dans la maladie d'Alzheimer, d'une région peu connue dont le développement se poursuit jusqu'à l'âge adulte. La MA atteint en premier lieu l'hippocampe et la région entorhinale et dans une évolution plus tardive le cortex frontal, notamment la région FC10 qui joue un rôle important dans plusieurs fonctions cognitives comme la mémoire de travail (mémoire à court terme) et la mémoire prospective. La prise d'initiative, la planification des actions, la résolution des problèmes, le raisonnement et la modulation du comportement sont d'autres capacités cognitives attribuées à la région FC10. Quand cette dernière est atteinte par la MA, elle contribue à la progression de la démence, notamment par les pertes de mémoire et les troubles de la modulation du comportement, fonctions exécutives.

Deux marqueurs pathologiques de la MA ont ainsi été étudiés: les plaques  $\beta$ -amyloïde (marquage amyloïde) et les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (marquage AD2).

L'hypothèse de la cascade  $\beta$ -amyloïde donne le rôle central au peptide  $\beta$ -amyloïde, à l'origine de la cascade pathologique menant à la MA. Selon plusieurs études (**Takashima et al. 2009** ; **Querfurth et al. 2010**), les DNF sont un bon marqueur de la sévérité de la MA.

Cependant, dans l'analyse qualitative, on trouve sur 8 cas non-diagnostiqués pour la MA (cas contrôles), 3 cas qui sont porteurs de plaques  $\beta$ -amyloïde. De plus, les deux cas atteints de la MA (cas AD) les plus âgés n'en sont pas porteurs. Pour les DNF, on les retrouve aussi bien dans les cas AD que dans les cas contrôles (sauf chez les deux plus jeunes).

Dans l'analyse semi-quantitative, les cas AD ont montré une seule différence significative comparés aux cas contrôles : une plus grande quantité de dégénérescence neurofibrillaire. Les plaques  $\beta$ -amyloïde sont certes présentes en quantité plus importante dans les cas AD, cependant la différence n'est pas significative.

Ainsi, sur 2 marqueurs pathologiques, seuls les dégénérescences neurofibrillaires dans la région FC10 sont significativement plus présentes dans les cas AD que dans les cas contrôles. De plus, on retrouve chez ces derniers, la présence d'un ou des deux marqueurs.

Plusieurs études (**White et al. 2005** ; **Schneider et al. 2007, 2009** ; **Haroutunian et al. 2008**) contestent le rôle qu'on attribue à ces deux marqueurs et avancent que la physiopathologie de la MA évolue avec l'avancement en âge et qu'elle est le résultat de plusieurs mécanismes neuropathologiques comme les corps de Lewy ou les lésions vasculaires en plus des plaques séniles et des DNF.

De plus, une étude (**Schneider et al. 2007**) a montré que la quantité des DNF et de plaques séniles chez des cas âgés atteints de la MA, était comparable à celle de sujets également âgés mais épargnés par la maladie. La présence de ces deux marqueurs ne serait donc pas exclusive à la MA. En effet, on retrouve ces deux marqueurs dans le processus du vieillissement physiologique.

Pour finir, une étude (**Eyrten-Lyons et al. 2009**) a étudié des cerveaux de sujets âgés. Ils ont constaté que malgré la présence de plaques séniles et de DNF, leurs capacités cognitives étaient maintenues pour autant que le volume cérébral et de l'hippocampe soit conservé. Ce dernier critère pourrait alors être un bon marqueur de la sévérité de la MA.

Le rôle de ces deux marqueurs dits pathologiques peut donc être contesté. Cependant, dans les régions préalablement étudiées dans notre laboratoire (EC, CG24, CG25, FC9 et FC10), malgré l'absence de différence significative, on retrouve plus de plaques séniles dans les cas AD que dans les cas contrôles. De plus, la présence des DNF semble être plus spécifique car on retrouve aussi bien dans les régions préfrontales que dans les régions cingulaires une quantité de DNF supérieure dans les cas AD en comparaison des cas contrôle.

Notre étude s'est aussi intéressée à un autre mécanisme physiopathologique de la MA : l'atteinte synaptique (perte et dysfonctionnement de la synapse). Ainsi, 3 protéines synaptiques ont été analysées: le récepteur NMDAR1, la protéine PSD-95 et la synaptophysine.

Les deux premières sont des éléments du compartiment postsynaptique et sont liées entre elles. Elles interviennent notamment dans la plasticité synaptique, la synaptogénèse et dans les processus de mémorisation et d'apprentissage. On a donc cherché à mettre en évidence une différence significative quant aux comportements de ces deux éléments importants de la synapse entre les cas contrôles et les cas AD. Il a été fait de même pour la synaptophysine.

Deux études dans la région entorhinale et dans la région préfrontale FC9 (**Leuba et al. 2008 ; Leuba et al. 2009**) montrent une augmentation de la protéine PSD-95. Une autre étude (**Leuba et al. 2012**, to be published/in press) a montré cette fois une augmentation de la protéine NMDAR1 dans les cas AD dans la région FC9. Ces processus pourraient être des mécanismes de compensation. Dans notre étude de la région FC10, on constate une augmentation minimale de PSD-95 dans les cas AD cependant la différence avec les cas contrôles n'est pas significative. Quant à NMDAR1, il n'y a pas de différence significative entre les cas contrôles et les cas AD.

Plusieurs études ont constaté une diminution de la synaptophysine chez des cas AD dans le cortex frontal mais également dans la région entorhinale (**Leuba et al. 2008**). Dans une des études du cortex frontal (**Head et al. 2009**), on met en évidence une augmentation de la synaptophysine chez des sujets âgés de plus de 90 ans qui présentent des troubles cognitifs mais pas encore les critères d'une démence. Il pourrait s'agir d'un mécanisme de compensation transitoire. Par contre, les sujets atteints de démence montrent une diminution de la synaptophysine. Une deuxième étude (**Masliyah et al. 2001**) constate une diminution progressive de cette protéine avec la progression de la démence dans le cortex frontal. Cependant, une autre étude (**Leuba et al. 2008**) dans la région préfrontale FC9 n'a mis aucune différence significative entre les cas atteints et épargnés par la maladie.

Notre étude n'a cependant pas montré de différence significative quant à la présence de la synaptophysine entre les cas contrôles et les cas AD dans la région FC10. On observe cependant en plus d'une grande variabilité de marquage dans les deux populations, une petite tendance à une plus grande présence de synaptophysine chez les cas AD.

On a cherché aussi à mettre en évidence des liens entre les marqueurs aussi bien dans la population AD que dans la population contrôle. Dans cette dernière, la présence de la protéine NMDAR1 est corrélée avec celle de la synaptophysine. Il n'y a pas d'autre corrélation.

### Stades de Braak

Selon plusieurs études, les dégénérescences neurofibrillaires sont corrélées avec le stade de sévérité de la MA. L'évolution de la répartition des DNF dans le cerveau est classée selon les stades de Braak. On a donc cherché à mettre en évidence des corrélations entre ces stades et les DNF mais aussi avec les plaques  $\beta$ -amyloïde et les 3 protéines synaptiques. Une étude dans le cortex frontal a permis de mettre en évidence chez des cas AD très âgés (oldest-old, >90 ans) une corrélation positive entre la synaptophysine et les stades de Braak (**Head et al. 2009**).

Il n'a cependant été mis en évidence aucune corrélation entre ces stades (disponibles pour 7 cas AD sur 10) et les quatre derniers marqueurs en plus des DNF.

De plus, selon la définition des stades de Braak, ce n'est qu'à partir du stade V, stade cortical, que les DNF sont présentes dans tout le cortex cérébral. Seuls deux cas ont un stade de Braak V mais on y retrouve seulement un faible marquage pour les DNF dans la région FC10. Ensuite, 3 cas ont un stade de Braak IV, stade limbique, mais on y retrouve par contre un marquage important dans FC10. Pour finir, 2 cas ont un stade de Braak III, stade limbique également où on retrouve uniquement des traces de marquage.

On constate donc que les cas avec un stade IV, stade où les DNF ne sont pas censées selon la classification s'étendre dans tout le cortex cérébral, ont un marquage plus important que les cas avec un stade V parmi nos 7 cas dans la région FC10.

On pourrait d'une part penser que ces stades n'ont pas été définis assez précisément à l'autopsie. En effet, une étude (**Alafuzoff et al. 2008**) a montré qu'une évaluation concordante des stades Braak, faite par des neuropathologistes sur des coupes immunohistochimiques, atteignait 50% en cas de stade I et II et 90% en cas de stade V et VI.

D'autre part, la progression des stades de Braak n'est pas toujours linéaire et la région préfrontale FC10 pourrait être plus variable de par sa fonction liée à la personnalité, propre à chacun et aux troubles des fonctions exécutives et de l'humeur.

Les stades de Braak ne sont donc pas corrélés avec l'évolution de la progression des DNF dans notre étude. La détermination du stade neuropathologique de la MA pourrait être imprécis.

### Tests neurocognitifs

Les cas AD diagnostiqués cliniquement ont aussi été évalués à l'aide de tests neurocognitifs auxquels on attribue un score, permettant d'évaluer la perte des capacités cognitives d'un sujet. On a donc cherché à mettre en évidence des corrélations entre ces scores et le comportement des 2 marqueurs pathologiques et des 3 marqueurs synaptiques chez des cas atteints de la MA. Cependant, on n'observe aucune corrélation.

L'observation des graphiques met en évidence des tendances contradictoires, par exemple une présence élevée de DNF quand le score du MMS est élevé et quand le score du CDR est bas. Par contre, la présence diminuée des plaques  $\beta$ -amyloïde et des DNF est liée respectivement à un score du MMS et du NPI élevé.

Ces 3 tests ont été utilisés pour aider au diagnostic clinique de la MA. Cette absence de corrélation et les tendances contradictoires nous indiquent qu'il faut utiliser ces tests avec prudence dans notre étude. Cependant, cela peut ne rien signifier du tout en raison du petit nombre de cas !

## 5.2 Spécificités des régions préfrontales FC9 et FC10

La région FC10 et la région FC9 sont deux régions préfrontales adjacentes. On a cherché à savoir si elles se comportent d'une manière similaire de par leur proximité ou si elles diffèrent quant aux comportements de nos 5 marqueurs.

Une étude sur la présence des DNF dans la région FC9 (**Bussière et al. 2003**) a permis de mettre en évidence une absence de DNF dans les cas contrôles mais une haute densité dans les cas AD. Dans une étude de la région FC9 faite préalablement dans notre laboratoire (**N.Fernandez, 2011**), on observe une différence (significative) entre les cas contrôles et les cas AD pour ce marqueur pathologique et une plus grande présence de plaques séniles (tendance) phénomène également observé dans notre étude. De plus, la quantité de ces deux marqueurs ne diffère pas significativement entre les cas AD des deux régions préfrontales.

Pour les protéines synaptiques, il n'y a pas de différence significative entre les cas AD et les cas contrôles dans les deux régions. La présence de la synaptophysine et de NMDAR1 est même comparable entre les cas AD et contrôles dans les deux régions. Plusieurs études (**Leuba et al. 2008, 2009, 2012**) montrent une augmentation de PSD-95 et de NMDAR1 dans la région FC9 chez les cas AD mais aussi de la synaptophysine dans le cortex frontal chez des cas avec des troubles cognitifs mais sans démence (**Head et al. 2009**). Ces phénomènes, interprétés comme un mécanisme de compensation, sont absents dans notre étude.

Par contre, on constate une présence plus marquée (S) de la protéine synaptique NMDAR1 dans la région FC9 dans les cas AD avec une tendance dans les cas contrôles et une présence plus marquée (S) de PSD-95 dans la région FC10 avec une tendance dans les cas contrôles. Le récepteur NMDAR1 et PSD-95 sont liés de par leur fonction et leur structure. On pourrait donc s'attendre à une corrélation entre la présence de PSD-95 et celle de NMDAR1 entre les cas AD des deux régions préfrontales mais inexistante dans notre étude. La synaptophysine est également plus présente (tendance) dans les cas AD et contrôles de la région FC10.

PSD-95 et la synaptophysine sont donc plus présents dans la région FC10 aussi bien chez les cas AD que les cas contrôle tandis que NMDAR1 est plus présent dans la région FC9 dans les deux populations.

La MA débute dans le cortex entorhinal et l'hippocampe, puis s'étend progressivement à toutes les régions du cortex cérébral notamment le cortex préfrontal dont font partie les régions FC10 et FC9. Deux études comprenant les mêmes cas ont montré cette évolution de la MA (**Bussière et al. 2003 ; Hof et al. 2003**) où des cas avec un score CDR situé entre 0 et 0.5 présentaient déjà une certaine quantité de DNF dans le cortex entorhinal et l'hippocampe alors que leur présence dans le néocortex se remarquait dans des cas avec un score CDR à 2. En comparant les deux régions préfrontales aux régions cingulaires et entorhinal, on cherche à mettre en évidence des spécificités propre à ces régions.

Dans notre étude, les deux régions préfrontales montrent tout d'abord une présence de DNF et de plaques séniles plus importante (S et tendance) dans les cas AD que dans les cas contrôles ce qui est également le cas dans les autres régions.

Ensuite, les régions préfrontales ne montrent pas de différence significative avec les régions cingulaires et la région entorhinal dans les cas AD quant à la quantité des marqueurs pathologiques. De plus, la présence des plaques séniles dans les régions préfrontales est corrélée avec celles des régions cingulaires tandis que la présence des DNF dans la région FC10 est corrélée avec celles des régions cingulaires et celle de la région entorhinal.

Dans les cas AD de la région entorhinal, la quantité de DNF est importante et supérieure aux autres régions (S et tendance) et on constate un comportement similaire des DNF dans les cas contrôles. Mais avec le vieillissement physiologique, des DNF peuvent être déjà présentes (**Schneider et al. 2007**) dans la région entorhinal notamment. De plus, c'est la première région touchée par la MA. Leur présence dans cette région (cas contrôle et cas AD) n'est donc pas significative de la MA contrairement aux régions préfrontales (et cingulaires). Ainsi, chez les cas AD, les DNF dans les régions EC et CG25 sont plus présentes (tendance) que dans les régions préfrontales. Entre ces dernières et la région CG24, la présence des DNF est comparable. Cette répartition est en accord avec leur processus évolutif de propagation.

Pour les protéines synaptiques dans les cas AD, les régions préfrontales ne montrent pas de différence significative avec la région entorhinal quant à la quantité de PSD-95. Cependant, le récepteur NMDA est moins présent (S) dans les régions préfrontales. Ces dernières ne montrent pas de différence significative avec les régions cingulaires quant à la quantité de synaptophysine, mais une quantité diminuée (S) de NMDAR1 en comparaison de la région CG25. On retrouve de plus une corrélation positive pour PSD-95 entre les régions préfrontales et la région CG25.

Pour la région FC9, PSD-95 et la synaptophysine sont respectivement moins présents (S) dans la région CG24 et dans la région entorhinal.

### 5.3 Rôle de l'âge dans la MA

Plusieurs études avancent qu'avec le vieillissement, la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer évolue. On constate ainsi une diminution des marqueurs pathologiques avec une quantité comparable à celle des cas épargnée par la MA (**Schneider et al. 2007**). On doit donc penser à rechercher l'association d'autres mécanismes physiopathologiques (lésions vasculaires, corps de Lewy) (**White et al. 2005 ; Schneider et al. 2007, 2009 ; Haroutunian et al. 2008**).

Une étude (**Haroutunian et al. 2008**) a comparé 3 types de populations : le groupe des young-old entre 60 et 80 ans, des middle-old entre 81 et 89 ans, et des oldest-old entre 90 et 107 ans. Il a été mis en évidence que la présence des DNF et des plaques séniles diminuent avec l'avancement en âge dans les cas atteints par la maladie d'Alzheimer. Une autre étude a mis en évidence que la présence des NFT et des plaques séniles chez les vieux cas AD (95 ans) est peu corrélée avec la MA clinique. Cependant, on retrouve chez les jeunes cas AD (<75ans) une forte corrélation entre les NFT et les

plaques séniles et la MA. Par contre, l'atrophie corticale et de l'hippocampe est un bon marqueur de la MA aussi bien chez les jeunes cas AD que chez les vieux cas AD (**Savva et al. 2009**).

Dans notre étude de la région FC10, sur les 10 cas AD, 8 cas sont âgés d'au moins 81 ans. La moitié montre seulement des traces de DNF, un cas uniquement, un faible marquage et seuls deux cas, un fort marquage. Par contre, le cas le plus jeune, 64 ans, montre un très fort marquage aussi bien pour les plaques séniles que pour les DNF. On remarque également l'absence de plaques  $\beta$ -amyloïde chez les deux cas AD les plus vieux (96 ans et 101 ans) ainsi qu'une corrélation négative entre l'avancement en âge et la quantité de plaques  $\beta$ -amyloïde ce qui signifie une tendance forte à avoir moins de plaques séniles avec l'âge. On observe de plus sur le graphique que la quantité du deuxième marqueur, les DNF, diminue également avec l'avancement en âge. Il en est de même pour PSD-95. Dans les cas contrôles, ce sont les quantités de synaptophysine et du récepteur NMDA qui diminuent avec l'avancement en âge tandis que PSD-95 augmente.

Il existe cependant un biais de sélection d'âge, la majorité de nos cas AD étant de vieux cas AD.

Dans la deuxième partie de notre étude, nous avons tenu compte du rôle grandissant que peuvent jouer les facteurs vasculaires dans la MA avec l'avancement en âge. Comme évoqué ci-dessus, on retrouve donc plus fréquemment une pathologie mixte chez les cas AD très âgés, en particulier l'association entre la MA et l'infarctus cérébral (**James et al. 2012**). En effet, les lésions vasculaires cérébrales résultant d'accidents vasculaires cérébraux (AVC) et d'accidents ischémiques transitoire (AIT) sont étroitement liées à la MA. On en retrouve dans environ 1/3 des cas diagnostiqués pour la MA (**Kalaria et al. 2000**). Chez quelques cas contrôles et AD de la région entorhinale et de la région FC9, des signes de microhémorragies cérébrales ont donc été cherchés. Cependant, aucune lésion hémorragique n'a pu être mise en évidence dans ces régions.

## 6. Conclusion générale

Les DNF et les plaques séniles sont donc présentes dans la région préfrontale FC10 avec une présence plus marquée dans les cas AD en comparaison des cas épargnés par la maladie. Cette région est donc impliquée dans la progression de la MA avec pour conséquence une péjoration des pertes cognitives.

L'évolution du rôle de ces deux marqueurs avec l'avancement en âge a été observée dans notre étude chez les cas AD avec une présence de plaques séniles qui diminue et un marquage des DNF qui se situe seulement entre faible et intermédiaire. Cependant, toutes les régions étudiées, qui interviennent pourtant à des stades différents de l'évolution de la MA, montrent une présence plus marquée de DNF et de plaques séniles dans les cas atteints par la maladie.

Quant à la recherche de modifications synaptiques au travers des niveaux de la synaptophysine, de NMDAR1 et de PSD-95, elle n'a pas été concluante ces derniers étant similaires entre les cas sains et les cas AD dans la région FC10.

Enfin, aucune corrélation n'a été mise en évidence entre les tests cognitifs et le comportement des 5 marqueurs ainsi qu'entre ces derniers et les stades de Braak.

Les deux régions préfrontales montrent des points de comparaison comme une augmentation des plaques séniles mais surtout des dégénérescences neurofibrillaires chez les cas atteints par la maladie d'Alzheimer. De plus, la quantité de DNF et de plaques séniles entre leur cas AD est comparable. Les deux régions préfrontales ne montrent pas d'augmentation des protéines synaptiques chez les cas AD en comparaison des cas contrôles synonyme d'un mécanisme de compensation retrouvé dans plusieurs études. Ensuite, les deux régions préfrontales diffèrent entre leur cas AD. PSD-95 est plus présent dans la région FC10 tandis que NMDAR1 est plus présent dans la région FC9. Le comportement des protéines synaptiques pourrait donc différer entre les deux régions contrairement aux marqueurs pathologiques.

Pour finir, les régions préfrontales, comme les autres régions cérébrales étudiées, montrent une présence plus importante de DNF et de plaques séniles dans les cas AD. De plus, leur présence entre

les cas AD des différentes régions fonctionnelles ne diffèrent pas significativement. Cependant, le comportement des protéines synaptiques est plus variable entre les différents groupes.

La recherche de microlésions vasculaires dans les régions EC et FC9, pour mettre en évidence l'implication des facteurs vasculaires, n'a pas abouti.

La maladie d'Alzheimer est donc une maladie complexe qui ne se résume pas à deux marqueurs pathologiques mais à un ensemble de facteurs intervenant sur le mécanisme physiopathologique. De plus, il est important de tenir compte du processus évolutif de la MA dans les différentes régions et de leur différence ainsi que du rôle de l'âge. Mais une étude avec plus de cas et en différenciant les jeunes cas AD des vieux cas AD et en prenant en compte plus de facteurs de risque ou de protéines synaptiques, permettrait une meilleure compréhension de la MA.

## **7. Remerciements**

Je tiens à remercier tout particulièrement ma tutrice de Master, le Dr Geneviève Leuba, pour son aide et sa patience dans la réalisation de ce travail. Je remercie également Mr André Vernay, Mlle Natalia Fernandez et Mr Ashwin Thampi pour leur aide précieuse. Je remercie également le Centre de Neurosciences Psychiatriques de l'Hôpital de Cery, où j'ai pu réaliser mon travail de Master ainsi que son directeur, le Professeur P. Magistretti. Enfin, je remercie le Dr A. Savioz pour son expertise.

## 8. Bibliographie

1. Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, J., Cole, G., Cooper, N., Eikelenboom, P., Emmerling, M., Fiebich, B., Finch, C., Frautschy, S., Griffin, W., Hampel, H., Hull, M., Landreth, G., Lue, L., Mrak, R., Mackenzie, I., McGeer, P., O'Banion, M., Pachter, J., Pasinetti, G., Plata-Salaman, C., Rogers, H., Rydel, R., Shen, Y., Streit, Y., Strohmeyer, R., Tooyom, I., Van Muiswinkel, F., Veerhuis, R., Walker, R., Webster, S., Wegrzynia, B., Wenk, G., Wyss-Coray, T., (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 21:383-421.
2. Alafuzoff, I., Arzberger, T., Al-Sarraj, S., Bodi, I., Bogdanovic, N., Braak, H., Bugiani, O., Del-Tredici, K., Ferrer, I., Gelpi, E., Giaccone, G., Graeber, M.B., Ince, P., Kamphorst, W., King, A., Korkolopoulou, P., Kovács, G.G., Larionov, S., Meyronet, D., Monoranu, C., Parchi, P., Patsouris, E., Roggendorf, W., Seilhean, D., Tagliavini, F., Stadelmann, C., Streichenberger, N., Thal, D.R., Wharton, S.B., Kretschmar, H., (2008). Staging of neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease: a study of the BrainNet Europe Consortium. *Brain Pathol.* 2008 Oct;18(4):484-96.
3. Bonin, G., (1950). *Essay on the cerebral cortex*. Springfield, IL: Charles C. Thomas.
4. Braak, H., Braak, E., (1996). Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiology of aging*. 18(4):351-357.
5. Büla, C., Joray, S., Simeone, I., Camus, V., (2004). Vieillessement cérébral pathologique: les pathologies démentielles. In F. Schenk, G. Leuba, et C. Büla, *Du vieillissement cérébral à la maladie d'Alzheimer. Autour de la notion de plasticité*. (pp. 229-261). Bruxelles: De Boeck.
6. Burgess, P.W., Gilbert, S.J., Dumontheil, I., (2007) Function and localization within rostral prefrontal cortex (area 10), *Phil.Trans. R. Soc. B*, 362, pp. 887-899.
7. Burgess, P.W., Dumontheil, I., Gilbert, S.J., (2007). The gateway hypothesis of rostral prefrontal cortex (area 10) function. *Trends Cogn Sci*. 2007 Jul;11(7):290-8. Epub 2007 Jun 4.
8. Bussière T., Gold G., Kövari E., Giannakopoulos P., Bouras C., Perl D. P., Morrison J.H., Hof P. R., (2003). Stereologic analysis of neurofibrillary tangle formation in prefrontal cortex area 9 in aging and Alzheimer's disease. *Neuroscience*. 2003;117(3):577-92.
9. Christoff, K., Prabhakaran, V., Dorfman, J, Zhao, Z., Kroger, J.K., Holyoak, K.J., Gabrieli, J.D., (2001) Rostrolateral prefrontal cortex involvement in relational integration during reasoning. *Neuroimage*. 2001 Nov;14(5):1136-49.
10. Chu, L.W., (2012). Alzheimer's disease: early diagnosis and treatment. *Hong Kong Med J*. 2012 Jun;18(3):228-37. PubMed PMID: 22665688.
11. Cramer, P.E., Cirrito, J.R., Wesson, D.W., Lee, C.Y., Karlo, J.C., Zinn, A.E., Casali, B.T., Restivo, J.L., Goebel, W.D., James, M.J., Brunden, K.R., Wilson, D.A., Landreth, G.E., (2012). ApoE-directed therapeutics rapidly clear  $\beta$ -amyloid and reverse deficits in AD mouse models. *Science*. 2012 Mar 23;335(6075):1503-6. Epub 2012 Feb 9.
12. Daffner, K.R., Mesulam, M.M., Scinto, L.F., Acar, D., Calvo, V., Faust, R., Chabrier, A, Kennedy, B., Holcomb, P., (2000). The central role of the prefrontal cortex in directing attention to novel events. *Brain*. May;123 (Pt 5):927-39.
13. Davies, C., Mann, D., Sumpter, P., Yates, P., (1987). A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *J neuropathol*. 78(2):151-64.
14. Delrieu, J., Ousset, P.J., Caillaud, C., Vellas, B., (2012). Clinical trials in Alzheimer's disease: immunotherapy approaches. *J Neurochem*. 2012 Jan;120 Suppl 1:186-93. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07458.x. Epub 2011 Nov 28. Review.
15. Drzezga, A., Grimmer, T., Henriksen, G., Mühlau, M., Perneczky, R., Miederer, I., Praus, C., Sorg, C., Wohlschläger, A., Riemenschneider, M., Wester, H.J., Foerstl, H., Schwaiger, M., Kurz, A., (2009). Effect of APOE genotype on amyloid plaque load and gray matter volume in Alzheimer disease. *Neurology*. 2009 Apr 28;72(17):1487-94.
16. Erten-Lyons D., Woltjer R. L., Dodge H., Nixon R., Vorobik R., Calvert J. F., Leahy M., Montine T., Kaye J., (2009). Factors associated with resistance to dementia despite high Alzheimer disease pathology. *Neurology* 72, 354–360.
17. Farrer, L. A., Cupples, L.A., Haines, J.L., Hyman, B., Kukull, W.A., Mayeux, R., Myers, R.H., Pericak-Vance, M.A., Risch, N., van Duijn, C.M., (1997). Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA*. 1997 Oct 22-29;278(16):1349-56.
18. Fernandez A., (2011). Alzheimer's Disease and Cerebral Aging: Identification of Pathological Biomarkers in the Human Cerebral Cortex, Master Thesis of Science in Medical Biology, Centre of Psychiatric Neuroscience (CNP), Hôpital de Cery (CHUV).
19. Fotuhi, M., Hachinski, V., Whitehouse, J., (2009). Changing perspectives regarding late-life dementia. *Nat. Rev. Neurol*. 5:649-658.
20. Haroutunian V., Schnaider-Beeri M., Schmeidler J., Wysocki M., Purohit D. P., Perl D.P., Libow L.S., Lesser G.T., Maroukian M., Grossman H.T., (2008). Role of the neuropathology of Alzheimer disease in dementia in the oldest-old. *Arch Neurol*. 2008 Sep;65(9):1211-7.
21. Hata, Y., Takai, Y., (1999). Roles of postsynaptic density-95/synapse-associated protein 90 and its interacting proteins in the

organization of synapses. *Cell. Mol. Life. Sci.* 56:461-472.

22. Head E., Corrada M.M., Kahle-Wroblewski K., Kim R.C., Sarsoza F., Goodus M., Kawas C.H., (2009). Synaptic proteins, neuropathology and cognitive status in the oldest-old. *Neurobiol Aging*. 2009 Jul;30(7):1125-34.
23. Hof P. R., Bussière T., Gold G., Kövari E., Giannakopoulos P., Bouras C., Perl D. P., Morrison J.H., (2003). Stereologic evidence for persistence of viable neurons in layer II of the entorhinal cortex and the CA1 field in Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 62:55–67.
24. Holloway, R.L., (2002). Brief communication: how much larger is the relative volume of area 10 of the prefrontal cortex in humans? *Am J Phys Anthropol.* Aug;118(4):399-401.
25. Hunt, C., Schenker, L. J., Kennedy, M. B., (1996). PSD-95 is associated with the postsynaptic density and not with the presynaptic membrane at forebrain synapses. *J. Neurosci.* 18 : 10136-10149.
26. Jacobs, B., Schall, M., Prather, M., Kapler, E., Driscoll, L., Baca, S., Jacobs, J., Ford, K., Wainwright, M., Trembl, M., (2001). Regional Dendritic and Spine Variation in Human Cerebral Cortex: a Quantitative Golgi Study. *Cereb Cortex*. 2001 Jun;11(6):558-71.
27. James B. D., Bennett D. A., Boyle P. A., Leurgans S., Schneider J. A., (2012). Dementia from Alzheimer disease and mixed pathologies in the oldest old. *JAMA*. 2012 May 2;307(17):1798-800.
28. Kalaria R.N., (2000). The role of cerebral ischemia in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2000 Mar-Apr;21(2):321-30. Review.
29. Kim, E., Sheng, M., (2004). PDZ domain proteins of synapses. *Nat Rev Neurosci.* Oct;5(10):771-81. Review.
30. Koehlin, E., Hyafil, A., (2007). Anterior prefrontal function and the limits of human decision-making. *Science*. 2007 Oct 26;318(5850):594-8. Review. PubMed PMID: 17962551.
31. Kril, J.J., Patel, S., Harding, A.J., Halliday, G.M., (2002). Patients with vascular dementia due to microvascular pathology have significant hippocampal neuronal loss. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. Jun;72(6):747-51.
32. Larson, E., Shadlen, M.F., Wang, L., McCormick, W., Bowen, J., Teri, L., Kukull, W., (2004) Survival after initial diagnosis of Alzheimer disease. *Ann Intern Med*, 2004 ; 140: 501-509.
33. Leuba, G., Saini, K., Zimmermann, V., Giannakopoulos, P., Bouras, C. (2001) Mild Amyloid Pathology in the Primary Visual System of Nonagenarians and Centenarians. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;12:146-152.
34. Leuba, G., Savioz, A., (2004). Vieillesse, plasticité et dégénérescence des circuits cérébraux. Dans Du vieillissement cérébral à la maladie d'Alzheimer. Autour de la notion de plasticité. Schenk, F., Leuba, G., et Büla C., Bruxelles: De Boeck, pp. 129-166.
35. Leuba, G., (2008). Maladie d'Alzheimer et vieillissement cérébral. Dans Actualités Psychologiques n° 21. (Institut de Psychologie : Université de Lausanne), pp. 77-92.
36. Leuba, G., Savioz, A., Vernay, A., Carnal, B., Kraftsik, R., Tardif, E., Riederer, I., Riederer, B., (2008). Differential changes in synaptic proteins in the Alzheimer frontal cortex with marked increase in PSD-95 postsynaptic protein. *Journal of Alzheimer's disease*. 15:139-151.
37. Leuba, G., (2009). Une maladie neurodégénérative à l'assaut de la mémoire, Dans Actualités Psychologiques n° 22. (Institut de Psychologie : Université de Lausanne), pp. 17-37.
38. Kraft, E., Marti, M., Werner, S., Sommer, H., (2010). Cost of dementia in Switzerland, *Swiss Med Wkly*;140:w13093.
39. Lepage, M., Richer, F., (2000). Frontal brain lesions affect the use of advance information during response planning. *Behav Neurosci.* Dec;114(6):1034-40.
40. Masliah E., Mallory M., Alford M., DeTeresa R., Hansen L.A., McKeel D.W. Jr, Morris J.C., (2001). Altered expression of synaptic proteins occurs early during progression of Alzheimer's disease. *Neurology*. 2001 Jan 9;56(1):127-9.
41. Monsch, A. U., Hermelink, M., Kressig, R. W., Fisch, H.-P., Grob, D., Hiltbrunner, B., Martensson, B., Rüggeger-Frey, B., Armin von Gunten, Groupe d'experts en Suisse (2008). Consensus sur le diagnostic et la prise en charge des patients atteints de démence en Suisse. *Forum Med Suisse* 2008;8(8):144–149.
42. Ngandu, T., von Strauss, E., Helkala, E.L., Winblad, B., Nissinen, A., Tuomilehto, J., Soininen, H., Kivipelto, M., (2007). Education and dementia: what lies behind the association? *Neurology*. Oct 2;69(14):1442-50.
43. Okuda, J., Fujii, T., Yamadori, A., Kawashima, R., Tsukiura, T., Fukatsu, R., Suzuki, K., Ito, M., Fukuda, H., (1998). Participation of the prefrontal cortices in prospective memory: evidence from a PET study in humans. *Neurosci Lett*. Sep 4;253(2):127-30.
44. Querfurth, H.W., LaFerla, F.M., (2010). Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2010 Jan 28;362(4):329-44.
45. Savioz, A., Leuba, L., Vallet, P. G., Walzer C., (2010). Altérations des réseaux neuronaux dans la démence d'Alzheimer. Dans Introduction aux réseaux neuronaux, de la synapse à la psyché, Bruxelles : De Boeck, pp. 183-204

46. Savva G. M., Wharton S. B., Ince P. G., Forster G., Matthews F. E., Brayne C., (2009). Medical Research Council Cognitive Function and Ageing Study. Age, neuropathology, and dementia. *N Engl J Med.* 2009 May 28;360(22):2302-9.
47. Scheff, W., Price, D., Schmitt, F., DeKosky, S., Mufson, E., (2006). Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology.* 68:1501-8.
48. Schneider, J.A., Arvanitakis, Z., Bang, W., Bennett, D. A., (2007) Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology* 69, 2197–2204.
49. Schneider, J.A., Arvanitakis, Z., Leurgans, S.E., Bennett, D.A., (2009) The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann. Neurol.* 66, 200–208.
50. Schuff, N., Woerner, N., Boreta, L., Kornfield, T., Shaw, L.M., Trojanowski, J.Q., Thompson, P.M., Jack, C.R. Jr, Weiner, M.W., (2009) Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. MRI of hippocampal volume loss in early Alzheimer's disease in relation to ApoE genotype and biomarkers. *Brain.* 2009 Apr;132(Pt 4):1067-77. Epub 2009 Feb 27.
51. Semendeferi, K., Armstrong, E., Schleicher, A., Zilles, K., Van Hoesen, G W., (2001). Prefrontal cortex in humans and apes : a comparative study of area 10. *Am J Phys Anthropol.* 2001 Mar;114(3):224-41.
52. Snowdon, D. A., Greiner, L. H., Mortimer, J. A., Riley, K. P., Greiner, P. A., Markesbery, W. R., (1997). Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease. The Nun Study. *JAMA.* 1997 Mar 12;277(10):813-7.
53. Snyder, E. M., Nong, Y., Almeida, C. G., Paul, S., Moran, T., Choi, E. Y., Nairn, A. C., Salter, M. W., Lombroso, P. J., Gouras, G. K., Greengard P., (2005). Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid- $\beta$ . *Nature Neuroscience* 8, 1051 – 1058
54. Takashima, A., (2009). Amyloid- $\beta$ , Tau, and dementia. *Journal of Alzheimer's disease.* 17:729-736.
55. Tiraboschi, P., Hansen, L.A., Masliah, E., Alford, M., Thal, L.J., Corey-Bloom, J., (2004). Impact of APOE genotype on neuropathologic and neurochemical markers of Alzheimer disease. *Neurology.* Jun 8;62(11):1977-83.
56. Traynelis, S. F., Wollmuth, L. P., McBain, C. J., Menniti, F. S., Vance, K. M., Ogden, K. K., Hansen, K. B., Yuan, H., Myers, S. J., Dingledine, R., (2010) Glutamate Receptor Ion Channels : Structure, Regulation, and Function. *Pharmacol Rev.* 2010 September; 62(3): 405–496.
57. Troquier, L., Caillierez, R., Burnouf, S., Fernandez-Gomez, F.J., Grosjean, M.E., Zommer, N., Sergeant, N., Schraen-Maschke, S., Blum, D., Buee, L., (2012). Targeting Phospho-Ser422 by Active Tau Immunotherapy in the THY22 Mouse Model: A Suitable Therapeutic Approach. *Curr Alzheimer Res.* 2012 May 1;9(4):397-405.
58. Volle, E., Gonen-Yaacovi, G., Costello Ade, L., Gilbert, S.J., Burgess, P.W. (2011). The role of rostral prefrontal cortex in prospective memory: a voxel-based lesion study. *Neuropsychologia* 2011 Jul;49(8):2185-98. Epub 2011 Mar 1.
59. White L., Small B.J., Petrovitch H., Ross G.W., Masaki K., Abbott R.D., Hardman J., Davis D., Nelson J., Markesbery W., (2005). Recent clinical–pathologic research on the causes of dementia in late life: update from the Honolulu–Asia Aging Study. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* 18, 224–227.
60. Wiedenmann B., Franke W.W., (1985) Identification and localization of synaptophysin, an integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles. *Cell.* 1985 Jul;41(3):1017-28.
61. Williamson, J., Goldman, J., Marder, K. S., (2009). Genetics aspects of Alzheimer disease. *Neurologist.* 2009 Mar;15(2):80-6.

#### Sites internet

Association Alzheimer Suisse Neuchâtel, 2006. Les stades et symptômes de la maladie d'Alzheimer. <http://www.alzheimer-schweiz.ch/ne/html/alzheimer+29.html>

Association Alzheimer Suisse, 2012. Traitement. <http://www.alz.ch/index.php/traitement.html>