

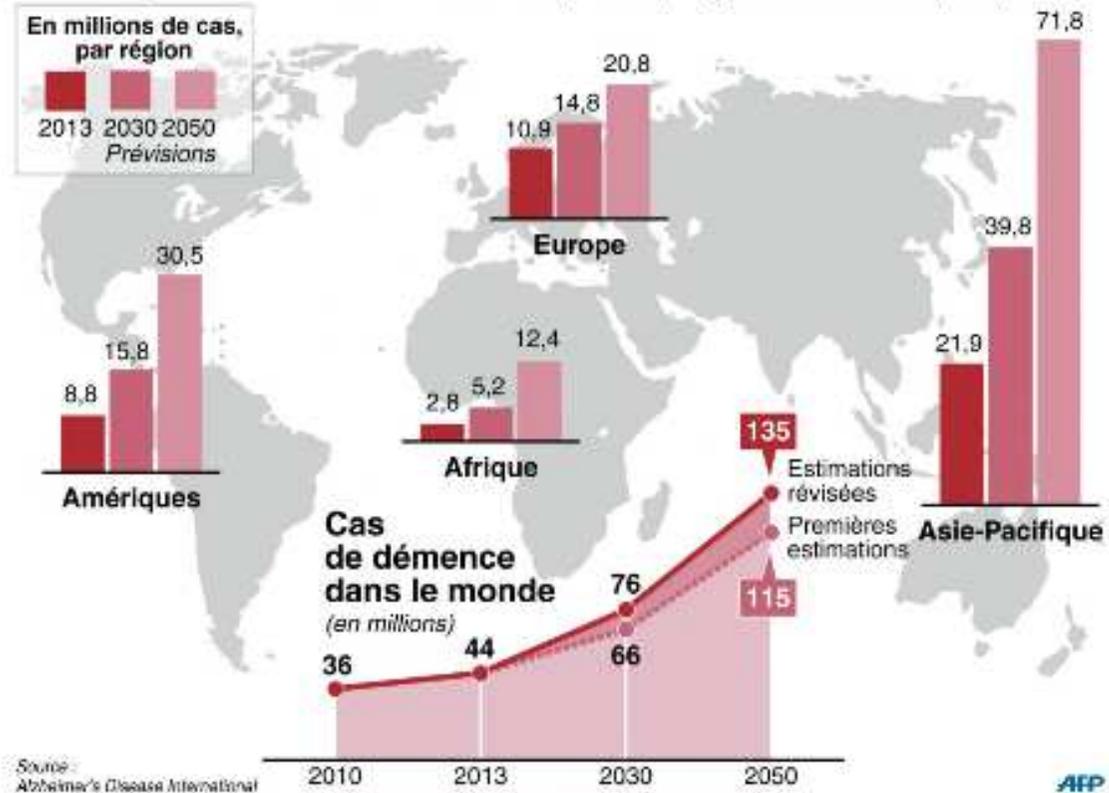
Les marqueurs biologiques de la maladie d'Alzheimer

Laurence Lutteri
Pharmacien biologiste
Service de Chimie Clinique
Professeur Cavalier
CHU Liège

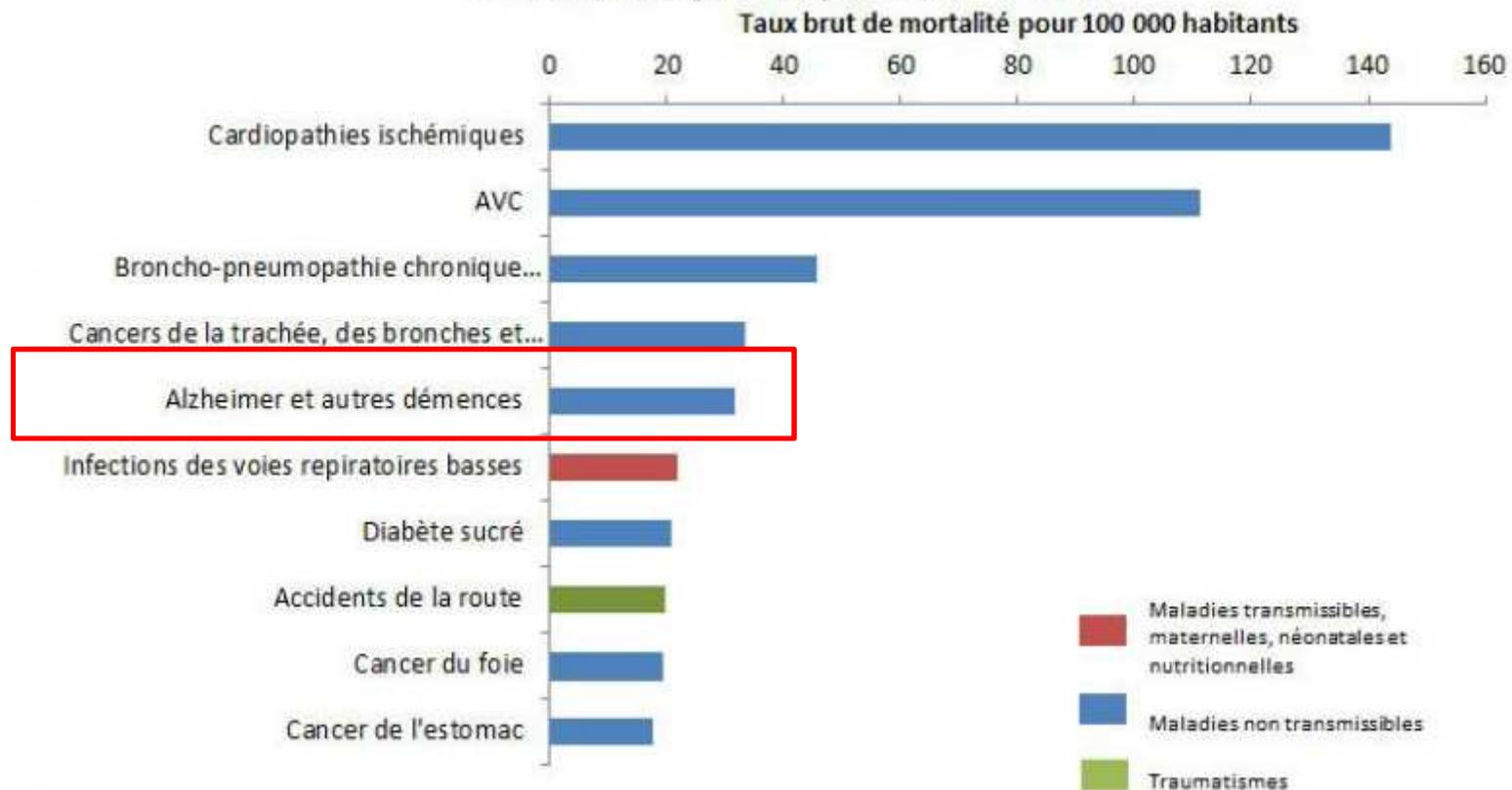
Les démences

Les cas de démence devraient tripler d'ici 2050

La démence, notamment la maladie d'Alzheimer, un des plus gros défis de santé publique

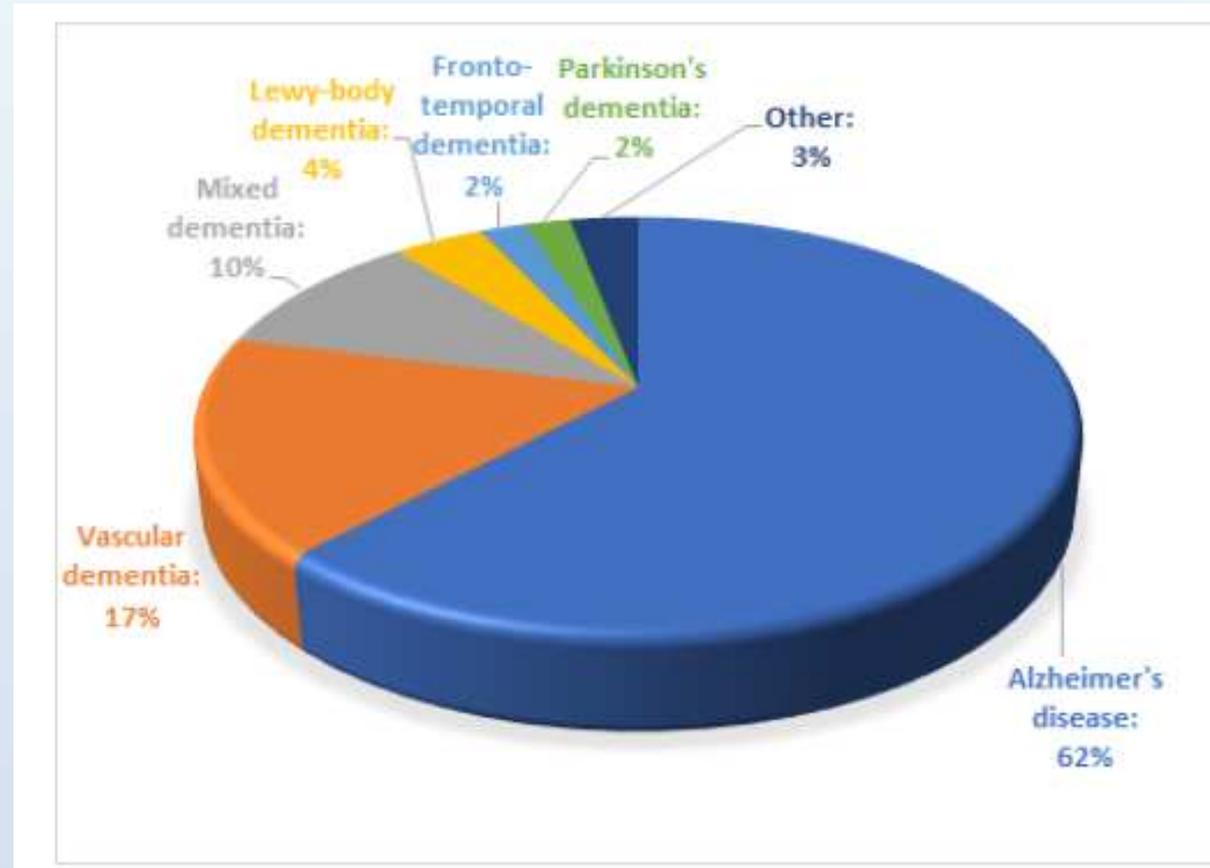


Les 10 principales de causes de mortalité dans les pays à revenu moyen supérieur - 2016



Source: Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016, Geneva, World Health Organization, 2018.
 World Bank list of economies (June 2017), Washington, DC: The World Bank Group, 2017 (<https://datahelpdesk.worldbank.org/knowledgebase/articles/906519-world-bank-country-and-lending-groups>).

Les démences

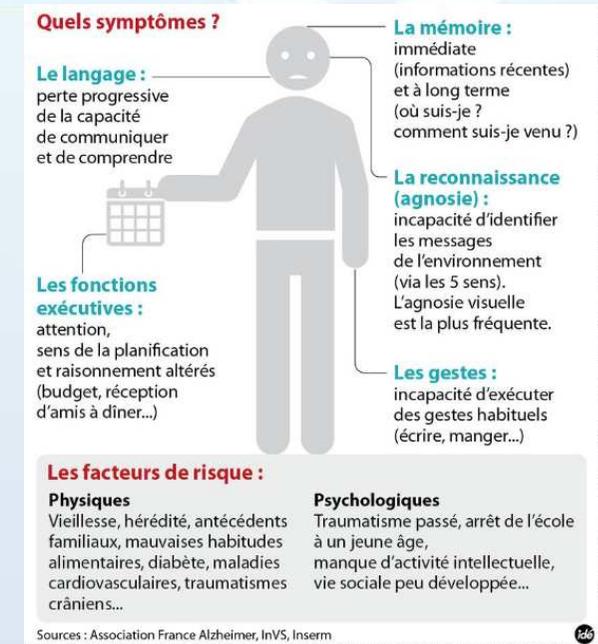


Les démences : définition

Démence : Syndrome caractérisé par

- des *troubles de la mémoire*
- des *troubles d'au-moins une autre fonction cognitive*

(langage, agnosies, praxies, fonctions exécutives) retentissant sur les activités sociales, familiales ou professionnelles après élimination d'une cause psychiatrique et d'une confusion.



Selon le DSM (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) V:

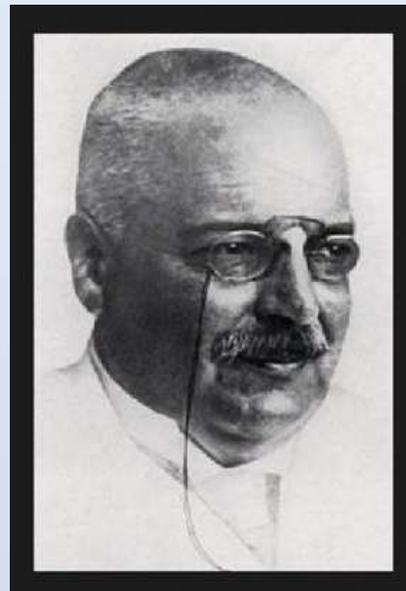
la maladie d'**Alzheimer** se caractérise par

- un *trouble neurocognitif léger* (déficit cognitif léger)
- ou *majeur* (démence)

caractérisé par un *déclin de la mémoire* et de la *capacité d'apprentissage* avec un *début insidieux* et une *progression graduelle* des symptômes cognitifs et comportementaux.

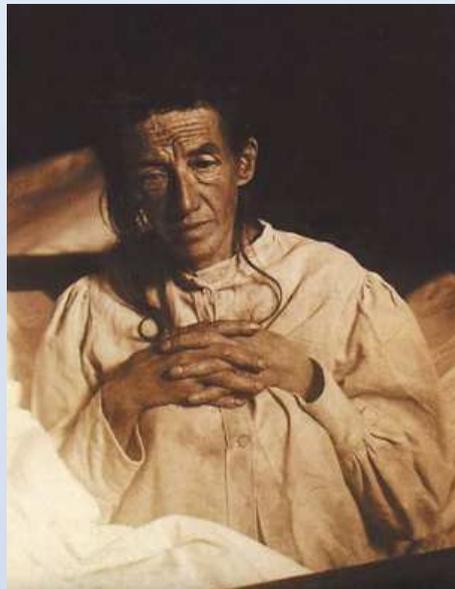
Un peu d'histoire...

- La maladie a toujours existé...mais elle n'avait pas ou peu le temps de se manifester ...
- Dès l'antiquité, on parlait déjà d'altération de la raison avec l'âge.
- Ce n'est que fin 1906 qu'Alois Alzheimer (1864-1915), neuropathologiste allemand, identifie et décrit avec précision la pathologie.



Un peu d'histoire...

- Il suit pendant plusieurs années une patiente, Auguste Deter, atteinte de démence (troubles de la mémoire, désorientation, hallucinations...)
- Il recommanderait comme traitement "des bains chauds plusieurs fois par jour, des exercices en plein air, de la gymnastique ou encore des massages".



Un peu d'histoire...

- A la mort d'Auguste Deter, à l'âge de 51 ans, le neurologue allemand découvre lors de **l'autopsie de son cerveau** deux anomalies caractéristiques de la maladie d'Alzheimer : une **dégénérescence des neurones** (la dégénérescence neurofibrillaire) et un **dépôt anormal d'une protéine** à l'extérieur des neurones (les plaques séniles).
- Ces observations sont présentées le 4 novembre 1906, lors de la 37e Conférence des psychiatres allemands à Tübingen, en Allemagne. Alois Alzheimer décrit pour la première fois la « maladie particulière du cortex cérébral ».
- Son étude publiée en 1907 marquera l'identification de la maladie, baptisée trois ans plus tard par le psychiatre Kraepelin "maladie d'Alzheimer" du nom de son ancien élève.

- **Formes familiales** : à transmission autosomique dominante, associée à un âge de *début précoce*
- **Age** : à partir de 65 ans, l'incidence double chaque 5 ans (d'environ 2-3% jusque 35-40% après 85 ans).
- **Sexe** : Femme : risque 1,5 à 2 x
- **Faible niveau d'études** (STERN Y., GURLAND B., TATEMICHIT. K., et al. « Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease ». *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 1994, 271, 13, p. 1004-1010.)
- **Hypertension** QIU C., WINBLAD B., FRATIGLIONI L. « The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia ». *The Lancet Neurology*, 2005, 4, 8, p. 487-499.
- **Diabète** BIESELS G. J., DEARY I. J., RYAN C. M. « Cognition and diabetes: a lifespan perspective ». *The Lancet Neurology*, 2008, 7, 2, p. 184-190.
- **Alcoolisme** (l'alcool modérément serait protecteur...)
- **Inactivité**
- **Facteurs nutritionnels** : anti-oxydants ?
- **Exposition** : solvants, aluminium,...

- Le facteur de risque génétique le plus connu implique le gène de l'Apolipoprotéine E (APO E)
- Situé sur le chromosome 19.
- Cette glycoprotéine joue un rôle dans le transport du cholestérol et représente un ligand aux récepteurs permettant l'endocytose des lipoprotéines.
- existe trois isoformes de cette protéine: l'Apo E2 (7-8%), l'Apo E3 (75-80%) et Apo E4 (14-15%).
 - L'allèle E4 est le principal **facteur de risque** génétique de la forme sporadique de la MA.
 - Les porteurs hétérozygotes E3/E4 auraient un risque de développer la maladie 3,2 fois supérieur à celui des E3/E3.
 - Les porteurs homozygotes E4/E4, quant à eux, auraient un risque 11,6 fois supérieur aux E3/E3.
 - L'allèle E2 serait un allèle **protecteur**.

- Risque de développer la maladie et l'âge du début dépend de l'allèle E4 :
 - 20 % et 84 ans pour les non porteurs de l'allèle E4.
 - 47 % et 76 ans pour les hétérozygotes.
 - 91 % et 68 ans pour les homozygotes. Doc Euroimmun.
- La présence de l'allèle E4 est associée à des niveaux d'A β 1-42 diminués avec des valeurs inférieures chez les homozygotes par rapport aux sujets hétérozygotes. Shaw. Annals of Neurology 2009.



Neuropathologie

2 types de lésions cérébrales

Naissance de la maladie d'Alzheimer

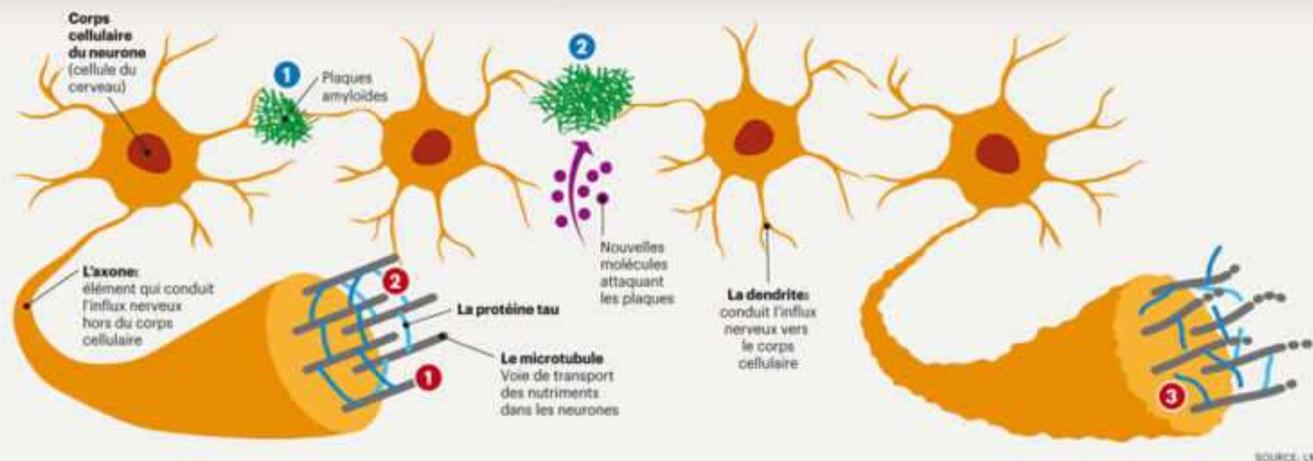
Parmi les différentes théories qui expliqueraient l'apparition d'une démence dite d'Alzheimer, les scientifiques mettent en avant **deux types de lésions du cortex cérébral**: **Les plaques amyloïdes** (entre les neurones) et **la dégénérescence neurofibrillaire** (à l'intérieur des neurones).

Lésion 1: Plaques amyloïdes

- 1 La peptide bêta-amyloïde s'accumule entre les neurones sous forme de plaques toxiques.
- 2 De nouvelles molécules ralentissent la progression de la maladie d'Alzheimer en attaquant ces plaques.

Lésion 2: Dégénérescence neurofibrillaire

- 1 Le système de transport qui relie le corps cellulaire du neurone à l'extrémité de l'axone est formé par des microtubules.
- 2 Ces filaments sont maintenus entre eux de façon cohérente par la protéine tau.
- 3 Dans la maladie d'Alzheimer, la protéine tau se déforme, empêchant le neurone de faire circuler correctement les éléments essentiels à sa survie.



Plaques amyloïdes
entre les
cellules neuronales

Enchevêtrements neurofibrillaires :
Dépôts intracellulaires de
dégénérescences neurofibrillaires formées
de la protéine Tau sous une forme
hyperphosphorylée

Source : Planète santé

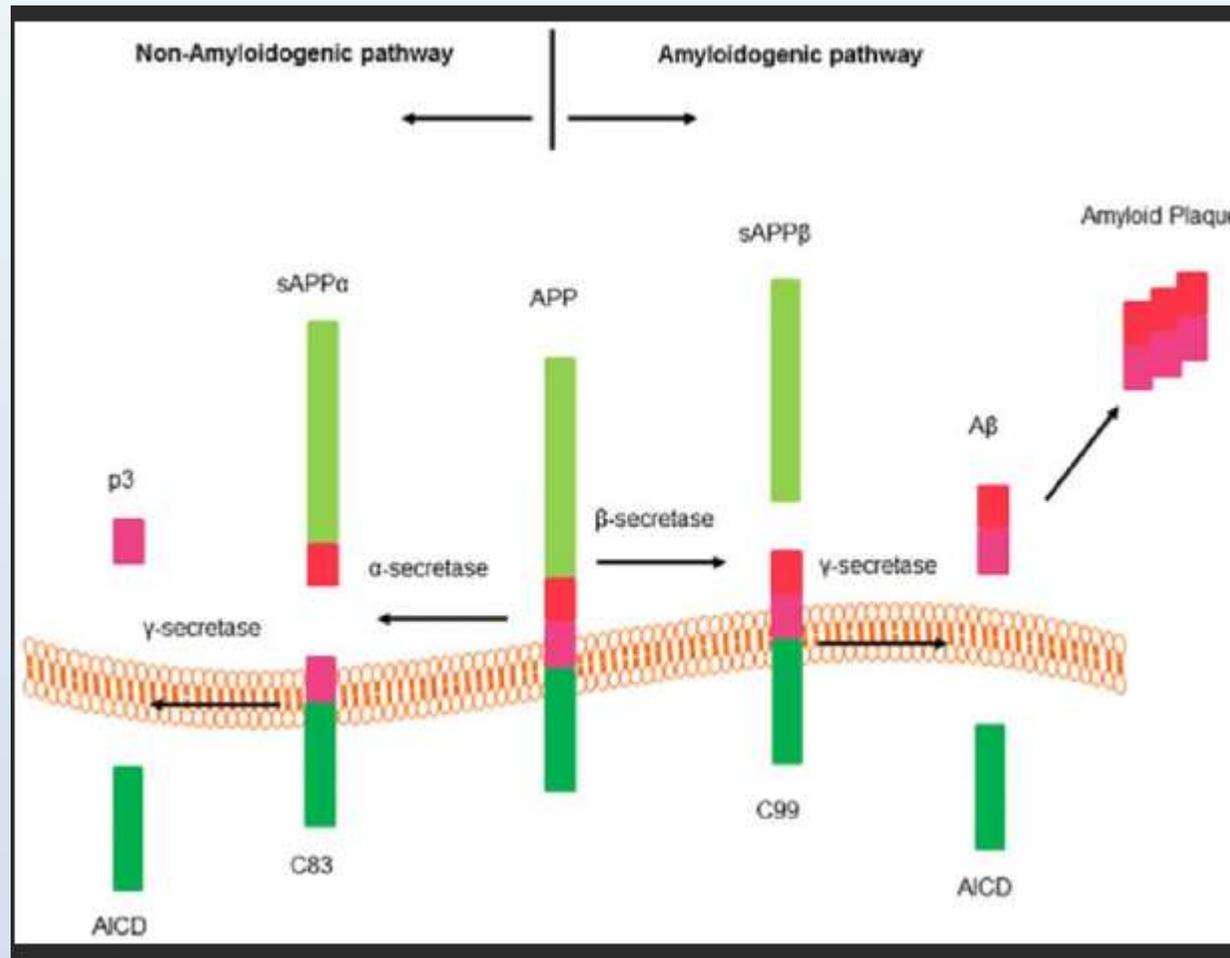


La cascade amyloïde

La protéine β amyloïde

→ Plaques amyloïdes

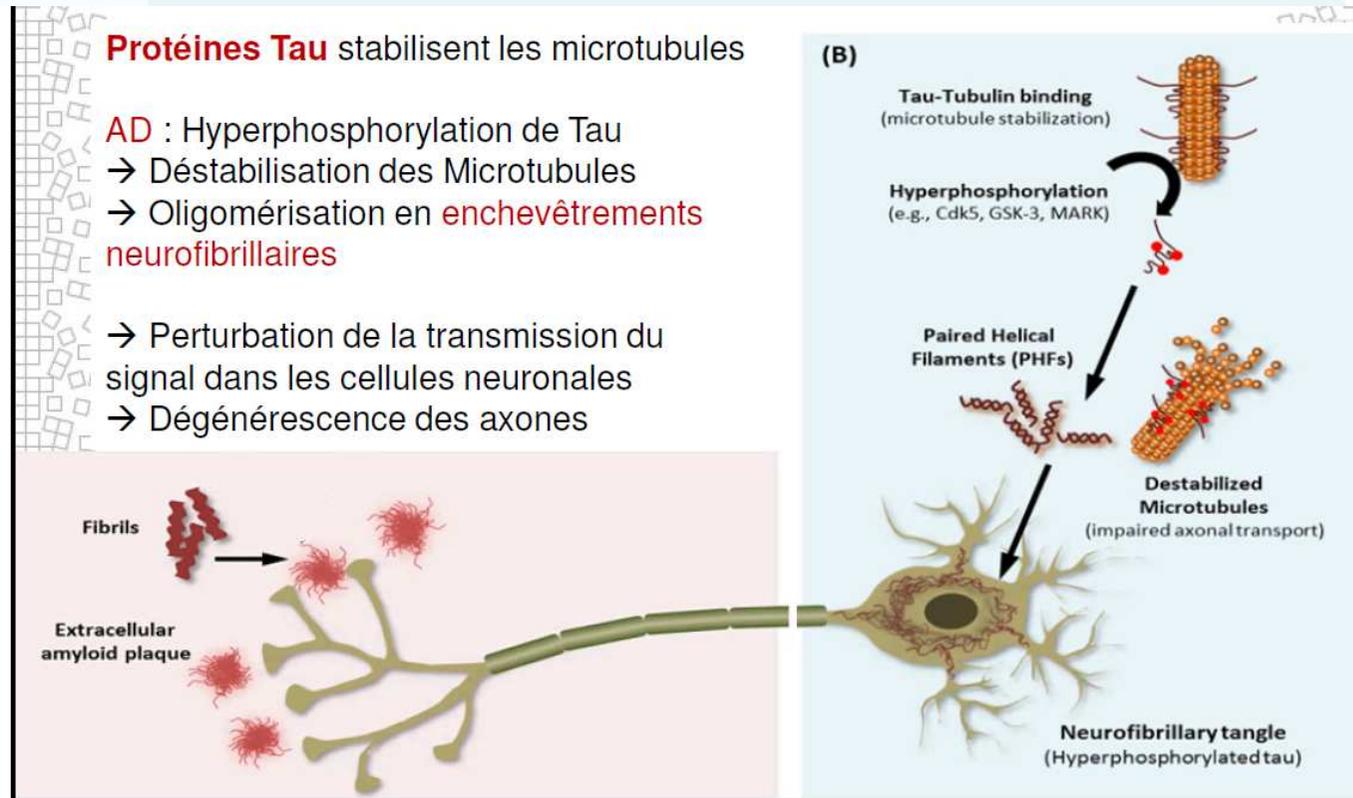
La cascade amyloïde





La dégénérescence neurofibrillaire

La protéine Tau
(tubulin associated unit)



DNF → **Tauopathies** : dégénérescence cortico-basale, la paralysie supranucléaire progressive, la maladie de Parkinson post-encéphalitique, le syndrome de l'île de Guam, la maladie de Steinert et certaines démences fronto-temporales → pas spécifique de la maladie d'Alzheimer.

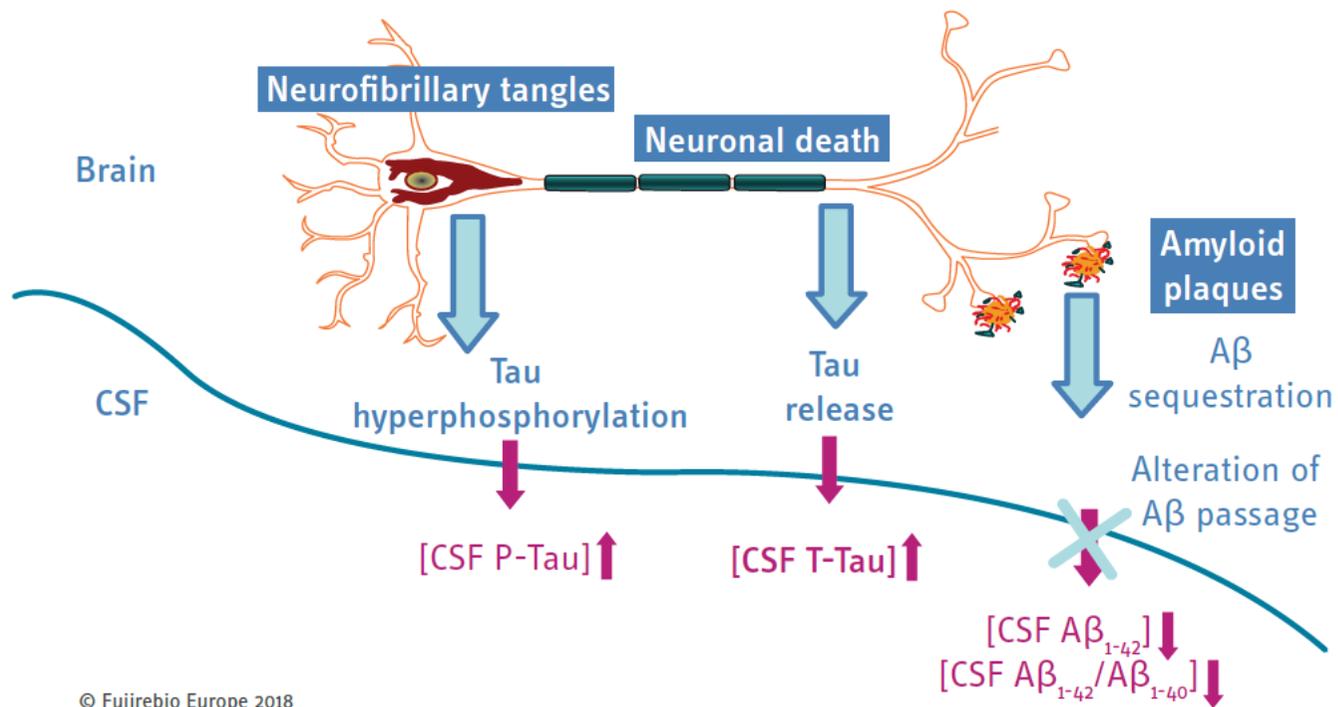


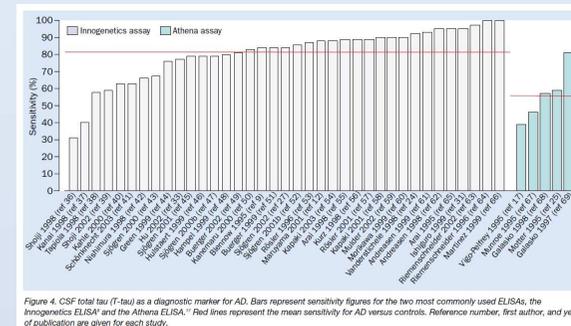
Fig.1: Tau and Aβ, specific proteins reflective of underlying pathology of Alzheimer's disease



Protéine Tau

Protéine Tau dans la MA

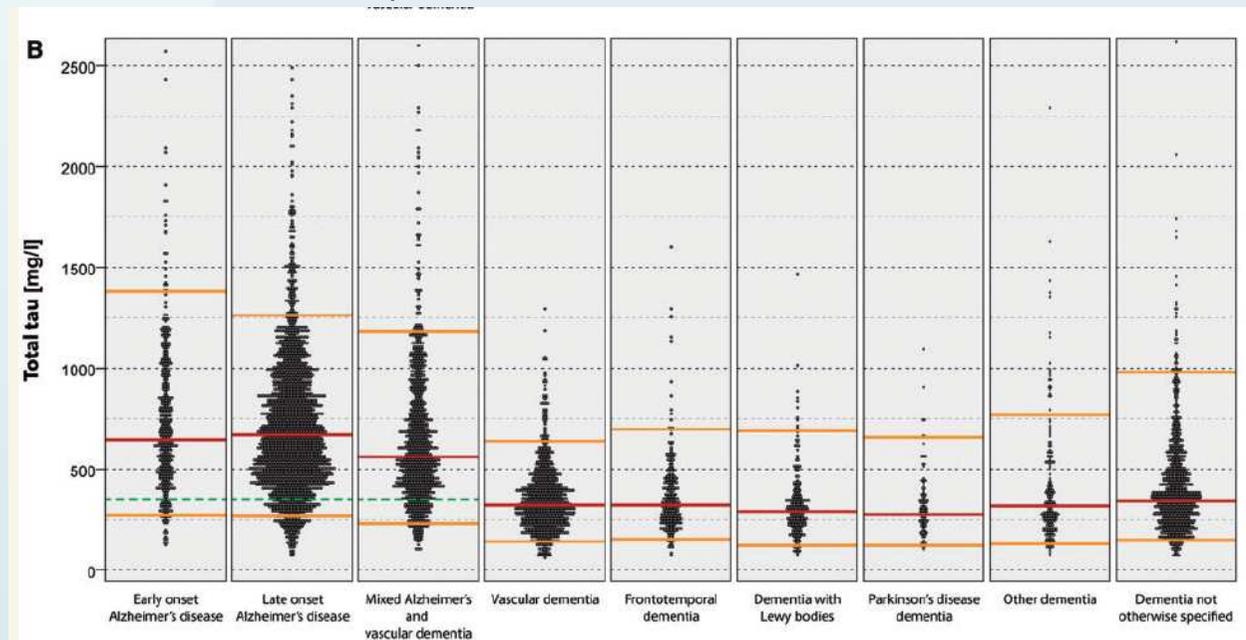
- Découverte entre 1984-1986. Dosage en 1993.
- ↑ protéine Tau totale (élévation moyenne de 254 % de la norme) chez les patients atteints de MA. (Blennow et al. 2001 et 2003).
- Méta-analyse de 36 études, 2500 MA et 1400 témoins : **sensibilité** du dosage de la protéine T-Tau pour discriminer un patient MA d'un sujet sain est de **81%** (Blennow et al. 2009)



- Taux élevés de protéines Tau **corrélés** à une **intensité** plus importante de **dégénérescence neuronale**. (Blennow et al. 2010)

Protéine Tau dans d'autres pathologies

- **Non spécifique** de la MA : peut être observé dans d'autres situations cliniques (tauopathies : Maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), Démence à Corps de Lewy, dégénération fronto-temporale, démence vasculaire, phase aigüe d'un AVC, traumatismes crâniens,...)



Skillback et al. Brain 2015

→ **Sensible mais peu spécifique !**



Protéine Phospho-Tau 181

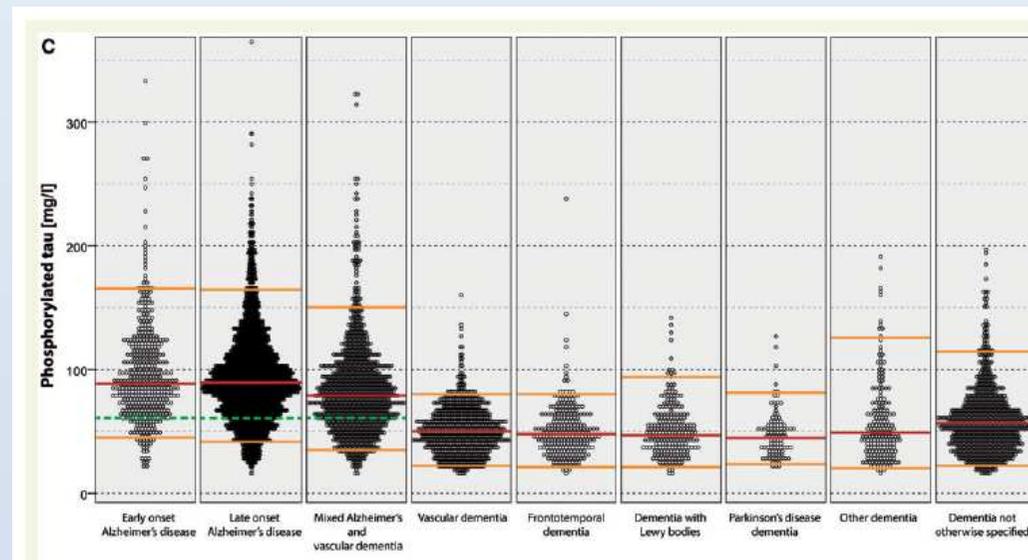
Protéine phospho-Tau 181 dans la MA

- ↑ protéine phospho-Tau (élévation moyenne de 188 % de la norme) chez les patients atteints de MA au stade démentiel et prodromal. (Buerger et Blennow. 2002).
- Taux élevés de protéines phospho-Tau **corrélés à l'enchevêtrement neurofibrillaire**. (Blennow et al. 2010)

Protéine phospho-Tau 181 dans d'autres pathologies

- **Spécifique** de la MA :

“CSF P-tau has a lower accuracy to detect prodromal AD (Hertze et al., 2010; Mattsson et al., 2012c), but this marker is still important because it is **often normal** in cases with none AD-related neurodegenerative conditions such as Parkinson's disease with dementia, dementia with Lewy bodies (DLB), vascular dementia, frontotemporal degeneration (FTD), stroke, brain trauma, Creutzfeldt-Jakob disease,... .”



→ **Spécifique mais moins sensible !**

Barthélemy et al. *Alzheimer's Research & Therapy* (2020) 12:26
<https://doi.org/10.1186/s13195-020-00596-4>

Alzheimer's
 Research & Therapy

RESEARCH

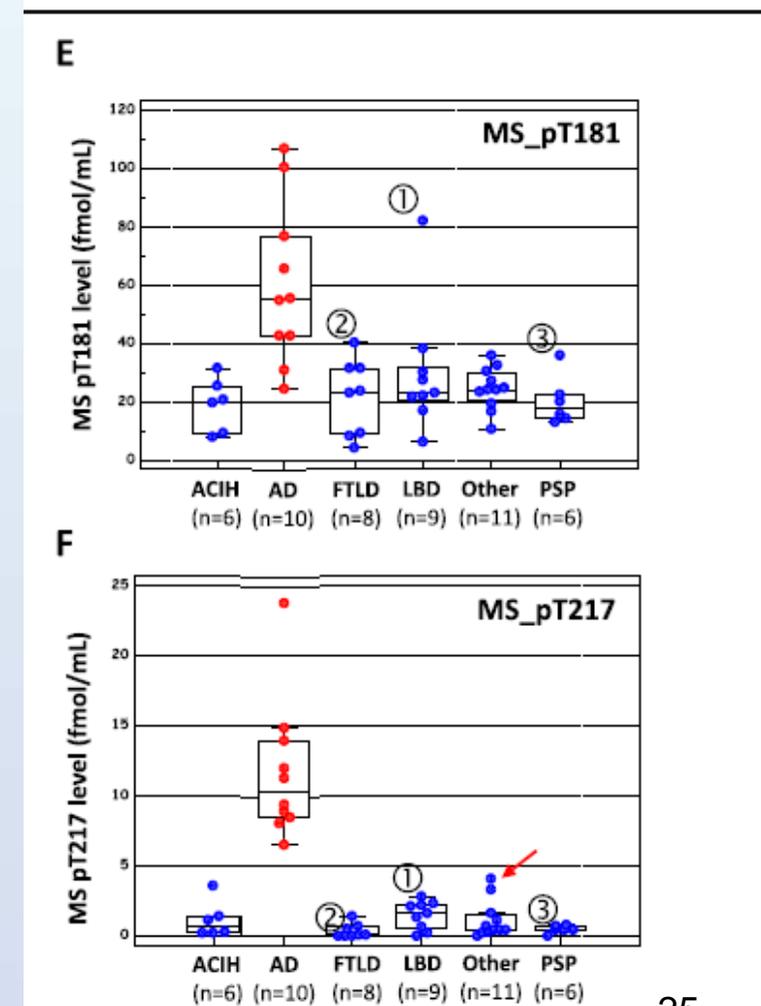
Open Access

Cerebrospinal fluid phospho-tau T217 outperforms T181 as a biomarker for the differential diagnosis of Alzheimer's disease and PET amyloid-positive patient identification



Nicolas R. Barthélemy^{1,2*}, Randall J. Bateman², Christophe Hirtz¹, Philippe Marin³, François Becher⁴, Chihiro Sato², Audrey Gabelle^{5*} and Sylvain Lehmann^{1*}

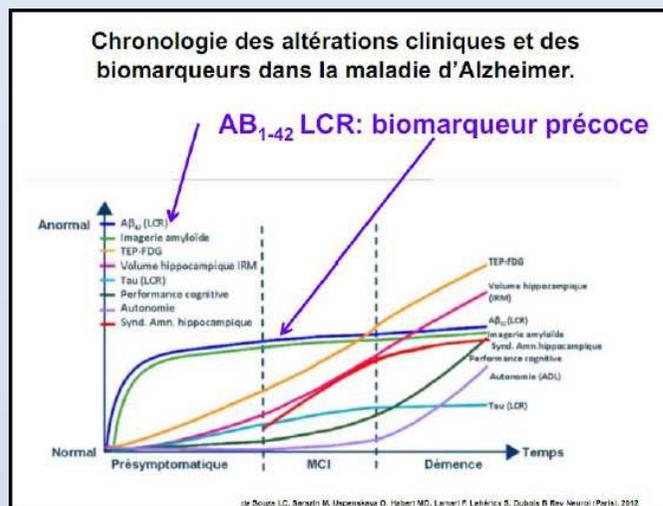
→ Meilleur pouvoir de discrimination



- Concentration en Tau corrélée avec la présence de DNF (Tapiola et al. 2009)
- Concentration en Phospho-Tau corrélée avec la quantité de DNF (Clark et al. 2007)

-> Le taux de protéines Tau et phospho-tau semble **corrélé**

- à la lyse neuronale donc à la symptomatologie
 - Taux Tau plus importante dans MCJ que dans MA.
- au stade d'évolution de la maladie



Protéines Tau et phospho-Tau : biomarqueurs précoces

- “CSF T-tau is often, but not always, increased in **prodromal AD**, especially in patients who develop AD dementia within **5 years** (Buchhave et al., 2012).
- “With regards to tau, longitudinal studies showed the **predictive value of tau** to identify individuals likely to have a **more rapid cognitive decline and higher mortality**” (Kester et al, 2009; Sämgard et al, 2010; Wallin et al, 2010)



Protéine β -amyloïde 1-42

- Découverte entre 1984-86, dosage en 1995.
- ↓ β amyloïde 1-42 (en moyenne à 56% des valeurs normales) dans le LCR des patients atteints de MA. (Andreassen et al. 2001)
- Méta analyse de 13 études : 600 patients MA et 450 contrôles : **sensibilité** du dosage du peptide $A\beta$ 1-42 pour établir le diagnostic de MA : **86%** (Blennow et al. 2003)

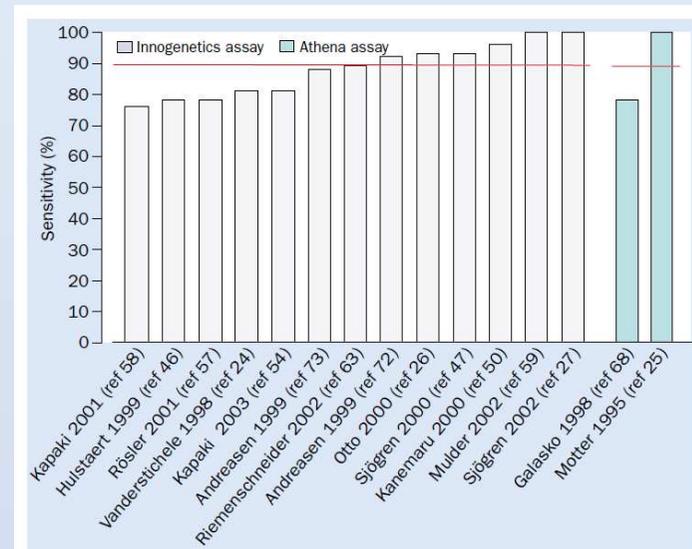
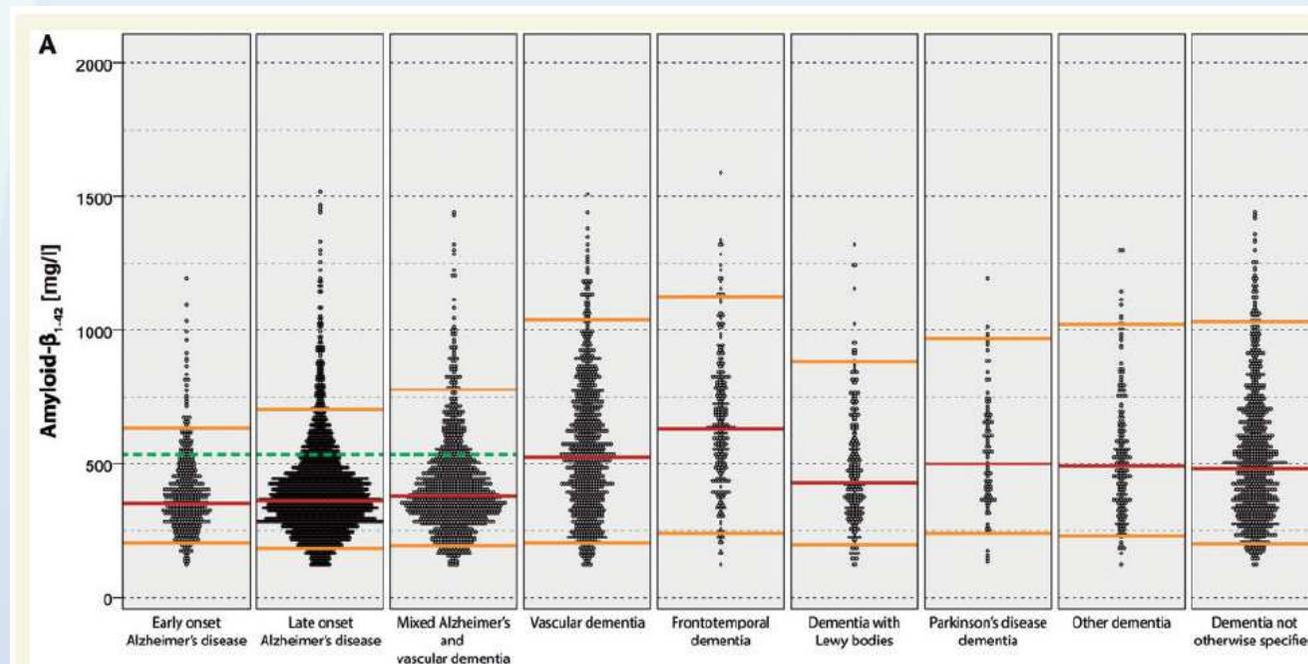


Figure 5. CSF $A\beta_{1-42}$ in the diagnosis of Alzheimer's disease. Bars represent sensitivity figures for the two most commonly used ELISAs, the Innogenetics ELISA^{24,25} and the Athena ELISA.²⁶ Red lines represent the mean sensitivity for AD versus controls.

Protéine β -amyloïde 1-42 dans d'autres pathologies

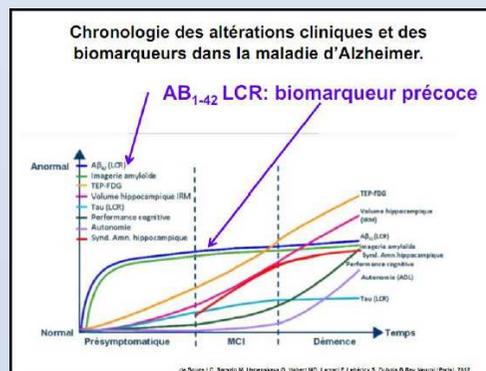
- **Non spécifiques** de la MA : peut être observé dans d'autres situations cliniques (Démence à Corps de Lewy (DCL), Dégénérescence Frontotemporale (DFT), démence vasculaire, Maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ),.....).



→ **Sensible mais peu spécifique !**

Protéine β -amyloïde 1-42 : biomarqueur précoce

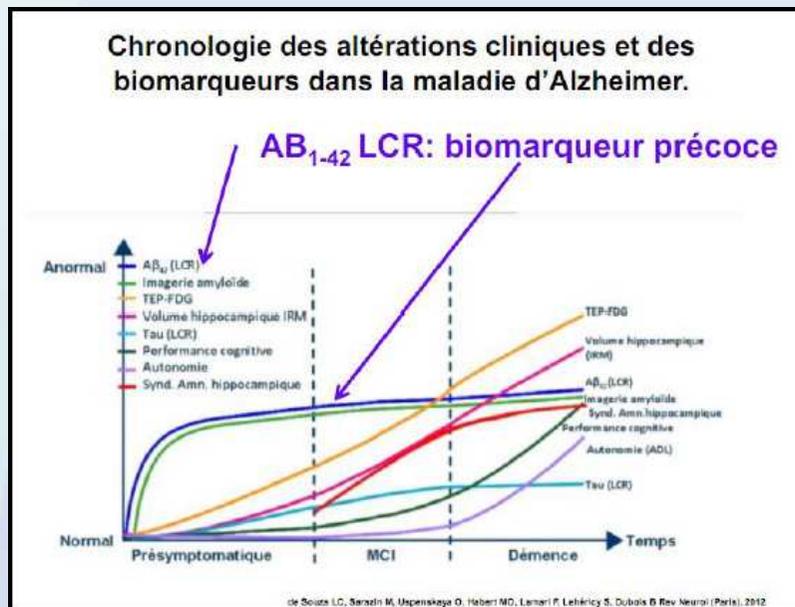
- “markers of amyloid deposition (i.e., CSF and PET) form the **earliest measurable event** and **precede** evidence of neuronal injury (i.e., elevated level of tau in CSF)” Jack et al, 2013.
- CSF A β 1-42 becoming **abnormal before PET** Palmqvist et al, 2016.
- « Son niveau **diminuerait avant** les premiers symptômes de la maladie puisque la quantité de peptides A β 1-42 dans le LCR est significativement plus basse chez les sujets asymptomatiques porteurs d'une anomalie sur le gène de la préséniline 1 que chez les sujets sains. » Moonis et al Neurology 2005



Le peptide A β 42 du LCR se positiverait en premier, suivi secondairement de modifications touchant les autres biomarqueurs (protéine Tau totale du LCR, PET au 18-FDG, IRM structurale), parallèlement à l'apparition des premiers signes cliniques (Trojanowski et al., 2010).

Protéine β -amyloïde 1-42 : quelques considérations

- Diminution **corrélée** avec le nombre de plaques amyloïdes dans le cortex cérébral sur des études autopsiques de patients atteints de MA (Strozyk et al. 2003) → reflet de la séquestration cérébrale du peptide $A\beta$ dans les plaques amyloïdes.
- L'accumulation de peptide amyloïde se produit très précocement, à la phase présymptomatique pour **atteindre un plateau et reste stable** tout au long de la maladie quelle que soit sa sévérité.



→ inutile pour le pronostic ainsi que pour établir le stade d'évolution de la maladie

- Tau : **sensible** mais peu spécifique
- β amyloïde 1-42 : **sensible** mais peu spécifique
- Phospho-Tau : **spécifique** mais peu sensible

→ Combinaison des 3 dosages :

- . Sensibilité : 80 à 93 %
- . Spécificité : 82 à 90 %

Blennow et al 2006, Gabelle et al 2013. Duits et al 2014.

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

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

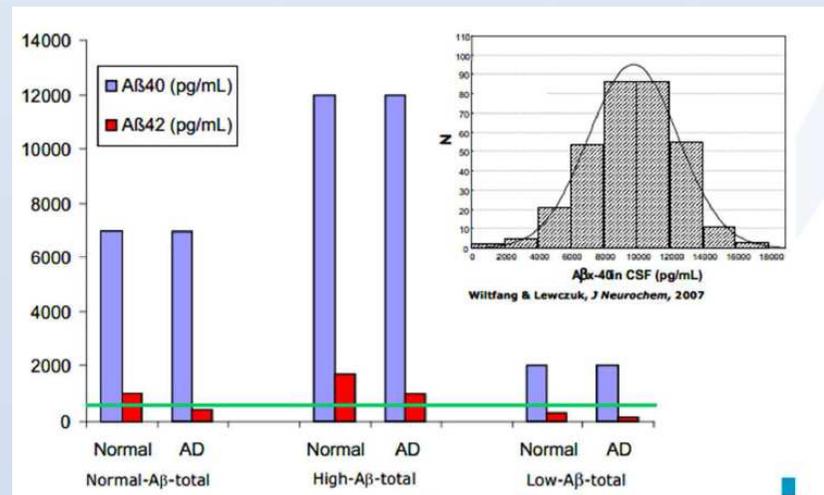
MA : maladie de Alzheimer ; MCJ : maladie de Creutzfeld-Jacob.
 AD : Alzheimer disease ; CDJ : Creutzfeld-Jacob disease

Protéine A β 1-40

- Protéine amyloïde **la plus abondante** dans le LCR : 60 % des protéines amyloïdes suivie de la A β 1-438 puis de la A β 1-42 : 10%.
- A β 1-40 **reflète la charge totale** de peptide amyloïde produite
- Concentration A β 1-40 **ne diffère pas** selon les AD, pré-symptomatiques AD, contrôles sains, autres démences,...
- Analyser A β 1-40 et A β 1-42 dans le **même run** !

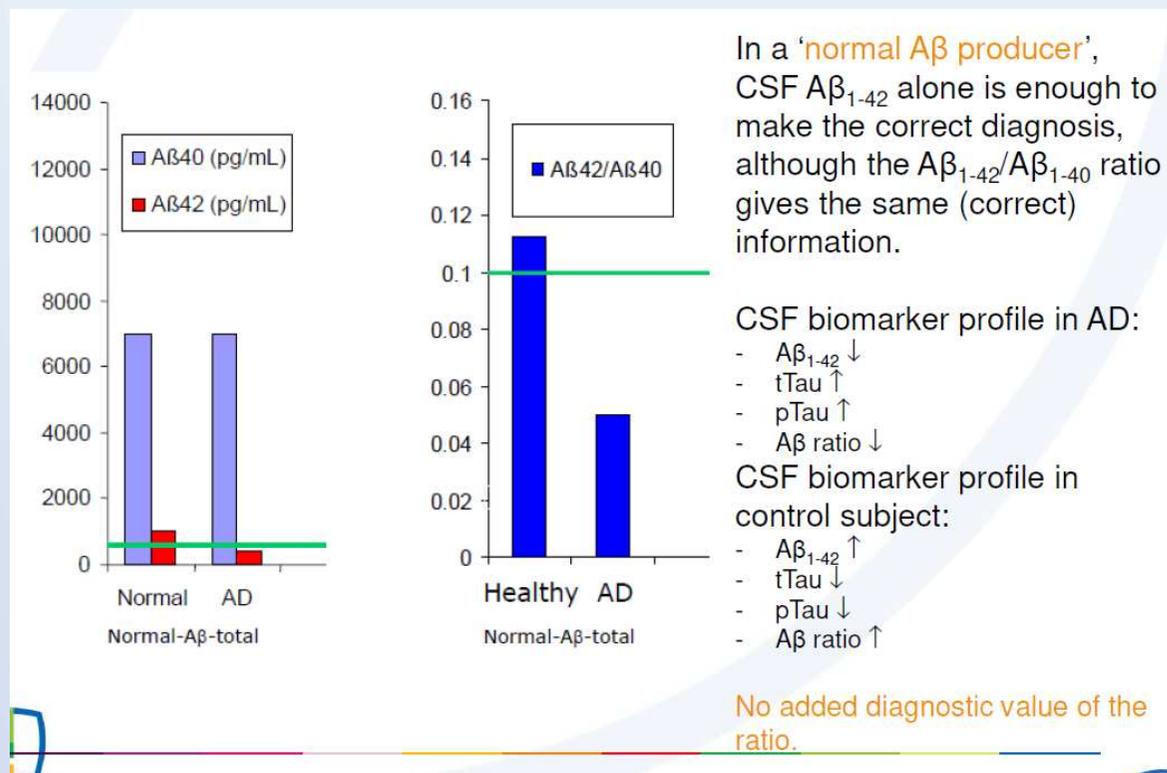
Production de protéines bêta-amyloïdes

- Il existe 3 types de producteurs :
 - Normaux : toutes les protéines amyloïdes produites en quantité selon les valeurs de référence
 - Hauts : toutes les protéines amyloïdes produites en quantité SUPERIEURES aux valeurs de référence
 - Bas : toutes les protéines amyloïdes produites en quantité INFÉRIEURES aux valeurs de référence



Production de protéines bêta-amyloïdes

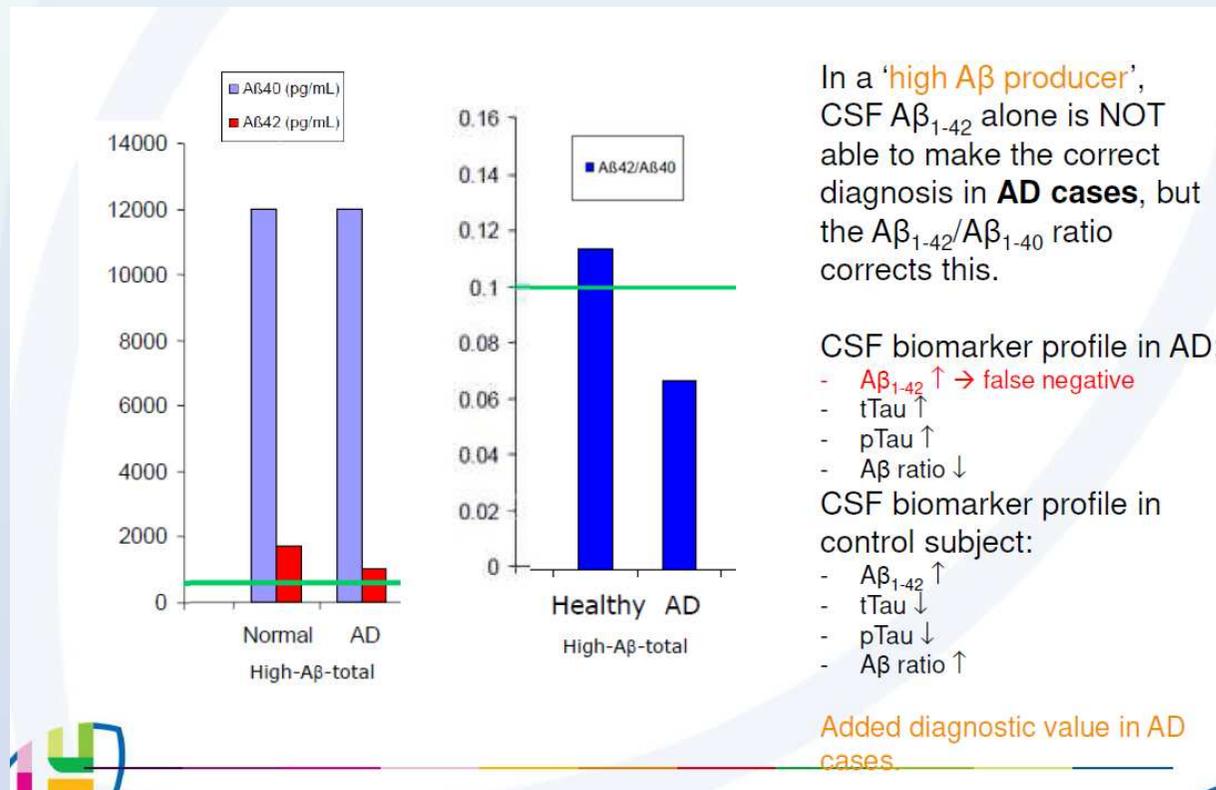
Normale : toutes les protéines amyloïdes produites en quantité selon les valeurs de référence



Extrait d'une dia de JL Bayart
Fujirebio Workshop
26 04 2019

Production de protéines bêta-amyloïdes

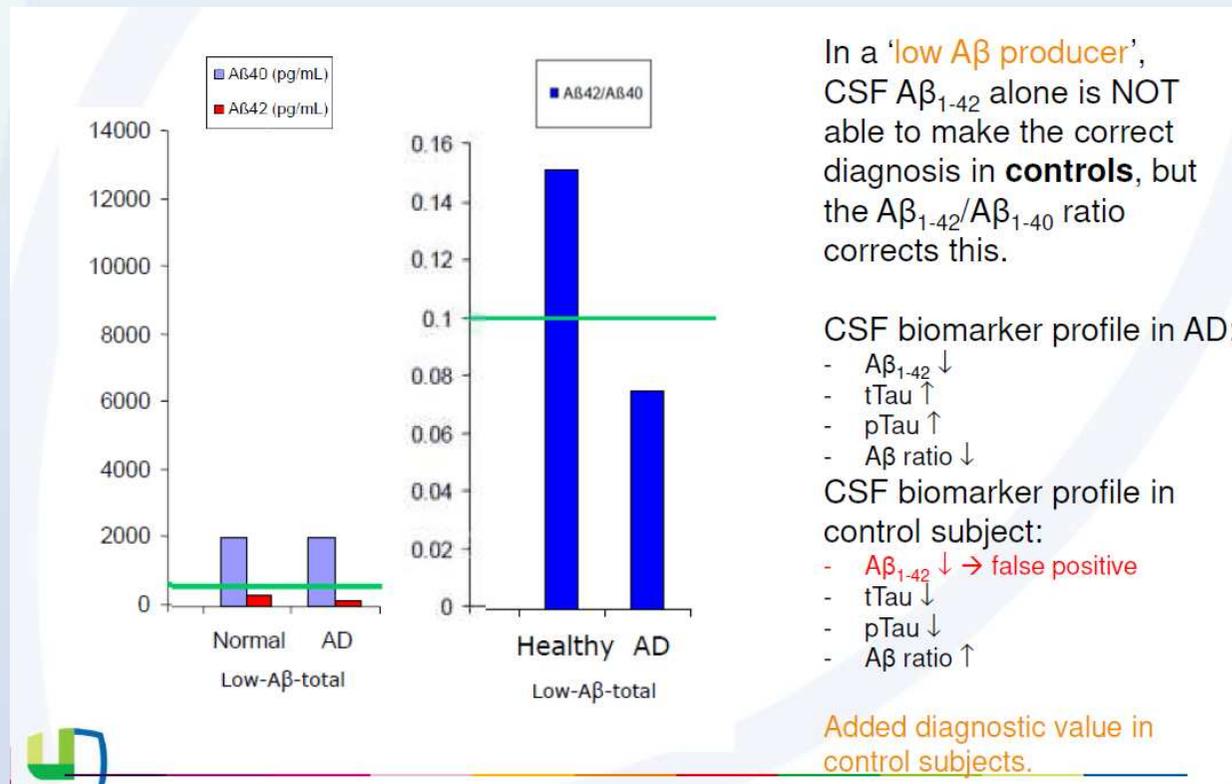
Haute : toutes les protéines amyloïdes produites en quantité SUPERIEURES aux valeurs de référence



Extrait d'une dia de JL Bayart
Fujirebio Workshop
26 04 2019

Production de protéines bêta-amyloïdes

Basse : toutes les protéines amyloïdes produites en quantité INFÉRIEURES aux valeurs de référence



Extrait d'une dia de JL Bayart
Fujirebio Workshop
26 04 2019

- Meilleure performance diagnostique : le rapport permet une meilleure interprétation que la protéine A β 1-42 seule chez les producteurs “hauts” et “bas” de protéines bêta-amyloïdes.
- Il permet une meilleure différenciation démences dues à MA versus non MA
- Il réduit la variabilité pré-analytique.

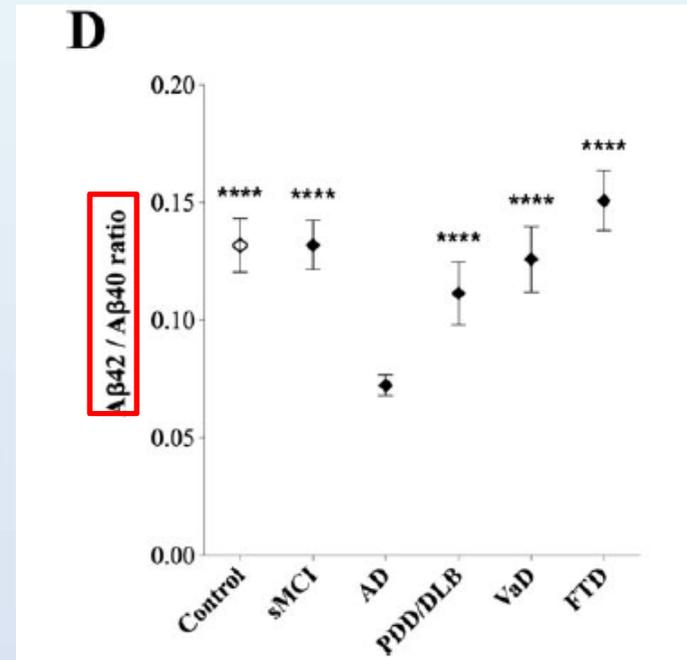
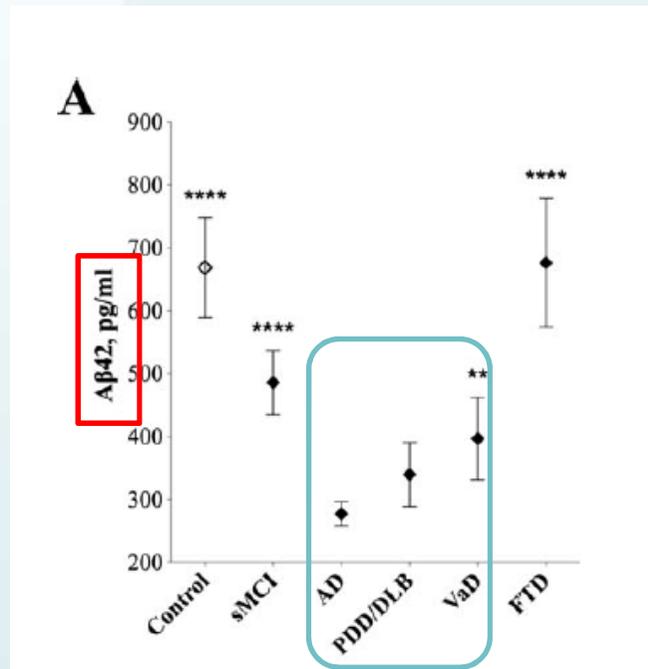
Rapport A β 1-42/ A β 1-40

- Meilleure performance diagnostique : le rapport permet une meilleure interprétation que la protéine A β 1-42 seule chez les producteurs “hauts” et “bas” de protéines bêta-amyloïdes.
- **Il permet une meilleure différenciation des démences dues à MA versus non MA**
- Il réduit la variabilité pré-analytique.

CSF A β 42/A β 40 and A β 42/A β 38 ratios: better diagnostic markers of Alzheimer disease

Shorena Janelidze¹, Henrik Zetterberg^{2,3}, Niklas Mattsson^{1,4}, Sebastian Palmqvist^{1,5}, Hugo Vanderstichele⁶, Olof Lindberg¹, Danielle van Westen^{7,8}, Erik Stomrud^{1,4}, Lennart Minthon^{1,4}, Kaj Blennow², for the Swedish BioFINDER study group & Oskar Hansson^{1,4}

*Annals of Clinical and Translational
Neurology* 2016; 3(3): 154–165



P < 0,0001

- . Pas de distinction AD / PDD/DLB
- . Distinction peu significative, $p < 0,01$ AD / VaD

sMCI : stable mild cognitive impairment
AD : Alzheimer's disease
PDD : Parkinson's disease with dementia
DLB : Dementia with Lewy bodies
VaD : Vascular dementia
FTD : frontotemporal dementia

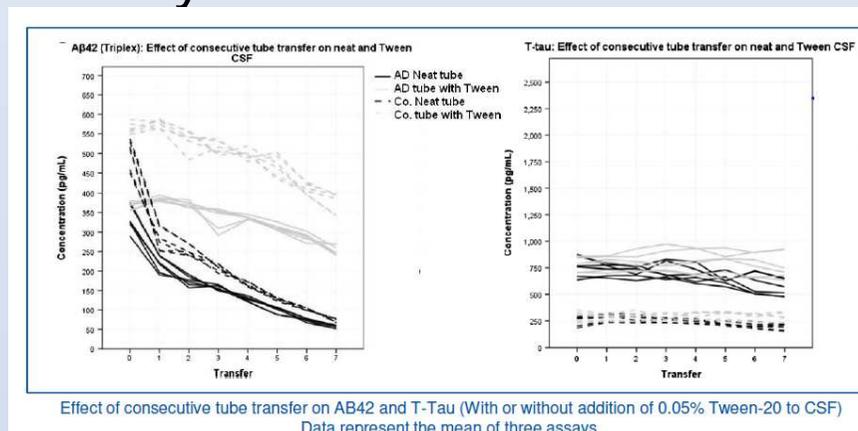
→ Rapport A β 1-42 / 1-40 permet une meilleure différenciation des MA

Rapport A β 1-42/ A β 1-40

- Meilleure performance diagnostique : le rapport permet une meilleure interprétation que la protéine A β 1-42 seule chez les producteurs “hauts” et “bas” de protéines bêta-amyloïdes.
- Il permet une meilleure différenciation des démences dues à MA versus non MA
- **Il réduit la variabilité pré-analytique.**

- Cause d'au-moins 40-60 % de la variabilité !!!!
- Moment de la journée : pas d'influence sur les divers taux en fonction du moment de la journée où le prélèvement est réalisé.
- Ordre des échantillons : pas d'influence.
- Endroit de prélèvement :
 - L3/L4 ou L4/L5
 - Aiguille 25G pour éviter contamination de la ponction

- Type de tube : **polypropylène** !
 - A l'inverse du tube en verre ou en polystyrène, le tube en polypropylène « empêche » l'adhésion du peptide Ab42 (hydrophobe) à la paroi du tube.
 - Absorption se fait très rapidement dans les 5 premières minutes !! (transvasement impossible si on s'est trompé de tube!!)
 - Attention aux transferts de tubes : Impact sur les protéines amyloïdes



Rapport T-TAU/ A β 1-42

- Prediction de la **conversion de MCI vers MA avec démence**, avec une sensibilité de 95% et une spécificité de 83%
- Le risque pour un patient MCI de développer une MA est multiplié par **18** lors de l'utilisation du ratio T-Tau /A β 1-42

Mattsson et al 2009, Ritchie et al 2017, Hansson et al 2006.

- Meilleur ratio pour discriminer MA d'autres démences.

Analytical and clinical performances of the automated Lumipulse cerebrospinal fluid A β ₄₂ and T-Tau assays for Alzheimer's disease diagnosis

Jean-Louis Bayart¹ · Bernard Hanseeuw³ · Adrian Ivanoiu³ · Vincent van Pesch^{1,2,3}

Pour discriminer :

- . AD des non-AD (Other Dementias, NotDemented et CTRL)
- . AD des CTRL :

→ A β 42 a la moins bonne performance

→ T-Tau/ A β 42 : la meilleure performance

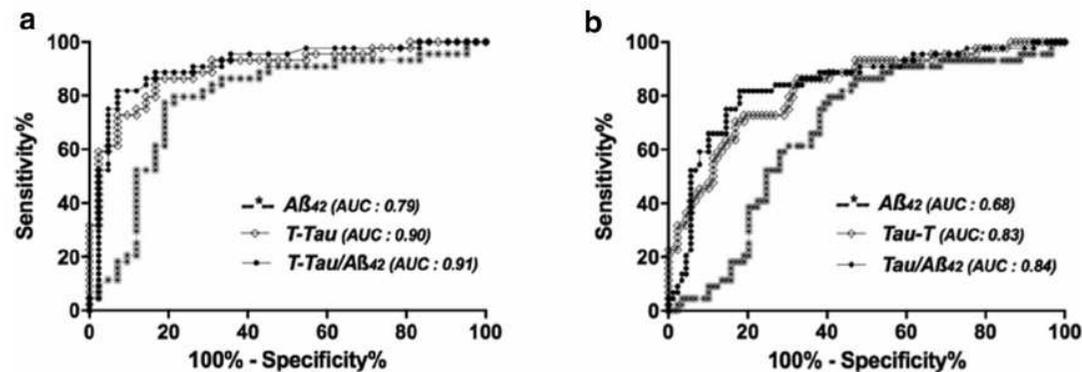


Fig. 3 ROC curves analysis of CSF biomarkers on Lumipulse for Alzheimer's disease (AD) diagnosis. Receiver-operating characteristic (ROC) curves obtained for amyloid β 1–42 peptide (A β ₄₂) and

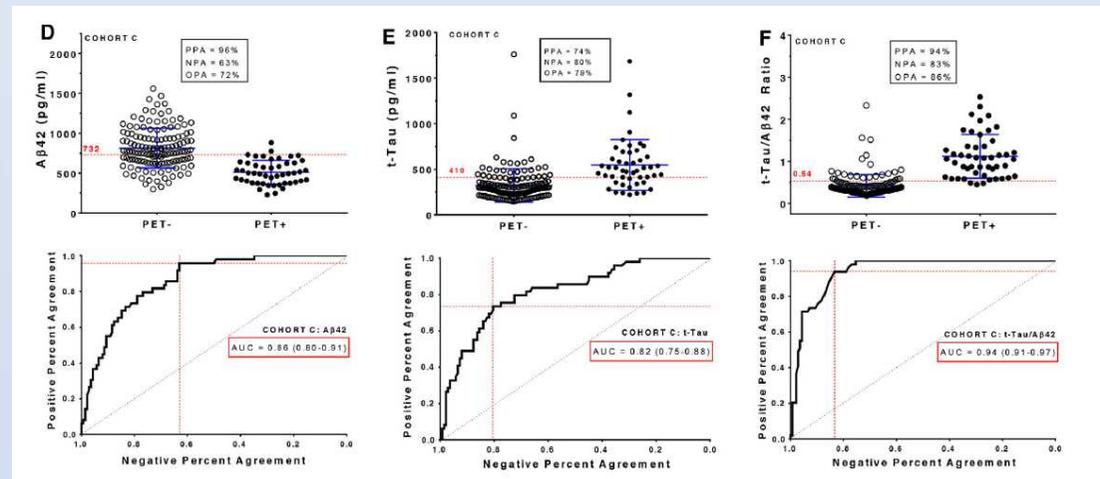
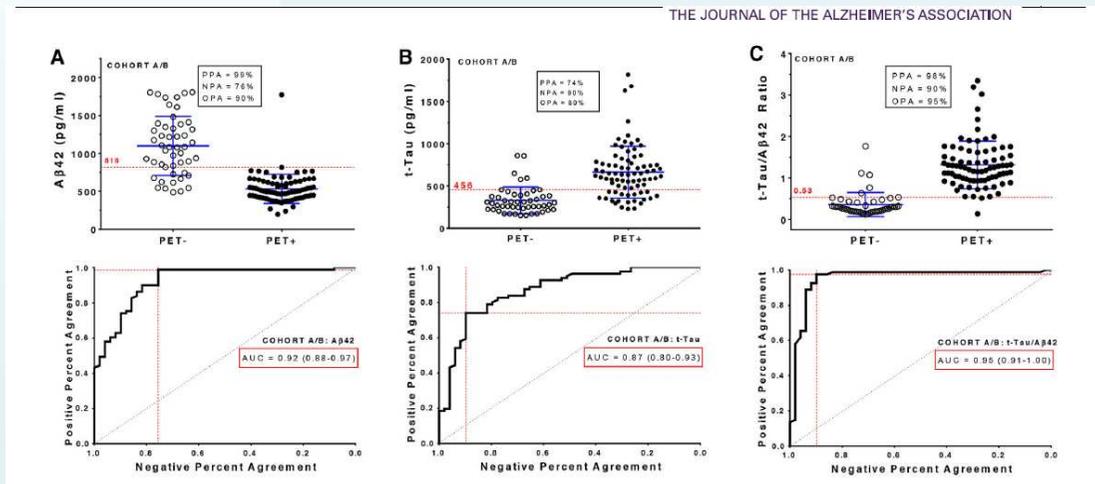
total-Tau protein (T-tau) and T-Tau/A β ₄₂ ratio for discriminating AD vs. CTRL patients (a) or AD vs. non-AD (b) (including other dementias, non-demented, and CTRL patients). AUC area under the curve.

Concordance of Lumipulse cerebrospinal fluid t-tau/A β 42 ratio with amyloid PET status

June Kaplow¹ | Manu Vandijck² | Julia Gray³ | Michio Kanekiyo¹ | Els Huyck² |
C. J. Traynham⁴ | Rianne Esquivel⁴ | Anne M. Fagan³ | Johan Luthman^{1*}

Alzheimer's Dement. 2020;16:144–152.

THE JOURNAL OF THE ALZHEIMER'S ASSOCIATION

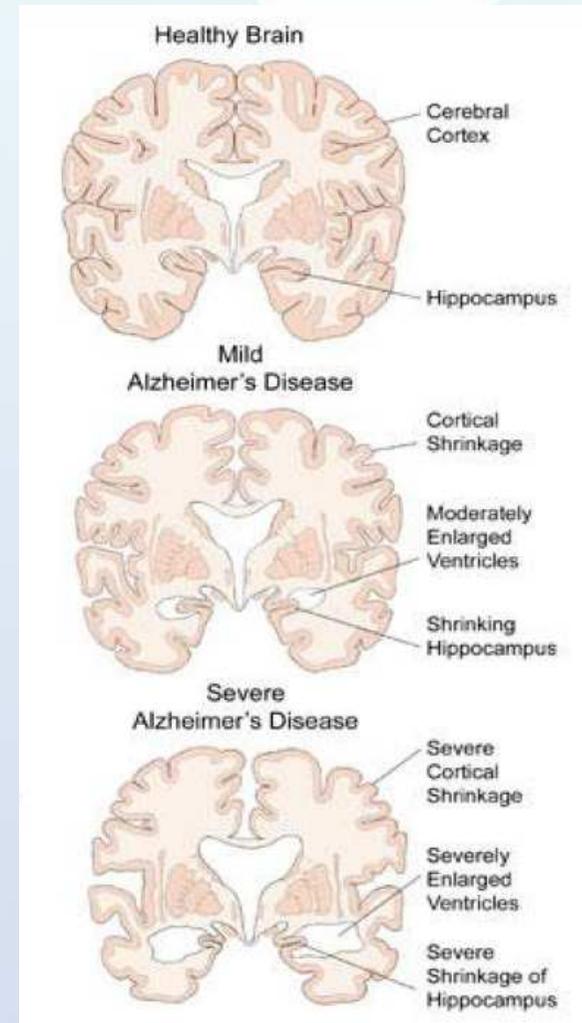
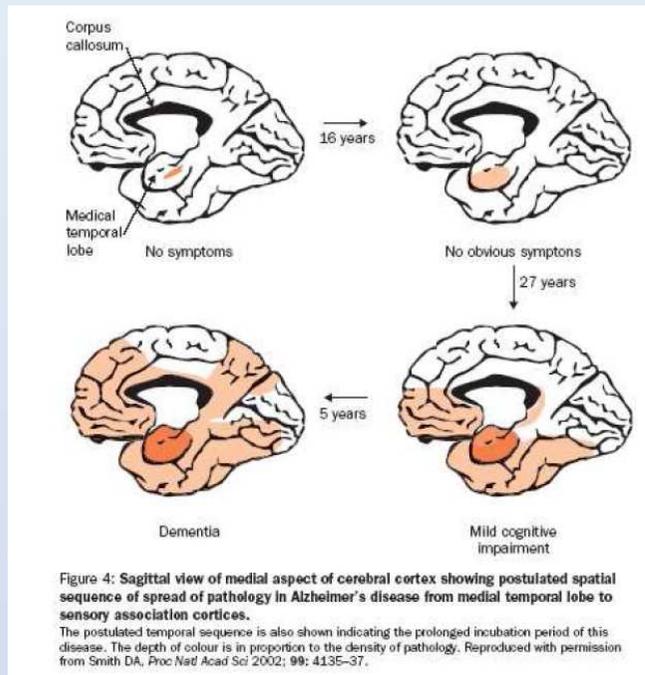




L'évolution des symptômes

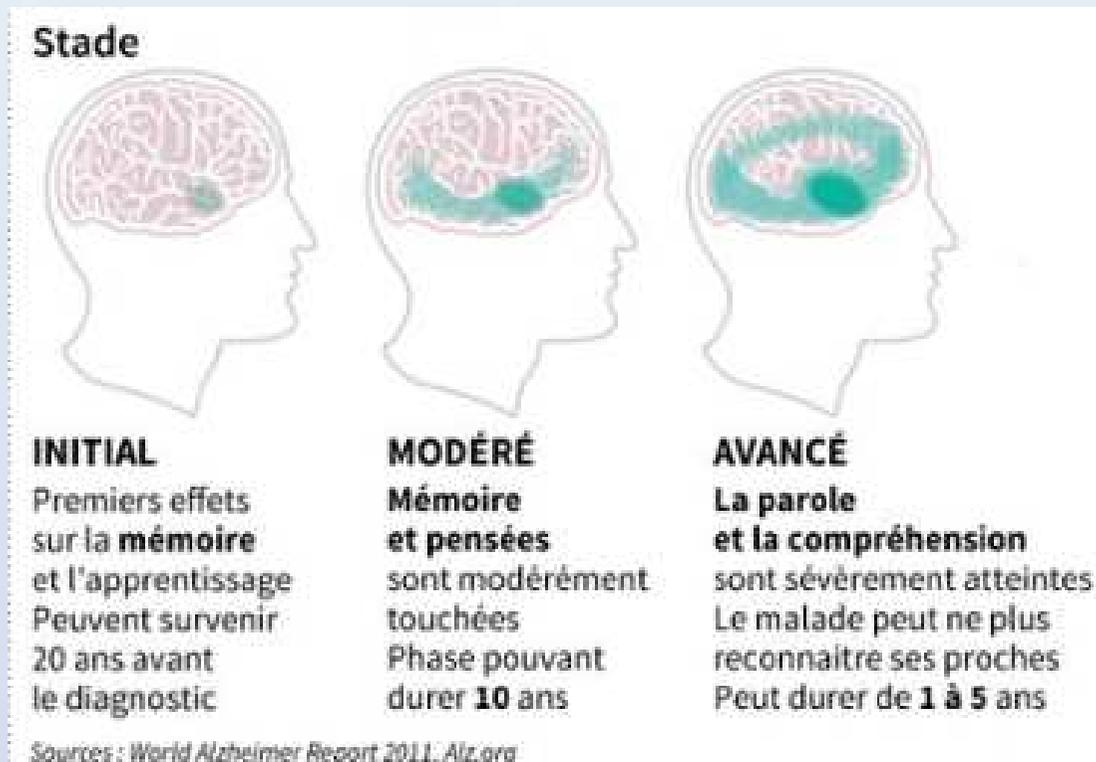
L'évolution des symptômes

Les symptômes de la MA sont très étroitement liés à la répartition anatomique des DNF : leur distribution, le plus souvent, prédomine au début au niveau du **cortex temporal interne**, connu pour son implication dans la **mémoire épisodique**, puis progresse secondairement vers les **cortex associatifs**, avant d'affecter les **cortex moteurs et sensoriels primaires**.



L'évolution des symptômes

Cette séquence lésionnelle rend compte du tableau clinique de la forme commune de la MA, caractérisée par **des troubles mnésiques inauguraux**, auxquels s'associe progressivement une **atteinte de l'ensemble du fonctionnement cognitif**, conduisant au classique **syndrome aphaso-apracto-agnosique**

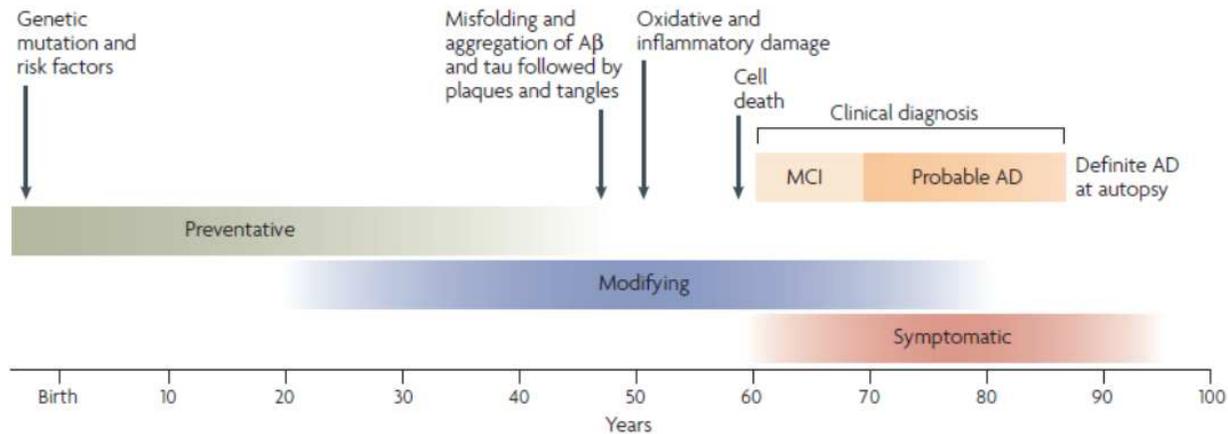


L'évolution des symptômes

Benefits of testing for CSF biomarkers **tomorrow**

In development: **disease-modifying** treatments

- Effect on underlying pathology + clinical benefit
- Will be most effective in early stages



Biomarqueurs du liquide cérébrospinal

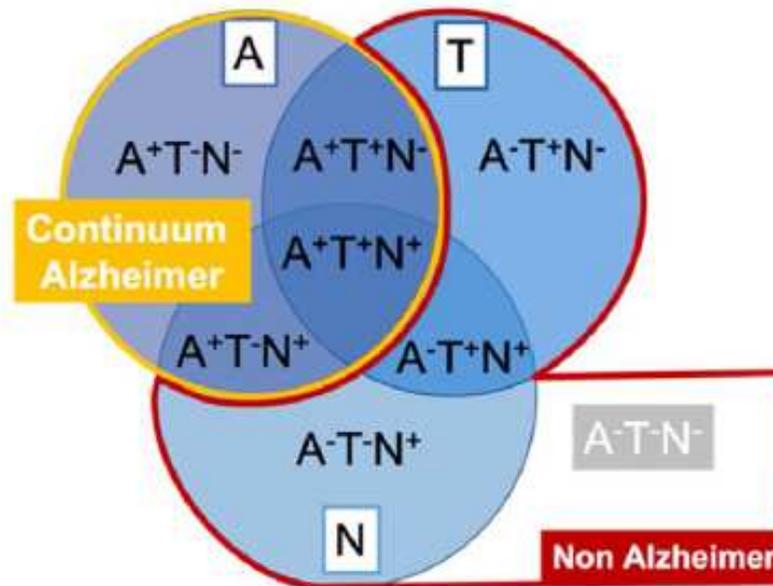


Cerebrospinal fluid markers

M. Leroy^{a,1}
L. Vaudran^{a,1}
V. Deramecourt^a
F. Pasquier^a
Y. Chen^{a,b}
S. Schraen^{b,1}
T. Lebouvier^{a,1}

^aInserm, Lille neuroscience & cognition, CNRMAJ,
LiCEND, DISTALZ, university Lille, CHU Lille,
59000 Lille, France

^bDepartment of geriatrics, CHU Lille, Lille, France





Diagnostic précoce de la MA

CSF Total tau, A β 42 and Phosphorylated tau Protein as Biomarkers for Alzheimer's Disease

Kaj Blennow,^{*,1,2} Eugene Vanmechelen,³ Harald Hampel⁴

Molecular Neurobiology
Copyright © 2001 Humana Press Inc.
All rights of any nature whatsoever reserved.
ISSN0893-7648/98/24(1-3): 87-97/\$12.75

Biomarqueurs du LCR dans la **phase pré-clinique** :

Total-TAU \uparrow et A β 42 \downarrow :

utiles pour prédire la progression de la maladie :

Détection des MCI qui progresseront à MA versus celles qui resteront MCI stables avec une sensibilité de 90 % et une spécificité de 100%.

Table 4
CSF t-tau, A β 42, and p-tau in Early AD and MCI^a

Biomarker	Criteria	Number of cases	Mean sensitivity (%)	References	Comment
t-tau	Early AD, MMSE >25	11	91	(54)	Approximate sensitivity
	Early AD, MMSE >20	36	81	(63)	
	Early AD, MMSE >25	12	75	(63)	
	Early AD, MMSE >25	19	89	(57)	
	Early AD, MMSE >23	205	94	(32)	
A β 42	MCI, mean MMSE = 25	10	90	(43)	MCI cases with progression
	Early AD, MMSE >25	24	88	(38)	Approximate sensitivity
	Early AD, MMSE >25	25	n.g.	(68)	Sensitivity not given. Decrease to 63% of controls.
t-tau + A β 42	Early AD, MMSE >23	24	62	(64)	MCI cases with progression. MCI cases with and without progression.
	Early AD, MMSE >23	23	70	(10)	
	MCI, MMSE >28	16	88	(72)	
	MCI, MMSE >28	20	75	(39)	
p-tau ₁₈₁	MCI, MMSE >28	15	40	(44)	MCI cases with low MMSE scores, in the range of early AD cases.
p-tau _{231 + 235}	MCI, MMSE 19-27	20	65	(45)	

Dosages au laboratoire du CHU

Préanalytique

- **Prélèvement** : tube Sarstedt, 5 ml, référence 63,604,027
 - Arrivée au labo VERTICALEMENT dans les 4 heures.
 - Centrifugation, 10 minutes, 2000 G
 - Rejet des échantillons hémorragiques.
- **Aliquotage** : tube Sarstedt, 1,5 ml, référence 72.703.
 - 1 ml par aliquot
 - Congélation -80°C.
 - Analyse directement dans tubes d'aliquotage
 - Maximum 3 cycles congélation/décongélation (au CHU plusieurs aliquots donc pas de recongélation).

Pré-analytique : envoi en sous-traitance

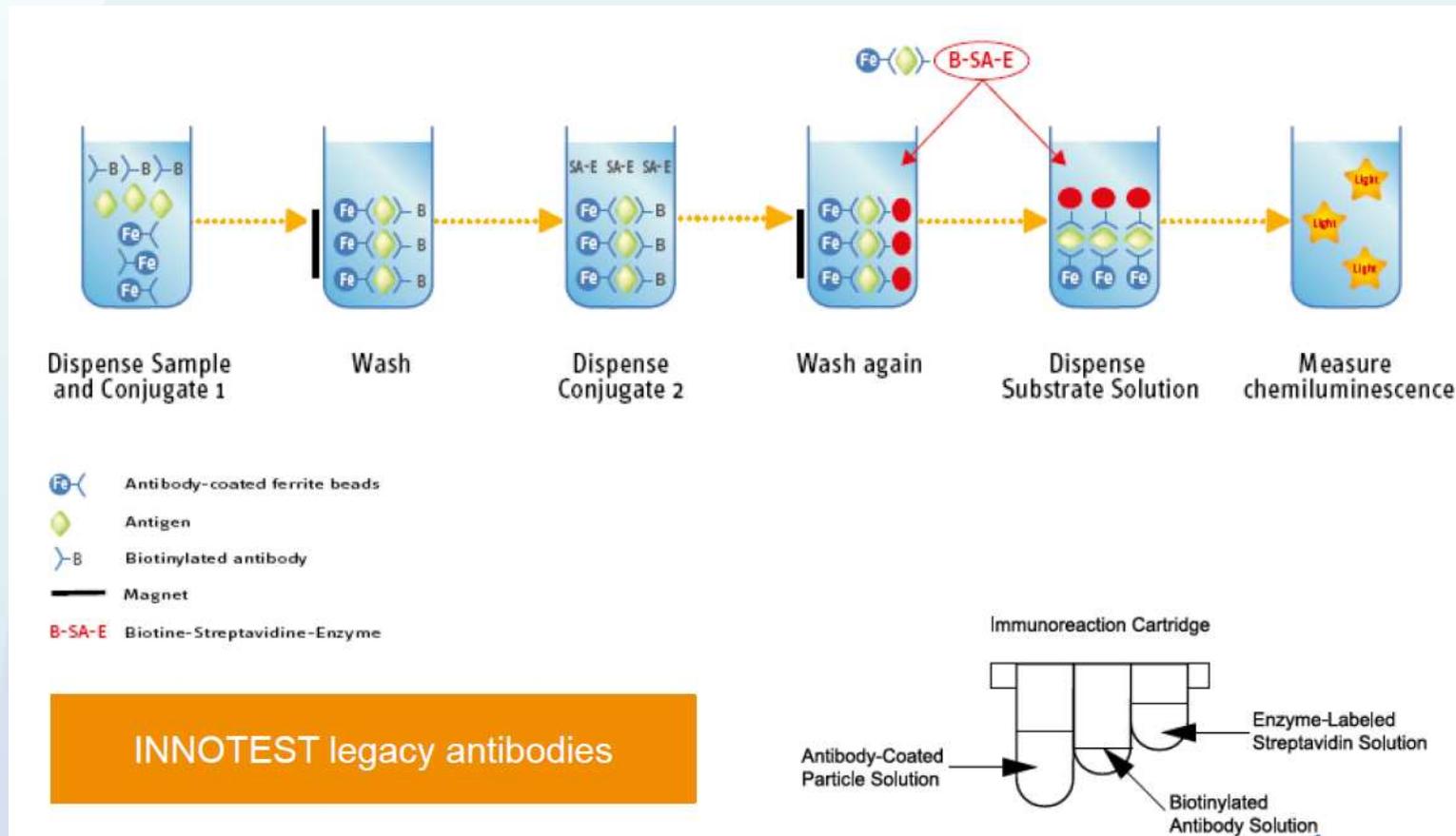
- Prélèvement : tube Sarstedt, 5 ml, référence 63,604,027
- Arrivée au labo VERTICALEMENT
 - Envoi au CHU dans les 4 heures (certaines études parlent de 4 h à température ambiante et 72 h à 4°C...) à 4°C VERTICALEMENT
- OU
- Centrifugation, 10 minutes, 2000 G
- Rejet des échantillons hémorragiques.
- Aliquotage : tube Sarstedt, 1,5 ml, référence 72.703.
 - 1 ml par aliquot
 - Congélation -20°C et envoi au CHU dans carboglace.

Dosages au laboratoire du CHU

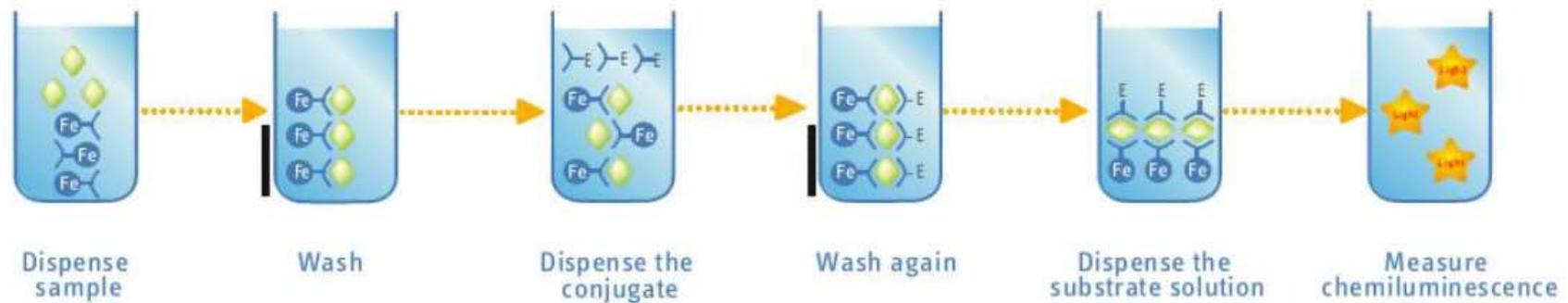
Technique de dosage

Principe de dosage des protéines

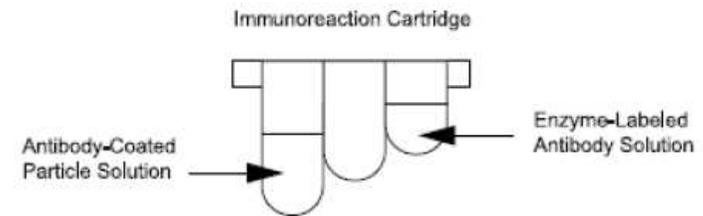
Bêta-amyloïde 1-42 et total Tau



Principe de dosage des protéines Bêta-amyloïde 1-40 et phospho-Tau



-  Antibody-coated ferrite particle
-  Antigen present in the sample
-  Alkaline phosphatase (ALP)-labeled monoclonal antibody
-  Magnet



Analyse au CHU : FUJIREBIO : LUMIPULSE G1200

- Temps de réalisation : ½ journée
- TAT : 15 jours
- Single use réactif, courbe valable 30 j, QC
- Quantité de LCR requise : 1 ml car pas de transfert dans cupule Hitachi sur Lumipulse.
- Cut-offs donnés par FUJIREBIO :

Overview of Lumipulse cut-off values

		$A\beta_{1-42}^*$	$A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$	tTau	pTau
Parnetti et al. Clinical dx n=60/43	AUC	0,83	0,98	0,92	0,995
	95% CI	0,75-0,92	0,95-1,00	0,86-0,97	0,99-1,00
	Cut-off max. Youden index (max. OPA)	600 pg/mL (725 pg/mL)	0,069	400 pg/mL	56,5 pg/mL
	Sensitivity	78%	98%	95%	97%
	Specificity	81%	91%	91%	100%

* Traceable to Certified Reference Materials of β -amyloid₁₋₄₂ in human CSF: ERM[®]-DA480-481-482/IFCC



Conclusions

Les profils des biomarqueurs du LCR permettent :

- un meilleur **diagnostic différentiel** de la démence : aide dans les diagnostics douteux des formes atypiques.
- un diagnostic plus **précoce** de la MA
- peuvent indiquer la **sévérité** de la maladie
- **prédire la progression** du déclin cognitif.



Perspectives

- Biomarqueurs plasmatiques :
 - moins invasifs que LCR
 - PET scan coûteux,...



Cependant

. le LCR baigne le cerveau mais uniquement une petite partie des protéines passent dans le sang...

. Le sang est un milieu beaucoup plus riche en protéines interférentes.

. Les protéines du LCR peuvent être rapidement dégradées par diverses enzymes, métabolisées par le foie, éliminées par les reins,...



- Développer d'autres biomarqueurs dans le LCR plus spécifiques.

CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis

Bob Olsson, Ronald Lautner, Ulf Andreasson, Annika Öhrfelt, Erik Portelius, Maria Bjerke, Mikko Hölttä, Christoffer Rosén, Caroline Olsson, Gabrielle Strobel, Elizabeth Wu, Kelly Dakin, Max Petzold, Kaj Blennow, Henrik Zetterberg

2016

Lancet Neurol 2016; 15: 673-84

- Dans le plasma, **pas de différence significative** des concentrations de **protéines amyloïdes plasmatiques** entre les contrôles et les Alzheimer.

(hypothèse : protéines bêta-amyloïdes plasmatiques : reflet d'une production périphérique plus que de la pathologie cérébrale)



- **T-Tau plasmatique semble plus élevée** chez les patients Alzheimer. Cependant peu d'études, forte variabilité, recouvrement avec la population contrôle,...à suivre



High-precision plasma β -amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis

Suzanne E. Schindler, MD, PhD, James G. Bollinger, PhD, Vitaliy Ovod, MS, Kwasi G. Mawuenyega, PhD, Yan Li, PhD, Brian A. Gordon, PhD, David M. Holtzman, MD, John C. Morris, MD, Tammie L.S. Benzinger, MD, PhD, Chengjie Xiong, PhD, Anne M. Fagan, PhD, and Randall J. Bateman, MD

Correspondence
Dr. Bateman
batemanr@wustl.edu

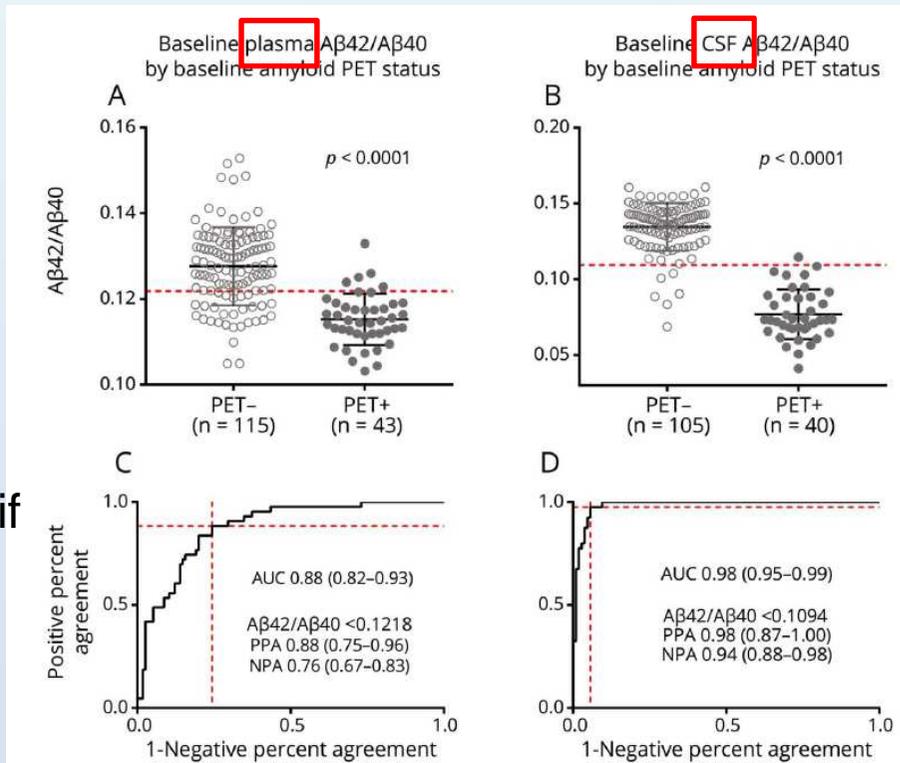
Neurology® 2019;93:e1647-e1659. doi:10.1212/WNL.00000000000008081

2019

Protéines amyloïdes mesurées par immunoprécipitation combinée à la spectrométrie de masse (IPMS) dans le plasma (LCR : Elecsys).

PET scan positif à T0 : $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ plus faible que PET scan négatif aussi bien dans plasma que LCR.

ROC curve: $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ plasmatique (cutoff : $<0,1218$) est un bon prédicteur du statut PET scan au diagnostic avec AUC 0,88



High-precision plasma β -amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis

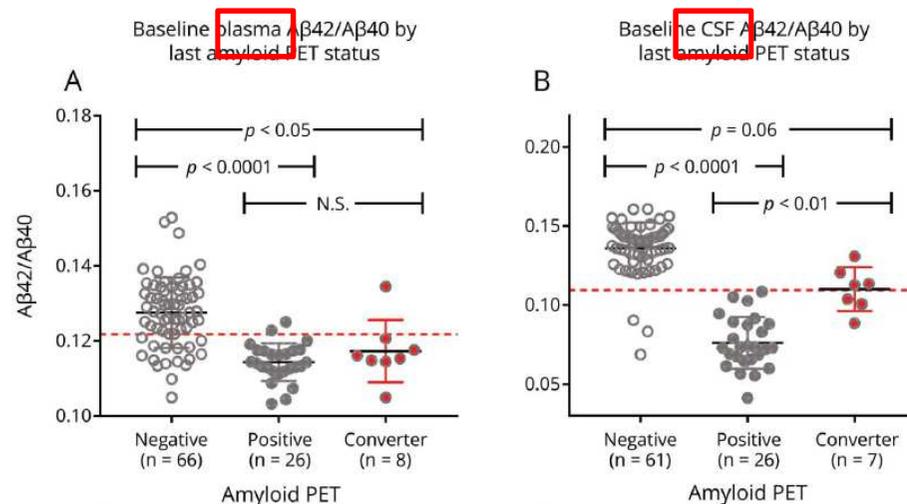
Suzanne E. Schindler, MD, PhD, James G. Bollinger, PhD, Vitaliy Ovod, MS, Kwasi G. Mawuenyega, PhD, Yan Li, PhD, Brian A. Gordon, PhD, David M. Holtzman, MD, John C. Morris, MD, Tammie L.S. Benzinger, MD, PhD, Chengjie Xiong, PhD, Anne M. Fagan, PhD, and Randall J. Bateman, MD

Correspondence
 Dr. Bateman
 batemanr@wustl.edu

Neurology® 2019;93:e1647-e1659. doi:10.1212/WNL.00000000000008081

Prédiction de la conversion

Figure 3 Baseline plasma and CSF β -amyloid ($A\beta$)42/ $A\beta$ 40 predict amyloid PET status conversion



- Les patients PET scan négatif à T0 dont le PET scan devient positif (« **converter** ») ont **$A\beta$ 42/ $A\beta$ 40 plus faible** que ceux qui restent négatifs.

High-precision plasma β -amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis

Suzanne E. Schindler, MD, PhD, James G. Bollinger, PhD, Vitaliy Ovod, MS, Kwasi G. Mawuenyega, PhD, Yan Li, PhD, Brian A. Gordon, PhD, David M. Holtzman, MD, John C. Morris, MD, Tammie L.S. Benzinger, MD, PhD, Chengjie Xiong, PhD, Anne M. Fagan, PhD, and Randall J. Bateman, MD

Correspondence
Dr. Bateman
batemanr@wustl.edu

Neurology® 2019;93:e1647-e1659. doi:10.1212/WNL.00000000000008081

Prédiction de la conversion

- Les patients PET scan négatif à T0 avec $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ plasmatique $< 0,1218$ ont un **risque de conversion 15x plus élevé**. NB : $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ LCR $< 0,1094$ ont un risque de conversion 21x plus élevé que patients avec rapport normal.
- Rapport $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ plasmatique devient **plus précocement pathologique que PET scan**.

NB : La différence entre $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ plasmatique entre PET scan négatif et positif est faible ($0,128 \pm 0,009$ vs $0,115 \pm 0,006$) mais significative car la technique de spectro de masse a un CV $< 4\%$.

Ceci est impossible à obtenir par une autre technique : ELISA,...car les CV sont plus élevés.

Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia

Shorena Janelidze^{1,13*}, Niklas Mattsson^{1,2,3,13}, Sebastian Palmqvist^{1,2}, Ruben Smith^{1,2}, Thomas G. Beach⁴, Geidy E. Serrano⁴, Xiyun Chai⁵, Nicholas K. Proctor⁵, Udo Eichenlaub⁶, Henrik Zetterberg^{7,8,9,10}, Kaj Blennow^{7,8}, Eric M. Reiman¹¹, Erik Stomrud^{1,12}, Jeffrey L. Dage⁵ and Oskar Hansson^{1,12*}

NATURE MEDICINE | VOL 26 | MARCH 2020 | 379-386 |

Est-ce que Phospho-Tau plasmatique

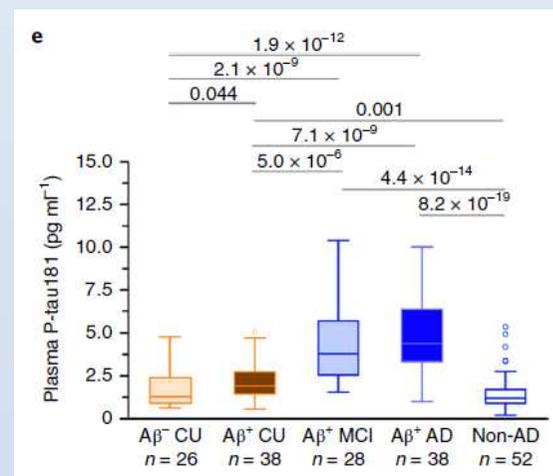
- peut différencier AD d'autres pathologies neurodégénératives ?
- Peut prédire la progression vers AD ?

Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia

Shorena Janelidze^{1,13*}, Niklas Mattsson^{1,2,3,13}, Sebastian Palmqvist^{1,2}, Ruben Smith^{1,2}, Thomas G. Beach⁴, Geidy E. Serrano⁴, Xiyun Chai⁵, Nicholas K. Proctor⁵, Udo Eichenlaub⁶, Henrik Zetterberg^{7,8,9,10}, Kaj Blennow^{7,8}, Eric M. Reiman¹¹, Erik Stomrud^{1,12}, Jeffrey L. Dage⁵ and Oskar Hansson^{1,12*}

NATURE MEDICINE | VOL 26 | MARCH 2020 | 379-386 |

- « Plasma P-tau181 was increased **early in AD**,
- **continued to increase with disease progression** and
- **distinguished AD dementia from other neurodegenerative diseases.** “

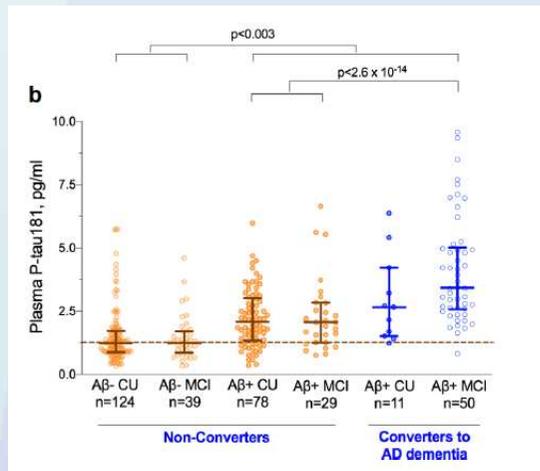


Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia

Shorena Janelidze^{1,13*}, Niklas Mattsson^{1,2,3,13}, Sebastian Palmqvist^{1,2}, Ruben Smith^{1,2}, Thomas G. Beach⁴, Geidy E. Serrano⁴, Xiyun Chai⁵, Nicholas K. Proctor⁵, Udo Eichenlaub⁶, Henrik Zetterberg^{7,8,9,10}, Kaj Blennow^{7,8}, Eric M. Reiman¹¹, Erik Stomrud^{1,12}, Jeffrey L. Dage⁵ and Oskar Hansson^{1,12*}

NATURE MEDICINE | VOL 26 | MARCH 2020 | 379-386 |

“ Plasma P-tau181 **predicted** longitudinal progression to AD dementia (better than other candidate plasma biomarkers) and was **increased in converters to AD dementia** compared to those who converted to dementia due to non-AD diseases. »



Plasma P-tau181 concentrations in Aβ+ and Aβ- cognitively unimpaired (CU) and MCI patients who did not develop AD dementia or developed AD dementia during clinical follow-up.

AD = Alzheimer disease; Aβ+ = Amyloid-β positive; Aβ- = Amyloid-β negative; MCI = Mild cognitive impairment.



**MERCI POUR VOTRE
ATTENTION!!**