

Démences et biomarqueurs du liquide céphalo-rachidien

V. Van Pesch

Neurologue, Cliniques Universitaires Saint-Luc

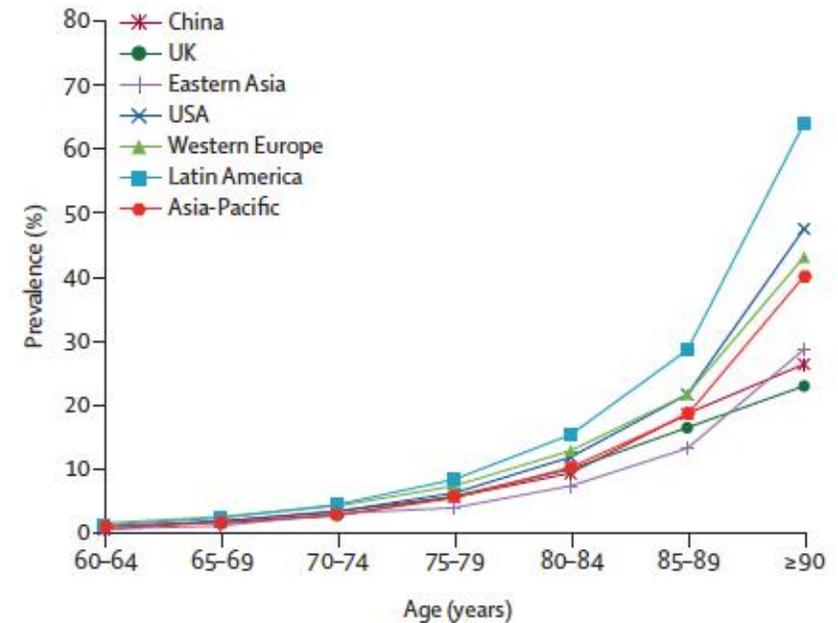
CORATA Septembre 2016



Cliniques universitaires
SAINT-LUC
UCL BRUXELLES

La maladie d'Alzheimer

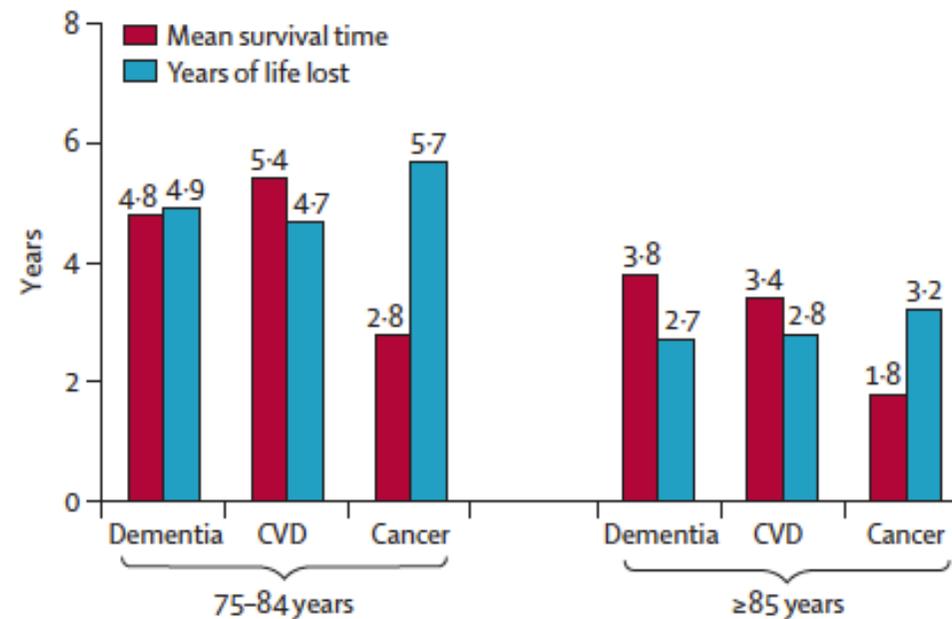
- “ ≈ 60% des démences
- “ Formes familiales : sur mutations génétiques : < 1 % (APP,PSEN)
- “ **Formes sporadiques**
- “ 40 millions de personnes atteintes
- “ Prévalence devrait doubler tous les 20 ans jusque 2050



Winblad et al., Lancet Neurol, 2016

La maladie d'Alzheimer

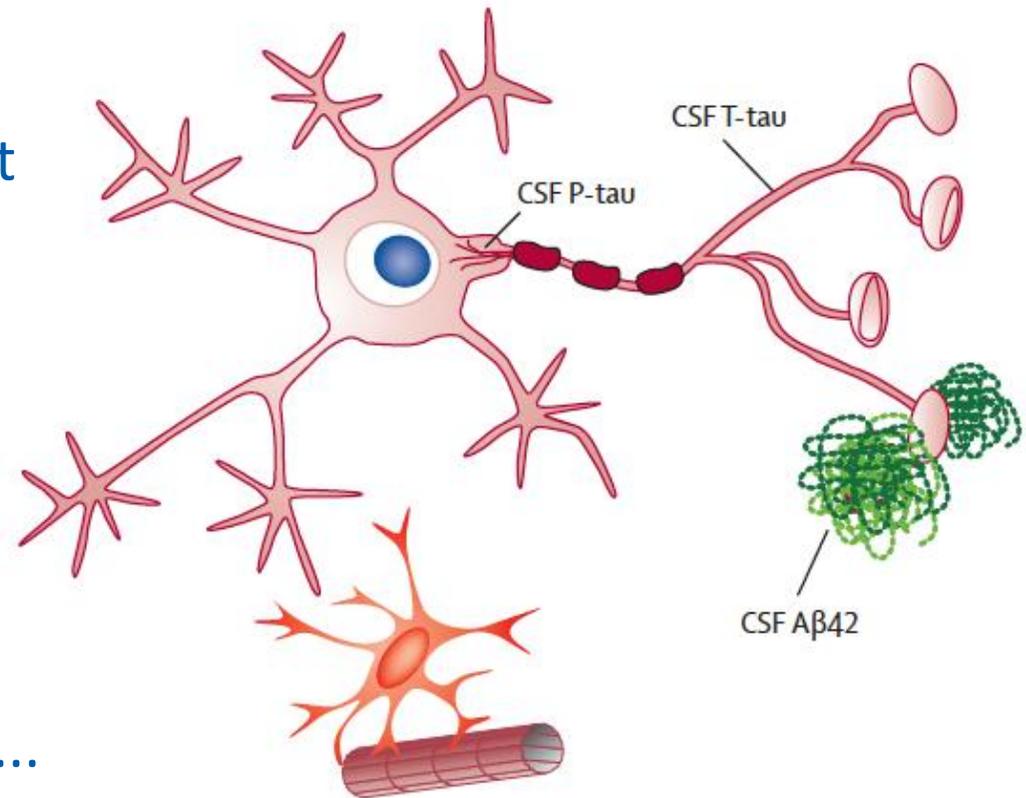
- ” Tendance à la diminution de l'incidence dans plusieurs études entre 1990 et 2000
- ” Facteurs de risque: vasculaires, inactivité physique et cognitive, dépression, tabagisme, niveau socio-éducatif, régime alimentaire



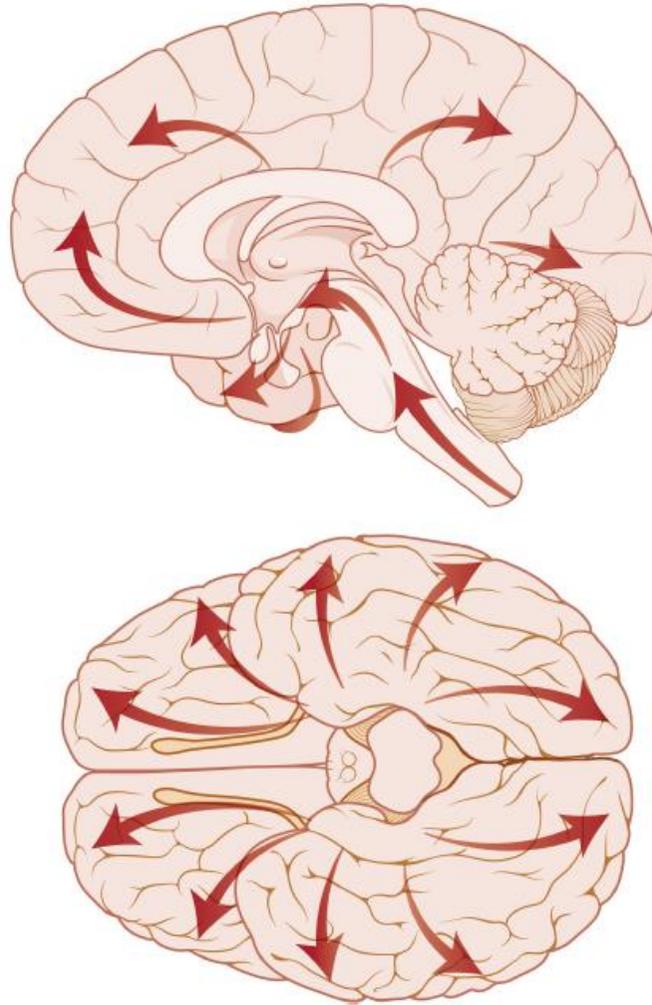
Winblad et al., *Lancet Neurol*, 2016

Caractéristiques anatomopathologiques de la maladie d'Alzheimer

- Dépôts *extracellulaires* de **peptide amyloïde β 1-42**
- Perte neuronale: libération et agrégats de **protéine Tau**
- Dépôts *intracellulaires* neurofibrillaires de **protéine phospho-Tau**
- Perte synaptique: neurogranine, progranuline.....



Propagation transsynaptique prion-like



Kim et al., Exp Neurol, 2014

La maladie d'Alzheimer: critères diagnostiques

- “ IWG 2007 . 2010 . 2014
- “ NIA-AA 2011

- “ Incorpore les notions de **stades**
 - “ Préclinique
 - “ Pré-démence
 - “ Démence

- “ Incorpore le rapport des **biomarqueurs**
 - “ LCR
 - “ Traceurs radio-actifs: PET-FDG ou PIB
 - “ Volumétrie des lobes temporaux internes

Dubois et al., Lancet Neurol, 2014
Jack et al. Alz Dem, 2011

La maladie d'Alzheimer: un continuum



Stade Préclinique

Absence de symptômes

Alzheimer prodromal

Atteinte de la mémoire épisodique

Alzheimer clinique

Atteinte de la mémoire épisodique
+
Atteinte d'autres fonctions cognitives
+
Répercussions sur l'autonomie



Maladie d'Alzheimer : outils diagnostiques

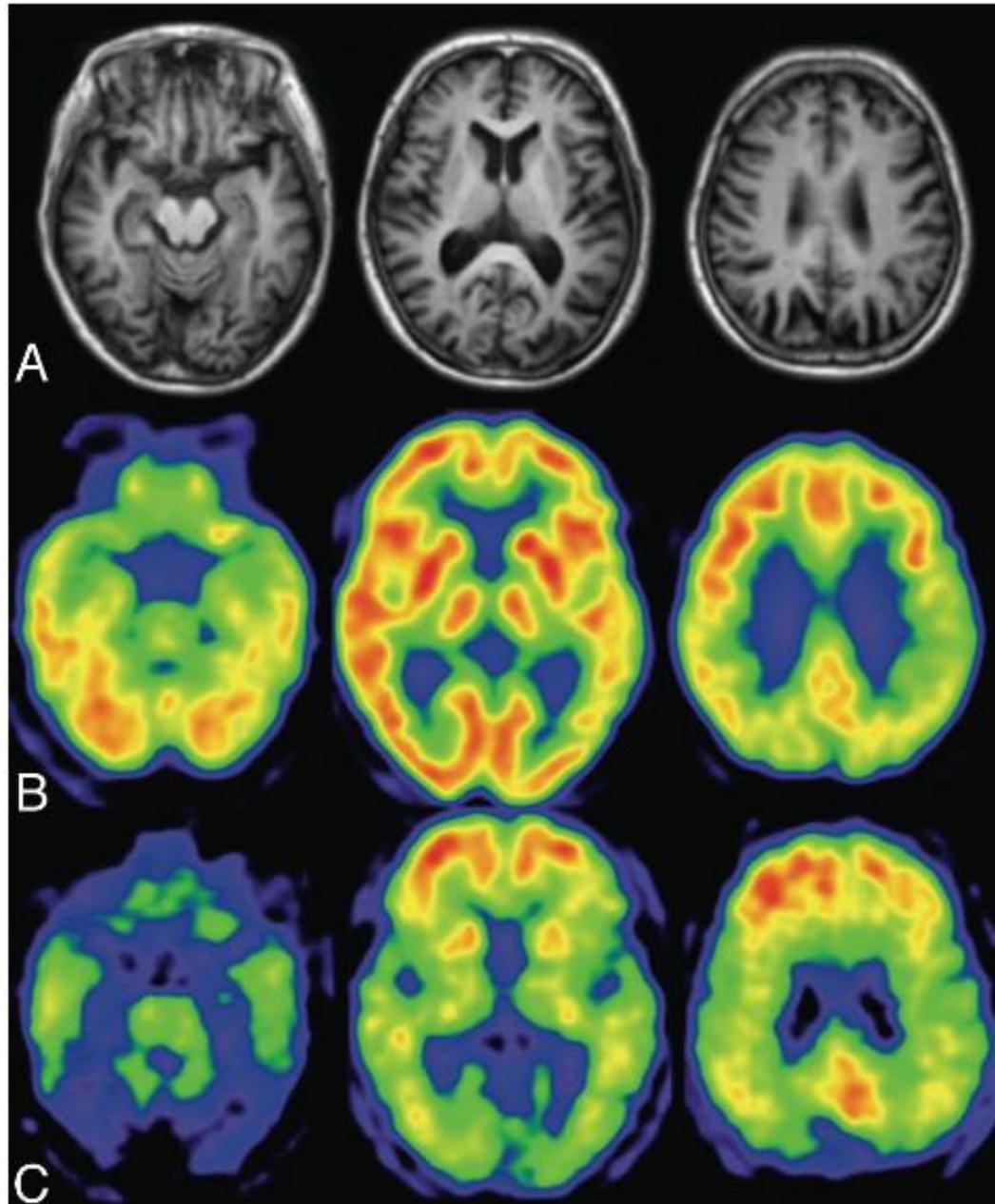
- **neuropsychologie**
- **marqueurs biologiques : LCR (Tau, bêta-amyloïde)**
- imagerie cérébrale morphologique (IRM: volumétrie hippocampique)
- imagerie cérébrale fonctionnelle (**PET-FDG, PET-amyloïde**)
- neurophysiologie (EEG, PE)
- (Génétique)

L'évaluation de la cognition reste la base du diagnostic de la MA



Bilan biologique d'exclusion: CRP, cofo, ionogramme, vit B12 et ac. folique, glycémie à jeun, TSH, bilan hépatique, syphilis

IRM



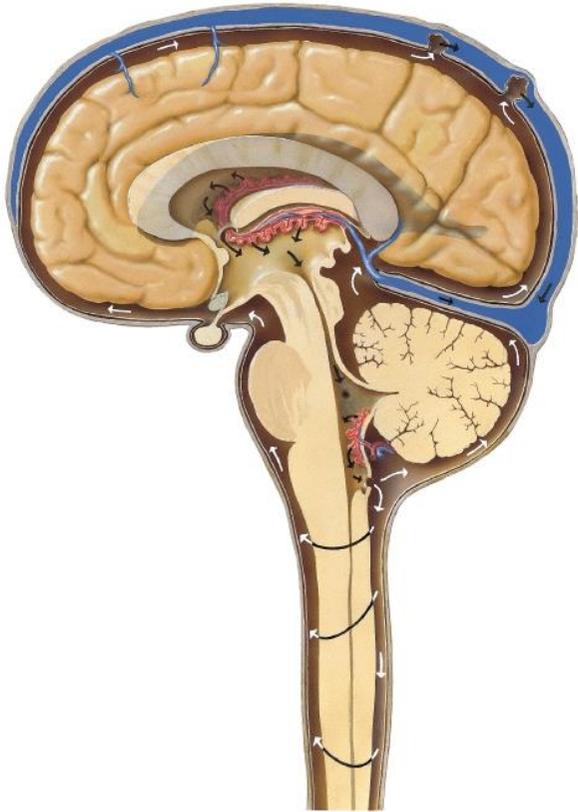
FDG-PET

PIB-PET

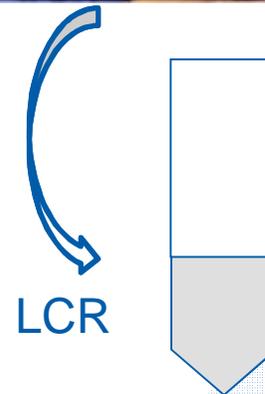
Ishii, AJNR, 2013



Liquide céphalo-rachidien



F. Natter
M.D.
IBN



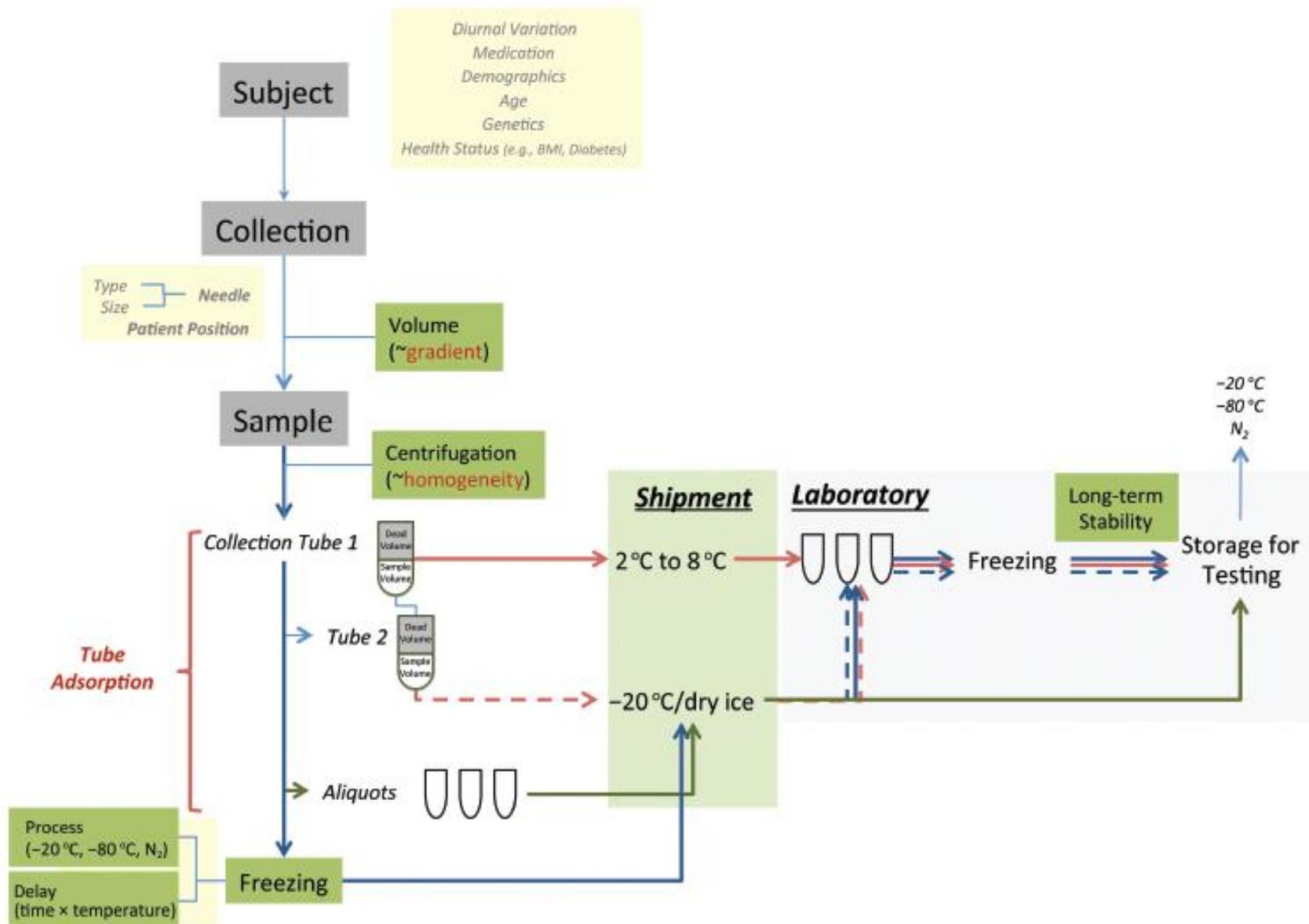
- Peptide amyloïde β 1-42
- Protéine Tau totale
- Protéine phospo-tau



Biomarqueurs du LCR

1. **Importance des facteurs pré-analytiques**
2. Techniques disponibles
3. Valeur diagnostique
4. Corrélation avec les autres techniques de dépistage





Contrôle de qualité externe de l'Alzheimer disease association

Situation actuelle:

- “ Grande variabilité:
 - “ dans les procédures rapportées
 - “ dans les cut-off utilisés (2-3x)
 - “ dans les résultats d'un programme de contrôle de qualité externe multi-centrique
- “ Absence de matériel de référence



*Fourier et al., Clin Chim Acta, 2015;
Hort et al., Eur J Neurol, 2010; Mattsson et al., Alz Dem, 2011*

Contrôle de qualité externe de l'Alzheimer disease association

Grande variabilité des résultats (CV 20-35%):

- ” Surtout liée à la **variabilité inter-labo**
- ” Variabilité dans le temps au sein d'une même unité
- ” dans les cut-off utilisés (2-3x)
- ” Dans une moindre mesure variabilité inter-test, liée au mode opératoire/technique (application, pipetage, type de calibrateurs, validation stricte de la courbe de calibration)

⇒ Nécessité de calibrateurs de référence « universels »

Verwev et al., Ann Clin Biochem, 2009; Lewczuk et al., Neurosci lett, 2006; Mattsson et al., Alz Dem, 2013; Fourier et al., Clin Chim Acta, 2015; Hort et al., Eur J Neurol, 2010; Mattsson et al., Alz Dem, 2011

Facteurs pré-analytiques à respecter

1. Tubes de collection: polypropylène et non en verre ou polystyrène
tube Sarstedt® catalog no. 62.610.201

2. Centrifugation

endéans 2h, à 2000g, 10min, T° ambiante

1. Stockage

stable 24h à T° ambiante puis congélation: -80° >-20° ?

effet du transfert de tube ?

pas d'effet après un cycle de congélation/décongélation.

aliquot de faible volume (↓ adsorption sur les parois)



Biomarqueurs du LCR

1. Importance des facteurs pré-analytiques
- 2. Techniques disponibles**
3. Valeur diagnostique
4. Corrélation avec les autres techniques de dépistage



Techniques disponibles

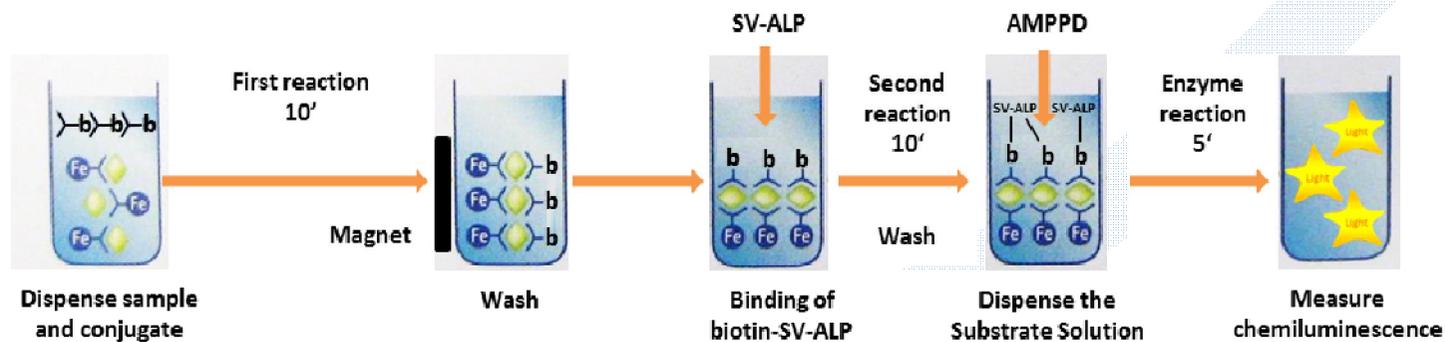
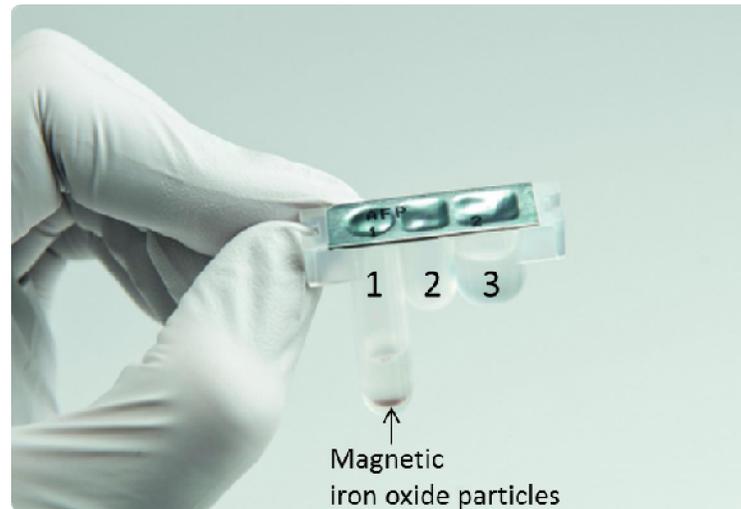
1. Manuelles

- “ ELISA Innnotest (Fujirebio)
- “ ELISA (Eurimmun)



2. Automates

“ Lumipulse: Chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) (Fujirebio)



INNOTEST®	Aβ₍₁₋₄₂₎	hTau
Detection limit	65 pg/ml	34 pg/ml
Calibrator range	62,5 to 4000 pg/ml	50 to 2500 pg/ml
Test duration	Overnight incubation then 3 hours	Overnight incubation then 3 hours
CSF volume	2 x 25 μ l	2 x 25 μ l

LUMIPULSE® G600 II assays specifications	Aβ₍₁₋₄₂₎	hTau
Detection limit	15 pg/ml	48 pg/ml
Calibrator range	0 to 4000 pg/ml	0 to 2500 pg/ml
Test duration	First results in 35 minutes, each consecutive result every 60 seconds. 60 tests per hour.	First results in 35 minutes, each consecutive result every 60 seconds. 60 tests per hour.
CSF volume	50 μ l + 100 μ l dead volume	75 μ l + 100 μ l dead volume

Comparaison entre ELISA et ECLIA

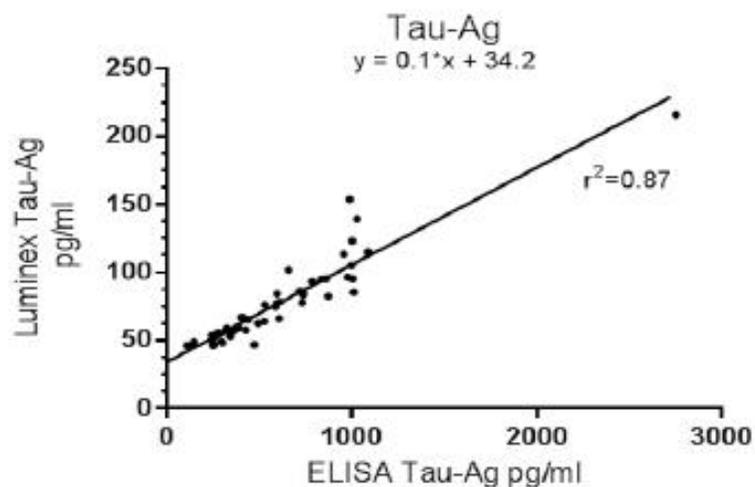
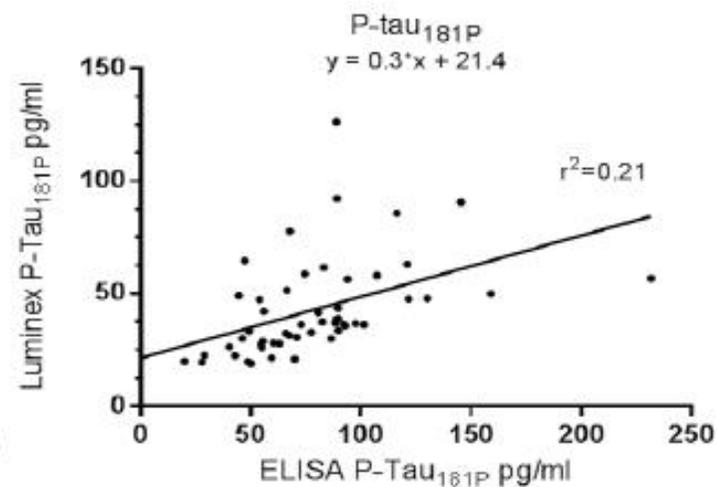
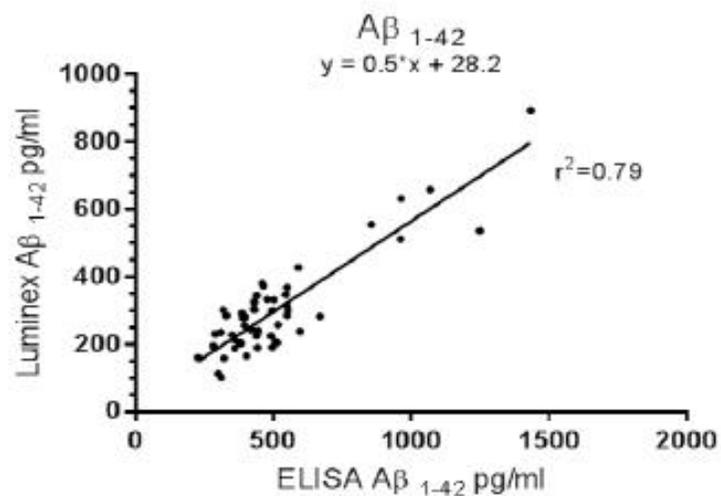


Figure 3. Linear regression: relationship between ELISA and Luminex CSF biomarker concentrations.

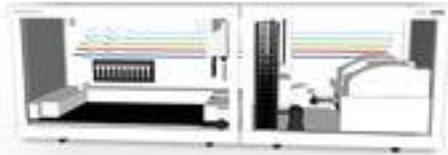


Techniques disponibles

2. Automates

” Eurimmun

**EUROLabWorkstation
ELISA**



EUROIMMUN Analyzer I-2P



EUROIMMUN Analyzer I



Techniques disponibles

2. Automates

” Cobas (Roche)

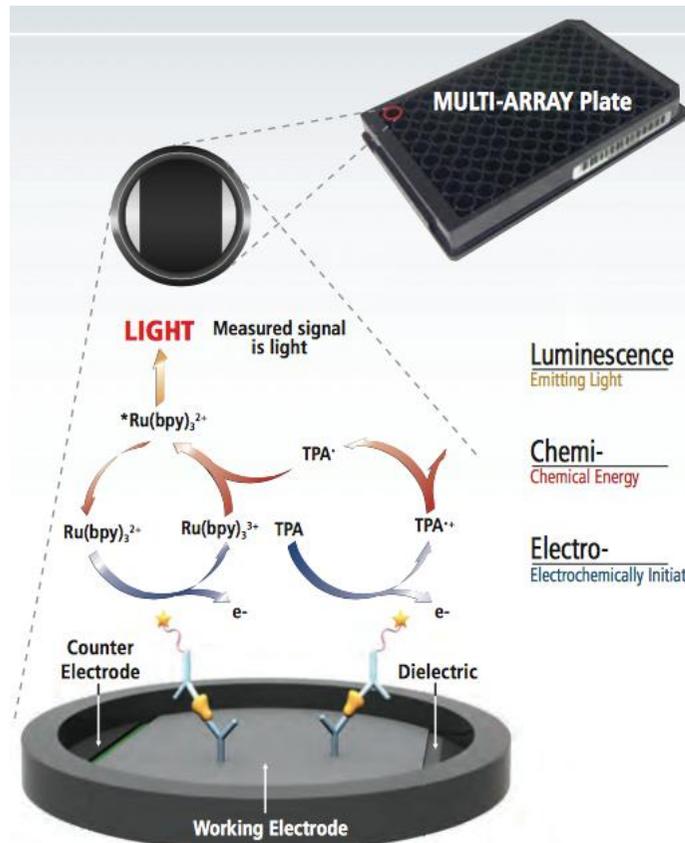
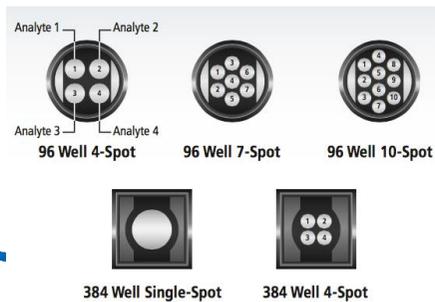
cobas® 6000 analyzer series



Techniques disponibles

2. Automates

” ECL (Meso Scale Discovery): multiplex



Biomarqueurs du LCR

1. Importance des facteurs pré-analytiques
2. Techniques disponibles
- 3. Apport au diagnostic de la maladie d'Alzheimer**
4. Corrélation avec les autres techniques de dépistage



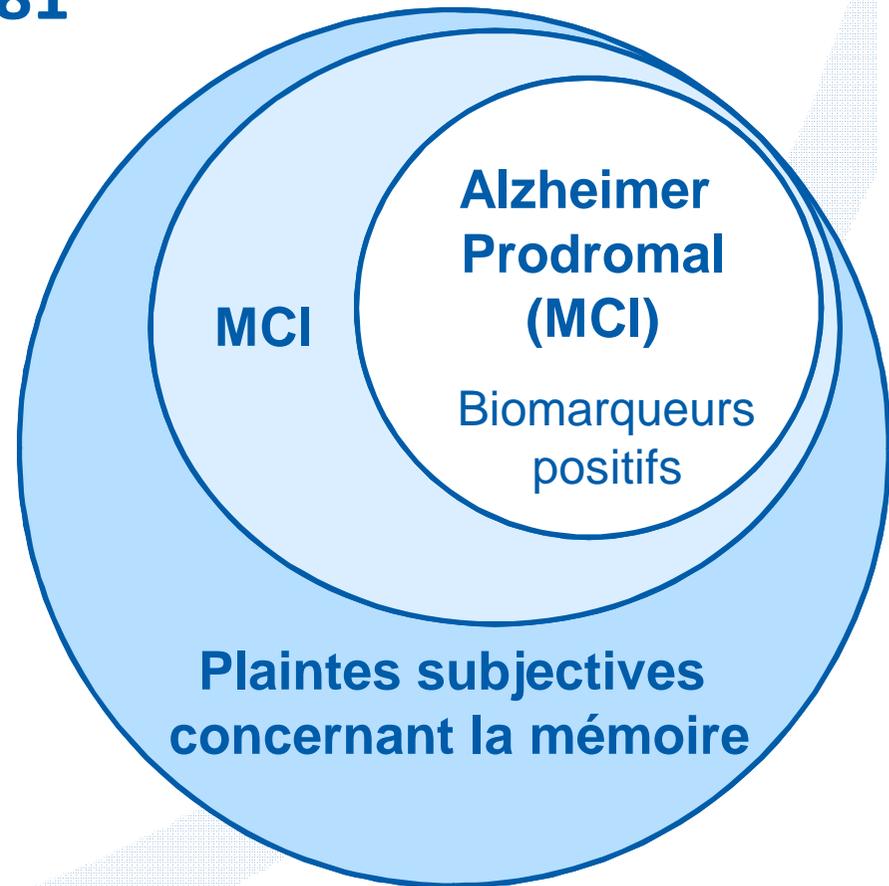
Biomarqueurs dans la maladie d'Alzheimer

A β 1-42, tau totale, p-tau181

ont une valeur
diagnostique pour la
maladie d'Alzheimer

aux stades :

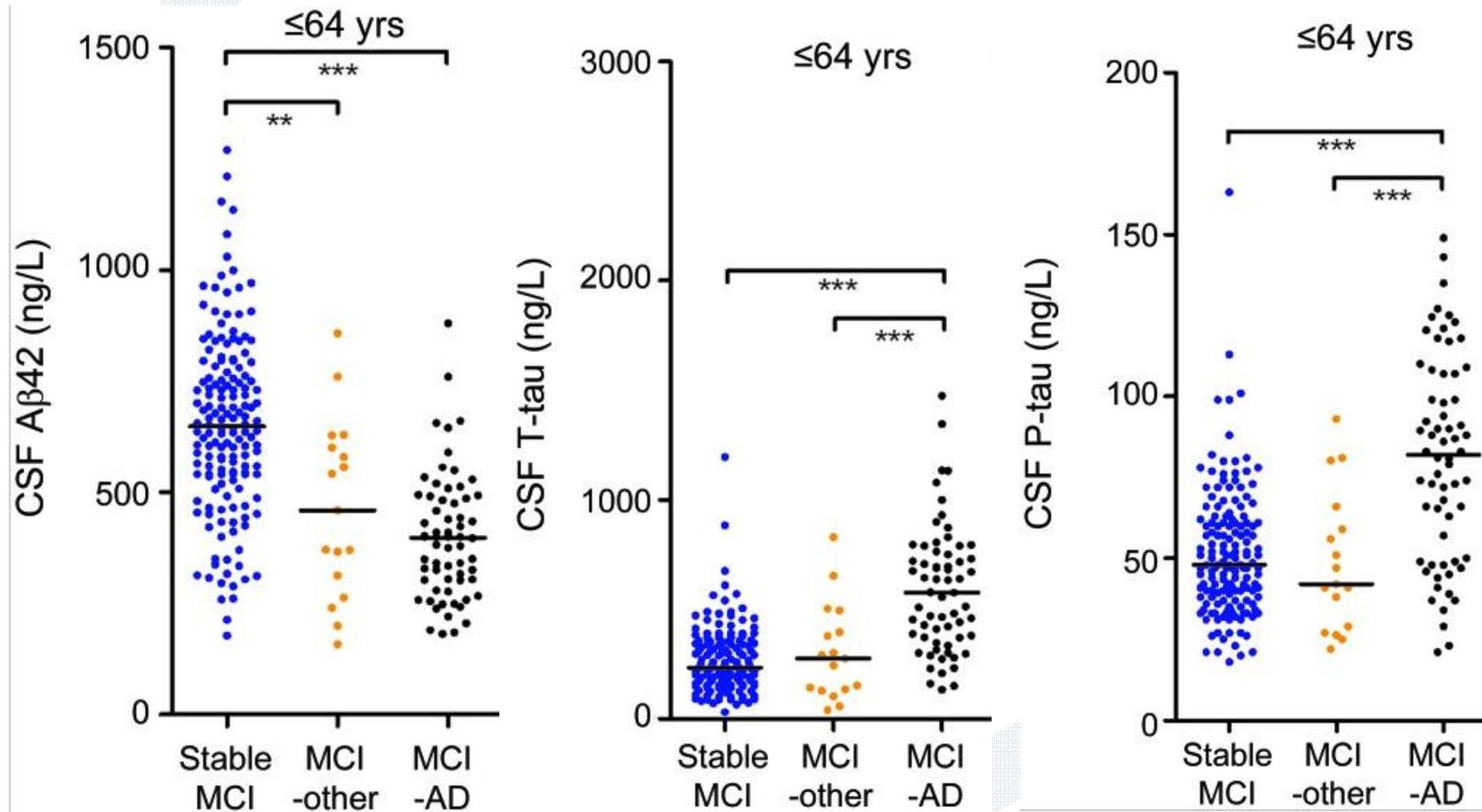
- “ **clinique**
- “ **prodromal (MCI)**
- “ **mais aussi préclinique**



Moghekar et al. Neurology, 2013

« Profil Alzheimer »:

↓ A β 1-42, ↑ Tau et p-Tau



Mattson et al., Neurology, 2012

The cerebrospinal fluid “Alzheimer profile”: Easily said, but what does it mean?

Cohorte de 1385 patients,

” N=631 avec MA probable

” N=236 patients avec MCI; 92/236 ont évolué vers MA

Utilisation des cut-offs prédéfinis

< 550 pg/mL for Ab42

> 375 pg/mL for tau

> 52 pg/mL for p-tau

” Analyse de la performance de chaque combinaison par courbes ROC

” Prédiction de l'évolution du MCI vers une MA

” Cohorte de validation

La valeur diagnostique des biomarqueurs combinés (A β ₄₂, t-tau, and p-tau) est plus élevée que celle de chaque biomarqueur individuellement

Diagnostic accuracy of biomarkers for distinguishing AD patients from controls and other dementia patients

CSF AD profiles	AD patients vs. controls				
	ROC-AUC	SE, %	SP, %	PPV, %	NPV, %
A β ₄₂	0.91 (0.88–0.93)*	82 (79–85)	87 (83–91)	94 (92–96)	66 (61–71)
Tau	0.88 (0.85–0.90)*	82 (79–85)	81 (76–86)	92 (89–94)	65 (59–70)
P-tau	0.83 (0.80–0.86)	86 (83–89)	61 (55–67)	85 (82–88)	64 (57–69)
A β ₄₂ + tau and/or p-tau abnormal		74 (70–77)	92 (89–96)	96 (94–98)	58 (53–63)
≥2 of 3 biomarkers abnormal		86 (84–89)	80 (75–85)	92 (89–94)	70 (65–76)
Tau/A β ₄₂ ratio	0.93 (0.91–0.95)* [†]	85 [†] 93 [¶]	90 (86–93) 83 (79–88)	95 (94–97) 93 (91–95)	71 (66–76) 83 (78–87)
P-tau/A β ₄₂ ratio	0.92 (0.90–0.94)* [†]	85 [#] 93 ^{**}	88 (84–92) 81 (76–85)	95 (93–96) 92 (91–95)	70 (65–75) 82 (77–87)
Formula Hulstaert [1]	0.93 (0.91–0.96)* ^{†§}	93 (91–95)	83 (78–88)	93 (91–95)	84 (79–88)
Formula Mulder [7]	0.93 (0.91–0.95)* ^{†§}	93 (91–95)	82 (77–86)	93 (91–95)	83 (79–88)
Formula Mattsson [6]	0.92 (0.90–0.94)* [†]	80 (77–84)	90 (86–94)	95 (94–97)	64 (59–69)
Formula Schoonenboom [9]	0.92 (0.90–0.94)* [†]	91 (89–93)	84 (80–89)	94 (92–95)	79 (74–84)



Recommandation du Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative (ABSI)

Duits et al., *Alz Dem*, 2014; Molinuevo et al., *Alz Dem*, 2014

Biomarqueurs du LCR

1. Importance des facteurs pré-analytiques
2. Techniques disponibles
3. Apport au diagnostic de la maladie d'Alzheimer
4. **Corrélation avec les autres techniques de dépistage**

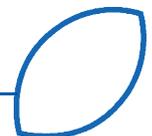




Biomarker-based prediction of progression in MCI: comparison of AD signature and hippocampal volume with spinal fluid amyloid- β and tau

Bradford C. Dickerson^{1,2,3,4} and David A. Wolk^{5,6,7} for the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative[†]*

Conclusion: In amnesic MCI, short-term (1 year) prognosis of progression to dementia relates strongly to baseline markers of neurodegeneration, with the AD signature MRI biomarker of cortical thickness performing the best among MRI and CSF markers studied here. Longer-term (3 year) prognosis in these individuals was better predicted by a marker indicative of brain amyloid. Prediction of time-to-event in a survival model was predicted by the combination of these biomarkers. These results provide further support for emerging models of the temporal relationship of pathophysiologic events in AD and demonstrate the utility of these biomarkers at the prodromal stage of the illness.



Detailed comparison of amyloid PET and CSF biomarkers for identifying early Alzheimer disease

OPEN ▲

Sebastian Palmqvist, MD,
PhD

Hennik Zetterberg, MD,
PhD

Niklas Mattsson, MD,
PhD

Per Johansson, MD, PhD
For the Alzheimer's
Disease Neuroimaging
Initiative

Lennart Minthon, MD,
PhD

Kaj Blennow, MD, PhD
Mattias Olsson, PhD
For the Swedish
BioFINDER study
group

Oskar Hansson, MD,
PhD

ABSTRACT

Objective: To compare the diagnostic accuracy of CSF biomarkers and amyloid PET for diagnosing early-stage Alzheimer disease (AD).

Methods: From the prospective, longitudinal BioFINDER study, we included 122 healthy elderly and 34 patients with mild cognitive impairment who developed AD dementia within 3 years (MCI-AD). β -Amyloid ($A\beta$) deposition in 9 brain regions was examined with [18 F]-flutemetamol PET. CSF was analyzed with INNOTEST and EUROIMMUN ELISAs. The results were replicated in 146 controls and 64 patients with MCI-AD from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative study.

Results: The best CSF measures for identifying MCI-AD were $A\beta_{42}$ /total tau (t-tau) and $A\beta_{42}$ /hyperphosphorylated tau (p-tau) (area under the curve [AUC] 0.93–0.94). The best PET measures performed similarly (AUC 0.92–0.93; anterior cingulate, posterior cingulate/precuneus, and global neocortical uptake). CSF $A\beta_{42}$ /t-tau and $A\beta_{42}$ /p-tau performed better than CSF $A\beta_{42}$ and $A\beta_{42}/40$ (AUC difference 0.03–0.12, $p < 0.05$). Using nonoptimized cutoffs, CSF $A\beta_{42}$ /t-tau had the highest accuracy of all CSF/PET biomarkers (sensitivity 97%, specificity 83%). The combination of CSF and PET was not better than using either biomarker separately.

Conclusions: Amyloid PET and CSF biomarkers can identify early AD with high accuracy. There were no differences between the best CSF and PET measures and no improvement when combining them. Regional PET measures were not better than assessing the global $A\beta$ deposition. The results were replicated in an independent cohort using another CSF assay and PET tracer. The choice between CSF and amyloid PET biomarkers for identifying early AD can be based on availability, costs, and doctor/patient preferences since both have equally high diagnostic accuracy.

Classification of evidence: This study provides Class III evidence that amyloid PET and CSF biomarkers identify early-stage AD equally accurately. *Neurology*® 2015;85:1240–1249

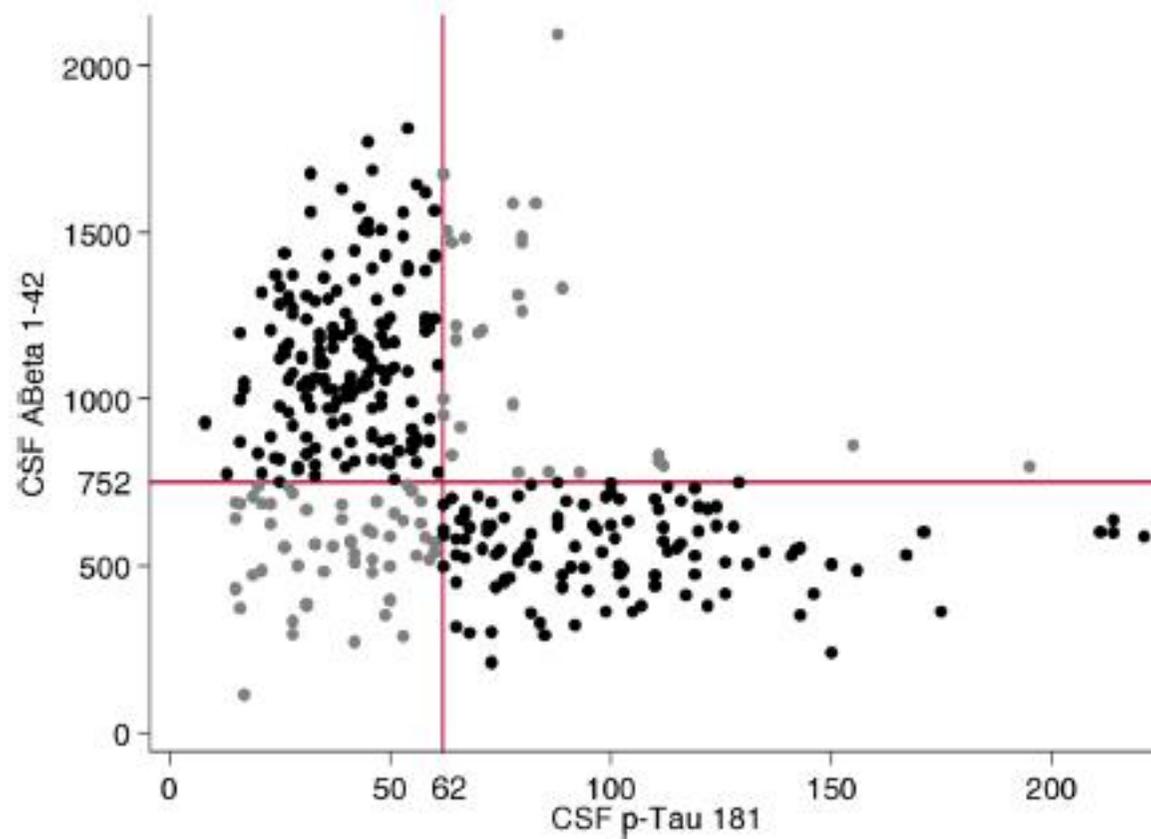
Correspondence to
Dr. Palmqvist:
sebastian.palmqvist@med.lu.se
or Dr. Hansson:
oskar.hansson@med.lu.se

Biomarqueurs du LCR

1. Importance des facteurs pré-analytiques
2. Techniques disponibles
3. Apport au diagnostic de la maladie d'Alzheimer
4. Corrélation avec les autres techniques de dépistage
- 5. Difficultés d'interprétation et diagnostic différentiel**

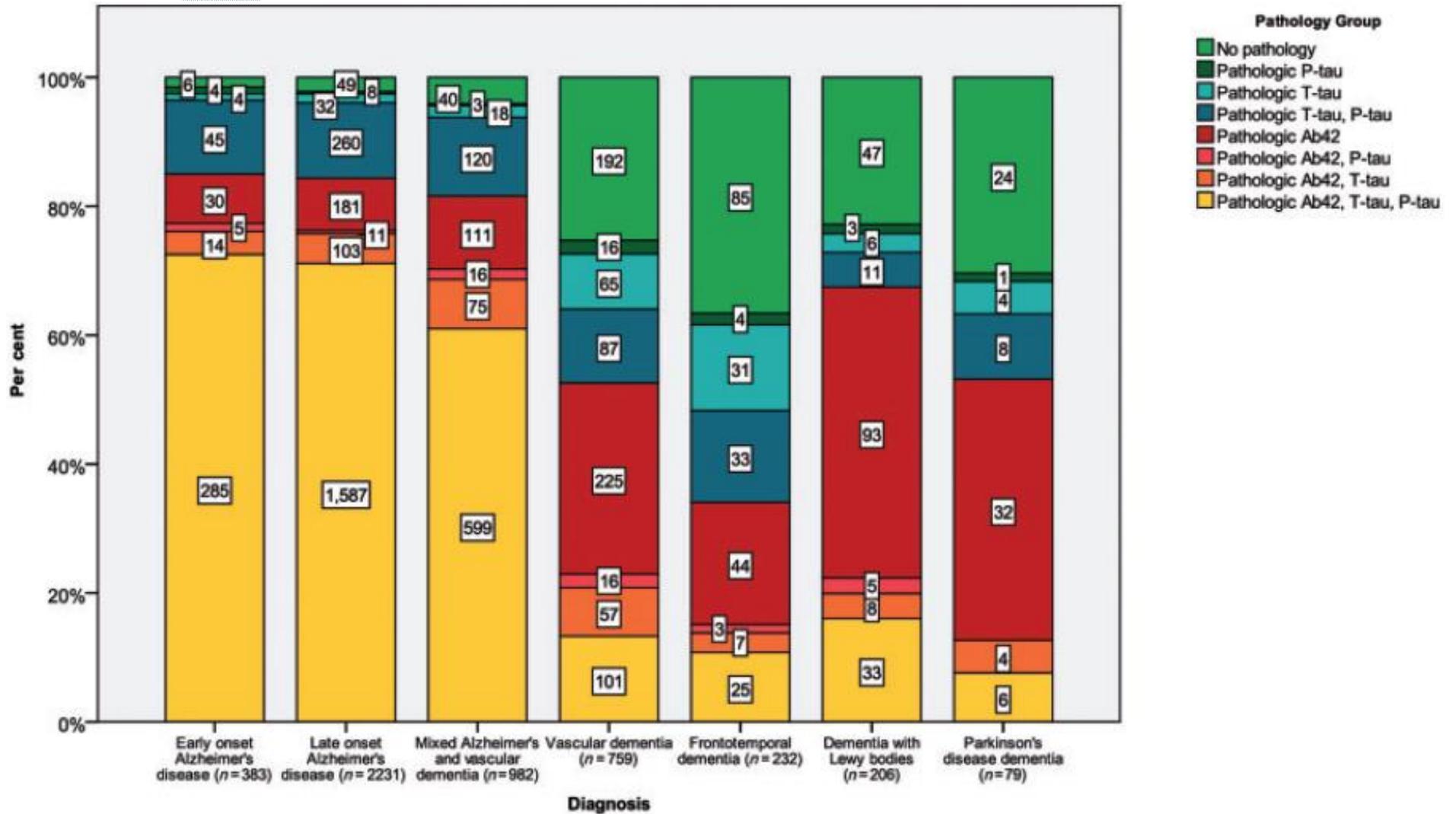


Comment interpréter le test si tous les biomarqueurs ne sont pas altérés ?



Dumurgier et al., Alz Res Dis Ther, 2015

Diagnostic différentiel des démences



Tauopathies

Diseases showing coexistence of tau and amyloid pathologies

Alzheimer's disease
Creutzfeldt-Jakob disease
Dementia pugilistica
Down's syndrome
Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease
Inclusion-body myositis
Prion protein cerebral amyloid angiopathy

Diseases without distinct amyloid pathology

Amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism–dementia complex
Argyrophilic grain dementia
Corticobasal degeneration
Diffuse neurofibrillary tangles with calcification
Frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17
Hallevorden–Spatz disease^a
Multiple system atrophy^a
Niemann–Pick disease, type C
Pick's disease
Progressive subcortical gliosis
Progressive supranuclear palsy
Subacute sclerosing panencephalitis
Tangle-predominant Alzheimer's disease

Utilité du ratio Tau/A β 1-42 ?

Diagnostic accuracy of biomarkers for distinguishing AD patients from controls and other dementia patients

CSF AD profiles	AD patients vs. controls				
	ROC-AUC	SE, %	SP, %	PPV, %	NPV, %
A β ₄₂	0.91 (0.88–0.93)*	82 (79–85)	87 (83–91)	94 (92–96)	66 (61–71)
Tau	0.88 (0.85–0.90)*	82 (79–85)	81 (76–86)	92 (89–94)	65 (59–70)
P-tau	0.83 (0.80–0.86)	86 (83–89)	61 (55–67)	85 (82–88)	64 (57–69)
A β ₄₂ + tau and/or p-tau abnormal		74 (70–77)	92 (89–96)	96 (94–98)	58 (53–63)
≥2 of 3 biomarkers abnormal		86 (84–89)	80 (75–85)	92 (89–94)	70 (65–76)
Tau/A β ₄₂ ratio	0.93 (0.91–0.95)* [†]	85 [†]	90 (86–93)	95 (94–97)	71 (66–76)
	0.52	93 [¶]	83 (79–88)	93 (91–95)	83 (78–87)
P-tau/A β ₄₂ ratio	0.92 (0.90–0.94)* [†]	85 [#]	88 (84–92)	95 (93–96)	70 (65–75)
		93 ^{**}	81 (76–85)	92 (91–95)	82 (77–87)
Formula Hulstaert [1]	0.93 (0.91–0.96)* ^{†§}	93 (91–95)	83 (78–88)	93 (91–95)	84 (79–88)
Formula Mulder [7]	0.93 (0.91–0.95)* ^{†§}	93 (91–95)	82 (77–86)	93 (91–95)	83 (79–88)
Formula Mattsson [6]	0.92 (0.90–0.94)* [†]	80 (77–84)	90 (86–94)	95 (94–97)	64 (59–69)
Formula Schoonenboom [9]	0.92 (0.90–0.94)* [†]	91 (89–93)	84 (80–89)	94 (92–95)	79 (74–84)



Conclusions

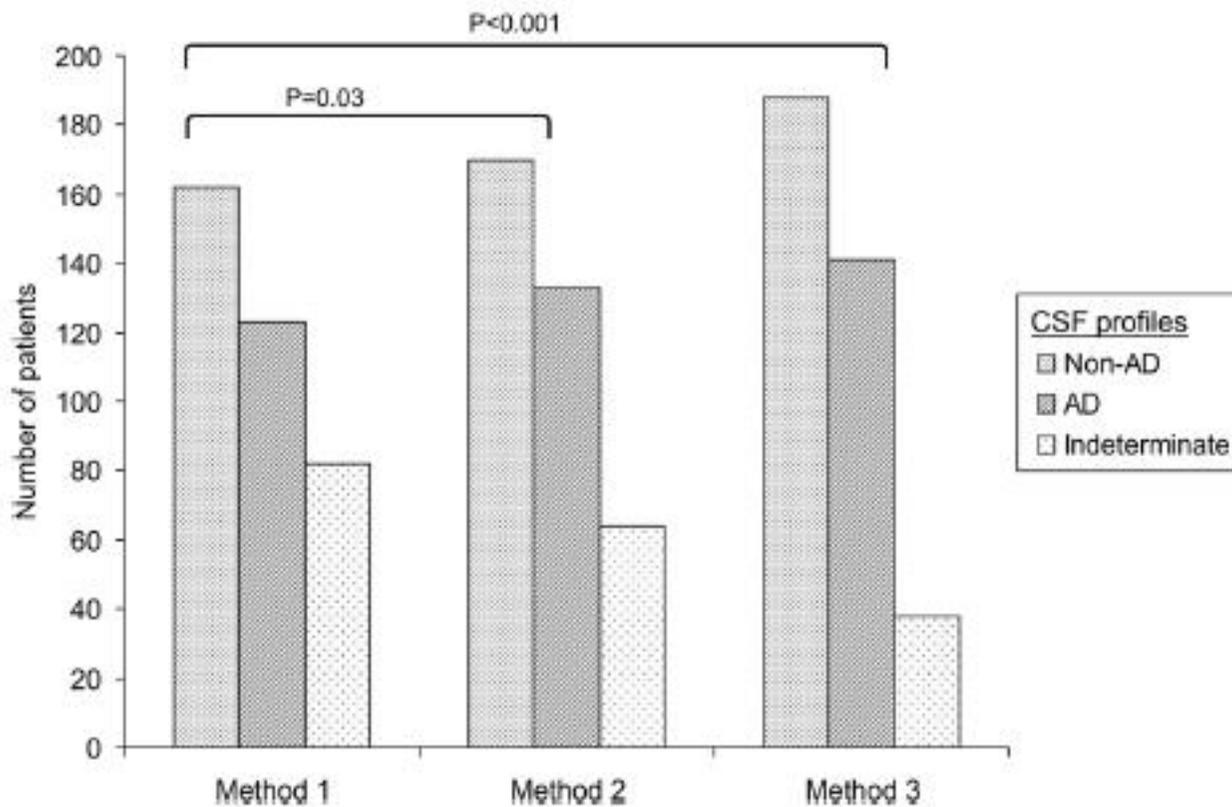
Robustesse du ratio tau/ $A\beta$ 1-42 avec un cut-off de 0.52

Avantage d'un ratio: s'affranchir des valeurs proches des seuils

Mais ne tient pas compte de la p-tau

Nécessite l'obtention de mêmes valeurs entre laboratoires





p-Tau et A β 1-42
 puis ratio A β 42/40

Dumurgier et al., Alz Res Dis Ther, 2015

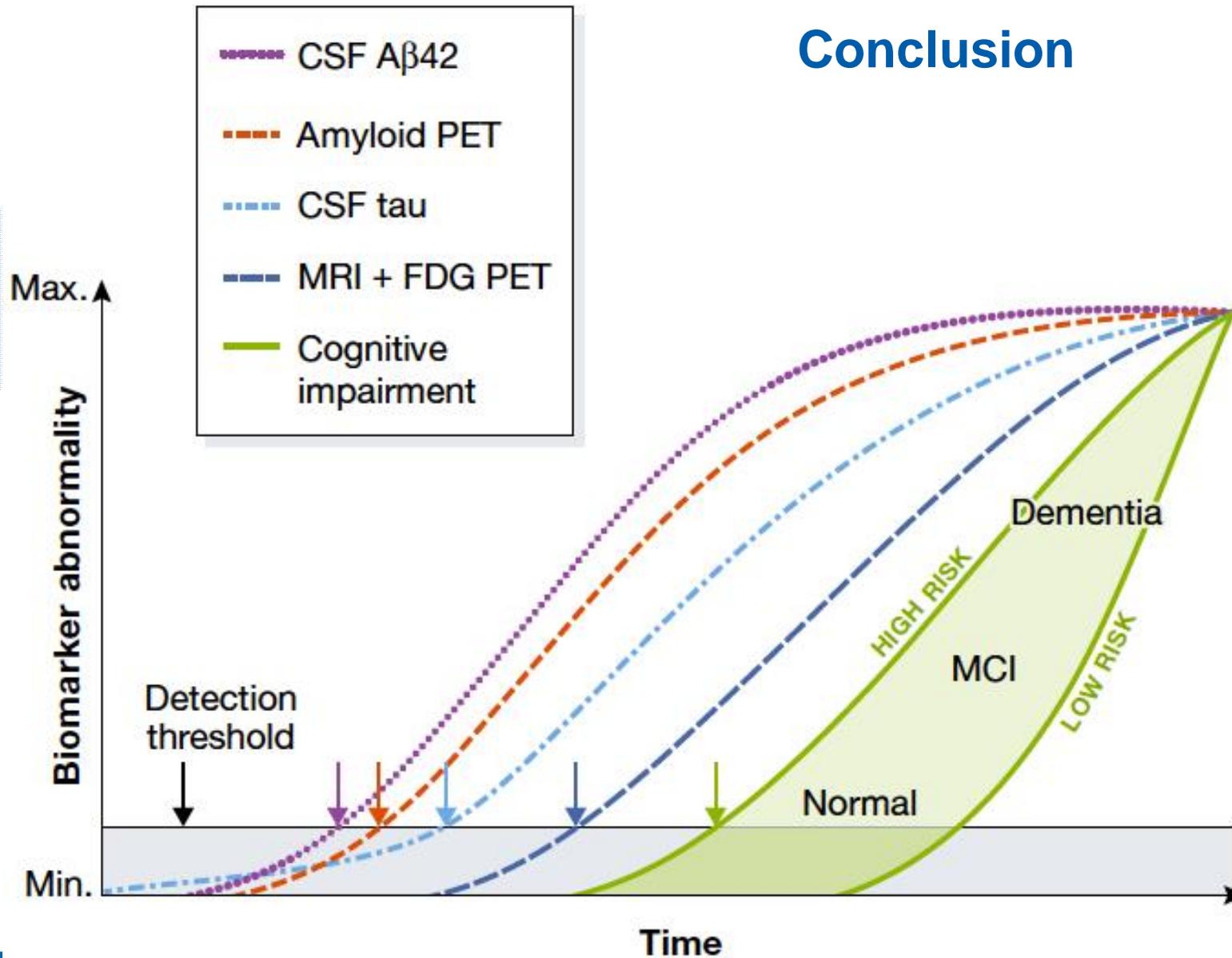


Utilité du dosage de la phospho-tau

	AUC	95% CI	Cutoff	Sens (%)	Spec (%)
AD vs. FTD					
A β ₁₋₄₂	0.776	0.652–0.900	385.31	57.1	88.2
T-tau	0.746	0.654–0.838	423.00	67.9	82.4
P-tau _{181P}	0.810	0.710–0.910	47.25	81.4	76.5
A β ₁₋₄₂ /T-tau	0.863	0.794–0.931	0.97	70.1	94.1
A β ₁₋₄₂ /P-tau _{181P}	0.894	0.823–0.965	9.77	86.4	82.4
AD vs. DLB					
P-tau _{181P}	0.664	0.539–0.788	59.05	65.7	70.8
A β ₁₋₄₂ /T-tau	0.670	0.539–0.802	0.80	60.7	75.0
A β ₁₋₄₂ /P-tau _{181P}	0.694	0.565–0.824	8.46	80.0	58.3

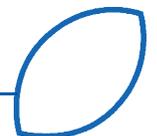


Conclusion



Pourquoi des biomarqueurs pour la maladie d'Alzheimer ?

1. Etablissement d'un diagnostic précoce
2. Etablissement du risque de progression vers une MA (MCI)
3. Diagnostic différentiel
 - Démences fronto-temporales (10%)
 - Démences vasculaires (10-20%)
 - Autres: maladie de Creutzfeldt Jacob
4. Suivre la réponse thérapeutique dans des études cliniques
Aducanumab, phase II.
5. Dans le futur: sélection du traitement approprié en fonction
du processus physiopathologique



Conditions techniques à implémenter

- “ Standardisation:
 - “ dans les procédures de collection, de transfert et stockage
 - “ des protocoles techniques
- “ Participation à un programme de contrôle de qualité externe multi-centrique



*Fourier et al., Clin Chim Acta, 2015;
Hort et al., Eur J Neurol, 2010; Mattsson et al., Alz Dem, 2011*

Dans le futur

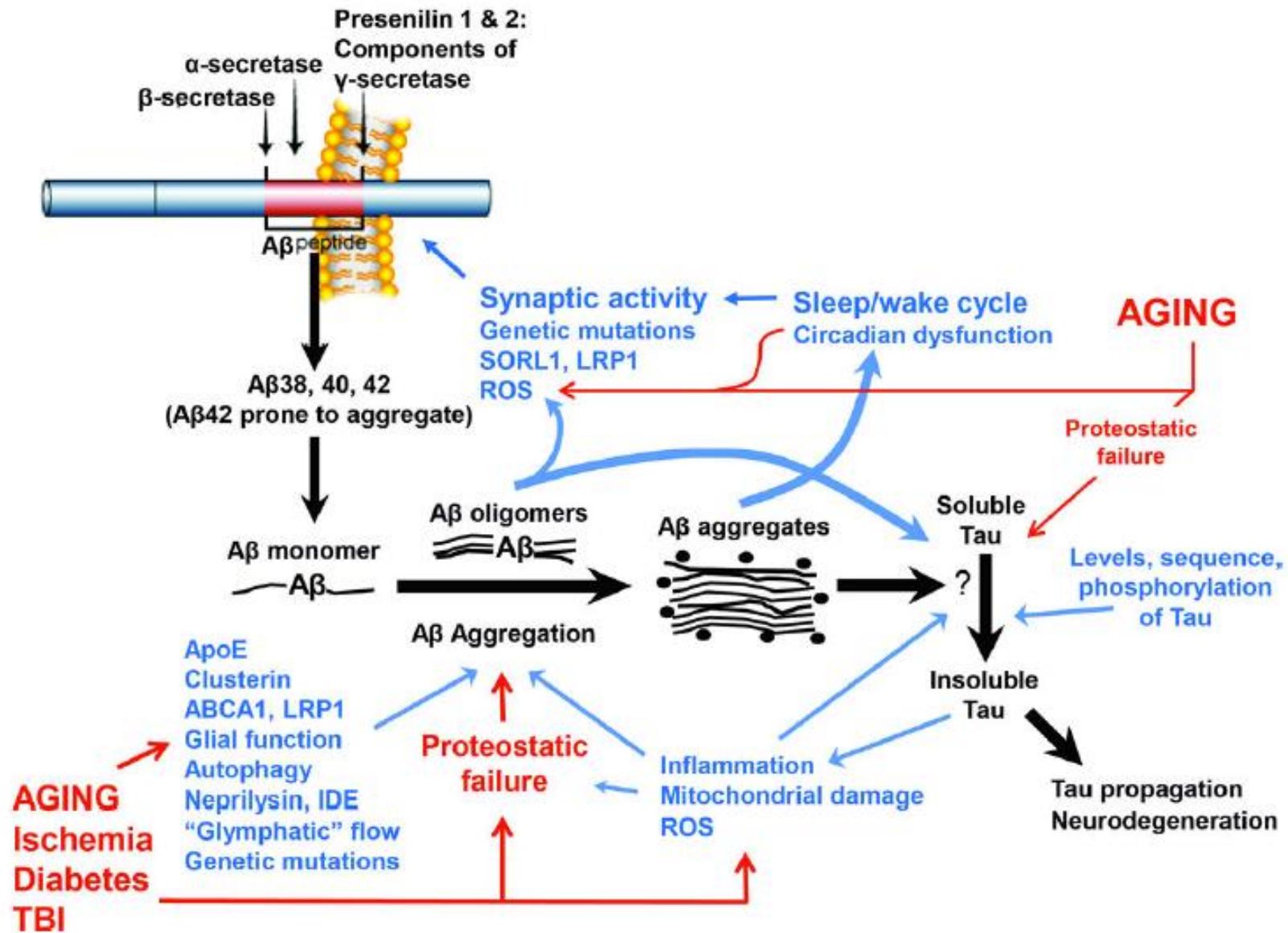
- “ Usage de calibrateurs de référence « universels »
<http://www.neurochem.info>
- “ Automatisation:
 - “ Reproductibilité technique
 - “ Rapidité d'obtention du résultat
- “ Introduction d'autres biomarqueurs ? neurogranine



*Fourier et al., Clin Chim Acta, 2015;
Hort et al., Eur J Neurol, 2010; Mattsson et al., Alz Dem, 2011*



Cliniques universitaires
SAINT-LUC
UCL BRUXELLES



Musiek et al., Nat Neurosci, 2015