



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE CIENCIA
E INNOVACIÓN

ISC
Instituto
de Salud
Carlos III

CIEN
Fundación Centro Investigación
Enfermedades Neurológicas

Medicina de precisión en Enfermedad de Alzheimer

Pascual Sánchez-Juan

Fundación CIEN

Centro Alzheimer Fundación Reina Sofía

Seminario en Centro Nacional de Epidemiología

24/2/2022



Un paciente durante mi residencia en 1999

- Paciente de 67 años consulta por problemas de memoria.

Trabajaba como empleado de banca. No es consciente de los problemas amnésicos. Su mujer se queja porque es olvidadizo y repite preguntas constantemente. Los síntomas han aumentado muy lentamente en el último año. Su estado de ánimo ha cambiado y se ha vuelto más apático, y en ocasiones irritable. Por lo demás, es perfectamente funcional, aunque su rutina diaria es muy sencilla.

- La exploración neurológica es normal. El MMSE 27/30 (0/3 recuerdo)
- TAC: atrofia difusa en concordancia con la edad del paciente.
- Pruebas de laboratorio (incluyendo hormonas tiroideas, vitamina B12, Folato y serología de lúes) sin anomalías.

Dx: Quejas de memoria asociadas a la edad.

No evidencia de Enfermedad de Alzheimer AD.

Enfermedad “dicotómica” de criterios clínicos con confirmación definitiva AP

Clinical diagnosis of Alzheimer’s disease:

**Report of the NINCDS-ADRDA Work Group* under the
auspices of Department of Health and Human Services
Task Force on Alzheimer’s Disease**

Guy McKhann, MD; David Drachman, MD; Marshall Folstein, MD; Robert Katzman, MD;
Donald Price, MD; and Emanuel M. Stadlan, MD

views & reviews

Article abstract—Clinical criteria for the diagnosis of Alzheimer’s disease include insidious onset and progressive impairment of memory and other cognitive functions. There are no motor, sensory, or coordination deficits early in the disease. **The diagnosis cannot be determined by laboratory tests.** These tests are important primarily in identifying other possible causes of dementia that must be excluded before the diagnosis of Alzheimer’s disease may be made with confidence. Neuropsychological tests provide confirmatory evidence of the diagnosis of dementia and help to assess the course and response to therapy. The criteria proposed are intended to serve as a guide for the diagnosis of probable, possible, and definite Alzheimer’s disease; these criteria will be revised as more definitive information becomes available.

La Enfermedad de Alzheimer como continuo patológico

Mild Cognitive Impairment

Clinical Characterization and Outcome

Ronald C. Petersen, PhD, MD; Glenn E. Smith, PhD; Stephen C. Waring, DVM, PhD;
Robert J. Ivnik, PhD; Eric G. Tangalos, MD; Emre Kokmen, MD

Background: Subjects with a mild cognitive impairment (MCI) have a memory impairment beyond that expected for age and education yet are not demented. These subjects are becoming the focus of many prediction studies and early intervention trials.

Objective: To characterize clinically subjects with MCI cross-sectionally and longitudinally.

Design: A prospective, longitudinal inception cohort.

Setting: General community clinic.

Participants: A sample of 76 consecutively evaluated subjects with MCI were compared with 234 healthy control subjects and 106 patients with mild Alzheimer disease (AD), all from a community setting as part of the Mayo Clinic Alzheimer's Disease Center/Alzheimer's Disease Patient Registry, Rochester, Minn.

Main Outcome Measures: The 3 groups of individuals were compared on demographic factors and measures of cognitive function including the Mini-Mental State Examination, Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised, Wechsler Memory Scale-Revised, Dementia Rating Scale, Free and Cued Selective Reminding Test, and

Auditory Verbal Learning Test. Clinical classifications of dementia and AD were determined according to the *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Revised Third Edition* and the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association criteria, respectively.

Results: The primary distinction between control subjects and subjects with MCI was in the area of memory, while other cognitive functions were comparable. However, when the subjects with MCI were compared with the patients with very mild AD, memory performance was similar, but patients with AD were more impaired in other cognitive domains as well. Longitudinal performance demonstrated that the subjects with MCI declined at a rate greater than that of the controls but less rapidly than the patients with mild AD.

Conclusions: Patients who meet the criteria for MCI can be differentiated from healthy control subjects and those with very mild AD. They appear to constitute a clinical entity that can be characterized for treatment interventions.

Arch Neurol. 1999;56:303-308

- Sujetos con déficit aislado de memoria (Deterioro Cognitivo Leve) progresan a un ritmo de **10 a 15% al año** a Enfermedad de Alzheimer

- Cerca del **50%** de estos pacientes progresan a Alzheimer después de **3 años** (Mattsson, Zetterberg et al. 2009).

- Hasta un **30% no progresa** a enfermedad de Alzheimer (Jicha, Parisi et al. 2006).



Comunicado del Grupo de Estudio de la Neurología de la Conducta y Demencias de la Sociedad Española de Neurología (SEN) en relación a la aprobación del Aducanumab por la FDA

La *Food and Drug Administration* (FDA) aprobó ayer el primer fármaco potencialmente modificador del curso de la enfermedad de Alzheimer. Son noticias trascendentales y largamente esperadas, puesto que el último fármaco (sintomático) contra la enfermedad de Alzheimer fue aprobado en 2003.

Junio 2021

Junta del Grupo de Estudio de la Neurología de la Conducta y Demencias de la Sociedad Española de Neurología

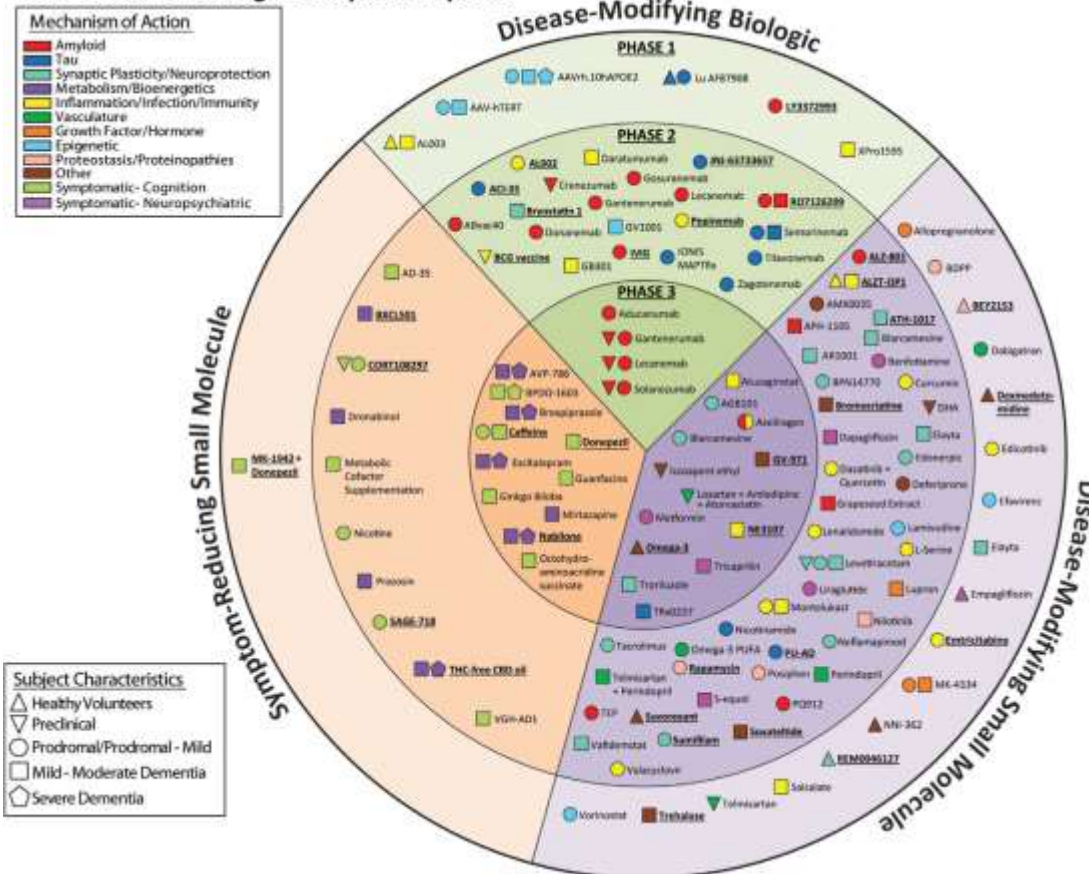
**Dr. Juan Fortea Ormaechea
Dra. Raquel Sánchez del Valle
Dr. Pascual Sánchez-Juan
Dr. Ángel Martín Montes**

RESEARCH ARTICLE

Alzheimer's disease drug development pipeline: 2021

Jeffrey Cummings¹ | Garam Lee² | Kate Zhong³ | Jorge Fonseca⁴ | Kazem Taghva⁴

2021 Alzheimer's Drug Development Pipeline



En 2021 >120 agentes en ensayos de modificación de la enfermedad.

Aumento en el número de agentes a vías distintas de β -amiloide (tau, inflamación, protección de las sinapsis y las neuronas, los factores vasculares, la neurogénesis y las intervenciones epigenéticas)

Dianas de estudios genómicos (GWAS Alzheimer esporádico)

- Además de ApoE incluyen:
 - Metabolismo lipídico.
 - Homeostasis protéica (endosomal-lisosomal-autofagia).
 - Neuroinflamación.
- Ejemplos ensayos clínicos de AC con diana en proteínas asociadas a genes de riesgo para EA (GWAS):
 - Trem2
 - Sortilina

Debemos trabajar con la hipótesis de que en breve habrá tratamientos modificadores de curso de EA

- Para aplicar estos tratamientos necesitamos que el sistema sanitario sea capaz de realizar un **diagnóstico**:

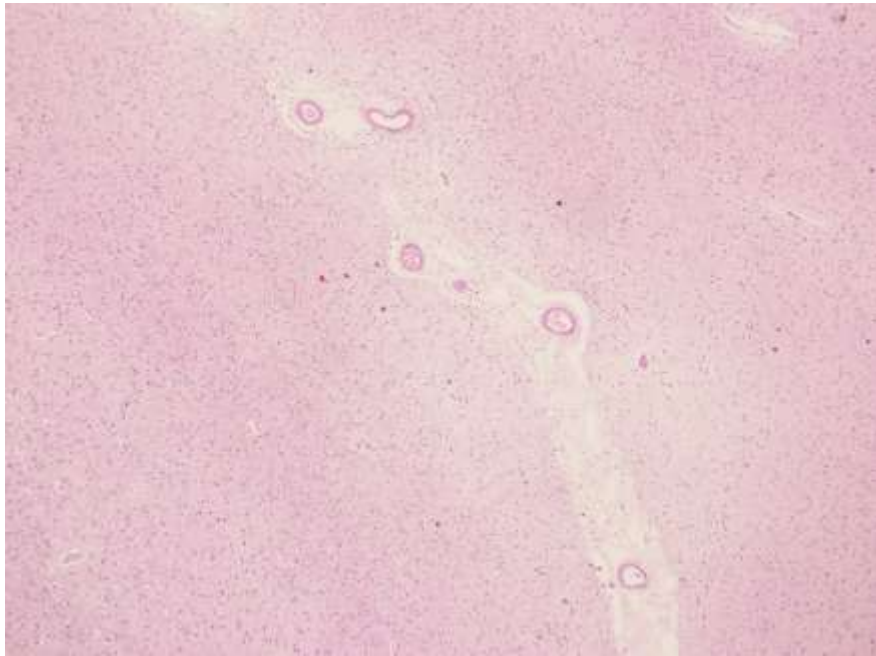
- Preciso (sensible y específico)

- Precoz

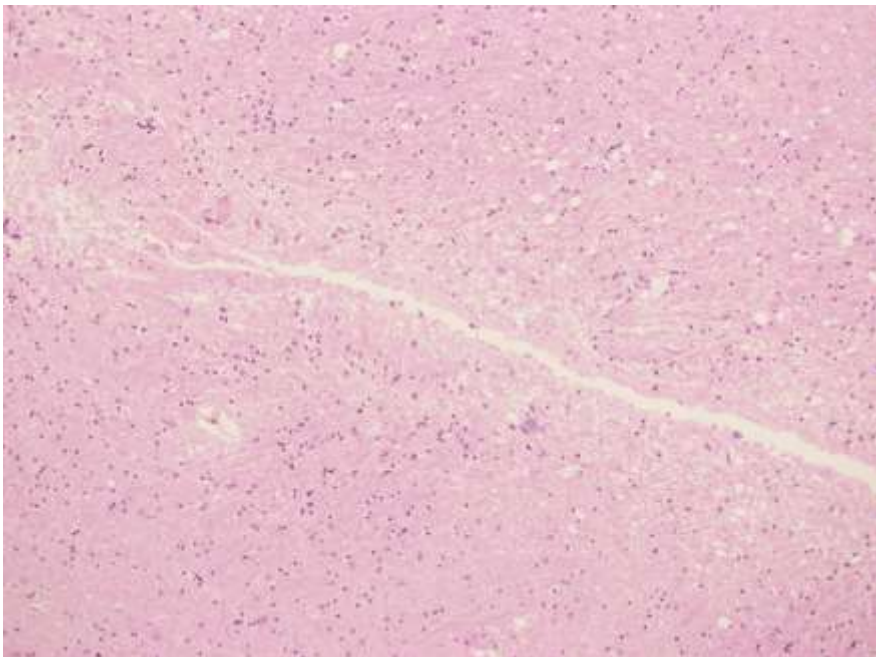
- Mayor efectividad de los fármacos**

- Prevención secundaria:** retrasando el inicio de la enfermedad 5 años se reduciría la prevalencia a la mitad.

(Brodaty H, Breteler MM, Dekosky ST, et al. The world of dementia beyond 2020. *J Am Geriatr Soc* 2011; 59: 923–27.)



S. blanca yuxtacortical temporal
Patología de pequeño vaso



Infarto lacunar en G pálido externo

Mujer, exitus con 83 años

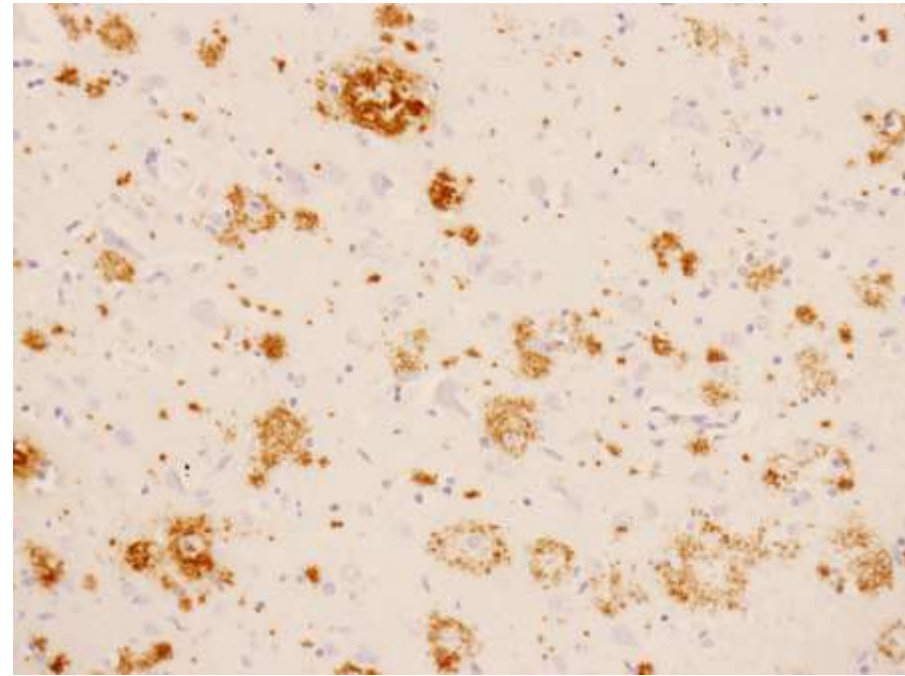
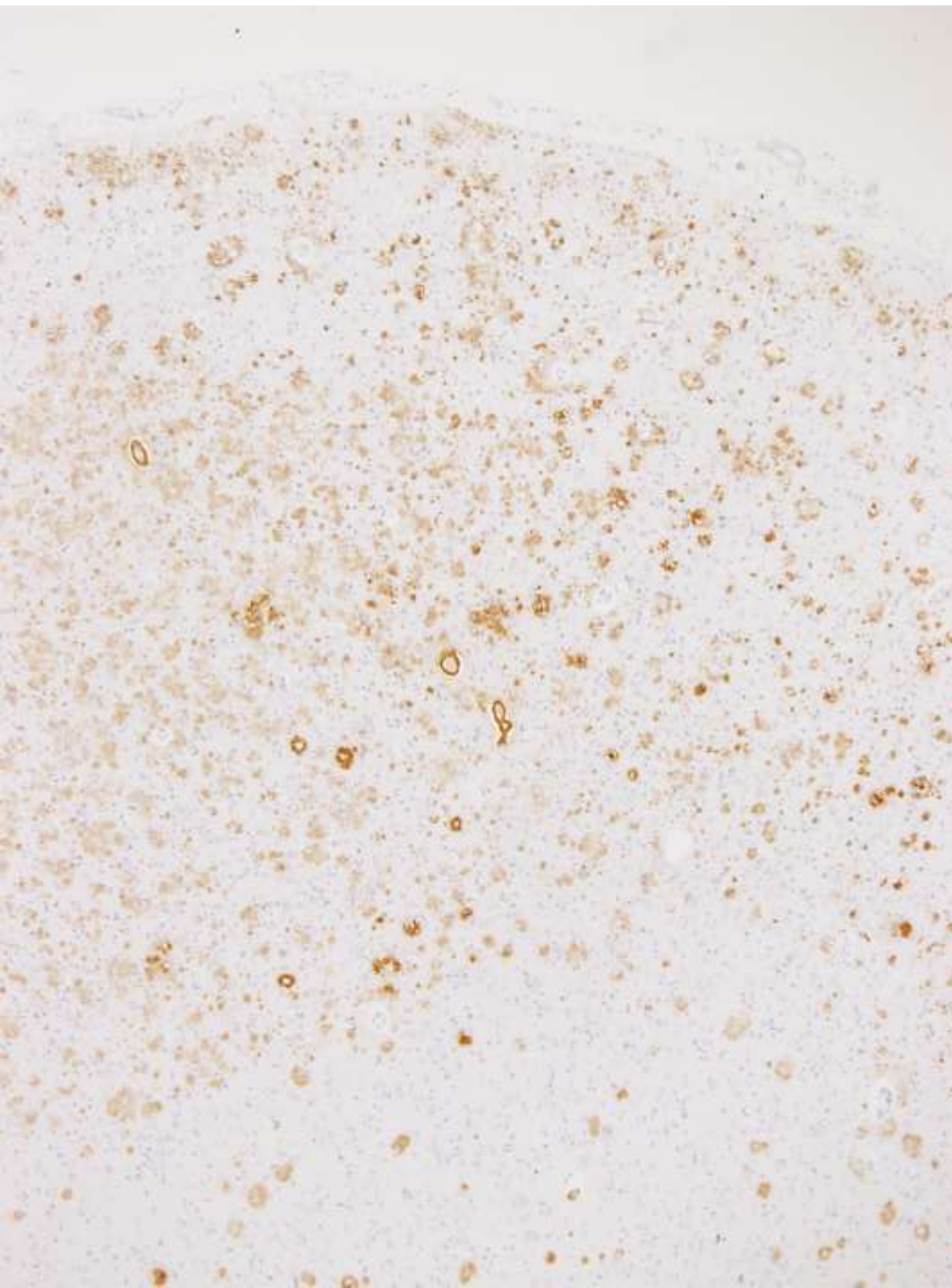
Diagnóstico clínico: Demencia tipo Alzheimer

Edad estimada de inicio: 67 años.

Tiempo en la residencia: 7 años.

Peso del cerebro 718 gramos

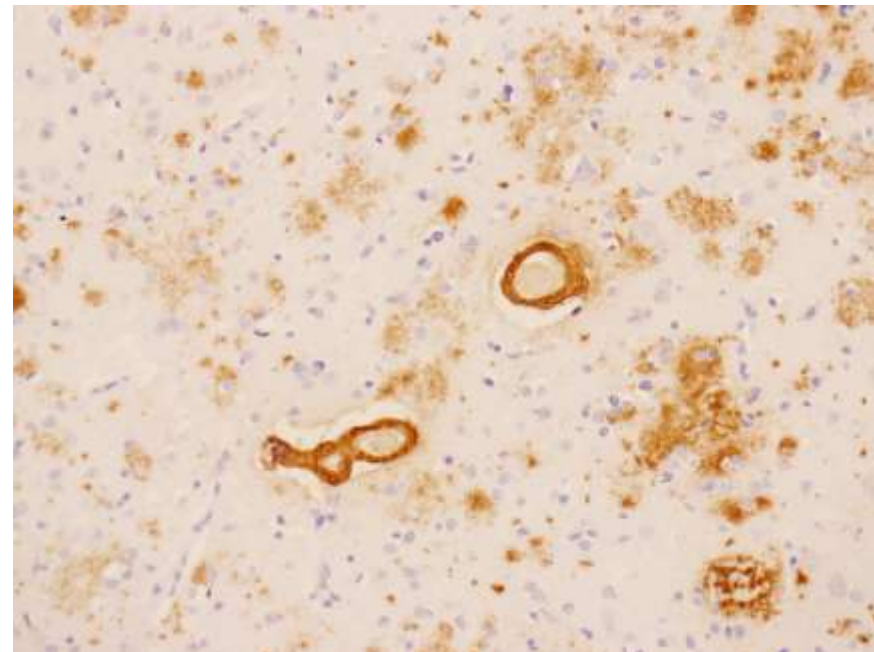




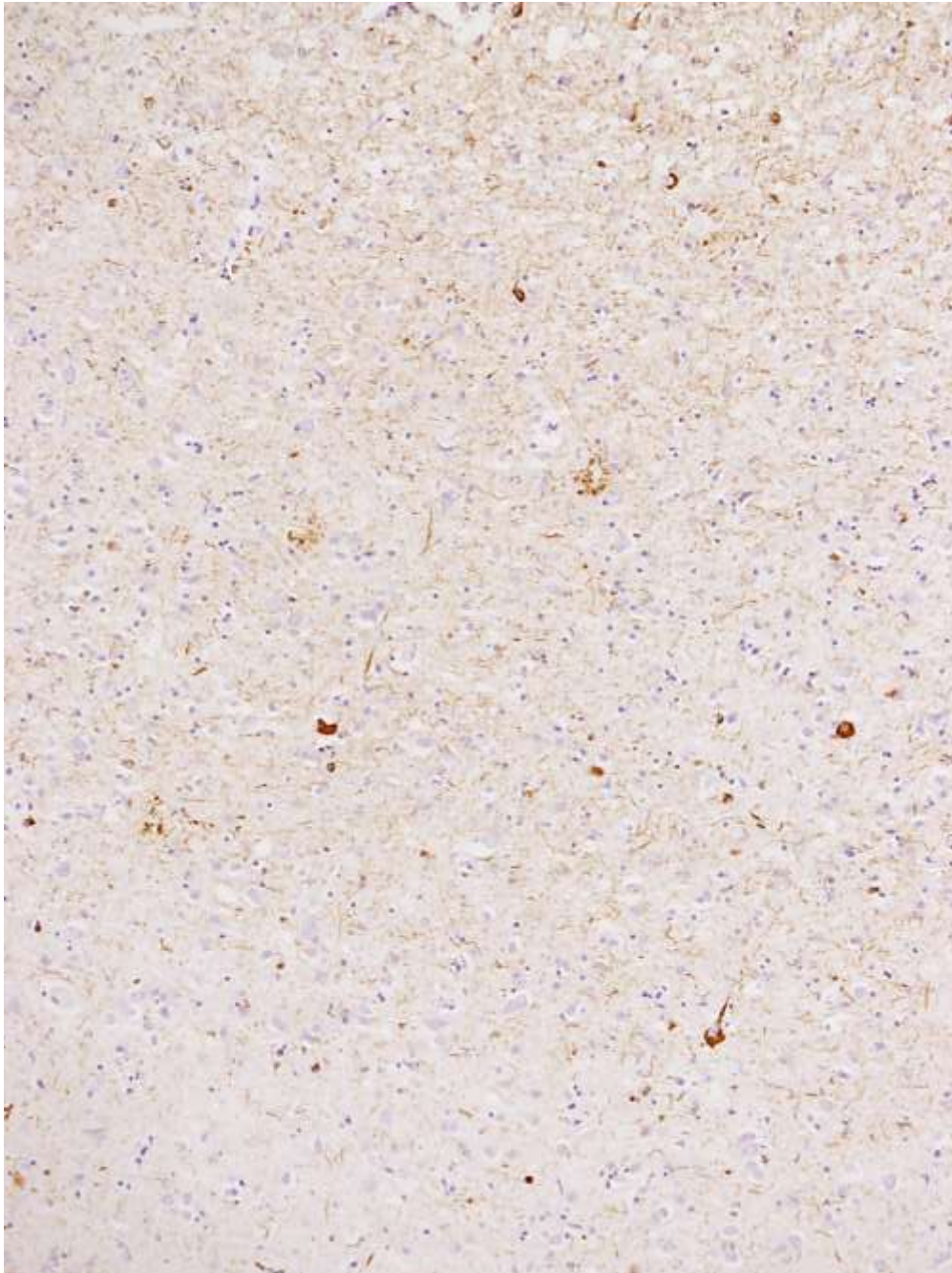
**FRECUENCIA
ALTA DE
PLACAS
(CERAD)**

Beta-amiloide

Placas focales y
difusas



Angiopatía
amiloide



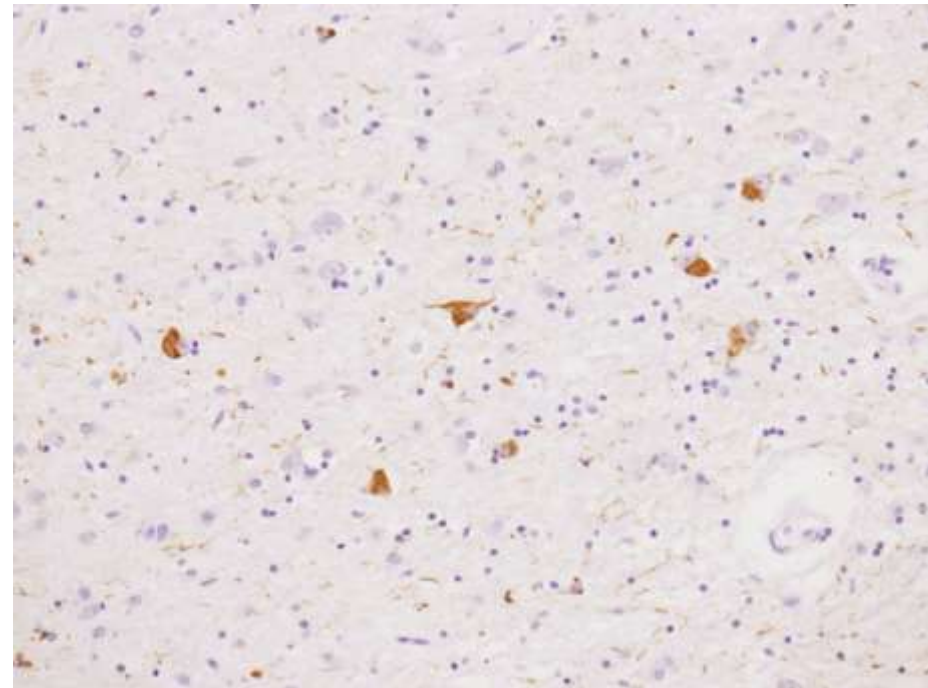
BRAAK VI

Córtex temporal

Fosfo-tau

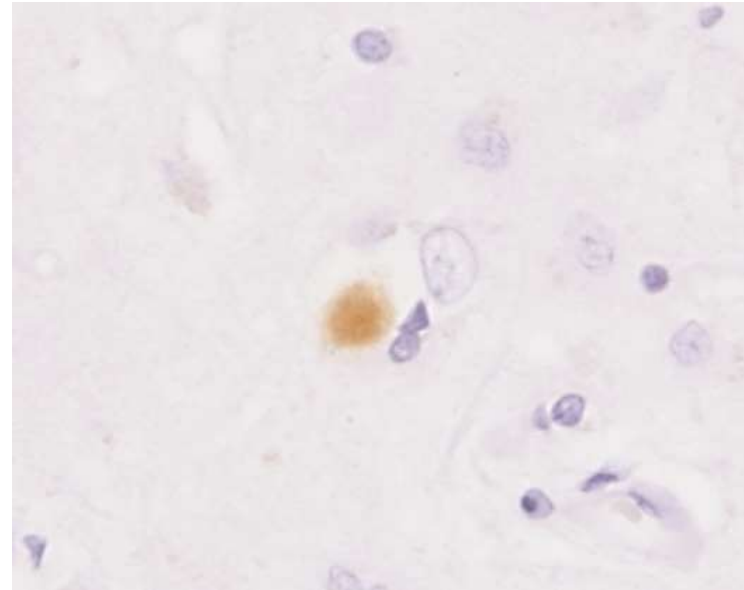
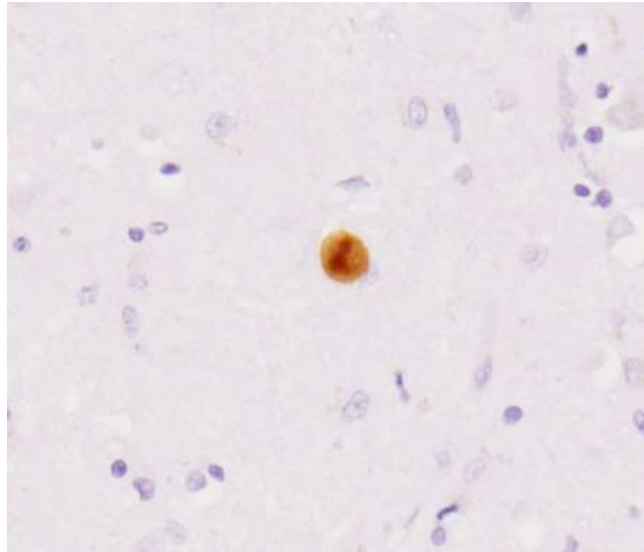
Placas neuríticas y ovillos

Abundantes fibras + de fondo



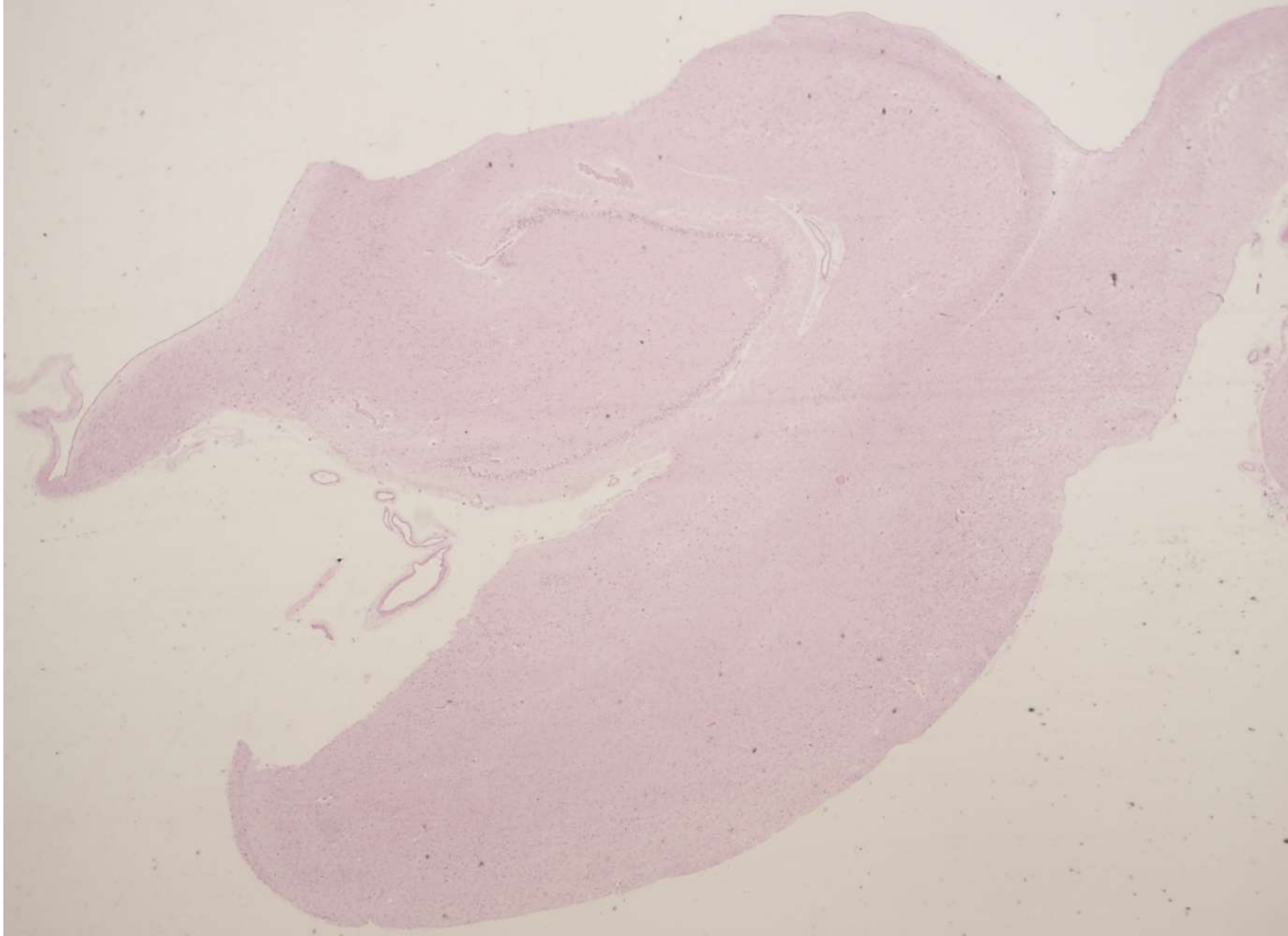
Amígdala

PATOLOGÍA DE LEWY EN ESTADIO 5 DE BRAAK



Córtex cingular anterior

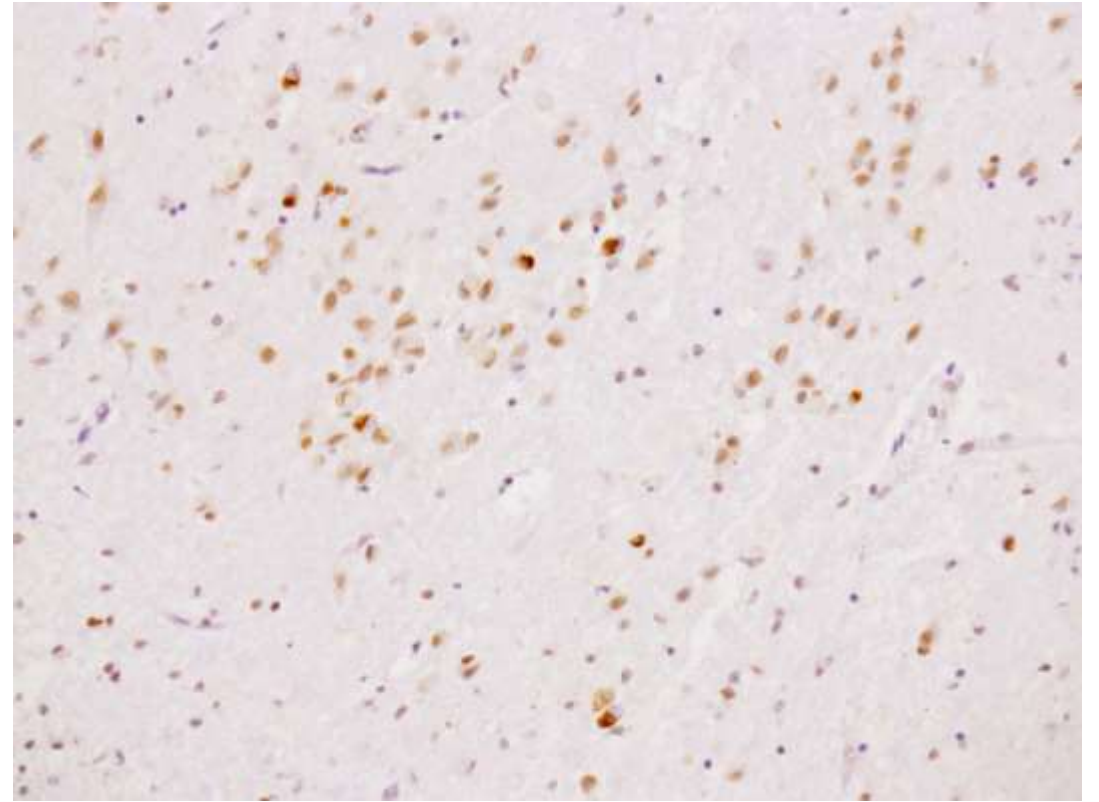
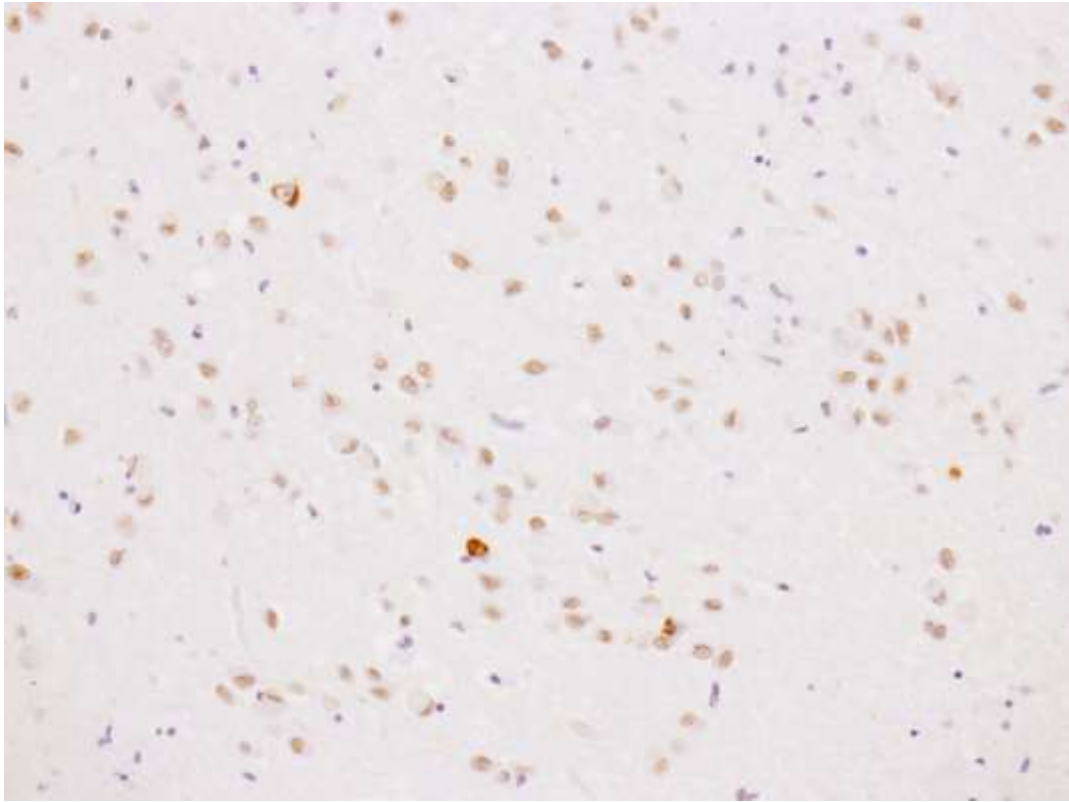
Alfa-sinucleína



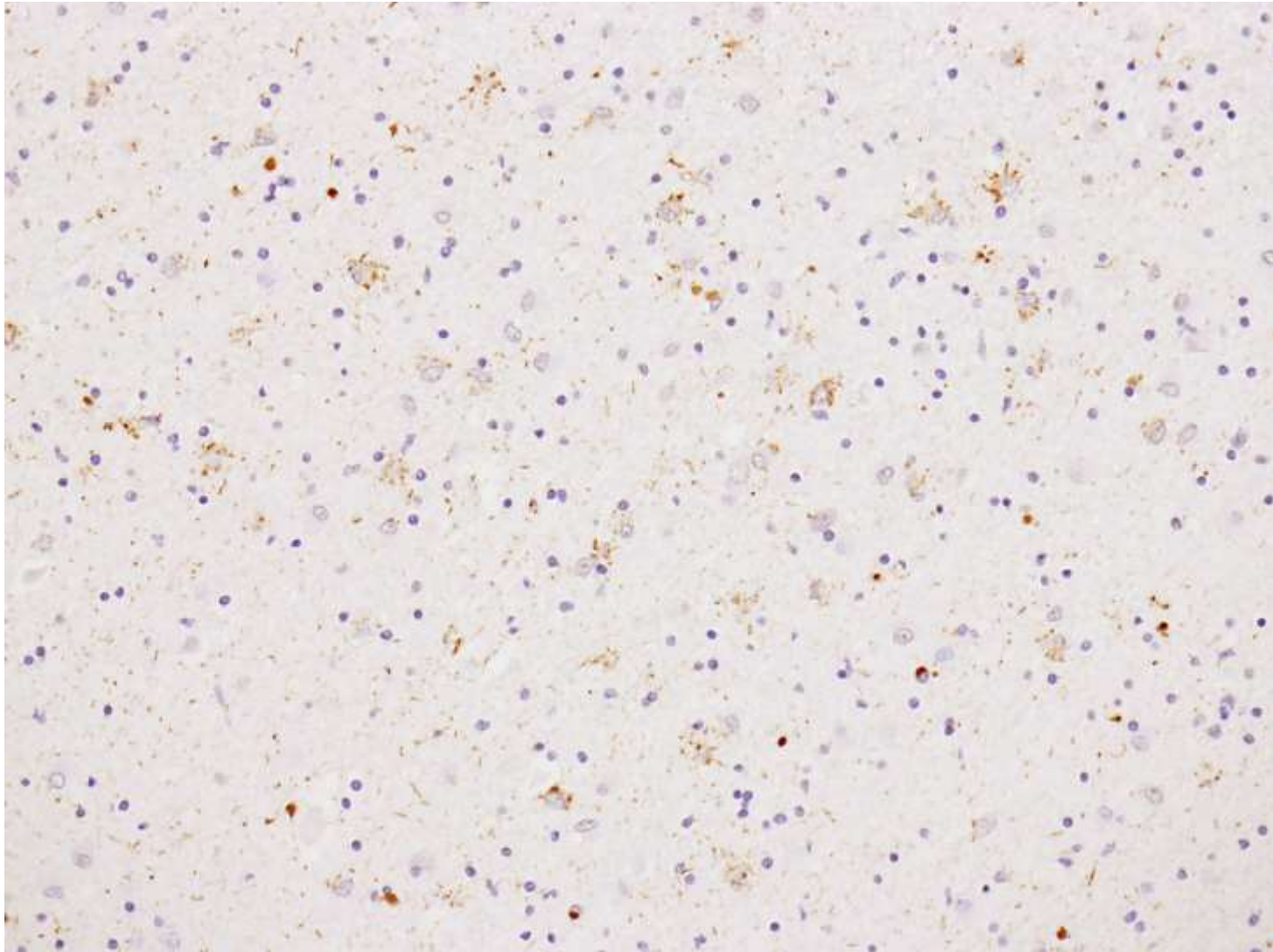
**ESCLEROSIS DEL
HIPOCAMPO. EN
ESTADIO 3.**

H/E
Cuerpo del
hipocampo

LATE (LIMBIC-PREDOMINANT AGE-RELATED TDP-43 ENCEPHALOPATHY)



Amígdala, TDP-43



ARTAG (AGEING-RELATED TAU ASTROGLIOPATHY)

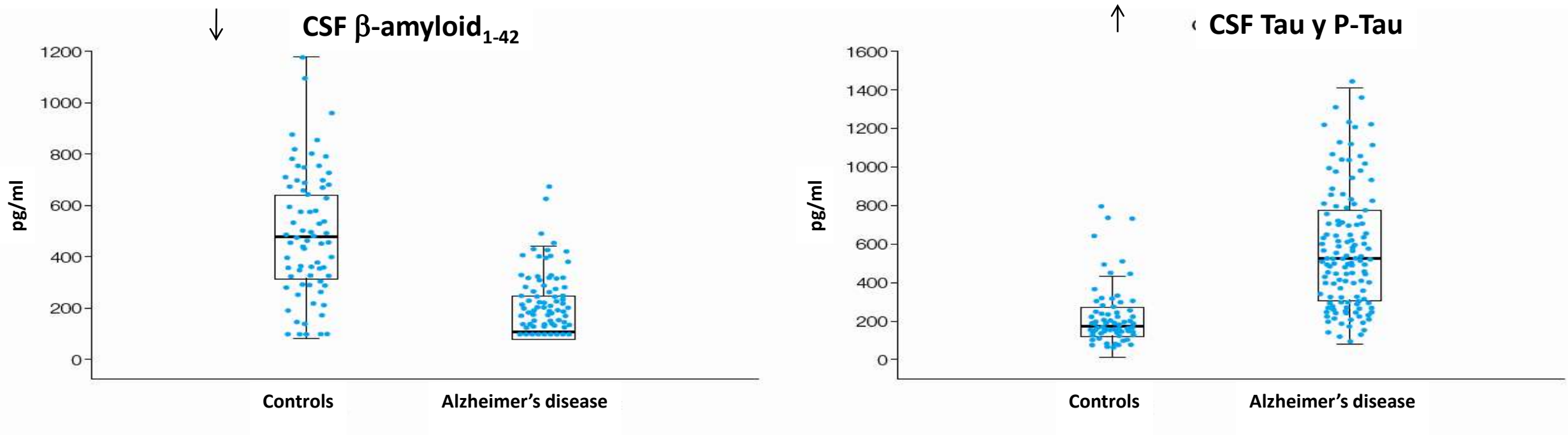
Fosfo-tau

S. blanca yuxtacortical temporal

Astrocytos tau+ granulares
característicos de ARTAG


Biomarcadores “core” de EA: LCR

- Existen **patrones específicos** de alteraciones químicas en la composición del **LCR** característicos de algunas demencias

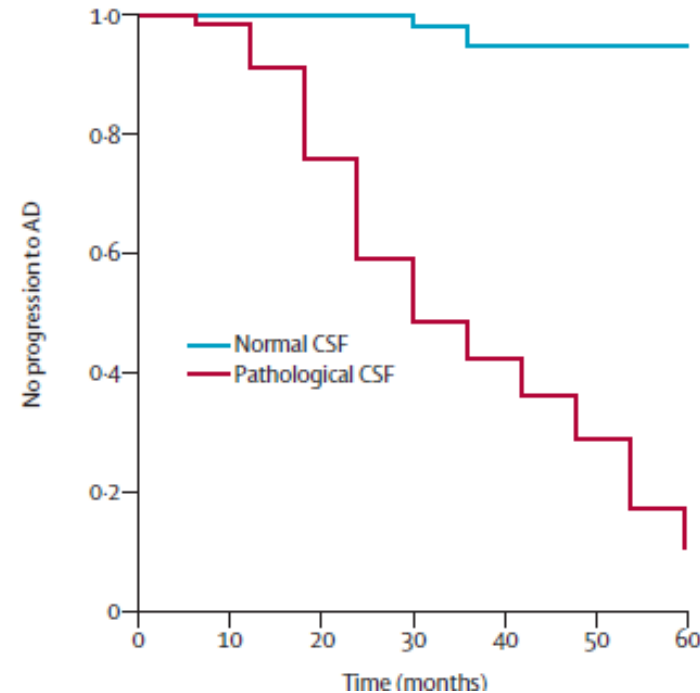


Sunderland JAMA 2003

Progresión a EA de pacientes con DCL

➔  Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study

Oskar Hansson, Henrik Zetterberg, Peder Buchhave, Elisabet Londos, Kaj Blennow, Lennart Minthon



DCL->EA
T-tau+A β 42
Sens 95%
Espec 83%

Marcadores de LCR

- Punción Lumbar: procedimiento seguro- 9% cefalea post puncion (**Duits et al 2015 Alzheimer's &Dementia**)
- Problemas de reproducibilidad: cada laboratorio debe generar sus puntos de corte (**Mattsson 2013 Alzheimer's &Dementia**)
- Problemas de interpretación (resultados contradictorios)
- Los biomarcadores de LCR se habían limitado a centros de referencia
- Nuevas **técnicas automatizadas** (Fujirebio, Elecsys...) viene a solventar este problema

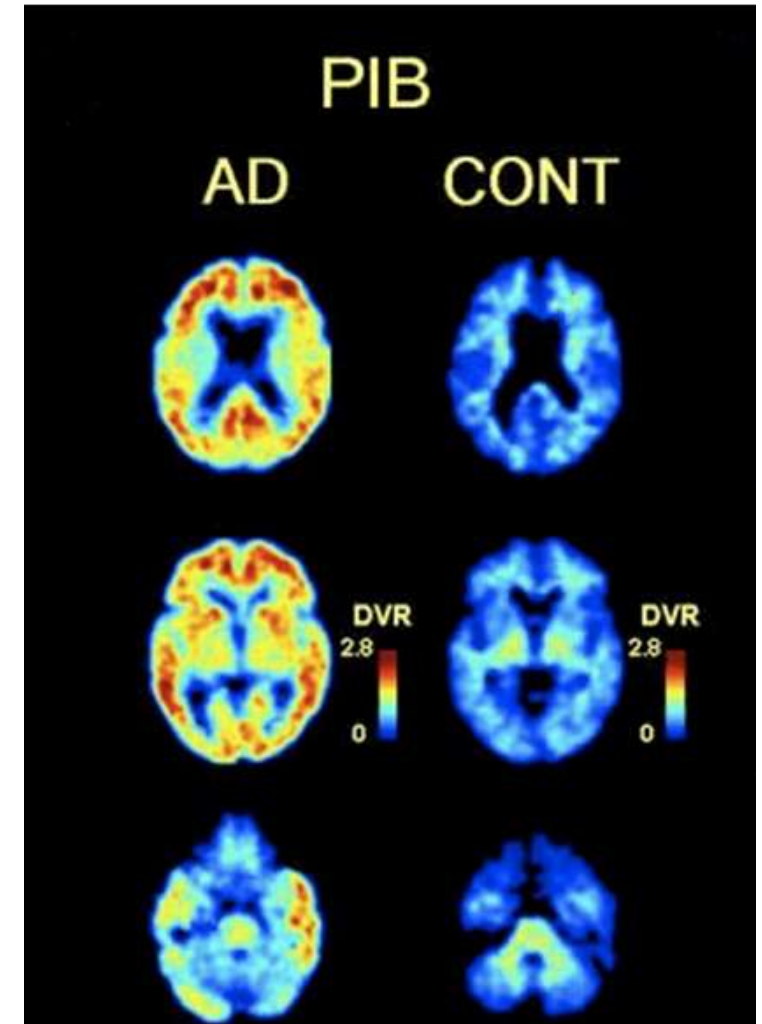
Biomarcadores “core” de EA: PET amiloide

ORIGINAL ARTICLES

Imaging Brain Amyloid in Alzheimer’s Disease with Pittsburgh Compound-B

William E. Klunk, MD, PhD,¹ Henry Engler, MD,² Agneta Nordberg, MD, PhD,^{3,4} Yanming Wang, PhD,⁵ Gunnar Blomqvist, PhD,² Daniel P. Holt, BS,⁵ Mats Bergström, PhD,² Irina Savitcheva, MD,² Guo-feng Huang, PhD,⁵ Sergio Estrada, PhD,² Birgitta Ausén, MSCI,⁴ Manik L. Debnath, MS,¹ Julien Barletta, BS,⁶ Julie C. Price, PhD,⁵ Johan Sandell, PhD,² Brian J. Lopresti, BS,⁵ Anders Wall, PhD,² Pernilla Koivisto, PhD,² Gunnar Antoni, PhD,² Chester A. Mathis, PhD,⁵ and Bengt Långström, PhD^{2,6}

This report describes the first human study of a novel amyloid-imaging positron emission tomography (PET) tracer, termed Pittsburgh Compound-B (PIB), in 16 patients with diagnosed mild AD and 9 controls. Compared with controls, AD patients typically showed marked retention of PIB in areas of association cortex known to contain large amounts of amyloid deposits in AD. In the AD patient group, PIB retention was increased most prominently in frontal cortex (1.94-fold, $p = 0.0001$). Large increases also were observed in parietal (1.71-fold, $p = 0.0002$), temporal (1.52-fold, $p = 0.002$), and occipital (1.54-fold, $p = 0.002$) cortex and the striatum (1.76-fold, $p = 0.0001$). PIB retention was equivalent in AD patients and controls in areas known to be relatively unaffected by amyloid deposition (such as subcortical white matter, pons, and cerebellum). Studies in three young (21 years) and six older healthy controls (69.5 ± 11 years) showed low PIB retention in cortical areas and no significant group differences between young and older controls. In cortical areas, PIB retention correlated inversely with cerebral glucose metabolism determined with ^{18}F -fluorodeoxyglucose. This relationship was most robust in the parietal cortex ($r = -0.72$; $p = 0.0001$). The results suggest that PET imaging with the novel tracer, PIB, can provide quantitative information on amyloid deposits in living subjects.



PET Amiloide: Correlaciones anatomopatológicas

- PiB tiene afinidad con:
 - **Placas de amiloide fibrilar** >> placas difusas
 - Amiloide en pared vascular
 - No Tau no alfa-sinucleína

(Ikonomovic 2012)

- PET Amiloide detecta Placas Neuríticas moderadas-severas (CERAD probable o definitivo EA)
 - 100% Esp
 - 92-96% Sens

(Clark 2011, 2012)

PET Amiloide en la clínica



- Trazadores disponibles para uso clínico
 - Florbetapir (Amyvid, Eli Lilly and Company) 2012 (solo ensayos)
 - Flutemetamol (Vizamyl, GE Healthcare) 2013
 - Florbetaben (*Neuraceq*, Piramal Imaging) 2014
- Contrapartida: coste económico

Biomarcadores “core” de EA: PET Tau

Published in final edited form as:

Neuron. 2016 March 2; 89(5): 971–982. doi:10.1016/j.neuron.2016.01.028.

PET Imaging of Tau Deposition in the Aging Human Brain

Michael Schöll^{#1,2}, Samuel N. Lockhart^{#1}, Daniel R. Schonhaut³, James P. O’Neil⁴, Mustafa Janabi⁴, Rik Ossenkoppele^{1,3,5}, Suzanne L. Baker⁴, Jacob W. Vogel¹, Jamie Faria⁴, Henry D. Swimmer¹, Gil D. Rabinovici^{1,3,4}, and William J. Jagust^{1,4}

¹ Helen Wills Neuroscience Institute, University of California Berkeley, Berkeley, California, 94720, USA ² MedTech West and the Department of Clinical Neuroscience and Rehabilitation, University of Gothenburg, 405 30 Gothenburg, Sweden ³ Department of Neurology, Memory and Aging Center, University of California San Francisco, San Francisco, California, 94158, USA ⁴ Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, California, 94720, USA ⁵ Department of Neurology & Alzheimer Center, Neuroscience Campus Amsterdam, VU University Medical Center, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

[#] These authors contributed equally to this work.

- Flortaucipir: Alta afinidad por las fibras insolubles de tau (ovillos y hebras intraneuronales)
- Acumulación según patrones anatómicos y temporales específicos





Alzheimer's & Dementia 14 (2018) 535-562

Alzheimer's
&
Dementia

2018 National Institute on Aging—Alzheimer's Association (NIA-AA) Research Framework
NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition
of Alzheimer's disease

Clifford R. Jack, Jr.,^{a,*}, David A. Bennett^b, Kaj Blennow^c, Maria C. Carrillo^d, Billy Dunn^e,
Samantha Budd Haeberlein^f, David M. Holtzman^g, William Jagust^h, Frank Jessenⁱ,
Jason Karlawish^j, Enchi Liu^k, Jose Luis Molinuevo^l, Thomas Montine^m, Creighton Phelpsⁿ,
Katherine P. Rankin^o, Christopher C. Rowe^p, Philip Scheltens^q, Eric Siemers^r,
Heather M. Snyder^d, Reisa Sperling^s

Definición puramente biológica de la enfermedad de Alzheimer-> Clasificación ATN

Clasificación A(amiloide)T(tau)N(neurodegeneración)

Biomarker profiles and categories

AT(N) profiles	Biomarker category	
A-T-(N)-	Normal AD biomarkers	
A+T-(N)-	Alzheimer's pathologic change	Alzheimer's continuum
A+T+(N>	Alzheimer's disease	
A+T+(N)+	Alzheimer's disease	
A+T-(N)+	Alzheimer's and concomitant suspected non Alzheimer's pathologic change	
A-T+(N)-	Non-AD pathologic change	
A-T-(N)+	Non-AD pathologic change	
A-T+(N)+	Non-AD pathologic change	

AT(N) biomarker grouping

A: Aggregated A β or associated pathologic state

CSF A β_{42} , or A β_{42} /A β_{40} ratio

Amyloid PET

T: Aggregated tau (neurofibrillary tangles) or associated pathologic state

CSF phosphorylated tau

Tau PET

(N): Neurodegeneration or neuronal injury

Anatomic MRI

FDG PET

CSF total tau

Futuro de los biomarcadores de EA

- **Prevención secundaria**

- Necesitamos que estos marcadores nos den información incluso en la fase **preclínica (no tiene síntomas pero ya presenta la enfermedad)**
- Necesitamos marcadores escalables (**baratos y sencillos logísticamente**) y que incluso se puedan aplicar a la población general desde Asistencia Primaria
- **Ni el PET ni los análisis de LCR son idóneos para su aplicación poblacional a gran escala (cribado)**

- **Futuro:**

- 1) **Marcadores digitales**
- 2) **Marcadores genéticos**
- 3) **Marcadores de plasma**

Papel clave de las cohorte poblacionales

PROYECTO VALLECAS DETECCIÓN PRECOZ DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

■ Vallecas 31.12.2020

El apoyo a la investigación en enfermedad de Alzheimer constituye una de las prioridades de trabajo de la Fundación Reina Sofía desde 2002, año en que impulsó la construcción del Centro Alzheimer Fundación Reina Sofía que, con un coste de 28 millones de euros, constituye un complejo asistencial en el que se aborda la enfermedad de Alzheimer desde tres ángulos: investigación, formación y servicio asistencial al enfermo. Como continuación de esta vocación la Fundación Reina Sofía ha destinado más de 6 millones de euros desde 2008 para proyectos de investigación sobre las enfermedades neurodegenerativas.

[VER GALERÍA DE IMÁGENES](#)

EL PROYECTO VALLECAS es una investigación longitudinal a diez años enfocada a dilucidar posibles marcadores tempranos de la enfermedad de Alzheimer (EA), buscando mediante un seguimiento evolutivo, la mejor combinación de parámetros clínicos y pruebas complementarias para predecir el riesgo de evolución de personas cognitivamente sanas a deterioro cognitivo leve y demencia, particularmente alzhéimer.



Ayúdanos a luchar contra el Alzheimer

Proyecto Vallecas

¿Quieres participar como voluntario en esta iniciativa?

¿Tienes entre 70 y 85 años y plenas facultades mentales?

Llama para informarte:
Tel.: 91 385 22 00

Centro Alzheimer Fundación Reina Sofía
Unidad de Investigación Proyecto Alzheimer Fundación CIBER
© Vallecas 31.12.2020

Centro Alzheimer Fundación Reina Sofía
Unidad de Investigación Proyecto Alzheimer Fundación CIBER
© Vallecas 31.12.2020



IMPACT

MEDICINA PREDICTIVA

EJE ESTRATÉGICO 1
MEDICINA PREDICTIVA

1) Marcadores Digitales

- Monitorización estado de salud
- Información recogida de forma telemática.

Por ejemplo:

- Teléfonos móviles que repiten periódicamente ciertos test y con ayuda de inteligencia artificial detectan primeros signos de deterioro cognitivo
- Altavoces inteligente que te pregunta cada mañana si recuerdas una serie de palabras
- Sensores que detectan sutiles cambios en el patrón sueño
- Alfombras y sensores ópticos que miden si tu marcha y equilibrio han cambiado ligeramente.

Cohorte Valdecilla para el estudio de la memoria y el envejecimiento cerebral

- Voluntarios mayores de 55 años libres de demencia
- Estudio exhaustivo y seguimiento anual
- Determinación de individuos en riesgo de demencia
- Participación en ensayos clínicos con fármacos que prevengan el deterioro cognitivo

La llamada de Valdecilla para el estudio de la memoria atrae a 400 voluntarios en 15 días



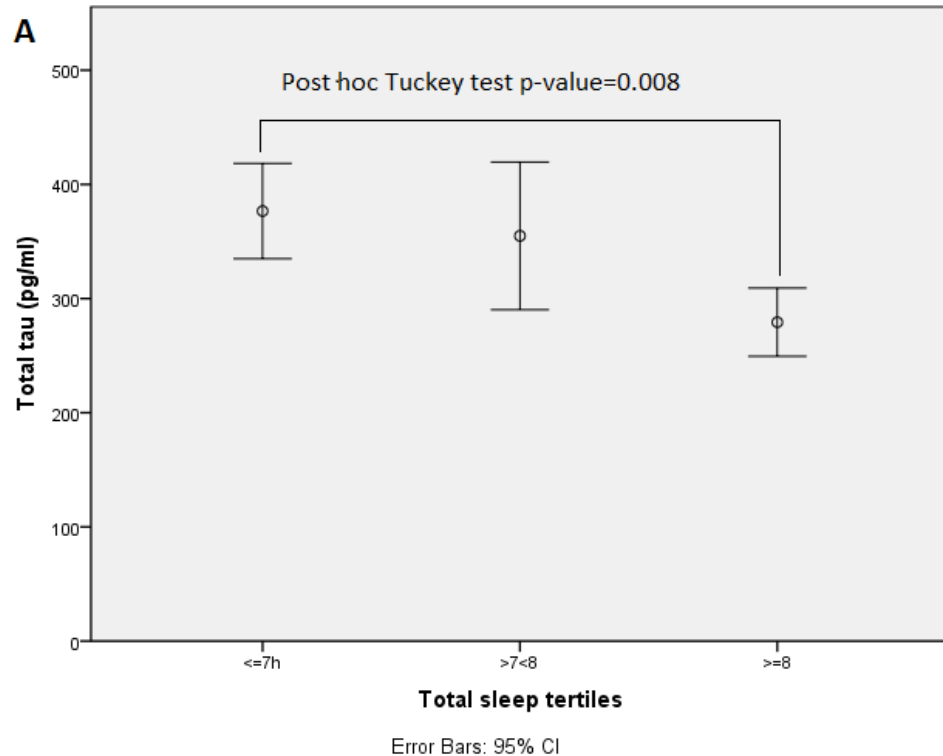
Marcadores Digitales:

Ejemplo: evaluación del sueño como biomarcador de Alzheimer

- Control del sueño mediante **actigrafía** durante **seis noches** con una pulsera comercial (Xiaomi Mi Band 2).
 - Parámetros registrados:
 - Promedio de sueño total
- Marcadores de Alzheimer en Líquido Cefalorraquídeo en individuos voluntarios >55 años

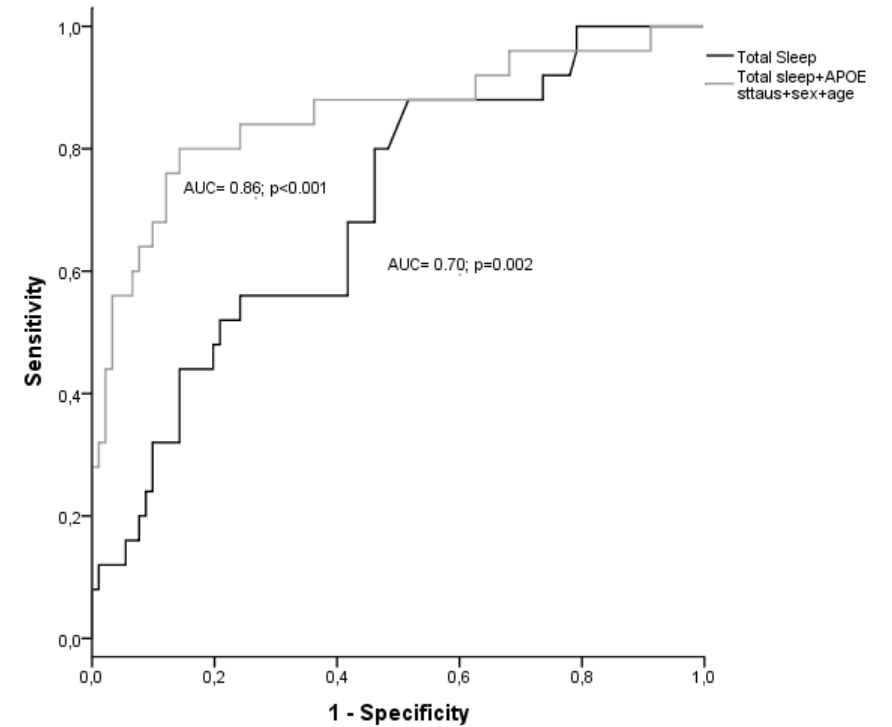


Horas de sueño predicen patología tau



<6h de sueño vs >7h

Significativamente más tau ($97,38 \pm 32,62$ pg/ml ; $p=0,008$)



Un modelo de diagnóstico, que incluye APOE $\epsilon 4$, el sexo, la edad y el sueño pronóstico para detectar los niveles de tau del LCR clínicamente significativos (AUC= 0,86)

2) Los factores de riesgo genéticos en el diagnóstico de la EA

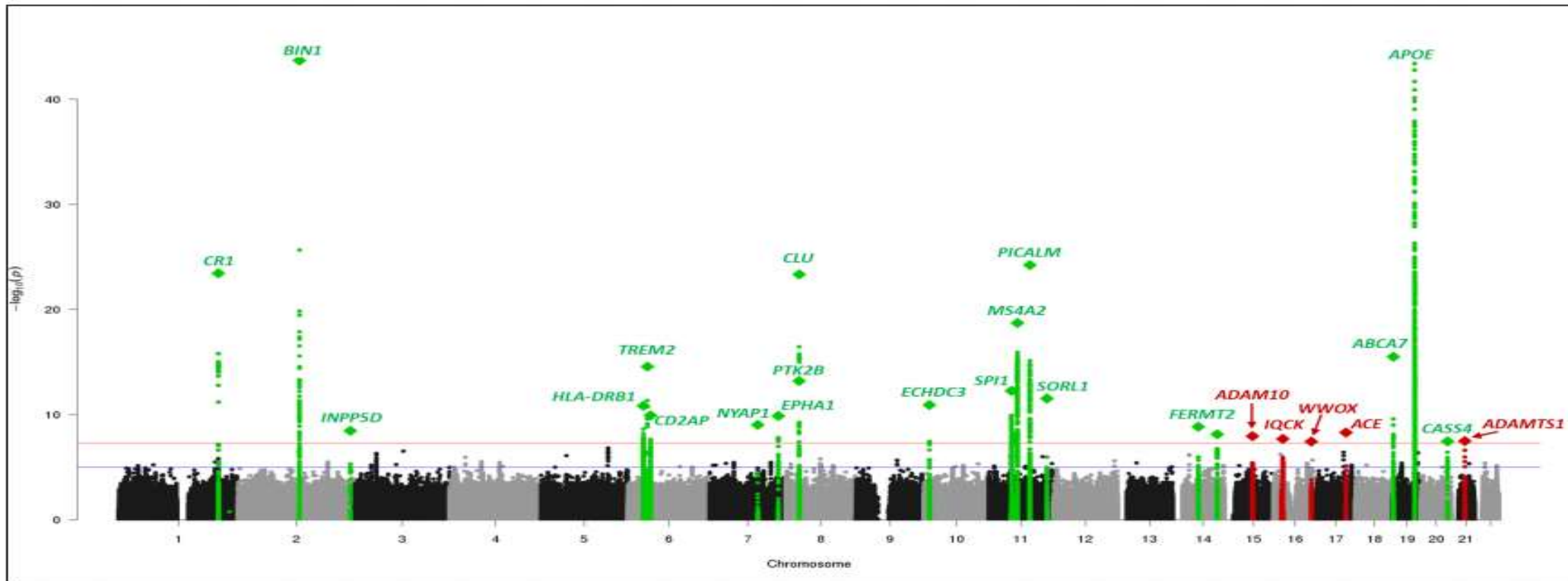
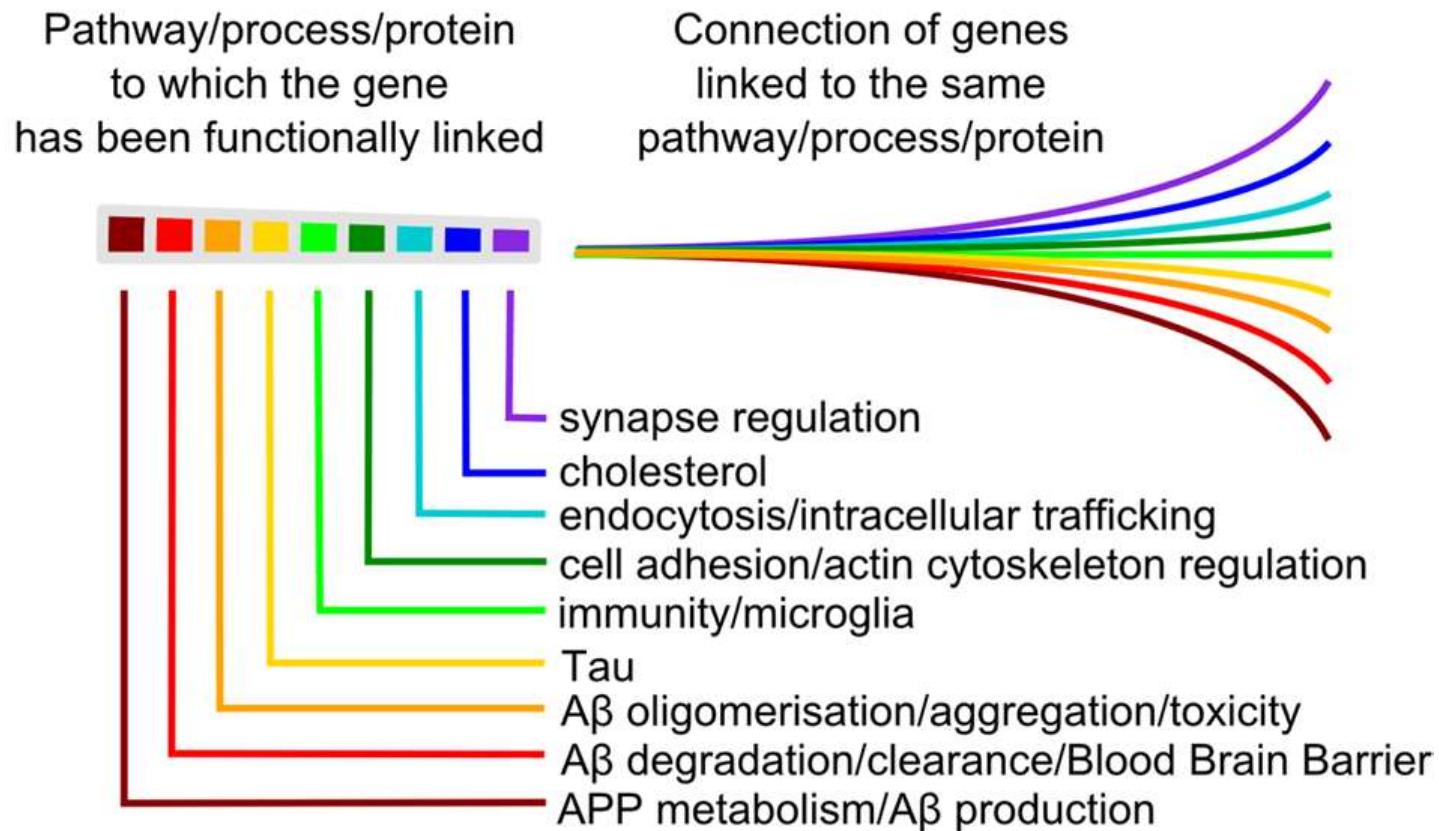


Figure 1. Manhattan plot of meta-analysis of Stage 1, 2 and 3 results for genome-wide association with Alzheimer's disease. The threshold for genome-wide significance ($P < 5 \times 10^{-8}$) is indicated by the red line, while the blue line represents the suggestive threshold ($P < 1 \times 10^{-5}$). Loci previously identified by the Lambert et al. 2013 IGAP GWAS are shown in green, and newly associated loci are shown in red. Loci are named for the closest gene to the sentinel variant for each locus. Diamonds represent variants with the smallest P values for each genome-wide locus.

La genética a multiplicado nuestro conocimiento de las causas de la enfermedad

- Papel clave de diversas rutas metabólicas:



Genética en el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer

J Neural Transm (2013) 120:807–812
DOI 10.1007/s00702-012-0920-x

NEUROLOGY AND PRECLINICAL NEUROLOGICAL STUDIES - ORIGINAL ARTICLE

Genetic risk score predicting accelerated progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease

E. Rodríguez-Rodríguez · P. Sánchez-Juan · J. L. Vázquez-Higuera ·
I. Mateo · A. Pozueta · J. Berciano · S. Cervantes · D. Alcolea · P. Martínez-Lage ·
J. Clarimón · A. Lleó · P. Pastor · O. Combarros

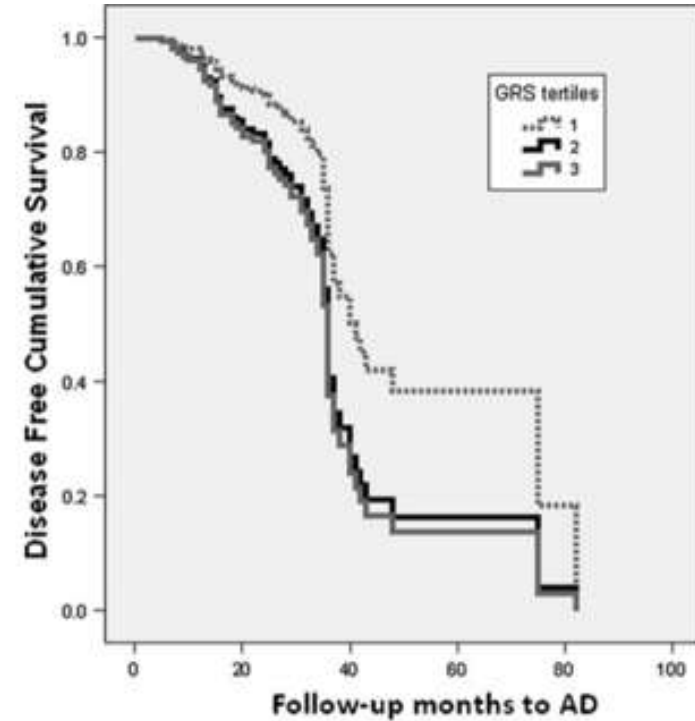


Fig. 1 Effect of genetic risk score (GRS) divided into tertiles on survival time (Cox survival analysis graph) to Alzheimer's disease (AD) in patients with mild cognitive impairment (MCI). The y axis shows the cumulative proportion of MCI-nonconverters to AD for any given follow-up period on the x axis

DEGESCO

(DEmentia GENetic Spanish COnsortium)



ARTICLE

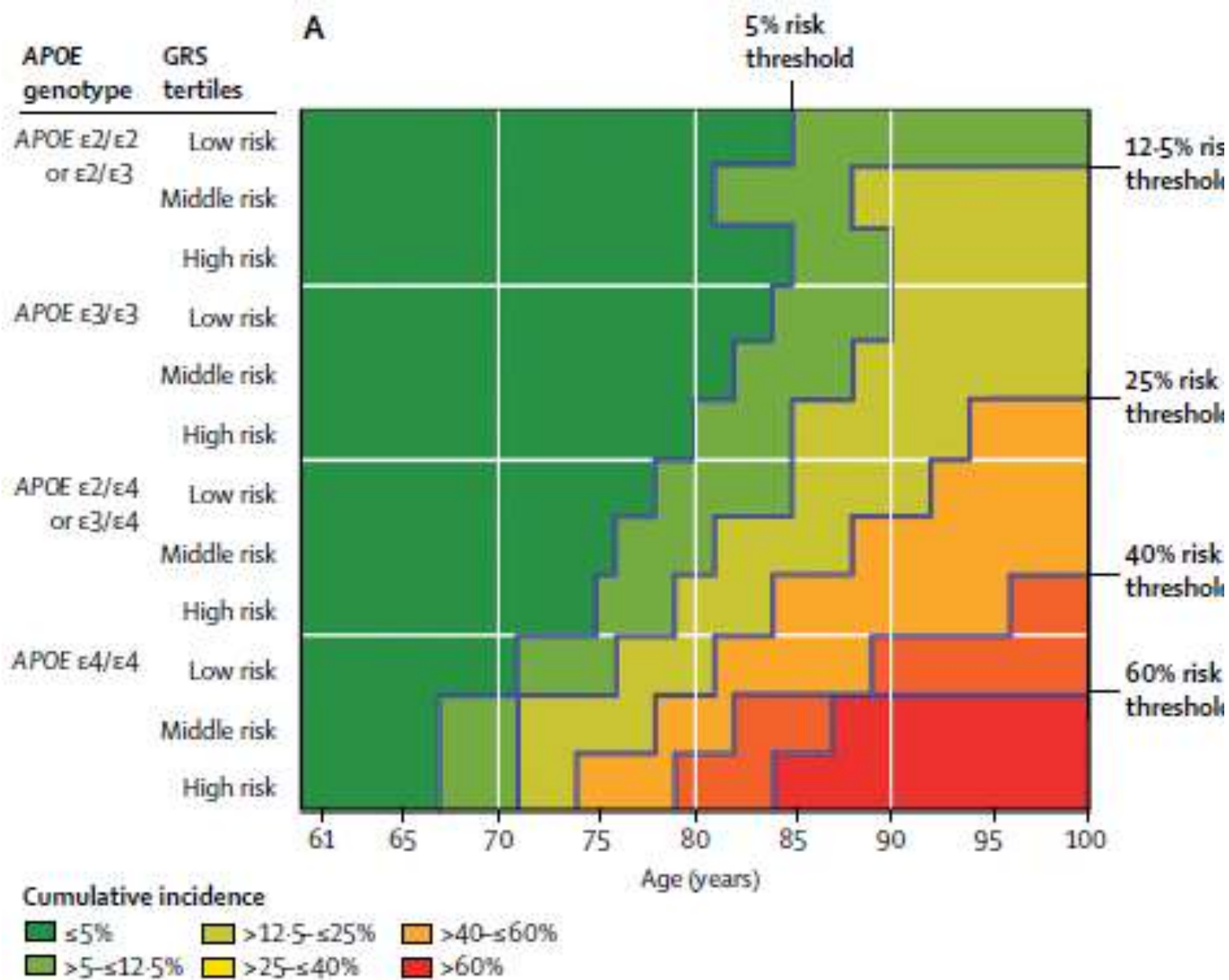


<https://doi.org/10.1038/s41467-021-22491-8>

OPEN

Common variants in Alzheimer's disease and risk stratification by polygenic risk scores

500K samples 226 institutions



La edad y los genes predicen el riesgo de Alzheimer

3) Biomarcadores en sangre 2021



nature
biotechnology

LETTERS

Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations

David M Rissin^{1,3}, Cheuk W Kan^{1,3}, Todd G Campbell¹, Stuart C Howes¹, David R Fournier¹, Linan Song¹, Tomasz Piech¹, Purvish P Patel¹, Lei Chang², Andrew J Rivnak⁴, Evan P Ferrell¹, Jeffrey D Randall¹, Gail K Provuncher¹, David R Walt² & David C Duffy¹

The ability to detect single protein molecules^{1,2} in blood could accelerate the discovery and use of more sensitive diagnostic biomarkers. To detect low-abundance proteins in blood, we captured them on microscopic beads decorated with specific antibodies (one target protein molecule per bead) and then labeled the immunocomplexes with an enzymatic reporter capable of generating a fluorescent product. After isolating the beads in 50-f reaction chambers designed to hold only a single bead, we used fluorescence imaging to detect single protein molecules. Our single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay (digital ELISA) approach detected as few as ~10–20 enzyme-labeled complexes in 100 μ l of sample ($\sim 10^{-19}$ M) and routinely allowed detection of clinically relevant proteins in serum at concentrations ($<10^{-18}$ M) much lower than conventional ELISA^{3–5}. Digital ELISA detected prostate-specific antigen (PSA) in sera from patients who have undergone radical prostatectomy at concentrations as low as 14 fg/ml (0.4 fM).

The clinical use of protein biomarkers to differentiate between healthy and disease states, and to monitor disease progression, requires the measurement of low concentrations of proteins in complex samples. Current immunoassays typically measure proteins at concentrations above 10^{-11} M⁶. The serum concentrations of the majority of proteins important in cancer⁷, neurological disorders^{8,9}, and the early stages of infection¹⁰, however, are thought to range from 10^{-12} to 10^{-15} M. For instance, a 1-mm³ tumor composed of a million cells that each secrete 5,000 proteins into 5 liters of circulating blood translates to a concentration of $\sim 2 \times 10^{-13}$ M (or 2 fM). Moreover, serum from individuals recently infected with HIV contains 10–5,000 viruses per ml, resulting in estimated concentrations of the p24 capsid antigen ranging from 30×10^{-18} M (50 aM) to 15×10^{-19} M (15 fM)¹¹. Attempts to develop methods capable of measuring these concentrations of proteins have focused on the replication of nucleic acid labels on proteins^{12,13}, or on measuring the bulk, ensemble properties of labeled protein molecules^{7–16}. The work of Mirkin *et al.*^{13,17} and others¹⁸ using labels based on gold nanoparticles and DNA barcodes has pushed the detection of proteins into the low femtomolar range; a recent report using this technology demonstrated the detection of 10 fM of PSA in serum¹⁷. Nonetheless, the sensitivities achieved by methods for detecting proteins still lag behind those for nucleic acids, such as PCR, limiting the number of gene products that have been detected in blood^{19,20}. The isolation and detection of single protein molecules provides a promising approach for measuring extremely low concentrations of proteins²¹. For example, Todd *et al.*²² have developed flow-based methods for serially detecting single fluorescently labeled detection antibodies that have been released from immunocomplexes formed on solid substrates. Here, we report an approach for detecting thousands of single protein molecules simultaneously using the same reagents as the gold standard for detecting proteins, namely, the ELISA. This method has been used to detect proteins in serum at subfemtomolar concentrations.

Our approach makes use of arrays of femtoliter-sized reaction chambers (Fig. 1)—which we term single-molecule arrays (SIMoAs)—that can isolate and detect single enzyme molecules^{23–25}. This approach builds from the work of Walt *et al.*^{26–28}, who used these arrays to study the kinetics²¹ and inhibition²⁹ of single enzymes. Our objective was to exploit the ability of SIMoAs to trap and detect single enzymes to detect single enzyme-labeled proteins. In the first step of this single-molecule immunoassay (Fig. 1a) a sandwich antibody complex is formed on microscopic beads (2.7 μ m diameter), and the bound complexes are labeled with an enzyme, as in a conventional bead-based ELISA. When assaying samples containing extremely low concentrations of protein, the ratio of protein molecules (and the resulting enzyme-labeled complex) to beads is small (typically $<1:1$) and, as such, the percentage of beads that contain a labeled immunocomplex follows a Poisson distribution. At low concentrations of protein, the Poisson distribution indicates that beads carry either a single immunocomplex or none. For example, if 50 aM of a protein in 0.1 ml (5,000 molecules) is captured and labeled on 200,000 beads, then 1.5% of the beads will carry one protein molecule and 98.5% will not carry any protein molecules (Fig. 1b)³⁰. It is not possible to detect these low numbers of enzyme labels using standard detection technology (for example, a plate reader), because the fluorophores generated by each enzyme diffuse into a large assay volume (typically 0.1–1 ml), and it takes hundreds of thousands of enzyme labels to generate a

¹Quanta Biosystems, Cambridge, Massachusetts, USA. ²Department of Chemistry, Tufts University, Medford, Massachusetts, USA. ³These authors contributed equally to this work. Correspondence should be addressed to D.C.D. (dcd@quanta.com).
Received 1 February; accepted 29 April; published online XX XXXX 2010; doi:10.1038/nbt1000

NATURE BIOTECHNOLOGY | ADVANCE ONLINE PUBLICATION | 1

Marcadores de sangre: Single MOlecule Analysis

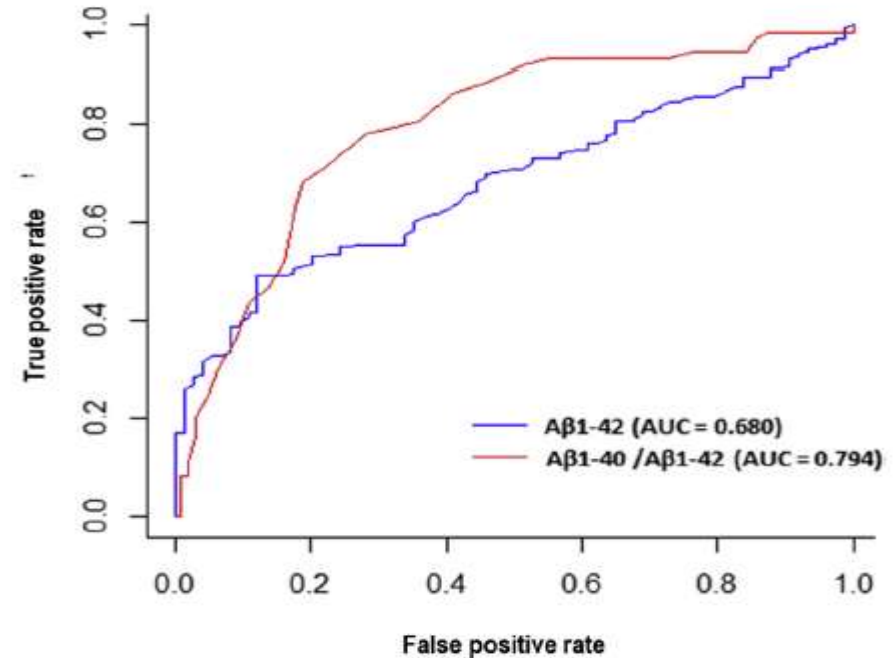


Fig. 1. ROC of plasma Aβ₁₋₄₂ levels and of the plasma Aβ₁₋₄₀/Aβ₁₋₄₂ ratio in predicting the individual Aβ-PET status. Baseline diagnostic performance test ROCs show for Aβ₁₋₄₂ at the best cutoff point an AUC 68.1% with a sensitivity of 52.3% and a specificity of 79.7% (balanced accuracy of 66%), whereas the ratio Aβ₁₋₄₀/Aβ₁₋₄₂ shows an AUC of 0.794 with a sensitivity of 78.1% and a specificity of 74.9% (balanced accuracy of 76.5%), at the best cutoff point (17.82). The DeLong's test discloses a statistically significant difference between the two ROCs ($P = .006$). Abbreviations: AUC, area under the curve; Aβ₁₋₄₀, plasma concentrations of 40 amino acid-long amyloid-β; Aβ₁₋₄₂, plasma concentrations of 42 amino acid-long Aβ; Aβ-PET, amyloid-β positron emission tomography; ROC, receiver operating characteristic curve.

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

Shorena Janelidze^{1,2,3,4}, Niklas Mattsson^{1,2,3,12}, Sebastian Palmqvist^{1,2}, Ruben Smith^{1,2}, Thomas G. Beach⁴, Geidy E. Serrano⁴, Xiyun Chai⁵, Nicholas K. Proctor⁵, Udo Eichenlaub⁵, Henrik Zetterberg^{7,8,9,10}, Kaj Blennow^{7,8}, Eric M. Reiman¹¹, Erik Stomrud¹², Jeffrey L. Dage⁵ and Oskar Hansson^{1,2*}

Plasma p-tau231: a new biomarker for incipient Alzheimer's disease pathology

Nicholas J. Ashton^{1,2,3,4}, Tharick A. Pascoal^{5,6}, Thomas K. Karikari¹, Andréa L. Benedet^{1,5}, Juan Lantero-Rodriguez¹, Gunnar Brinkmalm¹, Anniina Snellman¹, Michael Schöll^{1,2,10}, Claire Troake Abdul Hye^{3,4}, Serge Gauthier⁷, Eugene Vanmechelen⁸, Henrik Zetterberg^{1,9,10,11}, Pedro Rosa-Neto^{1,12} and Kaj Blennow^{1,9}

Received: 3 December 2020 / Revised: 12 January 2021 / Accepted: 22 January 2021 / Published online: 14 February 2021
© The Author(s) 2021

Acta Neuropathologica (2021) 141:709–724
<https://doi.org/10.1007/s00401-021-02275-6>

Discriminative Accuracy of Plasma Phospho-tau217 for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders

Sebastian Palmqvist, MD, PhD^{1,2}, Shorena Janelidze, PhD¹, Yakeel T. Quiroz, PhD^{3,4}, Henrik Zetterberg, MD, PhD^{5,6,7,8}, Francisco Lopera, MD⁴, Erik Stomrud, MD, PhD^{1,2}, Yi Su, PhD⁹, Yinghua Chen, MSc⁹, Geidy E. Serrano, PhD¹⁰, Antoine Leuzy, PhD¹, Niklas Mattsson-Carligen, MD, PhD^{11,12}, Olof Strandberg, PhD¹, Ruben Smith, MD, PhD^{1,12}, Andres Villegas, MD⁴, Diego Sepulveda-Falla, MD^{4,13}, Xiyun Chai, MD¹⁴, Nicholas K. Proctor, BS¹⁴, Thomas G. Beach, MD, PhD¹⁰, Kaj Blennow, MD, PhD^{5,6}, Jeffrey L. Dage, PhD¹⁴, Eric M. Reiman, MD^{9,15,16,17}, Oskar Hansson, MD, PhD¹²

update

JAMA Neurology | Original Investigation

Differences Between Plasma and Cerebrospinal Fluid Glial Fibrillary Acidic Protein Levels Across the Alzheimer Disease Continuum

Andréa L. Benedet, PhD; Marta Mià-Alomà, MSc; Agathe Vrillon, MD, MSc; Nicholas J. Ashton, PhD; Tharick A. Pascoal, MD, PhD; Firoza Lussier, BSc; Thomas K. Karikari, PhD; Claire Hourregue, MD; Emmanuel Cognat, MD, PhD; Julien Dumurgier, MD, PhD; Jenna Stevenson, BSc; Nesrine Rahmouni, BSc; Vanessa Pallen, BSc; Nina M. Poltronetti, MSc; Gemma Salvadó, PhD; Mahnaz Shekari, MSc; Gregory Operto, PhD; Juan Domingo Gisbert, PhD; Carolina Minguillon, PhD; Karine Fauria, PhD; Gwendlyn Kollmorgen, PhD; Ivonne Suridjan, PhD; Eduardo R. Zimmer, PhD; Henrik Zetterberg, MD, PhD; José Luis Molinuevo, MD, PhD; Claire Paquet, MD, PhD; Pedro Rosa-Neto, MD, PhD; Kaj Blennow, MD, PhD; Marc Suárez-Calvet, MD, PhD; for the Translational Biomarkers in Aging and Dementia (TRIAD) study, Alzheimer's and Families (ALFA) study, and BioCogBank Paris Lariboisière cohort

Cuestiones pendientes marcadores plasma

- Mejores biomarcadores/combinación de biomarcadores para predecir el riesgo de Alzheimer y otras causas de demencia
- Trayectoria de estos biomarcadores en población normal y en enfermos
- Influencia de edad, genética, duración de la enfermedad...
- Cómo influye la presencia de varias enfermedades neurodegenerativas/vasculares en el cerebro en el rendimiento de los biomarcadores.

Cohortes longitudinales FCIEN

- Proyecto Vallecas:

- RM
- NPS
- Biomarcadores de plasma



- Proyecto Residencia Reina Sofía

- RM
- NPS
- Biomarcadores de plasma
- Cerebro

	Total
N de casos	165
Protocolo CAV	147 (89%)
T en CAFRS (meses)	53,1 (38,7)
Edad inicio	75,5 (7,4)
Edad exitus	87,4 (6,6)
T supervivencia	11,5 (4,9)

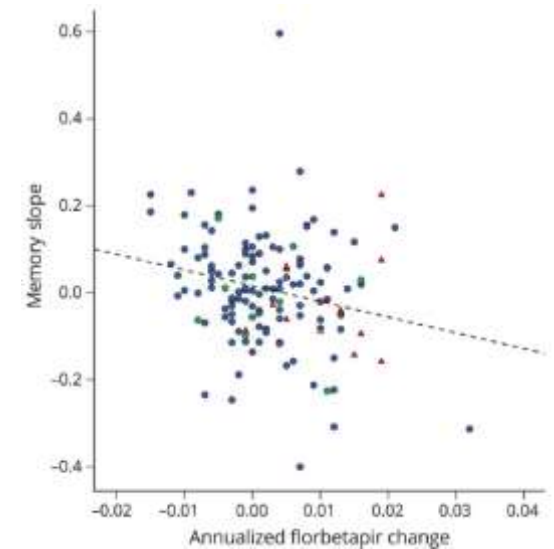
Futuro del manejo de la
enfermedad de Alzheimer:
Prevención secundaria

Cribado poblacional de individuos con acumulo de amiloide en su cerebro.

- Según el conocimiento actual el **depósito de amiloide** en el cerebro sería el primer evento patogénico.
- A día de hoy la mayoría de los **sistemas sanitarios no lo recomienda** basado en:
 1. No clara la trayectoria de los individuos asintomáticos con Amiloide positivo (A+)
 2. Los test disponibles son muy caros (PET amiloide) o poco fiables/invasivos (LCR)
 3. No existe tratamiento que modifique la enfermedad

1. No clara la trayectoria de los individuos asintomáticos Amiloide positivo (A+)

- En buena medida desconocemos la evolución de estos individuos.
- Cada vez más información:
 - Cohortes prospectivas (ADNI, Valdecilla, Vallecas)



Landau 2018

Efecto de la IQ en individuos con Amiloide +

PREQX

POSTQX

A- A+

A-

A+
LMT-WMSIII: 8.4 diferencia media (p 0.004)
CERAD Auditory Verbal Recall: 2.9 diferencia media (p 0.023)

2. Los test disponibles son muy caros (PET amiloide) o poco fiables/invasivos (LCR)

A día de hoy:

- Si bien PET sigue siendo un prueba cara, hoy día su uso clínico se está extendiendo.
- Los biomarcadores de LCR se han automatizado y estandarizado y son reproducibles.

- **Los biomarcadores de sangre son ya una realidad**

- **Otros marcadores “escalables”:**
 - “Marcadores digitales” (Otros: Por ejemplo estudios de sueño)**
 - Análisis genéticos**

3. No existe tratamiento que modifique la enfermedad

- FINGER (Miia Kivipelto)-> intervenciones multidominio
- **Necesitamos:**
 - Fármacos/Intervenciones que cambien el curso de la enfermedad
- Cada vez más cerca-> Hay que trabajar con la hipótesis de que esto será una realidad en un corto plazo

Propuesta de cribado de amiloidosis cerebral

1) Marcadores de plasma

Población de riesgo (Familiares, APOE4...)

2) Programas de Seguimiento

Determinación de perfil genético de riesgo

“Digital markers” secuenciales

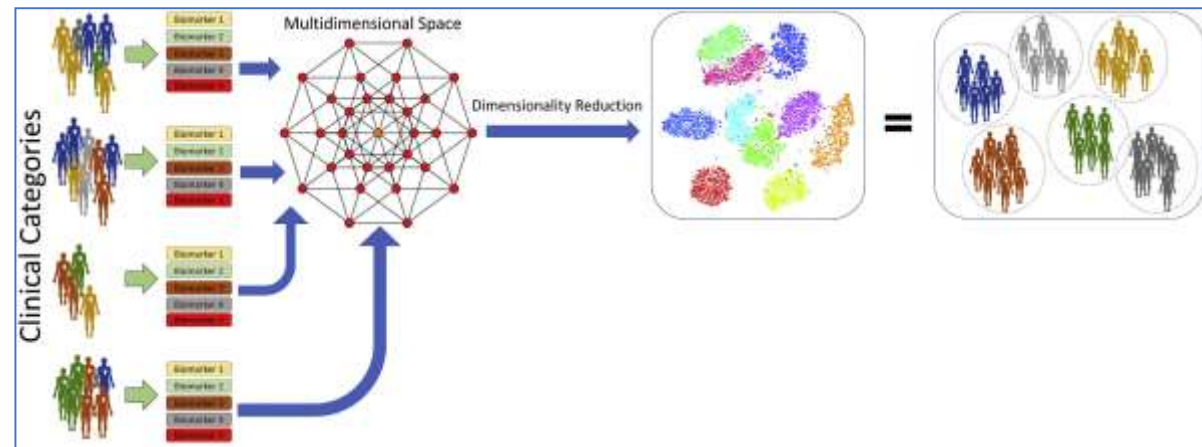
Marcadores en sangre secuenciales

-> RESULTADO NUMÉRICO: **Puntuación de riesgo de Alzheimer**

3) Confirmación con marcadores de LCR o PET

Prevención secundaria. Ejemplo de las estatinas como prevención infarto

- ... pero la EA es una enfermedad muy compleja en la que participan múltiples proteínas y vías metabólicas (tau, amiloide, TDP43, inflamación, homeostasis de proteínas...)
- Necesario por tanto:
 - **Diagnóstico de precisión**-> genética, marcadores multimodales (amiloide, tau, inflamación...) +IA



- **Múltiples estrategias farmacológicas y NO farmacológicas**

Fundación CIEN

Centro Alzheimer Fundación Reina Sofía

CENTRO ALZHEIMER
FUNDACIÓN REINA SOFÍA

