

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 942 628**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/15 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/72 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.11.2017** **PCT/JP2017/039734**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.05.2018** **WO18084242**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2017** **E 17867676 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2023** **EP 3537155**

54 Título: **Método para determinar el riesgo de enfermedad de Alzheimer**

30 Prioridad:

02.11.2016 JP 2016215102

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.06.2023

73 Titular/es:

KYUSHU UNIVERSITY, NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION (50.0%)
744, Motooka, Nishi-ku
Fukuoka-shi Fukuoka 819-0395, JP y
HISAYAMA RESEARCH INSTITUTE FOR LIFESTYLE DISEASES (50.0%)

72 Inventor/es:

KIYOHARA, YUTAKA;
NINOMIYA, TOSHIHARU;
MUKAI, NAKO;
OHARA, TOMOYUKI y
KOGA, MASAFUMI

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 942 628 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para determinar el riesgo de enfermedad de Alzheimer

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un método para medir glicoproteína y hemoglobina A1c en una muestra biológica, y determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer de manera exacta, simple, rápida y barata a partir de la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c.

10 La presente invención se refiere también al uso de un dispositivo y un kit para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer.

15 **Técnica anterior**

El número de pacientes con demencia en Japón ha aumentado rápidamente en los últimos años a medida que la población envejece. Hay preocupación de que el aumento en pacientes ancianos con demencia conduzca a aumentos adicionales en los gastos de cuidados médicos y de enfermería, y pérdidas socioeconómicas significativas. No se ha establecido ninguna terapia fundamental para tratar la demencia, y las medidas preventivas frente a la demencia son importantes para prolongar los periodos de vida sanos al tiempo que se controlan los gastos de seguridad social.

25 La demencia es definida por la Sociedad Japonesa de Neurología como "Un estado en el que la función cognitiva que ha alcanzado la normalidad ha disminuido de manera continua debido a un daño cerebral adquirido y se ha convertido en un obstáculo para la vida cotidiana y la vida social". La demencia es una enfermedad fundamentalmente diferente del declive cognitivo general porque se declara en base a la existencia de daño cerebral y el deterioro de la vida cotidiana y la vida social.

30 Los criterios de diagnóstico para la demencia que se usan ampliamente a nivel internacional incluyen la 10ª Revisión de la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), y el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales de la Asociación Psiquiátrica Americana, 3ª Edición, Edición revisada (DSM-III-R) y 4ª Edición, Revisión del texto (DSM-IV-TR) (documento no de patente 1, págs. 1-2), pero el diagnóstico real es extremadamente complicado. Como ejemplo, los criterios de diagnóstico para la demencia según el DSM-III-R se resumen a continuación (documento no de patente 1, pág. 2).

35 A. Memoria (a corto plazo, a largo plazo) deteriorada

B. Al menos uno de los siguientes

40 1) Pensamiento abstracto deteriorado

2) Juicio deteriorado

45 3) Función de la corteza superior deteriorada (afasia: deterioro del lenguaje; apraxia: comportamiento motor deteriorado aunque la función motora no esté deteriorada; agnosia: incapacidad para reconocer o identificar objetos aunque la función sensorial no esté deteriorada; apraxia constructiva: incapacidad para percibir claramente detalles, entender relaciones entre las partes constituyentes de un objeto y realizar una síntesis correcta)

50 4) Cambios de personalidad

C. El deterioro de A y B interfiere con el trabajo, las actividades sociales o las relaciones humanas

D. No diagnosticado cuando la conciencia está deteriorada (eliminar delirio)

55 E. La presencia de enfermedad cerebral orgánica puede deducirse a partir del historial médico y el examen.

A partir de los criterios de diagnóstico anteriores para la demencia, puede verse que la patología de la demencia abarca una variedad de enfermedades, no limitadas a enfermedades del sistema nervioso central. En la CIE-10, la demencia se clasifica bajo el encabezado de "Trastornos mentales orgánicos, incluidos los sintomáticos", e incluye cuatro categorías: enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia en otras enfermedades y demencia no específica. Sin embargo, en el DSM-IV-TR la demencia se encuentra bajo el encabezado de "Delirio, demencia, trastornos amnésicos y otros trastornos cognitivos", e incluye seis categorías, cada una de las cuales está subcategorizada adicionalmente. Muchas formas de demencia se han añadido también bajo la clasificación de "Demencia debida a otros trastornos físicos generales" (documento no de patente 1, págs. 4-7), incluyendo demencia frontotemporal y demencia de cuerpos de Lewy, que han sido notables en términos de número de pacientes en los últimos años. Es decir, cuando se habla de demencia, el diagnóstico por tipo de enfermedad es extremadamente

importante porque la demencia es realmente un grupo de muchas enfermedades con una variedad de causas, y los síntomas y métodos de tratamiento difieren según el tipo de enfermedad. Además, dado que la demencia es difícil de curar una vez que se ha producido, es importante entender los riesgos y ejercer prevención en una fase temprana. De las diferentes formas de demencia, hay una necesidad urgente de contramedidas frente a la enfermedad de Alzheimer y la demencia vascular debido al gran número de personas que las sufren.

Se recomiendan el DSM-IV y los criterios de diagnóstico del grupo de investigación del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares y la Asociación de la Enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados (NINCDS-ADRDA) para el diagnóstico clínico de la enfermedad de Alzheimer (documento no de patente 1, pág. 225). Los factores más importantes a la hora de diagnosticar la enfermedad de Alzheimer son el "historial médico" y "síntomatología" (síntomas actuales), y en los ejemplos de esta descripción, se usaron los criterios de diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer del NINCDS-ADRDA tal como se describe a continuación (documento no de patente 2, documento no de patente 1, pág. 219).

Los criterios de diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer específicos del NINCDS-ADRDA son los siguientes.

1) Criterios de diagnóstico para el examen clínico (enfermedad de Alzheimer probable)

- La demencia se identifica en pruebas clínicas y en pruebas mediante el miniexamen del estado mental (MMSE), escala de demencia de Blessed o una prueba similar, y se confirma mediante pruebas neuropsicológicas.
- Déficits en dos o más áreas cognitivas
- Declive progresivo en la memoria y otras funciones cognitivas
- Ningún deterioro de la consciencia
- Inicio a la edad de 40 a 90, lo más común tras la edad de 65
- Ningún deterioro de la memoria ni cognitivo progresivo atribuible a cualquier otra enfermedad sistémica o enfermedad cerebral.

2) Un diagnóstico de 1) enfermedad de Alzheimer probable está respaldado por lo siguiente:

- Deterioro progresivo en funciones cognitivas específicas: deterioro del lenguaje (afasia), deterioro del comportamiento (apraxia), reconocimiento deteriorado (agnosia) y deterioro de otras actividades de la vida diaria (AVD), cambios en patrones de comportamiento, historial familiar de deterioro similar. En particular, la enfermedad de Alzheimer probable está respaldada fuertemente cuando hay confirmación neuropatológica.
- Los hallazgos de laboratorio clínicos están confirmados (líquido ceforraquídeo normal en un examen normal, ondas cerebrales normales o presentan cambios no específicos tales como actividad de ondas lentas aumentada, atrofia cerebral progresiva demostrada mediante pruebas a lo largo del tiempo usando diagnóstico por imágenes tal como TC).

3) En algunos casos, otras características clínicas consistentes con un diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable pueden conformarse tras haberse excluido causas de demencia distintas de enfermedad de Alzheimer.

Estas "otras características clínicas" son las siguientes. El progreso puede estancarse durante el curso de la enfermedad, que puede ir acompañada de síntomas tales como depresión, insomnio, incontinencia, delirios, ilusiones, alucinaciones, agitación psicomotora violenta, comportamiento sexual anómalo y pérdida de peso. Especialmente en casos avanzados, se han visto hallazgos neurológicos anómalos tales como tono muscular aumentado, mioclonía y alteración de la marcha. Pueden producirse convulsiones en casos avanzados. La TC y otros resultados de imagen son normales para la edad del paciente.

4) Casos en los que el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable es dudoso, o características se confirman que no son característica de enfermedad de Alzheimer probable

Se ven ataques de accidente cerebrovascular repentinos, síntomas neurológicos locales, hemiplejía, pérdida sensorial, pérdida de campo visual y disinerjia desde la fase temprana de la enfermedad. Crisis convulsivas y alteración de la marcha se confirman en el momento de aparición o en las fases muy tempranas de la enfermedad.

Diagnóstico clínico de sospecha clínica (enfermedad de Alzheimer posible)

Los síntomas de demencia están presentes y no son atribuibles a ninguna otra enfermedad neurológica, psicológico o sistémica, pero la aparición, la presentación y el progreso son atípicos. Hay otra enfermedad sistémica o trastorno cerebral que podría ser la causa, pero no se cree que sea la causa de la demencia actual.

- 5 En un único caso de demencia grave que progresa gradualmente, no hay ninguna otra causa obvia (con fines de investigación).

Los criterios para un diagnóstico definitivo de enfermedad de Alzheimer se basan en los criterios de diagnóstico clínicos para enfermedad de Alzheimer probable junto con evidencia neuropatológica de una biopsia o autopsia.

- 10 Cuando se clasifican casos de enfermedad de Alzheimer con fines de investigación, se distinguen subtipos tales como los siguientes: historial familiar, aparición antes de la edad de 65, presencia de trisomía 21 y ocurrencia conjunta de otras enfermedades relacionadas tal como Parkinson.

- 15 A partir de lo anterior puede entenderse que la enfermedad de Alzheimer no es fácil de diagnosticar, y también puede ser extremadamente difícil especificar factores de riesgo y determinar el riesgo de aparición. Por tanto, ha habido desde hace tiempo intentos por encontrar biomarcadores convenientes.

- 20 Por ejemplo, pruebas sanguíneas son necesarias para un diagnóstico de exclusión cuando se diagnostica demencia degenerativa tal como enfermedad de Alzheimer, pero en general no hay pruebas sanguíneas para identificar demencia. Se usan de manera activa concentración de proteína amiloide baja y concentración de proteína tau elevada en líquido cefalorraquídeo (LCR) como marcadores sustitutos para la enfermedad de Alzheimer, pero la recogida de líquido cefalorraquídeo es generalmente difícil de aplicar a muchos sujetos porque supone muchas cargas para los pacientes. No se ha descubierto aún ningún indicador bueno para el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer que pueda medirse en muestras de sangre, que pueda recogerse repetidamente y de manera menos invasiva que estos marcadores de LCR existentes (documento no de patente 1, pág. 233).

- 30 Como resultado de muchos estudios observacionales, se han identificado factores de riesgo genéticos (apolipoproteína Eε4), factores de riesgo vasculares (hipertensión arterial, diabetes, colesterol en sangre elevado) y tabaquismo como factores de riesgo para la demencia y la enfermedad de Alzheimer, mientras que se han identificado el ejercicio regular, factores dietéticos, actividades de ocio, participación social, actividad espiritual activa, entrenamiento cognitivo y un consumo de alcohol moderado como factores de prevención, pero hay poca base científica para estos. En la actualidad, no se ha establecido ningún método para prevenir (prevención primaria) o retardar el progreso (prevención secundaria) de la enfermedad de Alzheimer (documento no de patente 1, pág. 168).

- 35 Mientras tanto, también se ha encontrado que la concentración de proteína amiloide baja y la concentración de proteína tau elevada en líquido cefalorraquídeo (documento no de patente 1, pág. 195) y la obtención de imágenes del cerebro son útiles para predecir la transición de deterioro cognitivo leve (DCL) a enfermedad de Alzheimer. También se cree que la obtención de imágenes morfológicas (IRM) pueden usarse para predecir tales transiciones con una gran exactitud basándose en la atrofia del hipocampo y de la corteza entorrinal al inicio del seguimiento (documento no de patente 1, pág. 197). Sin embargo, en el primer caso, las pruebas imponen una gran carga al paciente tal como se discutió anteriormente, y es difícil de realizar en muchos pacientes, mientras que en el segundo caso se requiere un equipo grande, caro, lo que también hace que este método sea difícil de aplicar a grandes números de pacientes.

- 45 El deterioro cognitivo leve mencionado anteriormente es un estado que no se considera demencia porque la función cognitiva general es normal, aunque es un deterioro de la memoria objetivo. Es decir, el paciente es olvidadizo, y el deterioro de la memoria en relación con la edad se confirma mediante pruebas neuropsicológicas, pero este no se considera demencia porque la función cognitiva ordinaria es normal y el comportamiento en la vida diaria es generalmente normal (documento no de patente 1, pág. 188).

- 50 Es importante diagnosticar el deterioro cognitivo leve porque se considera un estado precursor al declive cognitivo y a la demencia, y se han propuesto diversas ideas. Los modos de diagnosticar deterioro cognitivo leve incluyen enfoques que se centran en el deterioro de la memoria asociado con la edad (DMAE), y aquellos que se centran en un declive neurocognitivo leve (DNCL) provocado por enfermedad neurológica y características físicas.

- 55 Los criterios para el DNCL según el Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales de la Asociación Psiquiátrica Americana, 4ª edición, revisión del texto (DSM-IV-TR) se resumen a continuación (documento no de patente 1, pág. 14).

- 60 1) Al menos dos de los siguientes trastornos cognitivos están presentes, y han estado presentes casi de manera continua durante al menos 2 semanas

1. Deterioro de la memoria identificado como capacidad reducida para aprender o recordar información

- 65 2. Deterioro de la función ejecutiva

3. Deterioro de la atención o de la velocidad de procesamiento de información

4. Declive de la función sensorial o motora

5 5. Deterioro del lenguaje (comprensión, parafraseado)

2) Se encuentra evidencia objetiva de enfermedad neurológica o física general considerada que es una causa de deterioro cognitivo a partir de un examen físico o hallazgos de laboratorio clínicos (incluyendo neuroimagen)

10 3) Hay evidencia de anomalía o deterioro del comportamiento a partir de una evaluación neuropsicológica o evaluación cognitiva cuantitativa

4) El deterioro cognitivo provoca angustia grave o deterioro funcional en un área social, profesional u otra importante, y ha disminuido desde un nivel previo

15 5) El deterioro cognitivo no cumple los criterios para delirio, demencia o trastorno amnésico, y no puede explicarse mediante otro trastorno mental.

20 Para resumir, el declive neurocognitivo leve y la demencia son dos estados completamente diferentes, mientras que la demencia en sí abarca muchas patologías, y la enfermedad de Alzheimer en particular es un tipo de enfermedad con muchos pacientes (Fig. 3). Además, es extremadamente difícil diagnosticar o determinar el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer, y hay una fuerte demanda de un método, biomarcador, kit y dispositivo exacto, simple, rápido y barato, para determinar la aparición o el riesgo de aparición de la enfermedad de Alzheimer. También hay una demanda del desarrollo de compuestos útiles para tratar y prevenir la enfermedad de Alzheimer.

25 Mientras tanto, la diabetes está aumentando rápidamente en todo el mundo. Se conoce ampliamente que la diabetes provoca arteriosclerosis y puede provocar o promover trastornos cerebrovasculares, y se espera una asociación con la demencia vascular. Además, estudios epidemiológicos en Europa y los EE. UU. han apuntado a una asociación entre la diabetes y la enfermedad de Alzheimer.

30 El estudio de Hisayama-machi es una encuesta epidemiológica de enfermedades del estilo de vida típicas en Japón, e incluye una encuesta epidemiológica a largo plazo de demencia en pacientes ancianos con edades de 65 y mayores. El estudio de Hisayama-machi es un estudio de cohorte (estudio de seguimiento prospectivo) de residentes locales en Hisayama-machi en la prefectura de Fukuoka, y se estudió la prevalencia de demencia entre 1985 y 2012. La tasa de examen es superior al 90% y se examinaron 1904 sujetos en 2012, de modo que este es un estudio altamente fiable que implica a un gran número de sujetos. En el seguimiento a este estudio, la enfermedad de Alzheimer era significativamente más prevalente en el grupo diabético, mientras que la demencia vascular era significativamente más prevalente en el grupo de tolerancia a la glucosa alterada (IGT) prediabético y el grupo diabético, y persistió una asociación significativa entre la diabetes y la aparición de enfermedad de Alzheimer (relación de peligro 2,1) incluso cuando otros factores de riesgo para la demencia se ajustaron mediante análisis multivariante (documento no de patente 3). Cuando los sujetos se clasificaron basándose en la glucosa en sangre postprandial y la glucosa en sangre 2 horas tras la exposición a glucosa, se mostró que el riesgo de enfermedad de Alzheimer y demencia vascular aumentaba de manera lineal a medida que aumentaron los niveles de glucosa en sangre (documento no de patente 3). Por tanto, se ha estudiado la asociación entre diabetes y demencia, pero no ha habido ningún estudio de una asociación con glicoproteína y hemoglobina A1c.

45 Las proteínas glicadas tales como hemoglobina A1c y glicoproteína se miden comúnmente de manera clínica con fines de diagnóstico de la diabetes y del control glicémico, y se usan ampliamente como indicadores de control glicémico. La hemoglobina A1c es una sustancia que comprende glucosa unida a hemoglobina en glóbulos rojos y, considerando que el periodo de vida de los glóbulos rojos en la sangre es de aproximadamente 120 días, se considera que es un indicador que refleja el estado de control glicémico status a lo largo de aproximadamente 2 a 3 meses. La glicoproteína, por otro lado, es una sustancia que comprende glucosa unida a albúmina en la sangre y, considerando que la vida media de la albúmina en la sangre es de aproximadamente 17 días, se usa como indicador que representa el estado de control glicémico a lo largo de 2 a 3 semanas. Es decir, la glicoproteína es un marcador que representa el estado de control glicémico a lo largo de un periodo más corto que la hemoglobina A1c.

50 Los valores JDS (Sociedad Japonesa de Diabetes) fijados por la Sociedad Japonesa de Diabetes se han usado convencionalmente como valor de hemoglobina A1cs, pero se adoptaron estándares internacionales en abril de 2012, y ahora se usan los valores fijados por el NGSP (Programa Nacional de Estandarización de Glicohemoglobina) en los EE. UU. La siguiente fórmula muestra la relación entre el valor JDS y el valor NGSP, y los valores JDS usados en la bibliografía anterior pueden convertirse usando esta fórmula.

Valor NGSP (%) = 1,02 x valor JDS (%) + 0,25% Fórmula 1

65 Valor JDS del 4,9% o menos: Valor NGSP (%) = Valor JDS (%) + 0,3% Fórmula 2

Valor JDS del 5,0% al 9,9%: Valor NGSP (%) = Valor JDS (%) + 0,4% Fórmula 3

Valor JDS del 10,0% al 14,9%: Valor NGSP (%) = Valor JDS (%) + 0,5% Fórmula 4

5 Glicohemoglobina significa lo mismo que hemoglobina A1c. La relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c es un indicador importante en la presente invención, y cuando en esta descripción se describen valores característicos tales como valores de límite, estos se refieren a valores NGSP. Sin embargo, cuando se citan números basados en la bibliografía anterior, el valor JDS y los valores NGSP se distinguen escribiendo hemoglobina A1c (JDS) o hemoglobina A1c (NGSP).

10 Los valores de hemoglobina A1c NGSP no se usan en Europa, y en su lugar se usan los valores IFCC (Federación Internacional de Química Clínica y Medicina de Laboratorio). Los valores IFCC pueden convertirse en valores NGSP usando la siguiente fórmula de conversión.

15 Valor NGSP = (0,09148 x valor IFCC) + 2,152 Fórmula 5

Por tanto, los valores de hemoglobina A1c se representan de diversos modos, pero dado que estos pueden convertirse, pueden leerse de manera apropiada como valores NGSP.

20 Como la hemoglobina A1c, la glicocalbúmina también ha sido un objetivo de estandarización particularmente por la Sociedad Japonesa de Química Clínica. Las unidades actuales son valores de porcentaje trazables mediante HPLC usados actualmente en Japón, Europa, los EE. UU., China y similares, pero está haciéndose actualmente una investigación para la estandarización futura a métodos de dilución isotópica/espectrometría de masas (ID/MS) (unidad: mmol/mol) usando glicolisina y lisina como sustancias estándar primarias (documento de patente 4). Estas unidades
25 pueden convertirse usando la fórmula 6 y las fórmulas 7 a 9 siguientes desarrolladas internamente por Asahi Kasei, pero los coeficientes pueden variar ligeramente dependiendo de las condiciones de prueba y similares, y la conversión también puede llevarse a cabo usando una fórmula determinada en conferencias y artículos futuros, o usando una fórmula establecida por diversas empresas. En esta descripción, los números para glicocalbúmina (GA, %) son valores de porcentaje trazables mediante HPLC usados ampliamente.

30 $GA (\%) = 0,0523 \times GA (\text{mmol/mol}) + 1,306$ Fórmula 6

$GA (\%) = 0,0536 \times GA (\text{mmol/mol}) + 0,3040$ Fórmula 7

35 $GA (\%) = 0,0539 \times GA (\text{mmol/mol}) + 0,5839$ Fórmula 8

$GA (\%) = 0,0545 \times GA (\text{mmol/mol}) + 0,4811$ Fórmula 9

40 También se conoce que los valores para hemoglobina A1c (JDS) y glicocalbúmina asumen cada uno valores estacionarios y la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) asume un valor característico de aproximadamente 3, cuando la glucosa en sangre se mantiene a un nivel estable, fijado, durante un tiempo suficientemente largo, tal como aproximadamente 3 meses. Cuando el estado de control glicémico cambia, sin embargo, la relación varía con respecto al valor de aproximadamente 3, porque la glicocalbúmina cambia primero. Dado que la glicocalbúmina se eleva primero cuando el estado de control glicémico status se deteriora, la relación de
45 glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) aumenta por encima del valor característico de aproximadamente 3, y cae por debajo de aproximadamente 3 cuando el estado de control glicémico mejora. En consecuencia, es posible evaluar a partir de la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) que la glucosa en sangre ha aumentado o caído recientemente.

50 Además, se conoce que la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) aumenta por encima del valor característico de aproximadamente 3 cuando las fluctuaciones diarias en la glucosa en sangre son grandes, incluso si el estado de control glicémico es estable (documento no de patente 5). Por ejemplo, comparando pacientes con diabetes tipo 1 con fluctuaciones de glucosa en sangre graves y pacientes con diabetes tipo 2 con fluctuaciones relativamente pequeñas, se han notificado relaciones de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) altas en el primer
55 grupo. También se ha notificado que las fluctuaciones de glucosa en sangre pueden predecirse a partir de la divergencia de la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS), y se propone la hipótesis que cuando las fluctuaciones de glucosa en sangre son grandes en pacientes con diabetes tipo 2, la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) aumenta por encima del valor característico de 3.

60 Con respecto a asociaciones con complicaciones diabéticas, se ha notificado que la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) está asociada con nefropatía diabética (documento no de patente 5), y puede usarse para predecir el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer o demencia vascular en casos de infarto cerebral agudo (documento de patente 1), y en un método para someter a prueba la función renal en pacientes diabéticos (documento de patente 2). Además, en enfermedades tales como cirrosis hepática, insuficiencia renal,
65 enfermedad tiroidea y anemia que afectan al periodo de vida de la hemoglobina y a la vida media de la albúmina, la

relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) diverge según se notifica del valor característico de aproximadamente 3 independientemente de las fluctuaciones en glucosa en sangre.

Con respecto a asociaciones con la función cognitiva, se ha notificado un estudio (documento no de patente 6) con respecto a una asociación entre la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) y trastorno cognitivo en pacientes chinos ancianos. En este estudio, cuando los sujetos se separaron en dos grupos que tenían relaciones de glicolalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) de 2,53 o superiores e inferiores a 2,53, las puntuaciones del grupo de valores altos eran significativamente menores en el minexamen del estado mental (MMSE) y la evaluación cognitiva de Montreal (MoCA), que son pruebas para evaluar la función cognitiva. Los resultados del análisis de regresión múltiple mostraron que las puntuaciones de MMSE y MoCA se correlacionaban de manera inversa con glicolalbúmina y la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP), pero no se correlacionaban con la hemoglobina A1c (NGSP). Este es un estudio extremadamente interesante, pero se considera que el deterioro cognitivo leve (DCL) mencionado anteriormente es una enfermedad con un concepto completamente diferente al de la enfermedad de Alzheimer, que es una enfermedad degenerativa del sistema nervioso central (véase la Fig. 3). Es decir, este documento no describe la enfermedad de Alzheimer ni la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c, y no investiga la predicción de la aparición o el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer basándose en la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c.

En el documento no de patente 7, cuando se evaluaron 35 pacientes con diabetes tipo 2 de 55 años de edad y mayores con la escala de demencia de Hasegawa revisada (HDS-R), la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c promedio fue de $3,1 \pm 0,9$, y la posibilidad de usar esta relación como indicador para predecir demencia se sugiere en el documento. Sin embargo, el valor de $3,1 \pm 0,9$ no es un valor de límite que muestre que "la función cognitiva ha disminuido" o "la enfermedad de Alzheimer está presente", sino que representa meramente un valor promedio $\pm$ DE para 35 sujetos. Los resultados del análisis estadístico en este documento muestran una correlación inversa entre las puntuaciones en la escala de Hasegawa y la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c, pero esto solo significa que la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1cs era mayor cuanto menor era la puntuación en la escala de Hasegawa, y no puede diagnosticarse enfermedad de Alzheimer y demencia simplemente en base a esto.

Para resumir, se ha notificado que la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c no es simplemente un indicador del estado de glucosa en sangre, sino que también diverge del valor característico de aproximadamente 3 en diversas patologías cuando se usa hemoglobina A1c (JDS), y pueden evaluarse diversas patologías basándose en el grado de divergencia, pero hasta el momento no ha notificado ninguna asociación entre la enfermedad de Alzheimer y la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c. Aunque se ha notificado una asociación entre el trastorno cognitivo y la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c, sin embargo, no ha habido ningún estudio de la enfermedad de Alzheimer que se centre en la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c, y ningún estudio en el que se evalúe la aparición de enfermedad de Alzheimer o se evalúe el riesgo de enfermedad de Alzheimer usando la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c.

Lista de citas

Documentos no de patente

Documento no de patente 1: 2010 Guideline for Treatment of Dementia Disease (15 de octubre de 2010), supervisor: Japanese Society of Neurology, editor: "Guideline for Treatment of Dementia Disease" Joint Working Committee, publicado por: Igaku-Shoin Ltd.

Documento no de patente 2: Guy McKhann *et al.*, Clinical diagnosis of Alzheimer's disease, *Neurology* 1984, 34:939-944

Documento no de patente 3: Tomoyuki Kohara y Yutaka Kiyohara, Dementia in diabetes patients, *Gekkan Tonyobyō* (Diabetes Monthly), 2012, 4:12-20

Documento no de patente 4: Izumi Takei *et al.*, Recommended JSCC methods for measuring glycoalbumin, *Rinshokagaku* (Clinical Chemistry), 2008, 37:178-191

Documento no de patente 5: Kwang Joon Kim *et al.*, The roles of glycated albumin as intermediate glycation index and pathogenic protein, *Diabetes Metab. J.* 2012, 36:98-107

Documento no de patente 6: Yuan Zhong *et al.*, GA to HbA1C ratio, but not HbA1C is associated with cognition in Chinese nondiabetic old adults, *Aging Mental Health*, 2015, 19(9):853-857

Documento no de patente 7: Tomoe Kinoshita *et al.*, Association of GA/HbA1c ratio and cognitive impairment in subjects with type 2 diabetes mellitus, *J. Diabetes Complications*, 2016 doi, 10.1016/j.jdiacomp.

Documentos de patente

Documento de patente 1: WO 2011/034088

Documento de patente 2: Publicación de patente JP-A-2015-96835

5 Sumario

Problema técnico

Es un objeto de la presente invención proporcionar un método y un uso de la relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer de manera exacta, simple, rápida y barata, así como el uso de un kit y un dispositivo para determinar si hay un riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer.

Solución al problema

Como parte de un estudio de cohorte (estudio de seguimiento prospectivo) de residentes locales de Hisayama-machi, los inventores administraron una prueba de tolerancia a la glucosa oral de 75 g a 1017 sujetos ancianos en 1988, e hicieron un seguimiento de estos sujetos durante 15 años con el fin de observar los efectos de un metabolismo de glucosa anómalo sobre la demencia incluyendo enfermedad de Alzheimer y demencia vascular (durante el periodo de seguimiento 232 sujetos desarrollaron demencia, y 209 de estos casos se investigaron morfológicamente o bien mediante autopsia cerebral o bien mediante obtención de imágenes mediante TC/IRM). Como resultado, se encontró que la diabetes, y particularmente la glucosa en sangre 2 horas tras la exposición (hiperglicemia postprandial) se correlacionaba significativamente con el desarrollo de enfermedad de Alzheimer. En un intento por descubrir biomarcadores para predecir la aparición de enfermedad de Alzheimer más fácilmente que con la prueba de tolerancia a la glucosa oral de 75 g complicada, los inventores investigaron también la asociación entre los niveles de glicoalbúmina sérica, hemoglobina A1c y 1,5-anhidroglucitol medidos al inicio del seguimiento en 1187 pacientes ancianos que se examinaron en 2007 y el riesgo de demencia por tipo de enfermedad durante el periodo de seguimiento de 5 años posterior. Mirando los resultados, inesperadamente no se encontró ninguna correlación entre estos indicadores y la enfermedad de Alzheimer o demencia vascular pero, de manera interesante, solo la relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) emergió como un factor de riesgo estadísticamente significativo en el desarrollo de enfermedad de Alzheimer. Cuando el estudio miró entonces a diferentes niveles de relaciones de glicoalbúmina/hemoglobina A1c, se encontró que el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer era de manera estadística significativamente mayor cuando la relación era de al menos 2,6.

Es decir, los inventores consiguieron la presente invención tras medir glicoalbúmina y hemoglobina A1c en muestras biológicas, y descubrir que, determinando la relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c, era posible determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer. Hasta ahora, no se ha notificado ningún estudio que asocie la relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c con la determinación de la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, y la presente invención se basa en el descubrimiento nuevo y revolucionario que la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer puede determinarse de manera fácil, rápida y barata usando la relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c. Se proporcionan las siguientes invenciones mediante la presente invención.

[1] Un método para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, que comprende una etapa de determinar que un sujeto corre el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer cuando una relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c es de al menos 2,6 en una muestra de sangre del sujeto.

[2] El método según [1], en el que la muestra de sangre se somete a las siguientes etapas (1) a (3) antes de la etapa de determinar la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer:

1) medir la glicoalbúmina y la hemoglobina A1c en la muestra de sangre de un sujeto;

2) usar los valores de medición obtenidos en la etapa 1) para calcular la relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c; y

3) comparar el nivel de glicoalbúmina/hemoglobina A1c obtenido en la etapa 2) con un valor de límite para predecir la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer.

[3] Un método según [1] o [2], en el que la relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c es de al menos 2,85.

[4] Un método según cualquiera de [1] a [3], en el que el sujeto no sufre de deterioro cognitivo leve (DCL).

[5] Un método según cualquiera de [1] a [4], en el que el sujeto no sufre de demencia vascular.

[6] Uso de un biomarcador para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, en el que se usa una relación de glicoproteína/hemoglobina A1c como indicador, y en el que se determina que un sujeto corre el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer cuando la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c en una muestra de sangre del sujeto es de al menos 2,6.

5 [7] Uso de un dispositivo para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, que tiene

10 (a) una parte de cálculo para calcular una relación de glicoproteína/hemoglobina A1c basándose en un valor de glicoproteína medido y un valor de hemoglobina A1c, y

(b) una parte de evaluación para evaluar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer basándose en la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c calculada.

15 [8] El uso de un dispositivo según [7], que comprende además una parte de medición para glicoproteína y/o una parte de medición para hemoglobina A1c.

20 [9] Uso de un kit para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, que contiene un reactivo de medición de glicoproteína y un reactivo de medición de hemoglobina A1c, y que contiene además un manual que establece que se determina que un sujeto sufre de enfermedad de Alzheimer o corre el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer cuando la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c es de al menos 2,6.

Efectos ventajosos de la invención

25 La enfermedad de Alzheimer no pudo identificarse específicamente mediante métodos convencionales de una manera simple. Sin embargo, la presente invención permite determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer de manera exacta, fácil, rápida y barata.

Breve descripción de los dibujos

30 La Fig. 1 muestra las relaciones de riesgo para la aparición de enfermedad de Alzheimer según los niveles de indicadores asociados con la glucosa en sangre basándose en el ejemplo 1 de la presente invención.

35 La Fig. 2 muestra relaciones de peligro de niveles de indicadores asociados con la glucosa en sangre para la aparición de enfermedad de Alzheimer según la presencia o ausencia de metabolismo de glucosa anómalo (diabetes + prediabetes) basándose en el ejemplo 2 de la presente invención.

40 La Fig. 3 muestra la relación entre la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades, y las relaciones entre estas enfermedades y diversos métodos de medición. En este caso, el deterioro cognitivo leve (DCL) significa un estado en el que múltiples funciones cognitivas que han alcanzado normalidad disminuyen entonces por alguna causa, pero sin convertirse en un obstáculo para la vida cotidiana y la vida social. El concepto de enfermedad de DCL y los conceptos de enfermedad de declive neurocognitivo leve (DNCL) según el DSM-4 y el trastorno neurocognitivo leve (TNCL) según el DSM-5 son todos similares. Por otro lado, la demencia es un estado en el que está presente o bien deterioro cognitivo leve o un declive cognitivo más grave y se convierte en un obstáculo para la vida cotidiana o la vida social.

45 Los tipos de demencia incluyen enfermedad de Alzheimer y demencia vascular. Los criterios de diagnóstico para la demencia usados en el presente estudio son los criterios del DSM-III-R para la demencia, los criterios del NINCDS-ADRDA para la enfermedad de Alzheimer y los criterios del NINDS-AIREN para la demencia vascular. Además, el MMSE, la MoCA y la escala de demencia de Hasegawa revisada (HDS-R) son pruebas de función cognitiva, y son los tres equivalentes (MMSE $\approx$ MoCA $\approx$ HDS-R). El rango de declive cognitivo que puede confirmarse con estas pruebas

50 está limitado a DCL y demencia, y ninguna prueba sola puede identificar todas las enfermedades. Sin embargo, los resultados del presente estudio pueden identificar específicamente la enfermedad de Alzheimer.

La Fig. 4 es un diagrama de bloques que muestra la configuración funcional de un dispositivo para determinar la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer en la presente invención.

55

Descripción de las realizaciones

60 La presente invención se explica en más detalle a continuación y el alcance de la invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

(1) Glicoproteína

65 La glicoproteína en la presente invención es una forma de albúmina que comprende glucosa unida no enzimáticamente a albúmina, y puede denominarse glicoproteína o albúmina glicada. La glicoproteína puede medirse mediante HPLC o mediante métodos inmunológicos o métodos enzimáticos, por ejemplo. Actualmente, se usan

ampliamente métodos enzimáticos para medir glicoalbúmina. La medición de glicoalbúmina en la presente invención incluye no solo medir la concentración de glicoalbúmina en una muestra biológica, sino también medir la concentración de glicoalbúmina como porcentaje de la albúmina total en una muestra biológica.

- 5 En los métodos enzimáticos, por ejemplo, la glicoalbúmina en una muestra biológica se digiere en primer lugar con una proteasa para producir aminoácidos glicosilados. Estos aminoácidos glicosilados se hace reaccionar entonces con cetoamina oxidasa, y el peróxido de hidrógeno resultante se hace reaccionar con una peroxidasa en presencia de un donador de hidrógeno y un colorante para cuantificar los aminoácidos glicosilados. La concentración de glicoalbúmina en una muestra biológica puede determinarse también a partir de los aminoácidos glicosilados cuantificados usando un
- 10 calibrador conocido o similar. La concentración de albúmina en la misma muestra biológica se determina mediante un método de cuantificación de albúmina tal como un ensayo BCP mejorado, y la concentración de glicoalbúmina se divide entre la concentración de albúmina para determinar el porcentaje (%) de glicoalbúmina con respecto a albúmina total. En Japón, los métodos estándar para medir glicoalbúmina se recomiendan por la Sociedad Japonesa de Química Clínica (documento no de patente 4), y es deseable usar métodos de medición suficientemente exactos y precisos que
- 15 se ajusten a los métodos estándar de medición de glicoalbúmina.

En esta descripción, la glicoalbúmina se representa como un valor trazable mediante HPLC (%), pero cuando se usa otra unidad o un valor trazable para otro método, estos pueden convertirse de manera apropiada usando la fórmula 6 anterior o similar. Además, la glicoalbúmina se abrevia en ocasiones como GA en la presente invención.

20 (2) Hemoglobina A1c

En la presente invención, la hemoglobina A1c es una forma de hemoglobina que comprende glucosa unida no enzimáticamente a la valina N-terminal de la cadena β de hemoglobina, y puede denominarse hemoglobina A1c, HbA1c, glicohemoglobina, glicohemoglobina A1c, A1C o similar. La hemoglobina A1c puede medirse mediante HPLC

25 o mediante un método inmunológico o método enzimático, por ejemplo. En la actualidad, se usan métodos de HPLC, métodos inmunológicos y métodos enzimáticos todos ampliamente para medir hemoglobina A1c. La medición de hemoglobina A1c en la presente invención incluye no solo medir la hemoglobina A1c en una muestra biológica, sino también medir la hemoglobina A1c como porcentaje de la hemoglobina total en la muestra biológica.

En los métodos de HPLC, la hemoglobina A1c en la que la valina N-terminal de la cadena β está glicosilada puede separarse y medirse con una columna de intercambio catiónico, por ejemplo, y puede determinarse el porcentaje (%) de hemoglobina A1c en relación con la hemoglobina total en la muestra biológica. En los métodos inmunológicos, un péptido unido a la glucosa de la valina N-terminal de cadena β se usa como antígeno, y la medición se realiza con el anticuerpo resultante. En los métodos enzimáticos, un péptido glicosilado escindido usando una proteasa que escinde el péptido en el extremo N-terminal de la cadena β se conduce hasta un sistema de desarrollo de color usando fructosil

30 péptido oxidasa para cuantificar la hemoglobina A1c. Los valores de medición de hemoglobina A1c se han estandarizado por la Sociedad Japonesa de Diabetes, la Sociedad Japonesa de Química Clínica y el Programa Nacional de Estandarización de Glicohemoglobina de los EE. UU. (NGSP) y similares, y es deseable usar métodos de medición suficientemente exactos y precisos que se ajusten a los métodos estándar. En esta descripción, la glicoalbúmina se representa como un valor trazable mediante NGSP (%), pero cuando se usa otra unidad o un valor trazable para otro método, estos pueden convertirse de manera apropiada usando las fórmulas 1 a 5 o similares anteriores. Además, la hemoglobina A1c se abrevia en ocasiones como HbA1c o A1C en la presente invención.

45 La relación de glicoalbúmina/hemoglobina A1c en la presente invención es una relación obtenida dividiendo el valor de glicoalbúmina medido entre el valor de hemoglobina A1c medido.

(3) Determinación de la incidencia de o el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer

50 Determinar la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer significa el hecho de evaluar el riesgo (probabilidad) de que un sujeto sufra actualmente de enfermedad de Alzheimer y el riesgo (probabilidad) de desarrollar enfermedad de Alzheimer cuando el sujeto no sufre de enfermedad de Alzheimer, pero puede desarrollarla en el futuro. La incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer se determina normalmente mediante métodos estadísticos como una relación de posibilidades o relación de peligro que muestra una frecuencia aumentada a la que se le da el valor 1 como riesgo cuando un cierto elemento es normal.

El miniexamen del estado mental (MMSE), la evaluación cognitiva de Montreal (MoCA) y la escala de demencia de Hasegawa revisada (HDS-R) solo pueden identificar deterioro cognitivo leve (DCL) y algunas formas de demencia.

60 Por otro lado, la presente invención puede identificar enfermedad de Alzheimer específicamente. Es decir, la enfermedad de Alzheimer seleccionada como objetivo por la presente invención se distingue de deterioro cognitivo leve (DCL) o demencia vascular (Fig. 3). El concepto de enfermedad de deterioro cognitivo leve y los conceptos de enfermedad de declive neurocognitivo leve (DNCL) según el DSM-4 y trastorno neurocognitivo leve (DNCL) según el DSM-5 son todos casi idénticos.

La presente invención proporciona un método para predecir la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer usando la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c en una muestra biológica como indicador. La presente invención puede implementarse sola o en combinación con otro método. Por ejemplo, el uso del método de la presente invención junto con un método usado comúnmente de determinación de la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer es deseable desde el punto de vista de aumentar la exactitud de predicción.

En los métodos usados comúnmente, la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer se determina considerando las concentraciones de proteína amiloide bajas y la concentración de proteína tau elevada en líquido cefalorraquídeo (LCR), factores de riesgo genéticos (apolipoproteína Eε4), factores de riesgo vasculares (hipertensión arterial, diabetes, hipercolesterolemia) y tabaquismo y similares, y también tras considerar factores de protección tales como ejercicio regular, factores dietéticos, actividades de ocio, participación social, actividad espiritual activa, entrenamiento cognitivo y consumo de alcohol moderado.

Un valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer se explica en detalle a continuación.

Generalmente se conoce que una relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) de aproximadamente 3 en sangre de un paciente con diabetes es un valor característico cuando se estabiliza el azúcar en sangre (documento no de patente 5).

En la presente invención, las relaciones de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) se determinaron a partir de los valores medidos para glicocalbúmina y hemoglobina A1c (NGSP), y estas relaciones se compararon con diagnósticos de enfermedad de Alzheimer realizados por separado, y se investigó la relación. Los valores característicos de aproximadamente 2 a 4 para la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) pueden variar dependiendo de la raza, el género, la edad y la población objetivo, y las unidades de medición y similares también pueden cambiar en el futuro debido a una estandarización internacional.

Un valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer es un valor de referencia para la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c usado para evaluar la probabilidad (porcentaje) de que un sujeto sufra en el futuro si no lo hace en la actualidad, o desarrolle enfermedad de Alzheimer en el futuro. Puede haber un único valor de límite o múltiples valores de límite.

Puede usarse cualquier número de relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) de al menos 2,6 o superior tal como entre 2,6 y 3,2 o preferiblemente entre 2,7 y 3,1 como valor de límite. Pueden usarse los valores de 2,85 o 2,83 mostrados en los ejemplos, pero dado que estos valores pueden cambiar ligeramente bajo examen, puede usarse cualquier número cercano a estos números.

Las relaciones de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (JDS) de sujetos sanos y pacientes con diabetes con glucosa en sangre estable son de manera característica de aproximadamente 3,0 (o 2,83 o 2,85 usando los valores NGSP en los ejemplos de esta solicitud), y dado que la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) diverge con respecto a los valores característicos a medida que la probabilidad de la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de la misma en el futuro aumenta, un valor de límite puede ser de 1 o más números seleccionados de 2,6, 2,7, 2,8, 2,83, 2,85, 2,9, 3,0, 3,1 y 3,2, o puede usarse otro valor.

Alternativamente, en al menos 20 (o preferiblemente al menos 30, o más preferiblemente al menos 50, o lo más preferiblemente al menos 70) pacientes, puede obtenerse un valor de límite midiendo la glicocalbúmina y la hemoglobina A1c (NGSP), determinando las relaciones de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) y comparándolos con los resultados para sujetos sanos que no sufren de enfermedad de Alzheimer y síndrome cognitivo según los criterios de diagnóstico del NINCDS-ADRDA para la enfermedad de Alzheimer. También puede obtenerse un valor de límite mediante métodos estadísticos conocidos (análisis ROC, etc.) (ejemplos). Dado que se obtuvo un valor de límite de 2,85 para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer mediante tales métodos en los ejemplos de esta descripción, se selecciona preferiblemente un valor de límite de 2,85 para evaluar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer.

La comparación de relaciones de glicocalbúmina/hemoglobina A1c (NGSP) medidas con un valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, y la determinación de la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer basándose en esta comparación, se explican en detalle a continuación.

Cuando el valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer es un único número, es posible predecir que un sujeto corre un alto riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer en el futuro incluso si no lo tiene en la actualidad si la relación de los valores medidos para glicocalbúmina y hemoglobina A1c en una muestra biológica de ese sujeto está en o por encima del valor de límite, y predecir una baja probabilidad de enfermedad de Alzheimer cuando la relación está por debajo del valor de límite.

Por ejemplo, si el valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer es de 2,85, hay un alto riesgo de que el sujeto pueda desarrollarla en el futuro incluso si no la tiene ahora si la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c (NGSP) medida en una muestra biológica es de 2,85 o más, mientras que si la relación es menor de 2,85 puede predecirse un riesgo bajo de desarrollarla en el futuro si no está presente actualmente.

Cuando hay múltiples valores de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, puede hacerse una determinación de múltiples fases de la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer. Por ejemplo, si los valores de límite se fijan a A1, A2, A3...An, los intervalos de relaciones de glicoproteína/hemoglobina A1c (NGSP) pueden fijarse a menos de A1, de A1 a A2, de A2 a A3...de An-1 a An y por encima de An, y puede predecirse que la probabilidad de que el sujeto desarrolle enfermedad de Alzheimer en el futuro es mayor cuanto mayor sea el intervalo numérico. Por ejemplo, si los valores de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer se fijan a 2,60, 2,85 y 3,00, puede predecirse que "cuando la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c (NGSP) medida en una muestra biológica es de al menos 3,00, hay una probabilidad extremadamente alta de desarrollar enfermedad de Alzheimer en el futuro", mientras que "cuando es de al menos 2,85 y menos de 3,00, hay una alta probabilidad de desarrollarla en el futuro", "cuando es de al menos 2,60 y menos de 2,85, hay una posibilidad de desarrollarla en el futuro" y "cuando es menor de 2,60, hay una baja probabilidad de desarrollarla en el futuro".

(5) Dispositivo

El dispositivo para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer puede ser cualquier dispositivo dotado de una parte de medición de glicoproteína, una parte de medición de hemoglobina A1c, una unidad operacional para calcular una relación de glicoproteína/hemoglobina A1c medida y una parte de evaluación para hacer predicciones basándose en la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c calculada. Las partes de medición, la unidad operacional, la parte de evaluación y similares que constituyen este dispositivo no tienen que estar todas instaladas en el mismo dispositivo, y pueden ser cada una unidades independientes.

La parte de medición de glicoproteína es un sitio para medir glicoproteína en una muestra biológica introducida en el dispositivo. La parte de medición de hemoglobina A1c es un sitio para medir hemoglobina A1c en una muestra biológica introducida en el dispositivo. Los tamaños y las composiciones de estos sitios no están limitados particularmente, y las mediciones no están limitadas particularmente siempre que puedan medirse las respectivas proteínas en una muestra biológica y, por ejemplo, puedan usarse los métodos de medición de glicoproteína y hemoglobina A1c comunes descritos anteriormente.

Además de métodos de HPLC, métodos inmunológicos y métodos enzimáticos, también pueden usarse métodos de electroforesis, métodos de electrodo, métodos de columna y similares para medir glicoproteína, y también pueden usarse otros métodos. Por ejemplo, la glicoproteína puede medirse mediante un método enzimático usado ampliamente. En los métodos enzimáticos, por ejemplo, la glicoproteína en una muestra objetivo se hidroliza en primer lugar con una proteasa, tras lo cual el peróxido de hidrógeno producido haciendo reaccionar cetona oxidasa con lisina glicada se hace reaccionar con un colorante y se cuantifica para determinar la concentración de glicoproteína, mientras que se mide la concentración de albúmina en la misma muestra objetivo, y la concentración de glicoproteína se divide entre la concentración de albúmina para obtener el valor de glicoproteína (% o mmol/mol), pero pueden usarse otros reactivos comerciales y métodos y reactivos conocidos. Los valores medidos para glicoproteína en la presente invención se basan en métodos de HPLC, pero pueden usarse valores estandarizados mediante el método de ID/MS u otros valores, y los valores de límite para estos pueden convertirse en los valores de la presente invención usando las fórmulas de relación para los respectivos valores.

También puede usarse un método enzimático, método de HPLC, método inmunológico, método de columna o método de electrodo usado ampliamente para medir hemoglobina A1c. En el método de HPLC, la hemoglobina A1c puede separarse y fraccionarse con una columna de intercambio iónico, por ejemplo, y calcularse la concentración (%). Los valores NGSP se usan para las mediciones de hemoglobina A1c en la presente invención, pero también pueden usarse valores IFCC u otros, y los valores de límite y similares pueden convertirse a los valores de la presente invención usando las fórmulas de relación para los respectivos valores.

La unidad operacional es un sitio para dividir el valor de glicoproteína obtenido mediante la medición en la parte de medición de glicoproteína entre el valor de hemoglobina A1c obtenido mediante la medición en la parte de medición de hemoglobina A1c, y puede ser una unidad de procesamiento central (CPU) proporcionada como parte del dispositivo, por ejemplo. Tras la medición y antes de la operación, el valor de glicoproteína y el valor de hemoglobina A1c también pueden almacenarse en un dispositivo de almacenamiento tal como una memoria o un disco duro proporcionado como parte del dispositivo, o el valor dividido de la unidad operacional puede almacenarse temporalmente en un dispositivo de almacenamiento de este tipo.

La parte de evaluación es un sitio para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer basándose en la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c obtenida mediante la parte de cálculo.

En el presente dispositivo, puede hacerse una determinación de la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer comparando la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c obtenida mediante la parte de cálculo con un valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer. El valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer puede haberse almacenado ya en el dispositivo, o puede introducirse a través de una parte de entrada del dispositivo cuando se hace una predicción. Si, por ejemplo, la comparación muestra que el nivel de glicoproteína/hemoglobina A1c obtenido mediante la parte de cálculo está al o por encima del valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, puede predecirse que el individuo que proporcionó la muestra biológica tiene probabilidad de correr un alto riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer en el futuro, mientras que a la inversa, si el nivel está por debajo del valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, puede predecirse que el individuo que proporcionó la muestra biológica corre un riesgo bajo de desarrollar enfermedad de Alzheimer en el futuro. Un valor de límite o múltiples valores para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer pueden fijarse en el dispositivo, y cuando se han fijado múltiples valores de límite, puede hacerse una predicción de múltiples fases tal como se describió anteriormente.

El dispositivo también puede tener una parte de salida. La parte de salida realiza un procesamiento tal como presentar visualmente o emitir los resultados de la determinación de la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer en un dispositivo de visualización tal como una pantalla o en un dispositivo de impresión tal como una impresora.

Desde el punto de vista de la conveniencia, el dispositivo es preferiblemente un dispositivo de pruebas POC (en general, un dispositivo para pruebas en inmediación cercana al paciente en un entorno clínico, tal como a pie de cama). También puede ser un dispositivo de medición portátil que el paciente pueda usar en casa.

La Fig. 4 es un diagrama de bloques que muestra la configuración funcional de un dispositivo 10 para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer en la presente invención. Como se muestra en el diagrama, el dispositivo 10 está dotado de un dispositivo de entrada 11, una parte de entrada 12, una parte de memoria (primera parte de memoria, segunda parte de memoria) 13, una parte de cálculo (primera parte de cálculo, segunda parte de cálculo) 14, una parte de evaluación 15, una parte de salida 16 y un dispositivo de salida 17.

El dispositivo 10 puede, por ejemplo, ser un programa específico ejecutado en un ordenador personal de uso general. Por tanto, la parte de entrada 12, la parte de cálculo 14, la parte de evaluación 15 y la parte de salida 16 representan módulos operativos ejecutados por el procesador del ordenador según el programa, y de hecho estas constituyen juntas el procesador del dispositivo 10 de la presente invención.

La parte de memoria 13 es un dispositivo de memoria tal como un disco duro del dispositivo 10. El dispositivo de entrada 11 es un medio de entrada tal como un teclado, ratón, panel táctil o similar mediante el cual el usuario envía instrucciones de procesamiento al dispositivo 10 o introduce datos y parámetros. Los datos también pueden leerse de un medio de memoria o similar por medio de una interfaz USB (bus serial universal). Las operaciones realizadas por el usuario por medio del dispositivo de entrada 11 se controlan mediante la parte de entrada 12. El dispositivo de salida 17 es un dispositivo de visualización, impresora o similar. El procesamiento de salida al dispositivo de salida 17 se controla mediante la parte de salida 16.

El usuario usa el dispositivo de entrada 11 para introducir los valores de glicoproteína de muestras de sangre recogidas de sujetos y el valor de hemoglobina A1cs de muestras de sangre recogidas de sujetos.

La parte de memoria 13 registra los valores de glicoproteína y valores de hemoglobina A1c introducidos, pero también puede registrar las expresiones aritméticas y algoritmos usados en la evaluación mediante la parte operativa y los resultados de cálculo y similares.

La parte de cálculo 14 calcula la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c.

La relación de glicoproteína/hemoglobina A1c calculada mediante la parte de cálculo 14 se emite al dispositivo de salida 17 por medio de la parte de salida 16.

La parte de evaluación 15 evalúa si la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c calculada mediante la parte de cálculo 14 supera o no un umbral específico. Cuando la parte de evaluación 15 considera que la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c está en o por encima de un umbral específico, un resultado de evaluación al efecto de que el sujeto puede correr el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer se emite al dispositivo de salida 17 por medio de la parte de salida 16.

El reactivo de medición de glicoproteína contenido en el kit para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer no está limitado particularmente en cuanto al método de medición (método

inmunológico, método enzimático, método químico, etc.) o la constitución del reactivo siempre que el reactivo puede medir glicoproteína en una muestra biológica. Un método enzimático o método inmunológico es deseable como método de medición y, por ejemplo, un reactivo Lucica® GA-L (Asahi Kasei Pharma Corporation) usando métodos enzimáticos es una realización preferida del reactivo de medición de glicoproteína.

5 El reactivo de medición de hemoglobina A1c contenido en el kit para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer no está limitado particularmente en cuanto al método de medición (método inmunológico, método enzimático, etc.) o la constitución del reactivo siempre que el reactivo puede medir hemoglobina A1c en una muestra biológica. La medición de hemoglobina A1c se ha estandarizado por la Sociedad
10 Japonesa de Diabetes y sociedades relacionadas, y se prefieren mediciones que se ajusten a estos estándares. Por ejemplo, CinQ HbA1c (Arkray, Inc.) es un ejemplo que usa un método enzimático.

El kit para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer se usa para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer usando como indicador la relación (relación de glicoproteína/hemoglobina A1c) de la glicoproteína medida en una muestra biológica con el
15 reactivo de medición de glicoproteína contenido en el kit con respecto a la hemoglobina A1c medida en una muestra biológica con el reactivo de medición de hemoglobina A1c contenido en el kit. Como se ha discutido anteriormente, el riesgo se determina comparando la relación con un valor de límite para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer.

20 La muestra biológica que debe medirse en la presente invención es una muestra de sangre. Los ejemplos preferidos de líquidos de prueba incluyen componentes sanguíneos tales como suero, plasma, células sanguíneas, sangre completa, o glóbulos rojos aislados o similares. También puede usarse suero o plasma que se ha separado mediante métodos ordinarios. La muestra biológica puede obtenerse fácilmente mediante métodos ampliamente conocidos o
25 similares, y también puede ser una muestra biológica que se ha pretratado mediante métodos ordinarios.

La presente divulgación describe además, pero sin formar parte de la invención, un agente preventivo y/o de tratamiento para demencia o enfermedad de Alzheimer, que contiene como principio activo una sustancia seleccionada del grupo que consiste en los fármacos de tratamiento de la diabetes (fármacos hipoglucémicos, fármacos que mejoran la resistencia a la insulina, etc.) que tiene el efecto de al menos suprimir un aumento en la relación de
30 glicoproteína/hemoglobina A1c.

La presente divulgación describe también un agente que inhibe el estrés oxidativo, que contiene como principio activo una sustancia que tiene el efecto de suprimir la producción de al menos una sustancia seleccionada del grupo que
35 consiste en glicoproteína, hemoglobina A1c y la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c.

La presente divulgación describe también un agente que reduce la glucosa en sangre, que contiene como principio activo una sustancia que tiene el efecto de suprimir la expresión de al menos una seleccionada del grupo que consiste en glicoproteína, hemoglobina A1c y la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c.
40

Estos agentes pueden usarse como fármacos o como reactivos con fines experimentales.

Los ejemplos de la sustancia que tiene el efecto de suprimir la expresión de al menos una seleccionada del grupo que consiste en glicoproteína, hemoglobina A1c y la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c incluyen ácido úrico, fármacos que reducen el ácido úrico tales como inhibidores de xantina oxidasa, fármacos hipoglucémicos tales como metformina, inhibidores de SGLT2, pioglitazona e inhibidores de DPP4, y mejoradores de la resistencia a la insulina. También pueden usarse del mismo modo diversos compuestos que promueven la proliferación de células β
45 pancreáticas, e insulina y derivados de insulina.

50 Puede usarse una clase de sustancia que tiene el efecto de suprimir la expresión de al menos una seleccionada del grupo que consiste en glicoproteína, hemoglobina A1c y la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c, o pueden combinarse múltiples clases.

Una sustancia que tiene el efecto de suprimir la expresión de al menos una seleccionada del grupo que consiste en glicoproteína, hemoglobina A1c y la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c puede administrarse por vía oral o por vía no oral a un mamífero (tal como un humano, conejo, perro, gato, rata o ratón), ya sea sola o como composición farmacéutica en una forma de dosificación apropiada. La dosificación difiere dependiendo de la diana de administración, el tipo de enfermedad, los síntomas, la vía de administración y similares, pero, por ejemplo, en el caso de un adulto, la sustancia que tiene el efecto de suprimir la expresión de al menos una seleccionada del grupo que
60 consiste en glicoproteína, hemoglobina A1c y la relación de glicoproteína/hemoglobina A1c puede administrarse en la cantidad de normalmente de manera aproximada de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal, o preferiblemente de manera aproximada de 0,5 a 50 mg/kg de peso corporal como dosis única aproximadamente de 1 a 2 veces al mes, y preferiblemente la misma dosis puede administrarse durante de 2 a 3 días consecutivamente al principio del tratamiento. Una dosis correspondiente puede administrarse en el caso de otra administración no oral u oral. La dosis
65 también puede aumentarse según los síntomas cuando los síntomas son particularmente graves.

Una composición para administración oral puede estar en una forma de dosificación sólida o líquida, y los ejemplos específicos incluyen comprimidos (incluyendo comprimidos recubiertos con azúcar y comprimidos recubiertos con película), pastillas, gránulos, polvos, cápsulas (incluyendo cápsulas blandas), jarabes, emulsiones, suspensiones y similares. Una composición de este tipo puede fabricarse mediante métodos ordinarios, y puede contener portadores, diluyentes o excipientes usados comúnmente en el campo farmacéutico. Los ejemplos de portadores y excipientes farmacéuticos incluyen lactosa, almidón, sacarosa, estearato de magnesio y similares.

Los ejemplos de composiciones para administración no oral incluyen inyecciones, supositorios y similares, y una inyección puede estar en forma de una inyección intravenosa, inyección subcutánea, inyección intradérmica, inyección intramuscular, inyección gota a gota o similar. Una inyección de este tipo puede prepararse disolviendo, suspendiendo o emulsionando una sustancia que tiene el efecto de suprimir la expresión de al menos una seleccionada del grupo que consiste en glicolalbúmina, hemoglobina A1c y la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c en un líquido oleoso o acuoso estéril usando comúnmente para inyecciones. Los ejemplos de líquidos acuosos para inyección incluyen solución salina fisiológica y líquidos isotónicos que contienen glucosa y otros adyuvantes, y también puede incluirse un agente de solubilización adecuado tal como un alcohol (tal como etanol), polialcohol (tal como propilenglicol o polietilenglicol), tensioactivo no iónico (tal como polisorbato 80 o HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado)) o similar. Los ejemplos de líquidos oleosos incluyen aceite de sésamo y aceite de soja, y también puede incluirse benzoato de bencilo, alcohol bencílico o similar como agente de solubilización. La inyección preparada se llena en una ampolla común adecuada. Un supositorio para administración rectal puede prepararse mezclando la sustancia que tiene el efecto de suprimir la expresión de Smad1 con una base de supositorio adecuada.

Esta composición farmacológica oral o no oral puede prepararse en una forma de dosificación unitaria adecuada para la dosis administrada del principio activo. Los ejemplos de formas de dosificación unitarias incluyen comprimidos, pastillas, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios y similares.

Además, esta composición farmacológica puede contener también otros principios activos en la medida que estos no provoquen interacciones no deseadas cuando se combinan con la sustancia que tiene el efecto de suprimir la expresión de al menos una seleccionada del grupo que consiste en glicolalbúmina, hemoglobina A1c y la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c.

Para cribar compuestos candidatos a partir de estudios clínicos, la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c se diagnostica en casos objetivo de diabetes, se hace un seguimiento de la tolerancia a la glucosa alterada (IGT) y la glicemia en ayunas alterada (IFG), los fármacos administrados y factores ambientales tales como el ejercicio y la dieta a lo largo de todo el periodo de investigación, y la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c se mide durante un periodo de al menos un año tras el inicio del seguimiento. Los fármacos que mediante el análisis de método de frecuencia se muestra que reducen el nivel de glicolalbúmina/hemoglobina A1c en estos casos objetivo se someten a reposición farmacológica y se evalúan como compuestos que presentan efectividad en el tratamiento o la prevención de demencia o enfermedad de Alzheimer, o como compuestos simiente para su uso potencial como principios activos en fármacos para tratar o prevenir la demencia o enfermedad de Alzheimer.

La presente invención se explica en más detalle a continuación usando ejemplos, pero la presente invención no está limitada a estos ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1

Relaciones de peligro para la aparición de enfermedad de Alzheimer según los niveles de indicadores asociados con la glucosa en sangre

De los residentes con edades de 65 y mayores que recibieron un chequeo cardiovascular en Hisayama-machi en 2007, se hizo un seguimiento prospectivo de 1.187 individuos sin demencia durante 5 años. Los sujetos se separaron en 4 cuartiles (Q1 a Q4) según sus niveles de hemoglobina A1c, glicolalbúmina y 1,5-anhidroglucitol y relaciones de glicolalbúmina/hemoglobina A1c. El punto final era la aparición de enfermedad de Alzheimer o demencia vascular. Se usó el modelo de peligro proporcional de Cox para calcular la relación de peligro (HR). La enfermedad de Alzheimer se diagnosticó mediante los criterios de diagnóstico del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares y la Asociación de la Enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados (NINCDS-ADRDA) (documento no de patente 2: Guy McKhann *et al.*, Clinical diagnosis of Alzheimer's disease, Neurology 1984, 34:939-944), y la demencia vascular mediante el estándar clínico del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Accidentes Cerebrovasculares y la Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences (NINDS-AIREN) (Roman GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T *et al.*, Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies: report of the NINDS-AIREN International Workshop, Neurology 1993, 43:250-260).

Las siguientes condiciones 1) a 4) tienen que cumplirse con el fin de que un sujeto se diagnostique con enfermedad de Alzheimer según los criterios de diagnóstico del NINCDS-ADRDA.

1) Cumple los criterios de diagnóstico para el examen clínico (enfermedad de Alzheimer probable)

2) Se confirma deterioro progresivo o similar de la función cognitiva específica, y los hallazgos respaldan la enfermedad de Alzheimer

3) Hay otras características clínicas consistentes con enfermedad de Alzheimer probable una vez que se han excluido causas de demencia distintas de enfermedad de Alzheimer

4) Los casos en los que el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable es dudoso, o pacientes con características que no coinciden con enfermedad de Alzheimer probable se excluyen del diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable.

En este estudio, también se realizó una obtención de imágenes craneales (TC/IRM) para obtener hallazgos (véase 2 anterior) que respaldasen el diagnóstico según NINCDS-ADRDA de enfermedad de Alzheimer probable. Específicamente, los pacientes que no presentaban lesiones orgánicas claras típicas de enfermedad cerebral vascular y que presentaban cerebral atrofia (especialmente de manera interna, en la regiones de lóbulo temporal y parietal) se diagnosticaron con enfermedad de Alzheimer probable.

El 91,4% de los diagnósticos de enfermedad de Alzheimer en el estudio actual fueron casos de enfermedad de Alzheimer probable según NINCDS-ADRDA, e incluían algunos sujetos que murieron durante el periodo de seguimiento y recibieron un diagnóstico concluyente de enfermedad de Alzheimer definitiva en base a una autopsia. Es decir, el "91,4%" son sujetos que:

1) Cumplen con los criterios de diagnóstico para el examen clínico (enfermedad de Alzheimer probable), es decir:

- Demencia encontrada en pruebas clínicas y pruebas mediante el miniexamen del estado mental (MMSE), la escala de demencia de Blessed o similar, y confirmada mediante pruebas neuropsicológicas
- Déficits en dos o más áreas cognitivas
- Declive progresivo en la memoria y otras funciones cognitivas
- Consciencia no deteriorada
- Aparición a la edad de 40 a 90, lo más común tras la edad de 65
- Deterioro de memoria y cognitivo progresivo no atribuible a ninguna otra enfermedad sistémica o cerebral.

2) Hallazgos de respaldo son:

- Deterioro progresivo en funciones cognitivas específicas: deterioro del lenguaje (afasia), deterioro del comportamiento (apraxia), reconocimiento deteriorado (agnosia) y deterioro de otras actividades de la vida diaria (AVD), cambios en patrones de comportamiento, historial familiar de deterioro similar, especialmente cuando hay confirmación neuropatológica, y
- Como hallazgo de prueba clínica, la atrofia cerebral o similar se confirma mediante "obtención de imágenes craneales", o en otras palabras mediante TC/MIR o similar.

3) Hay otras características clínicas consistentes con el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable una vez que se han excluido causas de demencia distintas de enfermedad de Alzheimer

4) No hay características que cuestionen el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable, o que no sean características de enfermedad de Alzheimer probable.

Con respecto al rango de edad facilitado en el criterio de diagnóstico 1) para el examen clínico (enfermedad de Alzheimer probable), este se reinterpreto como "aparición a la edad de 40 o mayor" para los fines del diagnóstico, porque podían incluirse los sujetos que habían desarrollado enfermedad de Alzheimer a la edad de 90 o mayor.

Finalmente, se diagnosticó enfermedad de Alzheimer probable tras un examen en detalle del historial médico y de la sintomatología del sujeto.

El 8,6% restante de sujetos diagnosticados con enfermedad de Alzheimer era un grupo de sujetos que no pudieron examinarse mediante obtención de imágenes craneales, pero que fueron diagnosticados con enfermedad de Alzheimer basándose en el historial médico y la sintomatología (síntomas actuales), y que estuvieron muy cerca de cumplir los criterios de NINCDS-ADRDA para la enfermedad de Alzheimer probable. Más específicamente, aunque los hallazgos de pruebas clínicas se han establecido como hallazgos de respaldo para un diagnóstico según NINCDS-ADRDA de enfermedad de Alzheimer probable, el “8,6%” eran aquellos que fueron diagnosticados con enfermedad de Alzheimer tras una investigación detallada del “historial médico” y de la “sintomatología”, porque no pudo realizarse una obtención de imágenes IRM aunque cumplieran todas las demás condiciones. “Historial médico” significa en este caso el historial de enfermedades previas y el historial de las enfermedades actuales. Síntomas significa en este caso cambios patológicos que aparecen en el cuerpo, y la sintomatología en el caso de la sintomatología de la enfermedad de Alzheimer es un campo de la medicina y es una metodología para definir, clasificar e interpretar las diversas quejas y hallazgos de exámenes médicos (y síntomas) de un paciente.

En otras palabras, los factores más importantes en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer son el “historial médico” y la “sintomatología” (síntomas presentados), y la recogida de los mismos se enfatiza en el presente estudio. Además, se recogieron otros datos clínicos en la medida de lo posible y se realizó una obtención de imágenes craneales para respaldar el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer probable, y cuando el sujeto murió se realizó una autopsia para obtener un diagnóstico final de enfermedad de Alzheimer definitiva, completando de ese modo un diagnóstico de enfermedad de Alzheimer de 3 fases.

Durante el periodo de seguimiento 116 sujetos desarrollaron enfermedad de Alzheimer y 43 desarrollaron demencia vascular. Las incidencias (ajustadas al sexo y a la edad) de enfermedad de Alzheimer y demencia vascular se investigaron frente a los niveles de cada indicador asociado con la glucosa en sangre. Los resultados muestran que la incidencia de enfermedad de Alzheimer aumentó significativamente a medida que aumentaron los niveles de glicolalbúmina/hemoglobina A1c, y aunque no fuera significativo, se mostró la misma tendencia para glicolalbúmina. Sin embargo, no se mostró ninguna relación clara para hemoglobina A1c y 1,5-anhidroglucitol. No se mostró ninguna relación entre ninguno de estos indicadores asociados con la glucosa en sangre y la incidencia de demencia vascular. En un análisis multivariante, el ajuste de las variables de sexo, edad, hipertensión arterial, colesterol total, categoría de índice de masa corporal (IMC, obesidad) (peso corporal bajo, peso corporal normal, obeso), el historial de accidente cerebrovascular, educación, consumo de alcohol, tabaquismo y hábitos de ejercicio no tuvo ningún efecto sobre la relación positiva significativa entre el nivel de glicolalbúmina/hemoglobina A1c y la enfermedad de Alzheimer (tendencia $p = 0,01$), y la relación de peligro para la incidencia de enfermedad de Alzheimer era significativamente mayor tanto en el grupo Q3 (2,1) como en el grupo Q4 (2,0) en comparación con el grupo Q1 (Fig. 1, $p < 0,05$).

Estos resultados muestran que la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c es un biomarcador asociado con la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, y que el peligro de desarrollar enfermedad de Alzheimer es significativamente mayor cuando el nivel de glicolalbúmina/hemoglobina A1c es de 2,83 o más, o en otras palabras que la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer puede determinarse usando el nivel de glicolalbúmina/hemoglobina A1c como indicador.

Esto también muestra que el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer puede determinarse basándose en resultados de medición obtenidos con un kit de medición de glicolalbúmina comercial y un kit o dispositivo de medición de hemoglobina A1c, y que puede proporcionarse un kit o dispositivo para determinar el riesgo de enfermedad de Alzheimer.

Ejemplo 2

Relaciones de peligro de niveles de indicadores asociados con la glucosa en sangre para enfermedad de Alzheimer según la presencia o ausencia de metabolismo de glucosa anómalo

Las relaciones de peligro (tras el ajuste multivariante) de cada nivel de indicador asociado con la glucosa en sangre en la aparición de enfermedad de Alzheimer se calcularon dependiendo de la presencia o ausencia de metabolismo de glucosa anómalo (diabetes + prediabetes) en las mismas condiciones que en el ejemplo 1. Como resultado, en el grupo sin metabolismo de glucosa anómalo, los grupos de relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c alta (Q3 y Q4) tenían relaciones de peligro significativamente mayores (1,82, $p = 0,03$) para la aparición de enfermedad de Alzheimer que los grupos de relación baja (Q1 y Q2), y se observó la misma tendencia en el grupo con metabolismo de glucosa anómalo (Fig. 2, relación de peligro 1,7, $p = 0,07$). Sin embargo, no se encontró ninguna relación significativa entre la aparición de enfermedad de Alzheimer y la hemoglobina A1c, la glicolalbúmina o el 1,5-anhidroglucitol independientemente de si había metabolismo de glucosa anómalo ($p > 0,1$ en todos los casos). No hubo interacciones entre los niveles de indicadores asociados con la glucosa en sangre y el metabolismo de glucosa anómalo.

Estos resultados muestran que la relación de glicolalbúmina/hemoglobina A1c puede usarse para determinar la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer incluso en sujetos sin metabolismo de glucosa anómalo.

Dado que la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer puede determinarse basándose en resultados de medición obtenidos con un kit o dispositivo de medición de glicocalbúmina comercial y un kit o dispositivo de medición de hemoglobina A1c comercial como en el ejemplo 1, la presente invención puede proporcionar claramente el uso de un kit y dispositivo para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer.

Ejemplo 3

Cálculo de los valores de límite para los niveles de glicocalbúmina/hemoglobina A1c en la aparición de enfermedad de Alzheimer

Se determinaron los valores de límite y la sensibilidad/especificidad de glicocalbúmina y los niveles de glicocalbúmina/hemoglobina A1c para la aparición de enfermedad de Alzheimer usando análisis ROC (curva de características operativas del receptor) en las mismas condiciones que en el ejemplo 1. Los resultados se muestran en la tabla 1.

[Tabla 1]

Tabla 1: Valores de límite para indicadores asociados con la glucosa en sangre en la aparición de enfermedad de Alzheimer (1.187 residentes de Hisayama con edad de 65 y mayor, 2007-2012, análisis ROC)

Indicador asociado a glucosa en sangre	Valor de límite	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
GA	15,8%	55,2%	59,9%
GA/HbA1c	2,85	65,5%	53,3%

Como se muestra en la tabla 1, el valor de límite de la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c para detectar enfermedad de Alzheimer es de 2,85, con una sensibilidad del 65,5% y una especificidad del 53,3%. Estos resultados muestran que la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c es un biomarcador para la enfermedad de Alzheimer, y que puede predecirse la presencia o ausencia de enfermedad de Alzheimer o puede determinarse la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer usando un valor de límite para detectar la incidencia de o la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, o en otras palabras que pueden realizarse muchas pruebas de una vez de manera fácil y barata sin el diagnóstico y las pruebas avanzadas y complejos usados en el pasado.

Esto también muestra, de manera similar al ejemplo 1, que el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer puede determinarse basándose en resultados de medición obtenidos con un kit o dispositivo de medición de glicocalbúmina comercial y un kit o dispositivo de medición de hemoglobina A1c comercial, y que un uso de un kit o dispositivo para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer puede proporcionarse mediante la presente invención.

En este ejemplo 3, la presencia o ausencia de enfermedad de Alzheimer puede predecirse usando la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c como indicador, por ejemplo. Específicamente, si la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c es de al menos 2,85, puede considerarse que la probabilidad de que esté presente enfermedad de Alzheimer es alta, mientras que si es de menos de 2,85, puede considerarse que la probabilidad es baja. Si es de al menos 2,85, el paciente puede diagnosticarse entonces con enfermedad de Alzheimer usando obtención de imágenes cerebrales que requiere equipo caro, pruebas de líquido cefalorraquídeo invasivas, o los criterios de diagnóstico complejos de NINCDS-ADRDA o similares, y puede iniciarse el tratamiento según sea necesario. Esto significa que con la presente invención puede predecirse la probabilidad de enfermedad de Alzheimer de manera fácil y barata sin la necesidad de obtención de imágenes cerebrales que requiere equipo caro, pruebas de líquido cefalorraquídeo invasivas o diagnósticos de enfermedad de Alzheimer elaborados y complejos.

Además, incluso si se ha considerado que un sujeto no tiene enfermedad de Alzheimer basándose en un diagnóstico de enfermedad de Alzheimer detallado de este tipo, un sujeto con una relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c de al menos 2,85 tiene una alta probabilidad de desarrollar enfermedad de Alzheimer en el futuro. En consecuencia, con la presente invención puede predecirse la probabilidad de desarrollar enfermedad de Alzheimer en el futuro y puede prevenirse la aparición futura de manera fácil y barata sin usar obtención de imágenes cerebrales que requiere equipo caro, pruebas de líquido cefalorraquídeo invasivas, o los criterios de diagnóstico complejos de NINCDS-ADRDA o similares, y los pacientes pueden recibir una orientación de salud necesaria y tomar medidas para prevenir la aparición.

Aplicabilidad industrial

En la presente invención, la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer puede determinarse de manera fácil, rápida y barata midiendo la glicocalbúmina y la hemoglobina A1c y determinando la relación de glicocalbúmina/hemoglobina A1c.

El método de la presente invención es útil para pruebas clínicas es útil para la evaluación del riesgo de enfermedad de Alzheimer.

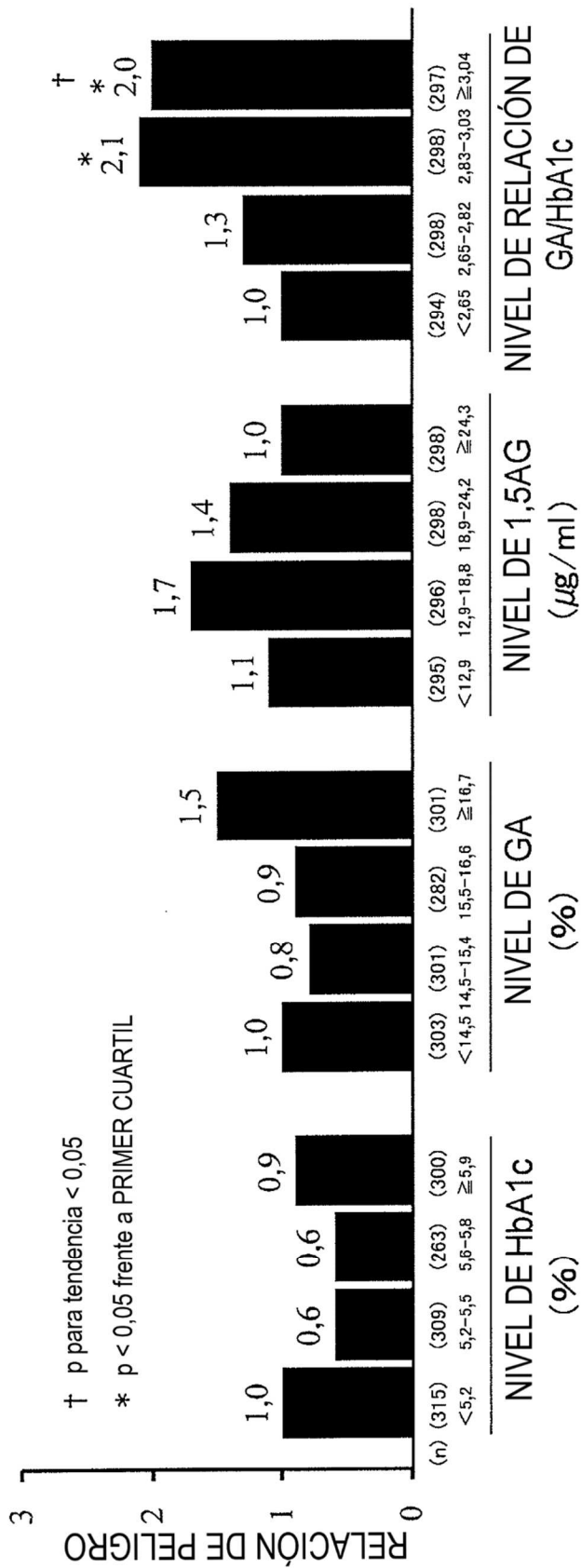
5 Lista de signos de referencia

- | | | |
|----|----|-----------------------------------|
| | 10 | dispositivo de muestras de sangre |
| | 11 | dispositivo de entrada |
| | 12 | parte de entrada |
| 10 | 13 | parte de memoria |
| | 14 | parte de cálculo |
| | 15 | parte de evaluación |
| | 16 | parte de salida |
| | 17 | dispositivo de salida |
| 15 | | |

REIVINDICACIONES

- 1.- Un método para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, que comprende una etapa de determinar que un sujeto corre el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer cuando una relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c en una muestra de sangre del sujeto es de al menos 2,6.
5
- 2.- El método según la reivindicación 1, en el que la muestra de sangre se somete a las siguientes etapas (1) a (3) antes de la etapa de determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer:
10 1) medir la gliccoalbúmina y la hemoglobina A1c en la muestra de sangre del sujeto;
 2) usar los valores de medición obtenidos en la etapa 1) para calcular la relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c;
15 3) comparar la relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c obtenida en la etapa 2) con un valor de límite para predecir la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer.
20
- 3.- Un método según la reivindicación 1 o 2, en el que la relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c es de al menos 2,85.
20
- 4.- Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el sujeto no sufre de deterioro cognitivo leve (DCL).
25
- 5.- Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el sujeto no sufre de demencia vascular.
25
- 6.- Uso de un biomarcador para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer, en el que el biomarcador es una relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c, y en el que se determina que un sujeto corre el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer cuando la relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c en una muestra de sangre del sujeto es de al menos 2,6.
30
- 7.- Uso de un dispositivo en un método para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el dispositivo tiene:
35 (a) una unidad de cálculo para calcular una relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c basándose en valores de medición para gliccoalbúmina y hemoglobina A1c; y
 (b) una parte de evaluación para evaluar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer basándose en la relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c calculada.
40
- 8.- El uso de un dispositivo según la reivindicación 7, en el que el dispositivo tiene además una parte de medición para gliccoalbúmina y/o una parte de medición para hemoglobina A1c.
45
- 9.- Uso de un kit en un método para determinar la existencia o no existencia de un riesgo de desarrollo de enfermedad de Alzheimer según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el kit comprende un reactivo de medición de gliccoalbúmina y un reactivo de medición de hemoglobina A1c, y un manual que establece que se determina que un sujeto corre el riesgo de desarrollar enfermedad de Alzheimer cuando una relación de gliccoalbúmina/hemoglobina A1c es de al menos 2,6.

Fig. 1
RELACIONES DE PELIGRO PARA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER SEGÚN LOS NIVELES DE
INDICADORES ASOCIADOS CON LA GLUCOSA EN SANGRE
1.187 RESIDENTES DE HISAYAMA-MACHI CON EDAD DE 65 Y MAYOR, 2007-2012, AJUSTE MULTIVARIANTE



GA: GLICOALBÚMINA, 1,5-AG: 1,5-ANHIDROGLUCITOL

FACTORES AJUSTADOS: SEXO, EDAD, HIPERTENSIÓN ARTERIAL, COLESTEROL TOTAL, CATEGORÍA DE IMC (PESO CORPORAL BAJO, PESO CORPORAL NORMAL, OBESO), HISTORIAL DE ACCIDENTE CEREBROVASCULAR, EDUCACIÓN, CONSUMO DE ALCOHOL, TABAQUISMO, HÁBITOS DE EJERCICIO

Fig. 2
RELACIONES DE PELIGRO DE NIVELES DE INDICADORES ASOCIADOS CON LA GLUCOSA EN SANGRE
PARA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER SEGÚN LA PRESENCIA O AUSENCIA DE METABOLISMO DE
GLUCOSA ANÓMALO

1.187 RESIDENTES DE HISAYAMA MACHI CON EDAD DE 65 Y MAYOR, 2007-2012, AJUSTE MULTIVARIANTE

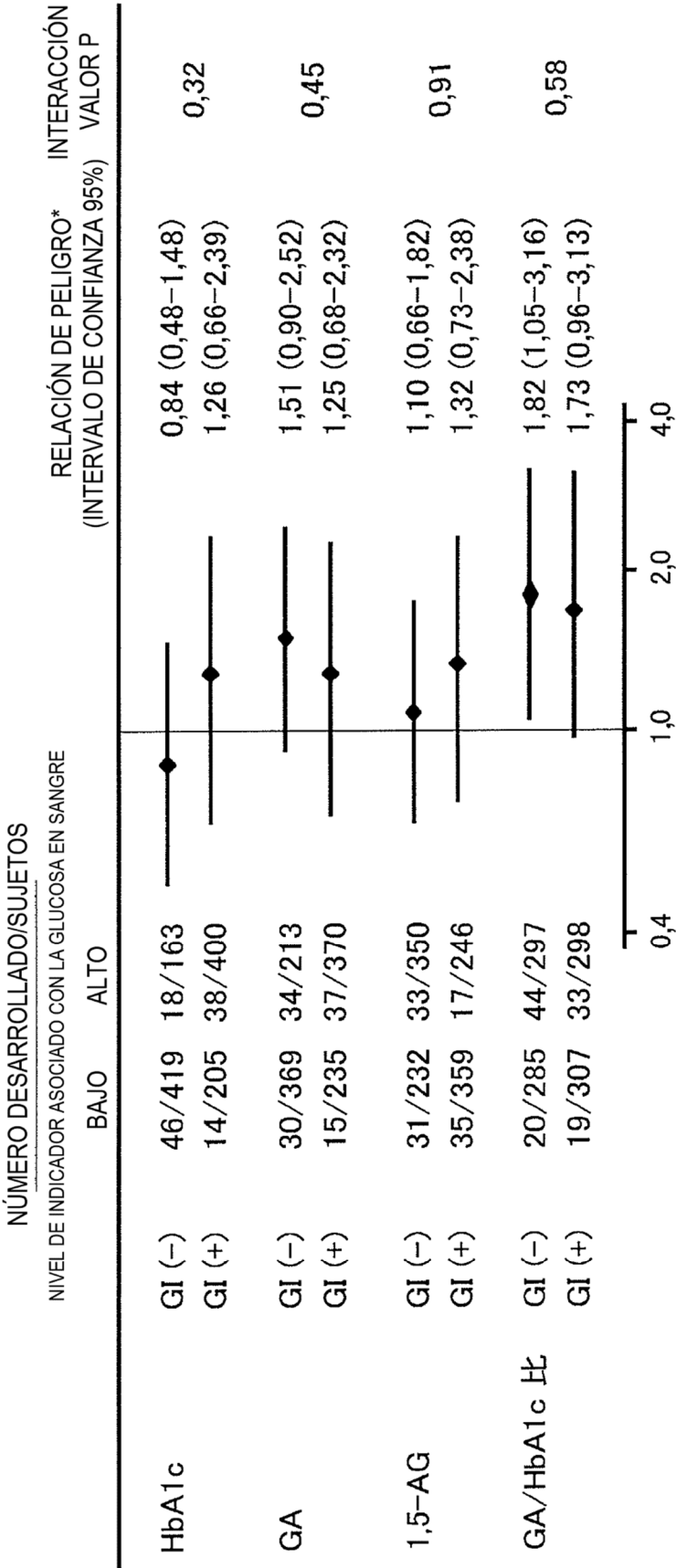


Fig. 3

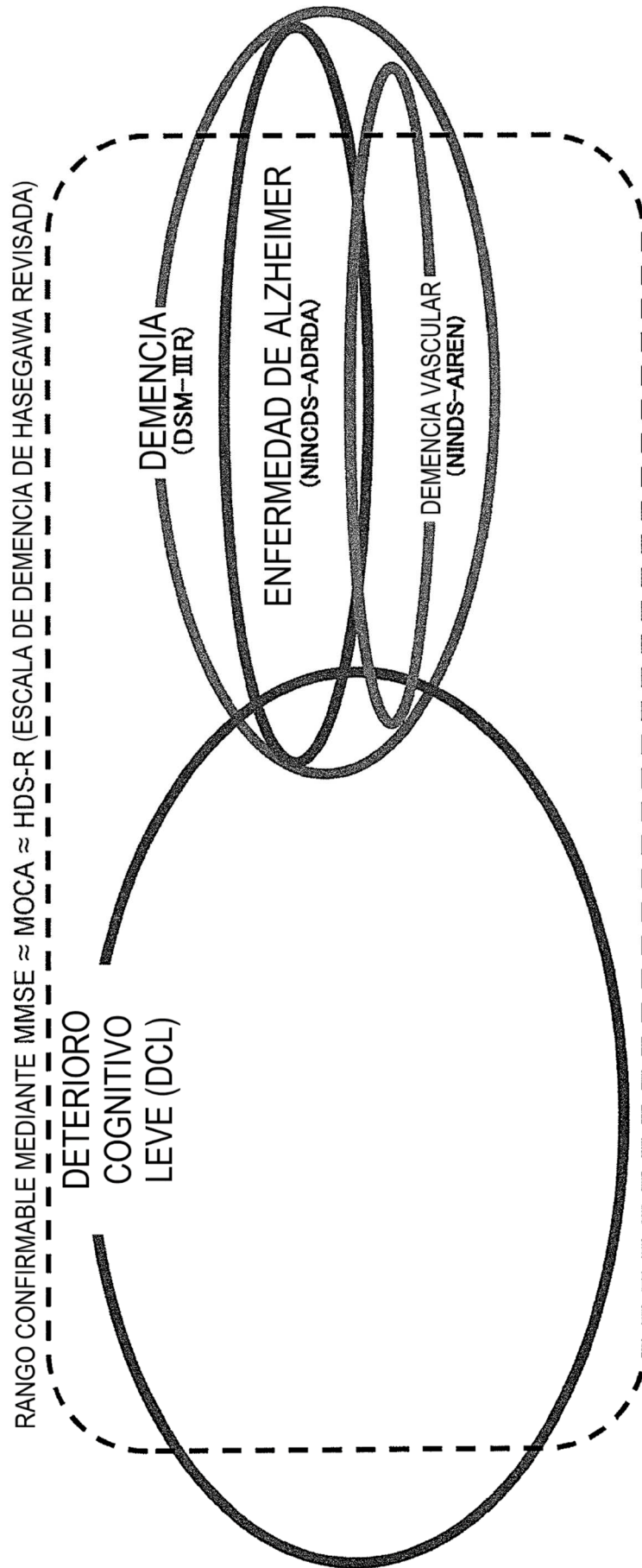
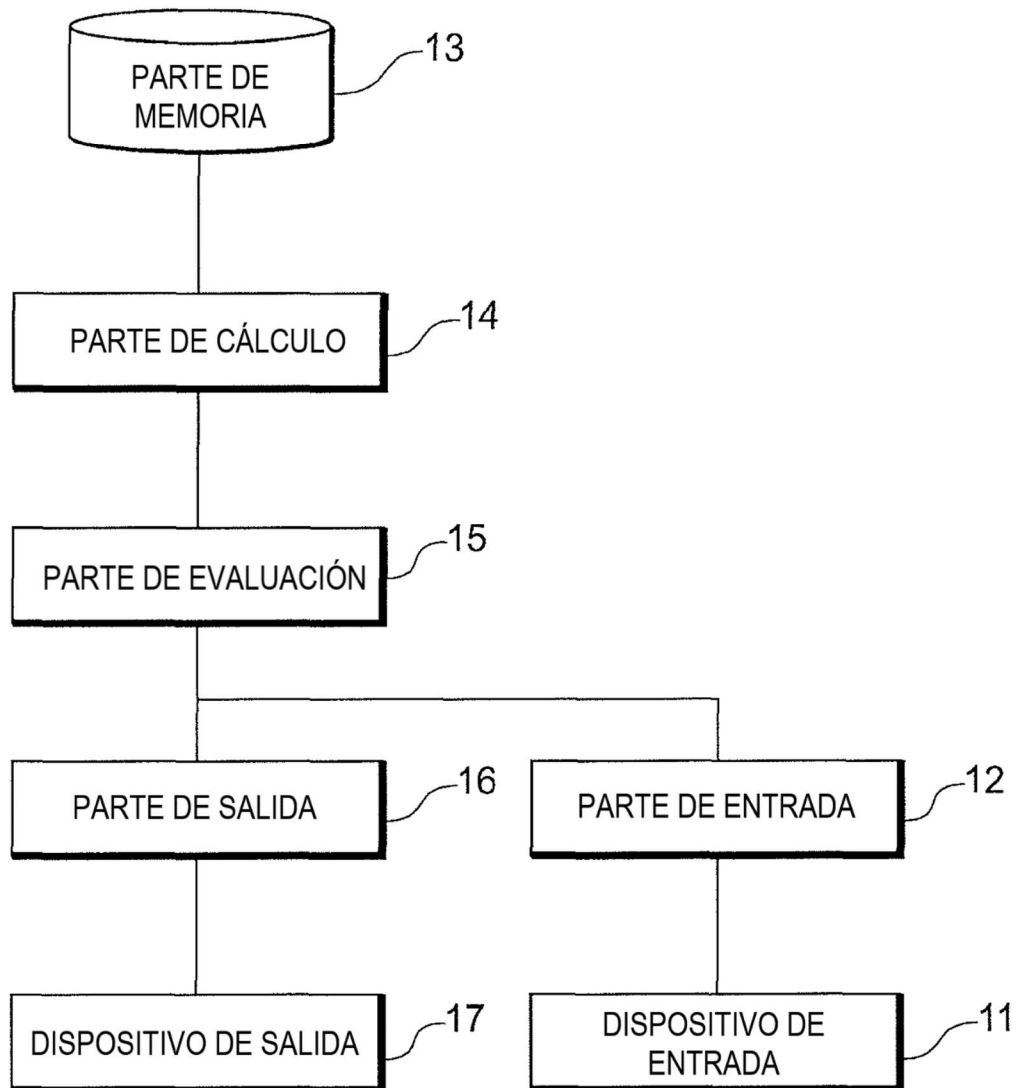


Fig. 4



10