

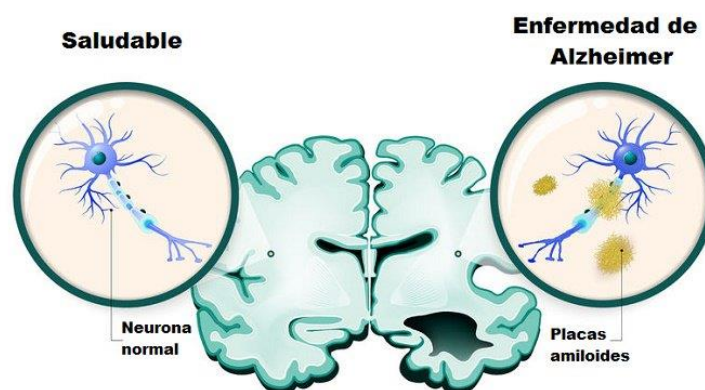
## FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

# BIOMARCADORES ESPECÍFICOS PARA LA DETECCIÓN PRECOZ DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Memoria de Trabajo Fin de Grado  
Sant Joan d'Alacant

Junio 2018



**Autor:** Pedro David Santos Pozo

**Modalidad:** Revisión sistemática

**Tutores:** José Ricardo Nalda Molina y Amelia Ramón López

## RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por: depósitos extracelulares de péptido  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), ovillos neurofibrilares compuestos de proteínas tau y por la degeneración neuronal. La EA se diagnostica principalmente por tests cognitivos y por técnicas de imagen, lo cual tiene inconvenientes como que los tests pueden dar resultados relativos y las técnicas de imagen pueden provocar efectos adversos y radiación y además tienen un coste relativamente alto. Por esos motivos se están estudiando otras pruebas como las pruebas analíticas de fluidos corporales para la **detección temprana** de biomarcadores específicos de la EA. Detectar la EA en estadios precoces proporciona una **mejoría temporal de los síntomas** y una mejoría en la **calidad de vida** de los pacientes y de sus cuidadores.

La utilidad de esta revisión sistemática es reunir **biomarcadores específicos** de la EA de cualquier fluido corporal y que pueda cuantificarse mediante técnicas de detección bioquímica, y que además se detecten los biomarcadores en **estadios precoces** de la EA.

Con la revisión de los artículos, se analizaron las muestras de un total de 1173 pacientes, los cuales aproximadamente tenían un promedio de edad de 71 años, un 50% eran mujeres y se incluyeron a personas de razas distintas.

En todos los artículos que analizaban el LCR se observó una **disminución de  $\beta$ -amiloide** y un **aumento de las proteínas tau**, lo cual tiene una **correlación con la EA**. También se analizaron biomarcadores del LCR relacionados con la neurodegeneración, los cuales están aumentados en pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL), como son la neurogranina (Ng) y el sTREM2.

En los artículos que analizaban el plasma se detectó un aumento en la concentración de  **$\beta$ -amiloide** y de las **proteínas tau**. Por otro lado, también se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de sAPP- $\beta$  y de SIRT1 (biomarcadores de neurodegeneración) entre personas con DCL y personas sanas.

Con esta revisión se observan grandes posibilidades de **detectar precozmente** a pacientes con DCL que desarrollarán la EA mediante el **análisis de fluidos** corporales: sangre y LCR. Se necesitaría estudiar más los biomarcadores para asegurar los resultados, mejorar la precisión y **estandarizar los límites de las concentraciones** de los biomarcadores. Sobre todo, la ampliación de estudios de biomarcadores en sangre ya que presenta menor riesgo que el análisis del LCR.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	4
MATERIAL Y MÉTODOS .....	7
RESULTADOS .....	8
DISCUSIÓN .....	12
CONCLUSIONES .....	16
BIBLIOGRAFÍA .....	16
Anexo 1 .....	20



## INTRODUCCIÓN

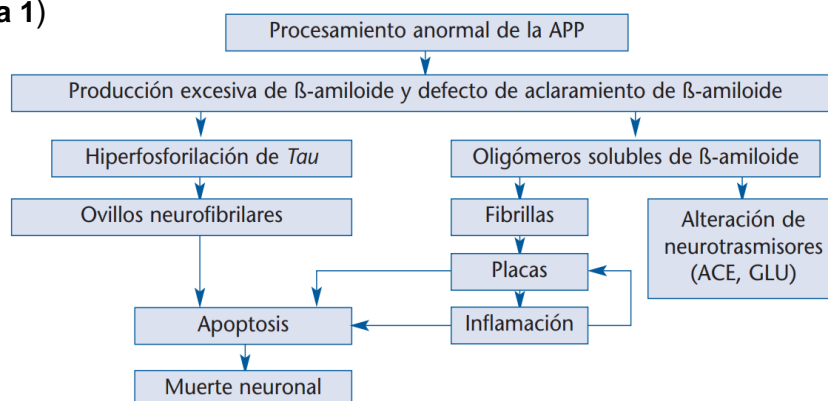
La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma **más común** de demencia, que representa más del 50% de las demencias estimadas en el mundo<sup>1,2</sup>.

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por tener síntomas iniciales tales como: percepción subjetiva de pérdida real de memoria, dificultad reiterada para recordar hechos de cierta importancia, ligera desorientación temporal y espacial, dificultad para nuevos aprendizajes que requieran procedimientos razonados y con cierta complejidad, así como para adaptarse a nuevos entornos y/o ambientes, ligeras alteraciones en el uso del lenguaje, ligeras dificultades en la escritura, dificultad para el cálculo, cambios de personalidad y de carácter que dificultan su trato y manejo, alteraciones en el estado de ánimo y comportamiento, etc<sup>3</sup>.

Actualmente se encuentra en marcha un esfuerzo mundial para encontrar mejores vías para tratar la enfermedad, ralentizar su avance, retrasar su establecimiento y **prevenir que se desarrolle**<sup>4</sup>.

Aunque los tratamientos actuales para la enfermedad de Alzheimer no pueden detener el avance de la enfermedad, pueden proporcionar una **mejoría temporal de los síntomas** y por consiguiente una **mejoría en la calidad de vida** de los pacientes y de sus cuidadores.

Desde el punto de vista bioquímico, la EA se caracteriza por: los depósitos extracelulares de péptido  **$\beta$ -amiloide** ( $A\beta$ ) en forma de placas seniles en la corteza cerebral (el péptido  $A\beta$  más propenso a la agregación es que el posee 42 aminoácidos [ $A\beta_{42}$ ]), los ovillos neurofibrilares compuestos de **proteínas tau** (T-tau), en especial tau fosforilada (P-tau), y por la **degeneración neuronal**<sup>5,6</sup> (ver **Figura 1**)



**Figura 1:** Etiología de la enfermedad de Alzheimer<sup>7</sup>

Los dos pilares fundamentales para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer son la **neuroimagen** y los **test neurocognitivos**<sup>8</sup>. A pesar de que las pruebas neurocognitivas están más extendidas, los resultados no dependen solo del grado de neurodegeneración, también tienen en cuenta factores como la educación, cultura y nivel socioeconómico, por lo que la interpretación de los test neurocognitivos requiere de mucha precaución y experiencia. Además, no debe ser la única información que se utiliza para llegar a un diagnóstico final de la enfermedad de Alzheimer<sup>5</sup>.

La neuroimagen proporciona datos estructurales o funcionales para un diagnóstico más objetivo de la enfermedad de Alzheimer. Por ejemplo, mediante el uso de imágenes de resonancia magnética, la atrofia del hipocampo puede ser identificada cualitativamente (calificación visual) o cuantitativamente (volumétricamente), y mediante la tomografía por emisión de positrones (PET) se muestran placas amiloides y ovillos neurofibrilares en los cerebros de los pacientes que sufren Alzheimer. Sin embargo, la neuroimagen tiene un **coste relativamente alto**, disponibilidad limitada<sup>2</sup> y efectos adversos. Estas deficiencias motivan el desarrollo de otras tecnologías para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer<sup>5</sup>, como puede ser la **detección de biomarcadores en fluidos corporales**. Además, los métodos de imagen no aportan un diagnóstico claro y efectivo para usar en las **primeras etapas de la EA**, es decir, en pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) que evolucionarán a EA<sup>9</sup>.

En pacientes con deterioro cognitivo leve, el descenso de los niveles del péptido A $\beta$ <sub>42</sub> y el aumento de los niveles de proteínas tau en el LCR consiguen una alta capacidad predictiva<sup>10</sup> y, actualmente, se consideran biomarcadores **relacionados con la fisiopatología de la enfermedad**<sup>11</sup>, tal como el *National Institute on Aging* y la *Alzheimer's Association* (NIA-AA) ha redefinido la EA para así establecer un marco común de investigación, con su actualización del 2018<sup>6</sup>.

Sin embargo, un diagnóstico **precoz** de la EA sigue siendo difícil porque los síntomas tempranos de la enfermedad son compartidos por otros trastornos como: degeneración lobular frontotemporal, demencia vascular, demencia con cuerpos de Lewis, parálisis supranuclear progresiva y esclerosis del hipocampo<sup>12</sup>.

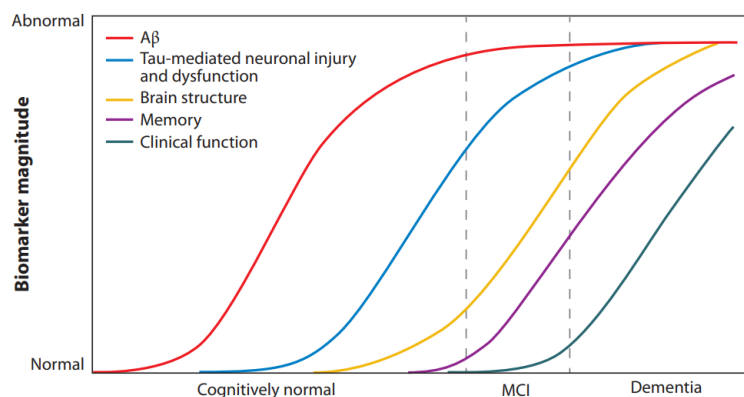
Actualmente se dispone de dos tipos de fármacos específicos para el tratamiento sintomático de la EA: los inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (IACE): rivastigmina, donepezilo y galantamina y un antagonista no competitivo de los receptores de N-metil D-Aspartato (NMDA): memantina<sup>13</sup>.

Para la detección temprana de biomarcadores de diagnóstico para pacientes con DCL, que desarrollarán la EA, se están estudiando también otras pruebas como las pruebas genéticas y las pruebas analíticas de fluidos corporales como: plasma, suero, orina y células sanguíneas<sup>9</sup>.

Adicionalmente, el diagnóstico de laboratorio de la EA se limita al análisis de 3 biomarcadores bien establecidos en el líquido cefalorraquídeo: A $\beta$ <sub>42</sub>, T-tau y P-tau<sup>14</sup>, los cuales son compartidos con la mayoría de los trastornos de similar sintomatología<sup>15</sup>.

Incluso, hay estudios que sugieren que A $\beta$ <sub>42</sub> en LCR disminuye sus niveles antes de que las placas amiloides puedan ser detectadas (ver **Figura 2**), pero hay que tener precaución con la edad de los pacientes ya que también disminuyen los niveles de A $\beta$ <sub>42</sub> en LCR a mayor edad del paciente<sup>16</sup>.

La utilidad de esta revisión sistemática es reunir **biomarcadores específicos** de la EA de cualquier fluido corporal y que pueda cuantificarse mediante técnicas de detección bioquímica con poca variabilidad en los resultados, y que además se detecten los biomarcadores en **estadios precoces** de la EA. Esto es posible ya que en la EA las placas amiloides (A $\beta$ <sub>42</sub>) y los ovillos neurofibrilares (P-tau y T-tau) se **producen décadas antes** de que aparezca la sintomatología clínica.



**Figura 2:** Estadio clínico de la enfermedad de Alzheimer <sup>17</sup>

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio descriptivo con un análisis crítico de los artículos recuperados para la revisión sistemática.

Todos los artículos que se revisaron (ver **Anexo 1**) se obtuvieron mediante una búsqueda en las bases de datos MEDLINE (vía PubMed) y en la Cochrane Library utilizando los descriptores MeSH (*Medical Subject Headings*), que es la terminología jerárquicamente organizada para catalogar e indizar la información biomédica, desarrollada por la *U.S. National Library of Medicine*. Se utilizaron los descriptores MeSH adecuados al objetivo del estudio, quedando la ecuación de búsqueda de la siguiente manera:

"Biomarkers"[Majr] AND "Alzheimer Disease/diagnosis"[Majr] Filters: Humans; English; Spanish.

La ecuación se adaptó para la búsqueda en la base de datos Cochrane Library.

Se utilizó "Alzheimer Disease/diagnosis" como Major Topic debido a la gran cantidad de enfermedades neurodegenerativas que cursan con demencia<sup>12</sup>, las cuales tienen gran similitud sintomática con la EA cuando los pacientes se encuentran con un deterioro cognitivo leve (DCL), ya que hasta que no se instaura la EA puede haber dudas en cuanto al diagnóstico. Por lo cual aparecen una gran cantidad de artículos indizados con el MeSH "Alzheimer Disease/diagnosis" que no profundizan en la enfermedad sino en otras demencias o artículos que la comparan con la EA, ya que la EA que es la demencia más común<sup>1,2</sup>. Por lo cual, se encontraron una gran cantidad de artículos que no eran específicos de Alzheimer y no cumplían con los objetivos de la revisión, por lo que se decidió usar "Alzheimer Disease/diagnosis" como Major Topic, para eliminar esos artículos.

Se utilizó "Biomarkers" como Major Topic debido a la gran cantidad de estudios relacionados con el péptido  $\beta$ -amiloide (biomarcador) en los cuales no se habla del biomarcador en profundidad sino de manera introductoria o para el diagnóstico de la EA **ya instaurada**, ya que actualmente la mejor manera de diagnosticar la EA es mediante la detección de placas  $\beta$ -amiloide mediante PET (técnica de imagen)<sup>2</sup>.

No se consideró apropiada una ampliación de la búsqueda debido a que se utilizaron Major Topics en la ecuación de búsqueda.

Se utilizaron como filtros: humanos e idiomas (inglés y español). No se utilizaron filtros para sexo y edad.

Para la obtención de una **mayor evidencia**, los artículos no debían tener una obsolescencia, medida por la mediana del número de artículos publicados por año, mayor a los 6 años de antigüedad (se cogieron a partir de la fecha de publicación: enero de 2012<sup>18</sup>), y debían ser **artículos originales**.

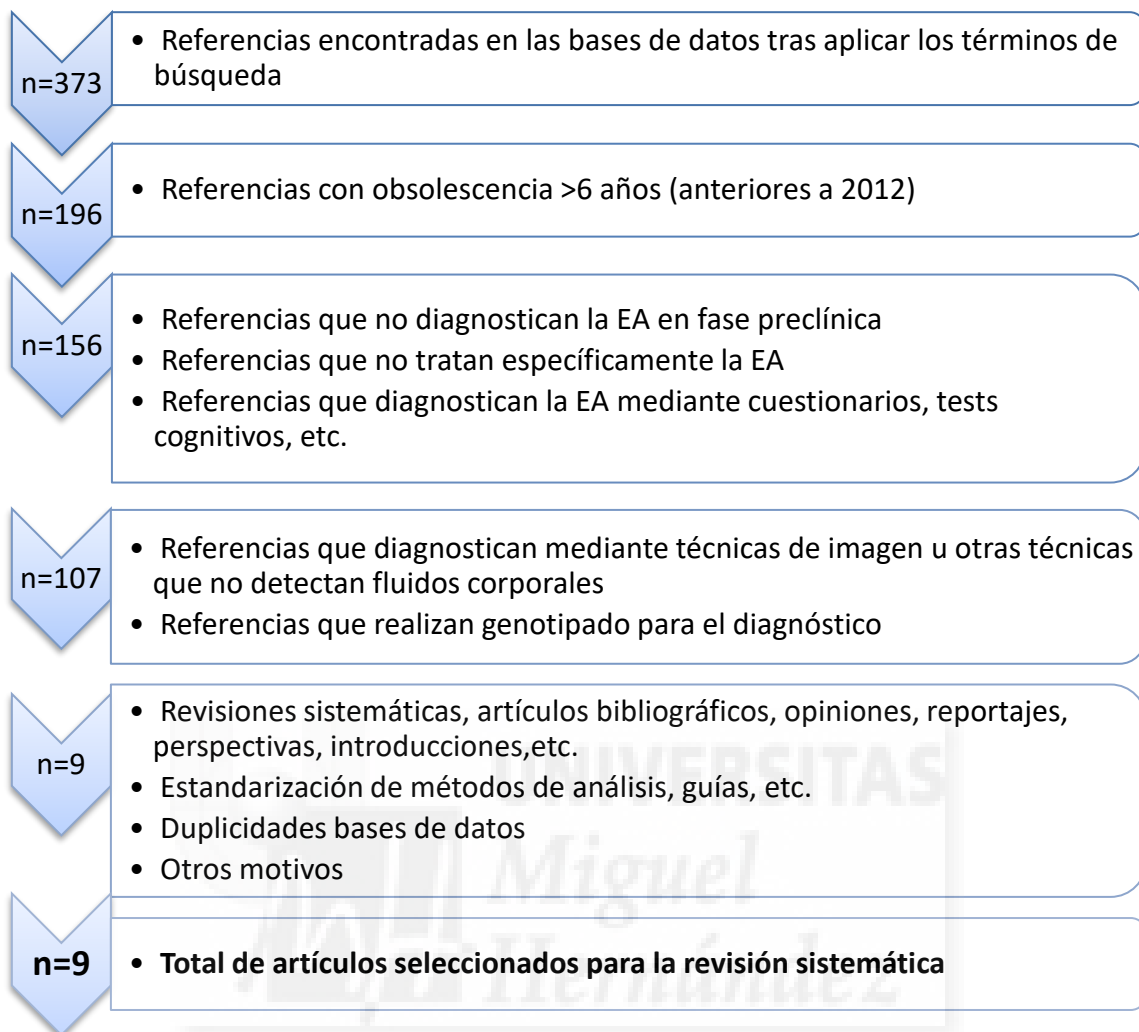
Además, debían de poder diagnosticar los biomarcadores mediante pruebas que cuantifiquen cualitativamente o cuantitativamente (análisis clínico, ELISA, Western Blot, etc.) productos bioquímicos de fluidos corporales tales como LCR, sangre, orina, etc.

Se excluyeron todos aquellos artículos que proponían un diagnóstico del Alzheimer mediante técnicas de imagen, técnicas que no detectan fluidos corporales, test cognitivos, cuestionarios, genotipado, los artículos duplicados entre bases de datos, artículos de opinión, guías para la estandarización de técnicas analíticas y aquellos artículos que no diagnosticaran la enfermedad **precozmente** (en fase preclínica o con DCL).

## RESULTADOS

Al aplicar los términos de búsqueda en la base de datos Cochrane Library y en MEDLINE, a través de PubMed, se encontraron un total de 373 referencias (última fecha consulta: 30/05/2018). Tras aplicar los criterios de inclusión y exclusión (ver **Figura 3**) quedaron 9 artículos para la realización de la revisión sistemática.





**Figura 3:** Diagrama de flujo de la selección de artículos mediante los criterios de inclusión y exclusión.

Con la revisión de los 9 artículos, se analizaron las muestras de un total de 1173 pacientes, los cuales aproximadamente tenían un promedio de edad de 71 años, un 50% eran mujeres y se incluyeron a personas de razas distintas.

De los artículos que analizan  $A\beta_{42}$ , T-tau y P-tau en LCR mediante la técnica ELISA: en dos artículos<sup>19,20</sup> se observan diferencias significativas en las concentraciones de los biomarcadores de pacientes con DCL y personas sanas; mientras que en otro artículo<sup>21</sup> se observan diferencias en las concentraciones de los biomarcadores, pero no son estadísticamente significativas.

**Tabla 1:** Resumen de las características de los artículos que analizan biomarcadores presentes en el LCR.

Artículo	Año	Fluido corporal	Tamaño muestra	Técnica	Biomarcador	Valor promedio pacientes con DCL	Valor promedio personas sanas	Valor p
Suárez-Calvet M, et al. <sup>19</sup>	2016	LCR	Sanos n=150	ELISA	sTREM2	5,98 ng/ml	3,07 ng/ml	0,002
			DCL n=111		A $\beta$ <sub>42</sub>	426 pg/ml	796 pg/ml	0,002
					T-tau	737 pg/ml	218 pg/ml	0,002
					P-tau	95 pg/ml	43 pg/ml	0,002
Kvartsberg H, et al. <sup>20</sup>	2015	LCR	Sanos n=40	ELISA	Ng	210 ng/ml	99 ng/ml	0,001
			DCL n=40		A $\beta$ <sub>42</sub>	569 pg/ml	946 pg/ml	0,001
					T-tau	402 pg/ml	239 pg/ml	0,001
					P-tau	59 pg/ml	40 pg/ml	0,001
Malnar M, et al. <sup>21</sup>	2012	LCR	Sanos n=11	ELISA	A $\beta$ <sub>42</sub>	543,1 pg/ml	802,1 pg/ml	<0,05
			DCL n=12		T-tau	364,6 pg/ml	191,2 pg/ml	>0,05
					P-tau	56,3 pg/ml	24,4 pg/ml	>0,05
Guo LH, et al. <sup>22</sup>	2013	LCR	Sanos n=58	Luminex xMAP	A $\beta$ <sub>42</sub>	163,48 pg/ml	250,62 pg/ml	<0,05
			DCL n=380		T-tau	100,92 pg/ml	63,59 pg/ml	<0,05
					P-tau	34,88 pg/ml	20,39 pg/ml	<0,05
Harris M, et al. <sup>23</sup>	2015	LCR	Sanos n=17	Luminex xMAP	A $\beta$ <sub>42</sub>	188,3 pg/ml	230,4 pg/ml	>0,05
			DCL n=17		T-tau	74,0 pg/ml	56,9 pg/ml	>0,05
					P-tau	30,6 pg/ml	26,1 pg/ml	>0,05

**Tabla 2:** Resumen de las características de los artículos que analizan biomarcadores presentes en plasma o suero.

Artículo	Año	Fluido corporal	Tamaño muestra	Técnica	Biomarcador	Valor promedio pacientes con DCL	Valor promedio personas sanas	Valor p
Wang T, et al. <sup>24</sup>	2013	Plasma	Sanos n=112 DCL n=54	ELISA	Aβ <sub>40</sub>	51,66 pg/ml	43,14 pg/ml	0,027
					Aβ <sub>42</sub>	47,10 pg/ml	47,53 pg/ml	0,944
					T-tau	209,61 pg/ml	214,94 pg/ml	0,457
					P-tau	7,73 pg/ml	6,60 pg/ml	0,341
Chiu MJ, et al. <sup>25</sup>	2013	Plasma	Sanos n=66 DCL n=22	SQUID IMR	Aβ <sub>42</sub>	>16,33 pg/ml	<16,33 pg/ml	S:91 E:88
					T-tau	>23,89 pg/ml	<23,89 pg/ml	S:97 E:91
					Aβ <sub>42</sub> × T-tau	>455,49 (pg/ml) <sup>2</sup>	<455,49 (pg/ml) <sup>2</sup>	S:96 E:97
Marksteiner J, et al. <sup>26</sup>	2013	Plasma	Sanos n=33 DCL n=19	ELISA	sAPP-β	1550 pg/ml	519 pg/ml	<0.05
Kurman R, et al. <sup>27</sup>	2013	Suero	Sanos n=22 DCL n=9	SPR	SIRT1	3,63 ng/μl	4,75 ng/μl	<0.0001
				ELISA	SIRT1	4,22 ng/μl	5,92 ng/μl	<0.0001

S=sensibilidad; E=especificidad

Se encontraron dos artículos que analizaron A $\beta$ <sub>42</sub>, T-tau y P-tau del LCR con la técnica Luminex xMAP<sup>22,23</sup>. En uno de ellos se observaron diferencias significativas, mientras que en otro no (ver **Tabla 1**).

También se analizaron artículos que hablaban de biomarcadores de LCR relacionados con la neurodegeneración, los cuales están aumentados en pacientes con DCL, como son la neurogranina (Ng)<sup>20</sup> y el sTREM2<sup>19</sup> y se pueden detectar mediante ELISA con diferencias estadísticamente significativas.

Los artículos que analizaban plasma y suero detectaban con más precisión a los pacientes con DCL utilizando SQUID IMR<sup>25</sup> que mediante ELISA<sup>24</sup> en el análisis de  $\beta$ -amiloide y proteínas tau. Por otro lado, también se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de sAPP- $\beta$ <sup>26</sup> y de SIRT1<sup>27</sup> (biomarcadores de neurodegeneración) en ambos grupos.

## DISCUSIÓN

Las diferencias en las concentraciones de proteína A $\beta$ <sub>42</sub> y de proteínas tau en el LCR se consideran biomarcadores relacionados con la fisiopatología de la enfermedad<sup>5,10</sup>. Por lo tanto, existe una **correlación entre las concentraciones de los biomarcadores y la EA**. Es decir, las diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones indican que esa diferencia se atribuye a la enfermedad de Alzheimer.

La acumulación de  $\beta$ -amiloide no es exclusivo de la EA, pero según las nuevas recomendaciones de la NIA-AA 2018<sup>6</sup> si se cumple una **disminución de  $\beta$ -amiloide** y un **aumento de las proteínas tau** en LCR se considera EA. Esto concuerda con los resultados analizados en la revisión para los artículos que analizan LCR mediante la técnica ELISA<sup>19,20</sup>, excepto para un artículo<sup>21</sup> en el cual sí que se observa un aumento en las concentraciones de T-tau y P-tau en el grupo con DCL con respecto a los sanos, pero no alcanza a ser una diferencia significativa. Estos datos corroboran la correlación entre la concentración de los biomarcadores y la enfermedad de Alzheimer.

Por otro lado, podemos observar como mediante la técnica Luminex xMAP también se obtienen diferencias<sup>22</sup>, en el análisis de LCR, entre pacientes con DCL y sanos. Sin embargo, un estudio con un tamaño de muestra menor no se mostraron diferencias significativas<sup>23</sup>, pero tal y como se muestra en la **Tabla 1** sí que hay diferencias en las concentraciones.

Se ha observado que en LCR, mediante el uso de ratios como T-tau/A $\beta_{42}$ <sup>28</sup>, se puede predecir si un paciente tiene DCL, ya que en la EA ambos biomarcadores están alterados. Existen otros estudios en el cual la ratio que se analiza es P-tau/A $\beta_{42}$ <sup>28</sup>, ya que en LCR en la EA aumentan las proteínas tau (tanto P-tau como la T-tau) y A $\beta_{42}$  disminuye, por lo que la ratio es mayor en EA y DCL que en sanos.

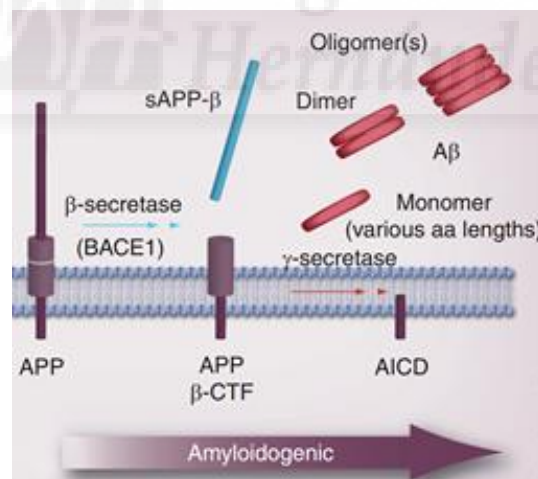
El análisis de A $\beta_{42}$ , A $\beta_{40}$ , T-tau y P-tau en plasma mediante la técnica ELISA solo detecta diferencias significativas en A $\beta_{40}$  ( $p=0,027$ <sup>24</sup>), sin embargo, el análisis en plasma mediante SQUID IMR sí que detecta diferencias significativas por lo que recomendamos el uso de esta técnica para el análisis de los biomarcadores en plasma ya que se obtiene muy buena sensibilidad y especificidad para detectar pacientes con DCL, sobre todo cuando se analiza A $\beta_{42}$  x T-tau.

El hecho de que SQUID IMR muestre diferencias significativas en la concentración de A $\beta_{42}$  y en ELISA no se muestren, podría deberse a que se cree que las nanopartículas de hierro que posee el reactivo que se utiliza en SQUID IMR inhibe la polimerización del péptido  $\beta$ -amiloide. En plasma el péptido A $\beta_{40}$  predomina en forma monomérica mientras que A $\beta_{42}$  se encuentra en igual proporción en forma monomérica y polimérica<sup>29</sup>. Por tal motivo, para A $\beta_{40}$  se puede analizar tanto en ELISA como en SQUID IMR, pero el péptido A $\beta_{42}$  debe analizarse mediante SQUID IMR ya que mediante esta técnica A $\beta_{42}$  se encuentra en forma de monómero (por acción del reactivo férrico) por lo cual se detecta mejor que si se detectara mediante ELISA, debido a que con ELISA el péptido A $\beta_{42}$  se encontraría en forma de polímero. Por lo tanto, se debería plantear la ampliación de estudios mediante SQUID IMR para comprobar la reproducibilidad y la estandarización del análisis.

Para una mayor especificidad a la hora de un diagnóstico diferencial con otras demencias, se recomienda un análisis en el cual se tiene en cuenta que tanto  $A\beta_{42}$  como T-tau sean positivos (según los criterios de la NIA-AA 2018<sup>6</sup>) ya que esas son las dos características que definen a la EA.

Resulta curioso el hecho de que en pacientes con DCL los niveles del péptido  $\beta$ -amiloide estén disminuidos en el LCR mientras que en plasma están aumentados. La razón de este hecho podría deberse a los cambios en la permeabilidad a amiloides en la barrera hematoencefálica en los pacientes con DCL que evolucionarán a EA, por lo cual  $A\beta_{42}$  está aumentado en sangre. Sin embargo, en el LCR se cree que debido a la formación de placas insolubles de  $\beta$ -amiloide (polímeros de  $A\beta_{42}$ ), disminuye la concentración de  $A\beta_{42}$  en LCR.

El análisis de sAPP- $\beta$  en plasma mediante ELISA<sup>26</sup> también obtiene diferencias significativas (ver **Tabla 2**) entre DCL y sanos por lo que también podría utilizarse como biomarcador para la detección precoz de la EA, ya que éste también es un biomarcador específico de la EA debido a que se produce en el proceso de amiloidogénesis, como podemos observar en la **Figura 4**.



**Figura 4:** Procesamiento de la APP en la amiloidogénesis<sup>12</sup>

El aumento de Ng y sTREM2 y la disminución de SIRT1 puede deberse también a otras enfermedades, pero ninguna de ellas cumple que haya también formación de placas de  $\beta$ -amiloide, por lo que **cumpliendo ese requisito** se les pueden considerar biomarcadores **específicos** ya que así la variación en la concentración del biomarcador se le atribuye a la EA.

Tal y como se observa en la **Tabla 1**, el aumento en la concentración de sTREM2 y Ng es mayor para pacientes con DCL. Por lo cual podrían utilizarse como biomarcadores para la detección precoz de la EA, siempre que se cumpla que  $A\beta_{42}$  y tau sean positivos.

La concentración de sTREM2 aumenta debido a que su proteína (TREM2) se proteoliza en fases tempranas de la EA. Esto influye en la acumulación de las placas de  $\beta$ -amiloide debido a que TREM2 tiene como función el aclaramiento de  $\beta$ -amiloide. Por otro lado, la neurogranina (Ng) es una proteína postsináptica que incrementa sus valores cuando hay neurodegeneración sináptica por lo que también podría usarse como biomarcador siempre que se cumpla que  $A\beta_{42}$  es positivo.

En la **Tabla 2** se observa la disminución de la concentración de SIRT1, la cual puede detectarse por varias técnicas, y se concluye que la disminución de la concentración es estadísticamente menor en pacientes con DCL que en sanos. Esto es debido a que la proteína SIRT1 está considerada como neuroprotectora, ya que su disminución se relaciona la acumulación del péptido  $A\beta_{42}$ <sup>27</sup>. En este caso, los pacientes sanos tienen una concentración mayor de SIRT1 lo cual indica una mayor protección frente a la EA. En cambio, los pacientes con DCL tienen un mayor riesgo de contraer la EA debido a la disminución en la concentración de SIRT1.

Con esta revisión se observan grandes posibilidades de detectar precozmente a pacientes con DCL que desarrollarán la EA mediante el análisis de fluidos corporales: sangre y LCR. Se necesitaría estudiar más los biomarcadores para asegurar los resultados, mejorar la precisión y **estandarizar los límites de las concentraciones** de los biomarcadores. Sobre todo, la ampliación de estudios de biomarcadores en sangre ya que presenta menor riesgo que el análisis del LCR.

Se debería plantear para cada biomarcador una concentración a partir de la cual se considera que un paciente va a desarrollar la EA (concentración límite o *cut-off*). Podría plantearse concentraciones límites según la edad, ya que, por ejemplo, los niveles de  $A\beta_{42}$  disminuyen en LCR a mayor edad del paciente<sup>16</sup>.

Se encuentra como limitación en algunos artículos<sup>21,23</sup> el bajo tamaño de muestra, con el cual podría no observarse diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de los biomarcadores. Se necesitaría un mayor tamaño de muestra para corroborar si la diferencia de concentraciones en los artículos es estadísticamente significativa en pacientes con DCL al aumentar el tamaño de muestra, lo cual indicaría una correlación entre la enfermedad de Alzheimer y las concentraciones de biomarcadores.

## CONCLUSIONES

Esta revisión concluye que sí es posible la detección de pacientes con DCL que evolucionan a EA tanto con muestras de LCR como con muestras sanguíneas. Esto facilita y abarata la detección de EA, sobre todo en centros donde no poseen maquinaria para la detección de la EA mediante técnicas de imagen<sup>2</sup>. Además, se evita **la radiación** y los **efectos adversos** procedentes de la exposición a las técnicas de imagen.

Se observa un gran potencial en los biomarcadores revisados tanto en LCR como en plasma y suero.

En el análisis de LCR, ELISA es la técnica con mejores resultados.

En plasma y/o suero la mejor técnica para la detección precoz sería SQUID IMR para los biomarcadores  $A\beta_{42}$  y T-tau, mientras que la técnica ELISA sería la mejor para analizar los biomarcadores sAPP- $\beta$  y SIRT1.

Se espera unos resultados muy alentadores para la detección en **plasma** de  $A\beta_{42}$ ,  $A\beta_{40}$ , T-tau y P-tau, sobre todo mediante SQUID IMR.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Prince M, Guerchet M, Prina M. The Global Impact of Dementia 2013–2050. Alzheimer's Disease International. 2013.
2. Chiu MJ, Yang SY, Horng HE, Yang CC, Chen TF, Chieh JJ, et al. Combined plasma biomarkers for diagnosing mild cognition impairment and Alzheimer's disease. ACS Chem Neurosci. 2013; 4(12):1530-6.



3. Domingo Ruiz de Mier MJ, Iglesias Asensio A, Rodríguez Ponce C, Núñez Zamora F. La comunicación con el enfermo de Alzheimer. Madrid: CEAFA Confederación Española de Familiares de Enfermos de Alzheimer y otras Demencias; 2004.p. 14.
4. Alzheimer's Association [Internet]. Chicago. Alzheimer's Association National Office. Available in: [alz.org/alzheimers\\_disease\\_what\\_is\\_alzheimers.asp](http://alz.org/alzheimers_disease_what_is_alzheimers.asp)
5. Zetterberg H. Unresolved questions in Alzheimer's research: will biomarkers help?. *Biomark Med.* 2014; 8(1):61-3.
6. Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2018;14(4):535-562.
7. Tuneu Valls L, Rojas Cano M, Sardans Marquillas M, Paredes Pérez E, Gaona Franco A. Guía de seguimiento farmacoterapéutico de los pacientes con alzheimer. Granada: Universidad de Granada Grupo de Investigacion en Atencion Farmaceutica; 2006.p. 5.
8. Frisoni GB, Fox NC, Jack CR Jr, Scheltens P, Thompson PM. The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010; 6(2):67-77.
9. Wang T, Xiao S, Liu Y, Lin Z, Su N, Li X, et al. The efficacy of plasma biomarkers in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2014; 29(7):713-9.
10. Monge Argilés J, Blanco Cantó M, Leiva Salinas C, Flors L, Muñoz Ruiz C, Sánchez Payá J, et al. A comparison of early diagnostic utility of Alzheimer disease biomarkers in brain magnetic resonance and cerebrospinal fluid. *Neurologia.* 2014; 29(7):397-401.
11. Monge-Argilés JA, Sánchez-Payá J, Muñoz-Ruiz C, Pampliega-Pérez A, Montoya-Gutiérrez J, Leiva-Santana C. Biomarkers in the cerebrospinal fluid of patients with mild cognitive impairment: A meta-analysis of their predictive capacity for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Rev Neurol.* 2010;50:193-200.
12. Fagan AM, Perrin RJ. Upcoming candidate cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *Biomark Med.* 2012; 6(4):455-76.

13. Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut de Catalunya; 2010. Guías de Práctica Clínica en el SNS: AIAQS Núm. 2009/07.p. 170.
14. Marksteiner J, Humpel C. Platelet-derived secreted amyloid-precursor protein- $\beta$  as a marker for diagnosing Alzheimer's disease. *Curr Neurovasc Res.* 2013; 10(4):297-303.
15. García-Ribas G, López-Sendón Moreno JL, García-Caldentey J. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol.* 2014; 58(7):308-17.
16. Chase A. Alzheimer disease: Cerebrospinal fluid markers for AD change during middle age. *Nat Rev Neurol.* 2015; 11(8):427.
17. Risacher SL, Saykin AJ. Neuroimaging and other biomarkers for Alzheimer's disease: the changing landscape of early detection. *Annu Rev Clin Psychol.* 2013;9:621-48.
18. Vanderstichele H, Bibl M, Engelborghs S, Le Bastard N, Lewczuk P, Molinuevo JL, et al. Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimers Dement.* 2012; 8(1):65-73.
19. Suárez-Calvet M, Kleinberger G, Araque Caballero MA, Brendel M, Rominger A, Alcolea D, et al. sTREM2 cerebrospinal fluid levels are a potential biomarker for microglia activity in early-stage Alzheimer's disease and associate with neuronal injury markers. *EMBO Mol Med.* 2016; 8(5):466-76.
20. Kvarnström H, Duits FH, Ingelsson M, Andreasen N, Öhrfelt A, Andersson K. Cerebrospinal fluid levels of the synaptic protein neurogranin correlates with

- cognitive decline in prodromal Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2015;11(10):1180-90.
21. Malnar M, Kosicek M, Bene R, Tarnik IP, Pavelin S, Babic I. Use of cerebrospinal fluid biomarker analysis for improving Alzheimer's disease diagnosis in a non-specialized setting. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2012;72(3):264-71.
  22. Guo LH, Alexopoulos P, Wagenpfeil S, Kurz A, Perneczky R; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Plasma proteomics for the identification of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2013;27(4):337-42.
  23. Haris M, Yadav SK, Rizwan A, Singh A, Cai K, Kaura D. T1rho MRI and CSF biomarkers in diagnosis of Alzheimer's disease. *Neuroimage Clin.* 2015 Feb 26;7:598-604.
  24. Wang T, Xiao S, Liu Y, Lin Z, Su N, Li X, et al. The efficacy of plasma biomarkers in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2014;29(7):713-9.
  25. Chiu MJ, Yang SY, Horng HE, Yang CC, Chen TF, Chieh JJ, et al. Combined plasma biomarkers for diagnosing mild cognition impairment and Alzheimer's disease. *ACS Chem Neurosci.* 2013;4(12):1530-6.
  26. Marksteiner J, Humpel C. Platelet-derived secreted amyloid-precursor protein- $\beta$  as a marker for diagnosing Alzheimer's disease. *Curr Neurovasc Res.* 2013;10(4):297-303.
  27. Kumar R, Chatterjee P, Sharma PK, Singh AK, Gupta A, Gill K, et al. Sirtuin1: a promising serum protein marker for early detection of Alzheimer's disease. *PLoS One.* 2013 Apr 16;8(4):e61560.
  28. Park SA, Chae WS, Kim HJ, Shin HS, Kim S, Im JY, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarkers for the Diagnosis of Alzheimer Disease in South Korea. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2017;31(1):13-18.
  29. Chiu MJ, Yang SY, Chen TF, Chieh JJ, Huang TZ, Yip PK, et al. New assay for old markers-plasma beta amyloid of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2012 Dec;9(10):1142-8.

**Anexo 1:** Excel con algunos ejemplos de los artículos encontrados en las bases de datos con comentarios propios tras su lectura.

Nº ART	PMID	TÍTULO	AUTORES	REVISTA	DOI	FECHA	Enlace al PDF	Criterios I/E	¿SE INCLUYE?
1	29365294	Trial of Solanezumab for Mild De	Honig LS, Ve	N Engl J Med. 2018	378(4):321-3	25/01/2018	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	h	no
2	28869481	Alzheimer's Disease Diagnosis R	Levy Noguei	J Alzheimers Dis. 2	60(2):577-58	05/09/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	f	no
3	28794151	Peripheral inflammatory marke	Lai KSP, Liu C	J Neurol Neurosur	88(10):876-8	11/08/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	a	no
4	28759968	A Systematic Review of Longitua	Lawrence E,	J Alzheimers Dis. 2	59(4):1359-1379. doi: 10.3		<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
5	28721928	Strategic roadmap for an early d	Frisoni GB, B	Lancet Neurol. 201	16(8):661-67	20/07/2017	C:\Users\david\	c	no
6	28714354	Is cerebral microbleed prevalen	Rabelo AG, T	Neuroradiol J. 201	30(5):477-48	18/07/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
7	28585932	Plasma REST: a novel candidate	Ashton NJ, H	Transl Psychiatry. 2	7(6):e1148. d	Transl Psych	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	i	no
8	28576171	PET Imaging for Early Detection	Bao W, Jia H,	PET Clin. 2017 Jul	12(3):329-35	04/06/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
9	28436390	Biomarkers for Early Diagnosis o	Paolacci L, Gi	J Alzheimers Dis. 2	58(2):323-33	25/04/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
10	28405748	Translation of imaging biomarke	Kilimann I, T	Z Gerontol Geriatr.	50(Suppl 2):8	14/04/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
11	28386987	Neutrophil and platelet to	Kalelioglu T,	Psychogeriatrics. 2	17(6):506-508. doi: 10.111		<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	i	no
12	28353223	Multiplexing Biomarker Method	Robinson RA	Adv Exp Med Biol.	974:21-48. dc	30/03/2017	C:\Users\david\	z	no
13	28341065	Recommendations for CSF AD b	Simonsen AI	Alzheimers Demer	13(3):274-28	28/03/2017	C:\Users\david\	e	no
14	28328043	CSF tau and the CSF tau/ABeta r	Ritchie C, Sr	Cochrane Databas	3:CD010803.	23/03/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
15	28317651	Clinical validity of presynaptic d	Sonni I, Ratib O, Boccardi M, Pic	Geneva Task Force for th			C:\Users\david\	b	no
16	28317650	Clinical validity of increased cor	Chiotis K, Saint-Aubert L, Bocca	Geneva Task Force for th			C:\Users\david\	b	no
17	28317648	Clinical validity of brain fluorod	Garibotto V, Herholz K, Boccardi	Geneva Task Force for th			<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
18	28317647	Clinical validity of medial tempo	Ten Kate M, Barkhof F, Boccardi	Geneva Task Force for th			C:\Users\david\	b	no
19	28317645	The biomarker-based diagnosis	Boccardi M, Gallo V, Yasui Y, Vin	Geneva Task Force for th			<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
20	28317644	The biomarker-based diagnosis	Porteri C, Albanese E, Scerri C, C	Geneva Task Force for th			C:\Users\david\	f	no
21	28314160	Difference in imaging biomarke	Aziz AL, Gius	Neurobiol Aging. 2	54:22-30. doi	18/03/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
22	28301062	Metabolomic-guided discovery	Enche Ady CI	J Neurosci Res. 20	95(10):2005-	16/03/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
23	28269772	Recent Progress in Alzheimer's I	Hane FT, Ro	J Alzheimers Dis. 2	57(3):645-66	09/03/2017	C:\Users\david\	z	no
24	28269639	Predicting rapid cognitive declin	Reyes-Coron	Conf Proc IEEE Eng	2016:6078-60	09/03/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
25	28260159	Emerging biomarkers and screen	Ruan Q, D'Or	Aging Clin Exp Res	29(6):1075-1	06/03/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	e	no
26	28268812	Identification of blood biomarke	Jammeh E, Z	Conf Proc IEEE Eng	2016:2415-24	09/03/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	c	no
27	28242299	Dysregulation of lipids in Alzhei	Wong MW, B	Alzheimers Demer	13(7):810-82	01/03/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
28	28189423	Metabolomics in Alzheimer's di	González-D	J Chromatogr B An	1071:75-92. c	13/02/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
29	28143775	Bayesian longitudinal low-rank	Lu ZH, Khonc	Alzheimer's Di	149:305-322.	02/02/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
30	28147442	Emerging ocular biomarkers of	Van Wijngaai	Clin Exp Ophthalm	45(1):54-61. c	02/02/2017	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no

31	28030437	Cerebrospinal Fluid Biomarkers	Park SA, Cha	Alzheimer Dis Assc	31(1):13-18. c	29/12/2016	C:\Users\dauid\	a	no
32	28003242	Heterogeneity of neuroanatomy	Dong A, Toledo JB, Honnorat N,	Alzheimerâ€™s Disease			<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
33	28002106	The application of lipidomics to	Wong MW, B	Curr Opin Psychiat	30(2):136-14	22/12/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
34	27911289	The Brain's Structural Connector	Pandya S, Ku	Alzheimerâ€™s Di	55(4):1639-1	03/12/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
35	27903329	Prediction of Free and Cued Sel	Quenon L, Di	J Int Neuropsychol	22(10):991-1	03/12/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	e	no
36	27868476	Latent structure of cognitive per	Head D, Allis	J Clin Exp Neurops	39(7):621-63	22/11/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	h	no
37	27738910	Blood Biomarkers for Alzheimer	Keshavan A,	Mol Diagn Ther. 20	21(1):13-22. c	16/10/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	f	no
38	27671291	Searching biomarkers for menta	Maier W.	Eur Arch Psychiatr	266(7):583-5	28/09/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	f	no
39	27381077	Instantiated mixed effects mod	Guerrero R, Schmidt-Richberg A	Alzheimer's Disease Neu			<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
40	27370207	DADM: The first 2 years of the A	Snyder PJ.	Alzheimers Demer	12(7):755-7. c	03/07/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	f	no
41	27327445	Changes in the Chemical Barrier	KallÃ³ G, Em	PLoS One. 2016 Jun	11(6):e01580	22/06/2016	C:\Users\dauid\	a	no
42	27163812	The Role of Cerebrospinal Fluid	SzalÃ¡rdy L, Z	J Alzheimers Dis. 2	53(2):373-92.	11/05/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
43	27010616	ADCOMS: a composite clinical o	Wang J, Logc	J Neurol Neurosur	87(9):993-9. c	25/03/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	e	no
44	26988428	The phenotypical core of Alzhei	Di Stefano F,	Alzheimers Demer	12(7):786-95.	19/03/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
45	26973115	Identifying postmenopausal wo	Rettberg JR,	Neurobiol Aging. 2	40:155-63. dc	15/03/2016	C:\Users\dauid\	i	no
46	26950278	Effect of HMGR genetic variati	Cao L, Wang HF, Tan L, Sun FR, T	Alzheimerâ€™s Disease			C:\Users\dauid\	g	no
47	26941262	sTREM2 cerebrospinal fluid leve	SuÃ¡rez-Calv	EMBO Mol Med. 2	8(5):466-76. c	05/03/2016	C:\Users\dauid\	x	sí
48	26923024	Prediction of Progressive Mild C	Xu L, Wu X, Li R, Chen K, Long Z,	Alzheimerâ€™s Disease			<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
49	26827785	Neuroimaging biomarkers in Alz	Villemagne \	Ageing Res Rev. 2	30:4-16. doi:	02/02/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
50	26792010	Rethinking on the concept of bio	Berti V, Polit	Neurol Sci. 2016 M	37(5):663-72.	23/01/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	z	no
51	26737212	Tsallis entropy as a biomarker fo	Al-Nuaimi Al	Conf Proc IEEE Eng	2015:4166-9.	07/01/2016	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
52	26727700	A review of cognitive impairme	Picascia M, Z	Funct Neurol. 2015	30(4):217-28.	05/01/2016	C:\Users\dauid\	i	no
53	26644024	Difficulties associated with the	Hromadkova	J Sep Sci. 2016 Feb	39(4):799-80	09/12/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	c	no
54	26629677	Performance of Cerebrospinal F	Knapskog AB	Alzheimer Dis Assc	30(1):8-14. d	03/12/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	i	no
55	26600059	What is the potential of dried m	Hirtz C, Lehr	Bioanalysis. 2015	7(22):2849-5	26/11/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	f	no
56	26585048	Linking CSF and cognition in Alz	Guhra M, Th	Exp Gerontol. 2016	73:107-13. dc	21/11/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	a	no
57	26567739	Blood-based biomarkers of Alzh	Carmona P, I	Curr Alzheimer Re	13(4):450-64.	17/11/2015	No lo puedo de	z	no
58	26531676	Peripheral oxidative stress mark	Hatanaka H,	Geriatr Gerontol Ir	16(12):1312-	05/11/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
59	26484917	Discovery and Subsequent Conf	Shah DJ, Roh	J Alzheimers Dis. 2	49(2):317-27.	21/10/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	c	no
60	26388206	Development of a diagnostic tes	GarcÃ-a Barrado L, Coart E, Burz	Alzheimer's Disease Neu			<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
61	26362309	Neprilysin Confers Genetic Susc	Wang HZ, Bi	Mol Neurobiol. 20	53(7):4883-9	13/09/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	g	no
62	26341365	Cross-validation of biomarkers f	Perani D, Ce	Eur J Nucl Med Mo	43(3):499-508. doi: 10.100		<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	a	no
63	26318838	Integrated multimodal imaging	Grossman M	Lancet Neurol. 201	14(10):973-5.	01/09/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
64	26318837	Multimodal imaging in Alzheim	Teipel S, Drz	Lancet Neurol. 201	14(10):1037-	01/09/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	b	no
65	26215625	Alzheimer disease: Cerebrospin	Chase A.	Nat Rev Neurol. 20	11(8):427. dc	29/07/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	f	no
66	26194313	Genetic studies of quantitative	Saykin AJ, Shen L, Yao X, Kim S,	Alzheimer's Disease Neu			C:\Users\dauid\	g	no
67	26147946	Longitudinal Cerebrospinal Fluic	Sutphen CL,	JAMA Neurol. 2015	72(9):1029-4	07/07/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	i	no
68	26139269	Multiplexed Fluorescent Immur	Park J, Mabu	Methods Mol Biol.	1314:195-205	04/07/2015	<a href="https://miumh-">https://miumh-</a>	a	no
69	26106620	Improved Diagnostic Multimoda	MartÃnez-Tor	Biomed Res Int. 20	2015:961314.	25/06/2015	C:\Users\dauid\	c	no

Tabla descriptiva de las leyendas asignadas a las letras de los criterios inclusión y exclusión incluidas en el **Anexo 1**:

a	No preventivos de la enfermedad de Alzheimer.
b	Diagnóstico por técnicas de imagen.
c	Estandarización, guías, otros métodos complejos, otras técnicas que no detectan fluidos corporales etc.
e	Diagnóstico mediante cuestionarios, tests cognitivos, etc.
f	Casos clínicos, perspectivas, introducciones, opinión, reportajes, etc.
g	Genotipado.
h	Duplicados, fármacos y otros motivos.
i	No específicos de la enfermedad de Alzheimer.
j	Artículos con >6 años antigüedad.
x	Cumplen los criterios de inclusión.
z	Revisiones.

