

Grado en Farmacia

MARCADORES BIOQUÍMICOS DIAGNÓSTICOS PARA EL ALZHEIMER



Autora: Ana Cruz Lérída de Ramón

Tutor: Javier Sáez Valero Área: Bioquímica y Biología Molecular

Presentación: 20/21 de Junio de 2017. Facultad de Farmacia, Edificio Marie Curie

Índice

1. Resumen	2
2. Introducción	3
3. Biomarcadores: Definición y aplicaciones	7
4. Descubrimiento y desarrollo de biomarcadores	12
5. Tipos de biomarcadores	15
6. Biomarcadores centrales de LCR	19
7. Otros biomarcadores en estudio	27
8. Biomarcadores de imagen	31
9. Conclusiones	34
10. Bibliografía adicional	36



1. Resumen

La enfermedad de alzheimer (EA) es la más común de las demencias seniles, y la proporción de personas afectadas aumenta cada vez más por el progresivo envejecimiento de la población. En la EA se produce un empeoramiento gradual debido a los cambios patológicos en el cerebro, en los que intervienen los siguientes efectores patológicos: el péptido amiloide-beta o $A\beta$ y la proteína citoesquelética tau anormalmente hiperfosforilada. Los cambios patológicos en el tejido cerebral más destacables son la deposición de placas amiloides extracelulares, constituidas principalmente por $A\beta$, y la agregación intracelular de proteína tau hiperfosforilada en ovillos neurofibrilares (NFTs).

Los biomarcadores son indicadores de una etapa biológica concreta que permiten distinguir los procesos fisiológicos de los patológicos. Se pueden utilizar para diversos propósitos que son: guiar el diagnóstico clínico, estimar el riesgo de enfermedad o pronóstico, evaluar la etapa de la enfermedad y monitorizar la progresión o respuesta al tratamiento.

Se han realizado estudios proteómicos para la EA en muestras humanas de líquido cefalorraquídeo (LCR). Los biomarcadores proteómicos se usan cada vez más en la práctica clínica y se han incorporado a la mayoría de los ensayos clínicos. De estos, los más estudiados son $A\beta_{42}$ (isoforma de $A\beta$ de 42 aminoácidos), tau-T (contenido total de tau) y tau-P (isoformas hiperfosforiladas). Por el momento, parece que son los que tienen un rendimiento más elevado a la hora de diferenciar a los pacientes con EA de los controles.

Es necesario optimizar el estudio sobre los biomarcadores ya existentes y ampliar a otras proteínas del LCR que tengan relación con la EA, porque de esta manera se podrán comprender mejor los mecanismos de desarrollo de la enfermedad y permitirá el descubrimiento de nuevos biomarcadores que pueden ser útiles para avanzar hacia un mejor y más efectivo tratamiento de la patología. La opción que se considera más plausible es la combinación de distintos biomarcadores ya que varios estudios han demostrado que la combinación de biomarcadores de LCR puede mejorar su precisión diagnóstica global. La combinación de $A\beta_{42}$ con tau-T o tau-P es hasta ahora la alternativa más recomendable para su uso en la práctica clínica.

2. Introducción

El progresivo envejecimiento de la población que se está produciendo en los últimos años se asocia con un aumento de las enfermedades cognitivas, entre ellas la enfermedad de Alzheimer (EA), la cual es la más común de las demencias seniles. Se estima que en todo el mundo padecen demencia unos 40 millones de personas, afectando a un 5% de los hombres y un 6% de las mujeres mayores de 60 años, según datos de la Organización Mundial de la Salud (2010).

El término EA se refiere exclusivamente a la enfermedad expresada clínicamente, que cuenta con cambios cognitivos, conductuales y neuropsiquiátricos que interfieren con la vida diaria. Es una enfermedad incurable por ahora, progresiva y neurodegenerativa, que representa más del 50% de las demencias. Esta enfermedad es de expresión asociada al envejecimiento, particularmente en mayores de 65 años. Los primeros síntomas clínicos que se manifiestan son alteraciones de la memoria, sobre todo en los dominios episódicos y semánticos, con deficiencias en el lenguaje y la función ejecutiva.¹ Los pacientes con EA también muestran un deterioro significativo de la actividad cotidiana con una interrupción o el cese de la capacidad de realizar las actividades y tareas más simples. También se observan cambios de comportamiento, trastornos del sueño y pérdida de autonomía. La EA es una enfermedad con marcadores patológicos bien definidos, que afecta a casi todo el cerebro, pero aparecen principalmente asociados al lóbulo temporal medial y estructuras neocorticales asociativas. Se piensa que la EA es un continuo en el que se produce un empeoramiento gradual debido a los cambios patológicos en el cerebro, en los que intervienen los siguientes efectores patológicos: el péptido amiloide- β o A β y la proteína citoesquelética tau anormalmente hiperfosforilada o tau-P (ver más adelante), así como disfunciones vasculares y otros cambios que tardan años en manifestar síntomas clínicos.² Por lo tanto, en la EA se pueden distinguir tres etapas. Inicia con una etapa preclínica o fase prodrómica (fase inicial o de debut de una patología) en la que no hay síntomas, pero sí se ha establecido ya

¹ McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack, CR, Kawas, CH, Klunk WE, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *AlzheimersDement.*2011;7(3):263–269. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3312024/>

² Ishii M, Iadecola C. Metabolic and non-cognitive manifestations of Alzheimer's disease: the hypothalamus as both culprit and target of pathology. *Cell metabolism.* 2015;22(5):761-776. doi:10.1016/j.cmet.2015.08.016. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4654127/>

la patología, que se prolonga durante varias décadas. En esta fase, y ante la falta de clínica, sólo se pueden detectar los cambios patológicos mediante biomarcadores. Le sigue una fase de deterioro cognitivo leve (DCL) en el que la clínica es difícilmente distinguible de otras patologías, y también requiere el apoyo en biomarcadores. Posteriormente ocurre una progresión a EA propiamente, con demencia. Aproximadamente un 50-60% de los casos de DCL tiene EA prodrómica, es decir que tienen EA subyacente y progresarán a EA con demencia,³ pero el resto comprenden otros desordenes, y diferenciarlo es fundamental para poder desarrollar una estrategia terapéutica.

Los cambios patológicos en el tejido cerebral más destacables son la deposición de placas amiloides extracelulares y la agregación intracelular de proteína tau hiperfosforilada (tau-P) en ovillos neurofibrilares (NFTs, del inglés *neurofibrillary tangles*) por todo el cerebro. Las placas amiloides son agregaciones extracelulares del péptido amiloide- β ($A\beta$), un fragmento proteolítico producido por el procesamiento por enzimas secretasas de un precursor denominado APP (del inglés *amyloid precursor protein*). Estas placas amiloides son el fenómeno más característico de la EA. Los NFTs son el resultado del acúmulo de formas patológicas, hiperfosforiladas, de la proteína citoesquelética tau asociada a microtúbulos, que forma estructuras filamentosas insolubles que se combinan para crear filamentos helicoidales apareados, un componente clave de los NFTs observados en los cerebros de sujetos con EA. En este sentido, la EA es una taupatía, entre otras muchas, pero la única que cursa con placas amiloides. Estas anomalías conducen a la activación de cascadas neurotóxicas que eventualmente causan la disfunción y muerte neuronal promoviendo la neurodegeneración característica de la EA.^{4,5,6} También se producen otros cambios como la microgliosis reactiva, concentraciones reducidas del neurotransmisor acetilcolina y la pérdida generalizada de neuronas, sinapsis y materia blanca. Además, las biopsias neocorticales de los cerebros de individuos con EA muestran una severa

³ Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet neurol.* 2007; 6(8):734-4

⁴ Anoop A, Singh PK, Jacob RS, Maji SK. CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Int J Alzheimers Dis.* 2010; 2010:1-12

⁵ Goedert M, Spillantini MG. A century of Alzheimer's disease. *Science.* 2006; 314:777-781

⁶ Spiess-Jones TL, Stoothoff WH, Jones PB, Hyman BT. Tau pathophysiology in neurodegeneration: a tangled issue. *Trends Neurosci.* 2009; 32:150-159

disminución de los niveles de otros neurotransmisores como monoamina, dopamina, norepinefrina y serotonina. La EA también se puede considerar una enfermedad metabólica en la que la utilización de glucosa y la producción de energía del cerebro se deterioran.^{7,8,9,10,11}

El principal factor de riesgo para desarrollar demencia es, como se ha dicho, el envejecimiento, con el aumento de la prevalencia después de 65 años de edad; seguido por la historia familiar, factores ambientales, y en raros casos de formas familiares de aparición temprana, las mutaciones de genes.¹²

La EA se puede clasificar en función de la edad de inicio. La forma menos común, es la denominada de inicio temprano, cuya aparición se produce antes de los 65 años, y en ocasiones aparece asociada a mutaciones. Sin embargo, con mucho, la forma más común de EA, es la de inicio tardío, también llamada esporádica, que empieza después de los 65 años y supone más del 95% de los afectados. Clínicamente son indistinguibles, pero la de inicio temprano suele progresar más rápido y en muchos casos sigue un patrón de herencia mendeliana. Los genes implicados en las formas familiares debidas a mutaciones son el propio APP, pero sobre todo los codificadores de enzimas secretasas, las presenilinas PSEN1 y PSEN2, que participan en el procesamiento proteolítico del APP y generación del A β . Las mutaciones en esos genes autosómicos de herencia dominante llevan siempre a la mayor agregación de A β y formas de EA temprana (ver figura 1).

⁷ Schoonenboom NS, Mulder C, Vanderstichele H, Van Elk EJ, Kok A, Van Kamp GJ, Scheltens P, et al. Effects of processing and storage conditions on amyloid beta (1-42) and tau concentrations in cerebrospinal fluid: implications for use in clinical practice. *Clin Chem.* 2005; 51:189–195

⁸ Cirrito RJ, Yamada AK, Finn MB, Sloviter SR, Bales RK, May CP, Schoepp DD, et al. Synaptic Activity Regulates Interstitial Fluid Amyloid-B Levels in Vivo. *Neuron.* 2005; 48:913–922

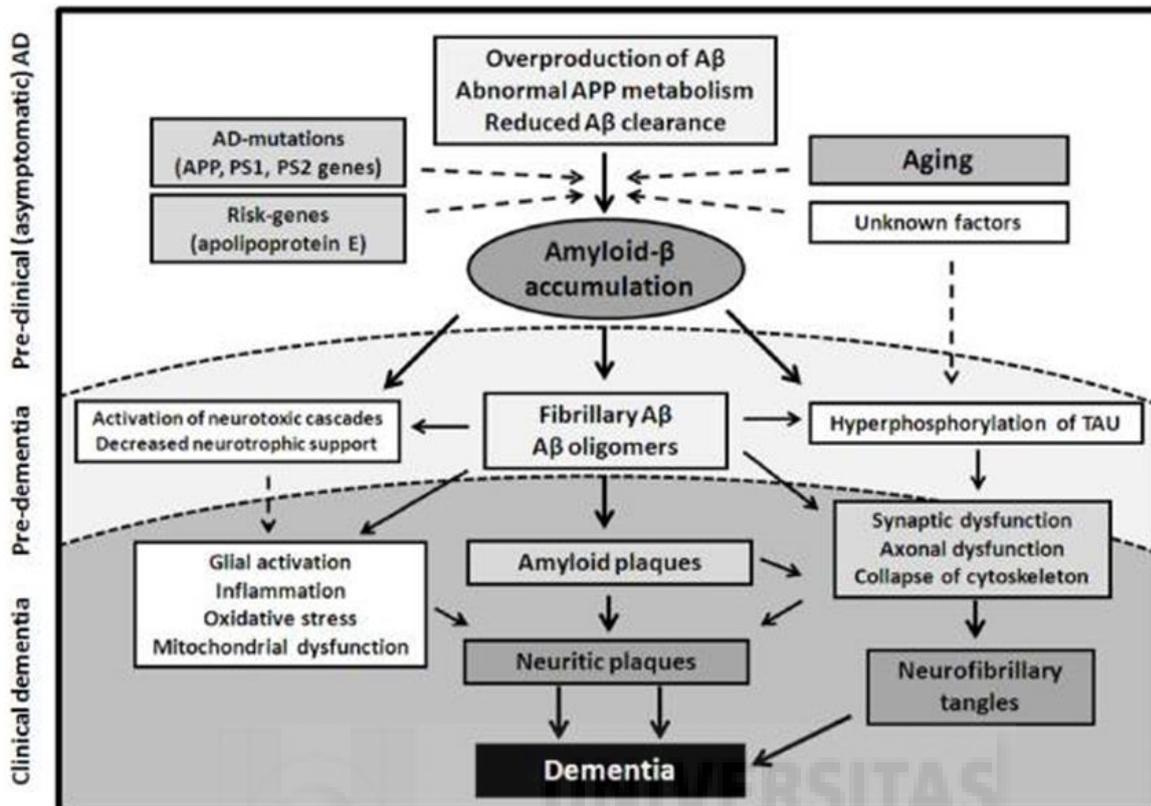
⁹ Arai H, Terajima M, Miura M, Higuchi S, Muramatsu T, Machida N, Seiki H, et al. Tau in cerebrospinal fluid: A potential diagnostic marker in Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 1995; 38:649–652

¹⁰ Itoh N, Arai H, Urakami H, Ishiguro K, Ohno H, Hampel H, Buerger K, et al. Large-scale, multicenter study of cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at serine 199 for the antemortem diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 2001; 50:150–156

¹¹ Blomberg M, Jensen M, Basun H, Lannfelt L, Wahlund LO. Cerebrospinal fluid tau levels increase with age in healthy individuals. *DementGeriatrCogn Disord.* 2001; 12:127–132

¹² Borroni B, Di Luca M, Padovani A. Predicting Alzheimer dementia in mild cognitive impairment patients. Are biomarkers useful? *Eur J Pharmacol.* 2006; 545:73–80. doi:10.1016/j.ejphar.2006.06.023

Figura 1. Procesos patológicos en EA.



Esquema de la cascada de procesos patológicos que se producen en las distintas etapas de la progresión de EA.

Extraído de: Forlenza OV, Diniz BS, Gattaz WF. Diagnosis and biomarkers of predementia in Alzheimer's disease. BMC Med. 2010; 8:89. doi:10.1186/1741-7015-8-89. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3022870/>

Por otro lado, se ha demostrado que la frecuencia de aparición del alelo ε4 de la apolipoproteína E (ApoE4), es significativamente mayor en EA que en poblaciones cognitivamente normales;^{13,14} mientras que la variante alélica ApoE2 parece estar asociada con un menor riesgo de EA.¹⁵

¹³ Schoonenboom NS, Van der Flier WM, Blankenstein MA, Bouwman FH, Van Kamp GJ, Barkhof F, Scheltens P. CSF and MRI markers independently contribute to the diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2008; 29:669–675

¹⁴ Fukuyama R, Mizuno T, Mori S, Nakajima K, Fushiki S, Yanagisawa K. Age-dependent change in the levels of Abeta40 and Abeta42 in cerebrospinal fluid from control subjects, and a decrease in the ratio of Abeta42 to Abeta40 level in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease patients. *Eur Neurol*. 2000: 155–160

¹⁵ Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, Strittmatter WJ, Schmechel DE. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nature and Genetics*. 1994:180–184

En la actualidad, aunque no existe cura para la patología, existen disponibles varios tratamientos sintomáticos para la EA, como son los inhibidores de colinesterasa: eldonepezil, galantamina y larivastigmina, y el antagonista no competitivo del N-metil-D-aspartato, lamemantina.¹⁶ Estos fármacos sólo reducen los síntomas, produciendo un efecto temporal sobre la cognición y el funcionamiento y no afectan al proceso neurodegenerativo subyacente, así que no tienen un efecto detectable en la progresión de la enfermedad. Todo esto hace necesarios fármacos nuevos que enlentezcan el proceso neurodegenerativo y modifiquen la progresión de la enfermedad. Tanto en un escenario de futuro como en la actualidad, disponer de biomarcadores diagnóstico sería de gran utilidad para establecer una terapia en las fases más tempranas posibles, cuando el efecto de enlentecer la progresión sería más beneficioso.

La precisión de los criterios clínicos de diagnóstico de la EA es pobre, ya que las demencias son enfermedades complejas con superposición de perfiles.¹⁷ En los últimos años, los criterios de diagnóstico para EA se han reconsiderado. El Grupo de Trabajo Internacional (GTI) reconoce que tanto los biomarcadores del líquido cefalorraquídeo (LCR) como los biomarcadores de imagen, son necesarios para la detección de EA preclínica, y los incluye en los nuevos criterios de investigación para el diagnóstico de EA. El instituto nacional sobre envejecimiento, junto con la Asociación de Alzheimer (NIA-AA) les da la misma prioridad. Incluso en ausencia de síntomas clínicos el perfil de biomarcadores del LCR aparece como una importante herramienta de diagnóstico.

3. Biomarcadores: Definición y aplicaciones

Antes de profundizar en el campo de los biomarcadores hay que dejar claro su concepto. Se define como marcador biológico o biomarcador a aquella sustancia utilizada como indicador de una etapa biológica concreta, que es medible y objetivo, permitiendo distinguir un proceso fisiológico de uno patológico. Estas sustancias deben permitir detectar el riesgo, la presencia y el estado de una

¹⁶ Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2006; 368(9533):387-403

¹⁷ Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, Chui H, Corey-Bloom J, Relkin N, Small GW, et al. Practice parameter: diagnosis of dementia (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2001; 56:1143–1153 Disponible en: <http://www.neurology.org/content/56/9/1143.long>

enfermedad^{18,19,20,21,22} en función de su aparición, concentración y actividad.²³ También permite controlar el efecto de las intervenciones terapéuticas.

Los biomarcadores se pueden dividir en tres grupos que son: medidas físicas o fenotipos (imágenes cerebrales),^{23,24} biomarcadores basados en el ADN,^{22,25} y biomarcadores de proteínas.^{26,27,28,29} Estos últimos son los más estudiados y sobre los que se va a hablar en este trabajo. Por lo tanto, se pueden utilizar los biomarcadores para predecir, diagnosticar y controlar la enfermedad si se examinan los cambios en el nivel de proteínas entre enfermos y sanos. Para utilizar un único biomarcador para detectar una enfermedad en concreto, éste debería reflejar con precisión la progresión de la enfermedad. Por otra parte, se pueden clasificar en función del propósito para el que se utilicen. De esta manera, pueden usarse para guiar el diagnóstico clínico (marcadores de diagnóstico), estimar el riesgo de enfermedad o pronóstico (marcadores pronósticos), evaluar la etapa de la enfermedad (marcadores de estadificación) y monitorizar la progresión o respuesta al tratamiento.²⁶

¹⁸ Zhang X, Li L, Wei D, Yap Y, Chen F. Moving cancer diagnostics from bench to bedside. *Trends Biotechnol.* 2007; 25:166–173. doi: 10.1016/j.tibtech.2007.02.006

¹⁹ Rifai N, Gillette MA, Carr SA. Protein biomarker discovery and validation: The long and uncertain path to clinical utility. *NatBiotechnol.* 2006; 24:971–983

²⁰ Poste G. Bring on the biomarkers. *Nature.* 2011; 469:156–157

²¹ Puntmann VO. How to guide on biomarkers: Biomarker definitions, Validation and applications with examples from cardiovascular disease. *PostgradMed J.* 2009; 85:538–545

²² Anderson DC, Kodukula K. Biomarkers in pharmacology and drug discovery. *Biochem Pharmacol.* 2014; 87:172–188

²³ Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. *Lancet.* 2011; 377:1019–1031

²⁴ Ghidoni R, Paterlini A, Benussi L. Translational proteomics in Alzheimer's disease and related disorders. *ClinBiochem.* 2013; 46:480–486

²⁵ Podlesniy P, Figueiro-Silva J, Llado A, Antonell A, Sanchez-Valle R, Alcolea D, Lleo A, Molinuevo JL, Serra N, Trullas R. Low cerebrospinal fluid concentration of mitochondrial DNA in preclinical Alzheimer disease. *Ann Neurol.* 2013; 74:655–668

²⁶ Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010; 6:131–144

²⁷ Hampel H, Blennow K, Shaw LM, Hoessler YC, Zetterberg H, Trojanowski JQ. Total and phosphorylated tau protein as biological markers of Alzheimer's disease. *Exp Gerontol.* 2010; 45:30–40. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2815003/>

²⁸ Trojanowski JQ, Vandevert H, Korecka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, et al. Update on the biomarker core of the Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Alzheimer'sDement.* 2010; 6:230–238. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2867838/>

²⁹ Weiner MW, Veitch DP, Aisen PS, Beckett LA, Cairns NJ, Green RC, Harvey D, et al. The Alzheimer's disease neuroimaging initiative: A review of papers published since its inception. *Alzheimer's Dement.* 2012; 8:1–S68

Un marcador biológico ideal sería capaz de detectar una característica fundamental de la EA, sería fiable, de bajo coste, no invasivo y fácil de obtener y tendría una sensibilidad mayor del 85% y una especificidad mayor del 75%. Debería reflejar causalidad entre la patología subyacente y los síntomas clínicos,^{30,31} y también debería reflejar los efectos terapéuticos. El marcador de diagnóstico ideal para la EA debe cumplir al menos tres requisitos básicos: indicar cambios neurobiológicos fundamentales que caractericen el proceso de la enfermedad, ser validados por los estudios post mortem y ser medibles tan pronto como sea posible en el continuo de la enfermedad, a ser posible en las etapas preclínicas. La sensibilidad, la especificidad y la facilidad de uso son los factores más importantes que definen en última instancia la utilidad diagnóstica de un biomarcador.

Se ha visto que los biomarcadores son útiles para la determinación del riesgo de enfermedad y de la misma manera, tienen gran valor para establecer el diagnóstico, proporcionando mayor información para la evaluación clínica, además de que su comprensión puede ayudar a conocer la patología subyacente a los trastornos neurodegenerativos. Sólo las mutaciones hereditarias autosómicas dominantes son marcadores definitivos de la enfermedad. Por ello, los ensayos que incluyen pacientes con mutaciones permiten estudiar las formas familiares de demencia cuando todavía se encuentran en un estado presintomático, lo que supone una gran oportunidad para evaluar los perfiles de biomarcadores antes de que se manifieste la enfermedad. De esta manera, se pueden estudiar posibles biomarcadores que reflejen el inicio de la enfermedad en EA esporádicos, lo que de ser efectivo permitiría el diagnóstico precoz incluso en personas con problemas cognitivos leves.

Un inconveniente en el tratamiento de EA es la falta de detección preclínica. El diagnóstico en la etapa de DCL permitiría un tratamiento temprano de la patología, lo que se cree que haría el tratamiento más eficaz que si se administra

³⁰ Borroni B, Premi E, Di Luca M, Padovani A. Combined Biomarkers for Early Alzheimer Disease Diagnosis. *Curr Med Chem.* 2007; 14:1171–1178

³¹ Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. *NeurobiolAging.* 1998; 19(2):109–116

posteriormente, cuando la enfermedad está más avanzada.^{32,33} En este sentido, los biomarcadores también pueden emplearse en ensayos clínicos para mejorar la precisión diagnóstica en los participantes del ensayo, permitiendo así que las cohortes de sujetos se enriquezcan con casos de EA reales.^{26,34} Como la falta de eficacia de algunos fármacos puede deberse a que los individuos incluidos en el estudio ya estaban en un estadio muy avanzado de la enfermedad o no tenían la neuropatología propia de la EA, es decir, no estaban correctamente diagnosticados, los fármacos podrían no rendir el efecto deseado. La solución sería conseguir un diagnóstico temprano, correcto y previo a la aparición de los síntomas, lo cual se conseguiría gracias al uso de biomarcadores para el diagnóstico. Asimismo, tales marcadores pueden no sólo ser útiles en la identificación, selección y estratificación de pacientes en ensayos clínicos, sino que igualmente pueden ayudar a la identificación de nuevas dianas terapéuticas. Además, algunos investigadores opinan que permiten la detección temprana y específica de los efectos secundarios del fármaco.³⁵ De manera semejante, podrían aumentar el poder estadístico de un estudio y asegurar que los fármacos en estudio realmente actúan sobre el sustrato en el que deben hacer el efecto.

Cuando hay incertidumbre en el diagnóstico clínico, los biomarcadores pueden apoyar o refutar que está presente una EA subyacente. Del mismo modo, los biomarcadores se pueden utilizar para establecer el pronóstico, progresión de la enfermedad, desarrollo de nuevos tratamientos, supervisión de los efectos de tratamiento y para aumentar el conocimiento sobre los procesos patológicos acoplados a la enfermedad.

En los últimos años, los estudios proteómicos se han marcado el objetivo de utilizar la evaluación múltiple de proteínas para identificar nuevos biomarcadores

³² Becker RE, Greig NH, Giacobini E. Why do so many drugs for Alzheimer's disease fail in development? Time for new methods and new practices?. *J AlzheimersDis*. 2008; 15:303–325 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3372084/>

³³ Jelic V, Winblad B. Treatment of mild cognitive impairment: rationale, present and future strategies. *Acta NeurolScand Suppl*. 2003; 179:83–93

³⁴ Blennow K, Hampel H, Zetterberg H. Biomarkers in Amyloid- β Immunotherapy Trials in Alzheimer's Disease. *Neuropsychopharmacology*. 2014; 39(1):189-201. doi:10.1038/npp.2013.154. Disponible en: <http://www.nature.com/npp/journal/v39/n1/full/npp2013154a.html>

³⁵ Hampel H, Shen Y, Walsh DM, Aisen P, Shaw LM, Zetterberg H, Trojanowski JQ, et al. Biological markers of amyloid β -related mechanisms in Alzheimer's disease. *Experimental neurology*. 2010;223(2):334-346. doi:10.1016/j.expneurol.2009.09.024. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2896007/>

de diagnóstico y terapéuticos que también contribuirían al desarrollo de fármacos, ya que servirían para corroborar los mecanismos de acción, permitirían estudiar el efecto de un determinado fármaco sobre la diana terapéutica y la identificación de dianas nuevas, al tiempo que se podría hacer un seguimiento de la progresión de la enfermedad.³⁶

En el GTI, los grupos de trabajo convocados por el Instituto Nacional sobre el Envejecimiento (NIA) y la Asociación de Alzheimer (AA) en los Estados Unidos, además de considerar la incorporación de biomarcadores en el diagnóstico para la EA, contemplan los casos de presentaciones atípicas, que se incluirán como EA sintomática, especialmente cuando hay pruebas de biomarcadores de apoyo.

Típicamente, el diagnóstico de EA, así como de otras demencias, se basaba en la historia clínica, un examen físico y neurológico, pruebas de neuroimagen y pruebas neuropsicológicas. Las imágenes cerebrales tienen el problema de que requieren un equipo muy caro para obtenerlas, además de un personal altamente cualificado, lo cual disminuye el rendimiento de estas técnicas de detección.

Los biomarcadores basados en LCR son los biomarcadores más convenientes en la actualidad para el estudio de la progresión de la enfermedad.^{37,38,39} Esto se debe, entre otras cosas, a que pueden emplearse en las clínicas de memoria para ayudar en la toma de decisiones diagnósticas⁴⁰ y tienen un muy buen valor predictivo negativo, es decir, en un paciente con trastornos leves de la memoria se puede descartar la EA si tiene concentraciones normales de A β , tau total (tau-T) y tau-P.

³⁶ Altelaar AF, Munoz J, Heck AJ. Next-generation proteomics: Towards an integrative view of proteome dynamics. *Nat Rev. Genet.* 2013; 14:35–48 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4057708/>

³⁷ Hampel H, Frankel WL, Martin E, Arnold M, Khanduja K, Kuebler P, Clendenning M, et al. Feasibility of Screening for Lynch Syndrome Among Patients With Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(35):5783-5788. doi:10.1200/JCO.2008.17.5950. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2645108/>

³⁸ Anoop M, Issac A, Mathew T, Philip S, Kareem NA, Unnikrishnan R, Sreekumar E. Genetic characterization of dengue virus serotypes causing concurrent infection in an outbreak in Ernakulam, Kerala, South India. *Indian J Exp Biol.* 2010;48(8):849-57

³⁹ Monge-Argilés JA, Sánchez-Payá J, Muñoz-Ruiz C, Pampliega-Pérez A, Gómez-López MJ, Rodríguez E, Montoya-Gutiérrez J. Pacientes con deterioro cognitivo leve y reducción de la proteína A1-42 en LCR evolucionan rápidamente a enfermedad de Alzheimer. *Neurología.* 2012;27(1):28–33

⁴⁰ Duits FH, Prins ND, Lemstra AW. Diagnostic impact of CSF biomarkers for Alzheimer's disease in a tertiary memory clinic. *AlzheimersDement* 2015; 11:523–32

4. Descubrimiento y desarrollo de biomarcadores

El desarrollo de biomarcadores en EA comenzó en 1995 con una serie de publicaciones sobre ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), basados en anticuerpos monoclonales, para medir los niveles de LCR de tau-T, tau-P y la isoforma de 42 aminoácidos de amiloide- β ($A\beta_{42}$).^{41,42} Para entender un biomarcador exhaustivamente, se pueden requerir estudios sobre células y organismos modelo (estudios en animales), así como datos de su comportamiento en los fluidos biológicos humanos y el tejido postmortem.

La estrategia empleada para desarrollar biomarcadores para el diagnóstico de EA ha sido evaluar si la patología $A\beta$ y tau que se observa postmortem en los cerebros de los afectados se ve reflejada en paralelo en el LCR. Ha sido más recientemente cuando se ha recurrido al estudio de los niveles de proteínas en personas con DCL o individuos asintomáticos con historia de EA familiar que tienen mutaciones en los genes PSEN1 o APP. De esta manera se observaron cambios en el perfil proteómico entre portadores y no portadores de las mutaciones y algunos cambios se detectaron hasta 10 años antes del inicio de los síntomas.⁴³

La mayoría de los estudios realizados a gran escala sobre biomarcadores de LCR utilizan ensayos ELISA, tales como los inmunoensayos de tipo sándwich, que son sensibles, prácticos y de fácil implementación. Estos ensayos sirven para la validación de biomarcadores, ya que pueden medir simultáneamente numerosas muestras con baja variación.¹⁹ Por norma general el ELISA tiene que ser desarrollado cuando se identifica un biomarcador candidato nuevo. Primero se desarrollaron ELISA sensibles para detectar selectivamente formas patológicas de $A\beta$ ($A\beta_{42}$) y tau, posteriormente se realizaron ensayos para formas fosforiladas de tau (tau-P).²⁶

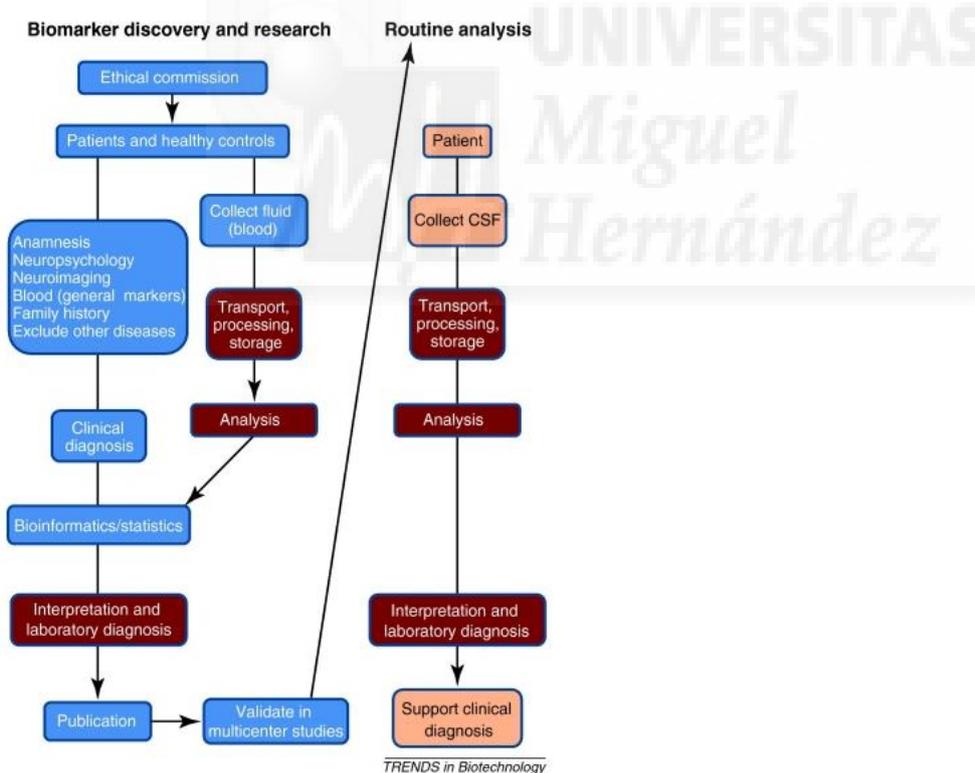
⁴¹ Blennow K, Wallin A, Agren H, Spenger C, Siegfried J, Vanmechelen E. Tau protein in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for axonal degeneration in Alzheimer disease? *Mol Chem Neuropathol*. 1995;26(3):231-45

⁴² Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, Chang L, et al. Reduction of beta-amyloid peptide₄₂ in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1995;38(4):643-8

⁴³ Rostgaard N, Waldemar G, Nielsen JE, Simonsen AH. Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Familial Forms of Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2015;40(1-2):54-62. doi: 10.1159/000381828. Epub 2015 May 13. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/381828>

El desarrollo de biomarcadores suele conllevar tres etapas: una fase de descubrimiento, una fase de verificación y una fase de validación.^{19,44,45} Primero se analiza la proteómica de la sangre (plasma o suero) o el LCR para identificar posibles biomarcadores. Después, los candidatos de biomarcadores se cuantifican en un número limitado de muestras clínicas para confirmar las diferencias de expresión de los casos en comparación con los controles. Finalmente, se requiere una validación clínica.¹⁹ Las pruebas de validación se realizan una vez que se identifican unos cuantos posibles biomarcadores, para seleccionar aquel que tenga un gran potencial diagnóstico. Para ello se debe plantear una estrategia clínica y probar el biomarcador en múltiples individuos que reflejen la población sobre la que se utilizará el candidato en caso de demostrar eficacia. Estas fases reflejan el proceso central en el estudio de biomarcadores, pero este proceso requiere muchas más etapas (figura 2).

Figura 2. Proceso de descubrimiento y desarrollo de biomarcadores.



⁴⁴ Zhang Y, Fonslow BR, Shan B, Baek MC, Yates JR. Protein analysis by shotgun/bottom-up proteomics. Chem Rev. 2013; 113:2343–2394 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3751594/>

⁴⁵ Mattsson N, Zegers I, Andreasson U, Bjerke M, Blankenstein MA, Bowser R. Reference measurement procedures for Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarkers: definitions and approaches with focus on amyloid β 42. Biomark Med 2012; 6:409-417

Etapas principales del proceso de búsqueda y descubrimiento de biomarcadores y pasos a seguir posteriormente para su desarrollo.

Extraído de: Humpel C. Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. Trends Biotechnol. 2011; 29(1):26-32. doi:10.1016/j.tibtech.2010.09.007. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3016495/>

En los primeros estudios se identifican moléculas potencialmente asociadas y métodos bioquímicos de cuantificación gracias al estudio de muestras biológicas o modelos animales. Posteriormente, se caracteriza el rendimiento diagnóstico validando en muestras clínicas uniformes, con procedimientos normalizados de trabajo y controles de calidad. Más tarde se tiene que valorar el impacto potencial que pueden tener otras enfermedades concomitantes, los ritmos circadianos, los fármacos, las características antropométricas, la dieta y el nivel de actividad física.^{39,46}

Se puede usar una gama muy amplia de herramientas para el análisis de biomarcadores dependiendo del objetivo que se quiera alcanzar. Un método consiste en comparar los biomarcadores a través de estadíos clínicos bien establecidos e identificar los puntos de corte de biomarcadores que mejor discriminan estos estadíos, de forma que los puntos de corte diferenciarían a los pacientes con EA de los sanos. Paralelamente, se puede hacer uso de métodos estadísticos que combinan múltiples biomarcadores con el objetivo de optimizar la exactitud diagnóstica.

El estudio de biomarcadores tiene la dificultad de que hay mucha variabilidad entre laboratorios a la hora de llevar a cabo las mediciones. Para superar este problema se han establecido unas normas a seguir que minimizan la variabilidad en los niveles de un mismo biomarcador. Los puntos de corte son muy diferentes entre los estudios, y la aplicación clínica generalizada de los criterios revisados para la EA temprana se ve obstaculizada por la falta de estandarización de los biomarcadores.^{47,48} Estas variaciones en el rendimiento de los biomarcadores

⁴⁶ Bateman RJ, Wen G, Morris JC, Holtzman DM. Fluctuations of CSF amyloid-beta levels: implications for a diagnostic and therapeutic biomarker. Neurology. 2007; 68:666-669

⁴⁷ Henley SMD. Biomarkers for neurodegenerative diseases. Curr Opin Neurol. 2005; 18:698-705

pueden ser el resultado de varios factores pre-analíticos y analíticos. Los factores pre-analíticos incluyen la punción lumbar (PL), los procedimientos de almacenamiento, el tipo de tubo, los ciclos repetidos de congelación/descongelación o la duración del almacenamiento congelado, mientras que los factores analíticos están más relacionados con la prueba, por ejemplo, las diferencias entre los centros de formación de técnicos, procedimientos de operación, o variaciones en los lotes de los kits de detección.^{49,50} Los resultados de los análisis también pueden verse influenciados por variables biológicas intrínsecas a los participantes del estudio, como son las variaciones genéticas o la relación entre el LCR y el volumen del cerebro.⁵¹ Los factores pre-analíticos suponen aproximadamente el 40-60% de la variabilidad total de laboratorio.⁵²

5. Tipos de biomarcadores

Se han realizado estudios proteómicos en muestras humanas de fluidos biológicos, tales como la sangre (plasma o suero), LCR, orina y saliva. Para el diagnóstico antemortem, los mejores biomarcadores moleculares disponibles proceden del LCR, por lo que se usan cada vez más en la práctica clínica y se han incorporado a la mayoría de los ensayos clínicos. El LCR, producido principalmente por el plexo coroideo, se encuentra en el sistema ventricular y espacios subaracnoideos que rodean al cerebro y la médula espinal. Como está en contacto directo con el cerebro, su composición se ve afectada por los cambios bioquímicos cerebrales, reflejándolos muy bien.⁴ En la misma línea, el LCR tiene la ventaja de que la barrera hemato-encefálica lo mantiene aislado de posibles

⁴⁸ Sjögren M, Andreasen N, Blennow K. Advances in the detection of Alzheimer's disease - use of cerebrospinal fluid biomarkers. *Clin Chim Acta*. 2003; 332:1–10

⁴⁹ Zetterberg H, Tullhög K, Hansson O, Minthon L, Londos E, Blennow K. Low incidence of post-lumbar puncture headache in 1,089 consecutive memory clinic patients. *Eur Neurol*. 2010; 63:326–330

⁵⁰ Blennow K, Wallin A, Häger O. Low frequency of post-lumbar puncture headache in demented patients. *Acta Neurol Scand*. 1993; 88: 221–223

⁵¹ Shoji M, Kanai M, Matsubara E, Ikeda M, Hariagaya Y, Okamoto K. Tapsto Alzheimer's patients: a continuous Japanese study of cerebrospinal fluid markers. *Ann Neurol*. 2000; 48: 402

⁵² Renner JA, Burns JM, Hou CE, McKeel DW, Storandt M, Morris JC. Progressive posterior cortical dysfunction: a clinicopathologic series. *Neurology*. 2004; 63:1175–1180

interferencias sistémicas.⁵³ A parte de reflejar la bioquímica del cerebro en general, también refleja procesos como el daño neuronal, la pérdida de sinapsis y la inflamación, porque se producen cambios detectables de biomarcadores en el LCR si los daños son suficientemente extensos. Normalmente, el LCR tiene componentes tanto de la sangre como del sistema nervioso central,^{54,55} cuanto mayor sea el componente central (porcentaje de proteína originada en cerebro frente a la originada a nivel periférico), mejor para la identificación de biomarcadores de EA.

Lo malo es que la obtención de LCR requiere un procedimiento parcialmente invasivo que puede causar molestias.⁵⁶ Sin embargo, no es frecuente que aparezcan complicaciones debidas a la punción^{47,57,58} y cuando la realizan médicos experimentados no suele ser dolorosa. Una de las posibles complicaciones es el riesgo de aparición de cefalea post-lumbar aunque esto es poco frecuente. Asimismo, las muestras de LCR se extraen del espacio lumbar, que puede tener diferentes concentraciones de analitos en comparación con el LCR ventricular.⁵⁹ El gradiente de concentración dentro del LCR lumbar afecta a muchos analitos y necesita ser estudiado, pero parece no ser un problema importante para los biomarcadores A β , tau-T y tau-P de LCR. Otro inconveniente es la variabilidad en las mediciones, pero, como se ha comentado anteriormente, ya se han establecido una serie de recomendaciones para lograr la

⁵³ Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci* 2011; 12: 723–738 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4036520/>

⁵⁴ Oreskovic D, Klarica M. The formation of cerebrospinal fluid: Nearly a hundred years of interpretations and misinterpretations. *Brain Res Rev.* 2010; 64:241–262

⁵⁵ Kroksveen AC, Opsahl JA, Aye TT, Ulvik RJ, Berven FS. Proteomics of human cerebrospinal fluid: Discovery and verification of biomarker candidates in neurodegenerative diseases using quantitative proteomics. *J Proteomics.* 2011; 74:371–388

⁵⁶ De Almeida SM, Shumaker SD, LeBlanc SK, Delaney P, Marquie-Beck J, Ueland S, Alexander T, et al. Incidence of post-dural puncture headache in research volunteers. *Headache.* 2011; 51:1503–1510. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3217171/>

⁵⁷ Peskind E, Nordberg A, Darreh-Shori T, Soininen H. Safety of lumbar puncture procedures in patients with Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 2009; 6:290–292. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4035477/>

⁵⁸ Peskind ER, Riekse R, Quinn JF, Kaye J, Clark CM, Farlow MR. Safety and acceptability of the research lumbar puncture. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2005; 19:220–225

⁵⁹ Brandner S, Thaler C, Leleental N, Buchfelder M, Kleindienst A, Maler JM. Ventricular and lumbar cerebrospinal fluid concentrations of Alzheimer's disease biomarkers in patients with normal pressure hydrocephalus and posttraumatic hydrocephalus. *J Alzheimers Dis.* 2014; 41:1057–10562. doi:10.3233/JAD-132708

estandarización y programas de control de calidad.⁶⁰ La Asociación de Alzheimer, bajo el *Global Biomarkers Standardization Consortium*, inició los intentos de estandarización de los biomarcadores del LCR para abordar los problemas analíticos y preanalíticos.⁶¹ Aun así, todavía no se han establecido límites o puntos de corte fijos, sino que se valoran las variaciones en la concentración de proteínas.

Por el contrario, la sangre es más fácil y rápida de obtener, siendo mínimamente invasiva, y se puede extraer un volumen mayor que en el caso del LCR, por lo que a priori es más recomendable. De esta manera, se han identificado proteínas plasmáticas como biomarcadores potenciales, como por ejemplo las citoquinas, moléculas de adhesión y factores de crecimiento.⁶² Lo malo es que parece que la mayoría de ellas no están relacionadas directamente con la EA, sino que reflejan procesos inflamatorios secundarios a ella, por lo que no podrían ser buenos biomarcadores. Del mismo modo, hay muchos factores que alteran los biomarcadores sanguíneos, lo que supone que los resultados de los estudios sean difíciles de replicar e impide su aceptación generalizada.⁶³ La variabilidad entre estudios se debe a la disponibilidad de muestras, a la variabilidad entre ellas, así como a los componentes pre-analíticos y analíticos de los ensayos, que a diferencia del LCR, no están estandarizados. Esto se ve favorecido porque la sangre es compleja, compuesta de múltiples compartimentos celulares y un entorno en constante cambio de proteínas, lípidos y otras entidades bioquímicas.⁶⁴ A estos problemas se añade que la sangre periférica no está en contacto directo con el cerebro. Por este motivo, los marcadores de neurodegeneración del LCR pueden no detectarse en la sangre o estar en niveles mucho más bajos por la dilución de las proteínas en el gran volumen de la sangre

⁶⁰ Hampel H, Lista S, Teipel SJ, Garaci F, Nistico R, Blennow K. Perspective on future role of biological markers in clinical therapy trials of Alzheimer's disease: a long-range point of view beyond 2020. *Biochem Pharmacol.* 2014; 88(4):426–449. doi:10.1016/j.bcp.2013.11.009

⁶¹ Carrillo MC, Blennow K, Soares H, Lewczuk P, Mattsson N, Oberoi P, Umek R, et al. Global standardization measurement of cerebral spinal fluid for Alzheimer's disease: An update from the Alzheimer's Association Global Biomarkers Consortium. *Alzheimers Dement* 2013; 9:137–140

⁶² Lista S, Faltraco F, Prvulovic D, Hampel H. Blood and plasma-based proteomic biomarker research in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol.* 2013; 101–102:1–17

⁶³ Watt AD, Perez KA, Rembach AR, Masters CL, Villemagne VL, Barnham KJ. Variability in blood-based amyloid-beta assays: the need for consensus on pre-analytical processing. *J Alzheimers Dis.* 2012; 30:323–336

⁶⁴ Thambisetty M, Lovestone S. Blood-based biomarkers of Alzheimer's disease: challenging but feasible. *Biomark Med.* 2010; 4:65–79. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2863057/>

y porque la barrera hematoencefálica dificulta su paso. Estos hechos complican la correlación de los hallazgos de los biomarcadores del LCR con la sangre, de modo que se hace necesaria la aplicación de técnicas analíticas altamente sensibles para medir las bajas cantidades de proteínas específicas del cerebro, en plasma o muestras de suero. Por otra parte, las proteínas pueden ser degradadas por proteasas de la sangre, dando secuencias peptídicas más pequeñas³⁴ o podrían eliminarse por metabolismo hepático o excreción renal. Finalmente, el análisis de las proteínas cerebrales en la sangre se ve dificultado por la liberación de la misma proteína en los tejidos periféricos y por la interferencia de proteínas plasmáticas que no están presentes en el LCR. Como complicación adicional, algunas características sistémicas de la EA, como son la pérdida de peso o menor actividad física, pueden suponer cambios sutiles en los niveles de biomarcadores sanguíneos.^{65,66}

Por todo lo visto anteriormente, los biomarcadores de LCR son los que se emplean actualmente y los que han demostrado más eficacia. Por ello se han incorporado en los criterios clínicos de investigación propuestos recientemente para la EA,⁶⁷ y en las directrices de la Asociación Nacional del Envejecimiento y la enfermedad de Alzheimer para el diagnóstico de la EA y el DCL.^{1,68} Del mismo modo, se recomienda el uso de estos biomarcadores en la evaluación de fármacos modificadores de la enfermedad para EA por parte de grupos de trabajo europeos.⁶⁹ Asimismo, la Agencia Europea del Medicamento (EMA) ha aprobado el uso de las proteínas A β 42 y tau del LCR para ensayos clínicos en individuos con EA. Actualmente existen distintos ensayos disponibles comercialmente para medir los biomarcadores A β 42, tau-T y tau-P del LCR, algunos de los cuales tienen un marcado de Conformidad Europea (CE).

⁶⁵ Galasko D, Golde TE. Biomarkers for Alzheimer's disease in plasma, serum and blood – conceptual and practical problems. *Alzheimers Res Ther.* 2013; 5:10. doi:10.1186/alzrt164

⁶⁶ Toledo JB, Shaw LM, Trojanowski JQ. Plasma amyloid beta measurements – a desired but elusive biomarker. *Alzheimers Res Ther* 2013; 5:8. doi:10.1186/alzrt162

⁶⁷ Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, DeKosky ST, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol.* 2014; 13:614–629

⁶⁸ Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, Gamst A, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia. Alzheimers Dement.* 2011; 7(3):270-279. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008

⁶⁹ Vellas B, Andrieu S, Sampaio C, Wilcock G. Disease-modifying trials in Alzheimer's disease: a European task force consensus. *Lancet Neurol.* 2007; 6: 56–62

Por su facilidad de aplicación, se ha planteado la opción de usar los biomarcadores sanguíneos optimizados para tener más sensibilidad, como primer cribado para la detección de EA, de manera que se reduciría el número de individuos a evaluar con técnicas más costosas. Pero esta posibilidad está todavía en desarrollo. Paralelamente, hay paneles que combinan un conjunto de proteínas sanguíneas que se han validado como una ayuda para el diagnóstico de la EA.^{64,65} Por otra parte, se piensa que las plaquetas podrían ser una alternativa interesante ya que comparten propiedades bioquímicas con las neuronas^{70,71} y reflejan las anomalías en los trastornos psiquiátricos y neuronales,^{72,73} aunque este es un campo poco estudiado por el momento.

A pesar de las ventajas ya descritas, un aspecto a tener en cuenta es la falta de precisión de todos los biomarcadores de fluidos a la hora de indicar la localización de la patología,⁷⁴ ya que, a diferencia de los biomarcadores de imagen, no proporcionan una idea de la distribución topográfica de los cambios patológicos en el cerebro.

6. Biomarcadores centrales de LCR

A β 42, tau-T y tau-P de LCR son los biomarcadores más estudiados y por el momento, parece que son los que tienen un rendimiento más elevado a la hora de diferenciar a los pacientes con EA de los controles, con una precisión diagnóstica de entre el 85 y el 90%. Es por ello que son los más empleados en la investigación y la práctica clínica, siendo igualmente buenos para distinguir el

⁷⁰ Pletscher A, Laubscher A. Blood platelets as models for neurons: uses and limitations. *J Neural Transm Suppl.* 1980; 16:7–16

⁷¹ Talib LL, Joaquim HP, Forlenza OV. Platelet biomarkers in Alzheimer's disease. *World J Psychiatry.* 2012; 2:95–101. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3782189/>

⁷² Freson K, Labarque V, Thys C, Wittevrongel C, Geet CV. What's new in using platelet research? To unravel thrombopathies and other human disorders. *Eur J Pediatr.* 2007; 166:1203–1210. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2042511/>

⁷³ Behari M, Shrivastava M. Role of platelets in neurodegenerative diseases: a universal pathophysiology. *Int J Neurosci.* 2013; 123:287–299

⁷⁴ Rosén C, Hansson O, Blennow K, Zetterberg H. Fluid biomarkers in Alzheimer's disease – current concepts. *Mol Neurodegener.* 2013; 8:20 doi: 10.1186/1750-1326-8-20 Disponible en: <http://moleculareurodegeneration.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1326-8-20>

DCL de los controles.^{75,76} Por otro lado, aunque esto está sujeto a una mayor controversia, distintos estudios han demostrado que estos biomarcadores proporcionan suficiente especificidad para distinguir las personas con EA de otras demencias sin EA.^{77,78,79} Es por ello que estos tres, son considerados los biomarcadores centrales de EA y se desarrollarán más detalladamente a continuación. Algunos otros biomarcadores como el VILIP-1 (del inglés *visin like protein 1*), YKL-40 (del inglés *Chitinase-3-like protein 1*), HFABP (proteína cardiaca transportadora de ácidos grasos), NFL (proteína ligera de neurofilamento) y NSE (enolasa específica de neuronas) y los niveles de F2-isoprostanos, que son marcadores de la peroxidación lipídica,⁸⁰ demostraron que se veían alterados en los pacientes con EA, pero su uso no está tan extendido y aún deben someterse a un estudio más exhaustivo.

El procedimiento de estadificación de EA se basa en una hipótesis sobre el desarrollo temporal de la patología. Según ésta, primero se produce una desregulación del péptido A β , a pesar del aumento en su producción en cerebro, por su secuestro en placas amiloides, lo que se refleja en una reducción de los niveles de A β 42 en el LCR, en paralelo a la formación de imágenes de placas amiloides en la tomografía por emisión de positrones (PET). A esto le sigue una disfunción y pérdida tanto sináptica como neuronal, que se correlaciona con el aumento de los niveles de tau-P en LCR o por la detección de hipometabolismo y atrofia del hipocampo gracias al PET y la resonancia magnética (RM). Por último, aparece un ligero deterioro cognitivo.

⁷⁵ Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, et al. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol*. 2009; 65:403–413

⁷⁶ Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund LO, Freund-Levi Y, Tsolaki M, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol*. 2009; 8:619–627

⁷⁷ Grossman M, Farmer J, Leight S, Work M, Moore P, Van Deerlin V, Pratico D, et al. Cerebrospinal fluid profile in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2005; 57(5):721–9. doi:10.1002/ana.20477

⁷⁸ Roher AE, Esh CL, Kokjohn TA, Castano EM, Van Vickle GD, Kalback WM, Patton RL, et al. Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and their significance for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2009; 5(1):18–29. doi:10.1016/j.jalz.2008.10.004

⁷⁹ Engelborghs S, De Vreese K, Van de Castele T, Vanderstichele H, Van Everbroeck B, Cras P, Martin JJ, et al. Diagnostic performance of a CSF-biomarker panel in autopsy-confirmed dementia. *Neurobiol Aging*. 2008; 29(8):1143–59. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.02.016

⁸⁰ Ringman JM, Younkin SG, Pratico D, Seltzer W, Cole GM, Geschwind DH, Rodriguez-Agudelo Y, et al. Biochemical markers in persons with preclinical familial Alzheimer disease. *Neurology*. 2008; 71:85-92

- Péptido amiloide-beta

El amiloide-beta ($A\beta$) es un péptido derivado del procesamiento proteolítico de la proteína precursora amiloide (APP) que parece estar implicado en varias funciones importantes en sujetos sanos.⁸¹ Entre estas funciones se encuentran la regulación del transporte de colesterol, la mediación de la plasticidad sináptica y la actividad pro-inflamatoria.^{82,83,84,85} Paralelamente, se cree que $A\beta$ contribuye a mantener la integridad de las membranas vasculares cerebrales, así las interrupciones en esta función pueden ser la base de la angiopatía amiloide cerebral.⁸⁶

Las placas amiloides se forman por agregación de péptidos $A\beta$. Esta proteína de membrana se produce al hidrolizar APP por su extremo N-terminal a través de dos rutas alternativas. Una vía es la “no amiloidogénica”, en la que la α -secretasa corta en primer lugar el APP, cercano a la región transmembrana, liberando un largo fragmento soluble denominado sAPP- α . Por el contrario, la otra vía es “amiloidogénica”, en ella, otra enzima alternativa, la β -secretasa, es la primera enzima que corta el APP, generando un largo fragmento soluble sAPP- β . En ambas vías queda un fragmento C-terminal (CTF) que incluye la región transmembrana y el dominio intracelular. Por la vía amiloidogénica este CTF se corta posteriormente por γ -secretasa, de modo que se generan isoformas soluble extracelulares de $A\beta$ de distintos tamaños y un fragmento soluble intracelular. Por la vía no amiloidogénica no se genera $A\beta$, sino un fragmento denominado p3 totalmente inócuo. Aunque hay cierta controversia al respecto, la visión dominante en el campo es que el $A\beta$, y sobre todo agregados solubles de la isoforma $A\beta_{42}$, son las moléculas que desencadenan la EA, inducen la muerte de células

⁸¹ Lahiri DK, Maloney B. Beyond the signaling effect role of amyloid- β_{42} on the processing of APP, and its clinical implications. *Exp Neurol*. 2010; 225:51–4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2922469/>

⁸² Tabaton M, Zhu X, Perry G, Smith MA, Giliberto L. Signaling effect of amyloid-beta(42) on the processing of AbetaPP. *Exp Neurol*. 2010; 221:18–25. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2812589/>

⁸³ Baruch-Suchodolsky R, Fischer B. Abeta40, either soluble or aggregated, is a remarkably potent antioxidant in cell-free oxidative systems. *Biochemistry*. 2009; 48:4354–4370

⁸⁴ Igbavboa U, Sun GY, Weisman GA, He Y, Wood WG. Amyloid beta-protein stimulates trafficking of cholesterol and caveolin-1 from the plasma membrane to the Golgi complex in mouse primary astrocytes. *Neuroscience*. 2009; 162:328–38. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3083247/>

⁸⁵ Soscia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, Tucker SM, Ingelsson M, Hyman B, Burton MA et al. The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One*. 2010;5:e9505 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2831066/>

⁸⁶ Yamada M, Naiki H. Cerebral amyloid angiopathy. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2012; 107:41–78

neuronales y perturban la función sináptica.^{87,88,89} Por tanto, se produce disfunción sináptica generalizada, disfunción neuronal y muerte celular. De este modo, ya en fase presintomática de la EA se observa incremento de la deposición de A β en varias áreas neocorticales, como la prefrontal, frontal medial superior, bilateral, y la corteza temporal lateral. Se piensa que los depósitos de A β se forman debido a la capacidad fibrillogénica propia del péptido, el incremento en producción y por la falta de aclaramiento de este péptido en el cerebro. Este péptido se empieza a depositar previamente a la aparición de cualquier síntoma clínico externo, y el aumento de la densidad y la distribución de la placa amiloide se suele acompañar de varios cambios morfológicos y neuropatológicos, entre los cuales se incluye un aumento de la acumulación y la producción de NFTs, así como la pérdida de volumen cerebral total y el volumen del hipocampo.^{90,91,92} En personas con DCL se pueden apreciar cambios parecidos.^{93,94,95} Sin embargo, los déficits de memoria se corresponden en menor medida con la acumulación de los depósitos de A β y se correlacionan mejor con la formación de NFTs en el neocórtex temporal.⁹⁶

⁸⁷ Attems J, Jellinger KA. Amyloid and tau: neither chicken nor egg but two partners in crime! *Acta Neuropathol.* 2013;126:619–621

⁸⁸ Shen J, Kelleher RJ. The presenilin hypothesis of Alzheimer's disease: evidence for a loss-of-function pathogenic mechanism. *Proc Natl Acad Sci.* 2007; 104:403–409

⁸⁹ Gendron TF, Petrucelli L. The role of tau in neurodegeneration. *Mol Neurodegener* 2009; 4:13

⁹⁰ Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 1991; 82:239–259

⁹¹ Buckner RL, Sepulcre J, Talukdar T, Krienen FM, Liu H, Hedden T, Andrews-Hanna JR, et al. Cortical hubs revealed by intrinsic functional connectivity: mapping, assessment of stability, and relation to Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2009; 29:1860–73. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2750039/>

⁹² Drzezga A, Becker JA, Van Dijk KR, Sreenivasan A, Talukdar T, Sullivan C, Schultz AP, et al. Neuronal dysfunction and disconnection of cortical hubs in non-demented subjects with elevated amyloid burden. *Brain.* 2011; 134:1635–46. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3102239/>

⁹³ Jack CR, Lowe VJ, Weigand SD, Wiste HJ, Senjem ML, Knopman DS, Shiung MM, et al. Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. *Brain.* 2009; 132:1355–1365. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2677798/>

⁹⁴ Lin AL, Laird AR, Fox PT, Gao JH. Multimodal MRI neuroimaging biomarkers for cognitive normal adults, amnesic mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Neurol Res Int.* 2012; 2012:907409. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3178148/>

⁹⁵ Schroeter ML, Stein T, Maslowski N, Neumann J. Neural correlates of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic and quantitative meta-analysis involving 1351 patients. *Neuroimage.* 2009; 47:1196–1206. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2730171/>

⁹⁶ Chételat G, Villemagne VL, Bourgeat P, Pike KE, Jones G, Ames D, Ellis KA, et al. Australian Imaging Biomarkers and Lifestyle Research Group. Relationship between atrophy and beta-amyloid deposition in Alzheimer disease. *Ann Neurol.* 2010; 67:317–324

En el complejo γ -secretasa participan como subunidad catalítica la presenilina 1 (PS1) o en su defecto la presenilina 2 (PS2), productos de los genes PSEN1 y PSEN2, y las mutaciones en estos genes desencadenan una mayor producción de péptidos A β , sobre todo de los A β 42. Como se ha comentado, se generan isoformas de A β de longitud variable, ya que PS1 no tiene un corte fijo. La isoforma más común es el A β 40, mientras que el A β 42 se consideran la forma A β más patógena y la que más tiende a agregarse, dando oligómeros tóxicos que se agregan en placas neuríticas. A β 42 es el componente principal de las placas amiloides y es un péptido muy hidrófobo e insoluble,⁹⁷ aunque también se ha observado la participación de A β 40 en las placas del cerebro.⁹⁸ Esta deposición del péptido para dar placas amiloides en el cerebro causa paradójicamente que la concentración de A β 42 en el LCR esté disminuida en pacientes con EA en comparación con las personas sanas. En la mayoría de los pacientes, la correlación es muy alta entre los niveles de A β 42 en LCR y la patología amiloide, de forma que sus niveles van disminuyendo a medida que progresa la patología amiloide, reflejando la carga de placas A β . Esta correlación se corresponde con los hallazgos observados en las autopsias⁹⁹ y en las mediciones realizadas en algunos individuos a lo largo de la vida mediante PET amiloide.¹⁰⁰ Otros fragmentos de A β N-terminales y las formas truncadas C-terminales tales como A β 14, A β 15, A β 16, A β 37, A β 38, A β 39 y A β 5-40, también se pueden detectar en LCR.^{101,102,103} La existencia de otros fragmentos de APP en el LCR se explica por la existencia de vías alternativas de procesamiento de APP.¹⁰⁴

⁹⁷ Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci.* 1985; 82:4245–4249. doi:10.1073/pnas.82.12.4245

⁹⁸ Wang J, Dickson DW, Trojanowski JQ, Lee VM. The levels of soluble versus insoluble brain Abeta distinguish Alzheimer's disease from normal and pathologic aging. *Exp Neurol.* 1999; 158:328–337. doi:10.1006/exnr.1999.7085

⁹⁹ Strozzyk D, Blennow K, White LR, Launer LJ. CSF Abeta 42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study. *Neurology.* 2003; 60(4):652-6

¹⁰⁰ Wirths O, Erck C, Martens H, Harmeier A, Geumann C, Jawhar S, Kumar S, et al. Identification of low molecular weight pyroglutamate A{beta} oligomers in Alzheimer disease: a novel tool for therapy and diagnosis. *J Biol Chem.* 2010;285(53):41517-24. doi: 10.1074/jbc.M110.178707

¹⁰¹ Portelius E, Mattsson N, Andreasson U, Blennow K, Zetterberg H. Novel A β isoforms in Alzheimer's disease—their role in diagnosis and treatment. *Curr Pharm Des.* 2011; 17:2594–2602

¹⁰² Vanderstichele H, De Meyer G, Andreasen N, Kostanjevecki V, Wallin A, Olsson A, Blennow K, et al. Amino-truncated β -amyloid42 peptides in cerebrospinal fluid and prediction of progression of mild cognitive impairment. *Clin Chem.* 2005; 51:1650–1660

¹⁰³ Portelius E, Dean RA, Gustavsson MK, Andreasson U, Zetterberg H, Siemers E, Blennow K, et al. A novel A β isoform pattern in CSF reflects γ -secretase inhibition in Alzheimer disease. *Alzheimers Res Ther.* 2010; 2:7

¹⁰⁴ Portelius E, Price E, Brinkmalm G, Stiteler M, Olsson M, Persson R, Westman-Brinkmalm A, et al. A novel pathway for amyloid precursor protein processing. *Neurobiol Aging.* 2011; 32:1090–1098. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.06.002

Los estudios indican que ya en DCL hay unos niveles más bajos de A β 42 en el LCR,^{105,106,107} aunque los niveles son todavía más bajos en los sujetos con EA.¹⁰⁸ Ha quedado demostrado por la mayoría de los estudios que en pacientes con EA, los niveles A β 42 y A β 40 se reducen marcadamente a medida que pasa el tiempo.^{2,23} Paralelamente, las concentraciones de A β 42 del LCR fueron bastante más bajas en casos de DCL debido a EA que en los casos de DCL estable, mientras que la concentración de A β 40 no mostró diferencias significativas entre estos dos tipos de pacientes. Otra ventaja de medir los niveles de A β 42 en LCR es que se predice la demencia por EA hasta 10 años antes de la aparición de los síntomas.^{109,110,111} Por norma general, la concentración de A β 42 en el LCR comienza a aumentar de forma anormal, seguido por una disminución drástica una vez se inicia la formación de las placas amiloides cerebrales. Los niveles de A β 42 en LCR son capaces de discriminar entre EA y controles con una sensibilidad de 59 a 96% y una especificidad del 77 a 89%, según estudios.^{65,98,112}

- Proteína tau

La proteína tau es una proteína citoesquelética que se encuentra principalmente en los axones y es allí donde se une para estabilizar los microtúbulos, lo cual es fundamental para el transporte axonal, tanto anterógrado como retrógrado. Su actividad se regula por el estado de fosforilación/defosforilación, pero la hiperfosforilación patológica de tau provoca la disociación de los microtúbulos, reduciendo su estabilidad y provocando muerte celular. La proteína tau-P libre

¹⁰⁵ Craig-Schapiro R, Kuhn M, Xiong C, Pickering EH, Liu J, Misko TP, Perrin RJ, et al. Multiplexed immunoassay panel identifies novel CSF biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis and prognosis. *PLoS One*. 2011; 6:e18850. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3079734/>

¹⁰⁶ Hampel H, Teipel SJ, Fuchsberger T, Andreassen N, Wiltfang J, Otto M, Shen Y, et al. Value of CSF beta-amyloid1-42 and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Mol Psychiatry*. 2004; 9:705–710

¹⁰⁷ de Souza LC, Sarazin M, Teixeira-Júnior AL, Caramelli P, Santos AE, Dubois B. Biological markers of Alzheimer's disease. *Arq Neuropsiquiatr*. 2014; 72:227–231

¹⁰⁸ Hu WT, Chen-Plotkin A, Arnold SE, Grossman M, Clark CM, Shaw LM, Pickering E, et al. Novel CSF biomarkers for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2010; 119:669–678. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2880811/>

¹⁰⁹ Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol*. 2006; 5:228–234. doi:10.1016/S1474-4422(06)70355-6

¹¹⁰ Hampel H, Teipel SJ. Total and phosphorylated tau proteins: evaluation as core biomarker candidates in frontotemporal dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2004; 17(4):350–4. doi:10.1159/000077170

¹¹¹ Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin AK, Blennow K, Hansson O. Cerebrospinal fluid levels of beta-amyloid 1-42, but not of Tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Arch Gen Psychiatry*. 2012; 69:98–106. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2011.155

¹¹² Blennow K. Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *NeuroRx*. 2004; 1:213–25. doi:10.1602/neuroRx.1.2.213

tiende a agregarse en filamentos helicoidales que dan como resultado la formación de NFTs^{113,114} y experimenta otras modificaciones postraduccionales como glicosilación y oxidación¹¹⁵ que también intervienen en la patogénesis de la enfermedad.¹¹⁶ Como se ha comentado, una proporción de tau siempre está fosforilada en el cerebro, en equilibrio con formas defosforiladas,¹¹⁷ pero en la EA, tau se hiperfosforila en exceso y es entonces cuando pierde su capacidad de montar y estabilizar los microtúbulos.¹¹⁸ Aparte de la hiperfosforilación, las aberraciones en el ensamblaje de tau también son causa directa de enfermedades neurodegenerativas.¹¹⁹

La proteína tau tiene varias isoformas y se puede fosforilar en varios residuos. Se han diseñado test de detección que permiten medir los niveles de proteína independientemente del residuo por el que esté fosforilada, y otros que son específicos de ciertos residuos. Hay más de 80 sitios donde las enzimas quinasas pueden adherir grupos fosfato, son los llamados sitios de fosforilación.¹²⁰ La adición de grupos fosfato en diferentes posiciones “patológicas” altera las propiedades de la cadena de aminoácidos tau y este proceso interfiere en la capacidad de tau para estabilizar los microtúbulos y la hace más resistente a la degradación, posiblemente contribuyendo a la formación de fibrillas y ovillos.¹²¹ El nivel de tau-T en LCR refleja la intensidad de la degeneración neuronal y se correlaciona con una rápida disminución cognitiva y una alta tasa de mortalidad

¹¹³ Lee VM, Balin BJ, Otvos L, Trojanowski JQ. A68: a major subunit of paired helical filaments and derivatized forms of normal Tau. *Science*. 1991; 251:675–678

¹¹⁴ Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986; 83:4913–4917. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC323854/>

¹¹⁵ Hernández F, Avila J. Tauopathies. *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64(17):2219-33

¹¹⁶ Gong CX, Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease. *J Neural Transm*. 2005; 112:813–838

¹¹⁷ Formichi P, Battisti C, Radi E, Federico A. Cerebrospinal fluid tau, A beta, and phosphorylated tau protein for the diagnosis of Alzheimer's disease. *J Cell Physiol*. 2006; 208:39–46

¹¹⁸ Mandelkow EM, Mandelkow E. Tau in Alzheimer's disease. *Trends Cell Biol*. 1998; 8:425–427

¹¹⁹ Niblock M, Gallo JM. Tau alternative splicing in familial and sporadic tauopathies. *Biochem Soc Trans*. 2012; 40:677–680

¹²⁰ Martin L, Latypova X, Terro F. Post-translational modifications of tau protein: Implications for Alzheimer's disease. *Neurochem Int*. 2011; 58:458–471

¹²¹ Johnson GVW, Jenkins SM. Tau protein in normal and Alzheimer's disease brain. *J Alzheimers Dis*. 1999; 1:307–328

en pacientes con EA.¹²²—A pesar de que hay múltiples sitios de fosforilación en residuos de serina y treonina, en LCR se suelen medir los niveles de tau-P que están fosforilados en la treonina 181 o treonina 231.²⁶ Estos ensayos solo detectan la fosforilación de un aminoácido específico, y aunque ambas formas muestran sensibilidades y especificidades similares para EA y DCL progresivo en la mayoría de los estudios, tau-P 181 se emplea más en la EA que tau-P 231.^{26,123}

Un incremento en los niveles de tau-T indica EA con una sensibilidad del 80% y una especificidad del 90%.¹²⁴ Del mismo modo, el aumento de los niveles de tau-T se asocia con una rápida progresión desde DCL a EA,¹²⁵ con un rápido deterioro cognitivo y una alta tasa de mortalidad en pacientes con EA.^{126,127} Los niveles de tau-P distinguen entre los pacientes con EA y los controles con una sensibilidad del 68-86% y una especificidad del 61-73%.^{75,128} Se ha visto que la tau-P es más específica de EA que la tau-T^{129,130} aunque hay que tener presente

¹²² Kajsa Sämngård, Henrik Zetterberg, Kaj Blennow, Oskar Hansson, Lennart Minthon, Elisabet Londos. Cerebrospinal fluid total tau as a marker of Alzheimer's disease intensity. *J Geriatr Psychiatry*. 2009; 25:403–410. doi:10.1002/gps.2353

¹²³ Mitchell A J. CSF phosphorylated tau in the diagnosis and prognosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a meta-analysis of 51 studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009; 80:966–975

¹²⁴ Blennow K, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis*. 2009; 18:413–417

¹²⁵ Blom ES, Giedraitis V, Zetterberg H, Fukumoto H, Blennow K, Hyman BT, Irizarry MC, et al. Rapid progression from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease in subjects with elevated levels of tau in cerebrospinal fluid and the APOE epsilon4/epsilon4 genotype. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2009; 27:458–464

¹²⁶ Samgard K, Zetterberg H, Blennow K, Hansson O, Minthon L, Londos E. Cerebrospinal fluid total tau as a marker of Alzheimer's disease intensity. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2010; 25:403–410

¹²⁷ Wallin A.K., Hansson O., Blennow K., Londos E., Minthon L. Can CSF biomarkers or pre-treatment progression rate predict response to cholinesterase inhibitor treatment in Alzheimer's disease? *Int J Geriatr Psychiatry*. 2009; 24:638–647

¹²⁸ Duits FH, Teunissen CE, Bouwman FH, Visser PJ, Mattsson N, Zetterberg H, Blennow K, et al. The cerebrospinal fluid 'Alzheimer profile': easily said, but what does it mean?. *Alzheimers Dement*. 2014; 10(6):713–723 doi:10.1016/j.jalz.2013.12.023

¹²⁹ Kester MI, Scheffer PG, Koel-Simmelink MJ, Twaalfhoven H, Verwey NNA, Veerhuis R, Twisk JW, et al. Serial CSF sampling in Alzheimer's disease: specific versus non-specific markers. *Neurobiol Aging*. 2012; 33: 1591-8

¹³⁰ Monge-Argiles JA, Muñoz-Ruiz C, Sanchez-Paya J, Montoya-Gutierrez FJ, Borja E, Leiva-Santana C.

Biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con enfermedad de Alzheimer prodrómica. *Alzheimer Real Invest Demenc*. 2011; 49:19-25

que, según la mayoría de estudios, los niveles de tau-P aumentan con la edad incluso en los individuos cognitivamente normales.^{131,132,133,134}

7. Otros biomarcadores en estudio

Es necesario extender el estudio sobre biomarcadores a todas las proteínas del LCR que tengan relación con la EA, porque de esta manera se podrán comprender mejor los mecanismos de desarrollo de la enfermedad y permitirá el descubrimiento de nuevos biomarcadores que pueden ser útiles para avanzar hacia un mejor y más efectivo tratamiento de la patología.

La inflamación del cerebro es una de las características asociadas a la EA, aunque no exclusiva de la misma, y se cree que los mediadores inflamatorios, en particular las citoquinas y quimiocinas (o citoquinas quimiotácticas), pueden ser biomarcadores valiosos para la detección precoz y el diagnóstico de la enfermedad. Distintos estudios han informado de diferencias en el nivel en suero de citoquinas, quimiocinas y factores de crecimiento en pacientes con DCL o EA. Sin embargo, los datos a menudo eran inconsistentes y la función exacta de la inflamación en la neurodegeneración todavía es un tema sujeto a debate. No obstante, una línea de investigación es evaluar los niveles de marcadores inflamatorios en el LCR por medio de inmunoensayos. En la EA se produce una regulación positiva de la respuesta inmune innata del cerebro, lo cual desencadena procesos inflamatorios haciendo que se liberen citoquinas que producen una respuesta celular, la cual desemboca en daño y destrucción neuronal.¹³⁵ Algunos estudios indican que el F2-isoprostano, que es un marcador de la peroxidación lipídica asociado con la inflamación,¹³⁶ podría ser un posible

¹³¹ Hampel H, Buerger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Goernitz A, Andreasen N, Sjoegren M, et al. Measurement of phosphorylated tau epitopes in the differential diagnosis of Alzheimer disease: a comparative cerebrospinal fluid study. *Arch of General Psychiatry*. 2004; 61:95–102

¹³² Kester MI, Van der Vlies AE, Blankenstein MA, Pijnenburg YA, Van Elk EJ, Scheltens P, Van der Flier WM. CSF biomarkers predict rate of cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurol*. 2009; 73:1353–1358

¹³³ Bouwman FH, Schoonenboom NS, Verwey NA, Van Elk EJ, Kok A, Blankenstein MA, Scheltens P, et al. CSF biomarker levels in early and late onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2009; 30:1895–1901

¹³⁴ Mattsson N, Rosen E, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, Herukka SK, et al. Age and diagnostic performance of Alzheimer disease CSF biomarkers. *Neurol*. 2012; 78:468–476. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3280049/>

¹³⁵ Chintamaneni M, Bhaskar M. Biomarkers in Alzheimer's disease: a review. *ISRN Pharmacol*. 2012; 2012:984786

¹³⁶ Montine TJ, Markesbery WR, Morrow JD, Roberts LJ. Cerebrospinal fluid F2-isoprostane levels are increased in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1998; 44:410–413. doi: 10.1002/ana.410440322

biomarcador para la EA ya que sus niveles se incrementan en el LCR de los casos de EA familiares, portadores de mutaciones en APP o PSEN1.⁸⁰ Asimismo, se ha estudiado el biomarcador inflamatorio YKL-40, que se secreta por la microglia y astrocitos activados.^{137,138,139} En los pacientes con EA se elevan los niveles de LCR de YKL-40 como señal de activación microglial.^{134,140,141} Desgraciadamente, no está muy claro si las proteínas inflamatorias están vinculadas específicamente con la EA, por lo tanto, son necesarios más estudios para comprobar si son un buen biomarcador de la enfermedad.

Otra alternativa que se está barajando es la estimación de los niveles de VILIP-1.^{142,143} Es una proteína del sensor de calcio que se encuentra en el citoplasma neuronal,¹⁴⁴ y actúa como marcador de daño neuronal y muerte celular, incrementándose hasta 15 años antes de que aparezcan los síntomas de EA en portadores de las mutaciones APP, PSEN1 o PSEN2,¹⁴⁵ y además es un fuerte predictor de deterioro cognitivo en pacientes con DCL.^{140,141}

Por otro lado, cada vez hay más evidencia de que en aproximadamente un 40% de las demencias hay contribuciones vasculares^{53,146,147} por lo que parece que en

¹³⁷ Craig-Schapiro R, Perrin RJ, Roe CM, Xiong C, Carter D, Cairns NJ, Mintun MA, et al. YKL-40: A novel prognostic fluid biomarker for preclinical Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 2010; 68:903–912

¹³⁸ Bonneh-Barkay D, Bissel SJ, Wang G, Fish KN, Nicholl GC, Darko SW, Medina-Flores R, et al. YKL-40, a marker of simian immunodeficiency virus encephalitis, modulates the biological activity of basic fibroblast growth factor. *Am J Pathol*. 2008; 173(1):130–143. doi:10.2353/ajpath.2008.080045

¹³⁹ Horbinski C, Wang G, Wiley CA. YKL-40 is directly produced by tumor cells and is inversely linked to EGFR in glioblastomas. *Int J Clin Exp Pathol*. 2010; 3:226–37

¹⁴⁰ Olsson B, Hertze J, Lautner R, Zetterberg H, Nagga K, Hoglund K, Basun H, et al. Microglial markers are elevated in the prodromal phase of Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Alzheimer's dis JAD*. 2013; 33:45–53

¹⁴¹ Perrin RJ, Craig-Schapiro R, Malone JP, Shah AR, Gilmore P, Davis AE, Roe CM, et al. Identification and validation of novel cerebrospinal fluid biomarkers for staging early Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2011; 6:e16032. doi: 10.1371/journal.pone.0016032 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3020224/>

¹⁴² Tarawneh R, D'Angelo G, Macy E, Xiong C, Carter D, Cairns NJ, Fagan AM, et al. Visinin-like protein-1: diagnostic and prognostic biomarker in Alzheimer disease. *Ann Neurol*. 2011; 70:274–285. doi: 10.1002/ana.22448. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3154071/>

¹⁴³ Tarawneh R, Lee JM, Ladenson JH, Morris JC, Holtzman DM. CSF VILIP-1 predicts rates of cognitive decline in early Alzheimer disease. *Neurology*. 2012; 78:709–719

¹⁴⁴ Laterza OF, Modur VR, Crimmins DL, Olander JV, Landt Y, Lee JM, Ladenson JH. Identification of novel brain biomarkers. *Clin Chem*. 2006; 52:1713–1721

¹⁴⁵ Fagan AM, Xiong C, Jasielec MS, Bateman RJ, Goate AM, Benzinger TLS, Ghetti B, et al. Longitudinal change in CSF biomarkers in autosomal-dominant Alzheimer's disease. *Sci Transl Med*. 2014; 6:226ra30

¹⁴⁶ Montine TJ, Koroshetz WJ, Babcock D, Dickson DW, Galpern WR, Glymour MM, Greenberg SM, et al. Recommendations of the Alzheimer's disease-related dementias conference. *Neurology*. 2014; 83:851–860. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4155046/>

los procesos de neurodegeneración hay contribución neurovascular. Se piensa que el daño microvascular es el inicio y posteriormente la disfunción y/o disminución de la perfusión cerebral lleva a la lesión neuronal y a la acumulación de A β en el cerebro.⁵³

En la EA se ven afectados múltiples tipos de células dentro de la unidad neurovascular (NVU, del inglés *neurovascular unit*), que es una red interactiva establecida entre las células vasculares del cerebro (células endoteliales, pericitos y células del músculo liso vascular), células gliales (astrocitos y microglia), y las neuronas.^{148,149,150} Es por ello que la identificación y la integración de biomarcadores basados en las respuestas de células específicas de NVU tiene potencial para contribuir a una mejor comprensión del proceso de la enfermedad en las demencias, incluyendo EA. Esto lleva a pensar que la utilidad clínica de los marcadores biológicos establecidos de EA, A β y tau, podría mejorar si se incorporan biomarcadores de las respuestas y las lesiones de células específicas de NVU. Este tipo de biomarcadores podrían ayudar a la detección e intervención temprana, ya que la disfunción vascular se produce pronto, así como a identificar nuevas dianas de tratamiento para retrasar la aparición de la enfermedad, enlentecer la progresión, y/o prevenir la demencia por EA. El estudio de biomarcadores neurovasculares podría ser igual de útil en la identificación de nuevas dianas terapéuticas.

Otra manifestación temprana de la EA es la disfunción hipotalámica y por ello podría facilitar información valiosa para mejorar el diagnóstico. Los déficits del hipotálamo se suelen ver en las etapas preclínicas de la EA, lo que podría permitir un diagnóstico más precoz y por lo tanto aumentar las opciones para una posible intervención terapéutica. La exploración del papel del hipotálamo en la EA, puede proporcionar nuevas direcciones en la investigación de biomarcadores y nuevos enfoques terapéuticos.

¹⁴⁷ Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia. *Neuron*. 2013; 80:844–866 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3842016/>

¹⁴⁸ Zlokovic BV. Neurovascular mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration. *Trends Neurosci*. 2005; 28:202–208

¹⁴⁹ Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*. 2008; 57:178–201

¹⁵⁰ Lo EH, Rosenberg GA. The neurovascular unit in health and disease: introduction. *Stroke*. 2009; 40:S2–S3. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2811575/>

En este escenario de potenciales biomarcadores adicionales, la opción que se considera más plausible es la combinación de distintos biomarcadores. Varios estudios han demostrado que la combinación de biomarcadores de LCR puede mejorar su precisión diagnóstica global.^{104,151,152,153} Hasta la fecha, los datos indican que la combinación de marcadores clásicos como A β 42, ya sea con tau-T o tau-P, es más específica que cada uno de ellos por separado. Al mismo tiempo, el análisis combinado de los biomarcadores de LCR proporciona un diagnóstico diferencial más preciso entre la EA y otras demencias degenerativas. Así, A β 42 y tau se deben utilizar en combinación, y la presencia simultánea de bajo A β 42 y altas concentraciones de tau-T o tau-P facilita un diagnóstico de EA, incluso en una fase prodrómica, con una sensibilidad de entre 90-95% y una especificidad de aproximadamente un 90%.^{154,155,156} El uso de relaciones de biomarcadores como tau-P/A β 42 y tau-T/A β 42 puede mejorar la precisión diagnóstica de manera que relaciones más altas indican que la patología es más significativa.^{112,156,157} El ratio A β 42/tau-P basal predijo la conversión a demencia con una sensibilidad del 88% y una especificidad del 90%.¹⁵⁸ Las razones de A β 42/A β 40, A β 38/A β 42, A β 42/A β x-42, tau-T/A β 42 y tau-P/A β 42 en LCR se han utilizado también como medidas adicionales para discriminar mejor entre los pacientes con EA, controles sanos y pacientes con otras demencias o para predecir la progresión de los

¹⁵¹ Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, De Deyn PP, Bancher C, et al. Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1-42) and tau levels in CSF. *Neurology*. 1999; 52:1555–1562. doi:10.1212/WNL.52.8.1555

¹⁵² Smach MA, Charfeddine B, Othman BL, Lammouchi T, Dridi H, Nafati S, Ltaief A, et al. Evaluation of cerebrospinal fluid tau/beta-amyloid(42) ratio as diagnostic markers for Alzheimer disease. *Eur Neurol*. 2009; 62:349–355. doi:10.1159/000241881

¹⁵³ Vos SJ, Verhey F, Frölich L, Kornhuber J, Wiltfang J, Maier W, Peters O, et al. Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain*. 2015; 138(5):1327–1338. doi:10.1093/brain/awv029

¹⁵⁴ Schoonenboom NS, Reesink FE, Verwey NA, Kester MI, Teunissen CE, van de Ven PM, Pijnenburg YA, et al. Cerebrospinal fluid markers for differential dementia diagnosis in a large memory clinic cohort. *Neurology*. 2012; 78:47–54. doi:10.1212/WNL.0b013e31823ed0f0

¹⁵⁵ Brys M, Pirraglia E, Rich K, Rolstad S, Mosconi L, Switalski R, Glodzik-Sobanska L, et al. Prediction and longitudinal study of CSF biomarkers in mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*. 2009; 30:682–690. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.08.010

¹⁵⁶ Li G, Sokal I, Quinn JF, Leverenz JB, Brodey M, Schellenberg GD, Kaye JA, et al. CSF tau/Abeta42 ratio for increased risk of mild cognitive impairment: a follow-up study. *Neurology*. 2007; 69:631–639. doi:10.1212/01.wnl.0000267428.62582.aa

¹⁵⁷ Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2003; 2:605-613. doi:10.1016/S1474-4422(03)00530-1

¹⁵⁸ García-Ribas G, López-Sendón JL, García-Caldentey J. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol*. 2014; 58: 308-17

pacientes con DCL en particular la relación tau-T/A β 42. Otros estudios mostraron que la proporción de A β 42/A β 40 en LCR se reduce en pacientes con EA, y su evaluación mejora la precisión diagnóstica.^{159,160} Paralelamente, el uso del cociente A β 42/A β 40 podría evitar los falsos negativos en aquellos casos que parten de cifras muy elevadas de producción de péptidos amiloides. Esto puede deberse a que la relación normaliza los individuos según su nivel de producción de A β .

Los biomarcadores centrales del LCR utilizados para el diagnóstico de la EA también pueden aplicarse en paralelo con los marcadores de imagen mediante resonancia magnética (RM), PET-fluorodeoxiglucosa o PET amiloide.

8. Biomarcadores de imagen

Las medidas de la atrofia y la función cerebral además de la conectividad, la perfusión cerebral, el metabolismo, y los niveles de amiloide sufren cambios progresivos asociados con el desarrollo y la progresión de la EA. Es por ello que las investigaciones se han dirigido a conseguir detectar estos cambios mediante técnicas de imagen. Con el paso del tiempo, los métodos de neuroimagen se han convertido en importantes herramientas para la evaluación y seguimiento de los cambios cerebrales patológicos asociados con las enfermedades neurodegenerativas progresivas. Estas técnicas fueron las primeras que permitieron reconocer la EA in vivo y ahora su uso está ampliamente extendido.

En la RM estructural, la EA de inicio temprano se caracteriza por atrofia en el lóbulo temporal medial, concretamente en el parahipocampo y la amígdala. Sin embargo, la atrofia puede extenderse implicando al cortex posterior,¹⁶¹ lóbulos

¹⁵⁹ Mehta PD, Pirttila T, Mehta SP, Sersen EA, Aisen PS, Wisniewski HM. Plasma and cerebrospinal fluid levels of amyloid beta proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2000; 57(1):100–105.

doi:10.1001/archneur.57.1.100

¹⁶⁰ Schoonenboom NS, Mulder C, Van Kamp GJ, Mehta SP, Scheltens P, Blankenstein MA, Mehta PD, et al. Amyloid beta 38, 40, and 42 species in cerebrospinal fluid: more of the same?. *Ann Neurol.* 2005; 58(1):139–142.

doi:10.1002/ana.20508

¹⁶¹ Teipel SJ, Schapiro MB, Alexander GE, Krasuski JS, Horwitz B, Hoehne C, Möller HJ, et al. Relation of corpus callosum and hippocampal size to age in nondemented adults with Down's syndrome. *Am J Psychiatry.* 2003;

160(10):1870–1878

occipitales, cingulada posterior y precúneo.¹⁶² Igualmente, pueden aparecer cambios en la materia blanca. Por desgracia, estos cambios no son específicos de EA, ya que se producen en otras enfermedades neurodegenerativas y en el proceso normal de envejecimiento. En la mayoría de los métodos de neuroimagen estructural los pacientes con DCL muestran un patrón de cambios que es intermedio entre las personas sanas y los pacientes mayores con EA.^{163,164}

Por otra parte, la RM funcional permite observar la actividad neuronal durante el reposo o la activación de una tarea en regiones concretas del cerebro. El método más común es medir alteraciones en el flujo sanguíneo basándose en los cambios en la concentración de desoxihemoglobina [*Blood oxygenation level dependent (BOLD) imaging* en fMRI (RM funcional)]. Diversos estudios han demostrado una disminución de la señal BOLD en el lóbulo temporal medial, lóbulo parietal y áreas del hipocampo de las personas con EA en comparación con controles durante una tarea cognitiva. Asimismo, se han apreciado patrones diferentes de actividad neuronal asociados a tareas, en los pacientes con DCL y los controles sanos.

Otras técnicas de imagen empleadas son la tomografía por emisión de positrones (PET) y la tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT). Ambas han demostrado una buena capacidad de diagnóstico y pronóstico. Su funcionamiento se basa en que una sustancia, conocida como radiotrazador, se une a los agregados que se forman en el cerebro, indicando la presencia de placas amiloides y NFTs. Estos hallazgos se correlacionan con déficits cognitivos debidos a EA y se han encontrado diferencias entre los pacientes cognitivamente normales, los que sufren DCL y los que tienen EA establecida.

La RM y PET de fluorodeoxiglucosa son las más usadas. El PET-18 fluorodeoxiglucosa (PET-FDG), es uno de los radioligandos más estudiados. Actúa como indicador del metabolismo de la glucosa y, por consiguiente, de la actividad neuronal. Las reducciones en la PET-FDG se observan tempranamente

¹⁶² Karas G, Scheltens P, Rombouts S, Van Schijndel R, Klein M, Jones B, Van der Flier W, et al. Precuneus atrophy in early-onset Alzheimer's disease: a morphometric structural MRI study. *Neuroradiology*. 2007; 49(12):967–976

¹⁶³ Nobili F, Salmaso D, Morbelli S, Girtler N, Piccardo A, Brugnolo A, Dessi B, et al. Principal component analysis of FDG PET in amnesic MCI. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008; 35:2191–2202. doi: 10.1007/s00259-008-0869-z

¹⁶⁴ Mosconi L, Tsui WH, Herholz K, Pupi A, Drzezga A, Lucignani G, Reiman EM, et al. Multicenter standardized 18F-FDG PET diagnosis of mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and other dementias. *J Nucl Med*. 2008; 49:390–398. doi: 10.2967/jnumed.107.045385. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3703818/>

en zonas vulnerables como la corteza cingulada posterior y medial del lóbulo temporal y poco a poco se amplían a otras áreas incluyendo las cortezas frontales de asociación, proporcionando las capacidades de diagnóstico y pronóstico.^{165,166} Sin embargo, estos cambios no se ven típicamente hasta la fase sintomática de la EA.¹⁶⁷ Por ello, aunque el PET amiloide está ganando terreno en la clínica, su validez y coste-efectividad aún no se han establecido. Ahora se postula que tau-PET podría ofrecer nuevas ideas y ser de gran ayuda en el diagnóstico diferencial y selección de pacientes para los ensayos.

En la EA, los niveles de A β fibrilar se observan aumentados significativamente cuando se mide por PET amiloide.¹⁶⁸ Estos incrementos se correlacionan inversamente con los niveles de A β 42 en LCR y ofrecen algún valor para el diagnóstico y el pronóstico en las etapas tempranas de la enfermedad, incluyendo el período preclínico.¹⁶⁹ Grandes estudios clínicos muestran idénticos resultados diagnósticos para el A β 42 de LCR y el PET amiloide,¹⁷⁰ lo que sugiere que estas técnicas pueden usarse indistintamente.

Las técnicas de imagen desempeñan un papel clave en la evaluación clínica de pacientes con sospecha de EA. La clasificación visual de la atrofia temporal medial se usa comúnmente en el diagnóstico de pacientes con deterioro cognitivo.¹⁷¹ Asimismo, para los pacientes con EA atípica, la valoración de la atrofia en la región parietal es de suma importancia.

¹⁶⁵ Stromberg K, Eketjall S, Georgievskaja B, Tunblad K, Eliason K, Olsson F, Radesäter AC, et al. Combining an amyloid-beta cleaving enzyme inhibitor with a gamma-secretase modulator results in an additive reduction of Abeta production. *FEBS J.* 2015; 282:65–73

¹⁶⁶ Bai XC, Yan C, Yang G, Lu P, Ma D, Sun L, Zhou R, et al. An atomic structure of human gamma-secretase. *Nature.* 2015; 525:212–217

¹⁶⁷ Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Shaw LM, Aisen PS, Weiner MW, Ronald C, et al. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol.* 2010; 9:119–128 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2819840/>

¹⁶⁸ Jagust WJ, Landau SM, Shaw LM, Trojanowski JQ, Koeppe RA, Reiman EM, Foster NL, et al. Relationships between biomarkers in aging and dementia. *Neurology.* 2009; 73:1193–1199

¹⁶⁹ Forsberg A, Almkvist O, Engler H, Wall A, Langstrom B, Nordberg A. High PIB retention in Alzheimer's disease is an early event with complex relationship with CSF biomarkers and functional parameters. *Curr Alzheimer Res.* 2010; 7:55–66

¹⁷⁰ Mattsson N, Insel PS, Landau S, Jagust W, Donohue M, Shaw LM, Trojanowski JQ, et al. Diagnostic accuracy of CSF Ab42 and fl orbetapir PET for Alzheimer's disease. *Ann Clin Transl Neurol.* 2014; 1:534–543

¹⁷¹ Scheltens P, Leys D, Barkhof F, Huglo D, Weinstein HC, Vermersch P, Kuiper M, et al. Atrophy of medial temporal lobes on MRI in "probable" Alzheimer's disease and normal ageing: diagnostic value and neuropsychological correlates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1992; 55:967–972

La RM tiene, además, la ventaja de que no mide una sola entidad molecular, por lo que la atrofia podría reflejar no sólo la pérdida de neuronas, sino también otros eventos asociados a la neurodegeneración incluyendo pérdida de tractos axonales y dendritas, pérdida de otros tipos celulares como astrocitos y microglia, procesos inflamatorios y alteraciones del volumen del líquido intersticial.¹⁷²

Para concluir, la RM, la PET y la PET-FDG, junto con los niveles del LCR son los biomarcadores más empleados, pero es muy probable que los cambios estructurales medidos mediante RM sean eventos que se producen relativamente tarde en el curso de la enfermedad, y la PET es relativamente cara y de disponibilidad limitada. Por otra parte, la RM estructural y la PET-FDG no aparecen como medidas directas de las características patológicas principales de la EA y pueden no ser específicas para EA en algunos casos.¹⁷³

Como se ha comentado, algunos estudios han investigado la combinación de los biomarcadores de imagen con los de LCR y se ha visto que la combinación de A β 42, tau-T o tau-P con biomarcadores de imagen, permite clasificar mejor a los pacientes con DCL, EA u otras patologías.¹⁷⁴ Por ejemplo, la combinación de RM y A β 42 de LCR aumentan la sensibilidad de 83% para RM y 84% para A β 42 a un 89% cuando se combinan. Por su parte, la especificidad pasa de 90 y 79% a un 95%.¹⁷⁴ Sin embargo, antes de su uso generalizado se debe estudiar la combinación en muestras representativas de la población general.

9. Conclusiones

Como se ha recopilado en este trabajo, la búsqueda de biomarcadores para la EA está muy extendida y es un área que avanza continuamente y gracias a ello se han hecho muchos avances en el conocimiento de la patología que están permitiendo explorar nuevas vías de tratamiento. Además de su evidente importancia diagnóstica, los biomarcadores tendrán más utilidad cuando se

¹⁷² Hampel H, Wilcock G, Andrieu S, Aisen P, Blennow K, Broich K, Carrillo M, et al. Biomarkers for Alzheimer's disease therapeutic trials. *Prog Neurobiol.* 2011; 95:579–593

¹⁷³ Johnson KA, Fox NC, Sperling RA, Klunk WE. Brain imaging in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012 2:a006213. doi:10.1101/cshperspect.a006213

¹⁷⁴ Westman E, Muehlboeck JS, Simmons A. Combining MRI and CSF measures for classification of Alzheimer's disease and prediction of mild cognitive impairment conversion. *NeuroImage.* 2012; 62:229-238

disponga de tratamientos modificadores de la enfermedad, por el momento pueden ayudar en el proceso de su desarrollo. Por este motivo es tan importante seguir los criterios de estandarización que permiten hacer los estudios más reproducibles y contribuyen a obtener conclusiones más acertadas de los ensayos. Los procedimientos de trabajo ya se conocen, ahora sólo hay que guiarse por estas directrices en los proyectos futuros para seguir avanzando todavía más. Todos los logros obtenidos han sido gracias a los esfuerzos de múltiples organizaciones que han visto en los biomarcadores una gran herramienta en la lucha contra la EA, y estos pueden servir de referente para investigaciones futuras incluso para otras demencias.

Como ya se ha dicho, por el momento, la mejor opción es usar una combinación de biomarcadores porque tiene un buen valor predictivo positivo y negativo para diferenciar la EA del deterioro cognitivo normal debido al envejecimiento. En este sentido, la combinación que está dando unos mejores resultados es la del péptido A β 42 con tau-T o tau-P y por tanto sería la alternativa más recomendable para su uso en la práctica clínica.

Se han hecho grandes progresos en los últimos años, y si se sigue así, puede que pronto se encuentre la clave que permita una lucha más efectiva contra el gran problema a nivel mundial que supone la demencia por EA.

10. Bibliografía adicional

- Forlenza OV, Diniz BS, Gattaz WF. Diagnosis and biomarkers of predementia in Alzheimer's disease. *BMC Med.* 2010; 22: 8:89. doi:10.1186/1741-7015-8-89. Disponible en: <https://bmcmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7015-8-89>
- Ferreira D, Perestelo-Pérez L, Westman E, Wahlund L-O, Sarría A, Serrano-Aguilar P. Meta-review of CSF core biomarkers in Alzheimer's disease: the state-of-the-art after the new revised diagnostic criteria. *Front Aging Neurosci.* 2014; 6:47. doi: 10.3389/fnagi.2014.00047 Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2014.00047/full>
- Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: Epidemiology, Diagnostic Criteria, Risk Factors and Biomarkers. *Biochem Pharmacol.* 2014; 88(4):640-651. doi:10.1016/j.bcp.2013.12.024. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3992261/>
- Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, Van der Flier WM. Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2016; 388(10043): 505-517
- Lleó A, Caveda E, Parnetti L, Vanderstichele H, Herukka SK, Andreasen N, Ghidoni R. Cerebrospinal fluid biomarkers in trials for Alzheimer and Parkinson diseases. *Nat Rev Neurol.* 2015; 11: 41–55
- Galasko D. Expanding the Repertoire of Biomarkers for Alzheimer's Disease: Targeted and Non-targeted Approaches. *Front Neurol.* 2015; 6:256. doi: 10.3389/fneur.2015.00256 Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2015.00256/full>
- Mattsson N, Carrillo MC, Dean RA, Devous MD, Nikolcheva T, Pesini P, Salter H, et al. Revolutionizing Alzheimer's disease and clinical trial through biomarkers. *Alzheimers Dement.* 2015; 1: 412-419
- Rostgaard N, Waldemar G, Nielsen JE, Simonsen AH. Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Familial Forms of Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2015;40(1-2):54-62. doi: 10.1159/000381828. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/381828>
- Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Cerebrospinal fluid biomarkers of neurovascular dysfunction in mild dementia and Alzheimer's disease. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2015;35(7):1055-1068. doi:10.1038/jcbfm.2015.76. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4640280/>
- Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, Hölttä M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2016; 15: 673-684.
- García-Ribas G, López-Sendón JL, García-Caldentey J. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol.* 2014; 58: 308-17.
- Ritter A, Cummings J. Fluid biomarkers in clinical trials of Alzheimer's disease therapeutics. *Front. Neurol.* 2015; 6: 186. doi: 10.3389/fneur.2015.00186 Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2015.00186/full>
- Randall C, Mosconi L, de-Leon M, Glodzik L. Cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease in cognitively healthy elderly. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2013; 18:1150-1173. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3904672/>
- Blennow K, Zetterberg H, Front. Neurosci. The past and the future of Alzheimer's disease CSF biomarkers—a journey toward validated biochemical tests covering the whole spectrum of molecular events. *Front Neurosci.* 2015; 9:345. doi: 10.3389/fnins.2015.00345 Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2015.00345/full>

- Baird AL, Westwood S, Lovestone S. Blood-Based Proteomic Biomarkers of Alzheimer's Disease Pathology. *Front Neurol*. 2015; 6:236. doi: 10.3389/fneur.2015.00236 Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fneur.2015.00236/full>
- Veitinger M, Varga B, Guterres SB, Zellner M. Platelets, a reliable source for peripheral Alzheimer's disease biomarkers?. *Acta Neuropathol Commun*. 2014;2:65. doi:10.1186/2051-5960-2-65. Disponible en: <http://actaneurocomms.biomedcentral.com/articles/10.1186/2051-5960-2-65>
- Ritchie C, Smailagic N, Noel-Storr AH, Takwoingi Y, Flicker L, Mason SE, McShane R. Plasma and cerebrospinal fluid amyloid beta for the diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;6doi: 10.1002/14651858.CD008782.pub4 Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD008782.pub4/abstract>
- Morris JC, Blennow K, Froelich L, Nordberg A, Soininen H, Waldemar G, Wahlund LO, et al. Harmonized diagnostic criteria for Alzheimer's disease: recommendations. *J Intern Med*.2014; 275 (3): 204-213 Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/joim.12199/abstract;jsessionid=89C9014D9655B713C9B741F63B38006A.f02t03>
- Liu Y, Qing H, Deng Y. Biomarkers in Alzheimer's Disease Analysis by Mass Spectrometry-Based Proteomics. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(5):7865-7882. doi:10.3390/ijms15057865. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4057708/>
- Sutphen CL, Fagan AM, Holtzman DM. Progress Update: Fluid and Imaging Biomarkers in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 2014; 75(7):520-526. doi:10.1016/j.biopsych.2013.07.031. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3947397/>
- Humpel C. Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. *Trends Biotechnol*. 2011; 29(1):26-32. doi:10.1016/j.tibtech.2010.09.007. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3016495/>
- Trojanowski JQ, Vandeerstichele H, Korecka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, et al. Update on the biomarker core of the Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Alzheimer's Dement*. 2010; 6:230–238. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2867838/>
- Weiner MW, Veitch DP, Aisen PS, Beckett LA, Cairns NJ, Green RC, Harvey D, et al. The Alzheimer's disease neuroimaging initiative: A review of papers published since its inception. *Alzheimer's Dement*. 2012; 8:1–S68
- Borroni B, Premi E, Di Luca M, Padovani A. Combined Biomarkers for Early Alzheimer Disease Diagnosis. *Curr Med Chem*. 2007; 14:1171–1178
- Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. *NeurobiolAging*. 1998; 19(2):109–116
- Liu Y, Qing H, Deng Y. Biomarkers in Alzheimer's Disease Analysis by Mass Spectrometry-Based Proteomics. *Int J Mol Sci*. 2014; 15(5):7865-7882. doi:10.3390/ijms15057865. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4057708/>
- Sutphen CL, Fagan AM, Holtzman DM. Progress Update: Fluid and Imaging Biomarkers in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 2014; 75(7):520-526. doi:10.1016/j.biopsych.2013.07.031. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3947397/>
- Becker RE, Greig NH, Giacobini E. Why do so many drugs for Alzheimer's disease fail in development? Time for new methods and new practices?. *J AlzheimersDis*. 2008; 15:303–325 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3372084/>

- Jelic V, Winblad B. Treatment of mild cognitive impairment: rationale, present and future strategies. *Acta NeurolScand Suppl.* 2003; 179:83–93
- Snyder HM, Carrillo MC, Grodstein F, Henriksen K, Jeromin A, Lovestone S, Mielke MM, et al. Developing Novel Blood-Based Biomarkers for Alzheimer's Disease. *Alzheimers Dement.* 2014; 10(1):109-114. doi:10.1016/j.jalz.2013.10.007
- Delaby C, Gabelle A, Blum D, Schraen-Maschke S, Moulinier A, Boulanghien J, Séverac D, et al. Central nervous system and peripheral inflammatory processes in Alzheimer's disease: biomarker profiling approach. *Front Neurol.* 2015; 6:181. doi: 10.3389/fneur.2015.00181
- Bros P, Vialaret J, Barthelemy N, Delatour V, Gabelle A, Lehmann S, Hirtz C. Antibody-free quantification of seven tau peptides in human CSF using targeted mass spectrometry. *Front. Neurosci.* 2015; 9:302. doi: 10.3389/fnins.2015.00302
- Lee JM, Blennow K, Andreasen N, Laterza O, Modur V, Olander J, Feng G, et al. The brain injury biomarker VLP-1 is increased in the cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients. *Clin Chem.* 2008; 54:1617–1623. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2672199/>

