

Trabajo Fin de Grado

Grado en Medicina

PERFIL DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO EN PACIENTES CON DEMENCIA, ENFERMEDAD PSIQUIÁTRICA Y CONTROLES

Autor:

Jon Ander Gil Salaverría

Director:

Dr. Manuel Fernández Martínez

© 2020, Jon Ander Gil Salaverría

Leioa, 4 de Mayo de 2020

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| 1.INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1. BETA AMILOIDE | 3 |
| 1.2. PATOLOGÍA TAU | 6 |
| 1.3. APOE | 7 |
| 1.4. MMSE | 8 |
| 1.5. ASOCIACIÓN CON OTRAS PATOLOGÍAS | 9 |
| 1.6. OTROS MARCADORES..... | 11 |
| 2.MATERIAL Y MÉTODOS | 13 |
| 2.1. PARTICIPANTES | 14 |
| 2.2. MUESTRAS DE LCR..... | 14 |
| 2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 15 |
| 3.RESULTADOS..... | 16 |
| 3.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO..... | 16 |
| 3.1.1. Variables clínicas: | 16 |
| 3.1.2. Correlación Perfil bioquímico-Biomarcadores | 20 |
| 3.1.3. Correlación biomarcadores con edad, sexo, MMSE y genotipo APOE ... | 25 |
| 3.1.4. Correlación entre A β 42, PROTEÍNA TAU Y P-TAU | 31 |
| 4.DISCUSIÓN..... | 32 |
| 5.CONCLUSIONES | 33 |
| 6. BIBLIOGRAFÍA | 34 |

RESUMEN

Introducción: El objetivo de este trabajo es analizar la importancia de ciertos marcadores para diagnosticar enfermedades neurodegenerativas, más específicamente, la enfermedad de Alzheimer (EA). Mediante el análisis del LCR, y así demostrar la utilidad de estos biomarcadores, y su asociación con dicha enfermedad.

Material y métodos: Realizamos una punción lumbar a 30 pacientes con clínica neurológica sugestiva de enfermedad degenerativa, priorizando aquellos con EA. Analizando los niveles de los marcadores comparándolas con la normalidad; para así detectar cuales pueden ser de utilidad para introducir las en el ámbito diagnóstico. Realizamos el genotipo APOE, factor de riesgo para el desarrollo de demencia, y llevamos a cabo el Test MMSE (Minimal status examination-examen del estado mental) para valorar la gravedad del deterioro cognitivo.

Empleamos una base de datos Acces Microsoft Office 365, diseñada para tal fin. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS 22

Resultados: Los pacientes con un perfil clínico compatible con enfermedad de Alzheimer muestran unos niveles altos de proteína tau y tau fosforilada, bajos de AB42, este hecho se asocia en algunos casos con los alelos APOE E3 o E4.

Discusión: Los resultados obtenidos coinciden con otros estudios realizados previamente y apoyan la utilidad de los biomarcadores en LCR, aunque su fiabilidad no es total. Se necesitarían más estudios y, probablemente, más marcadores para lograr un método diagnóstico más fiable, con una buena sensibilidad-especificidad, e incluso correlacionar estos marcadores con otras pruebas que completen el diagnóstico.

Conclusión: se observa una asociación entre los niveles altos de proteína tau total y fosforilada y los niveles bajos de beta amiloide con la EA. El resto de marcadores han mostrado resultados dudosos como para poder asegurar su total fiabilidad.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas tienen cada vez más impacto en nuestra sociedad. Son patologías que están siendo diagnosticadas con más frecuencia debido al aumento de la esperanza de vida y, por lo tanto, al envejecimiento de la población. En este tipo de enfermedades, los objetivos que se plantean son el diagnóstico precoz y el tratar de enlentecer su progresión ya que no existe una cura. Hoy en día, una detección temprana podría aportar un tratamiento precoz y un mayor control en fases iniciales de la enfermedad. Esto supondría una mejora en la calidad de vida tanto de los pacientes como de la familia.

Se está investigando y logrando avances en este campo contando actualmente con diversos métodos de detección y tratamiento de las patologías neurodegenerativas, entre ellas, la enfermedad de Alzheimer (EA).

La EA es una enfermedad progresiva en la cual hay un deterioro cognitivo, una discapacidad funcional y trastornos del comportamiento. Esto se explica debido a la formación de placas seniles (depósito de beta amiloide), degeneración neurofibrilar, degeneración de las neuronas (VILIP-1) y sus sinapsis, activación del sistema glial y neuroinflamación (YKL-40). (1)

Los cambios típicos neuropatológicos de la EA son las placas difusas y neuríticas, y los conglomerados/ovillos neurofibrilares. El beta amiloide es el principal elemento que compone las placas extracelulares, mientras que la proteína tau hiperfosforilada es el componente primario de los conglomerados neurofibrilares. Estas lesiones aparecen aproximadamente unos 10- 15 años antes del inicio de la sintomatología neurológica; pero no siempre hay una correlación entre la carga lesional y los síntomas de los pacientes.

Con el envejecimiento se produce un incremento en el número de estas lesiones (2)

Los cambios los podemos clasificar y puntuar en función de 3 parámetros: la **distribución** de las placas de beta amiloide, la **distribución** de los conglomerados neurofibrilares y la **densidad** de las placas neurítica.

Hay diferentes estudios clínicos que están evaluando terapias, métodos de prevención para controlar la EA y métodos para lograr un diagnóstico diferencial entre las diferentes enfermedades neurodegenerativas. Para ello, en la práctica clínica se plantea el uso del análisis de biomarcadores en LCR y de las pruebas de imagen PET (tomografía por emisión de positrones)-amiloide y RMN (resonancia magnética nuclear). (3, 7, 29, 36)

La patogenia de la EA sigue siendo desconocida a día de hoy, pero se observa una sobreproducción y/o falta de aclaramiento del péptido beta amiloide y un aumento en los niveles de proteína tau. Este es producido por la división endoproteolítica de proteínas maduras provenientes de la proteína precursora de amiloide (APP).

Por otro lado, también hay una EA hereditaria que aparece antes de los 65 años de edad, y supone menos del 1% de todos los casos. Esta EA familiar presenta un patrón de herencia autosómico dominante asociada a la mutación de genes entre los que incluimos la proteína precursora del amiloide (APP), la presenilin-1 (PSEN1), y la presenilin-2 (PSEN2). Estas mutaciones tienen como consecuencia el malfuncionamiento en la producción y el metabolismo de la beta amiloide, pudiendo dar lugar a formas más tóxicas de esta. (3)

La proteína Tau es una proteína asociada a los microtúbulos que funciona en el ensamblaje y estabilización de la neurona. Esta proteína se hiperfosforila, de forma anómala y se agrega formando una estructura helicoidal (se trata del componente mayoritario dentro de los conglomerados de neurofibrillas dentro del citoplasma neuronal). Se ha considerado la transmisión patológica de esta tau anómala entre neuronas como posible causa de la expansión de la EA dentro de las estructuras cerebrales.

Por otra parte, se ha establecido una asociación de la EA con el genotipo APOE. El genotipo APOE es un marcador de riesgo para el desarrollo de la enfermedad. Dentro de este genotipo, encontramos tres alelos: épsilon 2, E3 y E4.

Al menos uno de los mecanismos de acción de la APOE E4 implica el aumento del riesgo de EA por reducir la capacidad de aclaramiento de beta amiloide del cerebro. Se asocia también con el aumento de riesgo cardiovascular.

Algunos estudios asocian la posibilidad de la participación de la enzima degradadora de insulina, debido a que metaboliza tanto la insulina como la proteína beta amiloide, específicamente en la acumulación del beta amiloide oligomérica. (4)

1.1. BETA AMILOIDE

Existe un depósito progresivo de la proteína fibrilar que con el tiempo va formando placas difusas. Estas, provocan una respuesta inflamatoria con alteración de la homeostasis, estrés oxidativo y alteración de la actividad quinasa/fosfatasa. Como consecuencia surge la formación de conglomerados neurofibrilares, pérdida neural y disfunción sináptica.

Todo este proceso se conoce como “cascada amiloide”, la cual es la hipótesis más aceptada actualmente, aunque existen otras teorías alternativas.

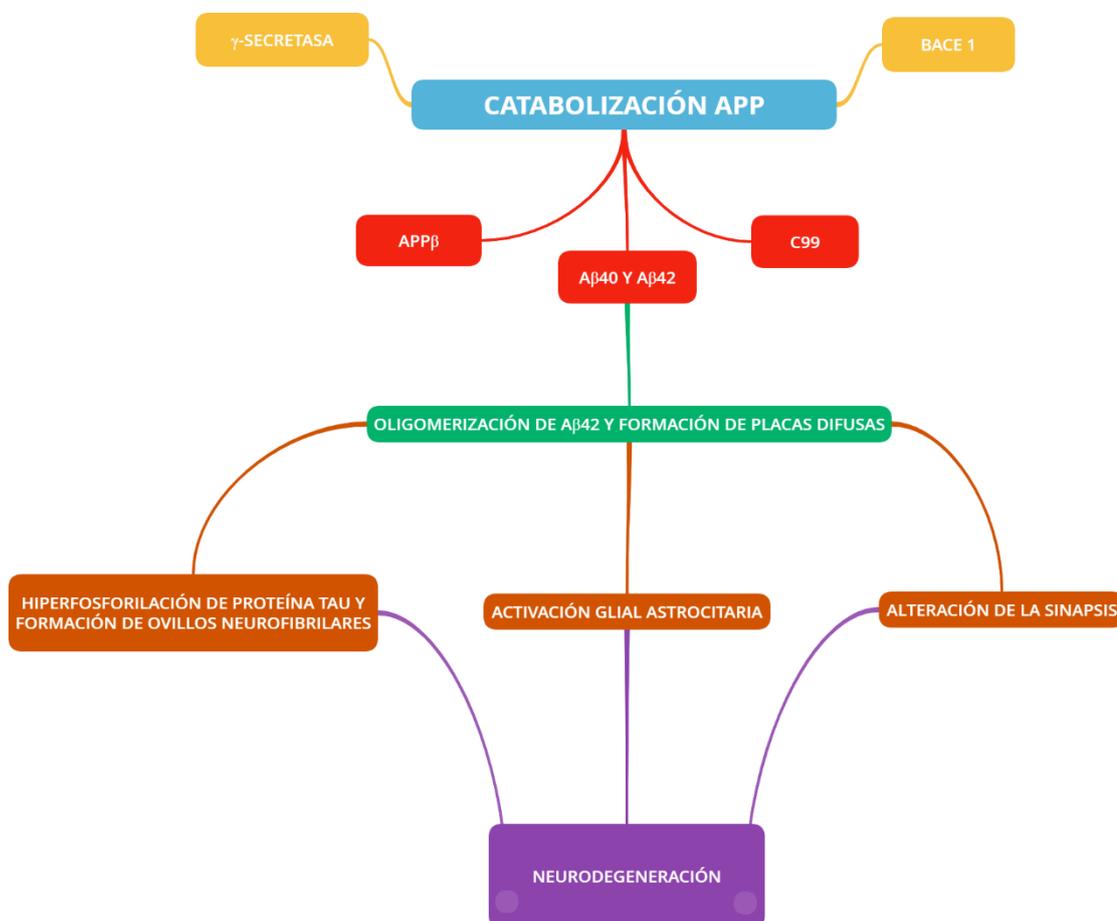
Esta cascada amiloide se inicia con la proteína precursora del amiloide (APP) que es codificada por un gen localizado en el cromosoma 21. Normalmente, la APP sería catabolizada por la α -secretasa obteniendo como producto dos fragmentos: APP α y carboxi-terminal de 83 aminoácidos (C83), que no son patógenos. De esta manera, la actividad neurológica estaría regulada y aumentaría la resistencia al estrés oxidativo y metabólico.

En el caso de la EA, la APP sigue lo que se conoce como “vía amiloidogénica”. En lugar de la catabolización por parte de la α -secretasa, la BACE (β -secretasa 1) y la γ -secretasa son las que realizan esta acción. Esta vía produce los fragmentos APP β y A β 40, A β 42, C-terminal de 99 aminoácidos (C99).

Los péptidos A β 40 y A β 42 interfieren en el funcionamiento neurológico normal, especialmente el A β 42. Se oligomerizan y acumulan en el sistema límbico y corteza

asociativa en forma de placas seniles afectando a las sinapsis. Todo ello se acompaña de un proceso inflamatorio debido a la activación glial, astrocitos y microglía.

Existe aun así otras explicaciones alternativas para este proceso: alteración mitocondrial, neuroinflamación, metabolismo del colesterol e insulina, etc. (7-8, 41)



En algunos estudios se ha visto que los oligómeros de beta-amiloide muestran mayor toxicidad comparándolos con las placas difusas. Por lo tanto, se plantea la idea de que pudieran servir como marcadores alternativos. Al mismo tiempo, han surgido dudas acerca de la total validez del A β como marcador. Más específicamente, en el caso de A β 42, se ha podido observar cómo ocurrían variaciones en sus niveles a la

hora de analizar el LCR, la oscilación fisiológica de los niveles a lo largo del día puede suponer un problema añadido **(5-6)**.

- A β 42:

La A β 42 es el componente principal de las placas de β -amiloide en el cerebro de los pacientes con EA. Como marcador en LCR es de gran utilidad en estadios iniciales, pero no así para determinar la progresión; a pesar de los cambios en sus niveles, estos no siempre se asocian a un empeoramiento del estado cognitivo. Es un marcador en LCR muy utilizado para diagnosticar la enfermedad de Alzheimer, ya que se observa un descenso de sus niveles en un 40-50%. **(9)**

- AB40:

Es la forma predominante de β -amiloide en el LCR, pero tiene menos efecto lesional que la AB42. No se observa un cambio consistente a lo largo de la progresión de la enfermedad, pero sí se acepta que el ratio A β 42/AB40 es más útil que los niveles de A β 42 por sí solos. Esto nos lleva a pensar que, como biomarcador, la utilidad de este péptido es limitada en este sentido, pero podría ser una diana para tratamientos con fármacos anti-amiloide.

- A β 42/AB40:

Este ratio, se asocia con un aumento del riesgo para la progresión de pacientes cognitivamente sanos (normales) hacia un deterioro cognitivo leve, (DCL) o demencia. Hay estudios que presentan este ratio como un marcador de mayor utilidad y fiabilidad que el A β 42 por sí solo. Sus niveles bajos en LCR también significan una acumulación del amiloide en el tejido cerebral **(10-11)**

1.2. PATOLOGÍA TAU

El gen MAPT (proteína tau asociada a microtúbulos), está localizado en el cromosoma 21 y tiene 6 isoformas en los humanos. Este gen es el que codifica la proteína tau. En su forma normal, la proteína tau está parcialmente fosforilada. **(7, 12)**

Los conglomerados de neurofibrillas de EA están principalmente formados por Tau hiperfosforilada. Hay hipótesis que vinculan la hiperfosforilación de esta proteína al incremento de la patología por beta amiloide.

Debido a la “vía amiloidogénica” que da lugar a la formación de A β 40 y A β 42, tiene lugar un aumento de la respuesta glial, y astrocitaria que provoca una respuesta inflamatoria. Como consecuencia del estrés oxidativo resultante en la neurona produce una alteración del ion calcio, hiperactivación de las proteínas quinasas e inactivación de las fosfatasas. Este proceso tiene como resultado la hiperfosforilación de la proteína Tau, que conlleva la disminución en la afinidad con los microtúbulos y, por lo tanto, mayor facilidad de agregación. De esta manera, acaban por formarse los conglomerados neurofibrilares que son patológicos

La p-tau (tau fosforilada en la treonina 181 o treonina 231) es importante ya que en otras demencias los niveles en LCR pueden ser normales, siendo por tanto un marcador con mayor especificidad para la EA permitiendo realizar el diagnóstico diferencial con la demencia de Cuerpos de Lewy, demencia frontotemporal, hidrocefalia, depresión y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob **(7)**. Por otra parte, y en comparación con A β 42, se ha visto la utilidad de tau como marcador del avance de la neurodegeneración, especialmente en DCL (deterioro cognitivo leve) y EA. Hay estudios que objetivan la importancia de la tau fosforilada como el marcador más importante para distinguir a aquellos pacientes con EA de aquellos que no la tienen. **(9, 13-14)**

La combinación de los niveles de tau y A β han demostrado ser útiles para predecir la progresión del declinar cognitivo en personas aparentemente normales y también para predecir la progresión de DCL a EA, obteniéndose mejores resultados que

mediante el empleo de los biomarcadores de manera aislada (t-tau/A β 42 y p-tau/A β 42). **(15)**

1.3. APOE

La Apolipoproteína E es una glicoproteína que está implicada en el transporte de colesterol y otros lípidos (LDL, HDL). Su función consiste en la captación de lipoproteínas para su posterior catabolización. En el cerebro, son los astrocitos los principales productores de esta glicoproteína.

Existen múltiples isoformas que difieren entre sí en un aminoácido en su composición (arginina y cisteína), provocando una asociación de mayor o menor grado con los péptidos A β y la proteína Tau. Se distinguen 3 alelos: E4, E3, y E2. La lipoproteína E4 posee residuos de arginina en la posición 112 y 158; E2 tiene la distribución de manera inversa a E4. En el caso de E3, hay arginina en la posición 158. Esta diferencia en la composición de aminoácidos en los tres tipos de alelos tiene influencia en el ensamblaje, función y propiedades de cada una de ellas provocando diversas alteraciones. Para el desarrollo de una EA la presencia de un alelo E4 implica mayor riesgo, E3 riesgo intermedio, mientras que la E2 posee un efecto protector. **(16)**

Dentro de estas isoformas, al estar cada gen compuesto por dos alelos, aquí también tendremos variaciones. El riesgo de padecer EA aumenta x15 en homocigotos para E4 (E4/E4) y x3 en heterocigotos (E4/E3, por ejemplo) comparándolos con aquellos no portadores.

Hay estudios que hablan de la asociación de genotipo E4 con el descenso temprano de los niveles de A β 42 a partir de la 5ª década de vida. El resto de los genotipos (E3, E2) sufren este mismo descenso de A β 42 más tardíamente. **(2, 18)**

Por otro lado, en aquellos portadores del genotipo E4 se ha visto que los niveles de proteína Tau se mantienen estables hasta la 7ª década, pero a partir de este momento, sus niveles aumentan de manera exponencial comparándolos con el resto de marcadores.

Se ha llegado a la teoría de que el APOE contribuye a la formación tanto de las placas seniles como de los ovillos neurofibrilares. Aun así, existen dudas de la verdadera asociación del APOE con estos marcadores debido a que este genotipo ha mostrado mayor relación con el A β pudiendo considerarse a la proteína Tau como factor de confusión dentro de esta correlación. **(17, 19)**

1.4. MMSE

Para la valoración de los pacientes con deterioro cognitivo se ha empleado el *Mini Mental State Examination test* (MMSE) que se usa comúnmente para la detección de demencia en pacientes de más de 65 años.

El grado de deterioro se determina en función de la puntuación que se obtiene en este test:

- Entre 30 y 27 puntos: no existe deterioro cognitivo.
- Entre 26 y 25 puntos: posible deterioro cognitivo o dudas al respecto
- Entre 24 y 10 puntos: deterioro cognitivo leve-moderado.
- Entre 9 y 6 puntos: existe un deterioro cognitivo moderado-severo.
- Menos de 6 puntos: deterioro cognitivo severo.

Hay estudios que muestran la utilidad del MMSE, por la posible asociación de puntuaciones bajas con niveles aumentados de proteína tau en LCR **(20)**

1.5. ASOCIACIÓN CON OTRAS PATOLOGÍAS

Hay pacientes que muestran presentaciones atípicas de EA, o que presentan otras enfermedades neurodegenerativas

En un porcentaje pequeño de los diagnosticados con esta clase de presentaciones, suele haber asociación con otras patologías como pueden ser la demencia por cuerpos de Lewy, degeneración corticobasal, enfermedad por priones, demencia frontotemporal (ligando TDP-43), etc. **(1, 21-22, 26)**

En el caso de la enfermedad de Parkinson la lesión neuropatológica característica es el cuerpo de Lewy En el LCR los marcadores que se utilizan son el ligando Ftl3, DJ-1 y Alfa-syn, aunque se suele hablar principalmente de la interacción entre el A β y el Alfa-syn.

La Alfa-syn es una proteína que actúa a nivel de las vesículas y liberación de neurotransmisores. Se trata del componente principal de los cuerpos de Lewy y se caracterizan por producir una serie de alteraciones neurodegenerativas conocidas como “alfa-sinucleinopatías”. Pueden provocar respuesta inflamatoria y disfunción sináptica.

Aunque no es uno de los marcadores principales que se utilizan para el diagnóstico de EA, más de la mitad de los pacientes presentan cuerpos de Lewy asociados debido a un mal plegamiento de la Alfa-synucleína que puede interactuar con la proteína tau y A β contribuyendo a la conformación de placas seniles y ovillos neurofibrilares. **(8, 23-25)**

El deterioro cognitivo leve (DCL) es un estado intermedio entre la función cognitiva normal y la demencia. Diferentes estudios han analizado la progresión de DLC a demencia. **(27-30)**. En los pacientes con riesgo de progresión se ha observado en el LCR:

- Aumento de los niveles de Tau o tau fosforilada en Thr 181.
- Menores niveles de A β 42, bajo ratio de los niveles de A β 42/A β 40 y un bajo ratio de A β 42/niveles de tau. Aunque en la EA, hay un descenso todavía menor de los niveles de A β 42.
- La presencia de uno o dos alelos tipo 4 del genotipo APOE se asocia con el aumento del riesgo de padecer DLC al igual que en la EA.

Dentro de las taupatías incluimos la propia EA, la degeneración corticobasal (DCB), enfermedad de Pick (demencia frontotemporal) y PSP (parálisis supranuclear progresiva).

Las placas astrocíticas Tau + son consideradas sugestivas de DCB (son inclusiones de Tau en la glía), aunque también se pueden encontrar en PSP. La patología glial tau+ y las neuronas aumentadas (hinchadas/globo) pueden estar presentes en la enfermedad de Pick y en PSP.

En última instancia, las placas se consideran diagnósticas de la DCB, en caso de ausencia de cuerpos de Pick y conglomerados globulosos de neurofibrillas. **(31)**

1.6. OTROS MARCADORES

Se disponen de otros biomarcadores en LCR **(32-33)**

- Péptidos A β cortos (<40): A β 38

No han mostrado tanta utilidad como los anteriores. Pero si pueden ayudar en la selección de pacientes para tratamientos dirigidos a los moduladores de la γ secretasa. **(34)**

- Oligómeros A β :

Los fragmentos de la proteína precursora de amiloide (APP) generadas por las secretasas α y β dando lugar a sAPP α y sAPP β , producen mayor toxicidad que las propias placas de A β . No hay estudios que en estos momentos acepten el uso generalizado de estos biomarcadores debido a que su estado se ve afectado por otros procesos. **(35)**

- BACE 1: (plasma)

Se ha visto una posible correlación entre el aumento de la actividad de este enzima y su relación con el avance del deterioro cognitivo en los pacientes. A pesar de ello, los resultados son cuestionados debido a que no en todos los estudios se ha observado así. En algunos de ellos no se observaba una variación en la actividad de la enzima aun con la enfermedad diagnosticada. **(36)**

- VILIP-1:

Es un marcador del calcio que indica daño neuronal. Sus niveles predicen atrofia local y cerebral total, al igual que las proteínas tau y tau fosforilada y podría ser útil como marcador en fases iniciales sintomáticas o en fase preclínica de la EA. En fases preclínicas, tanto de manera individual como de manera conjunta con A β 42, se

observaría niveles elevados de este marcador ya en fases iniciales de la enfermedad, y podría predecir el declive cognitivo 2-3 años antes de la aparición de los síntomas

Aunque muestra una gran asociación con los conglomerados neurofibrilares y las placas de amiloide, no es un componente de estas. **(37)**

- JNK3:

Se puede observar un aumento de sus niveles en los tejidos cerebrales y disminución en el LCR en pacientes con EA. Está correlacionado con los niveles de beta amiloide, pudiendo compartir una misma vía de acción. JNK1 y JNK2 cumplen una función de desarrollo en el cerebro, pero JNK3 está implicado en la neurodegeneración. **(38)**

2. MATERIAL Y MÉTODOS

En primer lugar, se recopiló toda la información y criterios que definen a las enfermedades neurodegenerativas y, más específicamente, la enfermedad de Alzheimer; la búsqueda de datos y el análisis de una base de datos diseñada “ad hoc” para este propósito se realizó a lo largo del curso 2019 y 2020.

El trabajo consiste en la revisión bibliográfica actualizada entorno a los métodos diagnósticos disponibles en la actualidad para conseguir detectar y tratar la enfermedad de Alzheimer (EA).

El protocolo y los consentimientos informados fueron aprobados por el CEIC del Hospital Universitario Cruces (HUC). Los pacientes y sus cuidadores firmaron este consentimiento informado

Se han revisado un total de 41 artículos. Dentro de estos, 22 artículos proporcionados por el tutor, de los cuales se han incluido 21 y, por otro lado, 19 artículos que se han ido obteniendo a partir de buscadores en páginas web como son *Pubmed* y *UptoDate* y diferentes revistas médicas.

Para la búsqueda de estos artículos, se han tenido en cuenta principalmente los diferentes marcadores que este TFG tiene como objetivo analizar y comparar, que incluirían: A β 40, A β 42, Índice A β 42/A β 40, Índice A β 42/Proteína Tau, Índice A β 42/Tau fosforilado, Proteína Tau, Tau fosforilado y genotipo APOE. A su vez, se ha buscado información acerca del test MMSE dado que contamos con pacientes a los que se les realizó este test y así profundizar en su posible utilidad conjunta con el resto de pruebas.

Dentro de la plataforma *Pubmed*, la búsqueda se ha realizado vinculando principalmente el término Alzheimer con los marcadores que se han recogido en la base de datos y los ratios que se han calculado, es decir: (“Alzheimer” AND “Beta Amyloid 1-42”), (“Alzheimer” AND “Beta Amyloid 1-40”), (“Alzheimer” AND “Tau”), (“Alzheimer” AND “Phosphorylated Tau”), (“Alzheimer” AND “APOE”), (“Alzheimer” AND “CSF Biomarkers”), (“Alzheimer” AND “A β 42/Tau ratio”). La búsqueda en esta plataforma consistía principalmente en revisar artículos en los que

se hubiera realizado un análisis estadístico para así poder comparar con los resultados obtenidos en este TFG. Para obtener una información más general y detallada respecto a la propia patología de la EA y enfermedades neurodegenerativas similares se realizó una búsqueda en la plataforma *UptoDate*. Esta plataforma, nos aporta información sobre el diagnóstico diferencial entre diferentes enfermedades neurodegenerativas, que pueden simular una clínica y afectación similar la EA.

2.1. PARTICIPANTES

Este trabajo está basado en una base de datos compuesta por una muestra de (30) pacientes con diferentes diagnósticos a los que se le realizó el MMSE y una PL diagnóstica.

2.2. MUESTRAS DE LCR

Las muestras obtenidas de estos 30 pacientes han sido recogidas en Hospital de Cruces ya sea en CEX, Hospital de Día y planta de hospitalización con previo consentimiento informado firmado. Todas las muestras de LCR se recogieron mediante punción lumbar (PL) para su posterior análisis y clasificación en función de si presentaban un perfil bioquímico compatible o no con la EA. Esta es una práctica habitual que se lleva a cabo para el diagnóstico de enfermedades neurológicas. La principal complicación de este procedimiento es la cefalea post punción. A pesar de ello, es una técnica generalmente bien tolerada y segura

Los marcadores que se han valorado han sido: B-amiloide 1-40, B –amiloide 1-42, p-Tau, p-Tau fosforilada, Ratio 1-42/p-Tau, Ratio 1-42/p-Tau fosforilada, Ratio 1-42/1-40 y Genotipo ApoE.

TABLA CON RANGOS DE NORMALIDAD.

| VALORES DE REFERENCIA LCR | VALORES | UNIDADES |
|---------------------------|---------|----------|
| AB 1-42 | >600 | pg/mL |
| PROTEÍNA TAU | <385 | pg/mL |
| TAU FOSFORILADA | <65 | pg/mL |
| AB 1-40 | <10.800 | pg/mL |
| RATIO AB1-42/1-40 | >0,06 | pg/mL |
| RATIO AB1-42/TAU FOSFO | >6,16 | pg/mL |
| RATIO AB1-42/TAU | >4,13 | pg/mL |

2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las diferentes variables de la base de datos han sido analizadas mediante el programa estadístico SPSS 22. A través de este programa, se han realizado diversos métodos estadísticos con la intención de desglosar y clasificar la información de la que disponemos. Se han analizado frecuencias, porcentajes, comparación de medias, estadístico Kruskal Wallis, correlación de Pearson y gráficos representativos de los cálculos realizados. El nivel de significación estadística se estableció para un $p < 0.05$.

3. RESULTADOS

3.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

3.1.1. Variables clínicas:

- Edad:

La muestra de pacientes varía entre los 46 y 78 años. **(Figura 1)**

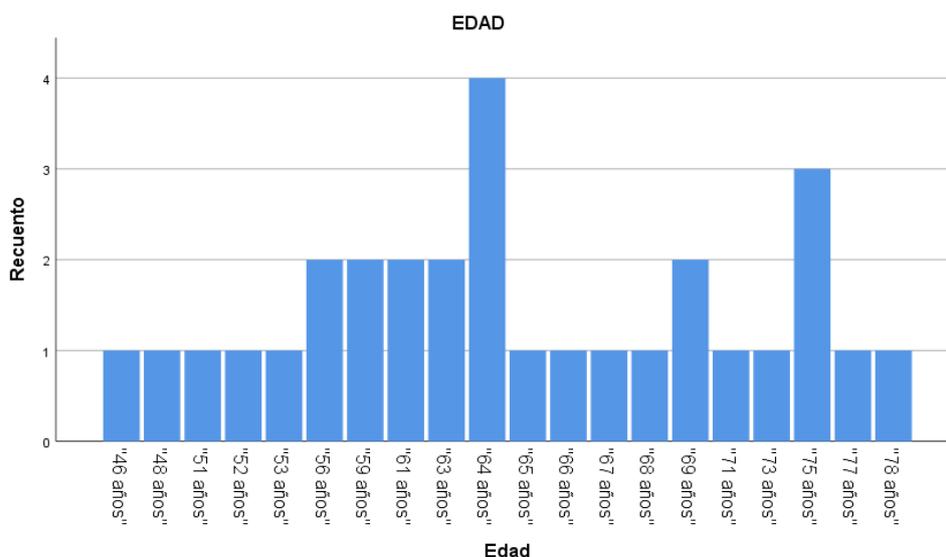


Figura 1: Muestra total de pacientes divididos por edad.

Los pacientes los dividimos teniendo como límite los 65 años. Aquellos entre 46 y 64 años son 17, correspondiendo al 56,7% del total, mientras que aquellos con 65 años o superior son 13, es decir, el 43,3%. **(Tabla 1).**

Tabla 1: Frecuencia y porcentaje de muestra en función de la edad.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|-------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| ≥65 | 13 | 43,3 | 43,3 | 43,3 |
| 46-64 | 17 | 56,7 | 56,7 | 100,0 |
| Total | 30 | 100,0 | 100,0 | |

○ Sexo:

De los 30 pacientes analizados el porcentaje de mujeres es algo superior.

Observamos un porcentaje de mujeres del (57%) y (43%) de hombres.

(Figura 2) (Tabla 2).

Tabla 2: Frecuencia y porcentaje de la muestra en función del sexo.

| | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|-------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| H | 13 | 43,3 | 43,3 | 43,3 |
| M | 17 | 56,7 | 56,7 | 100,0 |
| Total | 30 | 100,0 | 100,0 | |

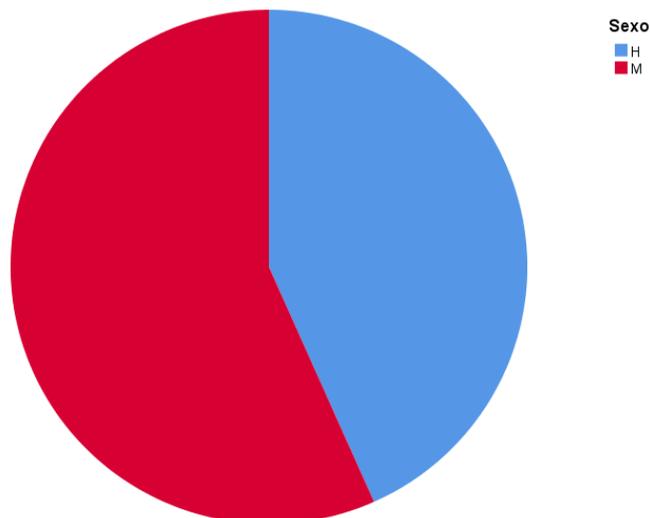


Figura 2: Gráfico circular de porcentaje en función del sexo

- Niveles de marcadores

Los niveles corresponden a los valores que obtenemos de cada uno de los biomarcadores en el LCR en unidades de pg/mL. Buscamos ver su correlación con el resto de las variables para poder obtener conclusiones concluyentes.

- MMSE:

Test conocido como Mini-mental State Examination del cual tenemos un total de 18 personas de los que se ha obtenido su puntuación. Sus resultados varían en un rango en el que el paciente con menor puntuación es de 16, y el que mayor número posee es 30. Cuanto menor es el resultado, mayor afectación cognitiva conlleva. Este valor nos puede servir para ver si hay coincidencia entre las puntuaciones que este test presenta y su posible correlación con niveles alterados de los marcadores que analizamos.

- Genotipo APOE:

En nuestra muestra, de los 30 participantes, se ha determinado el genotipo APOE en 10 de ellos. De esos 10 pacientes, 6 muestran el genotipo E3/3, 2 de genotipo E4/3 y otros 2 de E4/4.

- Compatibilidad de perfil bioquímico

Contamos con una muestra total de 30 pacientes con clínica y diagnóstico neurológico variado. Muestra compuesta por 17 mujeres correspondiendo al 56,7% de la muestra y 13 hombres, siendo el 43,3%.

A todos y cada uno de ellos se les realizó la extracción y posterior análisis del LCR para así comprobar la compatibilidad bioquímica que estos mostraban respecto a la EA es decir, si sus datos analíticos se correspondían con el Perfil Bioquímico que esta patología muestra.

12 sujetos (40%.) de la muestra presentaban un perfil compatible con EA, 14 pacientes no presentaban un perfil compatible con esta enfermedad neurodegenerativa (47%). Por último, 4 pacientes, el 13% restante, presentaron unos resultados no concluyentes (simbolizándolos con / en las gráficas), en los que no se podía establecer un diagnóstico de EA.

De los casos no concluyentes uno de ellos estaba diagnosticado de enfermedad de Alzheimer leve con presentación de genotipo E4/4, genotipo de mayor riesgo para desarrollar la enfermedad. Dos casos, estaban diagnosticados de demencia frontotemporal y presentaban un genotipo APOE E3/3, presentando menor grado de afectación que el paciente con el genotipo E4/4. Por último, el cuarto caso no concluyente no tiene un diagnóstico ni de EA, ni de otra enfermedad neurodegenerativa

3.1.2. Correlación Perfil bioquímico-Biomarcadores

La muestra se dividió en 3 grupos. Con esta asociación obtenemos unos patrones más alterados en aquellos compatibles con EA que en aquellos no compatibles o no concluyentes. Los valores anormales pueden mostrarse aun así en los otros dos grupos debido a que son pacientes con otras patologías neurológicas. Hemos podido observar como otras enfermedades de este ámbito pueden expresar niveles alterados, similares o disminuidos comparándolos con la EA. Además, contamos con $p < 0,05$, por lo tanto, este cálculo es estadísticamente significativo. **(Tabla 3)**

Tabla 3: Niveles de marcadores en función de perfil bioquímico compatible o no con EA

| COMPATIBILIDAD | | LCR-Péptido beta amiloide 1-40 | LCR-Péptido beta amiloide 1- 42 | LCR-Proteína Tau | LCR-Proteína Tau fosforilada |
|-------------------|-------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|---------------------------------|
| NO CONCLUYENTE | N | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | Media | 8156,25 | 528,25 | 397,75 | 59,40 |
| | Desv. Estándar | 3017,27 | 280,31 | 322,08 | 50,08 |
| NO EA | N | 14 | 14 | 14 | 14 |
| | Media | 8269,21 | 997,07 | 307,79 | 24,81 |
| | Desv. Estándar | 3228,66 | 516,29 | 303,33 | 10,63 |
| SI EA | N | 12 | 12 | 12 | 12 |
| | Media | 11895,50 | 577,08 | 902,67 | 150,74 |
| | Desv. Estándar | 3799,86 | 146,52 | 353,89 | 84,85 |
| Total | N | 30 | 30 | 30 | 30 |
| | Media | 9704,67 | 766,57 | 557,73 | 79,79 |
| | Desv. Estándar | 3795,14 | 429,07 | 427,09 | 81,49 |
| | p | 0,016 | 0,014 | 0,00 | 0,00 |

Aun observándose cierto aumento en los niveles de A β 40, no son tan elevados como el resto de los marcadores. **(Figura 3).**

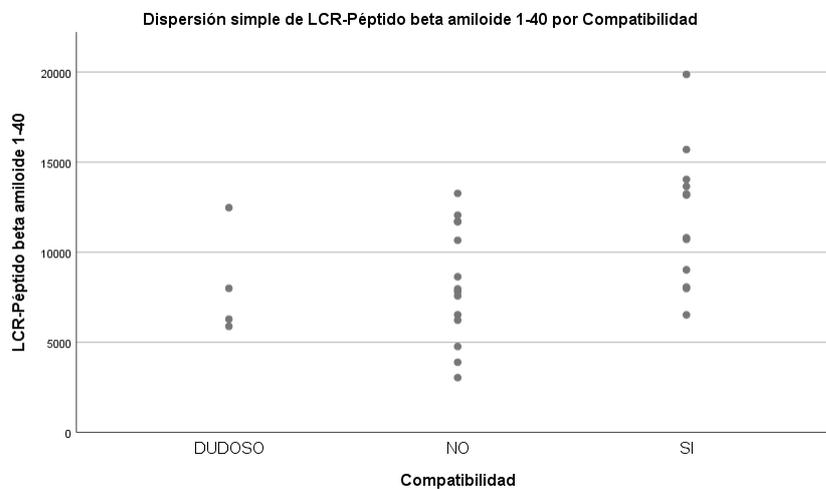


Figura 3: Gráfico de puntos dividido por categorías del perfil bioquímico. Analiza los niveles de A β 40 en función del grupo.

Por otro lado, la Beta amiloide 1-42 es la única que se encuentra disminuida en los sujetos compatibles con EA **(Figura 4).**

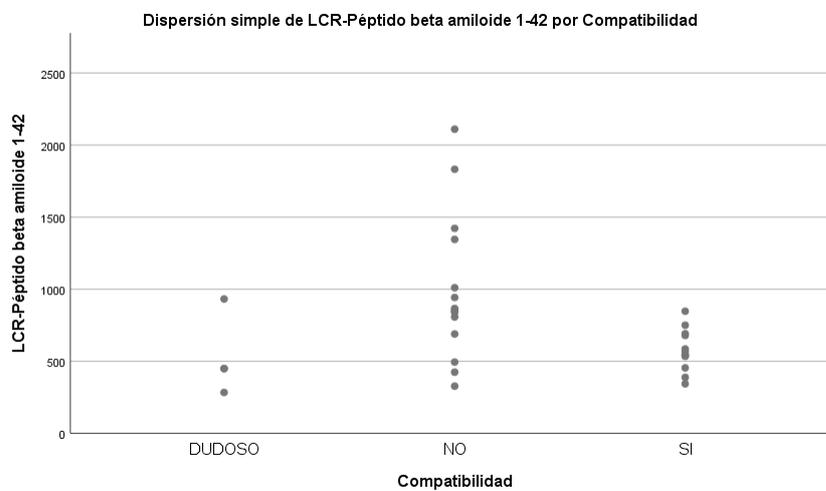


Figura 4: Gráfico de puntos dividido por categorías del perfil bioquímico. Analiza los niveles de A β 42 en función del grupo.

Los pacientes compatibles con EA presentan unos valores medios mayores en los marcadores de Beta amiloide 1-40, Proteína Tau y Proteína Tau Fosforilada respecto al resto de los sujetos, especialmente en estos dos últimos biomarcadores. **(Figura 5), (Figura 6).**

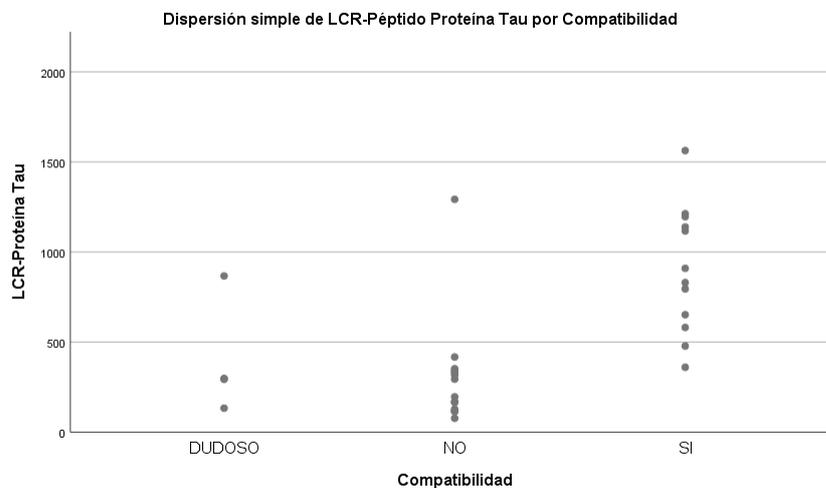


Figura 5: Gráfico de puntos dividido por categorías del perfil bioquímico. Analiza los niveles de la Proteína Tau en función del grupo.

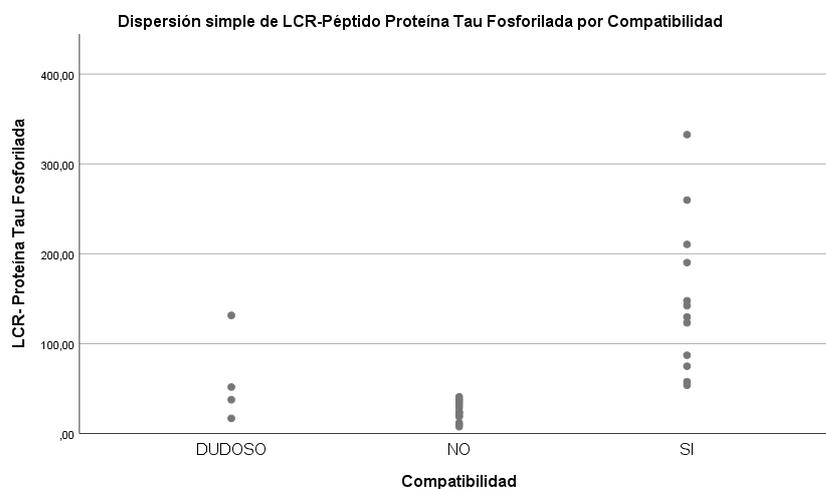


Figura 6: Gráfico de puntos dividido por categorías del perfil bioquímico. Analiza los niveles de la Proteína Tau Fosforilada en función del grupo.

Estos resultados confirman los de otros estudios (39) que muestran como la proteína Tau (total y fosforilada) aumenta ostensiblemente a medida que la EA avanza, especialmente la Proteína Tau fosforilada, y lo hace en un grado mucho mayor que el resto de biomarcadores.

En el caso del Beta amiloide 1-42, la disminución de sus niveles en el LCR se debe a que se depositan en el tejido cerebral formando placas de amiloide.

Por otro lado, también observamos unos niveles alterados en el grupo de no concluyentes. Comparando los pacientes de este grupo, uno de ellos presenta valores muy diferentes respecto a los otros, por lo que en la media resultante tenemos que tener en cuenta este dato.

- El paciente con los valores más elevados está diagnosticado de demencia frontotemporal.
- Los otros 3 integrantes muestran valores similares entre ellos. Están diagnosticados de afasia, EA leve y uno no muestra un diagnóstico específico.

En lo que a los ratios se refiere, observamos grandes diferencias entre los diferentes grupos:

- En los pacientes compatibles con EA observamos que el Ratio $A\beta_{42}$ /Proteína Tau fosforilada muestra valores menores de 6,16. En el Ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ los niveles son menores de 0,06 y en el Ratio $A\beta_{42}$ /Proteína Tau, muestran niveles inferiores a la normalidad.
- En los grupos tanto no concluyentes como no compatibles, los resultados se encuentran dentro del rango de normalidad. (**Tabla 4**)

Aunque la medición de los niveles sea muy útil, se suelen calcular conjuntamente con los ratios. Esto ha demostrado mayor sensibilidad y utilidad en muchas investigaciones. Debido a esto, en la literatura se hace referencia a la necesidad de incluir estos ratios de manera habitual para la realización del método diagnóstico

(10-11). Respecto a estos cálculos, nuevamente obtenemos una $p < 0,05$, por lo que es estadísticamente significativo.

Tabla 4: Ratios de los marcadores en función de perfil bioquímico compatible o no con EA

| COMPATIBILIDAD | | LCR-Péptido beta amiloide 1-42 /Proteína Tau fosforilado | LCR-Péptido beta amiloide 1-42/ 1-40 | LCR-Péptido beta amiloide 1-42 /Proteína Tau |
|-------------------|-------------------|--|---|--|
| NO CONCLUYENTE | N | 4 | 4 | 4 |
| | Media | 11,12 | 0,06 | 1,56 |
| | Desv. Estándar | 4,27 | 0,01 | 0,44 |
| NO EA | N | 14 | 14 | 14 |
| | Media | 40,77 | 0,12 | 4,53 |
| | Desv. Estándar | 10,15 | 0,03 | 2,76 |
| SI EA | N | 12 | 12 | 12 |
| | Media | 5,07 | 0,05 | 0,74 |
| | Desv. Estándar | 3,15 | 0,01 | 0,34 |
| Total | N | 30 | 30 | 30 |
| | Media | 22,54 | 0,08 | 2,62 |
| | Desv. Estándar | 18,88 | 0,040 | 2,62 |
| | p | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

3.1.3. Correlación biomarcadores con edad, sexo, MMSE y genotipo APOE

Hay otras variables que pueden modificar los niveles de biomarcadores en el LCR: la edad, el sexo y el genotipo APOE. Hay estudios que han evaluado la influencia de estas variables sobre los niveles de los marcadores. **(40)**

- Edad

En estas gráficas hemos dividido la muestra en dos grupos en función de si los pacientes se encuentran por debajo o por encima de los 65 años. Por otro lado, hemos aplicado como cofactor, el perfil bioquímico para lograr subgrupos y analizar la muestra más específicamente.

En ambos grupos divididos por la edad, se ve el aumento tanto de la proteína Tau como de la proteína Tau fosforilada y, al mismo tiempo, descenso de los niveles de A β 42.

Previamente, hemos hablado de como a medida que la edad avanza, la alteración de los niveles de los marcadores se va alterando, debido al envejecimiento por lo que lo esperable sería que aquellos con más de 65 años, mostraran mayor alteración. Lo que llama la atención en nuestra muestra es que sea el grupo más joven el que muestra niveles superiores en los marcadores Tau. Por otro lado, en A β 42, se observan niveles inferiores en aquellos con mayor edad.

El factor de la edad se ha visto que puede tener mayor asociación con beta amiloide que con la proteína Tau pero no es algo que sea haya concluido. **(Figura 7, 8 y 9).**

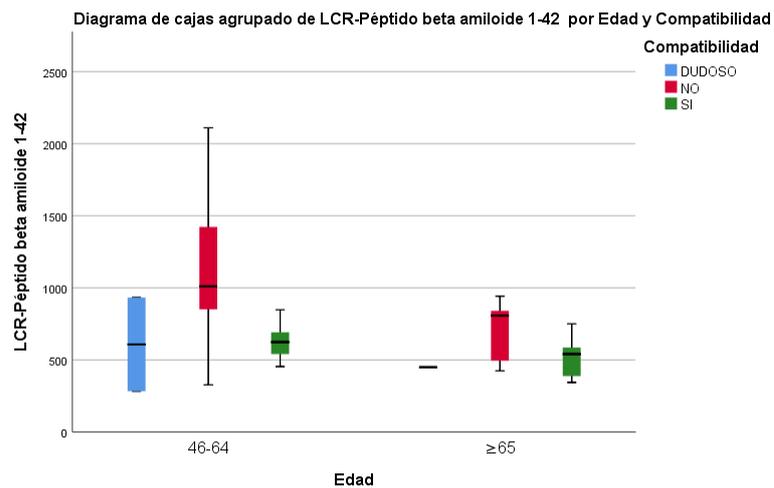


Figura 7: Diagrama de barras categorizado por edad y compatibilidad con EA para determinar distribución de valores de A β 42

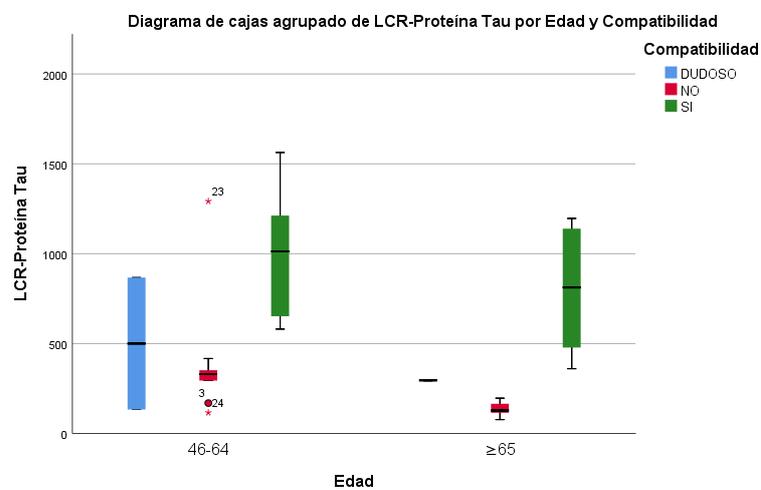


Figura 8: Diagrama de barras categorizado por edad y compatibilidad con EA para determinar distribución de valores de Proteína Tau.

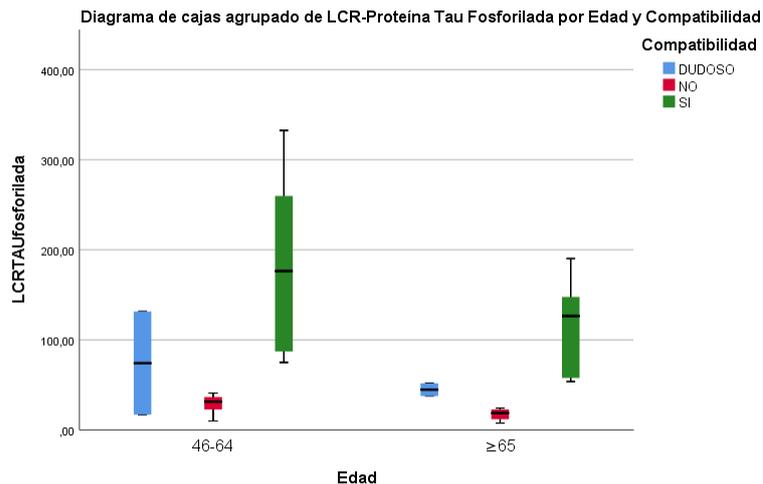


Figura 9: Diagrama de barras categorizado por edad y compatibilidad con EA para determinar distribución de valores de Proteína Tau fosforilada.

○ Sexo

Observamos un aumento de niveles de Tau y tau fosforilado y menores de A β 42 en el sexo femenino. Al observar más detenidamente los datos, vemos que aquellos marcadores que muestran valores alejados de la normalidad son: la proteína Tau y la tau fosforilada. El beta amiloide permanece dentro de la normalidad, aunque sigue presentando el sexo femenino niveles más cercanos al límite que el sexo masculino. Aun así, debemos de tener en cuenta que al obtener un p valor $> 0,05$, los datos resultantes de esta asociación no son estadísticamente significativos. (**Tabla 5**)

Tabla 5: Distribución de marcadores individuales en función del sexo.

| SEXO | | LCR-Péptido beta amiloide 1-40 | LCR-Péptido beta amiloide 1-42 | LCR-Proteína Tau | LCR-Proteína Tau fosforilada |
|-------|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|---------------------------------|
| H | N | 13 | 13 | 13 | 13 |
| | Media | 8993,46 | 851,38 | 491,15 | 56,79 |
| | Desv. Estándar | 2884,69 | 395,76 | 398,46 | 55,42 |
| M | N | 17 | 17 | 17 | 17 |
| | Media | 10248,53 | 701,71 | 608,65 | 97,38 |
| | Desv. Estándar | 4374,85 | 453,76 | 452,96 | 94,73 |
| Total | N | 30 | 30 | 30 | 30 |
| | Media | 9704,67 | 766,57 | 557,73 | 79,79 |
| | Desv. Estándar | 3795,14 | 429,07 | 427,09 | 81,49 |
| | P | 0,28 | 0,12 | 0,57 | 0,23 |

○ MMSE

Los resultados obtenidos no son concluyentes. Una puntuación más baja en el MMSE no necesariamente implica unos niveles menores de beta amiloide o mayores de Tau en LCR. Los sujetos que han obtenido una puntuación mayor en el MMSE, presentan niveles normales de marcadores, pero a medida que bajamos en la escala, algunos de los resultados son se ajustan a esta teoría. El ejemplo más claro es el paciente con menor puntuación en el MMSE, con 16 puntos, el cual posee niveles alterados de A β 42 pero normales del resto, mientras que puntuaciones superiores como los pacientes con 18 y 23 en el MMSE muestran mayor alteración.

- Puntuación de 16: niveles más bajos de lo normal de A β 42, resto normal.
- Puntuación de 18: proteína Tau y Tau fosforilada muy altas, A β 42 normal aunque en el límite.
- Puntuación de 20: proteína Tau y Tau fosforilada muy altas, A β 42 normal límite.
- Puntuación de 23: todas las variables se encuentran alteradas.
- Puntuación de 24: todas las variables dentro de la normalidad.
- Puntuación de 25: proteína Tau fosforilada dentro de la normalidad, resto alteradas.
- Puntuación de 26: todas las variables se encuentran alteradas.
- Puntuación de 27: todas las variables se encuentran alteradas.
- Puntuación de 28: A β 42 dentro de la normalidad, resto de variables alteradas.
- Puntuación de 29: todas las variables dentro de la normalidad.
- Puntuación de 30: todas las variables dentro de la normalidad.

- APOE

Hemos comparado la presencia de estos genotipos con los niveles de los biomarcadores para analizar el incremento del riesgo a padecer una EA.

El genotipo E4/4 es el que muestra mayores niveles en la proteína Tau, Tau fosforilada y Beta amiloide 1-40, mientras que presenta los niveles más bajos de beta amiloide 1-42. (**Tabla 6**)

Tabla 6: Distribución de valores de marcadores individuales en función de APOE

| GENOTIPO APOE | | LCR-Péptido beta amiloide 1-40 | LCR-Péptido beta amiloide 1-42 | LCR-Proteína Tau | LCR-Proteína Tau fosforilada |
|---------------|----------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------|------------------------------|
| E3/3 | N | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | Media | 10410,17 | 852,00 | 526,83 | 77,70 |
| | Desv. Estándar | 4143,16 | 451,06 | 382,34 | 77,71 |
| E4/3 | N | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | Media | 12376,00 | 690,50 | 565,00 | 64,30 |
| | Desv. Estándar | 2351,84 | 221,32 | 123,037 | 15,00 |
| E4/4 | N | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | Media | 13074,00 | 564,00 | 930,50 | 185,05 |
| | Desv. Estándar | 9605,34 | 162,64 | 894,49 | 208,53 |
| P | | 0,52 | 0,59 | 0,39 | 0,29 |

El genotipo E4/4 es aquel que más se asocia con la EA. Aun así, el resto de genotipos también pueden estar presentes en esta enfermedad.

Todos los genotipos muestran niveles elevados alterados de la proteína Tau. La proteína Tau fosforilada se encuentra alterada excepto en el genotipo E4/3. Aun así, en los otros genotipos, los valores se encuentran cerca del límite de la normalidad.

En la beta amiloide 1-42, el genotipo E4/4 es el único que muestra valores anormales, el resto se encuentra dentro de la normalidad, siendo el E4/3 el siguiente más cercano al límite.

Aun así, tenemos que tener en cuenta que el valor en este caso también es superior a 0,05 ($p > 0,05$), por lo tanto, no es significativo.

3.1.4. Correlación entre A β 42, PROTEÍNA TAU Y P-TAU

Mediante los resultados obtenidos observamos que existe una correlación significativa entre los dos tipos de proteína Tau, es decir, mayor coeficiente de correlación. Mientras que con el péptido A β 42, el coeficiente es mucho menor y el resultado no es significativo. (**Tabla 7**)

Tabla 7: Correlación de Pearson entre biomarcadores

| | | LCR-Péptido beta amiloide 1-42 | LCR-Proteína Tau fosforilada | LCR-Proteína Tau |
|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------|
| LCR-Péptido beta amiloide 1-42 | Correlación de Pearson | 1 | -0,194 | -0,185 |
| LCR-Proteína Tau fosforilada | Correlación de Pearson | -0,194 | 1 | 0,850** |
| Proteína Tau Resultado | Correlación de Pearson | -0,185 | 0,850** | 1 |

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

4. DISCUSIÓN

Los hallazgos obtenidos en este trabajo muestran la variación de los niveles de biomarcadores en pacientes con EA principalmente. Aunque contábamos con otras patologías neurológicas, estos no han dado lugar a resultados tan alterados.

La Proteína Tau y la proteína Tau Fosforilada han mostrado niveles muy elevados en la mayoría de los pacientes dando como producto los ovillos neurofibrilares. Por otro lado, el beta amiloide 1-42 muestra niveles por debajo de la normalidad, dando lugar a la formación de las placas difusas. El beta amiloide 1-40, aun teniendo valores elevados, no se alejan extremadamente del límite normal, por lo que no aporta gran valor en este trabajo.

Respecto a los tres ratios de los que disponíamos, todos ellos se encuentran alterados. $A\beta_{42}$ /Proteína Tau ha sido el valor más alterado de todos, mientras que los ratios $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ y $A\beta_{42}$ /Tau fosforilada han mostrado valores más cercanos a la normalidad.

Al realizar la comparación de la compatibilidad del perfil bioquímico con variables diferentes, los resultados no han resultado tan útiles. Los niveles obtenidos correlacionados con la edad y el sexo sí concuerdan con los datos anteriormente mencionados pero estos han demostrado no ser significativos. A pesar de obtener las dos variables Tau elevadas y la $A\beta_{42}$ disminuida, la p resultante en la edad y el sexo eran superiores a 0,05.

El genotipo E4/E4 mostraba los niveles más alterados dentro de los pacientes. Al mismo tiempo, tanto E4/E3 como E3/E3 seguían alterados. Aun así, la p de esta prueba también ha sido superior a 0,05, por lo que no podemos aceptar la asociación con el APOE como significativa.

En el caso del MMSE, sabemos que una mayor puntuación se correlaciona con una menor afectación cognitiva y, por lo tanto, con niveles normales de biomarcadores. Este hecho no lo hemos podido comprobar mediante el análisis de nuestra muestra. En aquellas puntuaciones más altas, se han obtenido menos alteraciones en los marcadores, pero a medida que se obtenían valores inferiores en la puntuación del

MMSE, los resultados no eran del todo concluyentes, pudiéndose ver casos con puntuación más bajas y niveles de marcadores menos alterados o incluso normales.

La limitación de este trabajo ha sido no disponer de una muestra mayor de pacientes y la imposibilidad de su seguimiento en el tiempo para lograr obtener resultados más concluyentes para la práctica clínica; poder observar los cambios que tienen lugar en los niveles de LCR y así determinar no solo qué biomarcador varía en mayor o menor medida, sino qué factores actúan de manera más específica.

5. CONCLUSIONES

- El perfil típico de los pacientes con EA muestra la elevación de la Proteína Tau y Proteína Tau Fosforilada y la disminución de la A β 42.
- Los valores de A β 40 aunque ligeramente elevados, no muestran niveles realmente alterados como para considerarlos útiles para asociarlos con la EA:
- Las variables edad, sexo, APOE no han demostrado tener una asociación significativa con la alteración de los niveles de biomarcadores.
- El test MMSE ha mostrado una discreta utilidad a la hora de su uso como herramienta para aportar más información al diagnóstico de EA.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Molinuevo JL, Ayton S, Batrla R, Bednar MM, Bittner T, Blennow K, et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers. *Acta Neuropathologica*. 2018; 136:821–853.
2. Toledo JB, Zetterberg H, Van Harten AC, Glodzik L, Martinez-Lage P, Trojanowski JQ, et al. Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarker in cognitively normal subjects. *BRAIN*. 2015; 138; 2701–2715.
3. Wolk DA, Dickerson BC. Clinical features and diagnosis of Alzheimer disease [Internet]. UpToDate; 2019 [Consultado el 24 de noviembre de 2019] Disponible en <http://www.uptodate.com/contents/clinical-features-and-diagnosis-of-alzheimer-disease>.
4. Dirk C, Montine TJ, Kuller LH. Epidemiology, pathology, and pathogenesis of Alzheimer disease. [Internet]. UpToDate; 2019 [Consultado el 24 de noviembre de 2019] Disponible en <http://www.uptodate.com/contents/epidemiology-pathology-and-pathogenesis-of-alzheimer-disease>.
5. Moghekar A, Goh J, Li M, Albert M, O'Brien RJ. Cerebrospinal Fluid A β and Tau Level Fluctuation in an Older Clinical Cohort. *Arch Neurol*. 2012; 69(2): 246–250.
6. Vos SJB, Visser PJ, Verhey F, Aalten P, Knol D, Teunissen CE, et al. Variability of CSF Alzheimer's Disease Biomarkers: Implications for Clinical Practice. *Plos One*. 2014; 9(6): e100784.
7. Randall C, Mosconi L, De leon M, Glodzik L. Cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease in cognitively healthy elderly. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2014; 18: 1150–1173.
8. Kang JH, Korecka M, Toledo JB, Trojanowski JQ, Shaw LM. Clinical Utility and Analytical Challenges in Measurement of Cerebrospinal Fluid Amyloid-

- β 1–42 and τ Proteins as Alzheimer Disease Biomarkers. *Clin Chem.* 2013; 59(6): 903–916.
9. Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, Klunk WE, Weiner MW, Siemers E, et al. The Role of Biomarkers in Clinical Trials for Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2006; 20(1): 6–15.
 10. Janelidze S, Zetterberg H, Mattsson N, Palmqvist S, Vanderstichele H, Hansson O, et al. CSF Ab42/Ab40 and Ab42/Ab38 ratios: better diagnostic markers of Alzheimer disease. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 2016; 3(3): 154–165.
 11. Hansson O, Lehmann S, Otto M, Zetterberg H, Lewczuk P. Advantages and disadvantages of the use of the CSF Amyloid β (A β) 42/40 ratio in the diagnosis of Alzheimer's Disease. *Alzheimers Res Ther.* 2019; 11: 34.
 12. Mroczko B, Groblewska M, Litman-Zawadzka A. The Role of Protein Misfolding and Tau Oligomers (TauOs) in Alzheimer's Disease (AD). *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 1-26.
 13. Struyfs H, Niemantsverdriet E, Goossens J, Franssen E, Martin JJ, Engelborghs S, et al. Cerebrospinal fluid P-tau181P: biomarker for improved differential dementia diagnosis. *Frontiers in Neurology.* 2015; 138 (6): 1-8.
 14. Frölich L, Peters O, Lewczuk P, Gruber O, Teipel SJ, Jorntuber J, et al. Incremental value of biomarker combinations to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's dementia. *Alzheimer's Research & Therapy.* 2017; 84(9): 1-15.
 15. Snider BJ, Fagan AM, Roe CM, Shah AR, Grant EA, Holtzman DM. Cerebrospinal fluid biomarkers and rate of cognitive decline in very mild dementia of the Alzheimer's type. *Arch Neurol.* 2009; 66(5): 638–645.
 16. Marizzoni M, Ferrari C, Babiloni C, Albani D, Barkhof F, Frisoni GB, et al. CSF cutoffs for MCI due to AD depend on APOE ϵ 4 carrier status. *Neurobiology of Aging xxx.* 2020; 1-8.
 17. Butterfield DA, Mattson MP. Apolipoprotein E and oxidative stress in brain with relevance to Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease.* 2019; 1-40.

18. Minta K, Brinkmalm G, Janelidze S, Sjödin S, Portelius E, Andreasson U, et al. Quantification of total apolipoprotein E and its isoforms in cerebrospinal fluid from patients with neurodegenerative diseases. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2020; 12 (19): 1-11.
19. Samtani MN, Raghavan N, Shi Y, Novak G, Farnum M, Narayan VA, et al. Disease progression model in subject with mild cognitive impairment from the Alzheimer's disease neuroimaging initiative: CSF biomarkers predict population subtypes. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2012; 75(1): 146–161.
20. Zetterberd H, Skilbäck T, Mattsson N, Trojanowski JQ, Portelius E, Blennow K. Association of Cerebrospinal Fluid Neurofilament Light Concentration With Alzheimer Disease Progression. *JAMA Neurol*. 2016; 73(1): 60–67.
21. Schaffert J, LoBue C, White CL, Wilmoth K, Didehbani N, Munro C, et al. Risk factors for earlier dementia onset in autopsy-confirmed Alzheimer's disease, mixed Alzheimer's with Lewy bodies, and pure Lewy body disease. *Alzheimer's Dement*. 2020; 1–7.
22. Llorens F, Villar-Piqué A, Hermann P, Schmitz M, Calero O, Zerr I, et al. Diagnostic Accuracy of Prion Disease Biomarkers in Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob Disease. *Biomolecules*. 2020; 10(290): 1-13.
23. Lee SE, Yaffe K, Wiltedink JL. Frontotemporal dementia [Internet]. UpToDate; 2019 [Consultado el 24 de noviembre de 2019] Disponible en <http://www.uptodate.com/contents/frontotemporal-dementia>.
24. Shi M, Bradner J, Hancock AM, Chung KA, Quinn JF, Zhang J, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Parkinson Disease Diagnosis and Progression. *Ann Neurol*. 2011; 69(3): 570–580.
25. Brosseron F, Kolbe CC, Santarelli F, Carvalho S, Antonell A, Heneka MT, et al. Multicenter Alzheimer's and Parkinson's disease immune biomarker verification study. *Alzheimer's & Dementia*. 2019; 1-13.
26. Falgàs N, Ruiz-Peris M, Pérez-Millan A, Sala-Llonch R, Antonell A, Sánchez-Valle R, et al. Contribution of CSF biomarkers to early-onset

- Alzheimer's disease and frontotemporal dementia neuroimaging signatures. *Hum Brain Mapp.* 2020; 1–10.
27. Rosenberg A, Solomon A, Vesna J, Hagman G, Bogdanovic N, Kivipelto M. Progression to dementia in memory clinic patients with mild cognitive impairment and normal β -amyloid. *Alzheimer's Research & Therapy.* 2019; 11: 1-12.
 28. McDade EM, Petersen RC. Mild cognitive impairment: Prognosis and treatment [Internet]. UpToDate; 2019 [Consultado el 24 de noviembre de 2019] Disponible en <http://www.uptodate.com/contents/mild-cognitive-impairment-prognosis-and-treatment>.
 29. Weiner MW, Veitch DP, Aisen PS, Beckett LA, Cairns NJ, Trojanowski JQ, et al. The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: A review of papers published since its inception. *Alzheimers Dement.* 2013; 9(5): e111–e194.
 30. Ortega RL, Dakterzada F, Arias A, Blasco E, Naudi A, Pinol-Ripoll G, et al. Usefulness of CSF Biomarkers in Predicting the Progression of Amnesic and Nonamnesic Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. *Current Aging Science.* 2019; 12: 35-42.
 31. Factor SA, Tripathi R. Corticobasal degeneration [Internet]. UpToDate; 2019 [Consultado el 24 de noviembre de 2019] Disponible en <http://www.uptodate.com/contents/corticobasal-degeneration>.
 32. Perrin RJ, Craig-Schapiro R, Malone JP, Shah AR, Gilmore P, Fagan AM, et al. Identification and Validation of Novel Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Staging Early Alzheimer's Disease. *Plos One.* 2011; e16032.
 33. Sutphen CL, Jasielec MS, Shah AR, Macy EM, Xiong C, Fagan AM, et al. Longitudinal Cerebrospinal Fluid Biomarker Changes in Preclinical Alzheimer Disease During Middle Age. *JAMA Neurol.* 2015; 72(9): 1029–1042.
 34. Adamczuk K, Schaefferbeke J, Vanderstichele HMJ, Lilja J, Nelissen N, Vandenberghe R, et al. Diagnostic value of cerebrospinal fluid A β ratios in

- preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2015; 75 (7): 1-11.
35. Cuchillo-Ibañez I, Lopez-Font I, Boix-Amorós A, Brinlmalm G, Blennow K, Sáez-Valero, et al. Heteromers of amyloid precursor protein in cerebrospinal fluid. 2015; 10 (2): 1-11.
36. Kang JH, Korecka M, Figurski MJ, Toledo JB, Blennow K, Shaw LM, et al. The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative 2 Biomarker Core: A review of progress and plans. *Alzheimers Dement*. 2015; 11(7): 772–791.
37. Tarawneh R, Head D, Allison S, Buckles V, Fagan AM, Holtzman DM, et al. Cerebrospinal Fluid Markers of Neurodegeneration and Rates of Brain Atrophy in Early Alzheimer Disease. *JAMA Neurol*. 2015; 72(6): 656–665.
38. Gourmaud S, Paquet C, Dumurgier J, Pace C, Bouras C, Hugon J, et al. Increased levels of cerebrospinal fluid JNK3 associated with amyloid pathology: links to cognitive decline. *J Psychiatry Neurosci*. 2015; 40(3): 151-161.
39. Claire J, Jung S, Hong S, Kim YS. Diagnosis of Alzheimer's disease utilizing amyloid and tau as fluid biomarkers. *Experimental & Molecular Medicine*. 2019; 51:53.
40. Elman JA, Panizzon MS, Gustavson DE, Franz CE, Sanderson-Cimino ME, Kremen WS, et al. Amyloid-b Positivity Predicts Cognitive Decline but Cognition Predicts Progression to Amyloid-b Positivity. *Biologicas Psichiatria*. 2019; 12: 1-10.
41. Folch J, Ettcheto M, Petrov D, Abad S, Pedrós I, Camins A, et al. Una revisión de los avances en la terapéutica de la enfermedad de Alzheimer: estrategia frente a la proteína β -amiloide. *Neurología*. 2018; 33(1):47—58.