

## Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer

Guillermo García-Ribas, José Luis López-Sendón Moreno, Juan García-Caldentey

Servicio de Neurología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid, España.

### Correspondencia:

Dr. Guillermo García Ribas. Servicio de Neurología. Hospital Ramón y Cajal. Ctra. Colmenar, km 9,1. E-28034 Madrid.

### E-mail:

guillermo.garcia@salud.madrid.org

### Declaración de intereses:

Los autores manifiestan la inexistencia de conflictos de interés en relación con este artículo.

Aceptado tras revisión externa: 30.08.13.

### Cómo citar este artículo:

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

© 2014 Revista de Neurología

**Resumen.** Los nuevos criterios diagnósticos para la enfermedad de Alzheimer (EA) incluyen la posibilidad de practicar técnicas de neuroimagen o análisis del líquido cefalorraquídeo con el objeto de aumentar la certeza de que un paciente presenta un proceso neuropatológico relacionado con la EA. Tres biomarcadores del líquido cefalorraquídeo ( $A\beta_{42}$ , tau total y tau fosforilada) reflejan las características patológicas centrales de la EA. Estos procesos neuropatológicos se inician décadas antes de que sean detectables síntomas, por lo que se está determinando si estos biomarcadores pueden ser útiles en la detección precoz y prevención de la demencia. Podemos definir tres estadios de la EA: estadio preclínico, deterioro cognitivo leve debido a EA y demencia por EA. En esta revisión, se resumen las evidencias de biomarcadores en cada uno de estos estadios. También se revisan los estudios que investigan biomarcadores para la EA en sangre. Los estudios en ancianos asintomáticos y en portadores de mutaciones autosómicas dominantes de EA han mostrado alteraciones en los biomarcadores que permiten la segregación en estos estadios preclínicos. Estos estudios permitirán identificar las poblaciones diana de los ensayos clínicos futuros y evaluar de manera objetiva si se producen modificaciones sobre el proceso patológico de la EA. El desarrollo de los biomarcadores del líquido cefalorraquídeo requiere unos procedimientos normalizados preanalíticos y analíticos estrictos que hagan fiables los estudios multicéntricos y universalicen los puntos de corte de la técnica en los distintos estadios de la EA.

**Palabras clave.** Beta-amiloide. Biomarcadores. Enfermedad de Alzheimer. Líquido cefalorraquídeo. Revisión. Tau fosforilada. Tau total.

## Introducción

Los diagnósticos de demencia y de enfermedad de Alzheimer (EA) son imprecisos. El diagnóstico de demencia, sin apenas dificultad a partir de un estadio moderado, depende de que la alteración cognitiva (y conductual) produzca un impacto funcional persistente y de suficiente intensidad que haga que el sujeto requiera de otros para llevar a cabo sus actividades diarias [1]. El criterio de referencia para su diagnóstico sigue siendo clínico [2]. Lo sorprendente es que el mismo síndrome tiene múltiples criterios diagnósticos que, cuando se compararon con el diagnóstico clínico de expertos, sólo lograron coincidir en el 1% de los sujetos que se evaluaron [3]. La etiología más prevalente de este síndrome es la EA, sobre todo en fallecidos entre la séptima y octava décadas [4]. Este hecho ha igualado el diagnóstico sindrómico clínico a una etiología cuyo diagnóstico es anatómopatológico. El epónimo 'Alzheimer' ha inundado nuestra vida, incluso ha llegado a perder su carácter de nombre propio y castellanizarse con tilde y minúscula cuando se escribe solo [5].

En 1984, un grupo de trabajo estableció los criterios para el diagnóstico clínico de probabilidad de

EA [6] que se han validado frente al diagnóstico anatómopatológico con una sensibilidad del 80% y una especificidad del 70% comparado con controles asintomáticos [7]. La especificidad disminuye mucho cuando los criterios diagnósticos aplicados son los de posibilidad [8] o cuando se intenta discriminar entre distintos tipos de enfermedades que cursan con demencia [9]. Por lo tanto, en clínica es preferible denominar al síndrome de deterioro cognitivo predominantemente amnésico y visuoconstructivo o ambos como demencia tipo Alzheimer (DTA) sabiendo de las limitaciones de predicción de la enfermedad subyacente que posee [10].

En 1997, se publican unos nuevos criterios neuropatológicos de la EA que estaban enfocados a conocer si un sujeto demenciado lo era por EA [11]. Esta dependencia para el diagnóstico patológico de la historia clínica chocaba con las evidencias obtenidas de series patológicas por las que se infería un desarrollo gradual de la EA a lo largo de décadas y estaba presente en sujetos cognitivamente asintomáticos o mínimamente afectos [12-14]. Aunque la correlación entre el número de lesiones y la clínica no es invariable, la presencia de ovillos neurofibrilares y placas neuríticas es causa suficiente para de-

menciar o provocar alteraciones cognitivas en un sujeto [15]. En 2012, se publican los nuevos criterios neuropatológicos para el diagnóstico de la EA [16] y una guía práctica acompañante [17]. Los criterios evalúan la intensidad y localización de las lesiones patológicas características de la EA y se añade la investigación de hallazgos neuropatológicos asociados, tanto neurodegenerativos como vasculares y no obligan a que el paciente fallezca demenciado para poder diagnosticar una EA en su cerebro.

El avance de los conocimientos tanto clínicos como biológicos de la EA en los últimos 30 años obligaba a una revisión de los criterios diagnósticos. Tres hechos esenciales modificaban la visión de la enfermedad y su categorización. El primero es que las alteraciones cognitivas pueden no afectar a la memoria episódica en fases iniciales y que las alteraciones conductuales tienen la misma relevancia diagnóstica que los déficits cognitivos [18]. El segundo fue el reconocimiento de que la mayoría de los pacientes pasaba por una fase en la que las alteraciones cognitivas y conductuales no producen un impacto funcional sensible. Esta fase se define como deterioro cognitivo leve (DCL) [19]. El tercero ha sido la capacidad de poder predecir la presencia de la anatomía patológica de la EA en un sujeto vivo, mediante marcadores biológicos y de neuroimagen, en conjunto denominados biomarcadores [20].

Un biomarcador es una característica que se puede valorar objetivamente y que sirve de indicador de un proceso biológico normal, de un proceso fisiopatológico o de una respuesta a una intervención terapéutica. Los biomarcadores se pueden utilizar para ayudar en el diagnóstico clínico (marcadores diagnósticos), para estimar el pronóstico o el riesgo de una enfermedad (marcadores pronósticos), para evaluar el estadio o intensidad de una enfermedad (marcadores de estado) o para monitorizar la respuesta a una intervención (marcadores terapéuticos) [20].

En 2007 y 2010, un grupo de trabajo internacional (conocido por su acrónimo inglés, IWG) acrisola el trabajo de décadas de observación clínica y de validación de los biomarcadores y redefine la EA [21]. Propone dos fases en la enfermedad: una fase asintomática o preclínica y otra fase sintomática, inicialmente prodrómica (predemencia) y otra de demencia. El reconocimiento de patrones clínico-neuropsicológicos específicos y la ayuda de biomarcadores permitiría diagnosticar la EA inequívocamente sin necesidad de un estudio anatómico-patológico. En paralelo, otros grupos de trabajo auspiciados por el National Institute on Aging (NIA) y

la Alzheimer's Association (AA) definen también las fases de la EA [22-24] con diferencias conceptuales y de denominación con respecto a las propuestas por el IWG. El estadio preclínico se define como amiloidosis cerebral asintomática, entendiendo que el depósito de  $\beta$ -amiloide no siempre provocaría síntomas [25-26]. Se sigue manteniendo el término DCL para la fase inicial de la EA y se añade una probabilidad, que no certeza como se propone en los criterios IWG, de que sea producido por la EA. Por último, estaría el estadio de demencia, también con mayor o menor grado de certeza, debido a EA.

En esta revisión se describen los perfiles característicos de los biomarcadores del LCR en los tres estadios propuestos de la enfermedad de Alzheimer por la NIA-AA y además se revisan los avances en biomarcadores biológicos no invasivos. Los biomarcadores de imagen quedan fuera del ámbito de esta revisión.

### Biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo en demencia por enfermedad de Alzheimer

La mayoría de los estudios de biomarcadores en demencia lo son para el diagnóstico de EA, en general sujetos con diagnóstico clínico de probable EA (DTA) y, en menor número de casos, a través de la verificación de la enfermedad por autopsia [27]. El desarrollo de biomarcadores sigue un proceso secuencial. Los estudios preliminares pueden utilizar muestras biológicas o modelos animales para identificar moléculas potencialmente asociadas y métodos bioquímicos de cuantificación. Con posterioridad, se deben validar en muestras clínicas uniformes, con procedimientos normalizados de trabajo, controles de calidad, que permitan caracterizar adecuadamente el rendimiento diagnóstico del biomarcador. En estudios posteriores se tiene que valorar el impacto potencial que pueden tener sobre el biomarcador otras enfermedades concomitantes, los ritmos circadianos, fármacos de uso frecuente, la edad, el sexo, la dieta y los niveles de actividad física [28,29].

Los biomarcadores más estudiados en el LCR como diagnósticos de EA son los péptidos  $\beta$ -amiloide y la proteína tau [27].

#### $\beta$ -amiloide

Hace más de 20 años que se describió la disminución de los niveles de  $\beta$ -amiloide 42 ( $A\beta_{42}$ ) en el LCR de

pacientes con DTA comparado con controles [30]. Este hallazgo, inesperado, ha sido consistentemente reproducido y se ha demostrado una correlación inversa entre el número de placas seniles en autopsia con LCR obtenido intraventricularmente [31,32] y con  $A\beta_{42}$  determinada en el LCR obtenido por punción lumbar *ante mortem* [33]. La misma correlación inversa ocurre entre la medida de la carga de amiloide por radioligandos de amiloide (PET-amiloide) y  $A\beta_{42}$  en el LCR [34-36]. Otro de los péptidos resultantes de la degradación de la proteína precursora de amiloide, el péptido  $A\beta_{40}$ , no varía en su concentración durante el desarrollo de la enfermedad [37]. El uso del cociente  $A\beta_{42}:A\beta_{40}$  podría evitar los falsos negativos en aquellos casos que partan de cifras muy elevadas de producción de péptidos amiloides [38].

La disminución de  $A\beta_{42}$  en el LCR se observa también en otros procesos, sin aparente relación con la formación de placas seniles, tales como traumatismos craneoencefálicos graves [39,40], lupus eritematoso sistémico [41], uso de ciertos anestésicos [42,43], demencia asociada al virus de inmunodeficiencia humana [44], atrofia multisistémica [45], angiopatías amiloides [46] y leucoencefalopatía vascular subcortical [47]. Además, los niveles tienen una oscilación circadiana, dato que se debe tener en cuenta a la hora de realizar la punción lumbar [48].

El *kit* de laboratorio más utilizado es un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) que, en el caso de la  $A\beta_{42}$ , reconoce el primer aminoácido y el último del péptido [49]. Se están desarrollando otros anticuerpos que reconocen el último aminoácido y que pueden determinar el péptido completo y fragmentos truncados en su extremo N-terminal y que también tienen capacidad de agregarse [50]. Básicamente, el *kit* reconoce la forma monomérica soluble de la  $A\beta_{42}$  [27]. La técnica de ELISA es bien conocida y con una fiabilidad elevada, pero queda limitada por la inestabilidad de la  $A\beta_{42}$  y su vida media corta en el LCR [51]. La determinación en muestras clínicas necesita de unos procedimientos normalizados de trabajo preanalíticos y analíticos rigurosos, así como frecuentes controles de calidad [52]. En la actualidad, están en marcha varias iniciativas para la estandarización de las pruebas de laboratorio, el desarrollo de nuevos reactivos más estables y fiables y esfuerzos para su validación multicéntrica [53]. Otra limitación es que los distintos *kits* de laboratorio dan como resultado distintas concentraciones absolutas del péptido, lo que impide el uso de valores de referencia globales y puntos de corte para uso clínico que sean homogéneos [54].

### Proteína tau y tau fosforilada

En paralelo a la determinación de péptidos amiloides en el LCR, se analizó la concentración de proteína tau en el LCR y se observó un marcado incremento de la misma en sujetos con DTA respecto a controles [55]. Este incremento es muy sensible (en torno al 90%) [56] pero poco específico en comparación con otras patologías, ya que se incrementa tras un ictus [57], traumatismos craneoencefálicos [40], otras enfermedades neurodegenerativas como la demencia por cuerpos de Lewy [58] y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob [59] (Tabla I) [60-68].

En el diagnóstico diferencial frente a otras enfermedades que cursan con demencia, la determinación de tau fosforilada (p-tau) aporta más especificidad [69,70].

La proteína tau se transcribe en seis isoformas. Los reactivos ELISA más utilizados detectan todas las isoformas independientemente de su estado de fosforilación [71]. Para la p-tau, se suele detectar aquella que se encuentra fosforilada en al menos el aminoácido 181 [72-74].

### Firma biológica de la EA

El conjunto de disminución de la  $A\beta_{42}$ , aumento de la tau y de la p-tau en el LCR ha venido a denominarse como la firma biológica de la EA, ya que distingue entre controles y sujetos con DTA con sensibilidades y especificidades superiores al 80% en casi todos los estudios llevados a cabo [27,75]. Concentraciones más elevadas de tau y p-tau se asociarían a una enfermedad más avanzada o a una progresión más rápida de la misma [76-78]. Se han publicado índices combinados de los tres parámetros que permiten un rendimiento diagnóstico mayor que el uso de los tres índices por separado [79,80].

### Biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo en el deterioro cognitivo leve

El riesgo de que un sujeto que cumpla los criterios clínicos de DCL [19] desarrolle una DTA en un período de cuatro años es del triple con respecto a controles [81]. En estudios de correlación anatomopatológica, aproximadamente la mitad de los fallecidos en estadio de DCL tenían EA [82], cifra que se correlaciona aceptablemente con la presencia de la firma biológica de la EA en estos sujetos [83]. Dado que la progresión anual del estadio de DCL a demencia se estima en torno al 10-15% [19], es muy importante disponer de períodos prolongados para

identificar los convertidores tardíos. Un estudio multicéntrico demostró que el análisis de biomarcadores del LCR predecía la progresión a demencia tras una mediana de seguimiento de cinco años [84]. La combinación de  $A\beta_{42}$  y tau total obtuvo una sensibilidad del 95% y una especificidad del 83%. La misma cohorte se volvió a evaluar tras una mediana de seguimiento de nueve años y se demostró que el cociente  $A\beta_{42}$ :p-tau basal predijo la conversión a demencia con una sensibilidad del 88% y una especificidad del 90% [85]. Los pacientes que desarrollaron demencia en los primeros cinco años tenían unos niveles significativamente más elevados de tau y p-tau que los convertidores tardíos, mientras que la  $A\beta_{42}$  estaba disminuida en ambos grupos [85].

Aunque la capacidad predictiva de los biomarcadores es muy elevada, no se ven superados con claridad por una evaluación neuropsicológica dirigida a resaltar los déficits más frecuentes de la EA (fundamentalmente memoria episódica), como han demostrado seguimientos longitudinales de cohortes prospectivas de pacientes categorizados clínicamente como DCL [86,87].

### Biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo en sujetos asintomáticos

El NIA y la AA auspiciaron un grupo de trabajo para definir los criterios de investigación en la fase preclínica de la EA [24]. Definieron esta fase como de amiloidosis cerebral asintomática, así evitaron el término 'Alzheimer', que está asociado a enfermedad, y no prejuzgaron que todos los sujetos que depositan péptidos de amiloide necesariamente tienen que acabar sus días demenciados. Esta fase se subdivide en tres estadios. En el primero, los sujetos tienen evidencias analíticas de depósito de amiloide bien por técnicas de radioligandos de amiloide o por unos niveles disminuidos de  $A\beta_{42}$  en el LCR. En el segundo, hay alteraciones en la concentración de tau además de los biomarcadores de amiloide positivos. En el tercer estadio, el sujeto debe presentar quejas cognitivas subjetivas.

Recientemente, se han presentado los resultados de un estudio llevado a cabo en sujetos afectados de mutaciones autosómicas dominantes que no cumplían criterios clínicos de demencia [88]. Los sujetos afectados presentaban disminución de la concentración de  $A\beta_{42}$  en el LCR 10 años antes de la edad esperable de inicio de síntomas. Otro estudio llevado a cabo en Antioquia (Colombia) sobre una fratria de 24 sujetos portadores de una única mutación en el gen *presenilina 1* mostró un aumento en los

**Tabla I.** Comportamiento de los biomarcadores actuales en el líquido cefalorraquídeo para enfermedad de Alzheimer en otras enfermedades.

	$a\beta_{42}$	Tau total	Tau fosforilada
Demencia por enfermedad de Alzheimer	↓↓ - ↓↓↓	↑ - ↑↑	↑
Deterioro cognitivo leve por enfermedad de Alzheimer	↓ - ↓↓	↔ - ↑	↔ - ↑
Enfermedad de Alzheimer preclínica (ancianos) [60]	↓	↔ - ↑	↔
Enfermedad de Alzheimer preclínica (jóvenes mutaciones) [61]	↑ - ↑↑	↔	↔
Demencia por cuerpos de Lewy [58]	↓↓	↔ - ↑	↔
Demencia asociada a la enfermedad de Parkinson [62]	↔ - ↓	↔ - ↑	↔
Enfermedad de Parkinson [45]	↔	↔	↔
Parálisis supranuclear progresiva [45]	↔	↔	↔
Hidrocefalia a presión normal [65]	↔	↑	↑
Demencias frontotemporales no Alzheimer [63]	↔	↓ - ↔ - ↑	↔
Demencia vascular subcortical [47]	↔ - ↓	↔	↔
Arteriopatía cerebral autosómica dominante con infartos subcorticales y leucoencefalopatía (CADASIL) [47]	↔ - ↓		
Fase aguda del ictus [57]	↔	↑ - ↑↑	↔
Fase crónica del ictus [55]	↔	↔	↔
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob [59]	↔ - ↓	↑↑↑↑	↔ - ↑
Depresión geriátrica [65]	↔ - ↓	↔	↔
Envejecimiento [68]	↔ - ↓	↔	↔
Traumatismo craneoencefálico grave [39,40]	↓↓	↑↑↑	
Boxeo tras combates [66]	↔	↑ - ↑↑	↔
Remates de cabeza en fútbol [67]	↔	↔	↔

niveles de  $A\beta_{42}$  en comparación con familiares de primer grado no afectados, lo que es compatible con un incremento global inicial de péptidos amiloidogénicos [61]. Estos incrementos preclínicos en las concentraciones de  $A\beta_{42}$  en sujetos con EA dominante no se han observado en grupos control, que por lo general han incluido a población mayor. En las series prospectivas [60,89,90], la disminución de la  $A\beta_{42}$  es superior a las concentraciones de tau y p-tau en predecir la progresión a DCL y demencia en ancianos, sobre todo si son portadores del alelo

$\epsilon 4$  del *ApoE*. De todos modos, los estudios actuales no han demostrado que la alteración en los biomarcadores prediga demencia en todos los casos y los modelos teóricos del desarrollo de las alteraciones patológicas de la EA y de los biomarcadores [91]. Los estudios publicados hasta la fecha son transversales, en tanto que la determinación de biomarcadores suele ser única, y no es el mejor diseño para evaluar la dinámica temporal de los biomarcadores. Puede que estemos comparando un método analítico muy sensible frente a otro menos sensible y puede dar la falsa impresión de que un evento sucede a otro en el tiempo. Por lo tanto, las hipótesis tienen que validarse con estudios longitudinales verdaderos, que implican la colección de muestras repetidas en el mismo sujeto y una evaluación clínico-neuropsicológica sistematizada [92].

### Biomarcadores en sangre en la enfermedad de Alzheimer

La búsqueda de una firma biológica de la EA en sangre periférica es objeto de investigación muy activa en el último lustro [93]. En general, las aproximaciones han seguido dos vertientes. La primera es genética, aprovechando ácidos nucleicos derivados de leucocitos se pretende encontrar agregaciones de polimorfismos que distingan controles (recordemos que un 15-20% presenta EA) de población con demencia o DTA (con la consiguiente contaminación de otras enfermedades neurodegenerativas y vasculares) [94]. Estas pruebas, algunas de ellas accesibles comercialmente en la Unión Europea, suelen incluir la determinación alélica de la *ApoE*, que es la que confiere un mayor riesgo para el desarrollo de la EA [95].

La segunda aproximación está basada en la determinación de proteínas por lo general séricas con una expresión anormal en la EA [96]. Debido a la barrera hematoencefálica, las concentraciones séricas de proteínas cerebrales son varios órdenes de magnitud menores. Además, muchas de estas proteínas sufren de un proceso catalítico, antes de cruzar la barrera hematoencefálica como plasmática por lo que se determinaría en sangre serían secuencias peptídicas de menor tamaño [97]. Además, se ha demostrado una distinta regulación de la concentración de proteínas en LCR y sangre. Por ejemplo, los niveles de tau están claramente aumentados en el LCR de pacientes con demencia por EA, pero en mucha menor medida en la sangre periférica, por lo que la medida en los dos compartimentos no es correlacionable [98]. No hay que olvidar tam-

co que otros órganos producen  $\beta$ -amiloide (por ejemplo, las plaquetas [99]) o las diversas isoformas de la proteína tau [100].

Varios estudios han evaluado la asociación entre las concentraciones plasmáticas de la  $A\beta_{40}$  y la  $A\beta_{42}$  en la DTA con resultados dispares. Algunos no han encontrado asociación [101,102] y otros han mostrado que el cociente  $A\beta_{42}:A\beta_{40}$  predice el desarrollo de la DTA [103-105], sobre todo si se determina en sangre total, no sólo en plasma [106]. Un meta-análisis reciente concluyó que un cociente bajo de  $A\beta_{42}:A\beta_{40}$  puede tener capacidad predictiva, pero que esta asociación no se ha demostrado con las concentraciones aisladas de ambos péptidos [107]. Se han encontrado relaciones entre la DTA y varios analitos plasmáticos, como la transtiretina [108], el desmosterol [109], la metaloproteasa 2 [110], una proteína parecida a la quitinasa-3 [111] o la clustarina [112]. Algunos de estos biomarcadores también se han asociado con la DTA cuando se han determinado en el LCR [113]. La determinación simultánea de paneles de analitos ha mostrado perfiles que diferencian controles de sujetos con DTA [114,115] y, aunque se han publicado en revistas de alto impacto, no los han podido replicar otros grupos de investigación [116,117]. En la tabla II, se describen algunas técnicas de diagnóstico analítico no invasivo (sangre y orina) comercializadas o en estado avanzado de desarrollo [106,118-123]. No es descartable que en esta década se valide un perfil analítico no invasivo para la EA, debido al desarrollo de la proteómica con nuevas técnicas de análisis tanto de secuenciación de aminoácidos como de análisis conformacional proteico [124] y la utilización de grupos de controles y afectos basado en biomarcadores ya conocidos [125].

### Conclusiones

Los biomarcadores del LCR son capaces de predecir la EA con un grado de predicción muy elevado, bajo controles de realización estandarizados. Su rendimiento diagnóstico en poblaciones monocéntricas es excelente y logra áreas bajo curva de recepción operativa (ROC) mayores de 0,97 tanto para la discriminación de pacientes con DTA como para segregar el grupo de sujetos en la categoría clínica de DCL [126]. En los estudios multicéntricos, este rendimiento es claramente menor, lo que se explicaría por la necesidad de una estandarización de los factores preanalíticos y analíticos. En la actualidad, se está desarrollando un programa de control de calidad analítica auspiciado por la AA con el ob-

**Tabla II.** Desarrollo de biomarcadores no invasivos para el diagnóstico analítico de la enfermedad de Alzheimer (modificado de [118], con permiso).

	Compañía	Biomarcador	Disponibilidad	Comentarios
INNO-BIA A $\beta$ en plasma <sup>®</sup>	Innogenetics N.V.	Sangre. Proteico. Inmunoensayo (ELISA). Determinación de A $\beta$ <sub>1-42</sub> y A $\beta$ <sub>1-40</sub>	Sólo para investigación en la UE. Comercializado para uso clínico en EE. UU.	Determina la concentración sérica total de péptidos. Elevado coeficiente de variabilidad entre placas (inestabilidad de los anticuerpos utilizados). Utilidad clínica cuestionable [119]
ADtect <sup>®</sup>	DiaGenic ASA. Laboratorios Ferrer (distribuidor)	Sangre. Genético. Basado en la transcripción de 96 ARNm. Procesamiento basado en PCR. La muestra de sangre se envía a un laboratorio centralizado situado en Bélgica	Marca CE. Disponible en España	Validación clínica en un estudio aislado de muestras clínicas de pacientes con demencia tipo Alzheimer leve-moderada. Sensibilidad 71,9 + 15,6%; especificidad 71,4 + 13,7% [120]. No se ha evaluado en el diagnóstico diferencial entre demencias. No se ha evaluado en muestras de sujetos > 80 años
AclarusDX <sup>®</sup>	ExonHit Therapeutics	Sangre. Genético. Análisis de la expresión ARN de más de 130 genes	Marca CE. Comercializado en Francia. Probable comercialización en el resto de la UE en 2015	Sensibilidad 81%; especificidad 67% en estudio preliminar [121]. En desarrollo dos estudios
AlzheimerAlert <sup>®</sup>	Nymox	Orina. Proteico. Determinación de la proteína fibrilar neuronal	Marca CE. No comercializado en la UE. Comercializado en EE. UU.	Sensibilidad 89-92%; especificidad 90-96% [122]. En desarrollo un nuevo método de determinación y procesamiento de la orina
NuroPro <sup>®</sup>	Amarantus BioScience Holding y Power3 Medical Products Inc.	Sangre. Proteico. Determinación de un perfil de 57 proteínas séricas	En desarrollo	Desarrollo clínico en EE. UU. [123]. Autorizado también para el desarrollo en la enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, cáncer de mama y otras
ABtest <sup>®</sup>	Grifols (Araclon Biotech)	Sangre. Proteico. Determinación del cociente A $\beta$ <sub>42</sub> :A $\beta$ <sub>40</sub> en sangre total (en lugar de plasmática) y A $\beta$ <sub>17</sub>	En desarrollo, disponible para investigación clínica	Mejor correlación que la determinación plasmática de la A $\beta$ <sub>42</sub> [106]

jetivo de facilitar el uso universal de biomarcadores en el LCR tanto en clínica como en investigación [52]. El coeficiente de variación para los resultados de una misma muestra oscila en torno al 25%, sobre todo para la determinación de la A $\beta$ <sub>42</sub> [127]. Esta variación es inaceptable para la realización de estudios multicéntricos y se debe depurar la técnica antes de poder generalizar su uso.

Todavía quedan muchos puntos oscuros de los biomarcadores en el LCR actuales. Por ejemplo, ¿qué significa la presencia de proteína tau en individuos sanos? ¿Sería debida a una degeneración/regeneración por plasticidad sináptica-dendrítica continua? [128] ¿Por qué determinadas enfermedades neurodegenerativas, con una evidente degeneración como las demencias frontotemporales, tienen, por lo general, unos niveles normales de proteína tau? Y también, ¿por qué determinadas patologías no amiloides tienen disminuciones significativas de la A $\beta$ <sub>42</sub> en el LCR? La copatología es un hecho muy frecuente en las autopsias, no sólo de depósitos proteicos sino de alteraciones vasculares encefálicas [129]. Por lo tanto, debemos esperar a los nuevos biomarcadores [113] que complementen a los existentes y que nos permitan un diagnóstico certero de las en-

fermedades neurodegenerativas sin tener que esperar a la autopsia.

### Bibliografía

- Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, Chui H, Corey-Bloom J, Relkin N, 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: 1143-53.
- Molinuevo JL, Peña-Casanova J, eds. Guía oficial para la práctica clínica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones 2009. SEN. Barcelona: Thomson-Reuters; 2009.
- Erkinjuntti T, Ostbye T, Steenhuys R, Hachinski V. The effect of different diagnostic criteria on the prevalence of dementia. *N Engl J Med* 1997; 337: 1667-74.
- Sawa GM, Wharton SB, Lince PG, Forster G, Matthews FE, Brayne C; Medical Research Council Cognitive Function and Ageing Study. Age, neuropathology, and dementia. *N Engl J Med* 2009; 360: 2302-9.
- Real Academia Española. Alzheimer [artículo enmendado]. Diccionario de la lengua española (23.ª ed.) URL: [http://buscon.rae.es/draeI/SrvltConsulta?TIPO\\_BUS=3&LEMA=alzheimer](http://buscon.rae.es/draeI/SrvltConsulta?TIPO_BUS=3&LEMA=alzheimer).
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of department of health and human services task force on Alzheimer's disease. *Neurology* 1984; 34: 939-44.
- Beach TG, Monsell SE, Phillips LE, Kukull WE. Accuracy of the clinical diagnosis of Alzheimer disease at National Institute on Aging Alzheimer's Disease Centers, 2005-2010. *J Neuropathol Exp Neurol* 2012; 71: 266-73.

8. Hogervorst E, Barneston L, Jobst KA, Nagy Z, Combrinck M, Smith AD. Diagnosing dementia: interrater reliability assessment and accuracy of the NINCDS/ADRDA criteria versus CERAD histopathological criteria for Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2000; 11: 107-13.
9. Bowler JV, Muñoz DG, Merskey H, Hachinski V. Fallacies in the pathological confirmation of the diagnosis of Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998; 64: 18-24.
10. Karantzoulis S, Galvin JE. Distinguishing Alzheimer's disease from other major forms of dementia. *Expert Rev Neurother* 2011; 11: 1579-91.
11. Hyman BT, Trojanowski JQ. Consensus recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer disease from the National Institute on Aging and the Reagan Institute Working Group on diagnostic criteria for the neuropathological assessment of Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997; 56: 1095-7.
12. Morris JC, Price AL. Pathologic correlates of nondemented aging, mild cognitive impairment, and early-stage Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci* 2001; 17: 101-18.
13. Crystal H, Dickson D, Fuld P, Masur D, Scott R, Mehler M, et al. Clinico-pathologic studies in dementia: nondemented subjects with pathologically confirmed Alzheimer's disease. *Neurology* 1998; 38: 1682-7.
14. Nelson PT, Alafuzoff I, Bigio EH, Bouras C, Braak H, Cairns NJ, et al. Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature. *J Neuropathol Exp Neurol* 2012; 71: 362-81.
15. Lleó A, Berezovska O, Growdon JH, Hyman BT. Clinical, pathological, and biochemical spectrum of Alzheimer disease associated with PS-1 mutations. *Am J Geriatr Psychiatry* 2004; 12: 146-56.
16. Hyman BT, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Carrillo MC, et al. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2012; 8: 1-13.
17. Montine TJ, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Dickson DW, et al; National Institute on Aging; Alzheimer's Association. National Institute of Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease: a practical approach. *Acta Neuropathol* 2012; 123: 1-11.
18. McKeith I, Cummings J. Behavioural changes and psychological symptoms in dementia disorders. *Lancet Neurol* 2005; 4: 735-42.
19. Petersen RC, Doody R, Kurz A, Mohs RC, Morris JC, Rabins PV, et al. Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2001; 58: 1985-92.
20. Hampel H, Bürger K, Teipel SJ, Bokde AL, Zetterberg H, Blennow K. Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2008; 4: 38-48.
21. Cummings JL, Dubois B, Molinuevo JL, Scheltens P. International Work Group Criteria for the diagnosis of Alzheimer disease. *Med Clin N Am* 2013; 97: 363-8.
22. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, 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. *Alzheimers Dement* 2011; 7: 263-9.
23. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, 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. *Alzheimers Dement* 2011; 7: 270-9.
24. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011; 7: 280-92.
25. Lazarczyk MJ, Hof PR, Bouras C, Giannakopoulos P. Preclinical Alzheimer disease: identification of cases at risk among cognitively intact older individuals. *BMC Med* 2012; 10: 127.
26. Sperling RA, Karlawish J, Johnson KA. Preclinical Alzheimer disease—the challenges ahead. *Nat Rev Neurol* 2013; 9: 54-8.
27. Rosén C, Hansson O, Blennow K, Zetterberg H. Fluid biomarkers in Alzheimer's disease –current concepts. *Mol Neurodegener* 2013; 8: 20.
28. Mattsson N, Zegers I, Andreasson U, Bjerke M, Blankenstein MA, Bowser R, et al. Reference measurement procedures for Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarkers: definitions and approaches with focus on amyloid  $\beta$ 42. *Biomark Med* 2012; 6: 409-17.
29. Bateman RJ, Wen G, Morris JC, Holtzman DM. Fluctuations of CSF amyloid-beta levels: implications for a diagnostic and therapeutic biomarker. *Neurology* 2007; 68: 666-9.
30. Palmert MR, Usiak M, Mayeux R, Raskind M, Tourtellotte WW, Younkin SG. Soluble derivatives of the  $\beta$  amyloid protein precursor in cerebrospinal fluid: alterations in normal aging and in Alzheimer's disease. *Neurology* 1990; 40: 1028-32.
31. 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: 652-6.
32. Engelborghs S, De Vreese K, Van de Castele T, Vanderstichele H, Van Everbroeck B, Cras P, et al. Diagnostic performance of a CSF-biomarker panel in autopsy-confirmed dementia. *Neurobiol Aging* 2008; 29: 1143-59.
33. Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK, Parkkinen L, Hartikainen P, Soininen H, et al. Cerebrospinal fluid  $\beta$ -amyloid 42 and tau proteins as biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the brain. *Arch Neurol* 2009; 66: 382-9.
34. Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, Lee SY, Dence CS, Shah AR, et al. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta42 in humans. *Ann Neurol* 2006; 59: 512-9.
35. Forsberg A, Engler H, Almkvist O, Blomquist G, Hagman G, Wall A, et al. PET imaging of amyloid deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2008; 29: 1456-65.
36. Grimmer T, Riemenschneider M, Forstl H, Henriksen G, Klunk WE, Mathis CA, et al. Beta amyloid in Alzheimer's disease: increased deposition in brain is reflected in reduced concentration in cerebrospinal fluid. *Biol Psychiatry* 2009; 65: 927-34.
37. Shoji M. Cerebrospinal fluid Abeta40 and Abeta42: natural course and clinical usefulness. *Front Biosci* 2002; 7: d997-1006.
38. 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 controls subjects, and a decrease in the ratio of Abeta42 to Abeta40 levels in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease patients. *Eur Neurol* 2000; 43: 155-60.
39. Franz G, Beer R, Kampfl A, Engelhardt K, Schmutzhard E. Amyloid beta 1-42 and tau in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. *Neurology* 2003; 60: 1457-61.
40. Tsitsopoulos PP, Marklund N. Amyloid- $\beta$  peptides and tau protein as biomarkers in cerebrospinal and interstitial fluid following traumatic brain injury: a review of experimental and clinical studies. *Front Neurol* 2013; 4: 79.
41. Trysberg E, Höglund K, Svenungsson E, Blennow K, Tarkowski A. Decreased levels of soluble amyloid  $\beta$ -protein precursor and  $\beta$ -amyloid protein in cerebrospinal fluid of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R129-36.
42. Peruchó J, Rubio I, Casarejos MJ, Gómez A, Rodríguez-Navarro JA, Solano RM, et al. Anesthesia with isoflurane increases amyloid pathology in mice models of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2010; 19: 1245-57.
43. Papon MA, Whittington RA, El-Khoury NB, Paniel E. Alzheimer's disease and anesthesia. *Front Neurosci* 2011; 4: 272.
44. Clifford DB, Fagan AM, Holtzman DM, Morris JC, Teshome M, Shah AR, et al. CSF biomarkers of Alzheimer disease in HIV-associated neurologic disease. *Neurology* 2000; 73: 1982-7.
45. Holmberg B, Johnels B, Blennow K, Rosengren L.

- Cerebrospinal fluid Abeta42 is reduced in multiple system atrophy but normal in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy. *Mov Disord* 2003; 18: 186-90.
46. Renard D, Castelnuovo G, Wacogne A, Le Floch A, Thouvenot E, Mas J, et al. Interest of CSF biomarker analysis in possible cerebral amyloid angiopathy cases defined by the modified Boston criteria. *J Neurol* 2012; 259: 2429-33.
  47. Formichi P, Parnetti L, Radi E, Cevenini G, Dotti MT, Federico A. CSF biomarkers profile in CADASIL. A model of pure vascular dementia: usefulness in differential diagnosis in the dementia disorder. *Int J Alzheimers Dis* 2010; 2010: doi:10.4061/2010/959257.
  48. Mulder C, Verwey NA, Van der Flier WM, Bouwman FH, Kok A, Van Elk EJ, et al. Amyloid-beta (1-42), total tau, and phosphorylated tau as cerebrospinal fluid biomarkers for the diagnosis of Alzheimer disease. *Clin Chem* 2010; 56: 248-53.
  49. El Mouedden M, Vandermeeren M, Meert T, Mercken M. Development of a specific ELISA for the quantitative study of amino-terminally truncated beta-amyloid peptides. *J Neurosci Methods* 2005; 145: 97-105.
  50. Portelius E, Mattsson N, Andreasson U, Blennow K, Zetterberg H. Novel A $\beta$  isoforms in Alzheimer's disease: their role in diagnosis and treatment. *Curr Pharm Des* 2011; 17: 2594-602.
  51. Cirrito JR, May PC, O'Dell MA, Taylor JW, Parsadanian M, Cramer JW, et al. In vivo assessment of brain interstitial fluid with microdialysis reveals plaque-associated changes in amyloid-beta metabolism and half-life. *J Neurosci* 2003; 23: 8844-53.
  52. Mattsson N, Andreasson U, Persson S, Arai H, Batish SD, Bernardini S, et al. The Alzheimer's association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers. *Alzheimers Dement* 2011; 7: 386-95.
  53. Carrillo MC, Blennow K, Soares H, Lewczuk P, Mattsson N, Oberoi P, 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: 137-40.
  54. Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Figurski M, Coart E, Blennow K, et al. Qualification of the analytical and clinical performance of CSF biomarker analyses in ADNI. *Acta Neuropathol* 2011; 121: 597-609.
  55. Jensen M, Asun H, Lannfelt L. Increased cerebrospinal fluid tau in patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1995; 186: 189-91.
  56. 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.
  57. Hesse C, Rosengren L, Andreasen N, Davidsson P, Vanderstichele H, Vanmechelen E, et al. Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neurosci Lett* 2001; 297: 187-90.
  58. Gómez-Tortosa E, Gonzalo I, Fanjul S, Sainz MJ, Cantarero S, Cemillán C, et al. Cerebrospinal fluid markers in dementia with Lewy bodies compared with Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2003; 60: 1218-22.
  59. Wang GR, Gao C, Shi Q, Zhou W, Chen JM, Dong CF, et al. Elevated levels of tau protein in cerebrospinal fluid of patients with probable Creutzfeldt-Jakob disease. *Am J Med Sci* 2010; 340: 291-5.
  60. Skoog I, Davidsson P, Aevarsson O, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K. Cerebrospinal fluid beta-amyloid 42 is reduced before the onset of sporadic dementia: a population-based study in 85-year-olds. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2003; 15: 169-76.
  61. Reiman EM, Quiroz YT, Fleisher AS, Chen K, Véléz-Pardo C, Jiménez-Del-Río M, et al. Brain imaging and fluid biomarker analysis in young adults at genetic risk for autosomal dominant Alzheimer's disease in the presenilin 1 E280A kindred: a case-control study. *Lancet Neurol* 2012; 11: 1048-56.
  62. Andersson M, Zetterberg H, Minthon LL, Blennow K, Londos E. The cognitive profile and CSF biomarkers in dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. *Int J Geriatr Psychiatry* 2011; 26: 100-5.
  63. Irwin DJ, Trojanowski JQ, Grossman M. Cerebrospinal fluid biomarkers for differentiation of frontotemporal lobar degeneration from Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* 2013; 5: 6.
  64. Buerger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Aral H, DeBernardis J, Kerkman D, et al. Differentiation of geriatric major depression from Alzheimer's disease with CSF tau protein phosphorylated at threonine 231. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 376-9.
  65. Agren-Wilsson A, Lekman A, Sjoberg W, Rosengren AT, Blennow K, Bergenheim AT, et al. CSF biomarkers in the evaluation of idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Acta Neurol Scand* 2007; 116: 333-9.
  66. Zetterberg H, Jonson M, Rasulzada A, Popa C, Styrd E. No neurochemical evidence for brain injury causing by heading in soccer. *Br J Sports Med* 2007; 41: 574-7.
  67. Neselius S, Brisby H, Theodorsson AA, Blennow K, Zetterber H, Marcusson J. CSF-biomarkers in Olympic boxing: diagnosis and effects of repetitive head trauma. *PLoS One* 2012; 7: e33606.
  68. Glodzik-Sobanska L, Pirraglia E, Brys M, De Santi S, Mosconi L, Rich KE, et al. The effects of normal aging and ApoE genotype on the levels of CSF biomarkers for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2009; 30: 672-81.
  69. Kester MI, Scheffer PG, Koel-Simmelink MJ, Twaalfhoven H, Verwey NNA, Veerhuis R, et al. Serial CSF sampling in Alzheimer's disease: specific versus non-specific markers. *Neurobiol Aging* 2012; 33: 1591-8.
  70. Monge-Argilés JA, Muñoz-Ruiz C, Sánchez-Payá J, Montoya-Gutiérrez 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.
  71. 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* 1995; 26: 231-45.
  72. Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson P, Van Kerschaver E, Van der Perre B, Sjögren M, et al. Quantification of tau phosphorylated at threonine 181 in human cerebrospinal fluid: a sandwich ELISA with a synthetic phosphopeptide for standardization. *Neurosci Lett* 2000; 285: 49-52.
  73. Kohnken R, Buerger K, Zinkowski R, Miller C, Kerkman D, DeBernardis J, et al. Detection of tau phosphorylated at threonine 231 in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett*. 2000; 287: 187-90.
  74. Olsson A, Vanderstichele H, Andreasen N, De Meyer G, Wallin A, Holmberg B, et al. Simultaneous measurement of beta-amyloid(1-42), total tau, and phosphorylated tau (Thr181) in cerebrospinal fluid by the xMAP technology. *Clin Chem* 2005; 51: 336-45.
  75. Mattsson N, Rosen E, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, et al. Age and diagnostic performance of Alzheimer disease CSF biomarkers. *Neurology* 2012; 78: 468-76.
  76. 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: 403-10.
  77. Wallin AK, Blennow K, Zetterberg H, Londos E, Minthon L, Hansson O. CSF biomarkers predict a more malignant outcome in Alzheimer disease. *Neurology* 2010; 74: 1531-7.
  78. Van Rossum IA, Vos SJ, Burns L, Knol DL, Scheltens P, Soinen H, et al. Injury markers predict time to dementia in subjects with MCI and amyloid pathology. *Neurology* 2012; 79: 1809-16.
  79. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 2009; 302: 385-93.
  80. Molinuevo JL, Gispert JD, Pujol J, Rojas S, Lladó A, Balasa M, et al. Una nueva aproximación en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer con biomarcadores: descripción del *AD-CSF-Index*. *Rev Neurol* 2012; 54: 513-22.
  81. Bennett DA, Wilson RS, Schneider JA, Evans DA, Beckett LA, Aggarwal NT, et al. Natural history of mild cognitive impairment in older persons. *Neurology* 2002; 59: 198-205.



82. Mufson EJ, Binder L, Counts SE, DeKosky ST, De Toledo-Morrell L, Ginsberg SD, et al. Mild cognitive impairment: pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol* 2012; 123: 13-30.
83. Monge-Argilés JA, Sánchez-Payá J, Muñoz-Ruiz C, Pampliega-Pérez A, Montoya-Gutiérrez J, Leiva-Santana C. Biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con deterioro cognitivo leve: metanálisis de su capacidad predictiva para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2010; 50: 193-200.
84. 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: 228-34.
85. 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.
86. Palmqvist S, Hertze J, Minthon L, Wattmo C, Zetterberg H, Blennow K, et al. Comparison of brief cognitive tests and CSF biomarkers in predicting Alzheimer's disease in mild cognitive impairment: six-year follow-up study. *PLoS One* 2012; 7: e38639.
87. Richard E, Schmad BA, Eikelenboom P, Van Gool WA, The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. MRI and cerebrospinal fluid biomarkers for predicting progression to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a diagnostic accuracy study. *BMJ Open* 2013; 3: e002541.
88. Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TL, Fagan AM, Goate A, Fox NC, et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2012; 367: 795-804.
89. Van Harten AC, Visser PJ, Pijnenburg YA, Teunissen CE, Blankenstein MA, Scheltens P, et al. Cerebrospinal fluid Abeta42 is the best predictor of clinical progression in patients with subjective complaints. *Alzheimers Dement* 2013; 9: 481-7.
90. Schott JM, Bartlett JW, Fox NC, Barnes J. Alzheimer's disease neuroimaging initiative: increased brain atrophy rates in cognitively normal older adults with low cerebrospinal fluid Abeta1-42. *Ann Neurol* 2010; 68: 825-34.
91. Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol* 2013; 12: 207-16.
92. Buchhave P, Blennow K, Zetterberg H, Stomrud E, Londos E, Andreasen N, et al. Longitudinal study of CSF biomarkers in patients with Alzheimer's disease. *PLoS One* 2009; 4: e6294.
93. Guzmán-Martínez L, Fariás GA, Maccioni RB. Emerging noninvasive biomarkers for early detection of Alzheimer's disease. *Arch Med Res* 2012; 43: 663-6.
94. Bettens K, Slegers K, Van Broeckhoven C. Genetic insights in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2013; 12: 92-104.
95. Briones N, Dinu V. Data mining of high density genomic variant data for prediction of Alzheimer's disease risk. *BMC Med Genet* 2012; 13: 7.
96. Britschgi M, Rufibach K, Huang SL, Clark CM, Kaye JA, Li GB, et al. Modeling of pathological traits in Alzheimer's disease based on systemic extracellular signalling proteome. *Mol Cell Proteomics* 2011; 10: M111.008862.
97. Wang Y, Sørensen MG, Zheng Q, Zhang C, Karsdal MA, Henriksen K. Will posttranslational modification of brain proteins provide novel serological markers for dementias? *Int J Alzheimer Dis* 2012; 2012: 209409.
98. 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: 100-105.
99. Bush AI, Beyreuther K, Masters CL. The beta A4 amyloid protein precursor in human circulation. *Ann NY Acad Sci* 1993; 695: 175-82.
100. Mandelkow EM, Mandelkow E. Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2: a006247.
101. Hansson O, Zetterberg H, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Andreasson U, Londos E, et al. Evaluation of plasma Abeta(40) and Abeta(42) as predictors of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2010; 31: 357-67.
102. Lopez OL, Kuller LH, Mehta PD, Becker JT, Gach HM, Sweet RA, et al. Plasma amyloid levels and the risk of AD in normal subjects in the cardiovascular health study. *Neurology* 2008; 70: 1664-71.
103. Van Oijen M, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MM. Plasma Abeta(1-40) and Abeta(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study. *Lancet Neurol* 2006; 5: 655-60.
104. Graff-Radford NR, Crook JE, Lucas J, Boeve BF, Knopman DS, Ivnik RJ, et al. Association of low plasma Abeta42/Abeta40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2007; 64: 354-62.
105. Yaffé K, Weston A, Graff-Radford NR, Satterfield S, Simonsick EM, Younkin SG, et al. Association of plasma beta-amyloid level and cognitive reserve with subsequent cognitive decline. *JAMA* 2011; 305: 261-6.
106. Pesini P, Pérez-Grijalba V, Monleón I, Boada M, Tárraga L, Martínez-Lage P, et al. Reliable measurements of the  $\beta$ -amyloid pools in blood could help in early diagnosis of AD. *Int J Alzheimers Dis* 2012; 2012: 604141.
107. Koyama A, Okereke OI, Yang T, Blacker D, Selkoe DJ, Grodstein F. Plasma amyloid-beta as a predictor of dementia and cognitive decline: a systematic review and meta-analysis. *Arch Neurol* 2012; 69: 824-31.
108. Velayudhan L, Killick R, Hye A, Kinsey A, Guntert A, Lynham S, et al. Plasma transthyretin as a candidate marker for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2012; 28: 369-75.
109. Sato Y, Suzuki I, Nakamura T, Bernier F, Aoshima K, Oda Y. Identification of a new plasma biomarker of Alzheimer's disease using metabolomics technology. *J Lipid Res* 2012; 53: 567-76.
110. Lim NK, Villemagne VL, Soon CP, Laughton KM, Rowe CC, McLean CA, et al. Investigation of matrix metalloproteinases, MMP-2 and MMP-9, in plasma reveals a decrease of MMP-2 in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2011; 26: 779-86.
111. Choi J, Lee HW, Suk K. Plasma level of chitinase 3-like 1 protein increases in patients with early Alzheimer's disease. *J Neurol* 2011; 258: 2181-5.
112. Thambisetty M, An Y, Kinsey A, Koka D, Saleem M, Guntert A, et al. Plasma clusterin concentration is associated with longitudinal brain atrophy in mild cognitive impairment. *NeuroImage* 2012; 59: 212-7.
113. Fagan AM, Perrin RJ. Upcoming candidate cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *Biomark Med* 2012; 6: 455-76.
114. Doecke JD, Laws SM, Faux NG, Wilson W, Burnham SC, Lam CP, et al. Blood-based protein biomarkers for diagnosis of Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2012; 69: 1318-25.
115. Ray S, Britschgi M, Herbert C, Takeda-Uchimura Y, Boxer A, Blennow K, et al. Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nat Med* 2007; 13: 1359-62.
116. Bjorkqvist M, Ohlsson M, Minthon L, Hansson O. Evaluation of a previously suggested plasma biomarker panel to identify Alzheimer's disease. *PLoS One* 2012; 7: e29868.
117. Soares HD, Chen Y, Sabbagh M, Roher A, Schrijvers E, Breteler M. Identifying early markers of Alzheimer's disease using quantitative multiplex proteomic immunoassay panels. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1180: 56-67.
118. Fletcher LC, Burke KE, Caine PL, Rinne NL, Braniff CA, Davis HR, et al. Diagnosing Alzheimer's disease: are we any nearer to useful biomarker-based, non-invasive tests? *GMS Health Technol Assess* 2013; 9: Doc01.
119. Blennow K, De Meyer G, Hansson O, Minthon L, Wallin A, Zetterberg H, et al. Evolution of Abeta42 and Abeta40 levels and Abeta42/Abeta40 ratio in plasma during progression of Alzheimer's disease: a multicenter assessment. *J Nutr Health Aging* 2009; 13: 205-8.

120. Rye PD, Booij BB, Grave G, Lindahl T, Kristiansen L, Andersen HM, et al. A novel blood test for the early detection of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2011; 23: 121-9.
121. Fehlbaum-Beurdeley P, Sol O, Désiré L, Touchon J, Dantoine T, Vercelletto M, et al; EHTAD/002 study group. Validation of AclarusDX, a blood-based transcriptomic signature for the diagnosis of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2012; 32: 169-81.
122. Goodman JJ. Practical utility of urinary assay in the diagnosis of Alzheimer's disease: AlzheimerAlert. *Expert Rev Mol Diagn* 2008; 8: 21-8.
123. Youn YC, Park KW, Han SH, Kim S. Urine neural thread protein measurements in Alzheimer's disease. *J Am Med Dir Assoc* 2011; 12: 372-6.
124. Johnstone D, Milward EA, Beretta R, Moscato P; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Multivariate protein signature of pre-clinical Alzheimer's disease in Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) plasma proteome dataset. *PLoS One* 2012; 7: e34341.
125. Kiddle SJ, Thambisetty M, Simmons A, Riddoch-Contreras J, Hye A. Plasma based markers of [11C] PIB-PET brain amyloid burden. *PLoS One* 2012; 7: e44260.
126. Johansson P, Mattsson N, Hansson O, Wallin A, Johansson JO, Andreasson U, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease: diagnostic performance in a homogeneous mono-center population. *J Alzheimers Dis* 2011; 24: 537-46.
127. Mattson N, Andreasson U, Persson S, Carrillo MC, Collins S, Chalbot S, et al.; Alzheimer's Association QC Program Work Group. CSF Biomarker variability in the Alzheimer's Association quality control program. *Alzheimers Dement* 2013; 9: 251-61.
128. DeFelipe J, Alonso-Nanclares L, Arellano JI. Microstructure of the neocortex: comparative aspects. *J Neurocytol* 2002; 31: 299-316.
129. Kovacs GG, Milenkovic I, Wöhrer A, Höftberger R, Gelpi E, Haberler C, et al. Non-Alzheimer neurodegenerative pathologies and their combinations are more frequent than commonly believed in the elderly brain: a community-based autopsy series. *Acta Neuropathol* 2013; 126: 365-84.

### Biomarkers in Alzheimer's disease

**Summary.** The new diagnostic criteria for Alzheimer's disease (AD) include brain imaging and cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers, with the aim of increasing the certainty of whether a patient has an ongoing AD neuropathologic process or not. Three CSF biomarkers,  $A\beta_{42}$ , total tau, and phosphorylated tau, reflect the core pathological features of AD. It is already known that these pathological processes of AD starts decades before the first symptoms, so these biomarkers may provide means of early disease detection. At least three stages of AD could be identified: preclinical AD, mild cognitive impairment due to AD, and dementia due to AD. In this review, we aim to summarize the CSF biomarker data available for each of these stages. We also review the actual research on blood-based biomarkers. Recent studies on healthy elderly subjects and on carriers of dominantly inherited AD mutations have also found biomarker changes that allow separate groups in these preclinical stages. These studies may aid for segregate populations in clinical trials and objectively evaluate if there are changes over the pathological processes of AD. Limits to widespread use of CSF biomarkers, apart from the invasive nature of the process itself, is the higher coefficient of variation for the analyses between centres. It requires strict pre-analytical and analytical procedures that may make feasible multi-centre studies and global cut-off points for the different stages of AD.

**Key words.** Alzheimer's disease. Amyloid beta. Biomarkers. Cerebrospinal fluid. Phosphorylated tau. Review. Total tau.