Artículo de Revisión

Manuel H. Janeiro, Carlos G. Ardanaz, Noemí Sola-Sevilla, Jinya Dong, María Cortés-Erice, Maite Solas, Elena Puerta y María J. Ramírez*

Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer

<https://doi.org/10.1515/almed-2020-0109>

Recibido 18-09-2020; aceptado 19-10-2020;

publicado en línea 27-01-2021

Palabras clave: enfermedad de Alzheimer; sangre; líquido cefalorraquídeo; amiloide β ; deterioro cognitivo leve; déficit cognitivo; neuroimagen.

Resumen

Objetivos: La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa. La EA es la principal causa de demencia en el mundo, siendo el envejecimiento el principal factor de riesgo. Los criterios diagnósticos para la enfermedad de Alzheimer suelen basarse en datos clínicos. No obstante, es necesario establecer una definición biológica de la enfermedad de Alzheimer basada en biomarcadores que reflejen la neuropatología subyacente.

Contenido: El objetivo de esta revisión es presentar los resultados obtenidos en la medición de biomarcadores nuevos y ya conocidos en los fluidos biológicos o en neuroimágenes.

Resumen: Actualmente se emplean tres biomarcadores para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer: $A\beta_{42}$, t-Tau y p-Tau. El uso diagnóstico de biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo (LCR) presenta algunas limitaciones debido a que la obtención invasiva mediante punción lumbar puede provocar efectos secundarios. La práctica más común en los centros clínicos es la medición en plasma o suero, ya que es mínimamente invasiva y, en consecuencia, se puede obtener y procesar con mayor facilidad. Las dos principales proteínas implicadas en el proceso patológico, $A\beta$ y Tau, se pueden visualizar empleando técnicas de neuroimagen como la PET.

Perspectivas: Dado que está ampliamente aceptado que la enfermedad de Alzheimer comienza décadas antes de que se diagnostiquen los primeros síntomas clínicos, la detección de alteraciones biológicas previa a la aparición de la sintomatología clínica permitiría su diagnóstico precoz o incluso abriría la puerta a nuevas opciones terapéuticas.

Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa y la principal causa de demencia en el mundo, siendo el envejecimiento el principal factor de riesgo. Se estima que actualmente hay en todo el mundo 46,8 millones de personas con demencia y se prevé que esta cifra irá aumentando con el envejecimiento de la población mundial, alcanzando los 74,7 millones de personas. Actualmente, solo cuatro fármacos han sido aprobados por la FDA para tratar la enfermedad: tres inhibidores de la colinesterasa (donepezil, rivastigmina y galantamina) y un modulador del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) no competitivo (memantina). Por desgracia, ninguno de estos fármacos retrasa o detiene el avance de la enfermedad. Por lo tanto, la enfermedad de Alzheimer se ha convertido en uno de los principales retos sanitarios del siglo.

Clínicamente, la EA se caracteriza por el deterioro de la memoria y las funciones cognitivas. La mayoría de los pacientes presentan síntomas neuropsiquiátricos llamados “síntomas conductuales y psicológicos de demencia”, como la depresión, la excesiva actividad, la psicosis o las conductas agresivas. Las características histológicas de la EA son las placas seniles, compuestas por depósitos del péptido beta amiloide ($A\beta$) y por ovillos neurofibrilares (NFT, por sus siglas en inglés), que son depósitos fibrilares de la proteína Tau hiperfosforilada (p-Tau). Otros eventos patológicos que parecen jugar un papel esencial en la enfermedad son la disfunción sináptica, la inflamación o la alteración vascular (Figura 1).

Los criterios diagnósticos de la EA suelen basarse en información clínica. No obstante, es necesario establecer una definición biológica de la EA basada en biomarcadores que reflejen la neuropatología subyacente. En un síndrome tan complejo como la EA, los biomarcadores serían de utilidad para el diagnóstico temprano, la estadiación de la enfermedad, el establecimiento de un pronóstico y la evaluación de la respuesta al tratamiento. Además, los biomarcadores ayudarían a comprender los mecanismos de la enfermedad y a desarrollar nuevas estrategias de tratamiento.

*Autor para correspondencia: María J. Ramírez, Departamento de Farmacología y Toxicología, Universidad de Navarra, Irúnlarrea 1, 31011 Pamplona, España; and IDISNA, Instituto de Investigaciones Sanitarias de Navarra, Pamplona, España, E-mail: mariaja@unav.es
Manuel H. Janeiro, Carlos G. Ardanaz, Noemí Sola-Sevilla, Jinya Dong, María Cortés-Erice, Maite Solas y Elena Puerta, Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Farmacia y Nutrición, Universidad de Navarra, Pamplona, España; IDISNA, Instituto de Investigaciones Sanitarias de Navarra, Pamplona, España

Figura 1: Marcadores biológicos de alteraciones histopatológicas en la enfermedad de Alzheimer.

Placas seniles, compuestas por acumulaciones del péptido amiloide β ($A\beta$), ovillos neurofibrilares (NFT) formados por depósitos fibrilares de la proteína Tau hiperfosforilada (p-Tau), neuroinflamación, disfunción sináptica y neurodegeneración.

Según las últimas guías de práctica clínica del Instituto Nacional de Envejecimiento y la Asociación de Alzheimer (NIA-AA) [1], el término “enfermedad de Alzheimer” se emplea ante la presencia de biomarcadores que muestran la existencia de placas de $A\beta$ y NFT. Actualmente (Figura 2), la clasificación de neurodegeneración basada en la proteína tau y el amiloide (AT(N)) define como biomarcadores “A” a la tomografía por emisión de positrones amiloide (PET), y a los niveles de $A\beta$ 42 y $A\beta$ 42/40 en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Los biomarcadores “T” son la proteína tau en PET y p-Tau en LCR, mientras que los biomarcadores “N” son la resonancia magnética estructural, el PET con fluorodesoxiglucosa (FDG), la tau total en LCR (t-Tau) y la proteína de cadena ligera de neurofilamentos (NFL) [2]. El propósito de esta revisión es describir los principales valores obtenidos en la determinación de biomarcadores nuevos y conocidos en fluidos biológicos o en los estudios de neuroimagen.

Biomarcadores en fluidos: el líquido cefalorraquídeo

El LCR refleja los procesos metabólicos del cerebro, ya que este se encuentra en contacto directo con el cerebro. De este modo, el LCR resulta muy útil en el diagnóstico de la

EA. Los biomarcadores en el LCR tienen más interés que los biomarcadores en plasma, ya que muestran una mayor correlación con los resultados de la PET realizada con el compuesto B de Pittsburgh marcado con ^{11}C , mostrando además mayor valor predictivo [3]. Así mismo, aumenta la precisión del diagnóstico, especialmente en pacientes con enfermedad en fase prodrómica o con presentaciones atípicas [4]. Actualmente se emplean tres biomarcadores del LCR para el diagnóstico de la EA: $A\beta$ 42, t-Tau y p-Tau.

Pacientes con Alzheimer frente a los controles sanos y pacientes con otras patologías del sistema nervioso central (SNC)

Los péptidos $A\beta$ como $A\beta$ 42, $A\beta$ 40, $A\beta$ 37, $A\beta$ 38, sAPP α , y sAPP β fueron los primeros biomarcadores moleculares identificados [5]. Entre ellos, $A\beta$ 42 está especialmente relacionado con los síntomas fisiológicos y patológicos, ya que los pacientes con Alzheimer muestran menores niveles de $A\beta$ 42 en el LCR que los sujetos sanos debido a los depósitos de amiloide cortical. Por el contrario, los niveles de $A\beta$ 42 en plasma no muestran esta asociación [3]. Se ha demostrado una asociación entre niveles bajos de $A\beta$ 40 y la enfermedad de Alzheimer. De todos modos, su pequeño efecto de tamaño limita su uso en el diagnóstico de la enfermedad. Aunque se han observado diferencias significativas entre

	A Amiloide	B Tau	N Neuroinflamación
CSF	$\downarrow$ $A\beta_{42}$ $\downarrow$ ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$	$\uparrow$ T-Tau $\uparrow$ p-Tau	$\uparrow$ Cadena ligera de neurofilamentos (NFL)
Plasma	Controvertida	$\uparrow$ T-Tau	$\uparrow$ Cadena ligera de neurofilamentos (NFL)
Imagen	PET amiloide (PIB, ^{18}F -florbetapir)	PET Tau (^{18}F -flortaucipir, ^{18}F -RO-948)	<ul style="list-style-type: none"> PET FDG (hipometabolismo) IRM (atrofia)

Figura 2: La clasificación de neurodegeneración basada en la proteína tau y el amiloide (AT(N)) define como biomarcadores “A” a la tomografía por emisión de positrones amiloide (PET), y a los niveles de $A\beta_{42}$ y $A\beta_{42}/40$ en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Los biomarcadores “T” son la proteína tau en PET y p-Tau en LCR, mientras que los biomarcadores “N” son la resonancia magnética estructural, el PET con fluorodesoxiglucosa (FDG), la tau total en LCR (t-Tau) y la proteína de cadena ligera de neurofilamentos (NFL).

pacientes con Alzheimer y los controles, su efecto es mínimo. Además, $A\beta_{37}$ y $A\beta_{38}$ podrían ayudar a distinguir la EA de otros tipos de demencia similares [6], aunque no son realmente útiles por sí solos para el diagnóstico clínico, ya que no se han hallado diferencias significativas entre los pacientes y los controles en diversos estudios [3].

sAPP α y sAPP β son productos de la escisión de la proteína precursora del amiloide amiloidea (APP, por sus siglas en inglés). Los niveles de sAPP α parecen ser inferiores en el síndrome parkinsoniano atípico o el Parkinson, lo que sugiere una alteración del metabolismo de la APP [7]. Sin embargo, sAPP α y sAPP β no resultan muy útiles por sí solos en el diagnóstico clínico, ya que no se han observado diferencias significativas entre pacientes con Alzheimer y controles. No obstante, si se analiza el sAPP α junto con otros biomarcadores en el LCR, se puede mejorar la precisión diagnóstica [3]. Posteriormente, t-Tau y p-Tau (Thr 181) fueron aceptados como biomarcadores. Estos marcadores están relacionados con problemas de memoria y están sobreexpresados en el LCR de los pacientes con Alzheimer. Mecánicamente, t-Tau podría elevarse debido a la pérdida de neuronas corticales, por lo que la elevación de p-Tau indicaría la formación de ovillos corticales. Cabe mencionar que la presencia de p-Tau es específica de la EA, por lo que resultaría útil a la hora de distinguir esta enfermedad de otros tipos de demencia [3].

Cuando estos tres marcadores se determinan conjuntamente ($A\beta_{42}$, t-Tau and p-Tau), se logra una mayor especificidad y sensibilidad, que cuando se determina uno solo de ellos [5]. Aunque en menor medida, en el déficit cognitivo leve también se encuentran alteraciones en estos marcadores, lo que no ocurre en el deterioro cognitivo leve estable [5]. Estos biomarcadores pueden ayudar a predecir la progresión del déficit cognitivo leve a Alzheimer. El principal problema a la hora de emplear estos biomarcadores es que,

debido a la variabilidad entre laboratorios, no se han consensado unos valores de referencia para definir los niveles bajos de $A\beta_{42}$ y los niveles elevados de t-Tau [3].

Además de los biomarcadores ya conocidos, en estudios recientes se han identificado nuevos marcadores [5]. Existe un creciente interés en los marcadores asociados a la neurodegeneración, como la cadena ligera de neurofilamentos (NFL). La NFL, junto con el medio o la copia de cadena pesada, forma los haces de neurofilamentos que determinan el diámetro de los axones y la velocidad de conducción [8]. Se ha observado que la NFL está sobreexpresada en los axones mielinizados. Así mismo, cuando se produce degradación o degeneración axonal, se libera NFL al LCR y al torrente sanguíneo. Niveles elevados de NFL pueden ser indicativos de que se está produciendo daño axonal y desmielinización [9]. En varios estudios, se ha mostrado una relación significativa entre los niveles de NFL y un gran efecto de tamaño indicativo de que existe una destrucción axonal importante en la EA [5]. A mayores niveles de NFL, mayor gravedad de la enfermedad, aunque no están correlacionados con la duración de la enfermedad. Además, la NFL puede contribuir a mejorar la precisión diagnóstica, ya que puede ayudar a diferenciar la demencia con cuerpos de Lewy (DCL) y la EA de la demencia de Parkinson, ya que en la DCL se produce un incremento de NFL [7]. La edad también está asociada a niveles elevados de NFL [10].

YKL-40, un marcador relacionado con la activación glial y astrocítica, así como otras proteínas como la carnosinasa I, la cromogranina A y la molécula de adhesión de células neuronales (NCAM) podría ser útil para el diagnóstico precoz [3], aunque tiene un tamaño de efecto moderado [5]. Por otro lado, no se ha demostrado que la proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1) o la proporción de albúmina sean marcadores diagnósticos [5].

Algunos estudios han revelado la presencia de niveles ligeramente superiores de α -sinucleína en pacientes con Alzheimer [11]. Esta hipótesis contrasta con el hecho de que los pacientes con Párkinson presentan menores niveles de α -sinucleína en el LCR, comparados con los controles. Cabe destacar que, en una elevada proporción de los estudios que mostraron un aumento de los niveles de α -sinucleína en el LCR en pacientes con Alzheimer, el diagnóstico se estableció únicamente conforme a criterios clínicos, por lo que resulta imposible dilucidar si los pacientes presentaban enfermedad de cuerpos de Lewy concomitante.

Finalmente, se han obtenido resultados prometedores con otros biomarcadores del LCR como la neurogranina o el TREM-2. En los últimos cinco años, se han publicado varios estudios que demuestran que los pacientes con Alzheimer presentan niveles elevados de la proteína postsináptica específica neurogranina (expresada principalmente en las regiones afectadas por la EA como la corteza, el hipocampo y la amígdala), siendo esta sobreexpresión específica de la EA, ya que no ha sido detectada en otras enfermedades neurodegenerativas. Este incremento podría reflejar degeneración de las sinapsis [12]. Por otra parte, algunos estudios recientes han revelado que el TREM2, que es un receptor inmune innato que se expresa en la superficie de la microglía y se procesa proteolíticamente y se libera como fragmento soluble (sTREM2), está aumentado en la EA. Además, se ha observado que existe una relación entre niveles elevados de sTREM2 en el LCR y mayores niveles de tau total y p-Tau (Thr-181) [13]. Aunque solo se han publicado unos pocos estudios, la literatura sugiere que estos niveles podrían estar aumentados en etapas tempranas y alcanzar valores máximos antes de que se desarrolle la demencia.

En resumen (Tabla 1), los biomarcadores que han mostrado mayor consistencia hasta la fecha y deberían ser empleados en la práctica clínica, así como en los estudios de investigación, son t-Tau, p-Tau, y A β 42 en el LCR, que han mostrado una precisión de entre el 85 y el 90%. Además de estos marcadores conocidos y basándonos en la evidencia científica, la NFL se postula como un nuevo biomarcador. Del mismo modo, la neurogranina en el LCR ha arrojado resultados prometedores, ya que posee una gran especificidad y un gran tamaño de efecto, aunque es necesario realizar más estudios para verificar su precisión y utilidad.

Pacientes con Alzheimer frente a los pacientes con deterioro cognitivo leve

La utilidad de los biomarcadores anteriormente mencionados varía a la hora de comparar a los pacientes con

Alzheimer de aquellos con deterioro cognitivo leve (DCL) (Tabla 2). Únicamente t-Tau and p-Tau, que se mantienen elevados en los pacientes con Alzheimer, conservan un gran tamaño de efecto. Por otro lado, los niveles de A β 42 siguen siendo bajos en los pacientes con Alzheimer, aunque con un menor tamaño de efecto. Sin embargo, aunque los niveles de A β 40 en el LCR se redujeron levemente frente a los controles, no se observaron diferencias con respecto a los pacientes con DCL. Además, A β 38, que no varió en los pacientes con Alzheimer con respecto a los controles, aumentó mínimamente con respecto a los pacientes con DCL [5].

Finalmente, los niveles de neurogranina y YKL-40 también fueron superiores, con un tamaño de efecto moderado en los pacientes con Alzheimer, comparados con aquellos con DCL [14], aunque hasta la fecha únicamente se han publicado cuatro estudios al respecto.

En conclusión, los mejores biomarcadores a la hora de distinguir a los pacientes con Alzheimer de aquellos con DCL son p-Tau y t-Tau, aunque la neurogranina y el YKL-40 también podrían resultar útiles.

Biomarcadores en fluidos: sangre

El uso diagnóstico de biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo (LCR) presenta algunas limitaciones, debido a los efectos secundarios que puede provocar la obtención invasiva de LCR mediante punción lumbar. En este contexto, se han dirigido los esfuerzos a descubrir biomarcadores fiables en sangre. La práctica más común en los centros clínicos es la determinación en plasma o suero, ya que es mínimamente invasiva y, en consecuencia, se puede obtener y procesar con mayor facilidad [15]. Además, se puede realizar un seguimiento y cribado de los pacientes a largo plazo. No obstante, por diferentes razones, la identificación de biomarcadores de la EA en sangre ha resultado ser más compleja que en el LCR. En primer lugar, los cambios son muy pequeños y heterogéneos, ya que los datos de plasma y suero reflejan un amplio espectro de cambios, no necesariamente relacionados con la EA. En segundo lugar, solo una fracción de las proteínas cerebrales llega al torrente sanguíneo, debiendo ser estas determinadas en una matriz con altas concentraciones de proteínas plasmáticas, como la albúmina y la IgG, existiendo un importante riesgo de interferencia entre los métodos analíticos [16]. Además de diluirse, las proteínas cerebrales liberadas al torrente sanguíneo pueden ser degradadas por las proteasas, metabolizadas en el hígado o eliminadas por los riñones, lo que introduce una variable ajena a los cambios cerebrales que es difícil de controlar [17]. Por otro lado, a

Tabla 1: Biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer.

Biomarcadores	Descripción	LCR	Plasma	Utilidad diagnóstica
Aβ42	Marcador del metabolismo del APP	↓ niveles en pacientes con Alzheimer. Gran tamaño del efecto	No hay diferencias	Recomendado para el diagnóstico mediante el análisis de LCR
Aβ40	Marcador del metabolismo del APP	↓ niveles en pacientes con Alzheimer. Pequeño tamaño del efecto	No hay diferencias	No muy útil por sí solo.
Aβ38	Marcador del metabolismo del APP	No hay diferencias entre grupos		No muy útil por sí solo. Puede ayudar a distinguir el Alzheimer de otras formas similares de demencia.
sAPPα	Producto de escisión de la APP	No hay diferencias entre grupos		No muy útil por sí solo.
sAPPβ	Producto de escisión de la APP	No hay diferencias entre grupos		No muy útil por sí solo.
t-Tau y p-Tau (Thr 181)	Marcadores relacionados con problemas de memoria	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Gran tamaño del efecto	↑ niveles de t-Tau en pacientes mediante el análisis de Alzheimer. Tamaño del efecto grande	p-Tau es característica del Alzheimer. Recomendado para el diagnóstico mediante el análisis de LCR
NFL	Marcador relacionado con la neurodegeneración	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Gran tamaño del efecto		Recomendado para el diagnóstico mediante el análisis de LCR
NSE	Marcador relacionado con la neurodegeneración	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto moderado	No hay diferencias	Podría ser utilizado en el diagnóstico mediante el análisis de LCR
VLP-1	Marcador relacionado con la neurodegeneración	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto moderado		Podría ser utilizado en el diagnóstico mediante el análisis de LCR
HFABP	Marcador relacionado con la neurodegeneración	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto moderado	No hay diferencias	Podría ser utilizado en el diagnóstico mediante el análisis de LCR
Ratio de albúmina	Marcador de la función de la barrera hematoencefálica	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Pequeño tamaño del efecto		No muy útil por sí solo.
YKL-40	Marcador de la activación de las células gliales	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto moderado	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Gran tamaño del efecto, aunque no significativo	Podría ser útil en el diagnóstico mediante el análisis de LCR
MCP-1	Marcador de la activación de las células gliales	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Pequeño tamaño del efecto	No hay diferencias	No muy útil por sí solo.
GFAP	Marcador de la activación de las células gliales	No hay diferencias entre grupos		No muy útil por sí solo.
Neurogranina	Marcador de la degeneración sináptica	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Gran tamaño del efecto		Específico del Alzheimer. Muy prometedor, pero pocos estudios publicados.
sTREM2	Marcador relacionado con la neurodegeneración	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto moderado		Podría ser útil en el diagnóstico mediante el análisis de LCR, pero hay pocos estudios publicados.
α-sinucleína	Proteína neuronal presináptica	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño de efecto mínimo.		No muy útil por sí solo. La mayoría de los estudios se ha realizado en pacientes con alta probabilidad de Alzheimer

↑:aumento ↓:reducción. Datos extraídos de Janelidze y col, 2016 [14], Majbour, 2017 [11], Olsson y col., 2016 [5], Suárez-Calvet, 2016 [13] y Wellington et al., 2016 [12].

Tabla 2: Biomarcadores en pacientes con DCL- Alzheimer y DCL estable.

Biomarcadores	LCR	Plasma	Utilidad diagnóstica
A β 42	↓ niveles en pacientes con Alzheimer. Menor tamaño del efecto que entre los pacientes con Alzheimer y sujetos sanos.	No hay diferencias.	Uso recomendado.
A β 40	No hay diferencias.	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto mínimo.	No muy útil.
A β 38	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño de efecto mínimo.		Solo dos estudios publicados. Pequeño tamaño del efecto.
sAPP α	No hay diferencias		No muy útil.
sAPP β	No hay diferencias		No muy útil.
t-Tau y p-Tau (Thr 181)	↑ niveles de t-Tau y p-Tau en los pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto grande.		Uso recomendado.
Neurogranina	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto moderado.		Nuevo y prometedor biomarcador relativo. Pocos estudios publicados.
YKL-40	↑ niveles en pacientes con Alzheimer. Tamaño del efecto moderado.		Nuevo y prometedor biomarcador relativo. Pocos estudios publicados.

↑:aumento ↓:reducción. Datos extraídos de Janelidze y col., 2016 [14] y Olsson y col, 2016 [5]. DCL, deterioro cognitivo leve.

excepción de algunos biomarcadores sanguíneos como el A β plasmático [18] y el tau plasmático [19], aún existen pocos estudios sobre la relación entre las proteínas en el LCR y sus análogos sanguíneos en la misma cohorte. Así, la precisión con la que los cambios moleculares periféricos reflejan las dinámicas del SNC aún no se ha determinado a gran escala [20].

Niveles de A β

Aunque en numerosos estudios se ha observado una buena concordancia con la determinación del número de placas en PET amiloide, así como una reducción significativa de A β 42 en el LCR de pacientes con Alzheimer, no se han obtenido resultados coherentes con respecto al uso de A β 42 plasmático como biomarcador. En esta línea, diferentes estudios revelan que los niveles plasmáticos de A β 42 y A β 40 pueden estar elevados, reducidos o inalterados al comparar a pacientes con Alzheimer con controles sanos [21, 22]. Así mismo, aunque en estudios longitudinales previos se ha mostrado que los niveles aumentados de A β 42 en plasma son un factor de riesgo de desarrollar Alzheimer [23], en otros se ha asociado una proporción baja de A β 42/A β 40 con un mayor riesgo inminente de desarrollar deterioro cognitivo leve y Alzheimer [24]. De este modo, existe cierto consenso en que este factor no tiene suficiente sensibilidad ni especificidad para el diagnóstico temprano [5].

Además, no parece existir correlación entre el LCR y los niveles plasmáticos de A β [25], lo que sustenta la hipótesis de que los niveles plasmáticos de A β se corresponden con la producción de A β en la sangre periférica desde otros tejidos, más que con la patología cerebral de la EA. Así mismo, los niveles de A β fluctúan con el tiempo y varían de un individuo a otro [15]. Al unirse a otras proteínas y quedar atrapada [26], la expresión de A β en plasma puede verse influida por el efecto de los fármacos [27] y, lo que es más importante, las plaquetas contienen altos niveles de A β , lo que afecta a los niveles plasmáticos de A β [28].

Además, esta falta de relación podría ser el resultado de las limitaciones metodológicas de los métodos ELISA u otros inmunoensayos frecuentemente utilizados [29]. Algunos estudios han revelado que, debido a su hidrofobia, los péptidos de A β interactúan con numerosas proteínas de la matriz de plasma, como la albúmina, la macroglobulina- β 2 o las lipoproteínas, entre otras [26]. Esto podría enmascarar al epítoto, impidiendo el reconocimiento de hasta el 50% de estos péptidos amiloides en los inmunoensayos [30]. Por lo tanto, este efecto de la matriz podría afectar a la fiabilidad de las determinaciones del péptido A β en un sujeto. En este contexto, el equipo de Zetterberg desarrolló en 2011 un nuevo método basado en la técnica de Simoa, en la que se emplean matrices capaces de detectar moléculas individuales, para determinar el A β 42 plasmático [31]. Esta técnica, basada en la inmunocaptura del biomarcador proteico en perlas magnéticas, seguido por la introducción de anticuerpos de captura marcados con enzimas, permite cuantificar con exactitud los niveles de A β 42 con una alta

sensibilidad, reduciendo las interferencias de la matriz. El estudio sueco de cohortes BioFINDER probó esta técnica y reveló una proporción $A\beta_{42}$ plasmático/40 inferior tanto en sujetos con DCL como con Alzheimer, frente a los sujetos control [32]. Además, los mismos autores desarrollaron un método de monitorización de reacción seleccionada mediante espectrometría de masas por inmunoprecipitación para la cuantificación de $A\beta_{42}$ y $A\beta_{40}$ plasmático. En un pequeño estudio clínico piloto en el que se empleó esta misma técnica, solo los sujetos con Alzheimer mostraron tendencia a presentar niveles inferiores de $A\beta_{42}$ plasmático, así como una menor proporción de $A\beta_{42}/40$ [33]. Cabe mencionar que, empleando el mismo método de IP-MS, los casos con PET amiloide positiva mostraron concentraciones significativamente inferiores de $A\beta_{42}$ así como una proporción de $A\beta_{42}/40$ significativamente menor, frente a los casos con PET negativa [34].

Otros estudios basados en la espectrometría de masas sugieren que la proporción de un fragmento de APP concreto (APP669-711) con respecto a $A\beta_{42}$ o $A\beta_{40}/A\beta_{42}$ en plasma identifica a los individuos $A\beta$ -positivos con una alta sensibilidad y especificidad [35]. Concretamente, la proporciones de APP669-711/ $A\beta_{42}$ y $A\beta_{40}/A\beta_{42}$ fueron mayores en los individuos $A\beta$ -positivos que en los $A\beta$ -negativos [35]. Estos prometedores resultados abren la puerta a nuevos estudios con cohortes clínicas más amplias destinados a evaluar el $A\beta$ plasmático como herramienta de detección de la amiloidosis cerebral y la EA.

Proteína tau

Teniendo en cuenta todos los biomarcadores séricos y plasmáticos, el t-Tau es el único que discrimina a los pacientes con EA de los controles, tal como se ha demostrado en la mayoría de los estudios publicados [5], mostrando un menor incremento del tau plasmático en los pacientes con EA aunque con un solapamiento excesivo con los controles, lo que impide que sea una herramienta diagnóstica [19]. Curiosamente, los datos longitudinales han mostrado correlaciones significativas entre los niveles plasmáticos de tau y un posterior deterioro cognitivo, así como mayor atrofia determinada mediante RM, e hipermetabolismo, determinado mediante FDG-PET durante el seguimiento [19]. Además, se ha descubierto que la proteína tau está presente en el LCR en forma de fragmentos truncados [36], por lo que es posible que el desarrollo de técnicas analíticas basadas en anticuerpos específicos de estos fragmentos de tau mejore su rendimiento como biomarcador. Por otro lado, la determinación de t-Tau o p-Tau en preparaciones de exosomas enriquecidas con neuronas

podría mejorar el rendimiento de tau como biomarcador en sangre [37], aunque son necesarios más estudios para validar este hallazgo.

Proteína NFL

Actualmente, la proteína NFL es el biomarcador en sangre más replicado en la EA. El primer método Simoa para la cuantificación de la proteína axonal NFL en muestras de sangre se publicó en 2016 [38]. Así, numerosos estudios han mostrado mayores concentraciones de NFL en pacientes con EA comparados con sujetos sanos de la misma edad [39], mientras que otros estudios sugieren que se podría utilizar la cuantificación de NFL en sangre como biomarcador de neurodegeneración en fases preclínicas de EA.

Aunque el cambio en el grupo de DCL fue menos pronunciado, estos pacientes fueron los que presentaron mayores concentraciones de NFL plasmático, con estudios PET amiloide positivos, lo que predijo un deterioro cognitivo más rápido, mayor índice de atrofia cerebral en el futuro (determinada mediante RM) e hipermetabolismo, determinado mediante FDG-PET [39]. Además, en los estudios sobre EA hereditario, NFL parece estar alterado alrededor de una década antes del inicio de los síntomas [40], existiendo una correlación entre los niveles de NFL y el año estimado de inicio de los síntomas, el deterioro cognitivo y la fase de la enfermedad determinada mediante RM [41].

No obstante, es importante destacar que el NFL no es una característica específica de la EA. Esta proteína está elevada en muchas otras patologías neurodegenerativas, como la demencia frontotemporal, la parálisis supranuclear progresiva, el síndrome corticobasal, las afecciones inflamatorias o la lesión cerebral traumática aguda [42]. Por tanto, aunque NFL carece de especificidad diagnóstica, con la determinación semiautomática de NFL en sangre se pueden tomar múltiples muestras de sangre para realizar un seguimiento de la evolución de la enfermedad y monitorizar la respuesta al tratamiento. La NFL plasmática también se podría emplear en el futuro en un test de detección simple, no invasivo y barato, para la evaluación clínica inicial de los pacientes con problemas cognitivos, principalmente para descartar la enfermedad neurodegenerativa.

Biomarcadores de imagen: PET-PiB, PET-FDG, IRM

Las tecnologías de imagen nos han permitido comprender mejor las complejas interrelaciones entre los mecanismos

patofisiológicos de la EA. Las dos principales proteínas implicadas en el proceso patológico, A β y tau, se pueden visualizar con técnicas como la PET. Además, el impacto de la neurodegeneración a nivel local se puede caracterizar minuciosamente. Así, los defectos en el metabolismo de la glucosa cerebral, la atrofia en regiones cerebrales y las alteraciones de la red cerebral se pueden evaluar mediante PET, resonancia magnética (IRM) estructural y MRI funcional, respectivamente. De este modo, un estudio detallado de las imágenes de la dinámica espaciotemporal de la patofisiología de la EA ofrecería más información sobre la biología y la evolución de la enfermedad en pacientes concretos.

PET amiloide

Los radiofármacos como PIB o 18F-florbetapir poseen una elevada especificidad y sensibilidad para la unión a placas amiloides. Así, el PET con amiloides permite visualizar las formas agregadas de A β (aunque es incapaz de detectar las formas solubles oligoméricas más patogénicas). Existe un amplio consenso sobre el notable incremento en la acumulación de A β en el cerebro afectado por la EA. El mapeo de A β cerebral ha revelado que algunas áreas amplias del corteza de asociación medial y lateral tienen mayor predisposición a acumular A β , incluso en los individuos sin demencia [43]. Cabe destacar que en la primera etapa de desarrollo de la EA, parece producirse una acumulación de A β en la corteza parietal medial. En los pacientes con enfermedad de Alzheimer autosómica dominante (DIAD), parece que la acumulación de A β se produce en el cuerpo estriado y el lóbulo temporal medial hasta 20 años antes de la aparición de los primeros síntomas [44]. En el caso de la EA en el envejecimiento, la acumulación de A β comienza en la corteza parietal medial y frontal [43]. La acumulación de A β se produce en la corteza de asociación, aunque no está correlacionada a los síntomas [45]. El PET amiloide es la única técnica de neuroimagen para la que se están publicando valores de referencia más o menos sólidos: un estudio muy exhaustivo en el que se comparan diversos métodos para establecer valores de referencia señala un valor de amiloide de 19 en PET en la escala centiloide como un buen valor límite para la EA [46].

PET-tau

Dada la relativa novedad de los ligandos de PET-tau, no existen muchos estudios sobre la concentración de tau. No obstante, tras la primera generación de trazadores de tau

(p.ej. 18F-flortaucipir), cuya mayor limitación era su unión con otras dianas, se desarrolló una segunda generación (18F-RO-948) de trazadores, con los que se están realizando fructíferos estudios sobre la dinámica espaciotemporal de la acumulación de tau. Aunque la cronología y localización física de la patología de tau son inciertas, esta podría desarrollarse inicialmente en el lóbulo temporal medial. Así, en pacientes con Alzheimer, se han identificado mayores niveles de retención de trazadores de tau en diferentes regiones cerebrales, entre las que se encuentran el lóbulo temporal medial y la región temporal lateral inferior, el surco parietal lateral y el giro cingulado posterior [47, 48]. El uso de trazadores de tau de segunda generación ha permitido confirmar que los pacientes con Alzheimer muestran una señal de trazadores más intensa en las áreas temporales mediales, en el giro cingulado posterior, los lóbulos parietal lateral y occipital, y la corteza prefrontal [49]. Sin embargo, apenas se han realizado estudios experimentales o de validación clínica de los trazadores de tau [50], y aún se desconoce la cantidad de tau hiperfosforilada que hay presentes en el cerebro, que se encuentra por debajo de los límites de detección. Por diferentes razones, aún no se ha establecido un valor de referencia fiable para el diagnóstico de la EA con PET tau [46].

PET FDG

El metabolismo de la glucosa en el cerebro se puede mapear con un PET empleando el análogo de la glucosa FDG. De este modo, la FDG permite caracterizar la actividad metabólica, cuyos déficits se suelen interpretar como pérdida de la función neuronal y/o sináptica, aunque también pueden reflejar alteraciones en la función de las células gliales, que han adquirido una importancia creciente en los estudios sobre la neuropatología de la EA. La localización espacial del hipometabolismo difiere entre los diversos síndromes que componen la EA lo que brinda la oportunidad de identificar el fenotipo: comienza en el lóbulo temporal medial años antes de la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad, para extenderse a la corteza parietal lateral en el DIAD [51]. Está fuertemente correlacionada con la acumulación de tau en la EA de inicio temprano [52] y predomina en el lóbulo temporal medial y en el lóbulo parietal medial en la EA de inicio tardío [53]. Por el contrario, el hipometabolismo no sigue un patrón específico en el envejecimiento normal, a pesar de mostrar predominancia frontal. Finalmente, con el avance de la enfermedad, se produce un patrón topográfico de hipometabolismo del cerebro muy característico

en la corteza temporal parietal y el giro cingulado posterior [54]. Sin embargo, aún no se ha dilucidado el grado y localización del hipometabolismo necesarios para establecer un valor límite fiable en los pacientes con Alzheimer.

IRM estructural

Dependiendo de la señal originada en el interior del cuerpo, la IRM estructural permite determinar de forma precisa y no invasiva el volumen de los tejidos del cerebro, lo que permite localizar características patofisiológicas como la atrofia cerebral regional, la pérdida de materia gris o el daño en la sustancia blanca. Entre los principales hallazgos realizados con las técnicas de medición volumétrica del cerebro, se ha identificado la atrofia de la materia gris en las estructuras del lóbulo temporal medial en sujetos con Alzheimer, aunque también en aquellos con DCL. Al parecer, el biomarcador más fiable de la progresión de DCL a Alzheimer es la atrofia del lóbulo temporal medial izquierdo [55]. Otros parámetros que predicen la progresión de DCL a Alzheimer son la reducción del volumen de materia gris en el hipocampo y el parahipocampo y la presencia más difusa de pérdida cortical en la EA [56]. Además, las técnicas de difusión, que aprovechan que la difusión microscópica del agua es anisotrópica en el cerebro humano, lo que permite identificar tractos de sustancia blanca, han detectado el deterioro de algunos tractos mayores en la EA. Durante las etapas transicionales del envejecimiento normal al Alzheimer se produce una interrupción del giro cingulado (que conecta las estructuras del lóbulo temporal medial con el resto del cerebro). También se han encontrado lesiones en el uncinate fasciculus, implicado en los procesos emocionales y de la memoria [57]. No obstante, aún se desconoce el número de células cerebrales o de tractos de sustancia blanca que se deben perder para que se pueda detectar o definir la atrofia en la EA, y aún no se dispone de suficientes datos para poder establecer un valor límite fiable de adelgazamiento cortical [46].

IRM funcional

La técnica de medir las señales de IRM que reflejan la perfusión de los tejidos, es decir la IRM funcional (fMRI), se basa en el fundamento de que las diferentes regiones cerebrales que muestran fluctuaciones sincrónicas de las señales pertenecen a la misma red cerebral. Una interrupción de dichas señales se interpreta como una alteración en la conectividad de la red, lo que permite analizar los cambios en la conectividad cerebral. Existen evidencias

de que una pérdida en la conectividad funcional que afecte a regiones críticas de la red neuronal por defecto (RND), como la corteza cingulada posterior, preceden a la pérdida de materia gris en la EA [58]. Dado que otros tipos de demencia implican alteraciones de diferentes redes [59], la interrupción de las señales de conectividad de la RND, determinada mediante fMRI, podría ser un biomarcador indicativo de la EA. Por último, pero no menos importante, la desconexión en el hipocampo y en la corteza prefrontal medial también parecen ser características de la EA [60]. Como algunas de las otras técnicas de imagen descritas, la falta de evidencia ha impedido poder establecer un valor límite para las alteraciones de señales en fMRI que permita diagnosticar o identificar a los pacientes con Alzheimer.

Perspectivas futuras: nuevos biomarcadores y fluidos

Se están realizando diversos estudios para desarrollar técnicas no invasivas para el análisis de muestras biológicas de fácil acceso como la saliva [61]. Hasta la fecha, los resultados obtenidos no han sido concluyentes, o incluso son contradictorios a la hora de medir A β 42 [62–64] o p-Tau [64, 65] en este fluido [66]. Cabe señalar que la variación circadiana podría influir considerablemente en la composición de la saliva. Además, la salud bucal o la medicación podrían afectar a la detección de biomarcadores. De este modo, es necesario establecer un protocolo de trabajo estándar para obtener resultados reproducibles [67].

En los últimos años, el miRNA en sangre ha surgido como un prometedor biomarcador de la EA. Los miRNA son moléculas cortas no codificantes que funcionan como factores epigenéticos que regulan la expresión génica de forma post transcripcional uniéndose a secuencias complementarias en los miRNA diana. El miRNA suele estar encapsulado en los exosomas, microvesículas o cuerpos apoptóticos, estructuras que pueden transportar otras sustancias. Los exosomas que contienen miRNA pueden atravesar la barrera hematoencefálica y mediar la comunicación entre la sangre, el cerebro y el LCR [68]. El miRNA desempeña una función fisiológica, pero también patológica, ya que algunos de ellos están alterados en la EA. Los exosomas más ampliamente estudiados en la EA tienen puntos de unión en miRNA que codifican proteínas con un papel fundamental en la enfermedad: APP, tau, BACE, PSEN2, MAPK ...etc. En condiciones fisiológicas, los exosomas pueden transportar proteínas acumuladas (A β y tau) a los lisosomas o al plasma extracelular para su degradación. Sin embargo, en condiciones patológicas, esta eliminación se ve

interrumpida. Sin embargo, aunque no se hayan obtenido resultados concluyentes, no podemos dejar de mencionar una revisión reciente que revela que has-miR-146a, has-miR-125b y hsa-miR135a podrían estar expresadas diferencialmente en la sangre y en el LCR de pacientes con Alzheimer, frente a los sujetos sanos, con otras enfermedades neurológicas o incluso con DCL [68].

Conclusiones

Aunque los criterios tradicionalmente empleados para el diagnóstico de la EA se basan en evidencias clínicas, es necesario establecer otros criterios con el fin de poder identificar la enfermedad en sus etapas más tempranas. Actualmente, está ampliamente aceptado que la EA comienza décadas antes de la aparición de los primeros síntomas clínicos. La posibilidad de detectar alteraciones biológicas con anterioridad a la aparición de los síntomas clínicos permitiría establecer un diagnóstico temprano o incluso modificar las opciones de tratamiento.

Agradecimientos: M.H. Janeiro, C. García-Ardanaz, N. Sola-Sevilla and M. Cortés recibieron una beca del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (FPU).

Financiación de la investigación: Este proyecto fue financiado mediante las ayudas SAF2017-87619-P y SAF2017-87595-R del Gobierno de España (Subprograma Estatal de Generación del Conocimiento, Micinn).

Contribución de los autores: Todos los autores han aceptado la responsabilidad del contenido completo del manuscrito ya prueban su envío.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dementia* 2018;14: 535–62.
- Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Feldman HH, Frisoni GB, et al. A/T/N: an unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology* 2016;87:539–47.
- Robinson R, Amin B, Guest P. Multiplexing biomarker methods, proteomics and considerations for Alzheimer's disease. In: Guest P, editor. *Proteomic methods in neuropsychiatric research*; 2017:24–37 pp, vol 974.
- Ortega RL, Dakterzada F, Arias A, Blasco E, Naudí A, García FP, et al. Usefulness of LCR biomarkers in predicting the progression of amnesic and nonamnesic mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *Curr Aging Sci* 2019;12:35–42.
- Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. LCR and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2016;15:673–84.
- Struyfs H, Van Broeck B, Timmers M, Fransen E, Sleegers K, Van Broeckhoven C, et al. Diagnostic accuracy of cerebrospinal fluid amyloid-beta isoforms for early and differential dementia diagnosis. *J Alzheim Dis* 2015;45:813–22.
- Magdalinou NK, Paterson RW, Schott JM, Fox NC, Mummery C, Blennow K, et al. A panel of nine cerebrospinal fluid biomarkers may identify patients with atypical parkinsonian syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2015;86:1240–7.
- Friede RL, Samorajski T. Axon caliber related to neurofilaments and microtubules in sciatic nerve fibers of rats and mice. *Anat Rec* 1970;167:379–87.
- Bjerke M, Zetterberg H, Edman Å, Blennow K, Wallin A, Andreasson U. Cerebrospinal fluid matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in combination with subcortical and cortical biomarkers in vascular dementia and Alzheimer's disease. *J Alzheim Dis* 2011;27:665–76.
- Hall S, Öhrfelt A, Constantinescu R, Andreasson U, Surova Y, Bostrom F, et al. Accuracy of a panel of 5 cerebrospinal fluid biomarkers in the differential diagnosis of patients with dementia and/or parkinsonian disorders. *Arch Neurol* 2012;69: 1445–52.
- Majbour NK, Chiasserini D, Vaikath NN, Eusebi P, Tokuda T, van de Berg W, et al. Increased levels of LCR total but not oligomeric or phosphorylated forms of alpha-synuclein in patients diagnosed with probable Alzheimer's disease. *Sci Rep* 2017;7:40263.
- Wellington H, Paterson RW, Portelius E, Törnqvist U, Magdalinou N, Fox NC, et al. Increased LCR neurogranin concentration is specific to Alzheimer disease. *Neurology* 2016;86:829–35.
- Suárez-Calvet M, Kleinberger G, Araque Caballero MÁ, Brendel M, Rominger A, Alcolea D, et al. sTREM2 cerebrospinal fluid levels are a potential biomarker for microglia activity in early-stage Alzheimer's disease and associate with neuronal injury markers. *EMBO Mol Med* 2016;8:466–76.
- Janelidze S, Hertz J, Zetterberg H, Landqvist Waldö M, Santillo A, Blennow K, et al. Cerebrospinal fluid neurogranin and YKL-40 as biomarkers of Alzheimer's disease. *Ann Clin Transl Neurol* 2016; 3:12–20.
- Humpel C. Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. *Trends Biotechnol* 2011;29:26–32.
- Blennow K, Zetterberg H. Understanding biomarkers of neurodegeneration: ultrasensitive detection techniques pave the way for mechanistic understanding. *Nat Med* 2015;21:217–9.
- O'Bryant SE, Gupta V, Henriksen K, Edwards M, Jeromin A, Lista S, et al. Guidelines for the standardization of preanalytic variables for blood-based biomarker studies in Alzheimer's disease research. *Alzheimer's Dementia* 2015;11:549–60.
- Palmqvist S, Janelidze S, Stomrud E, Zetterberg H, Karl J, Zink K, et al. Performance of fully automated plasma assays as screening tests for Alzheimer disease-related β -amyloid. *JAMA Neurol* 2019; 76:1060–9.
- Mattsson N, Zetterberg H, Janelidze S, Insel PS, Andreasson U, Stomrud E, et al. Plasma tau in Alzheimer disease. *Neurology* 2016;87:1827–35.
- Whelan CD, Mattsson N, Nagle MW, Vijayaraghavan S, Hyde C, Janelidze S, et al. Multiplex proteomics identifies novel LCR and

- plasma biomarkers of early Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun* 2019;7:169.
21. Lövheim H, Elgh F, Johansson A, Zetterberg H, Blennow K, Hallmans G, et al. Plasma concentrations of free amyloid β cannot predict the development of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dementia* 2017;13:778–82.
 22. Nabers A, Perna L, Lange J, Mons U, Schartner J, Guldénhaupt J, et al. Amyloid blood biomarker detects Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med* 2018;10:e8763.
 23. Mayeux R, Honig LS, Tang M, Manly J, Stern Y, Schupf N, et al. Plasma A β [40] and A β [42] and Alzheimer's disease: relation to age, mortality, and risk. *Neurology* 2003;61:1185–90.
 24. Graff-Radford NR, Crook JE, Lucas J, Boeve BF, Knopman DS, Ivnik RJ, et al. Association of low plasma A β 42/A β 40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2007;64:354–62.
 25. Hansson O, Zetterberg H, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Andreasson U, Londo E, et al. Evaluation of plasma A β 40 and A β 42 as predictors of conversion to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2010;31:357–67.
 26. Kuo YM, Emmerling MR, Lampert HC, Hempelman SR, Kokjohn TA, Woods AS, et al. High levels of circulating A β 42 are sequestered by plasma proteins in Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257:787–91.
 27. Blasko I, Kemmler G, Krampla W, Jungwirth S, Wichart I, Jellinger K, et al. Plasma amyloid β protein 42 in non-demented persons aged 75 years: effects of concomitant medication and medial temporal lobe atrophy. *Neurobiol Aging* 2005;26:1135–43.
 28. Borroni B, Agosti C, Marcello E, Di Luca M, Padovani A. Blood cell markers in Alzheimer disease: amyloid precursor protein form proportion in platelets. *Exp Gerontol* 2010;45:53–6.
 29. Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med* 2018;284:643–63.
 30. Pérez-Grijalva V, Fandos N, Canudas J, Insua D, Casabona D, Lacosta AM, et al. Validation of immunoassay-based tools for the comprehensive quantification of A β 40 and A β 42 peptides in plasma. *J Alzheim Dis* 2016;54:751–62.
 31. Zetterberg H, Mörtberg E, Song L, Chang L, Provuncher GK, Patel PP, et al. Hypoxia due to cardiac arrest induces a time-dependent increase in serum amyloid β levels in humans. *PLoS One* 2011;6:e28263.
 32. Janelidze S, Stomrud E, Palmqvist S, Zetterberg H, Van Westen D, Jeromin A, et al. Plasma β -amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci Rep* 2016;6:26801.
 33. Pannee J, Törnqvist U, Westerlund A, Ingelsson M, Lannfelt L, Brinkmalm G, et al. The amyloid- β degradation pattern in plasma-A possible tool for clinical trials in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 2014;573:7–12.
 34. Ovod V, Ramsey KN, Mawuenyega KG, Bollinger JG, Hicks T, Schneider T, et al. Amyloid β concentrations and stable isotope labeling kinetics of human plasma specific to central nervous system amyloidosis. *Alzheimer's Dementia* 2017;13:841–9.
 35. Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, Kato T, Doecke J, Doré V, et al. High performance plasma amyloid- β biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature* 2018;554:249–54.
 36. Meredith JE, Sankaranarayanan S, Guss V, Lanzetti AJ, Berisha F, Neely RJ, et al. Characterization of novel LCR Tau and ptau biomarkers for Alzheimer's disease. *PLoS One* 2013;8:e76523.
 37. Fiandaca MS, Kapogiannis D, Mapstone M, Boxer A, Eitan E, Schwartz JB, et al. Identification of preclinical Alzheimer's disease by a profile of pathogenic proteins in neurally derived blood exosomes: a case-control study. *Alzheimer's Dementia* 2015;11:600–7.
 38. Gisslén M, Price RW, Andreasson U, Norgren N, Nilsson S, Hagberg L, et al. Plasma concentration of the neurofilament light protein (NFL) is a biomarker of SNC injury in HIV infection: a cross-sectional study. *EBioMedicine* 2016;3:135–40.
 39. Mattsson N, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K, Weiner MW, Aisen P, et al. Association of plasma neurofilament light with neurodegeneration in patients with Alzheimer disease. *JAMA Neurol* 2017;74:557–66.
 40. Preische O, Schultz SA, Apel A, Kuhle J, Kaeser SA, Barro C, et al. Serum neurofilament dynamics predicts neurodegeneration and clinical progression in presymptomatic Alzheimer's disease. *Nat Med* 2019;25:277–83.
 41. Weston PSJ, Poole T, Ryan NS, Nair A, Liang Y, Macpherson K, et al. Serum neurofilament light in familial Alzheimer disease: a marker of early neurodegeneration. *Neurology* 2017;89:2167–75.
 42. Hansson O, Janelidze S, Hall S, Magdalino N, Lees AJ, Andreasson U, et al. Blood-based NFL: a biomarker for differential diagnosis of parkinsonian disorder. *Neurology* 2017;88:930–7.
 43. Palmqvist S, Schöll M, Strandberg O, Mattsson N, Stomrud E, Zetterberg H, et al. Earliest accumulation of β -amyloid occurs within the default-mode network and concurrently affects brain connectivity. *Nat Commun* 2017;8:1214.
 44. Fleisher AS, Chen K, Quiroz YT, Jakimovich LJ, Gomez MG, Langois CM, et al. Florbetapir PET analysis of amyloid- β deposition in the presenilin 1 E280A autosomal dominant Alzheimer's disease kindred: a cross-sectional study. *Lancet Neurol* 2012;11:1057–65.
 45. Furst AJ, Rabinovici GD, Rostomian AH, Steed T, Alkalay A, Racine C, et al. Cognition, glucose metabolism and amyloid burden in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2012;33:215–25.
 46. Jack CR, Wiste HJ, Weigand SD, Therneau TM, Lowe VJ, Knopman DS, et al. Defining imaging biomarker cut points for brain aging and Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dementia* 2017;13:205–16.
 47. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991;82:239–59.
 48. Braak H, Thal DR, Ghebremedhin E, Del Tredici K. Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *J Neuropathol Exp Neurol* 2011;70:960–9.
 49. Wong DF, Comley RA, Kuwabara H, Rosenberg PB, Resnick MS, Ostrowitzki S, et al. Characterization of 3 novel Tau radiopharmaceuticals, 11C-RO-963, 11C-RO-643, and 18F-RO-948, in healthy controls and in Alzheimer subjects. *J Nucl Med* 2018;59:1869–76.
 50. Klunk WE. Molecular imaging: what is right and what is an illusion? *Alzheimer's Dementia: Diagn Assess Dis Monit* 2018;10:217–20.
 51. Gordon BA, Blazey TM, Su Y, Hari-Raj A, Dincer A, Flores S, et al. Spatial patterns of neuroimaging biomarker change in individuals from families with autosomal dominant Alzheimer's disease: a longitudinal study. *Lancet Neurol* 2018;17:241–50.
 52. Ossenkoppele R, Schonhaut DR, Schöll M, Lockhart SN, Ayakta N, Baker SL, et al. Tau PET patterns mirror clinical and neuroanatomical variability in Alzheimer's disease. *Brain* 2016;139:1551–67.

53. Silverman DH, Small GW, Chang CY, Lu CS, Kung De Aburto MA, Chen W, et al. Positron emission tomography in evaluation of dementia: regional brain metabolism and long-term outcome. *J Am Med Assoc* 2001;286:2120–7.
54. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol* 2014;13: 614–29. Lancet Publishing Group.
55. Ferreira LK, Diniz BS, Forlenza OV, Busatto GF, Zanetti MV. Neurostructural predictors of Alzheimer's disease: a meta-analysis of VBM studies. *Neurobiol Aging* 2011;32:1733–41.
56. Karas GB, Scheltens P, Rombouts SAR, Visser PJ, Van Schijndel RA, Fox NC, et al. Global and local gray matter loss in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroimage* 2004;23:708–16.
57. Taoka T, Morikawa M, Akashi T, Miyasaka T, Nakagawa H, Kiuchi K, et al. Fractional anisotropy - threshold dependence in tract-based diffusion tensor analysis: evaluation of the uncinate fasciculus in Alzheimer disease. *Am J Neuroradiol* 2009;30:1700–3.
58. Gili T, Cercignani M, Serra L, Perri R, Giove F, Maraviglia B, et al. Regional brain atrophy and functional disconnection across Alzheimer's disease evolution. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2011;82:58–66.
59. Zhou J, Greicius MD, Gennatas ED, Growdon ME, Jang JY, Rabinovici GD, et al. Divergent network connectivity changes in behavioural variant frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Brain* 2010;133:1352–67.
60. Allen G, Barnard H, McColl R, Hester AL, Fields JA, Weiner MF, et al. Reduced hippocampal functional connectivity in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2007;64:1482–7.
61. Sapkota S, Huan T, Tran T, Zheng J, Camicioli R, Li L, et al. Alzheimer's biomarkers from multiple modalities selectively discriminate clinical status: relative importance of salivary metabolomics panels, genetic, lifestyle, cognitive, functional health and demographic risk markers. *Front Aging Neurosci* 2018;10:296.
62. Sabbagh MN, Shi J, Lee M, Arnold L, Al-Hasan Y, Heim J, et al. Salivary beta amyloid protein levels are detectable and differentiate patients with Alzheimer's disease dementia from normal controls: preliminary findings. *BMC Neurol* 2018; 18:155.
63. Bermejo-Pareja F, Antequera D, Vargas T, Molina JA, Carro E. Saliva levels of Aβ₁₋₄₂ as potential biomarker of Alzheimer's disease: a pilot study. *BMC Neurol* 2010;10:108.
64. Shi M, Sui YT, Peskind ER, Li G, Hwang H, Devic I, et al. Salivary tau species are potential biomarkers of Alzheimer's disease. *J Alzheim Dis* 2011;27:299–305.
65. Ship JA, DeCarli C, Friedland RP, Baum BJ. Diminished submandibular salivary flow in dementia of the Alzheimer type. *J Gerontol* 1990;45:M61–6.
66. Spielmann N, Saliva WD. Diagnostics and therapeutic perspectives. *Oral Dis* 2011;17:345–54.
67. Reale M, Gonzales-Portillo I, Borlongan C V. Saliva, an easily accessible fluid as diagnostic tool and potent stem cell source for Alzheimer's disease: present and future applications. *Brain Res* 2020;1727:146535.
68. Nagaraj S, Zoltowska KM, Laskowska-Kaszub K, Wojda U. microRNA diagnostic panel for Alzheimer's disease and epigenetic trade-off between neurodegeneration and cancer. *Ageing Res Rev* 2019;49:125–43.

Nota del artículo: El artículo original puede encontrarse aquí: <https://doi.org/10.1515/almed-2020-0090>.