

# EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO DE LA DETERMINACIÓN DE LAS PROTEÍNAS ABETA-42, TAU TOTAL Y TAU FOSFORILADA EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO COMO BIOMARCADORES DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Informe de evaluación de tecnologías sanitarias elaborado por el Servicio de Evaluación de la Dirección del Servicio Canario de la Salud, a petición del Servicio de Neurología y Laboratorio Central del Hospital Universitario de Canarias.

Fecha de informe: 25 de enero de 2012

Persona de contacto y responsable del informe: Pedro Serrano Aguilar (Jefe del Servicio de Evaluación del SCS).

Autores del informe (excluye recomendaciones): Lilisbeth Perestelo Pérez (Técnico del Servicio de Evaluación del SCS e Investigadora de CIBERESP), Leticia Cuellar (Documentalista del Servicio de Evaluación del SCS), Mercedes Muros (Jefa de Sección de Laboratorio-HUNSC).

Revisores Externos: Fernando Montón (Jefe del Servicio de Neurología del HUNSC), Norberto Rodríguez (Neurólogo del HUNSC), María del Carmen Pérez Vieitez (Neuróloga del HUGCDN), Alicia Nadal (Product Manager de Innogenetics Diagnóstica Iberia, S.L.)

## Resumen:

**Tecnología evaluada:** Determinación de las proteínas Abeta-42 (AB-42), TAU total (T-tau) y TAU fosforilada (P-tau) en líquido cefalorraquídeo (LCR) como biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer (EA).

La obtención de las muestras se logra mediante la realización de una punción lumbar, precisando solamente una pequeña cantidad de LCR. Una vez obtenidas las muestras, la determinación de los mencionados biomarcadores se realiza de forma semiautomatizada utilizando unos kits comercializados para este fin.

**Indicación:** La indicación fundamental de la determinación de estas proteínas en LCR es el diagnóstico diferencial de EA con otros tipos de demencia, con el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento normal y otras enfermedades que pueden simular procesos degenerativos como las enfermedades psiquiátricas.

**Rendimiento Diagnóstico:** La sensibilidad y especificidad diagnóstica están entre el 67-87% para cada biomarcador por separado. Con puntuaciones más altas cuando se combinan los resultados de los tres biomarcadores.

**Coste:** La eficiencia máxima de un kit es de 40 pruebas de pacientes, para kits de 860 euros, con un tiempo de respuesta de un mes. La media por muestra de paciente para cada proteína sería de 21,5 euros (sin tomar en cuenta costes de

recursos humanos y costes indirectos). El coste hay que multiplicarlo por tres si se miden las tres proteínas y sumar los costes de transporte al nivel correspondiente (local, insular, regional). Dada la baja demanda de estas determinaciones, se podría obtener una mayor rentabilidad centralizando los análisis en un sólo laboratorio por provincia.

**Conclusiones:**

- El diagnóstico de demencia por EA descansa fundamentalmente sobre criterios clínicos.
- Los biomarcadores en LCR (A $\beta$ -42, T-tau y P-tau) son tecnologías diagnósticas altamente prometedoras que podrían favorecer el diagnóstico precoz de la EA, ayudar a la precisión del diagnóstico y que han probado su validez diagnóstica (sensibilidad y especificidad) para la demencia por EA. Sin embargo, su utilidad clínica (evaluación del estadio clínico, fase preclínica o progresión de la EA) aún está por determinar.
- Todavía no se dispone de un biomarcador de diagnóstico y progresión de la EA que se pueda aplicar fácilmente y de forma generalizada en el ámbito clínico. Los resultados favorables que se han encontrado con estos biomarcadores aún se ven limitados al entorno de la investigación.
- No se dispone de información sobre el impacto de esta tecnología sobre posibles cambios en la gestión clínica y los resultados de salud de los pacientes con deterioro cognitivo o demencia de Alzheimer.
- No se dispone de información sobre el coste-efectividad de esta técnica frente al estándar de diagnóstico clínico aceptado.

**Recomendaciones:**

- **Se recomienda** no financiar con fondos públicos esta tecnología para su uso en la práctica clínica, hasta disponer de información más robusta y de estudios de seguimiento a largo plazo sobre su utilidad diagnóstica, validez predictiva, utilidad clínica y coste-efectividad.
- Su hipotética financiación debería contemplar la centralización de su determinación, en un único laboratorio en cada isla capitalina, al objeto de reducir los costes y mantener los tiempos de respuesta.

## OBJETIVOS DEL INFORME

Informar sobre el estado actual del conocimiento científico sobre la efectividad (validez y utilidad) y coste-efectividad de la determinación de las proteínas Abeta-42 (A $\beta$ -42), TAU total (T-tau) y TAU fosforilada (P-tau) en líquido cefalorraquídeo como biomarcadores de la Enfermedad de Alzheimer.

## INTRODUCCIÓN

La relevancia sociosanitaria de la enfermedad de Alzheimer (EA) y la necesidad del desarrollo de tratamientos curativos o modificadores del curso de la enfermedad ha generado un incremento del interés por conocer y diagnosticar mejor los estadios iniciales de la enfermedad.

El diagnóstico de la EA es relativamente sencillo en las fases avanzadas, cuando ya son aparentes los trastornos de la memoria, el lenguaje, la conducta y las capacidades ejecutivas. En la práctica, la dificultad está en realizar el diagnóstico en las fases iniciales de la EA, teniendo en cuenta que las quejas subjetivas de memoria son muy frecuentes entre ancianos normales que no evolucionan a demencia.

Hasta la fecha, la EA solo podía ser diagnosticada cuando el síndrome demencia se hacía aparente, o, lo que es lo mismo, cuando el deterioro cognitivo alcanzaba la gravedad suficiente para interferir con la capacidad funcional del paciente, en el ámbito personal, social o profesional. Este umbral clínico, sin embargo, puede ser muy variable entre las personas, ya que depende, entre otros factores, del rendimiento cognitivo premórbido, del nivel de inteligencia, de la complejidad de las actividades diarias, e incluso del nivel de percepción del informador.

Desde un punto de vista operativo formal, el diagnóstico se ha realizado mediante la aplicación de criterios clínicos validados internacionalmente. Los criterios usados con más frecuencia han sido los del DSM-IV y los propuestos por el consorcio NINDS-ADRDA. Ambos se basan en el reconocimiento del síndrome de demencia y en las características clásicas de la demencia tipo Alzheimer y están más orientados a la exclusión de otras causas no degenerativas de demencia, que eran las únicas susceptibles de tratamiento en el momento histórico en el que fueron propuestos. Sin embargo, y a pesar de la amplia difusión de estos criterios clínicos, se ha demostrado que son poco específicos -en torno al 70%- y que muestran escasa sensibilidad en las fases iniciales de la enfermedad. Esta precisión diagnóstica es aun menor cuando se utilizan en entornos de atención primaria o, incluso, en consultas generales de neurología o psiquiatría, fuera del ámbito de las unidades especializadas en patología cognitiva y conductual.

El diagnóstico precoz de la EA podría ser beneficioso para determinar el tipo de tratamiento más efectivo y comenzar una terapia en la fase inicial de evolución de la enfermedad, lo que puede contribuir a preservar el funcionamiento neurocognitivo de la persona afectada, a pesar de que el proceso subyacente de la enfermedad no pueda detenerse [1]. Un estudio reciente del Reino Unido sugiere que un programa para el diagnóstico y tratamiento precoz de la EA podría generar beneficios tanto en término de resultados de salud para el paciente como en términos de costes sanitarios [2].

En este sentido, desde hace algunas décadas los estudios en neurociencias se esfuerzan en determinar posibles marcadores neuropsicológicos, sanguíneos,

radiológicos o en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Para que un biomarcador pueda considerarse como tal, debe cumplir los criterios del Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association [3]: 1) debe reflejar una característica del proceso patológico, 2) tiene que haber sido validado en casos con confirmación patológica, 3) tiene que poseer una sensibilidad y especificidad superior al 80%, 4) tiene que ser poco invasivo, económico, reproducible y sencillo, y 5) será especialmente útil si puede reflejar el efecto de un tratamiento potencialmente modificador de la enfermedad.

Aunque hasta el momento, no hay unanimidad para aceptar ninguno de ellos como marcador ideal [4], los más prometedores por el momento son la proteína tau y el péptido beta-amiloide (A $\beta$ -42) [5]. La proteína tau es liberada al espacio extracelular a partir de neuronas en proceso degenerativo y se detecta en LCR. El  $\beta$ -amiloide es el componente principal de las placas neuríticas. Se secreta al espacio extracelular a partir del procesamiento proteolítico de la proteína precursora de amiloide (APP). Este procesamiento genera péptidos de longitud variable, entre 37 a 43 aminoácidos (aa). La especie más abundante de  $\beta$ -amiloide es la de 40aa (A $\beta$ -40), aunque es la forma de 42aa la más importante, desde el punto de vista de la patogenia de la EA, porque parece que es la forma esencial para la agregación y el depósito del amiloide. Tanto el fragmento A $\beta$ -40, como el A $\beta$ -42 pueden medirse en LCR, aunque es este último el que tiene utilidad como marcador, porque se ha demostrado, de manera consistente que está reducido en el LCR de los pacientes con EA, en relación con los controles. Aunque este fenómeno puede resultar paradójico, se piensa que está causado por el depósito de A $\beta$ -42 en las placas neuríticas, lo que limitaría el paso desde el cerebro al LCR [6].

Al parecer, la sensibilidad diagnóstica de la determinación combinada de la proteína tau y el A $\beta$ -42 es muy alta, pero existen problemas en cuanto a su especificidad, ya que no son exclusivas de la EA y pueden alterarse en otras enfermedades neurodegenerativas, conocidas como tautopatías y amiloidopatías.

## DESCRIPCIÓN DE LA TECNOLOGÍA<sup>1</sup>

**Nombre comercial:** INNOTEST  $\beta$ -AMILOID (1-42); INNOTEST PHOSPHO-TAU (181P); INNOTEST h-TAU Ag.

**Técnica diagnóstica:** Detección de proteínas A $\beta$ -42, T-tau y P-tau en LCR para el diagnóstico diferencial de EA frente a otras enfermedades neurológicas como la demencia con cuerpos de Lewy, Parkinson sin demencia, atrofia multisistémica o parálisis supranuclear progresiva.

**Indicación:** Diagnóstico diferencial de las enfermedades neurológicas.

**Laboratorio:** Innogenetics Diagnóstica Iberia, S.L.

**Presentación:** Ensayos inmunoenzimáticos tipo ELISA. Existen diferentes modalidades de ensayos ELISA, en función del número de anticuerpos que se emplean y de la molécula que se detecta. Los más empleados en el diagnóstico de la EA son los ensayos tipo sándwich y los ensayos competitivos para valorar los niveles de  $\beta$ -amiloide y tau en muestras procedentes normalmente del LCR.

**Fecha de autorización en Europa:** 07/04/2010

<sup>1</sup> Se adjunta listado de clientes que usan de forma rutinaria los biomarcadores de INNOGENETICS en España, el resto de Europa y Estados Unidos (anexo 1 y 2).

La indicación fundamental de la determinación de estas proteínas en LCR es en el diagnóstico de la EA y su diagnóstico diferencial con otros tipos de demencia, el envejecimiento normal y otras enfermedades que pueden simular procesos degenerativos, como las enfermedades psiquiátricas.

En la práctica clínica su indicación principal es el diagnóstico de casos dudosos de EA, que no pueden ser diagnosticados adecuadamente con criterios clínicos. Suele llevarse a cabo fundamentalmente en los siguientes casos:

- Diagnóstico precoz de la EA: dado que pueden alterarse desde 10 o 15 años antes de aparecer los síntomas de demencia, permitirían hacer un diagnóstico en estadios muy incipientes, antes de la fase de demencia, con la consiguiente mejora de respuesta terapéutica.
- Diagnóstico diferencial entre la EA y el envejecimiento normal y los procesos psiquiátricos que pueden simular una demencia: dada la trascendencia sanitaria, social, económica e incluso legal que conlleva el diagnóstico de la EA, su diagnóstico certero y su diferenciación con otros cuadros es fundamental.
- Diagnóstico diferencial con otros tipos de demencia: La EA puede presentarse con diferentes formas clínicas que pueden confundirse clínicamente con otros tipos de demencia (formas de presentación atípicas de la EA). Dado que clínicamente pueden ser indistinguibles, su diferenciación es básica para ofrecerles el tratamiento más correcto.
- Podría ser también de utilidad en el diagnóstico de otros tipos de demencia como la demencia por cuerpos de Lewy y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

## MÉTODO

Se realizó una búsqueda bibliográfica orientada a estudios secundarios (revisiones sistemáticas y metanálisis) y de otra documentación relevante (estudios diagnósticos no incluidos en los metanálisis y revisiones, evaluaciones económicas, guías de práctica clínica, consenso de expertos), sin restricción de fechas ni idiomas, en diferentes bases de datos electrónicas y meta-buscadores (Medline, Embase, Cochrane Library, CRD) hasta octubre de 2011.

La búsqueda consistió en la combinación de los siguientes términos: (“alzheimer’s disease diagnosis” or “alzheimer’s disease”) and (“abeta-42” or “T-tau” or “P-tau” or “tau” or “phospho-tau” or “phosphorylated tau”).

Los resúmenes de las referencias y de los artículos seleccionados fueron revisados teniendo en cuenta los criterios de inclusión. La calidad de las revisiones y metanálisis se valoró mediante la escala de Oxman [7]. También fueron revisadas las listas de referencias bibliográficas de los artículos incluidos con el fin de localizar otras referencias relevantes. Se realizó una síntesis narrativa de los artículos incluidos.

Los criterios de inclusión de los artículos seleccionados fueron: a) metanálisis que evaluaran el rendimiento diagnóstico de las proteínas AB-42 y/o T-tau y/o P-tau en LCR como biomarcadores de la EA, b) revisiones sistemáticas que evaluaran el rendimiento diagnóstico de las proteínas AB-42 y/o T-tau y/o P-tau en LCR como biomarcadores de la EA (que incluyeran estudios que no estuviesen en los metanálisis seleccionados en nuestra revisión), c) estudios diagnósticos que evaluaran el

rendimiento diagnóstico de las proteínas AB-42 y/o T-tau y/o P-tau en LCR como biomarcadores de la EA (que no estuviesen incluidos en los metanálisis seleccionados en nuestra revisión). También se buscaron estudios, revisiones sobre evaluaciones económicas y guías de práctica clínica.

Las principales medidas de resultados consideradas en los estudios fueron: la capacidad diagnóstica de las proteínas AB-42, T-tau y P-tau en LCR como biomarcadores de la EA; la sensibilidad; especificidad; y certeza diagnóstica de estas pruebas.

## RESULTADOS

La revisión de la literatura y otra documentación relevante permitió identificar seis metanálisis (MA) recientes [8-13], en los que se ha analizado el rendimiento diagnóstico del análisis de las proteínas AB-42, T-tau y P-tau en LCR como biomarcadores de la EA. Adicionalmente, en la búsqueda de la literatura e información relevante se han identificado tres revisiones de la literatura científica [14-16]. La calidad metodológica de los MA oscila en puntuaciones de 7 a 9 puntos, en una escala de 10, y entre 5 y 7 puntos para las revisiones.

Asimismo, la búsqueda de la literatura permitió identificar una serie de publicaciones relevantes, algunas de ellas muy recientes [17-20], en las que se resume el trabajo de diferentes grupos de expertos que revisan los criterios diagnósticos de la EA para incorporar los últimos avances científicos en este campo. También se han identificado algunas guías de práctica clínica (GPC) recientes y relevantes para el diagnóstico y tratamiento de la EA en nuestro contexto [21-22]. No se identificaron evaluaciones económicas sobre el tema.

Los datos más relevantes de los estudios seleccionados han sido extraídos y se describen a continuación:

## META-ANÁLISIS

1. Sunderland T, Linker G, Mirza N, Putnam KT, Friedman DL, Kimmel LH, et.al. Decreased  $\beta$ -Amyloid<sub>1-42</sub> and increased tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *JAMA*. 2003; 289(16):2094-103. [8]

**Objetivo:** Comparación de los niveles de las proteínas  $\beta$ -amiloide y tau en el LCR de pacientes con EA y controles.

**Bases de datos consultadas:** Pubmed-Medline (agosto 1989 - marzo 2003).

**Medidas de resultado:** Niveles de proteínas  $\beta$ -Amiloide<sub>1-42</sub> en LCR con la técnica enzimo-inmunoensayo tipo sándwich, con un anticuerpo policlonal y un anticuerpo monoclonal. Los niveles de tau en LCR se midieron con un inmunoensayo comercial estándar.

**Características de los estudios incluidos:** Se incluyeron 17 estudios de  $\beta$ -amiloide y 34 estudios de tau en LCR. Se incluyeron un total de 208 pacientes (n=136 con EA y n=72 controles). Ninguno de ellos tenía otras enfermedades graves y en 31, de los 136 casos, se había confirmado la EA en la autopsia.

**Interpretación de los resultados:** Según los resultados obtenidos, la EA se asocia con una disminución significativa en los niveles de la proteína  $\beta$ -Amiloide<sub>1-42</sub> en LCR, junto con un aumento en los niveles de tau en LCR. Estos hallazgos sugieren que los dos son buenos marcadores biológicos de la fisiopatología de la EA. Los autores llegaron a la conclusión de que si bien estas medidas de proteínas en LCR pueden tener una utilidad clínica potencial como biomarcadores de la enfermedad, la naturaleza preliminar y retrospectiva de los resultados, la ausencia de estandarización de ensayos, y la falta de poblaciones de pacientes para comparar hace necesarios futuros estudios para probar la utilidad de estas medidas en la predicción, el diagnóstico, tratamiento o con fines de evaluación de la EA.

2. Diniz BS, Pinto JA, Forlenza OV. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and beta-amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. *World Journal of Biological Psychiatry* 2008; 9(3): 172-182. [9]

**Objetivo:** Evaluar el papel de los biomarcadores (A $\beta$ -42, T-tau, P-tau) en LCR, para detectar pacientes con probable diagnóstico de EA en los estadios de predemencia (i.e., pacientes con deterioro cognitivo leve - DCL).

**Bases de datos consultadas:** Medline, Embase y PsychINFO (enero 1999 - abril 2007).

**Medidas de resultado:** Niveles basales de las proteínas A $\beta$ -42 y/o T-tau y/o P-tau en LCR, de los pacientes con DCL que progresan a EA.

**Características de los estudios incluidos:** Se incluyeron 16 estudios en la revisión sistemática y 5 en el MA. Se compararon las diferencias estandarizadas de media para las proteínas A $\beta$ -42, T-tau y P-tau para 130, 169 y 123 pacientes con DCL que progresaron a EA (DCL-EA) frente a 142, 157 y 130 controles respectivamente.

**Interpretación de los resultados:** Según los autores, cuando el diagnóstico clínico de DCL está establecido en línea base, se obtienen niveles bajos en LCR de A $\beta$ -42 (diferencias estandarizadas de media, DEM = -1,57, intervalo de confianza al 95%, IC 95% = -2,30-0,84;  $p < 0,001$ ), y niveles altos de T-tau (DEM = 1,52, IC 95% = 1,25-1,79;  $p < 0,001$ ), y P-tau (DEM = 1,75, IC 95% = 0,99-2,51;  $p < 0,001$ ); estableciendo que es posible que estos biomarcadores en LCR puedan ayudar a predecir la progresión a EA si se compara con los individuos del grupo control.

No obstante, los autores destacan algunas limitaciones para usar estos biomarcadores de forma rutinaria en la práctica clínica: 1) los puntos de corte establecidos en los diferentes estudios para comparar los niveles de estas proteínas en LCR como patológico y normal son variables. Éstos se establecen internamente (i.e., de la población del estudio) o externamente (i.e., de valores previos que han sido reportados en otros estudios); 2) los valores medios para cada biomarcador en LCR muestran una gran variabilidad entre sí en los diferentes estudios encontrados (bien por la diferencia intrínseca de la biología de estos biomarcadores en los grupos evaluados, o por los diferentes métodos usados en los laboratorios). Otras limitaciones de carácter menor son, 3) que para obtener muestras de los

biomarcadores se requiere hacer una punción lumbar y aún siendo esta una técnica segura, con muy pocas complicaciones graves, no deja de ser una técnica invasiva; y 4) la determinación de estas pruebas es relativamente costosa y no está disponible en todos los laboratorios y centros.

**3. Mitchell AJ. CSF phosphorylated tau in the diagnosis and prognosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a meta-analysis of 51 studies. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009; 80(9):966-75. [10]**

**Objetivo:** Evaluar la exactitud y utilidad clínica de la P-tau para el diagnóstico y el pronóstico de la EA y el deterioro cognitivo leve (DCL).

**Bases de datos consultadas:** Medline 1966-febrero 2009, PsycINFO 1887- febrero 2009, ASSIA 1987- febrero 2009, Embase 1980- febrero 2009, Science Direct, Ingenta Select, Ovid, Web of Knowledge y Wiley-Blackwell.

**Medidas de resultado:** Utilidad de la prueba P-tau en LCR.

**Características de los estudios incluidos:** Se analizó el valor de P-tau en el diagnóstico de la EA, el diagnóstico y el pronóstico del DCL, y el diagnóstico de la EA en comparación con el DCL. Se incluyeron un total de 51 estudios: 19 estudios que compararon la EA con individuos sanos (n=2300), 18 estudios que compararon la EA con otras demencias no-EA (n=1892), 8 estudios que compararon el DCL con sujetos sanos (n=447) y 6 estudios que compararon el DCL con progresión o no a demencia (n=388).

Los datos se obtuvieron de artículos publicados entre 1966 y febrero de 2009. Se analizaron 1892 sujetos de los cuales 1304 tenían la EA, 447 sujetos de los que 247 tenían DCL y 388 sujetos con DCL de los que en 163 sujetos el deterioro se hizo progresivo y 225 sujetos se mantuvieron estables. Para los autores, los niveles de P-tau en el LCR, podrían ser un buen indicador de EA frente a sujetos sin DCL con una sensibilidad del 77,6%, una especificidad del 87,9%, un valor predictivo positivo del 90,3% y un valor predictivo negativo del 73,0%. La utilidad clínica de la prueba fue calificada como "buena".

**Interpretación de los resultados:** Según los resultados obtenidos en este MA, el autor concluye que la proteína P-tau en LCR: 1) es un buen biomarcador diagnóstico para establecer la probabilidad de la EA, 2) es un biomarcador satisfactorio para el diagnóstico del DCL, 3) es un biomarcador pronóstico satisfactorio para la progresión del DCL, 4) pero resulta menos adecuado para diferenciar la EA de otros tipos de demencia. No obstante, el autor sugiere que son necesarios futuros estudios que exploren cómo los biomarcadores pueden ser combinados con otros test diagnósticos.

En cualquier caso, los resultados de este MA se han de interpretar con cierta cautela por que si bien su objetivo se estableció claramente, los criterios de selección de los estudios (inclusión y exclusión) no se definieron con claridad y de forma explícita. La estrategia de búsqueda no se limitó idiomáticamente y se incluyeron un gran número de fuentes de información, así como intentos para identificar estudios no publicados.



Los métodos de la revisión se exponen de forma deficiente, por lo que no queda claro si se llevaron a cabo medidas para minimizar los errores y/o sesgos en el proceso de la revisión. El MA se llevó a cabo con todos los estudios, a pesar de la gran heterogeneidad entre ellos y la amplia variabilidad en los umbrales diagnósticos. En este sentido, la estimación conjunta de la especificidad y sensibilidad generada a partir de este procedimiento es cuestionable. Además, todos los estudios diagnósticos incluidos en la revisión y MA eran estudios de caso-control, que como bien se conoce, este es un diseño que tiende a sobreestimar el rendimiento diagnóstico de los tests.

4. **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: metaanálisis de su capacidad predictiva para el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer. Rev Neurol 2010; 50: 193-200. [11]**

**Objetivo:** Evaluar la rentabilidad diagnóstica del análisis de las proteínas AB-42, T-tau y P-tau en LCR para la predicción de los pacientes con DCL que van a progresar a EA.

**Bases de datos consultadas:** Pubmed y Embase (enero 1999 - septiembre 2008).

**Medidas de resultado:** En pacientes con DCL se realizaba una punción lumbar al comienzo de la observación y, posteriormente, un seguimiento en el que unos pacientes se convertían en EA (DCLA) y otros quedaban estables (DCLE), con el fin de comparar las cifras de los biomarcadores en el LCR entre esos dos grupos.

Para conocer los datos estadísticos de los tres biomarcadores del LCR tomados en su conjunto, se compararon los DCL que acabaron en EA (DCLA) con el resto de DCL que se mantuvieron estables (DCLE) o progresaron a otras demencias (DCLnoA).

**Características de los estudios incluidos:** Este MA incluye 12 estudios prospectivos en los que se evaluó la sensibilidad y especificidad para cada biomarcador por separado y también de forma conjunta. En este MA se estudiaron un total de 818 pacientes, de los que 324 desarrollaron EA (DCLA) y 415 se mantuvieron estables (DCLE) tras el período de observación. Los restantes 79 pacientes recibieron otros diagnósticos. Este último grupo incluyó 29 pacientes con enfermedad por cuerpos de Lewy difusos, 23 con demencia frontotemporal, 20 con demencia vascular, tres con hidrocefalia normotensiva, dos con pseudodemencia, uno con degeneración corticobasal y uno con enfermedad de Parkinson con demencia.

Los tres biomarcadores fueron cuantificados en siete estudios. En cinco estudios se cuantificaron dos biomarcadores y en tres estudios se cuantificó un solo biomarcador. El biomarcador más estudiado fue la proteína T-tau. De los 12 estudios incluidos, 6 cuantificaron la proteína AB-42, 11 la proteína T-tau y 7 la proteína P-tau.

**Principales resultados:** En tres estudios se analizaron los resultados de los tres biomarcadores en su conjunto, es decir, tomando como resultado alterado el hecho de que cualquiera de ellos fuese anormal.

En resumen: la sensibilidad de la cuantificación de las proteínas T-tau y P-tau es del 82%, con una odds ratio (OR) diagnóstica de 12,09 (intervalo de confianza al 95%, IC 95% = 7,71-18,99;  $p = 0,1$ ) y 16,29 (IC 95% = 9,69-27,40;  $p = 0,9$ ), respectivamente. La alteración de alguno de los tres biomarcadores tiene una especificidad del 87%, con una OR diagnóstica de 35,97 (IC 95% = 7,8-164,6;  $p = 0,04$ ).

A continuación se detallan los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN), y el valor de las odds ratio (OR) diagnóstica, para todos los estudios incluidos en este MA.

#### Análisis de cada biomarcador por separado (DCLA/DCLE)

**Niveles de proteína AB-42:** La sensibilidad global fue del 67% (IC 95% = 59-75%); la especificidad global, del 71% (IC 95% = 65-78%); los resultados del cociente de probabilidad positivo (CPP), 2,12 (IC 95% = 1,4-3,1); el cociente de probabilidad negativo (CPN), 0,55 (IC 95% = 0,4-0,6); y el valor de la odds ratio (OR) diagnóstica, 4,8 (IC 95% = 2,8-8).

**Niveles de proteína T-tau:** La sensibilidad global para T-tau fue del 81,7% (IC 95% = 76-86%); la especificidad global, del 70% (IC 95% = 65-75%); el CPP, 2,53 (IC 95% = 1,9-3,3); el CPN, 0,31 (IC 95% = 0,2-0,4); y la OR, 12,09 (IC 95% = 7,7-18,9).

**Niveles de proteína P-tau:** La sensibilidad global fue del 81% (IC 95% = 75-87%); la especificidad global, del 76% (IC 95% = 70-81%); el CPP, 3,45 (IC 95% = 2,1-5,4); el CPN, 0,2 (IC 95% = 0,17-0,33); y la OR, 16,29 (IC 95% = 9,6-27,4).

#### Análisis de los tres biomarcadores combinados (DCLA/DCLnoA)

La sensibilidad global fue del 81% (IC 95% = 72-88%), la especificidad global, del 87% (IC 95% = 81-91%); el CPP, 5,7 (IC 95% = 3,6-8,8); el CPN, 23 (IC 95% = 0,08-0,6); y la OR, 35,97 (IC 95% = 7,8-164,6).

**Interpretación de los resultados:** A partir de los resultados, los autores concluyen que la alteración aislada de los niveles de T-tau o P-tau en el LCR es muy sensible para diferenciar entre los pacientes con DCL que van a desarrollar EA de los que van a permanecer estables. La normalidad de los tres biomarcadores es muy fiable para descartar la evolución a EA en pacientes con DCL. En síntesis, y a pesar de sus limitaciones actuales, los autores concluyen que el análisis del LCR en el DCL parece una técnica fiable para identificar a aquellos pacientes que van a desarrollar EA en los años siguientes, lo que puede tener una gran importancia diagnóstica, pronóstica y terapéutica.

5. Schmand B, Huizenga HM, van Gool WA. Meta-analysis of CSF and MRI biomarkers for detecting preclinical Alzheimer's disease. *Psychological Medicine* 2010; 40(1): 135-145. [12]

**Objetivo:** Comparar la validez predictiva de los biomarcadores en LCR y las pruebas de neuroimagen estructural (resonancia magnética por imagen - RMI) como técnicas diagnósticas para detectar la EA preclínica.

**Bases de datos consultadas:** Medline, Embase, PsychINFO (enero 2003 - noviembre 2008)

**Medidas de resultado:** Sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas (biomarcadores en LCR y pruebas de neuroimagen estructural como la RMI).

**Características de los estudios incluidos:** Se incluyeron sólo estudios longitudinales en los que los sujetos no presentaban demencia en la línea base y que posteriormente (en el seguimiento) presentaron DCL o desarrollaron la EA. Se incluyeron un total de 21 estudios en los que se utilizó la RM para el diagnóstico precoz de la EA y 14 estudios en los que se usaron los biomarcadores del LCR como prueba diagnóstica de la EA. El tamaño del efecto de la T-tau, P-tau y A $\beta$ -42, osciló entre 0,91 y 1,11. El tamaño del efecto para la atrofia del lóbulo temporal medio fue de 0,75. El desempeño de la memoria tenía un tamaño del efecto de 1,06. La atrofia del lóbulo temporal medio y el deterioro de la memoria tendían a aumentar cuando se evaluaban en un momento próximo al diagnóstico, mientras que los tamaños del efecto para los biomarcadores en LCR tendían a incrementarse cuando se evaluaban en un momento más distante al diagnóstico.

**Interpretación de los resultados:** Según los resultados obtenidos por los autores, el deterioro de la memoria es un predictor más preciso para la detección temprana de la EA que la atrofia del lóbulo temporal medio que se detecta a partir de la RMI, mientras que las alteraciones de los biomarcadores en el LCR y el deterioro de la memoria son predictores similares. En conclusión, los autores señalan que los biomarcadores en el LCR y las pruebas de neuroimagen (RMI) para detectar la atrofia en el lóbulo temporal medio no son pruebas suficientemente sensibles para detectar la EA preclínica (especialmente en las personas mayores de 75 años). Aunque los biomarcadores en el LCR parecen ser prometedores, se requieren estudios con períodos de seguimiento más largos en personas mayores "normales" (sin DCL y EA) en la línea base, para evaluar la aparente validez predictiva de estos biomarcadores.

6. Van Harten AC, Kester MI, Visser PJ, Blankenstein MA, Pijnenburg YA, van der Flier WM, et.al. Tau and P-tau as CSF biomarkers in dementia: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2011; 49(3):353-66. [13]

**Objetivo:** Evaluar el valor T-tau y P-tau en LCR para el diagnóstico diferencial de la demencia con cuerpos de Lewy (DCLewy), la degeneración lóbulo frontotemporal (DLFT), la demencia vascular (DV) y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (ECJ).

**Bases de datos consultadas:** Pubmed (hasta julio 2010).

**Medidas de resultado:** Sensibilidad y especificidad de las proteínas P-tau para el diagnóstico de la DCLewy, la DLFT, la DV y la ECJ.

**Principales resultados:** En comparación con los controles: concentraciones de T-tau moderadamente elevadas en DCLewy, FTLT y DV, mientras que las concentraciones de P-tau son sólo ligeramente más elevadas en la DCLewy y no se elevan en DLFT y DV. En comparación con la EA, se observan menores concentraciones de T-tau en DCLewy con una sensibilidad del 73% y una especificidad del 90%, DLFT con sensibilidad y especificidad de 74%, y la DV, con una sensibilidad del 73% y una especificidad del 86%. En relación con la EA, los valores de P-tau fueron menores comparados con DLFT con una sensibilidad del 79% y una especificidad del 83%, y la DV, con una sensibilidad del 88% y una especificidad del 78%. La ECJ se caracteriza por concentraciones muy elevadas T-tau con una sensibilidad del 91% y una especificidad del 98% frente a EA (ver tabla 1).

Tabla 1. Sensibilidades y especificidades de T-tau y P-tau<sup>2</sup>

	T-tau en relación al grupo control		T-tau en relación a la EA		P-tau en relación a la EA	
	Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad
DCLewy	-	-	73% (62%-84%)	90% (85%-95%)	-	-
DLFT	58% (36-79%)	80% (70-91%)	74% (66%-82%)	74% (66%-81%)	79% (67%-90%)	83% (76%-90%)
DV	-	-	73% (60%-86%)	86% (80%-94%)	88% (72%-92%)	78% (68%-88%)
ECJ	-	-	91% (86%-96%)	98% (97%-100%)	-	-

DCLewy: cuerpos de Lewy; DLFT: degeneración lobulo frontotemporal; DV: demencia vascular; ECJ: enfermedad de Creutzfeldt-Jacob.

En la tabla 2 se exponen los tamaños del efecto de la determinación de las proteínas en las diferentes formas de demencia.

Tabla 2. Tamaño del efecto de T-tau y P-tau en las diferentes formas de demencia

	En relación al grupo control		En relación a la EA	
	T-tau	P-tau	T-tau	P-tau
DCLewy	0.71 (0.36; 1.06)	0.43 (0.12; 0.74)	-1.03 (-1.3; -0.76)	-1.07 (-1.36; -0.77)
DLFT	0.66 (0.33; 1.00)	0.31 (-0.16; 0.78)	-0.87 (-1.08; -0.67)	-0.82 (-1.15; -0.48)
DV	0.54 (0.16; 0.92)	-0.21 (-0.97; 0.56)	-0.90 (-1.22; -0.58)	-1.37 (-2.03; -0.70)
ECJ	-	-	1.33 (0.7; 1.97)	-

DCLewy: cuerpos de Lewy; DLFT: degeneración lobulo frontotemporal; DV: demencia vascular; ECJ: enfermedad de Creutzfeldt-Jacob.

<sup>2</sup> Sensibilidades y especificidades en común y su 95% de intervalos de confianza se calcularon utilizando modelos de efectos aleatorios. No hubo suficientes datos disponibles para incluir los valores P-tau de las diferentes formas de demencia frente a los controles.

Los tamaños del efecto son representados a través del delta de Cohen, con intervalos de confianza del 95%. Los coeficientes delta de Cohen reflejan el número de desviaciones estándar (DE) entre los grupos. Un delta de Cohen de 1 significa que la diferencia entre el promedio de dos grupos es de 1 DE. Esto corresponde a casi un 70% de posibilidades de que una persona se asignara al grupo correcto únicamente sobre la base de este valor de biomarcadores. La agrupación delta Cohen se estimó mediante modelos de efectos aleatorios.

**Interpretación de los resultados:** A partir de los resultados obtenidos, los autores concluyen que, en comparación con los controles, las concentraciones de T-tau están moderadamente elevadas en pacientes con DCLewy, DLFT y DV, mientras que las concentraciones de P-tau son solo ligeramente más elevadas en la DCLewy y no elevada en DLFT y DV.

## **REVISIONES DE LA LITERATURA CIENTÍFICA**

1. Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, et. al. Practice parameter: Diagnosis of dementia (an evidence-based review) : Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2001;56:1143-1153. [14]

**Objetivo:** Actualizar los parámetros, en la práctica clínica, para el diagnóstico de demencia en ancianos, instaurados desde el año 1994 por la Academia Americana de Neurología, por medio de Panel de expertos y revisión de la evidencia científica.

**Bases de datos consultadas:** Medline, Excerpta Medica, BIOSIS (enero 1985 - noviembre 1999).

**Medidas de resultado:** Fiabilidad y validez de los criterios diagnósticos para la demencia y de las pruebas de laboratorio.

**Características de los estudios incluidos:** Se incluyeron estudios publicados en inglés desde el año 1985 hasta el año 1999. En esta revisión se abordaron cuatro preguntas clave: 1) ¿son fiables los criterios actuales para el diagnóstico de demencia?; 2) ¿los criterios diagnósticos actuales son capaces de establecer un diagnóstico de demencias en ancianos?; 3) ¿las pruebas de laboratorio mejoran la exactitud del diagnóstico clínico de demencia?; 4) ¿qué comorbilidades deben ser evaluadas en pacientes ancianos sometidos a una evaluación inicial de demencia?.

**Interpretación de los resultados:** En base a la evidencia en la literatura, se realizan las siguientes recomendaciones: 1) La definición del DSM-III-R de la demencia es fiable y debe ser utilizada. 2) Los criterios del Instituto Nacional para los Desórdenes Neurológicos, de la Comunicación y el Accidente Cerebro Vascular y la Asociación para la Enfermedad de Alzheimer y Desórdenes Relacionados (NINCDS-ADRDA); los criterios del Manual Diagnóstico y Estadístico, tercera edición, revisada (DSM-III-R) para el diagnóstico de EA y los criterios clínicos para la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) ofrecen suficiente fiabilidad y validez y deben ser utilizados. Los criterios diagnósticos para la demencia vascular, demencia con cuerpos de Lewy y demencia fronto-temporal pueden ser de utilidad en la práctica clínica (opcional),

pero no tienen suficiente fiabilidad ni validez. 3) Es adecuado el uso de neuroimagen estructural, ya sea con una tomografía computarizada sin contraste o resonancia magnética, en la evaluación inicial de pacientes con demencia. Debido a la escasez de datos sobre la validez, no se recomienda ningún procedimiento de diagnóstico por imágenes como prueba definitiva. Actualmente no se recomienda el uso de marcadores genéticos para el diagnóstico de rutina. La proteína 14-3-3 en LCR es útil para confirmar o rechazar el diagnóstico de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob ECJ. 4) Debe llevarse a cabo la detección de depresión, deficiencia de vitamina B12 e hipotiroidismo. Detección de la sífilis en pacientes con demencia no se justifica a menos que exista sospecha clínica de neurosífilis.

En general, los autores concluyen que los criterios diagnósticos para la demencia han mejorado desde 1994. Recomiendan más investigación para mejorar las definiciones clínicas de la demencia y sus subtipos, así como para determinar la utilidad de los distintos instrumentos de neuroimagen, marcadores biológicos y pruebas genéticas para aumentar la precisión diagnóstica.

2. Blenow K, Vanmechelen E. CSF markers for pathogenic processes in Alzheimer's disease: diagnostic implications and use in clinical neurochemistry. *Brain Research Bulletin*. 2003; 61(3):235-42. [15]

**Objetivo:** Evaluar el rendimiento diagnóstico de la determinación de las proteínas AB-42, T-tau y P-tau en LCR como biomarcadores de la EA, mediante revisión de la evidencia científica.

**Bases de datos consultadas:** Medline.

**Medidas de resultado:** Sensibilidad y especificidad de las proteínas AB-42, T-tau y P-tau.

**Interpretación de los resultados:** Los autores concluyen que aún cuando se requieren más estudios para determinar la capacidad diagnóstica de los marcadores en LCR para identificar la EA incipiente o precoz, las proteínas T-tau, P-tau y AB-42 tienen un gran potencial clínico para ayudar a establecer un diagnóstico válido y fiable que permita determinar el tipo de tratamiento más efectivo y comenzar una terapia en la fase inicial de evolución de la enfermedad que permita retrasar el proceso de deterioro.

3. Anoop A, Singh PK, Jacob RS, Maji SK. CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2010. [16]

**Objetivo:** Proporcionar información sobre el potencial de distintos biomarcadores para el diagnóstico de la EA; con especial énfasis en los biomarcadores del LCR, mediante revisión no sistemática de la literatura.

**Bases de datos consultadas:** No se especifican.

**Interpretación de los resultados:** Según los estudios incluidos en esta revisión, el análisis combinado de biomarcadores en el LCR representa la herramienta de diagnóstico más adecuada para detectar pacientes con EA o detectar a los individuos con DCL. No obstante, recomiendan desarrollar más ensayos de sensibilidad para detectar oligómeros de amiloide en el LCR, que podrían elevar la eficacia en el diagnóstico precoz de la EA.

## **CONSENSO DE EXPERTOS BASADO EN LA EVIDENCIA CIENTÍFICA**

1. Dubois B, Feldman H, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings JR, et.al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol* 2007; 6: 734-46. [17]

**Objetivo:** Actualizar los criterios diagnósticos actuales de la EA (basados en el DSM-IV-TR y en el NINCDS-ADRDA), a partir de la evidencia científica disponible y del consenso de expertos (n=15) reunidos en el año 2005 (en el Second Congress of the International Society for Vascular Behavioural and Cognitive Disorders (Vas-Cog), Florencia. Italia).

**Principales conclusiones y recomendaciones:** Hasta el momento, se sabe que en la EA las concentraciones de A $\beta$ -42 son bajas y la T-tau y P-tau altas. Igualmente, la concentración de A $\beta$ -42 en el LCR, es normal en pacientes con depresión y baja en pacientes con demencia con cuerpos de Lewy, en la demencia vascular y en la degeneración del lóbulo frontotemporal. Asimismo, la concentración de T-tau es muy alta en la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob.

Además la evidencia científica muestra que la medición de la concentración de P-tau, en particular, P-tau 231, aumenta la especificidad para la EA, especialmente en contraste con la degeneración del lóbulo frontotemporal. No hay una explicación para la falta de especificidad en este sentido, pero puede estar relacionada con la ausencia de verificación histopatológica o la presencia de comorbilidad.

A través de 13 estudios realizados donde se incluyeron 600 pacientes y 450 controles, se estableció que la proteína A $\beta$ -42 en el Alzheimer tiene una sensibilidad del 86% y una especificidad del 90%. Por su parte, en la proteína T-tau, la sensibilidad fue del 81% y la especificidad del 90%, en datos recogidos en 36 estudios con 2500 pacientes y 1400 controles.

En 11 estudios con un total de 800 pacientes y 370 controles, se estableció que la P-tau tiene una sensibilidad media del 80% y una especificidad del 92%. No obstante, hay que decir que la sensibilidad varía ampliamente, en función del método que se usa en los distintos estudios. La combinación de concentración de A $\beta$ -42 y T-tau en pacientes con EA frente a controles, muestra niveles altos de sensibilidad (85-94%) con niveles de especificidad que pueden oscilar entre el 83 y el 100%.

De acuerdo a los autores, varios estudios recientes han abordado específicamente el valor de los biomarcadores del LCR en la identificación de la EA prodrómica. Las siguientes combinaciones de marcadores: A $\beta$ -42 baja, T-tau y P-tau altas han mostrado un índice de riesgo de 17 a 20, en la predicción de la EA, en un seguimiento de 4-6 años.

Los autores concluyen que la utilidad de los biomarcadores en LCR en la fase de DCL, justifican su inclusión como criterio diagnóstico. La punción lumbar se puede hacer con una muy baja tasa de eventos adversos y esta prueba cuenta además con una buena aceptación en personas con deterioro cognitivo y adultos sanos de todas las edades.



No obstante los autores reconocen, que los criterios diagnósticos propuestos requieren una gran experiencia, capacidad técnica y recursos financieros para la evaluación integral (RM, PET y el análisis del LCR) en el diagnóstico de la EA. El enfoque multidisciplinar que se requiere para este marco diagnóstico aún no puede ser viable en la práctica clínica. Los estudios de validación que se proponen estarían disponibles en centros de EA altamente especializados. Los criterios de diagnósticos validados en la investigación, tendrán que ser adaptados para su uso en la práctica clínica. Los autores concluyen que se tendrían que considerar unos criterios técnicamente menos exigentes.

2. McKhann GM 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. *Alzheimer's Dement.* 2011 May;7(3):263-9. [19]

**Objetivo:** Desarrollar criterios para el diagnóstico de la demencia debido a la EA.

**Principales conclusiones y recomendaciones:** Nuevos criterios diagnósticos de la EA publicados en abril de este año que sustituyen a los criterios más utilizados previamente (NINCDS-ADRDA, 1984): incorporan el uso de nuevos criterios diagnósticos basados en la tomografía de emisión de positrones (PET) y la determinación de biomarcadores en LCR (proteínas AB-42, T-tau y P-tau).

El uso de estos biomarcadores permite clasificar a los pacientes en las siguientes categorías diagnósticas:

- *Demencia debida a EA probable con evidencia de proceso fisiopatológico de EA:* en personas que cumplen con los criterios clínicos de EA probable, la evidencia del biomarcador aumenta la certeza de que la base del síndrome clínico de demencia es el proceso fisiopatológico de la EA, en tres categorías posibles: claramente positiva, claramente negativa o indeterminada. Los únicos biomarcadores que son aceptados actualmente en estos criterios son: Biomarcadores del depósito de proteína  $\beta$ -amiloide (niveles bajos de proteína AB-42 en LCR o resultados positivos en la neuroimagen de amiloide en PET) y de degeneración neuronal descendente (proteína tau elevada en LCR, captación disminuida en el córtex temporoparietal en la PET, o atrofia desproporcionada en resonancia magnética en el córtex de los lóbulos temporales y del parietal medio).
- *Demencia debida a EA posible con evidencia de proceso fisiopatológico de EA:* casos con criterios de una demencia no-EA, pero que tienen evidencia de biomarcadores de proceso fisiopatológico de EA.
- *Demencia improbablemente debida a EA:* A pesar de cumplir criterios clínicos de demencia debida a EA posible, son negativos los biomarcadores tanto de AB como de lesión neuronal.

Los informes del grupo de trabajo recomiendan que los biomarcadores sean utilizados con 2 propósitos: (1) para mejorar la seguridad de que la enfermedad causante es la EA y, (2) para estimar la probabilidad de la progresión a la siguiente fase de la enfermedad (por ejemplo, del DCL a la demencia).

Sin embargo, el conocimiento de los biomarcadores aún está en evolución. Pocos son los estudios que han examinado los biomarcadores en la comunidad. Por otra parte, aún no hay una estandarización de las técnicas ni de los niveles entre los diferentes laboratorios que determinan A $\beta$  en el LCR. Por estas razones, actualmente, los biomarcadores deben ser utilizados principalmente para la investigación y no para la práctica clínica.

#### **Consideraciones en cuanto a la incorporación de biomarcadores en los criterios de demencia por EA**

- Las fases del proceso fisiopatológico de la EA son parte de un continuo de fenómenos clínicos y biológicos. La demencia por EA se diagnostica fundamentalmente por criterios clínicos. Para hacer un diagnóstico con el apoyo de biomarcadores, es fundamental que exista previamente un diagnóstico clínico positivo.
- De acuerdo a su naturaleza, la medida de los biomarcadores en LCR se basa en interpretaciones cuantitativas que se comparan con estándares normativos. Los biomarcadores por imagen pueden ser interpretados tanto de forma cualitativa como cuantitativa.
- En muchos casos, los resultados de los biomarcadores estarán claramente dentro de los parámetros de normalidad o anormalidad. Sin embargo, en algunos casos, pueden obtenerse resultados ambiguos o indeterminados. Esto es inevitable dado que todos los biomarcadores son medidas continuas y las etiquetas “positivo” o “negativo” requieren de puntos de corte que han de ser aplicados a un fenómeno biológico continuo.
- A pesar de que existen métodos sofisticados, objetivos y cuantitativos de diagnóstico basado en biomarcadores en LCR, en la actualidad no existen estándares normativos sin incertidumbre y aceptados para el análisis de estas pruebas en la EA. Los esfuerzos por estandarizar este tipo de determinación están en avance continuo.
- Se ha descrito una secuencia de eventos en los procesos fisiopatológicos de la A $\beta$  que va en aumento, lo que podría implicar una clasificación jerárquica de estos biomarcadores, sin embargo, la fiabilidad de un esquema jerárquico en el diagnóstico de EA no ha sido demostrada.
- Dada la existencia de diferentes biomarcadores de EA, es inevitable que se den diferentes combinaciones de resultados para las pruebas. Por ejemplo, puede encontrarse un A $\beta$  “positivo” con biomarcadores del daño cerebral “negativo” o un PET con fluorodeoxiglucosa (FDG) “positivo” y medidas de TAU “negativas”.
- Por esta razón, siguen sin existir datos suficientes para resolver estas incertidumbres y que permitan desarrollar un esquema de todas las combinaciones de biomarcadores diferentes. Se necesitan más estudios para establecer el valor y la validez de los biomarcadores en la práctica y la investigación.

3. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman H, Fox NC, et.al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging and Alzheimer's Association workgroup. *Alzheimers Dement.* 2011; 7(3):270-9. [20]

**Objetivo:** Desarrollar y establecer los criterios diagnósticos para la fase sintomática previa al desarrollo de EA (DCL debido a la EA). Al igual que para la EA, el DCL debido a la EA no puede ser actualmente diagnosticado por una prueba de laboratorio, sino que requiere de la valoración clínica. En este sentido, el DCL es un síndrome definido por criterios clínicos, cognitivos y funcionales.

**Principales conclusiones y recomendaciones:** Los autores desarrollaron dos tipos de criterios diagnósticos a tener en cuenta: (1) criterios clínicos que podrían ser utilizados por los profesionales que no tienen acceso a técnicas por imagen médica avanzadas y al análisis del LCR; (2) criterios de investigación que podrían ser utilizados solamente en entornos de investigación clínica (centros académicos y ensayos clínicos). Este segundo grupo de criterios incorpora el uso de biomarcadores basados en las técnicas por imagen y los análisis en el LCR.

En general, los autores de este trabajo concluyen que hay diversas razones para limitar el uso de los biomarcadores al entorno de investigación clínica: a) se requiere más investigación que confirme que los criterios que incluyen el uso de biomarcadores han sido apropiadamente diseñados; b) existen limitaciones en la estandarización de los biomarcadores de un laboratorio local a otro y existe limitada experiencia con los puntos de cortes para el diagnóstico; c) el acceso a los biomarcadores puede ser limitado en algunos entornos.

A pesar de que muchos estudios han usado los biomarcadores para predecir el deterioro cognitivo o la progresión a demencia en pacientes con DCL, algunas limitaciones importantes en los estudios obstaculizan recomendar el uso generalizado de los biomarcadores en la práctica clínica para predecir la EA o la progresión a demencia en pacientes con DCL:

- Pocos biomarcadores han sido comparados entre sí en estudios multivariados.
- Pocos biomarcadores han sido validados con estudios post mortem.
- Escasa información disponible sobre el valor de la combinación de biomarcadores.
- Incertidumbre y dificultad para comprender el significado y la utilidad del uso combinado de diferentes biomarcadores (especialmente ante resultados que son contradictorios).
- Escasez de estudios verdaderamente predictivos a nivel individual o en poblaciones no seleccionadas.
- Muchos estudios de biomarcadores muestran diferencias entre grupos de individuos que desarrollan EA u otras demencias ("convertidores") y los grupos "estables", analizados retrospectivamente (i.e., con el conocimiento de qué individuos progresan a demencia).
- En pocos estudios se define un punto de corte específico para un biomarcador o biomarcadores, así como su validez predictiva. El uso eficaz de los biomarcadores requiere asignar una probabilidad para que ocurra el deterioro

o progresión a demencia en un individuo, en un intervalo de tiempo determinado, a partir del uso de uno o varios biomarcadores.

- Dificultad para predecir/definir la progresión a demencia, porque la capacidad para predecir/detectar cambios depende del período de observación o predicción. Algunos biomarcadores parecen ser útiles para predecir el cambio en períodos cortos de observación (1-3 años). Aunque, sería deseable identificar otros biomarcadores que permitan predecir el cambio en períodos más largos (muchos años o incluso décadas).
- Se requiere un conocimiento más amplio de la función de los biomarcadores para predecir el DCL a corto y largo plazo.
- Desde una perspectiva clínica, el diagnóstico de la EA requiere determinados niveles de A $\beta$  y tau, que podrían estar también alterados en otros trastornos (i.e., angiopatía amiloide, demencia por cuerpos de Lewy). En este sentido, se requiere hacer un diagnóstico diferencial de otros posibles trastornos, en base al cuadro clínico general del paciente.

A pesar de las reconocidas limitaciones para el uso generalizado de los biomarcadores en la práctica clínica, los autores sugieren cuatro posibles niveles de certidumbre para establecer los criterios diagnósticos del “DCL debido a la EA”, que dependen de la presencia y naturaleza de los resultados ofrecidos por los biomarcadores:

**Tabla 3. Criterios para el DCL incorporando biomarcadores**

Categoría diagnóstica	Probabilidad de biomarcador para etiología de EA	A $\beta$ (PET o LCR)	Daño neuronal (tau, FDG-PET, MRI)
DCL - basado en criterios clínicos	Poca información	Resultados contradictorios, indeterminados, o no evaluado	Resultados contradictorios, indeterminados, o no evaluado
DCL debido a la EA - probabilidad intermedia	Intermedia	Positivo No evaluado	No evaluado Positivo
DCL debido a la EA - probabilidad alta	Alta	Positivo	Positivo
DCL - improbable que sea debido a la EA	Baja	Negativo	Negativo

Los autores concluyen que se requieren más estudios que validen el uso de los biomarcadores para establecer los criterios diagnósticos del DCL debido a la EA, así como estandarizar el análisis de biomarcadores para su uso en entornos clínicos.

## **GUÍAS DE PRÁCTICA CLÍNICA**

- 1. Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos (CGCOM). Guía de buena práctica clínica en enfermedad de Alzheimer y otras demencias. 2ª ed. Ministerio de Sanidad y Consumo; 2008 [21]**

Este manual de actuación basado en la evidencia científica recomienda que (fuerza de recomendación B), la determinación de las proteínas AB-42, T-tau y P-tau, en LCR, se lleve a cabo en caso de duda diagnóstica.

- 2. Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. 2010. Guías de Práctica Clínica en el SNS: AIAQS Núm. 2009/07. [22]**

Esta guía incluye las siguientes recomendaciones (con grado de recomendación clase B):

- Puede usarse la determinación de AB-42, T-tau y P-tau en LCR como prueba complementaria en casos de diagnóstico diferencial dudoso entre EA y otras demencias.
- Puede usarse la determinación AB-42, T-tau y P-tau en LCR como prueba complementaria en casos de DCL cuando los rasgos clínicos, neuropsicológicos y evolutivos hacen sospechar una EA como etiología del mismo.

### **COSTE TOTAL ESTIMADO PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES DE LA EA EN LCR EN CANARIAS**

Cada uno de los cuatro hospitales de referencia del Servicio Canario de la Salud han solicitado un número próximo a 100 determinaciones al año, durante 2010-2011 (aproximadamente 8 determinaciones mensuales) de Péptido Beta Amiloide-42 y la Proteína T-tau para documentar el diagnóstico de EA.

Hasta la actualidad las muestras de LCR para la determinación de biomarcadores de la EA están siendo enviadas a un laboratorio externo, de referencia, que factura 80 y 60 euros para la determinación de  $\beta$ -Amiloide y T-tau, respectivamente, garantizando un tiempo de respuesta de un mes. El precio de la determinación de la Proteína P-Tau, que hasta el momento los clínicos en Canarias no solicitan de forma rutinaria, es de 75 euros. La conservación de la muestra de LCR para su posterior envío requería hasta ahora centrifugación y congelación inmediata en tubos de polipropileno. Recientemente se ha publicado un documento de consenso sobre el tratamiento preanalítico del LCR realizado por el Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative, en el que recomiendan que las muestras se envíen por correo a temperatura ambiente siempre que la duración del transporte no sea superior a 5 días [23].

Los presupuestos ofrecidos por diversos distribuidores para los kits ELISA para determinar estos tres biomarcadores ( $\beta$ -42, T-tau, P-tau) oscilan entre 860 y 950 euros. Para la estimación del impacto económico de la incorporación de esta nueva tecnología diagnóstica en el Servicio Canario de Salud se seleccionó un distribuidor local con kit de calidad reconocida en esta área diagnóstica, que suministra kits de las tres proteínas y oferta los precios más bajos. Cada kit permite 96 determinaciones. Para cada serie de muestras se debe realizar una calibración y control que utiliza 16 pruebas y las recomendaciones del protocolo son analizar las muestras por duplicado. Esto conlleva que la eficiencia máxima del kit quede limitada a 40 pruebas de pacientes; lo que equivale a un coste por muestra de paciente de 21,5 euros para cada proteína (para kits de 860 euros).

Esta estimación considera como máximo un tiempo de respuesta de un mes, que es aproximadamente el que tienen los hospitales de Canarias actualmente con el Laboratorio Externo, al objeto de poder reunir el mayor número posible de determinaciones, procedentes de los diferentes hospitales, y rentabilizar el uso de cada kit de ELISA.

Para cumplir estas premisas y según el número de muestras, existen distintas estrategias de uso del Kit en una, dos o tres veces que se presentan en la tabla 4.

**Tabla 4. Rendimiento Kits ELISA para Beta Amiloide (1-42), T-tau y P-tau en LCR**

Análisis	Cal/Cont	Pruebas útiles	Nº Muestras	Rendimiento Kit	Coste 1 prueba
1 vez	16	80	40	100%	21,5 euros
2 veces	32	64	32 (16+16)	80%	26,8 euros
3 veces	48	48	24 (8+8+8)	60%	35,8 euros

El coste hay que multiplicarlo por tres si se miden las tres proteínas

Los precios que se detallan son únicamente de reactivos y no incluyen el coste de recursos humanos ni costes indirectos. Las técnicas son poco automatizables, dos de ellas se hacen en dos días consecutivos y requieren personal entrenado (un

facultativo y un técnico especialista). Es importante tener en cuenta que si fueran aceptables por los clínicos tiempo de respuestas más largos, el coste podría ser inferior.

La baja demanda de este tipo de pruebas por parte de cada hospital de referencia hace recomendable valorar la posibilidad de reunir las muestras de diferentes hospitales para efectuar las determinaciones de forma centralizada y optimizar la rentabilidad del kit. La tabla 5 ofrece información, a partir de un promedio mensual de 8 solicitudes por hospital de referencia, clasificándola para cada hospital, para cada una de las dos provincias centralizando las determinaciones en uno de los dos hospitales de referencia o, por último, en un único hospital de Canarias. En este último caso se debería considerar el coste del transporte entre los Centros que puede realizarse una vez al mes. Una compañía de transporte (como por ejemplo, MRW) cobra 8,40 y 11,24 euros por envío dentro de la isla o entre las islas respectivamente. En las muestras congeladas el envío a otra isla con nieve carbónica, para no romper la cadena de frío, tiene un precio de World Courier de unos 60 euros, que no sería necesario según las últimas recomendaciones publicadas [23].

**Tabla 5. Uso Kits ELISA de Beta Amiloide (1-42), T-tau y P-tau**

Nivel	Peticiones mes	Análisis Kit	Tiempo respuesta	Coste prueba
Hospital	8	3 veces	1 mes	35,8 euros
Provincial	16	2 veces	1 mes	26,8 euros
Regional	32	1 vez	1 mes	21,5 euros
Hay que sumar precios de transporte al nivel correspondiente (1 envío mensual)				
En cualquiera de las opciones sería más alto el coste de la prueba si no se alcanza el número máximo descrito en la Tabla 3				

## CONCLUSIONES

Existe evidencia científica consistente que prueba el descenso de los niveles de proteína A $\beta$ -42 y el aumento de las proteínas T-tau y P-tau en el LCR de los pacientes con EA. Los datos disponibles sobre la validez diagnóstica de estas pruebas ofrecen valores medios de sensibilidad y especificidad diagnóstica de moderada a aceptable (67-87%) para cada biomarcador por separado, con niveles de sensibilidad y especificidad más altos cuando se combinan los resultados de los tres biomarcadores, contribuyendo al diagnóstico de confirmación de la EA e identificación de otras formas de presentación atípicas de la EA, pero no para diferenciar entre EA y otros tipos de demencias.

En este sentido, los biomarcadores en LCR (A $\beta$ -42, T-tau y P-tau) parecen ser tecnologías diagnósticas altamente prometedoras que podrían favorecer el diagnóstico precoz de la EA, ayudar a la precisión del diagnóstico y que han probado su validez diagnóstica (sensibilidad y especificidad) para la demencia por EA. Sin embargo, su utilidad para evaluar el estadio clínico, fase preclínica o progresión de la EA aún está por determinar.

Las publicaciones científicas más recientes son menos entusiastas que las iniciales e identifican las limitaciones de esta tecnología, que a pesar de ser altamente prometedora no da respuesta aún a todas las preguntas relevantes que deberían ser adecuadamente respondidas antes de que esta nueva tecnología diagnóstica se incorpore en el sistema sanitario y se financie con fondos públicos.

A pesar de que, recientemente, se ha avanzado en el consenso sobre la metodología analítica para la determinación de biomarcadores en LCR; no existe evidencia científica suficiente sobre la validez ni el coste-efectividad para los puntos de corte de cada biomarcador utilizado aisladamente o en combinación. En la práctica asistencial se suelen usar los valores de referencia publicados en la literatura científica y cada laboratorio tiende a validar sus propios resultados en su medio, pero aún no hay un consenso establecido.

Todavía no se dispone de un biomarcador de diagnóstico y progresión de la EA que se pueda aplicar fácilmente y de forma generalizada en el ámbito clínico. Los resultados favorables que se han encontrado con estos biomarcadores aún se ven limitados al entorno de la investigación. No obstante, en la práctica clínica, el uso de marcadores de LCR se está llevando a cabo actualmente de forma rutinaria en algunos centros de referencia de Europa como apoyo del diagnóstico clínico y neuropsicológico, sobretudo para casos de pacientes atípicos, pacientes jóvenes, diagnóstico diferencial de demencias y pacientes con DCL (*ver en los anexos 1 y 2 el listado de usuarios de biomarcadores de LCR en España, el resto de Europa y Estados Unidos*).

No se ha podido establecer de manera irrefutable, qué medida o combinación de medidas de biomarcadores resulta más sensible y específica para el diagnóstico de la EA. Aunque la tendencia actual es usar la combinación de las tres proteínas para garantizar la mejor precisión diagnóstica. Aún no se han establecido los niveles de biomarcadores que puedan predecir y confirmar la progresión de EA, especialmente en las personas mayores de 75 años.



No se dispone de evidencia científica suficiente que establezca cuál es el cambio en los resultados de salud de los pacientes, asociado a la incorporación de esta tecnología diagnóstica. Tampoco existen evidencias sobre el cambio en las decisiones de gestión clínica por parte de los profesionales, asociado al uso de cada biomarcador por separado o combinadamente.

No se dispone de ninguna evaluación económica que informe sobre el coste-efectividad de esta nueva tecnología diagnóstica (aisladamente o en combinación) frente a la práctica diagnóstica habitual. No obstante, su coste es mucho menor que el de otros biomarcadores (RMN funcional, PET).

La realización de este tipo de determinaciones en laboratorios externos de referencia es más costosa para el Servicio Canario de Salud que la centralización de las determinaciones en un único laboratorio de su red hospitalaria.

## RECOMENDACIONES

- La heterogeneidad de los puntos de corte para los biomarcadores diagnósticos de la EA, junto a la ausencia de información sobre los posibles cambios en la gestión clínica, los resultados de salud de los pacientes y el coste-efectividad de las diferentes estrategias diagnósticas, **no permiten recomendar** la financiación de esta tecnología diagnóstica en la práctica clínica, hasta disponer de información más robusta y de estudios de seguimiento a largo plazo sobre su utilidad diagnóstica, validez predictiva, efectividad y costo-efectividad.
- En la práctica clínica podrían servir de apoyo para el diagnóstico clínico y neuropsicológico, sobretodo para casos de pacientes con otras formas de presentación atípicas de la EA y pacientes jóvenes.
- Su hipotética financiación debería contemplar la centralización de su determinación, en un único laboratorio en cada isla capitalina, al objeto de reducir los costes y mantener los tiempos de respuesta.

## REFERENCIAS

- [1] Kasuya M, Meguro K. Health economic effect of donepezil treatment for CDR 0.5 converters to Alzheimer's disease as shown by the Markov model. *Arch Gerontol Geriatr.* 2010; 50(3): 295-9.
- [2] Getsios D, Blume S, Ishak KJ, Maclaine GD. Cost effectiveness of donepezil in the treatment of mild to moderate Alzheimer's disease: a UK evaluation using discrete-event simulation. *Alzheimers Dement.* 2012; 8(1): 22-30.
- [3] Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. *Neurobiol Aging.* 1998;19(2): 109-16.
- [4] Hampel H, Burger K, Teipel SJ, Bokde AL, Zetterberg H, Blennow K, et al. Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2008; 4: 38-48.
- [5] Morinaga A, Ono K, Ikeda T, Ikeda Y, Shima K, Noguchi-Shinohara M, et al. A comparison of the diagnostic sensitivity of MRI, CBF-SPECT, FDG-PET and cerebrospinal fluid biomarkers for detecting Alzheimer's disease in a memory clinic. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010; 30(4): 285-92.
- [6] Holtzman DM. CSF biomarkers for Alzheimer's disease: current utility and potential future use. *Neurobiol Aging.* 2011;32 Suppl 1:S4-9.
- [7] Oxman AD, Cook DJ, Guyatt GH. User's guides to the medical literature. VI. How to use an overview. *JAMA.* 1994; 272: 1367-71
- [8] Sunderland T, Linker G, Mirza N, Putnam KT, Friedman DL, Kimmel LH, et al. Decreased  $\beta$ -Amyloid1-42 and Increased Tau Levels in Cerebrospinal Fluid of Patients With Alzheimer Disease. *JAMA.* 2003; 16(289): 2094-2103.
- [9] Diniz BS, Pinto JA, Forlenza OV. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and beta-amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. *World Journal of Biological Psychiatry* 2008; 9(3): 172-182.
- [10] Mitchell AJ. CSF phosphorylated tau in the diagnosis and prognosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a meta-analysis of 51 studies. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 2009; 80(9): 966-75.
- [11] Monge-Argiles JA, Sanchez-Paya J, Munoz-Ruiz C, Pampliega-Perez A, Montoya-Gutierrez J, Leiva-Santana C. [Biomarkers in the cerebrospinal fluid

- of patients with mild cognitive impairment: a meta-analysis of their predictive capacity for the diagnosis of Alzheimer's disease]. [Spanish]. *Revista de Neurologia*. 2010; 50(4): 193-200.
- [12] Schmand B, Huizenga HM, van Gool WA. Meta-analysis of CSF and MRI biomarkers for detecting preclinical Alzheimer's disease. *Psychological Medicine* 2010; 40(1): 135-145.
- [13] Van Harten AC, Kester MI, Visser PJ, Blankenstein MA, Pijnenburg YA, van der Flier WM et al. Tau and P-tau as CSF biomarkers in dementia: a meta-analysis. *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine*. 2011; 49(3): 353-66.
- [14] Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, et. al. Practice parameter: Diagnosis of dementia (an evidence-based review) : Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2001; 56: 1143-1153.
- [15] Blennow K, Vanmechelen E. CSF markers for pathogenic processes in Alzheimer's disease: diagnostic implications and use in clinical neurochemistry. *Brain Research Bulletin*. 2003; 61(3): 235-42.
- [16] Anoop A, Singh PK, Jacob RS, Maji SK. CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2010.
- [17] Dubois B, Feldman H, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings JR, et.al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol* 2007; 6: 734-46
- [18] Jack CR, Albert MS, Knopman DS, McKhann GM, Sperling RA, Carrillo MC, et.al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011; 7(3): 257-62.
- [19] 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. 2011; 7(3): 263-9.
- [20] Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman H, Fox NC, et.al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging and Alzheimer's Association workgroup. *Alzheimers Dement*. 2011; 7(3): 270-9.

- [21] Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos (CGCOM). Guía de buena práctica clínica en enfermedad de Alzheimer y otras demencias. 2ª ed. Ministerio de Sanidad y Consumo; 2008.
- [22] Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut de Catalunya; 2010. Guías de Práctica Clínica en el SNS: AIAQS Núm. 2009/07.
- [23] Vanderstichele H, Bibl M, Engelborghs S, Le Bastard N, Lewczuk P, Molinuevo JL, et al. Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: A consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimers Dement.* 2011 Oct 31.

**ANEXO 1. Listado de usuarios de biomarcadores de LCR (A $\beta$ -42, T-tau, P-tau) en España**

**Listado de usuarios de biomarcadores de LCR 2009-2011**

Rutina	Hospital Clínico (Barcelona)	Investigación/ Rutina	Hospital Sant Pau (Barcelona)
	Hospital Ramon y Cajal (Madrid)		Hospital La Paz (Madrid)
	Hospital Son Espases (Palma Mallorca)		Hospital vall Hebrón (Barcelona)
	Hospital General Alicante		Laboratorios Dr. Echevarne (Barcelona)
	Reference Laboratory (Barcelona)		Balagué Center (Barcelona)
			Hospital La Fe (Valencia)
			Hospital San Pedro Alcántara (Cáceres)
			Hospital Logroño

Fuente: Innogenetics Diagnóstica Iberia, S.L. (Enero, 2012)

**Nota:** Más allá de los centros que se incluyen en este listado, hay que tener en cuenta que muchos hospitales envían sus muestras a laboratorios de referencia, por lo que no es posible saber el número real de hospitales en los que ya se está realizando. Además, no excluye que haya otros centros que usen los mismos marcadores en rutina, pero con otros productos comercial

**ANEXO 2. Listado de usuarios de biomarcadores de LCR (Aβ-42, T-tau, P-tau) en el resto de Europa y Estados Unidos**

**Listado de usuarios de biomarcadores de LCR 2009-2011**

Austria	Allgemeines Krankenhaus Wien	Alemania	Klinikum rechts der Isar
	Krankenhaus der		Hospital LogiServe GmbH
	Magistrat der Stadt Wien		Fachhochschule Kaiserslautern
	Landeskrankenhaus Wiener-Neust.		University of Wuerzburg
	Landeskrankenhaus St. Poelten		Dt. Zentrum f. Neurodegenerative
	O.oe. Gesundheits-u.Spitals-AG		Klinikum Burgenlandkreis GmbH
	Gemeinn. Sbg. Landeskliniken		LOD Medizinservice GmbH
	Landeskrankenhaus Innsbruck		Synlab Liquorzentrum Stadtroda
Stmk.Krankenanstaltenges.m.b.H	HELIOS Klinikum Berlin		
Bélgica	UCL-Cliniques univ. Saint-Luc	Charité - Universitaetsmedizin	
	KUL	hospital Laborverbund GmbH	
	UNIVERSITEIT ANTWERPEN	Dr. Fenner	
	INSTITUUT BORN-BUNGE	Uni Eppendorf - Hamburg	
Suiza	Unilabs Zuerich	UniversitaetsklinikumGreifswald	
	Verwaltung Kantonale Laboratorien	Universitaetsklinikum Schleswig	
	Viollier AG	Pro medico GmbH	
	Kantonsspital St. Gallen	Universitaetsklinikum Magdeburg	
	Universitaetsspital Basel	Universitaetsmedizin Goettingen	
Francia	AP-HP/Hopital Pitié Salpêtrière	Universitaetsklinikum Marburg	
	C.H.R.U de Tours	Dr. Stein + Kollegen GbR	
	C.H.U Nice	Universitaetsklinikum Muenster	
	C.H.U De Nancy	MVZ Dr. Eberhard & Partner	
	CHRU DE LILLE	Gesellschaft f. MVZ GbR	
	CHU ANGERS	Drs. Wisplinghoff & Kollegen	
	CHU BESANCON HOPITAL J MINJOZ	Universitaetsklinikum Koeln	
	CHU BREST	Universitaetsklinikum Aachen	
	CHU DE CAEN	Universitaetsklinikum Bonn	
	CHU DE NANTES	Universitaetsmedizin Mainz	
	CHU DE POITIERS	Rhein-Mosel-Fachklinik	
	CHU de Reims	Universitaetsklinikum Gießen	
	CHU de ROUEN	Bioscientia GmbH	
	CHU LIMOGES	Johannes-Gutenberg-Universität	
	CHU RENNES	Drs. Limbach & Kollegen	
	HCL Groupement Hospitalier Est	Universitaetsklinikum Heidelberg	
	Institut Fédératif de Biologie (Toulouse)	Friedrich-Schiller-Universität	
	CHU Clermont-Ferrand	Universitaetsklinikum Tuebingen	
	LABORATOIRE CERBA	MVZ Prof. Dr. Seelig GbR	
	CHU Strasbourg	Klinikum Ulm im Versorgungs-	
	AP/HP de Marseille	RKU - Universitaets- und	
	Selarl Astralab (Limoges)	Labor	
	AP/HP SH Labirboisière	Apotheke Klinikum Innenstadt	
	Italia	PROV.LOMBARDA VENETA-ORD.OSPEDAL.	Klinikum Innenstadt
		REG.LOMBARDIA - FONDAZ.IRCCS DI	Dr. med. Olgemoeller & Becker
		AZ. OSP. SPEDALI CIVILI DI BRESCIA	Klinikum rechts der Isar
AZIENDA ULSS 6 VICENZA		ALPHAGEN Gesellschaft f.	
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI FIRENZE		Universitaetsklinikum Dresden	
AZIENDA OSPEDALIERA PERUGIA		Dr. Piontek/ Dr. Bochmann	
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BOLOGNA		Synlab Med.Vers.zentrum Weiden GmbH	
DIAGNOSTICA E RICERCA		Universitaet Erlangen-Nuernberg	
AZ.UNITA' SANIT.LOCALE DI BOLOGNA		Universitaetsklinikum Wuerzburg	
MULTIMEDICA HOLDING S.p.A.		Zentralklinikum Augsburg	
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO		Heinrich-Braun - Klinikum	
ESTAV SUD-EST		Holanda	
ASL TO 2		UMC ST RADBOUD	
ASL TO 1		ERASMUS MC-Ziekenhuis	
FONDAZIONE PTV		VU medisch Centrum	
FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA		USA	
CASA DI CURA MULTIMEDICA S.p.a.		Athena Diagnostics	

Fuente: Innogenetics Diagnóstica Iberia, S.L. (Enero, 2012)

**Nota:** 1) Este listado incluye solo los usuarios de biomarcadores de INNOGENETICS. Evidentemente esto no excluye que haya muchos centros en cada uno de los países que usen los mismos marcadores en rutina, pero con otros productos comerciales. 2) Igualmente, solo se mencionan los países de los que se dispone de información (aunque no se especifica cuáles son del Sistema Sanitario Público y cuáles no). 3) En el caso concreto de Estados Unidos, por temas de patentes, solo el laboratorio privado Athena Diagnostics puede realizar estas pruebas, recibiendo muestras de todos los estados. 4) Existen muchos otros centros que son usuarios de biomarcadores en LCR, principalmente en los países nórdicos pero al operar a través de distribuidores locales no se tiene acceso a los listados oficiales de clientes.