

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS
"DR. SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ"
SANTA CLARA, VILLA CLARA

ARTÍCULO DE REVISIÓN

MARCADORES BIOLÓGICOS. APUNTES RECIENTES EN RELACIÓN CON LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Por:

Dr. Rafael Marcel Ranzola¹, Lic. Julio Junco Cuesta² y Dra. CM. Olga L. González González³

1. Especialista de I Grado en Medicina General Integral y Bioquímica Médica. Facultad de Medicina. Asistente. UCM-VC. e-mail: sublevel68@yahoo.es
2. Licenciado en Bioquímica General. Hospital Universitario "Dr. Celestino Hernández Robau". Santa Clara, Villa Clara. Asistente. Laboratorio de Medicina Nuclear.
3. Doctora en Ciencias. Especialista de II Grado en Bioquímica. Profesora Titular. UCM-VC.

Resumen

La enfermedad de Alzheimer incrementa aceleradamente su incidencia y prevalencia global, y está considerada hoy día entre los principales problemas de salud pública en el mundo. La formación y depósito de agregados proteicos amiloides y ovillos neurofibrilares en el cerebro de las personas afectadas, son rasgos distintivos de dicha enfermedad. Actualmente, con un fin diagnóstico, se suelen cuantificar determinados biomarcadores, tanto bioquímicos como por neuroimagen. La estrategia de la utilización de estos apunta hacia su uso combinado para mejorar la certeza del diagnóstico clínico de la enfermedad, así como para la distinción del Alzheimer de controles y de sujetos con otras demencias, evaluación de nuevos tratamientos, e incluso, en la predicción de la evolución de los pacientes con deterioro cognitivo leve.

Descriptor DeCS:
ENFERMEDAD DE
ALZHEIMER/epidemiología
MARCADORES BIOLÓGICOS

Subject headings:
ALZHEIMER DISEASE/epidemiology
BIOLOGICAL MARKERS

La demencia es una de las condiciones que puede afectar a un anciano, pero debe distinguirse de las alteraciones cognitivas inherentes al envejecimiento normal¹. Para decir que un individuo padece una demencia, debe tener una disminución del nivel cognitivo, en especial de la memoria, alteraciones conductuales y pérdida de la independencia, con un grado de deterioro en el control emocional y en el comportamiento social o de la motivación, que interfiera en las actividades cotidianas del enfermo y en su funcionamiento social y ocupacional²⁻⁵.

En la actualidad, se estima que existen en el mundo veintidós millones de personas con demencia, con una prevalencia media de 3 -15 % en mayores de 65 años e incidencia de 0,3 - 0,7 %⁶. La enfermedad de Alzheimer (EA), con un 60 - 80 % de presentación, constituye la demencia más frecuente⁶⁻⁹. Su prevalencia se duplica cada cinco años, a partir de los 65 hasta los 85 años.

La Organización Mundial de la Salud estimó que, en el año 2005, el 0,379 % de las personas a nivel mundial tenían demencia, y que la prevalencia aumentaría a un 0,441 % en el 2015 y a un

0,556 % en el 2030^{5,11}. Otro estudio estimó que en el año 2006 un 0,4 % de la población mundial (unos 26,6 millones) se vería afligido por la EA, y que la prevalencia se cuadruplicaría a 106,6 millones para el año 2050¹². Tales estimaciones ubican la EA entre las seis afecciones incluidas como un serio y creciente problema en el orden médico, económico, social y humano, en relación con la salud mental, y dadas las tendencias demográficas actuales, esta enfermedad ha sido llamada “la epidemia del siglo”^{3,6,13}.

La EA es una enfermedad neurodegenerativa, de carácter progresivo y, hasta ahora, incurable, que condiciona un deterioro cognitivo y funcional grave de la persona afectada¹⁰. Alois Alzheimer, un psiquiatra y neuropatólogo alemán, describió en el año 1906 la enfermedad como una demencia progresiva presenil antes de los 65 años, cuyos hallazgos patológicos fueron: atrofia cerebral, depósitos neurofibrilares (conocidos hoy día como “ovillos neurofibrilares”) y placas en la corteza cerebral (ahora llamados “placas de amiloide”). La presencia de estas placas y ovillos en el cerebro se consideran actualmente el sello característico de la EA¹⁴⁻¹⁶.

Actualmente, no existen pruebas diagnósticas estandarizadas aplicables en la práctica clínica sistemática para diferenciar fiablemente las distintas formas de demencia. El diagnóstico se basa en criterios clínicos que permiten una aproximación diagnóstica “de probabilidad”, una vez que se han descartado otras causas metabólicas, vasculares o estructurales¹⁷⁻²⁰. Para la EA no existe un método clínico que permita su diagnóstico en una fase previa a la demencia, y que determine qué casos evolucionarán hacia la presentación de un síndrome demencial⁹.

Se hace necesario, por tanto, contar con pruebas que, más allá de descartar otros trastornos, puedan ayudar a conocer el proceso patológico subyacente. Tales pruebas se denominan marcadores biológicos o biomarcadores. Un biomarcador es cualquier característica medida objetivamente que refleje procesos normales o patológicos, o respuestas a intervención terapéutica. Estos, ya sean bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, deben ser medibles y reproducibles^{17,19,21} y pueden emplearse para diagnosticar una enfermedad, establecer su gravedad, seguir su progresión o monitorizar la respuesta a las medidas terapéuticas⁹.

La enfermedad para la que se ha investigado más en la búsqueda de biomarcadores es la EA. El biomarcador ideal para esta enfermedad debería detectar un rasgo fundamental de su neuropatología, haber sido validado en casos confirmados mediante estudio neuropatológico, tener una sensibilidad y especificidad superior al 80 % para distinguirla de otras demencias, ser fiable, reproducible, no invasivo, fácil de realizar, barato, y ser capaz de apreciar la progresión de la enfermedad y la eficacia de las intervenciones terapéuticas^{9,17,19}.

La utilidad de los biomarcadores en la EA puede establecerse a varios niveles. Los de riesgo (rasgo) identificarían a las poblaciones de riesgo; así ayudarán a tomar medidas preventivas de tipo primario o secundario. Los de diagnóstico (estado), tanto para el diagnóstico diferencial como para el diagnóstico precoz, son necesarios para confirmar la presencia de la enfermedad y seleccionar mejor a los sujetos susceptibles de algún tipo de intervención terapéutica. También lo serían los de progresión, que permitirían predecir qué sujetos van a pasar de una fase de deterioro cognitivo leve (DCL) a otra, o que van a evolucionar de forma más agresiva⁹.

Los biomarcadores aplicados a demencias se dividen en bioquímicos (basados en la determinación de la concentración de ciertas moléculas en líquido cefalorraquídeo (LCR) o en fluidos periféricos, sangre y orina), y por neuroimagen, estructural o funcional^{17,19}. Recientemente se han desarrollado métodos bioquímicos para la identificación de múltiples biomarcadores a partir de la determinación simultánea de un amplio repertorio de moléculas seleccionadas previamente. Así se llega a la obtención de “paneles” de biomarcadores, constituidos por un conjunto de moléculas, cuya determinación aporta datos de sensibilidad y especificidad más elevados que los de cualquier otra molécula determinada de forma aislada, por lo que este tipo de enfoque parece definirse como la estrategia más prometedora a medio plazo¹⁷.

Las profundas alteraciones bioquímicas y patológicas en el cerebro con EA resultan de procesos celulares, tales como el metabolismo de la proteína precursora de amiloide (APP) y de la proteína β -amiloide ($A\beta$), la fosforilación de tau, el estrés oxidativo, la inflamación y las alteraciones en la regulación lipídica. Los biomarcadores de EA intentan detectar estas alteraciones de la patofisiología de la EA en fluidos biológicos^{7,22}.

Biomarcadores en fluidos biológicos

Proteína β -amiloide en LCR

El péptido $A\beta$ se genera a partir de dos cortes enzimáticos secuenciales de beta-APP transmembrana, por las enzimas beta-secretasa y gamma-secretasa^{16,23-25}. Las especies predominantes de $A\beta$ son el péptido de 40 aminoácidos $A\beta$ 1–40 ($A\beta$ 40) y el péptido de 42 aminoácidos $A\beta$ 1–42 ($A\beta$ 42)¹⁴. Varias evidencias sugieren la función de $A\beta$ en la patogénesis de EA debido a su presencia uniforme en el cerebro de personas con síntomas clínicos de la enfermedad, en forma de placas difusas de agregados de proteínas fibrilares, de placas seniles y en formas más solubles^{14,16}. Las formas protofibrilares de $A\beta$ 42 han sugerido ser el suceso tóxico inicial que conduce al comienzo de la EA²⁵.

En el LCR de muchos pacientes con EA, se ha observado una reducción de los niveles de $A\beta$ 42¹⁷. La sensibilidad de $A\beta$ 42 disminuida en LCR para discriminar a pacientes con EA de pacientes controles promedia un 86 %, con una especificidad del 89 %¹⁴. El péptido $A\beta$ total en LCR, que consiste principalmente en $A\beta$ 40 y $A\beta$ 42, se ha encontrado solo modestamente disminuido en la EA. De esta manera, a pesar de que $A\beta$ 40 en el LCR representa una proporción mucho más alta que $A\beta$ 42, los cambios en $A\beta$ 40 no son tan marcados como los de $A\beta$ 42. Este resultado muestra que $A\beta$ 42 es un componente importante de las placas.¹⁴ Los bajos niveles de $A\beta$ 42, en la relación $A\beta$ 42/ $A\beta$ 40 en el LCR de pacientes con DCL están asociados con una elevada carga amiloide cerebral, y predicen la conversión a EA²⁶.

Proteína β -amiloide en plasma

Los niveles de $A\beta$ en LCR no se correlacionan con los niveles de $A\beta$ plasmático. Estudios en animales indican que $A\beta$ puede pasar entre el LCR y el plasma. El paso de $A\beta$ del cerebro al plasma en humanos, de ser confirmado, pudiera ser un indicador periférico de la extensión de la deposición de amiloide en el cerebro, aun antes del inicio de los síntomas de Alzheimer²².

Al comparar individuos con niveles plasmáticos bajos de $A\beta$ 42, y aquellos con niveles elevados de $A\beta$ 42, estos últimos tienen un incremento del riesgo en más de tres veces para desarrollar EA en un tiempo promedio de cuatro años y medio. El hallazgo de una disminución en el nivel plasmático de $A\beta$ 42, pero no del nivel de $A\beta$ 40 (baja relación $A\beta$ 42/ $A\beta$ 40) al repetir la toma de sangre a determinado tiempo, se ha relacionado con el comienzo de la enfermedad; por tanto, estos se consideran indicadores sensibles de conversión reciente a EA²⁶.

Se postula que el declinar de $A\beta$ 42 en el plasma refleja la compartimentación de péptidos $A\beta$ en el cerebro, a partir del acúmulo de $A\beta$ 42 en placas seniles o la formación de oligómeros semisolubles. La disminución de los niveles de $A\beta$ 42 protofibrilar se relaciona con el inicio de alteraciones cognitivas²⁶.

Proteína Tau

Tau y tau fosforilada (p-tau) son biomarcadores potenciales de EA en LCR^{14,19}. Numerosos estudios han identificado tau total elevada en LCR, como característica de la EA. Sin embargo, tau total también puede encontrarse elevada en otras condiciones neurológicas¹⁴. Tau es una proteína involucrada en el ensamblaje de los microtúbulos mediante las subunidades de tubulina, y está ampliamente presente en el cerebro. Las acumulaciones intracelulares anormales de tau constituyen la segunda marca patológica característica de EA, en adición a las placas que contienen amiloide¹⁴.

Las inclusiones de tau en la EA son llamadas ovillos neurofibrilares. Ellos consisten en agregados anormales de tau en forma de pares torcidos o filamentos helicoides¹⁴. Esta forma de tau es anormalmente fosforilada en unos 30 sitios a lo largo de la proteína (sitios 181, 199, 231, 235, 396 y 404), pero existen tres sitios involucrados con mayor frecuencia, que incluyen los aminoácidos en posición 181, 199 y 231^{15,19}. Estas formas están elevadas en el LCR de los pacientes con EA, y las concentraciones de las tres aparentan estar linealmente relacionadas. Se ha determinado en ellas una sensibilidad similar; no obstante, la p-treonina 231 tiene mayor especificidad para la EA, en relación con otras formas de demencia¹⁹.

Tau elevada en LCR de pacientes con EA, comparada con la de sujetos sanos, muestra una sensibilidad promedio de un 81 % y una especificidad promedio de un 91 %. P-tau en LCR tiene una habilidad similar para discriminar sujetos con EA de controles sanos^{14, 17}. Debido a que la EA es marcada por una fosforilación anormal de tau, p-tau puede ser más específica para la EA y permitir la discriminación de EA de otras condiciones con daño neuronal que cursen con p-tau elevada. Mediciones de p-tau en estudios recientes demuestran mejoría en la precisión del diagnóstico, y especialmente en la diferenciación de otras demencias¹⁴.

La probada utilidad de A β 42 y tau como biomarcadores ha llevado a su uso combinado. Hoy día existen varios estudios en los cuales la ejecución del diagnóstico de la combinación de tau total en LCR y A β 42 ha sido evaluada, y se ha obtenido una mejoría del diagnóstico comparado con el uso de cualquier método aislado^{17,19,20}. Las concentraciones de tau total, p-tau y A β 42 parecen estar ya alteradas en los pacientes con DCL, que posteriormente evolucionarán a EA, por lo que se trata de una excelente herramienta de diagnóstico para poder identificar a los sujetos con DCL con mayor riesgo de evolucionar hacia la EA¹⁷.

En la mayoría de los estudios, la sensibilidad y la especificidad para la combinación de estos dos biomarcadores han sido ligeramente elevadas (89 % y 90 %, respectivamente), con relación a tau total (81% y 91%) y A β 42 (86 % y 89 %) solas. Otras combinaciones de biomarcadores en LCR han resultado también ligeramente mejores diagnósticos que el uso de marcadores aislados. En un estudio de la combinación de p-tau 181 y A β 42, la sensibilidad fue del 86 % y la especificidad del 97 %, y en otro estudio de combinación de tau total, el LCR y p-tau 396/404, se encontró una sensibilidad del 96 % y una especificidad de 100 %^{14,17,19}. Frente a otros procesos neurodegenerativos, estos indicadores son más débiles^{9,17}.

Neurofilamentos

Son proteínas constituyentes del citoesqueleto de las neuronas. Los niveles elevados de estas pueden reflejar degeneración neuronal. Su medición en el LCR resulta útil para diferenciar entre demencia frontotemporal (DFT) (con niveles elevados) y EA de inicio precoz. La determinación conjunta con A β 42 y p-tau 181 aumenta la precisión de estos²⁷.

Kalicreína tipo 6 (hk6)

También conocida como neurosina, zyme o proteasa M, es una serín proteasa “similar a tripsina” y es expresada principalmente en el cerebro humano. La hk6 se localiza en las placas seniles y ovillos neurofibrilares en el parénquima cerebral de pacientes con EA. El mecanismo patogénico por el que la hk6 puede estar implicada en la EA parece ser, en cierto modo, debido a que hk6 posee propiedades amiloidogénicas¹⁰.

La proteína beta amiloide fibrilar (fA β), que es uno de los principales componentes de las placas amiloides que aparecen en la EA, inhibe la actividad proteásica de ciertas proteínas (proteasa bovina cerebral de alto peso molecular y la tripsina)²⁷, y probablemente también inhiba a hk6. Además, fA β es resistente a la acción proteolítica de la tripsina desde fases tempranas de la enfermedad, cuando se comienzan a formar los agregados de beta-amiloide. Todo ello sugiere que la fibrilación de A β puede afectar al propio aclaramiento de A β por la inhibición de proteasas cerebrales, con lo que se cierra un círculo vicioso que hace progresar la enfermedad¹⁰. Otra hipótesis es que hk6 regula el balance de las distintas secretasas que procesan la proteína beta amiloide, lo que deshace el equilibrio fisiológico en favor de la beta secretasa que genera el A β 42, que no puede ser eliminado, y se desencadena así la cascada amiloide¹⁰.

En pacientes con EA, la concentración de hk6 en LCR es tres veces superior a los controles¹⁰. Otros estudios recientes afirman lo contrario¹⁷. En sangre, se ha encontrado una concentración 10 veces superior a la normal¹⁰. Otros autores indican que la concentración de hk6 también decae en la sangre de pacientes con EA, y difiere de los controles y de los pacientes con demencia vascular y pseudodemencia depresiva (donde se encuentra elevada)¹⁷. Recientemente se ha demostrado que en pacientes con DCL la determinación de la concentración plasmática de hk6 puede ayudar a predecir la evolución del paciente: hacia EA (de estar disminuida) o hacia demencia vascular (de encontrarse elevada)¹⁷.

Homocisteína

Es un aminoácido con un grupo tiol involucrado en el ciclo de la metionina, como producto de la desmetilación de la metionina (la cual puede subsecuentemente ser remetilada en procesos dependientes de vitamina B12 y folato) y en la vía de transulfuración (en la cual es irreversiblemente convertida a cistationa en proceso vitamina B6)²². Investigaciones recientes sugieren que niveles elevados de homocisteína en plasma pueden contribuir a la disminución de la función neurocognitiva y a la EA²⁸.

Muchas vitaminas del complejo B están involucradas en el metabolismo de la homocisteína. Se han encontrado bajas concentraciones séricas o plasmáticas de ácido fólico y B12 asociadas a la EA en un gran número de estudios. Las deficiencias de folato, vitamina B12 y, en menor grado, de vitamina B6, se asocian al incremento de las concentraciones de homocisteína en plasma; así, la hiperhomocisteinemia ha sido propuesta como indicador de inadecuados niveles de esas vitaminas^{22,28}. Una baja ingestión dietética y bajas concentraciones de riboflavina en plasma se asocian con elevadas concentraciones de homocisteína²⁸.

Niveles inadecuados de esas vitaminas pueden conducir a una insuficiente metilación de homocisteína a metionina y, a su vez, a una síntesis reducida de S-adenosylmetionina, donador universal de grupos metilos, los cuales, en cambio, podrían restringir la disponibilidad de los grupos metilos que son esenciales para el metabolismo de la mielina, neurotransmisores y membrana de fosfolípidos. Esta hipometilación podría alterar algunas vías metabólicas específicas del cerebro, responsables del deterioro cognitivo²⁸. El exceso de homocisteína también tiene un efecto dañino sobre las paredes de los vasos sanguíneos. En la EA y en la demencia vascular, se han encontrado concentraciones elevadas de homocisteína²⁸.

Colesterol y 24S-Hidroxicolesterol

Algunos estudios han asociado altos niveles de colesterol con un riesgo incrementado de EA o alteraciones cognitivas; otros no muestran asociación significativa. El 24 S-Hidroxicolesterol plasmático refleja la homeostasis cerebral del colesterol más cerca que el colesterol total plasmático. El exceso de colesterol en el cerebro es convertido en 24S-Hidroxicolesterol, un oxisterol cerebral específico que cruza rápidamente la barrera hematoencefálica. Los niveles de 24S-Hidroxicolesterol plasmático representan un balance entre la producción en el cerebro y el metabolismo en el hígado. Los niveles plasmáticos muestran una débil, si acaso, correlación con los niveles en el LCR. El nivel de 24S-Hidroxicolesterol se ha encontrado elevado en el LCR de pacientes con EA, y elevado inconsistentemente en el plasma de estos pacientes^{22,29}.

Apolipoproteína-E

Esta es una proteína plasmática implicada en el transporte del colesterol y otros lípidos en los diferentes tejidos. Es sintetizada primariamente por el hígado y el cerebro, y constituye la principal apolipoproteína expresada en el tejido cerebral, preferentemente en la glía. La isoforma más frecuente (constituye el 78 % de los alelos presentes en la población caucasiana) es la E3. La E4 es menos frecuente (15 % de alelos en la población caucasiana), y la isoforma menos frecuente es la E2 (7 %). El hallazgo del grupo de investigadores de *Duke* (USA) fue que los enfermos con una EA familiar, tanto de comienzo tardío como en los casos esporádicos, presentaban una frecuencia del alelo E4 mucho más alta (entre 35-45 %) que en los controles tomados de la población normal (entre 10-15 %)³⁰.

El alelo ApoE e4 está asociado con un riesgo incrementado de EA, comienzo temprano de EA, elevada formación de placa amiloide, y niveles elevados de Aβ40 en el cerebro con EA. El genotipo ApoE influye en los niveles de proteína ApoE, con el alelo ApoE e4, y está asociado con menos proteína ApoE en el plasma. No se ha encontrado una asociación consistente de los niveles séricos o plasmáticos de proteína ApoE con el diagnóstico, cuando se ha controlado por el genotipo ApoE; algunos estudios han documentado elevados niveles de ApoE en EA, no diferencias, o niveles reducidos en relación con los controles²².

El genotipo e4 de la ApoE se ha asociado también a un mayor riesgo de desarrollo de EA de comienzo tardío (a partir de los 65 años). Este efecto es aditivo, en el sentido de que una copia de e4 (e2/e4 o e3/e4) ya implica cierto riesgo; dos copias (e4/e4) se asocian a mayor riesgo de EA. No obstante, debe tenerse presente que este riesgo es relativo. La mayor parte de individuos con el genotipo ApoE e4 no desarrollará nunca Alzheimer, y muchos de los pacientes con EA no presentan este genotipo³¹.

Isoprostanos

Son miembros de una compleja familia de productos de la oxidación lipídica derivados del ataque mediado por especies reactivas del oxígeno a ácidos grasos libres o esterificados. Un grupo de ellos, llamados isoprostanos F2 (IPF2A), están presentes en cantidades detectables en todos los fluidos biológicos normales y tejidos¹⁹.

Las concentraciones de IPF2A están elevadas en el cerebro, LCR y plasma de los pacientes con EA, comparado con los controles²². Algunos estudios correlacionan, directamente, las concentraciones de IPF2A en el LCR con concentraciones de tau total, e inversamente, con los niveles de Aβ42. En pacientes con alteraciones cognitivas leves, las concentraciones en LCR de IPF2A son intermedias entre las de pacientes con EA y las de sujetos controles; resulta interesante que pacientes con alteraciones cognitivas leves que progresan hacia la EA tienen mayores concentraciones que aquellos que no la tienen^{9,19}.

La combinación de mediciones en el LCR de Aβ42, tau e IPF2A ha permitido diagnosticar la EA con una sensibilidad del 84 % y una especificidad del 89 %. En otro estudio, el mismo grupo de marcadores permitió clasificar correctamente el 88,5 % de los pacientes, de acuerdo con su diagnóstico clínico o histopatológico⁹.

Proteína fibrilar neuronal

Es una fosfoproteína de membrana cuya expresión se encuentra aumentada en la fase fetal, en ciertas enfermedades tumorales y en la EA. Es la más avalada por más estudios, si bien los resultados no son del todo concluyentes. Se han encontrado niveles aumentados en LCR, plasma y orina de pacientes con EA, donde se sobreexpresa, desde estadios iniciales, en el cerebro de estos pacientes^{9,17}.

Summary

Alzheimer's disease increases rapidly its global incidence and prevalence, and it is currently considered as one of the main public health problems in the world. This disorder is characterized by the formation in the brain of amyloid protein aggregates and neurofibrillary tangles. Nowadays and with diagnostic purposes certain biochemical and neuroimaging biomarkers can be quantified. The strategy for biomarkers has a tendency towards their combined use for the improvement of the disease clinical diagnosis, as well as for the differentiation of the Alzheimer's disease in control and subjects; also to differentiate it from other dementias, treatment evaluation and even in the prediction of the evolution of patients with a mild cognitive deterioration.

Referencias bibliográficas

1. ADEAR [Internet]. Estados Unidos: Alzheimer's Disease Education and Referral, NIH No. 01-4013S2006; c2006-09 [actualizado el 5 de mayo de 2009; citado el 10 de octubre de 2009]. Disponible en: http://www.nia.nih.gov/Alzheimers/Publications/factsheet_sp.htm
2. Martínez Quirol C, Pérez Martínez VT, Carballo Pérez M, Varona Herrera G. Estudio clínico y epidemiológico del síndrome demencial. Rev Cubana Med Gen Integr [Internet]. 2005 [citado el

- 12 de septiembre de 2009];21(3-4):[aprox. 2 p]. Disponible en:
http://www.bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol21_3-4_05/mgi133-405.pdf
3. Pérez Perdomo M. Las intervenciones dirigidas a los cuidadores de adultos mayores con enfermedad de Alzheimer. Rev Haban Cienc Méd [Internet]. 2008 [citado el 12 de enero de 2009];7(3):[aprox. 5 p]. Disponible en:
http://www.ucmh.sld.cu/rhab/rhcm_vol_7num_3/rhcm07308.pdf
 4. Fernández Montenegro MA, Paulo Marin P. Progresos en la enfermedad de Alzheimer. Temas de Medicina Interna [Internet]. 2001 [citado el 2 de marzo de 2009];[aprox. 4 p]. Disponible en:
<http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/TemasMedicinaInterna/Alzheimer.html>
 5. World Health Organization. Neurological Disorders: public health challenges [Internet]. Switzerland: WHO publications; 2006 [cited in the 2009 Jun 8]. Disponible en:
http://www.who.int/mental_health/neurology/neurological_disorders_report_web.pdf
 6. Llibre Guerra JC, Guerra Hernández MA, Perera Miniet E. Comportamiento del síndrome demencial y la enfermedad de Alzheimer. Rev Haban Cienc Méd [Internet]. 2008 Ene-Feb [citado el 24 de febrero de 2009];7(1):[aprox. 17 p.]. Disponible en:
http://www.ucmh.sld.cu/rhab/rhcm_vol_7num_1/rhcm04108.pdf
 7. Verbeek MM, Rikkert O. Cerebrospinal Fluid Biomarkers in the Evaluation of Alzheimer's Disease. Clin Chem [Internet]. 2008 [citado el 23 de enero de 2009];54:[aprox. 2 p.]. Disponible en:
<http://www.clinchem.org/cgi/content/extract/54/10/1589>
 8. Urdaneta E, Barrenetxea J, Melero Fernández de Mera RM, Jordán J. Mecanismos reparadores neuronales en la enfermedad de Alzheimer. Rev Esp Geriatr Gerontol [Internet]. 2006 [citado el 15 de abril de 2009];42 Supl 2:[aprox. 4 p.]. Disponible en:
<http://www.uclm.es/profesorado/jjordan/pdf/review/20.pdf>
 9. Martín Carrasco M. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer: definición, significación diagnóstica y utilidad clínica. Psicogeriatría [Internet]. 2009 [citado el 15 de abril de 2009];1 (2):[aprox. 24 p.]. Disponible en:
<http://www.imsersomayores.csic.es/documentos/boletin/2009/numero-78/art-09-09-01.pdf>
 10. Pérez Piñera P, Suárez A, Castro P, Blázquez-Menes B, Menéndez González M. Kalikreína 6 como biomarcador de la enfermedad de Alzheimer. Revisión y descripción de metodología propia para su clonación y purificación. Arch Med [Internet]. 2005 [citado el 5 de mayo de 2009];1(2):[aprox. 9 p.]. Disponible en:
<http://archivosdemedicina.com/files/2/webpgs/kalikreina.html>
 11. Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. Lancet [Internet]. 2005 [citado el 2 de marzo de 2009];366 (9503):[aprox. 2 p.]. Disponible en:
<http://download.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140673605678890.pdf?id=9d3ded37aa4dcc76:-1bf4948e:120f81ebc21:-523b1241115038927>
 12. Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, MH Arrighi. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. Berkeley Electronic Press J [Internet]. 2007 [citado el 5 de mayo de 2009]; 130:[aprox. 4 p.]. Disponible en:
<http://www.bepress.com/cgi/viewcontent.cgi?article=1130&context=jhubiostat>
 13. Llibre Guerra JC, Peraza Miniet E, Soto Vázquez M, Dopazo Alonso M. Impacto biológico, psicosocial del síndrome demencial en cuidadores cruciales. Rev Cubana Med Gen Integr [Internet]. 2008 [citado el 2 de febrero de 2009];24(1):[aprox. 3 p.]. Disponible en:
http://bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol24_1_08/mgi05108.htm
 14. Steinerman JR, Honig LS. Laboratory Biomarkers in Alzheimer's Disease. Curr Neurol Neurosci Rep [Internet]. 2007 [citado el 25 de mayo de 2009];7(5):[aprox. 7 p.]. Disponible en:
<http://www.springerlink.com/content/c861875p4x207142/fulltext.pdf>
 15. Guerreiro N, Gomez Mancilla B, Williamson B, Minkoff M, Guertin S. Proteomic Profiling of Cerebrospinal Fluid by 8-Plex iTRAQ Reveals Potential Biomarker Candidates of Alzheimer's Disease. Clin Proteom [Internet]. 2009 [citado el 8 de enero de 2009];5:[aprox. 2 p.]. Disponible en:
<http://www.springerlink.com/content/m553253782m5w730/fulltext.pdf?page=1>
 16. Tapia Saavedra A. Proponiendo biomarcadores para evaluar las alteraciones en la homeostasis cerebral de hierro y su relación con la fisiopatología de la enfermedad de

- Alzheimer. Rev Chil Neuro-psiquiatr [Internet]. 2007 [citado el 11 de noviembre de 2009];45(1): [aprox. 3 p.]. Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272007000100007 &lng=es
17. Martínez Rivera M, Menéndez González M, Calatayud MT, Pérez Piñera P. Biomarcadores para la enfermedad de Alzheimer y otras demencias degenerativas. Arch Méd [Internet]. 2008 [citado el 11 de noviembre de 2009];4(3):[aprox. 6 p.]. Disponible en:
<http://archivosdemedicina.com/ojs/index.php/archmed/article/view/96/123>
 18. Lovestones S, Mcloughlin DM. Protein aggregates and dementia: Is there a common toxicity?. J Neurol Neurosurg Psychiatry [Internet]. 2002 [citado el 5 de mayo de 2009];72(2):[aprox. 109 p.]. Disponible en:
<http://jnnp.nmijournals.com/cgi/content/full/72/2/152>
 19. Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, Klunk WE, Weiner MW, Zetterberg H, et al. The Role of Biomarkers in Clinical Trials for Alzheimer's Disease. Alzheimer Dis Assoc Disord [Internet]. 2006 [citado el 11 de noviembre de 2009];20(1):[aprox. 15 p.]. Disponible en:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1820855&blobtype=pdf>
 20. Yaari R, Corey Bloom J. Alzheimer's Disease: Diagnosis. Semin Neurol [Internet]. 2007 [citado el 15 de abril de 2009];27(1):[aprox. 1 p.]. Disponible en:
http://www.medscape.com/viewarticle/553256_6
 21. Aisen PS. Alzheimer's disease therapeutic research: the path forward. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2009 [citado el 15 de abril de 2009];1(2):[aprox. 8 p.]. Disponible en:
<http://alzres.com/content/pdf/alzrt2.pdf>
 22. Irizarry MC. Biomarkers of Alzheimer's Disease in Plasma. NeuroRx [Internet]. 2004 [citado el 10 de marzo de 2009];1(2):[aprox. 10 p.]. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC534932/pdf/neurorx001000226.pdf>
 23. Alzheimer's disease unraveling the Mystery [Internet]. United States : Department of Health and Human Services; 2008 [citado el 2 de febrero de 2009].. Disponible en:
http://www.nia.nih.gov/NR/rdonlyres/0FA2EE06-0074-4C45-BAA3-34D5617_0EB8B/0/Unraveling_final.pdf
 24. Robichaud AJ, Rotella DP. Alzheimer's Disease: A Light at the End of the Tunnel? Drug Development Research [Internet]. 2009 [citado el 23 de enero de 2009];70:[aprox. 3 p.]. Disponible en:
<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/122267240/PDFSTART>
 25. Schupf N, Tang MX, Fukuyama H, Manly J, Andrews H, Mehta P, et al. Peripheral Aβ subspecies as risk biomarkers of Alzheimer's disease. Proc Natl Acad Sci U.S.A [Internet]. 2008 [citado el 15 de abril de 2009];105(37):[aprox. 11 p.]. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2544577/pdf/zpq14052.pdf>
 26. De Jong D, Jansen RW, Pijnenburg YA, van Geel WJ, Borm GF, Kremer HP, et al. CSF neurofilament proteins in the differential diagnosis of dementia. J Neurol Neurosurg Psychiatry [Internet]. 2007 [citado el 12 de noviembre de 2009];78(9):[aprox. 5 p.]. Disponible en:
<http://jnnp.bmj.com/content/78/9/936.full>
 27. Chauhan V, Sheikh A, Chauhan A, Spivack W, Fenko M, Malik M. Fibrillar amyloid beta-protein inhibits the activity of high molecular weight brain protease and trypsin. J Alzheimer's Dis [Internet]. 2005 [citado el 23 de noviembre de 2009];7:[aprox. 1 p.]. Disponible en:
<http://www.garfield.library.upenn.edu/histcomp/j-alzheimers-disease>
 28. Lenyau Domínguez Y, Macías Matos C. Deficiencia de vitaminas y enfermedad de Alzheimer. Rev Cubana Salud Pública [Internet]. 2005 [citado el 24 de septiembre de 2009];31(4):[aprox. 6 p.]. Disponible en:
<http://scielo.sld.cu/pdf/rcsp/v31n4/spu09405.pdf>
 29. Ledesma MD, Dotti CG. Amyloid excess in Alzheimer's disease: What is cholesterol to be blame for? FEBS Letters [Internet]. 2006 [citado el 5 de octubre de 2009];580(23):[aprox. 7 p.]. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16814780>
 30. Llibre Rodríguez JJ, Guerra Hernández M. Actualización sobre la enfermedad de Alzheimer. Rev Cubana Med Gen Integr [Internet]. 2002 [citado el 23 de noviembre de 2009];18(4):[aprox. 3 p.]. Disponible en:
http://bvs.sld.cu/revistas/mgi/vol18_4_02/mgi0742002.htm

31. Lab Tests Online [Internet]. Estados Unidos: American Association for Clinical Chemistry; c2009 [actualizado el 16 de marzo de 2009; citado el 5 de mayo de 2009]. Disponible en: <http://www.labtestsonline.es/tests/ApoEGenotyping.html?lnk=2>

Recibido: 10 de diciembre de 2009

Aprobado: 16 de febrero de 2010