

Artículo de Revisión

Biomarcadores para la Enfermedad de Alzheimer y otras demencias degenerativas

Martínez-Rivera M^{1,*}, Menéndez-González M¹, Calatayud MT², Pérez-Piñera P³.

¹Servicio de Medicina Interna. Hospital Álvarez-Buylla, Mieres, España. ²Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, España. ³Departamento de Morfología y Biología Celular. Facultad de Medicina, Oviedo, España.

*Correspondencia: Dra. Marta Martínez-Rivera. E-mail: maildemarta@gmail.com

Archivos de Medicina 2008, 4(3):3 doi: 10.3823/004

Artículo disponible en: <http://www.archivosdemedicina.com>

© 2008 Martínez-Rivera et al; Esta obra está bajo licencia de [Creative Commons](http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/).

En el momento actual no existen pruebas diagnósticas estandarizadas que se puedan aplicar en la práctica clínica rutinaria para diferenciar fiablemente las distintas formas de demencia. Se hace necesario, por tanto, contar con pruebas que más allá de descartar otros trastornos puedan ayudar a identificar el proceso patológico subyacente. En esta revisión ofrecemos una clasificación y actualización de resultados de aquellas pruebas que han demostrado mayor utilidad para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Así, se revisan los marcadores bioquímicos estudiados en fluidos corporales (líquido cefalorraquídeo, sangre y orina) donde actualmente destaca la estrategia de determinación conjunta de un grupo de moléculas (panel) que ha demostrado utilidad en la distinción de Alzheimer de controles y de sujetos con otras demencias e incluso en la predicción de evolución de pacientes con deterioro cognitivo leve. Respecto a los marcadores por neuroimagen se repasan los resultados obtenidos en estudios de activación cerebral regional, estudios volumétricos, espectro de aminoácidos y metabolitos, estudios de densidad regional de proteínas de depósito, estudios de densidad de neurotransmisores, estudios de receptores y proteínas transportadoras de neurotransmisores y estudios de perfusión regional y vasoreactividad cerebral. Finalmente se repasan los hallazgos más significativos en el estudio de demencias por electroencefalografía.

Biomarkers for Alzheimer's disease and other neurodegenerative dementias

Nowadays there are no standardized diagnostic test to use in clinical practice to reliable distinguish among the different forms of dementia. It is a great need to count with diagnostic test providing the capacity of indentify the underlying process further that just ruling out other disorders. In this review we provide a classification and an update of the test that have proved to be more useful in the diagnosis of Alzheimer's disease and other dementias. Thus, biomarkers from body fluids (cerebrospinal fluid, blood and urine) are reviewed. Several studies show that the use of a panel of biomarkers derived from proteomic analysis is an advantageous way to distinguish Alzheimer from normal, and other dementia subjects and even in predicting mild cognitive impairment evolution. Regarding neuroimaging biomarkers, results coming from regional brain activation studies, volumetric studies, spectroscopia, regional deposit of proteins density studies, neurotransmitters density studies, receptors and neurotransmitter transporters studies, brain regional perfusion and vasoreactivity studies are addressed. Finally, the most significant findings in electroencephalography are quoted.

Introducción al diagnóstico biológico de la demencia

En el momento actual no existen pruebas diagnósticas estandarizadas que se puedan aplicar en la práctica clínica rutinaria para diferenciar fiablemente las distintas

formas de demencia. El diagnóstico se basa en criterios clínicos que permiten una aproximación diagnóstica “de probabilidad” una vez se han descartado otras causas metabólicas, vasculares o estructurales. Se hace necesario, por tanto, contar con pruebas que más allá de descartar otros trastornos puedan ayudar a conocer el proceso patológico subyacente. Estas pruebas se

denominan biomarcadores. Los marcadores biológicos o biomarcadores son parámetros medibles, ya sean bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, que se asocian a un determinado proceso mórbido. Las aplicadas a demencias pueden dividirse en bioquímicas, cuando se basan en la determinación de la concentración de ciertas moléculas en LCR o en fluidos periféricos; y por neuroimagen, bien estructural o bien funcional.

Aunque todavía se encuentran más en el campo de la investigación que en el quehacer rutinario de los clínicos, cada vez son más los estudios sobre biomarcadores que, Sin duda, estas pruebas, que hoy en día resultan propias de un entorno de investigación y aún aparentan ser “futuristas”, irán ocupando un lugar en la evaluación de algunos casos conforme vayan demostrando su utilidad. Por el momento, la enfermedad para la que se ha investigado más en la búsqueda de biomarcadores es, con mucho, la Enfermedad de Alzheimer (EA). De acuerdo con el documento consenso para la búsqueda de biomarcadores en la EA [1], el biomarcador ideal debería: detectar una característica fundamental de la neuropatología de la enfermedad, haber sido validado en casos confirmados mediante estudio neuropatológico, tener una sensibilidad y especificidad superior al 80% para distinguir respecto a otras demencias y ser fiable, reproducible, no invasivo, fácil de realizar y accesible económicamente. Algunos de estos biomarcadores ya han comenzado a incluirse en los criterios diagnósticos más recientes de la EA [2].

En esta revisión ofrecemos una clasificación y actualización de resultados de aquellas pruebas que han demostrado mayor utilidad para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer y otras demencias.

Biomarcadores bioquímicos

Hasta la actualidad se han estudiado numerosas moléculas que determinadas en fluidos periféricos puedan facilitar el diagnóstico de las demencias. Los resultados son muy dispares; una calificación de los mismos puede encontrarse en la revisión realizada por “The NIA initiative on neuroimaging in Alzheimer’s disease” [3]. 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 [4,5]. 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 abordajes parece definirse como la estrategia más prometedora a medio plazo.

A continuación se comentan brevemente los biomarcadores con estudios más concluyentes,

clasificados en función del fluido biológico en el que se determinan.

LCR

Si bien los criterios que definen cómo sería el biomarcador ideal para la EA incluye que la prueba sea mínimamente invasiva [1], se ha demostrado que la punción lumbar, realizada incluso con fines de investigación, puede practicarse con buena tolerancia por parte del paciente (tanto dementes como no dementes) y con baja incidencia de efectos adversos [6]. Un problema añadido, y de peor solución, es la necesidad de que el LCR no se haya contaminado en absoluto con sangre, lo que no siempre es fácil de conseguir e incluso de demostrar, ya que la ausencia de hematíes no descarta contaminación proteica [7].

En el LCR de muchos pacientes con EA se ha observado una reducción de los niveles de beta-amiloide42 [8] y una elevación de los niveles de proteína tau fosforilada [9,10]. Por contra, en la demencia frontotemporal (FTP) parece que los niveles de proteína tau podrían estar disminuidos [11]. La determinación conjunta (en panel) de estas moléculas en LCR distingue EA frente a controles sanos con valores de sensibilidad y especificidad superiores al 90%, si bien frente a otros procesos neurodegenerativos estos parámetros son más débiles [12].

Aún más, las concentraciones de proteína tau total, proteína tau fosforilada y Abeta42 parecen estar ya alteradas en los pacientes con DCL que posteriormente evolucionarán a EA [13,14,15], por lo que se trata de una excelente herramienta diagnóstica para poder identificar los sujetos con DCL con mayor riesgo de evolución a EA.

Los neurofilamentos (NF) son proteínas constituyentes del citoesqueleto de las neuronas. Su medición en el LCR resulta útil para diferenciar entre Demencia Frontotemporal (DFT) –donde los niveles se encuentran elevados- y EA de inicio precoz [16]. En Además la determinación conjunta con los biomarcadores previamente comentados (beta-amiloide y tau-fosforilada) aumenta la precisión de los mismos [16].

Continuamente aparece en la literatura la comunicación de nuevos paneles de biomarcadores que reportan utilidad bien en el diagnóstico diferencial de la EA frente al envejecimiento fisiológico o frente a otras demencias [17,18], o bien en la predicción del desarrollo de EA desde la fase de DCL [19].

Plasma

Al contrario de lo que ocurre en el LCR de pacientes con EA, los niveles plasmáticos de beta-amiloide en sus formas 40 y 42 parecen estar elevados en fases muy iniciales de la enfermedad, e incluso en los familiares asintomáticos de pacientes con EA de inicio tardío [20],

aunque podrían declinar con posterioridad [21] lo que dificulta su uso como biomarcador diagnóstico.

La neurosina, una serin-proteasa expresada fundamentalmente en el cerebro con capacidad amiloidogénica [22], aumenta fisiológicamente en los individuos conforme avanzan en edad. En los sujetos que desarrollan EA la concentración cerebral y licuoral de neurosina es inferior a la presente en controles [23,24]. Recientemente nuestro grupo ha demostrado que la concentración de neurosina también decae en la sangre de pacientes con EA, difiriendo significativamente de los controles y de los pacientes con demencia vascular y pseudodemencia depresiva -donde se encuentra elevada- [Menéndez-González, en prensa]. Aún más interesante, se ha demostrado que en pacientes con deterioro cognitivo leve la determinación de la concentración plasmática de neurosina puede ayudar a predecir la evolución del paciente: hacia EA (en caso de estar disminuida) o hacia demencia vascular (en caso de encontrarse elevada) [Menéndez-González, en prensa].

Recientemente, un grupo de investigadores ha comunicado que la determinación en fase preclínica de un panel de biomarcadores constituido por un conjunto de 18 proteínas de “señalización celular” aporta buenos valores predictivos para predecir el desarrollo de EA [25]. Muchas otras proteínas estudiadas en plasma de sujetos con EA [26] no han ofrecido por el momento resultados convincentes.

Orina

De las moléculas estudiadas hasta el momento, muchas de ellas en relación con el estrés oxidativo, la avalada por más estudios, si bien los resultados no son del todo concluyentes, es la proteína denominada proteína fibrilar neuronal (NTP: neural thread protein), que se sobreexpresa desde estadios iniciales en el cerebro de los pacientes con EA, pudiendo encontrarse elevada tanto en el LCR como en la orina de estos pacientes [27].

Biomarcadores por neuroimagen

La clasificación de los biomarcadores de neuroimagen resulta más clarificadora si en lugar de la técnica utilizada se realiza en función de “qué es aquello que se mide”.

Estudios volumétricos

La constatación por estudios volumétricos de resonancia magnética de atrofia hipocampal (y más específicamente de las zonas CA1 y el subículo) es un marcador de EA e incluso un marcador pronóstico en pacientes con DCL [28,29,30,31,32,33]. Los estudios longitudinales también sirven como indicador de la progresión de la enfermedad en pacientes con DCL u otras demencias neurodegenerativas [34].

La atrofia de otras zonas, como la corteza lateral de lóbulo lateral y el cíngulo posterior también han demostrado valor predictivo en este sentido [35].

Espectro de aminoácidos y metabolitos

La espectroscopia de resonancia magnética de protón permite obtener un espectro de ciertos aminoácidos y metabolitos en una localización cerebral puntual sobre la que se centra la observación. Se ha encontrado un descenso del N-acetilaspártato y una elevación del mioinositol en todos los lóbulos cerebrales desde los estadios iniciales de la EA [36]. Así, la realización conjunta de espectroscopia junto a los estudios morfológicos mejora el rendimiento diagnóstico de la RM [37]. En un estudio español con 53 pacientes con DCL tipo amnésico a quienes se les evaluó mediante espectroscopia centrada en tres áreas corticales (hipocampo izquierdo, parietal derecho y occipital izquierdo) y mediante evaluaciones neuropsicológicas periódicas con la finalidad de detectar la conversión a EA; los parámetros de espectroscopia, especialmente sobre la corteza occipital, mostraron valores predictivos muy elevados [36].

Densidad regional de proteínas de depósito

Actualmente existen varios marcadores que pueden detectar mediante PET los depósitos patógenos de algunas enfermedades neurodegenerativas. El 2-(1-{6-[(2-[F-18] fluoroetilmetilamino-2-afitilidenomalononitrilo (FDDNP), es una molécula que se une a las placas y a las fibrillas in vitro. El FDDNP-PET ofrece un alto rendimiento diagnóstico para confirmar o descartar EA. [38] (Small). Otros marcadores para beta-amiloide, como el conocido como Pittsburgh Compound B (derivado de la tioflavina T) [39] y el BF-227 [40] han mostrado resultados preliminares prometedores.

Densidad de neurotransmisores, receptores y proteínas transportadoras de neurotransmisores

Existen varias técnicas de medicina nuclear para medir la densidad de proteínas transportadoras de neurotransmisores, receptores y proteínas transportadoras de neurotransmisores. Así podemos enumerar los siguientes marcadores de neurotransmisores: Dopaminérgicos: DaTSCAN (Transportadores de Dopamina), Receptores D1: 123 I- SCH 23390 (TISCH) y 123 I- SCH 23892 (IBZP), Receptores D2: 123 I- IBZM, 123 I- yodolisuride y 123 I- 2- Espiperona; Benzodiacepínicos: BZ/GABA 123 I- Iomacenil; Muscarínicos: M1/M2 123 I- Dextetimida y 123 I- QNB; Serotoninérgicos: S2 123 I- Ketanserina; Opiáceos: u 123 I- Diprenorfina.

De los biomarcadores por imagen que más se ha introducido en la práctica clínica habitual se encuentra el 123I-FD-CIT-SPECT (DatSCAN SPECT). El 123I-Ioflupano pertenece a una serie de compuestos derivados de la cocaína que se une a los transportadores de

dopamina, lo que permite la obtención de imágenes por tomografía de emisión de fotón único (SPECT) de la densidad de transportadores de Dopamina en el cuerpo estriado poco después de su inyección intravenosa. DaTSCAN está indicado para detectar la pérdida de terminaciones nerviosas dopaminérgicas funcionales en el cuerpo estriado de pacientes con síndromes parkinsonianos clínicamente dudosos, para ayudar a diferenciar el temblor esencial de los síndromes Parkinsonianos relacionados (Enfermedad de Parkinson idiopática, Demencia por Cuerpos de Lewy Atrofia multisistémica y Parálisis Supranuclear Progresiva). DaTSCAN no puede distinguir entre Enfermedad de Parkinson y Atrofia multisistémica y Parálisis Supranuclear Progresiva) [41,42]. El DaTSCAN es una buena herramienta para ayudar a distinguir entre algunos casos de EA (con parkinsonismo y/o alucinaciones) de Demencia por Cuerpos de Lewy.

Metabolismo cerebral regional

La PET (Tomografía de Emisión de Positrones) sirve para medir el metabolismo cerebral regional mediante distintos marcadores. El hallazgo más característico del 2-deoxy-2-[F-18]fluoro-D-glucose (FDG)-PET en pacientes con EA es el hipometabolismo bilateral en la corteza de asociación parietotemporal [43]. En la degeneración corticobasal se ha descrito un patrón de disminución unilateral de metabolismo en corteza de asociación, núcleo lenticular y tálamo [44].

Perfusión regional y vasoreactividad cerebral

La perfusión en una determinada región cerebral es un indicador indirecto del metabolismo cerebral a dicho nivel. Existen varias técnicas capaces de aportar información sobre este parámetro. Quizás el método más utilizado es el SPECT con HMPAO (hexametil propilamina oximo). Los hallazgos descritos en la EA incluyen disminución de la perfusión a nivel de la corteza parietotemporal, hipocampo, cíngulo anterior y posterior y núcleo anterior del tálamo [45]. El volumen sanguíneo cerebral regional (rCBV) también se puede medir mediante RM tras una inyección rápida de contraste paramagnético, habiéndose demostrado una disminución a nivel temporoparietal en los pacientes con EA [46].

La vasoreactividad cerebral (VRC) es la capacidad de las arteriolas cerebrales para dilatarse o contraerse ante determinados estímulos y es indicativa de la reserva hemodinámica del sistema vascular cerebral, que puede verse alterada en algunas demencias, como la demencia vascular y la EA por su afectación vascular. De las múltiples pruebas complementarias utilizadas en su estudio, el Doppler transcraneal (DTC) puede considerarse hoy la técnica de elección, ya que goza de indudables ventajas en cuanto a coste, rapidez e inocuidad. En un estudio realizado con pacientes con EA el mayor deterioro cognitivo se correlacionaba con una menor VRC [47]. Otros estudios han mostrado la utilidad del DTC en el diagnóstico diferencial entre la demencia

tipo Alzheimer y la vascular, al observarse un aumento del índice de pulsatilidad en la segunda [48,49]. Se ha demostrado que tanto los pacientes con antecedente de hemorragia amiloidea como los pacientes con EA leve comparten una alteración similar en la VRC [50], por lo que presumiblemente la causa común de la menor reserva hemodinámica sea el depósito de proteína amiloide en la pared arteriolar.

Estudios de activación cerebral regional

La PET con agua marcada con oxígeno radiactivo permite medir mediante la sustracción de las imágenes del rCBV en reposo y durante el trabajo mental (paradigmas neuropsicológicos) y fue la primera técnica que se empleó para la realización de estudios de activación cerebral regional. En la década de 1990 se desarrolló la técnica de resonancia magnética funcional (fRM), que tiene una resolución temporal y espacial mayor que la PET y no somete al sujeto a radiaciones ionizantes. De manera semejante a los estudios con PET, la fRM en la EA muestra áreas de activación más extensas como respuesta compensatoria de la pérdida neuronal cortical [51].

Electroencefalográficos

Durante mucho tiempo la utilidad de la electroencefalografía en el diagnóstico diferencial de las demencias ha sido puesta en cuestión, fundamentalmente debido a su escasa especificidad. Aún hoy está poco claro cuales son las aplicaciones prácticas del EEG en el diagnóstico de la demencia, pero es indudable que hay algunas situaciones y algunos procesos en los que la información aportada por el EEG puede ser de utilidad. Quizás la utilidad más clara es el estudio de demencias rápidamente progresivas, y concretamente como apoyo para el diagnóstico de encefalopatía priónica donde la aparición de descargas periódicas es un hallazgo típico. Sin embargo la ausencia de hallazgos específicos de una determinada demencia es la norma, y los hallazgos EEG se correlacionan más con la severidad que con la etiología.

El análisis cuantitativo (qEEG), como implementación del clásico análisis visual del EEG, ha aportado nuevas utilidades a esta técnica. Recientemente se ha demostrado que el estudio qEEG puede ser de utilidad para ayudar a diferenciar Demencia por Cuerpos de Lewy y EA. En concreto la puntuación GTR (Grand Total EEG), que es un sistema automático de puntuación de las anomalías del EEG, aporta una sensibilidad superior al 72% y una especificidad del 85% [52].

Referencias

1. The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and National Institute on Aging Working Group. Consensus Report of the Working Group on: "Molecular and

- Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". *Neurobiology of Aging*. 1998;19(2):109-116
2. Dubois B, Feldman H, Jacova C, DeKosky S, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A,
 3. Frank RA, Galasko D, Hampel H, Hardy J, de Leon MJ, Mehta MD, Rogers J, Siemers E, Trojanowski JQ. Biological markers for therapeutic trials in Alzheimer's disease Proceedings of the biological markers working group; NIA initiative in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 2003;24 521-536
 4. Abdi F, Quinn JF, Jankovic J, McIntosh M, Leverenz JB, Peskind E, Nixon R, Nutt J, Chung K, Zabetian C, Samii A, Lin M, Hattan S, Pan C, Wang Y, Jin J, Zhu D, Li GJ, Liu Y, Waichunas D, Montine TJ, Zhang J. Detection of biomarkers with a multiplex quantitative proteomic platform in cerebrospinal fluid of patients with neurodegenerative disorders. *J Alzheimers Dis*. 2006;9(3):293-348
 5. Selle H, Lamerz J, Buerger K, Dessauer A, Hager K, Hampel H, Karl J, Kellmann M, Lannfelt L, Louhija J, Riepe M, Rollinger W, Tumani H, Schrader M, Zucht Hans-Dieter. Identification of Novel Biomarker Candidates by Differential Peptidomics Analysis of Cerebrospinal Fluid in Alzheimer's Disease. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2005, 8, 801-806
 6. Peskind ER, Riekse R, Quinn JF, et al. Safety and acceptability of the research lumbar puncture. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2005; 19: 220-25
 7. Zhang J, Goodlett DR, Quinn JF, Peskind E, Kaye JA, Zhou Y, Pan C, Yi E, Eng J, Wang Q, Aebersold RH, Montine TJ. Quantitative proteomics of cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer disease. *J Alzheimers Dis*. 2005;7(2):125-33
 8. Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, et al. Reduction of betaamyloid peptide42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995; 38: 643-48.
 9. Hu YY, He SS, Wang XC et al. Elevated levels of phosphorylated neurofilament proteins in cerebrospinal fluid of Alzheimer disease patients. *Neurosci Lett* 2002; 320: 156-60.
 10. Ishiguro K, Ohno H, Arai H, et al. Phosphorylated tau in human cerebrospinal fluid is a diagnostic marker for Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1999; 270: 91-94.
 11. Grossman M, Farmer J, Leight S, et al. Cerebrospinal fluid profile in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2005;57:721-729
 12. Maddalena A, Papassotiropoulos A, Muller-Tillmanns B, Jung HH, Hegi T, Nitsch RM, Hock C. Abstract Biochemical diagnosis of Alzheimer disease by measuring the cerebrospinal fluid ratio of phosphorylated tau protein to β -amyloid peptide42. *Arch Neurol*. 2003;60(9):1202-6
 13. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol*. 2006;5(3):228-34
 14. Andreasen N, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson P, Blennow K. Cerebrospinal fluid levels of total-tau, phospho-tau and A beta 42 predicts development of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Acta Neurol Scand Suppl*. 2003;179:47-51
 15. Stomrud E, Hansson O, Blennow K, Minthon L, Londos E. Cerebrospinal Fluid Biomarkers Predict Decline in Subjective Cognitive Function over 3 Years in Healthy Elderly. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 2007;24:118-124
 16. de Jong D, Jansen RW, Pijnenburg YA, van Geel WJ, Borm GF, Kremer HP, Verbeek MM. CSF neurofilament proteins in the differential diagnosis of dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007 Sep;78(9):936-8
 17. Carrette O, Demalte I, Scherl A, Yalkinoglu O, Corthals G, Burkhard P, Hochstrasser DF, Sanchez JC. A panel of cerebrospinal fluid potential biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease. *Proteomics*. 2003;3(8):1486-94
 18. Simonsen AH, McGuire J, Podust VN, Hagnelius NO, Nilsson TK, Kapaki E, Vassilopoulos D, Waldemar G. A Novel Panel of Cerebrospinal Fluid Biomarkers for the Differential Diagnosis of Alzheimer's Disease versus Normal Aging and Frontotemporal Dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2007;24(6):434-440
 19. Simonsen AH, McGuire J, Hansson O, Zetterberg H, Podust VN, Davies HA, Waldemar G, Minthon L, Blennow K. Novel panel of cerebrospinal fluid biomarkers for the prediction of progression to Alzheimer dementia in patients with mild cognitive impairment. *Arch Neurol*. 2007;64(3):366-70
 20. Ertekin-Taner N, Younkin LH, Yager DM, Parfitt F, Baker MC, Asthana S, Hutton ML, Younkin SG, Graff-Radford NR Plasma amyloid β protein is elevated in late-onset Alzheimer disease families. *Neurology*. 2007 Oct 3
 21. Mayeux R, Honig LS, Tang MX, et al. Plasma A β 40 and A β 42 and Alzheimer's disease: relation to age, mortality, and risk. *Neurology*. 2003;61:1185-1190
 22. Little SP, Dixon EP, Norris F, Buckley W, Becker GW, Johnson M, Dobbins JR, Wyrick T, Miller JR, MacKellar W, Hepburn D, Corvalan J, McClure D, Liu X, Stephenson D, Clemens J, Johnstone EM. Zyme, a novel and potentially amyloidogenic enzyme cDNA isolated from Alzheimer's disease brain. *J Biol Chem*. 1997;272(40):25135-42
 23. Ogawa K, Yamada T, Tsujioka Y, Taguchi J, Takahashi M, Tsuboi Y, Fujino Y, Nakajima M, Yamamoto T, Akatsu H, Mitsui S, Yamaguchi N. Localization of a novel type trypsin-like serine protease, neurosin, in brain tissues of Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2000;54(4):419-26
 24. Zarghooni M, Soosaipillai A, Grass L, Scorilas A, Mirazimi N, Diamandis EP. Decreased concentration of human kallikrein 6 in brain extracts of Alzheimer's disease patients. *Clin Biochem*. 2002;35(3):225-31
 25. Ray S, Britschgi M, Herbert C, Takeda-Uchimura Y, Boxer A, Blennow K, Friedman LF, Galasko DR, Jutel M, Karydas A, Kaye JA, Leszek J, Miller BL, Minthon L, Quinn JF, Rabinovici GD, Robinson WH, Sabbagh MN, So YT, Sparks DL, Tabaton M, Tinklenberg J, Yesavage JA, Tibshirani R, Wyss-Coray T. Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nat Med*. 2007 Nov;13(11):1359-62
 26. Frank RA, Galasko D, Hampel H, Hardy J, de Leon MJ, Mehta PD, Rogers J, Siemers E, Trojanowski JQ; National Institute on Aging Biological Markers Working Group. Biological markers for therapeutic trials in Alzheimer's disease. Proceedings of the biological markers working group; NIA initiative on neuroimaging in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2003 Jul-Aug;24(4):521-36
 27. de la Monte SM, Wands JR, "The AD7c-NTP neuronal thread protein biomarker for detecting Alzheimer's disease," *Journal of Alzheimer's Disease* 2001; 3: 345-353.
 28. de Leon MJ, George AE, Golomb J, et al. Frequency of hippocampal formation atrophy in normal aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1997; 18: 1-11.
 29. Jack CRJ, Petersen RC, Xu YC et al. Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Neurology* 1999; 52: 1397-403.

30. Gosche KM, Mortimer JA, Smith CD, Markesbery WR, Snowdon DA. Hippocampal volume as an index of Alzheimer neuropathology: findings from the Nun Study. *Neurology* 2002; 58: 1476–82.
31. Scheltens P, Leys D, Barkhof F et al. Atrophy of medial temporal lobes on MRI in “probable” Alzheimer’s disease and normal ageing: diagnostic value and neuropsychological correlates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55: 967–72.
32. Korf ES, Wahlund LO, Visser PJ, Scheltens P. Medial temporal lobe atrophy on MRI predicts dementia in patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 2004; 63: 94–100.
33. Whitwell JL, Jack CR Jr, Parisi JE, Knopman DS, Boeve BF, Petersen RC, Ferman TJ, Dickson DW, Josephs KA. Rates of cerebral atrophy differ in different degenerative pathologies. *Brain*. 2007;130(Pt 4):1148-58
34. Whitwell JL, Przybelski SA, Weigand SD, Knopman DS, Boeve BF, Petersen RC, Jack CR Jr. 3D maps from multiple MRI illustrate changing atrophy patterns as subjects progress from mild cognitive impairment to Alzheimer’s disease. *Brain*. 2007;130(Pt 7):1777-86
35. Apostolova LG, Dinov ID, Dutton RA, Hayashi KM, Toga AW, Cummings JL, Thompson PM. 3D comparison of hippocampal atrophy in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Brain*. 2006;129(Pt 11):2867-73
36. Modrego PJ, Fayed N, Pina MA. Conversion from mild cognitive impairment to probable Alzheimer’s disease predicted by brain magnetic resonance spectroscopy. *Am J Psychiatry*. 2005;162(4):667-75.
37. Arana E, Martínez-Granados B, Martí-Bonmati L, Martínez-Bisbal M, Gil A, Blasco C, Celda B. Demencias: contribución diagnóstica de la imagen y de la espectroscopia de resonancia magnética de protón. *Neurología*. 2007;22(5):267-74
38. Small, Gary W., Kepe, Vladimir, Ercoli, Linda M., Siddarth, Prabha, Bookheimer, Susan Y., Miller, Karen J., Lavretsky, Helen, Burggren, Alison C., Cole, Greg M., Vinters, Harry V., Thompson, Paul M., Huang, S.-C., Satyamurthy, N., Phelps, Michael E., Barrio, Jorge R. PET of Brain Amyloid and Tau in Mild Cognitive Impairment. *N Engl J Med* 2006 355: 2652-2663 114 Coleman RE. Positron emission tomography diagnosis of Alzheimer’s disease. *Neuroimaging Clin N Am* 2005; 15: 837–46.
39. Price JC, Klunk WE, Lopresti BJ, et al. Kinetic modeling of amyloid binding in humans using PET imaging and Pittsburgh Compound-B. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005; 25: 1528–47.
40. Kudo Y, Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Maruyama M, Itoh M, Iwata R, Yanai K, Arai H. 2-(2-[2-Dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy)benzoxazole: a novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer’s disease patients. *J Nucl Med*. 2007;48(4):553-61.
41. Walker Z, Costa DC, Walker RW et al. Differentiation of dementia with Lewy bodies from Alzheimer’s disease using a dopaminergic presynaptic ligand. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73: 134–40.
42. O’Brien JT, Colloby S, Fenwick J, et al. Dopamine transporter loss visualized with FP-CIT SPECT in the differential diagnosis of dementia with Lewy bodies. *Arch Neurol* 2004; 61: 919–25.
43. Koeppe RA, Gilman S, Joshi A et al. 11C-DTBZ and 18F-FDG PET measures in differentiating dementias. *J Nucl Med* 2005; 46: 936–44.
44. Juh R, Pae CU, Kim TS, Lee CU, Choe B, Suh T. Cerebral glucose metabolism in corticobasal degeneration comparison with progressive supranuclear palsy using statistical mapping analysis. *Neurosci Lett*. 2005 Jul 22-29;383(1-2):22-7
45. Johnson KA, Jones K, Holman BL, Becker JA, Spiers PA, Satlin A, Albert MS. Preclinical prediction of Alzheimer’s disease using SPECT. *Neurology*. 1998;50(6):1563-71
46. Bozzao A, Floris R, Baviera ME, Apruzzese A, Simonetti G. Diffusion and perfusion MR imaging in cases of Alzheimer’s disease: correlations with cortical atrophy and lesion load. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2001;22(6):1030-6
47. Silvelstrini M, Pasqualetti P, Barufaldi R, Bartolini M, Handouk Y, Matteis M, et al. Cerebrovascular reactivity and cognitive decline in patients with Alzheimer disease. *Stroke* 2006; 37: 1010-5.
48. Sattel H, Förstl H, Biedert S. Senile dementia of Alzheimer type and multi-infarct dementia investigated by transcranial Doppler sonography. *Dementia* 1996; 7: 41-6.
49. Biedert S, Förstl H, Hewer W. Multiinfarct dementia vs Alzheimer’s disease: sonographic criteria. *Angiology* 1995; 46: 129-35.
50. Menéndez M, Ribacoba R, de la Vega V, Calleja S. Vasorreactividad cerebral en pacientes con antecedente de hemorragia amiloidea y en pacientes con enfermedad de Alzheimer. *Neurología* 2007;22(9):559-665
51. Small SA, Perera GM, DeLaPaz R, Mayeux R, Stern Y. Differential regional dysfunction of the hippocampal formation among elderly with memory decline and Alzheimer’s disease. *Ann Neurol*. 1999 Apr;45(4):466-72.
52. Roks G, Korf E, van der Flier W, Scheltens P, Stam C. The use of EEG in the diagnosis of dementia with Lewy bodies. *J Neural Neurosurg Psychiatry*. 2007 Aug 6