

Universidad de Oviedo



Programa de Doctorado en Educación y Psicología

**Desarrollo de un método de diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer
mediante el uso combinado de marcadores cognitivos y biológicos.**

Sara García González

2020

Universidad de Oviedo



Programa de Doctorado en Educación y Psicología

**Desarrollo de un método de diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer
mediante el uso combinado de marcadores cognitivos y biológicos.**

Sara García González

Director: Fernando Cuetos Vega

Codirector: Antonello Novelli Ciotti

2020

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada en parte durante el período de disfrute del proyecto FC-15-GRUPIN14-021 del Gobierno Regional de Asturias y el proyecto MINECO-18-CTQ2017-86994 del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO).



GOBIERNO DEL
PRINCIPADO DE ASTURIAS





RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Desarrollo de un método de diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer mediante el uso combinado de marcadores cognitivos y biológicos.	Inglés: Development of a method for detection of Alzheimer's disease using combined cognitive and biological markers.
2.- Autor	
Nombre: Sara García González	DNI/Pasaporte/NIE:
Programa de Doctorado: Educación y Psicología	
Órgano responsable: Psicología	

RESUMEN (en español)

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por la pérdida progresiva e irreversible de las capacidades cognitivas, emocionales y ejecutivas. La mayoría de los estudios encaminados al desarrollo de un diagnóstico precoz han sido orientados a la búsqueda de biomarcadores, sobre todo genéticos y bioquímicos, prestando menor atención hacia posibles marcadores cognitivos, para los cuales se siguen utilizando test rutinarios. Por ello, la presente investigación pretende utilizar de manera combinada marcadores biológicos y cognitivos, buscando afinar la correlación entre ambos parámetros, lo cual permitirá una detección rápida, precoz y diferencial de la enfermedad de Alzheimer.

RESUMEN (en Inglés)

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by the progressive and irreversible loss of cognitive, emotional and executive abilities. Most of the studies that aimed to develop an early diagnosis have been oriented to the search of biomarkers, especially genetic and biochemical, paying less attention towards possible cognitive markers, for which routine tests are still used. Therefore, this research aims to use combined biological and cognitive markers, seeking to refine the correlation between both parameters, which will allow a rapid, early and differential detection of Alzheimer's disease.

SR. PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO
EN _

Agradecimientos

Dedico esta tesis, agradeciendo lo recibido a...

- Mi marido, José Ramón, por estar siempre ahí, por hacerme mejor persona, por tirar de mí hacia arriba. A mi hija Lidia, por el cariño que me da y por ayudarme a valorar lo verdaderamente importante. A mis padres, Francisco Javier y Juana María, por la vida, la educación, el ejemplo, su ayuda y la confianza en mí. Junto a ellos, a mi hermana Marta, por todas las vivencias propias de crecer juntas, por su incondicional apoyo y complicidad.
- Mi familia extensa, incluida mi familia política, por su cariño, sus oraciones, sus palabras de aliento y su apoyo incondicional.
- Mis amigas, especialmente las de Noval, Mabel, Aline y Belén; las de la Universidad, Alba, Débora, Cristina, Marta y Bea. Ellas han visto crecer en mí el germen de la investigación. Gracias por extender su mano en los momentos buenos y malos, por escucharme y ayudarme.
- Mis compañeros de la Universidad de Navarra, especialmente a Maite, Gemma, Olga, Natalia, Aurora, Ángel, Elkin y Celeste; y a mi familia de Pamplona, Alfredo y Teresa, María y Chas, Kike y Belén, Isa y Alex.
- Mis directores de tesis, Fernando Cuetos y Antonello Novelli por sus horas invertidas y por sus correcciones. También a la doctora Carmen Martínez y al doctor José María Asensi, neurólogos del Hospital de Cabueñes, sin los cuales no hubiera sido posible acceder a los pacientes.
- Daniela Uberti por acogerme en su departamento de la Universidad de Brescia durante mi estancia doctoral y Stefano Cappa por dejarme adentrarme en el mundo de las afasias y de la Estimulación Eléctrica Transcraneal en el instituto IRCCS San Giovanni di Dio Fatebenefratelli de Brescia, Italia.
- Agustín Costa y su equipo, por el contrato que ha facilitado la elaboración de esta Tesis Doctoral. A Olaya Amor y Estefanía Costa, por las horas de trabajo. A Alfredo de la Escosura, por continuar con el proyecto.

- El Hospital de Cabueñes y el equipo de extracciones que, durante meses, han facilitado la extracción de las muestras de sangre de pacientes y controles para el estudio. Gracias por sus amenas conversaciones y su riguroso trabajo.
- A todos los pacientes y voluntarios que han hecho posible este trabajo. Gracias por su entrega generosa, por aportarme mucho más de lo que buscaba en el estudio.
- A todas las personas que forman parte de mi vida y, por tanto, de mi tesis.

El desarrollo de esta tesis no lo podría catalogar como algo fácil. Lo que sí puedo hacer es afirmar que durante todo este tiempo pude disfrutar de cada momento, de cada proceso y de cada proyecto; y aprender de cada error, de cada retraso, y de cada impedimento. Y no fue así porque yo me hubiera dispuesto a que así fuera, sino porque quienes me rodeaban me ayudaron a ello.

Comprendí que sin el amor, todas las obras son nada, aun las más brillantes.

Santa Teresita del Niño Jesús, 1873-1897. Historia de un alma

Ten siempre a Ítaca en la memoria.

Llegar allí es tu meta.

Mas no apresures el viaje.

Mejor que se extienda largos años;

y en tu vejez arribes a la isla

con cuanto hayas ganado en el camino,

sin esperar que Ítaca te enriquezca.

Ítaca te regaló un hermoso viaje.

Sin ella el camino no hubieras emprendido.

Mas ninguna otra cosa puede darte.

Aunque pobre la encuentres, no te engañará Ítaca.

Rico en saber y vida, como has vuelto,

comprendes ya qué significan las Ítacas.

(Constantino Kavafis, 1863-1933, Poesías completas, XXXII)

RESUMEN

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por la pérdida progresiva e irreversible de las capacidades cognitivas, emocionales y ejecutivas. La mayoría de los estudios encaminados al desarrollo de un diagnóstico precoz han sido orientados a la búsqueda de biomarcadores, sobre todo genéticos y bioquímicos, prestando menor atención hacia posibles marcadores cognitivos, para los cuales se siguen utilizando test rutinarios. Por ello, la presente investigación pretende utilizar de manera combinada marcadores biológicos y cognitivos, buscando afinar la correlación entre ambos parámetros, lo cual permitirá una detección rápida, precoz y diferencial de la enfermedad de Alzheimer.

Palabras clave: enfermedad de Alzheimer, diagnóstico precoz, diagnóstico diferencial, marcadores cognitivos y biomarcadores.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by the progressive and irreversible loss of cognitive, emotional and executive abilities. Most of the studies that aimed to develop an early diagnosis have been oriented to the search of biomarkers, especially genetic and biochemical, paying less attention towards possible cognitive markers, for which routine tests are still used. Therefore, this research aims to use combined biological and cognitive markers, seeking to refine the correlation between both parameters, which will allow a rapid, early and differential detection of Alzheimer's disease.

Key words: Alzheimer's disease, early diagnosis, differential diagnosis, cognitive markers and biomarkers.

ÍNDICE

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	35
1. Enfermedades neurodegenerativas y demencia.....	37
2. Enfermedad de Alzheimer y Deterioro Cognitivo Leve.....	39
3. Hipótesis explicativas de la Enfermedad de Alzheimer	50
3.1. Hipótesis amiloide.....	50
3.2. Hipótesis inmunológica	53
3.3. Hipótesis de Tau y los ovillos neurofibrilares.....	54
3.4. Hipótesis de la cascada mitocondrial y estrés oxidativo.....	55
3.5. Modelo de daños acumulados	56
4. Factores de riesgo y prevención.....	58
5. Tratamientos.....	63
5.1. Tratamientos no farmacológicos.....	63
5.2. Tratamientos farmacológicos	66
6. Diagnóstico y marcadores.....	69
6.1. Diagnóstico Diferencial.....	70
6.2. Marcadores.....	71
6.2.1. Marcadores cognitivos.....	71
6.2.2. Marcadores biológicos.....	73
6.2.3. Marcadores de neuroimagen.....	80
6.2.4. Marcadores neurofisiológicos.....	83
7. Marcadores cognitivos.....	84
8. Biomarcadores.....	88
MÉTODO	92
1. Objetivos.....	95
1.1. Objetivo general	95
1.2. Objetivos específicos	95
2. Hipótesis.....	97
3. Participantes.....	98
3.1. Muestra protocolo	98
3.2. Muestra seguimientos	106
3.3. Muestras biomarcador	108
3.4. Muestra correlaciones.....	112

4. Procedimiento.....	114
4.1. Elaboración del protocolo neuropsicológico	114
4.2. Medición del biomarcador.....	130
4.2.1. Recogida de las muestras de sangre de controles y pacientes	130
4.2.2. Protocolo de almacenamiento de las muestras de sangre	131
4.2.3. Método de medición.....	133
RESULTADOS	141
1. Protocolo	143
2. Seguimiento.....	155
3. Proteína P53 conformacionalmente alterada.....	157
4. Seguimiento de la proteína P53 conformacionalmente alterada	159
5. Correlación entre marcador cognitivo y biomarcador	160
6. Puntos de corte para el diagnóstico precoz de la EA	163
DISCUSIÓN	167
CONCLUSIONES.....	177
REFERENCIAS.....	181
ANEXOS	221

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	38
Figura 2	51
Figura 3	99
Figura 4	100
Figura 5	104
Figura 6	106
Figura 7	107
Figura 8	109
Figura 9	110
Figura 10.....	112
Figura 11.....	113
Figura 12.....	129
Figura 13.....	132
Figura 14.....	134
Figura 15.....	136
Figura 16.....	138
Figura 17.....	140

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	64
Tabla 2	67
Tabla 3	104
Tabla 4	105
Tabla 5	107
Tabla 6	108
Tabla 7	110
Tabla 8	111
Tabla 9	113
Tabla 10	115
Tabla 11	116
Tabla 12	128
Tabla 13	130
Tabla 14	143
Tabla 15	145
Tabla 16	147
Tabla 17	149
Tabla 18	151
Tabla 19	152
Tabla 20	155
Tabla 21	157
Tabla 22	157
Tabla 23	158
Tabla 24	159
Tabla 25	160
Tabla 26	163
Tabla 27	165

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

AAMI	<i>Age-Associated Memory Impairment</i> (Deterioro de la Memoria Asociado a la Edad)
ABVD	Actividades Básicas de la Vida Diaria
AIVD	Actividades Instrumentales de la Vida Diaria
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ADNP	<i>Activity-dependent neuroprotector homeobox protein</i> (Proteína Neuroprotectora Dependiente de Actividad)
ApoE	Apolipoproteína E
ApoJ	Apolipoproteína J
ARN	Ácido Ribonucleico
ATP	Trifosfato de adenosina
AUC	<i>Area under the curve</i> (Área Bajo la Curva)
β A	Beta-amiloide
BDI	<i>Beck Depression Inventory</i> (Inventario de Depresión de Beck)
BHE	Barrera hematoencefálica
BIN1	<i>Bridging integrator</i> (Integrador Puente)
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i> (Seroalbúmina de suero bovino)
CAT	Catalasa
CE	Electrodo auxiliar o contraelectrodo
CERAD	<i>Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease</i> (Consortio para el Establecimiento de un Registro para la Enfermedad de Alzheimer)
CIVAC	Criterios Indirectos de Valoración Clínica
CMSP	Células Mononucleares de la Sangre Periférica

CLU	Clusterina
CR1	<i>Complement component (3b/4b) receptor 1</i>
CMH II	Complejos Mayores de Histocompatibilidad clase II
CN	Coordinación Neuronal
DCL	Deterioro Cognitivo Leve
EA	Enfermedad de Alzheimer
EFCR	Escala Funcional Cruz Roja
EFNS	<i>European Federation of Neurological Societies</i> (Federación Europea de Sociedades Neurológicas)
EP	Enfermedad de Parkinson
ER	Electrodo de referencia
ET	Electrodo de trabajo
FAQ	<i>Functional Activities Questionnaire</i> (Cuestionario de Actividades Funcionales)
FCRO	Figura Compleja Rey-Osterrieth
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> (Administración de Alimentos y Medicamentos)
FDDNP2-(1-{6-[(2-[F-18]	Fluoroetilmetilamino-2-afitilidenomalononitrilo
FF	Fluidez Fonológica
FS	Fluidez Semántica
FV	Fluidez Verbal
GDS	<i>Geriatric Depression Scale</i> (Escala de Depresión Geriátrica)
GPx	Glutación peroxidasa
HAuCl ₄	Ácido cloroáurico
H ₂ O	Agua

IADL	<i>Instrumental Activities of Daily Living</i> (Escala de Actividades Instrumentales de Lawton y Brody)
IB	Índice de Barthel
IK	Índice de Katz
LCR	Líquido Cefalorraquídeo
ME	Memoria Episódica
METV	Memoria Episódica de Tipo Verbal
MMSE	<i>Mini-Mental State Examination</i> (Mini-Examen del Estado Mental)
mNCD	<i>Mild Neurocognitive Disorder</i> (Trastorno Neurocognitivo Menor)
MoCA	<i>Montreal Cognitive Assessment</i> (Evaluación Cognitiva Montreal)
MS	Memoria Semántica
NaCl	Cloruro Sódico
NAMS	<i>The North American Menopause Society</i> (Sociedad Norteamericana de Menopausia)
MIBG	Metaiodobencilguanidina
NIH	<i>National Institute of Health</i> (Instituto Nacional de Salud)
NIA-AA	<i>National Institute on Aging - Alzheimer's Association</i> (Instituto Nacional Sobre el Envejecimiento – Asociación de Alzheimer)
NMDA	N-meti-D-aspartato
NP - 40	<i>Nonyl Phenoxypolyethanol</i> (Nonil Fenoxi Poli Etanol)
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> (Tampón/Buffer fosfato salino)
PC	Punto de Corte
PICALM	<i>Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein</i> (Fosfatidilinositol de unión a clatrina)
PPA	Proteína Precursora Amiloide
PSE	Presenilina

ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Especies reactivas de oxígeno)
SOD	Superóxido dismutasa
TAC	Tomografía Axial Computerizada
TAVEC	Test Aprendizaje Verbal España Complutense
TCL	Trastorno Cognoscitivo Leve
TEP	Tomografía por Emisión de Positrones
TMT	<i>Trail Making Test</i> (Test del trazo)
TR	Test del Reloj
TRIS HCl	Tris(hidroximetil)aminometano con ácido clorhídrico
TRVB	Test de Retención Visual de Benton
TDB	Test de Denominación de Boston
VPN	Valor Predictivo Negativo
VPP	Valor Predictivo Positivo
WAIS	Wechsler Adult Intelligence Scale (Escala de Inteligencia para adultos Wechsler)

INTRODUCCIÓN

1. Enfermedades neurodegenerativas y demencia

Las enfermedades neurodegenerativas constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades que afectan al sistema nervioso central y que se caracterizan por una pérdida neuronal progresiva en áreas concretas del cerebro que dan lugar a manifestaciones clínicas, principalmente la demencia.

La demencia es un síndrome caracterizado por el deterioro de la función cognitiva. Suele ir acompañado y, a veces precedido, por deterioro del control emocional, del comportamiento social o de la motivación. Es una de las principales causas de discapacidad y dependencia entre las personas mayores y puede ser causada por diversas enfermedades y lesiones (OMS, 2020).

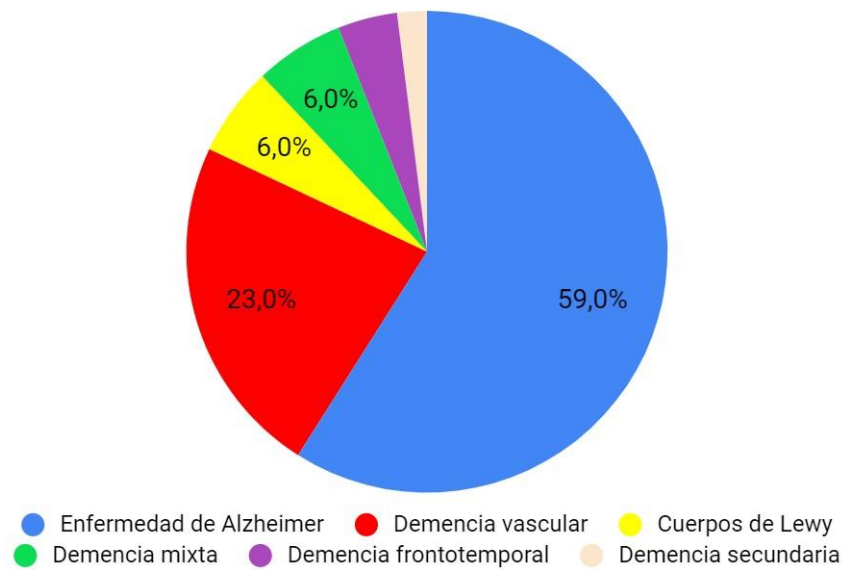
Entre las enfermedades neurodegenerativas que cursan con demencia, la más frecuente es la Enfermedad de Alzheimer (EA), representando -aproximadamente- el 59% de todos los casos, seguida de la demencia vascular, mixta, por cuerpos de Lewy y frontotemporal (Figura 1) (Jellinger & Attems, 2010; López-Pousa, 2002).

La incidencia de la demencia se estima en 5-10 casos por cada 1000 personas con edades entre los 64 y 69 años, y en 40-60 casos por cada 1000 personas con edades entre los 80 y los 84 años (Savva & Brayne, 2010). Se prevé que el número total de personas con demencia alcance los 82 millones en el 2030 y los 152 millones en el 2050 (OMS, 2020; Patterson, 2018). En el caso concreto de la EA, en el 2010 se estimaba que más de 35 millones de personas en el mundo estaban afectadas por la enfermedad (Querfurth & LaFeria, 2010). Se prevé alcanzar los 74,7 millones en el 2030 y superar los 131,5 millones para el 2050. Si bien la prevalencia varía según la región, es mayor en los países más desarrollados (Ballard et al., 2010). En España, por ejemplo, se estima que hay entre 500.000 y 800.000 pacientes con EA.

Este incremento de la tasa de enfermos se traduce, a su vez, en un aumento de los costos de la sanidad. El gasto total estimado de la demencia en 2018 fue de 1 billón de dólares, y se espere que alcance los 2 billones para el año 2030 (Patterson, 2018).

Figura 1

Distribución de demencias en una muestra poblacional española



Es tal el impacto de esta enfermedad que en mayo del 2017, durante la Asamblea Mundial de la Salud, los delegados de los gobiernos respaldaron el borrador del Plan de Acción Mundial sobre la respuesta de la salud pública a la demencia 2017-2025, mostrando su compromiso a desarrollar estrategias nacionales y planes de implementación para atajar este problema de salud.

2. Enfermedad de Alzheimer y Deterioro Cognitivo Leve

La Enfermedad de Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa que fue descrita por primera vez en 1905 por Alois Alzheimer, psiquiatra y neurólogo alemán. Se trataba de una mujer de 51 años ingresada en un manicomio. El primer síntoma fueron los celos con respecto a su marido y, pronto, la rápida pérdida de memoria. Posteriormente, se desorientaba en la casa, movía las cosas de un lugar a otro y las escondía, y a veces creía que alguien la quería matar y lloraba gritando. Cuando la ingresaron, en la institución estaba completamente desorientada en el espacio y en el tiempo. En ocasiones decía que no entendía nada y que todo le resultaba extraño; otras veces, deliraba y gritaba durante horas (Stelzmann et al., 1995).

La mera observación clínica de la paciente era inusual y no podía ser clasificada en ninguna de las enfermedades conocidas hasta entonces. En cuanto a las características anatómicas, en el análisis postmortem, se observó atrofia cerebral uniforme sin degeneración focal macroscópica. En el interior de las células se podían distinguir varias fibrillas unas junto a otras formando manojos. Las fibrillas tenían la capacidad de teñirse con colorantes frente a los cuales las neurofibrillas normales no reaccionaban. Por tanto, Alois supuso que algún cambio químico habría sufrido y que ese hecho podría ser la causa de la desintegración de la célula (Stelzmann et al., 1995).

Es de destacar que cuando Alois llevó a cabo su estudio no disponía de una gran variedad de métodos de tinción y carecía de las técnicas de neuroimagen actuales. Sin embargo, su capacidad de observación y deducción le llevó a describir una nueva categoría diagnóstica que aún hoy no se ha desmentido.

Así, la descripción más extendida de la enfermedad de Alzheimer no dista de la dada por Alois Alzheimer: un trastorno neurodegenerativo caracterizado por la presencia de ovillos neurofibrilares intraneuronales y placas seniles extraneuronales, que conllevan la pérdida de neuronas y sinapsis, y la reducción del volumen cerebral, y, como consecuencia, alteraciones cognitivas.

Durante muchos años el conocimiento disponible sobre la enfermedad de Alzheimer requería la presencia de déficits cognitivos relevantes o incluso demencia para su diagnóstico, lo que implica la presencia de daño neuropatológico subyacente. Si bien han existido diferentes criterios diagnósticos los más utilizados y validados por estudios clínico-patológicos han sido los propuestos por el grupo de trabajo del National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) en 1984 (McKhann et al., 1984). Éstos distinguen entre EA probable o posible, solo alcanzando el diagnóstico definitivo con la confirmación anatomopatológica. Pero estos criterios conllevan algunos inconvenientes. En primer lugar, cuando los sujetos son diagnosticados ya presentan un deterioro significativo y probablemente sea demasiado tarde como para que se puedan beneficiar de una intervención farmacológica. Los criterios NINCDS-ADRDA no son sensibles a los estadios leves de la enfermedad pues no definen los primeros síntomas antes de alcanzar el umbral de demencia. Y en segundo lugar, los criterios diagnósticos no son etiológicos sino por exclusión (Valls-Pedret et al., 2010). Esto nos lleva al problema de la definición de EA. Dubois et al. (2009) propusieron incluir en su definición a todo el espectro predemencia y demencia. Según estos autores, no hay razón para unir el diagnóstico de la EA a un determinado umbral de severidad y excluir del diagnóstico y del tratamiento a un gran número de sujetos que ya han expresado el diagnóstico clínicamente. Añaden que, desgraciadamente, la etapa de predemencia o EA prodrómica está integrada en el amplio concepto de Deterioro Cognitivo Leve (DCL), que es un síndrome asociado con muchas otras causas que no sólo la EA prodrómica. Esto quedaba justificado cuando era más difícil de diagnosticar precozmente y la definición de EA estaba restringida al concepto de demencia (Dubois et al., 2009). En el 2011, McKhann et al. presentaron la puesta al día de los criterios NINCDS-ARDRA de 1984. La propuesta es el resultado del trabajo conjunto de grupos pertenecientes al National Institute of Aging estadounidense (NIA) y la Alzheimer's Association (AA). En esta nueva versión, definieron criterios generales para la demencia y otros específicos para la EA, que se describen a continuación:

Se diagnostica EA cuando hay síntomas cognitivos o conductuales (neuropsiquiátricos) que:

1. Interfieren con la capacidad de funcionar normalmente en el trabajo o las actividades habituales.
2. Suponen un deterioro respecto a los niveles de rendimiento y funcionamiento previos.
3. No se explican por la presencia de un delirium o un trastorno psiquiátrico mayor.
4. Se detectan y diagnostican por la combinación de:
 - a. La historia clínica obtenida en la entrevista con el paciente y un informador que lo conoce.
 - b. La valoración objetiva del estado mental, bien una evaluación cognitiva de “cabecera del paciente” o bien una evaluación neuropsicológica formal. “La evaluación neuropsicológica formal debe llevarse a cabo cuando la historia clínica y el examen del estado mental no pueden sustentar un diagnóstico firme.
5. La alteración cognitiva o conductual involucra al menos 2 de los 5 siguientes aspectos:
 - a. Capacidad alterada de adquirir y recordar nueva información. Los síntomas incluyen: repetitividad en las preguntas o las conversaciones, pérdidas de objetos personales, olvido de citas o acontecimientos, desorientarse en lugares o caminos familiares.
 - b. Alteración o cambios en el razonamiento, manejo de tareas complejas, capacidad de juicio. Los síntomas incluyen: comprensión limitada de situaciones de riesgo, dificultad en el manejo de asuntos económicos personales, capacidad limitada para la toma de decisiones, incapacidad para la planificación de actividades complejas o secuencias de actividades.
 - c. Alteración de las capacidades perceptivas y visoespaciales. Los síntomas incluyen: limitación para el reconocimiento de caras u objetos comunes o para localizar objetos que están a la vista a pesar de que la agudez visual es buena, limitación para la utilización de herramientas o aparatos sencillos, limitación para orientar

las prendas sobre el propio cuerpo.

- d. Alteración de las funciones del lenguaje. (Hablar, leer, escribir). Los síntomas incluyen: dificultad para encontrar las palabras comunes mientras se habla, dudas/pausas, errores en el habla o la articulación (deletreo) fonológica o durante la escritura.
- e. Cambio de personalidad o en el comportamiento. Los síntomas incluyen: fluctuaciones en el estado de ánimo, agitación/irritabilidad, alteración de la motivación o la iniciativa, apatía, retraimiento social, pérdida de interés en actividades previas, pérdida de empatía, comportamiento obsesivo o compulsivo, conductas socialmente inaceptables.

La diferenciación entre demencia y DCL se hace en función de si el deterioro interfiere en las actividades de la vida cotidiana.

Los criterios NIA-AA establecen las siguientes categorías:

1. Demencia EA probable.

Cumple criterios de demencia y además tiene:

- a. Inicio insidioso.
- b. Historia clara de un empeoramiento cognitivo progresivo (referido por observador).
- c. El déficit inicial y más prominente puede seguir un patrón de presentación de una de las siguientes categorías.
 - Amnésico (lo más frecuente).
 - No amnésico: trastorno del lenguaje, trastorno visoperceptivo, disfunción ejecutiva.

Con grado “aumentado de certeza”. Se cumplen los criterios nucleares de EA probable.

1. Hay un deterioro progresivo documentado, a través de evaluaciones sucesivas.
2. Hay mutaciones genéticas causales (PSEN 1, PPA, PSEN 2, pero no de APOE).

2. Demencia EA posible.

Curso atípico. Cumple los criterios clínicos nucleares pero tiene inicio abrupto y no tiene un claro declinar progresivo.

Presentación etiológicamente mixta. Cumple los criterios clínicos nucleares pero:

- a. Hay evidencia de enfermedad vascular concomitante.
- b. Características de enfermedad por cuerpos de Lewy.
- c. Cualquier otra enfermedad neurológica o médica, o toma de fármacos con potencial efecto sobre la cognición.

No coincide con los criterios NINCDS-ADRDA de 1984.

3. Demencia EA probable con evidencia de procesos fisiopatológicos.

EA probable con evidencia (datos) del proceso fisiopatológico de la EA cumple los criterios de demencia Alzheimer y hay datos de:

- a. Depósito de amiloide:
 - Niveles bajos de A β 42.
 - PET con marcador de amiloide.
 - (PIB) positivo.
- b. Neurodegeneración.
 - Niveles elevados de tau, p-tau.
 - Hipometabolismo parietotemporal en PET-FDG.
 - Atrofia desproporcionada (temporal medial, parietal medial) en RM.

4. Demencia EA posible con evidencia de procesos fisiopatológicos.

EA posible con evidencia (datos) del proceso fisiopatológico de la EA.

Cumple criterios de demencia no-Alzheimer pero hay datos de biomarcadores o neuropatológicos de EA.

5. Demencia EA fisiológicamente probada.

Cumple criterios ante y post mortem.

El objetivo fundamental de estos criterios fue ayudar a identificar y tratar la EA tan pronto como fuera posible; es decir, antes de que se produzca el síndrome demencial. Esto permitiría una mayor eficacia de los tratamientos que están actualmente en investigación, que van dirigidos a utilizarse en las fases preclínicas o prodrómicas de la enfermedad, cuando ya existe un proceso fisiopatológico de EA pero aún no se han manifestado los síntomas clínicos (Budson & Solomon, 2012). Existen otras alternativas actuales a estos criterios, como los criterios del Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) (2013, 5ª ed). Sin embargo, son los criterios NIA-AA los más utilizados.

En cuanto al concepto predemencia, éste se remonta a 1962 cuando Kral (1962) describió por primera vez lo que denominó *Benign senescent forgetfulness* u Olvido senescente benigno. Se trataba de un deterioro leve y fluctuante de la memoria pero que carecía de criterios operativos para un diagnóstico fiable. Más de 20 años después, el concepto de Kral fue ampliado y operativizado por Crook et al (1986), que pasaron a denominarlo *Age-Associated Memory Impairment (AAMI)* o Deterioro de la Memoria Asociado a la Edad. Se trataría de una queja subjetiva de memoria junto con un deterioro objetivo en pruebas de memoria de al menos una desviación típica por debajo de la media. El problema de este nuevo concepto era su baja especificidad al emplear adultos jóvenes sanos como muestra de referencia. Adicionalmente, este concepto se centraba exclusivamente en la memoria, aunque otros dominios cognitivos - como las habilidades visoespaciales, el lenguaje o las funciones ejecutivas - pueden verse afectados. Ambos problemas fueron solventados por la Asociación Internacional de Psicogeriatría al emplear una muestra de referencia de la misma edad y al incluir el deterioro de otros dominios cognitivos en la elaboración de un nuevo concepto, el *Age-Associated Cognitive Decline (AACD)* o Deterioro Cognitivo Asociado a la Edad. Este diagnóstico requería el cumplimiento de tres criterios: deterioro cognitivo subjetivo según el propio individuo o un informante, deterioro gradual durante al menos 6 meses y deterioro de un dominio cognitivo con un rendimiento de una desviación típica por debajo de la media de una muestra normativa equivalente en edad y nivel educativo (Levy, 1994).

Finalmente, el concepto de Deterioro Cognitivo Leve fue introducido en 1988 por Reisberg y definido en 1991 por Flicker para clasificar a sujetos con dificultades cognitivas, pero sin demencia. No obstante, el concepto de DCL más ampliamente aplicado es el que propusieron Petersen et al. a finales de los años 90 basándose en estudios observacionales (Valls-Pedret et al., 2010). Esta definición se centraba en los problemas de memoria de modo que los daños leves en otros dominios cognitivos eran “permitidos”, pero déficits únicos en otros dominios no memorísticos eran criterio de exclusión. Cuando se observó que no todos los casos de DCL evolucionaban a EA, se supuso que habría otras causas subyacentes. En el 2003, se celebró un simposio sobre el DCL que supuso la publicación de nuevos criterios, convirtiéndose el DCL en un síndrome clínico con muchos perfiles posibles debido a la variedad etiológica. En el 2011, el *National Institute on Aging - Alzheimer’s Association* (NIA-AA) creó un grupo de trabajo encargado de redefinir específicamente los criterios del DCL debido a la EA, pero los criterios se solapaban con los propuestos en el Simposio del 2003. La última novedad ha sido la aportada en el DSM-5, que reconoce un estadio intermedio de deterioro cognitivo. Se denomina Mild Neurocognitive Disorder (mNCD) o, en español, Trastorno Cognoscitivo Leve (TCL), y comparte muchas características con el DCL. Es considerado como la fase previa a varios tipos de demencia: Alzheimer, degeneración frontotemporal, desorden de los cuerpos de Lewy y daño cognitivo vascular (Flicker et al., 1991; Small et al., 2000); y sugiere que los biomarcadores deben ser incorporados en el proceso de decisión diagnóstica.

Todavía no hay instrumentos o marcadores que discriminen los subtipos de DCL de forma exacta, pero se han hecho diversos intentos prometedores para clasificarlos de acuerdo a su etiología. Así, la literatura emergente sobre DCL enfatiza su naturaleza etiológicamente heterogénea. Esto tiene unas limitaciones importantes, como correr el riesgo de que los efectos significativos de los tratamientos se diluyan en la heterogeneidad de los DCL (Dubois et al., 2009).

Ha habido varios intentos de clasificar los subtipos de DCL (Petersen et al., 2014):

1. El primer intento fue presentado por Petersen et al. en 2004 a la vez que presentaron la revisión de los criterios diagnósticos del DCL.

Distinguieron:

1. DCL amnésico, si la ejecución en los test neuropsicológicos para la memoria episódica era pobre.
2. DCL no-amnésico, si la pobre ejecución era en las pruebas relacionadas con otros aspectos que no fueran la memoria: funciones ejecutivas, lenguaje o capacidad visoespacial.
3. DCL-único dominio, si el daño afecta a un único dominio.
4. DCL-multidominio, si el daño afecta a varios dominios.

Cada subtipo podría reflejar una etiología diferente que distinguiría su evolución. La validez predictiva de los subtipos de DCL que existe hoy en día en los diversos estudios longitudinales es aún limitada y en ocasiones contradictoria (Busse et al., 2006; Han et al., 2012). En general, los autores que han seguido la línea del grupo de Petersen afirman que el subtipo DCL-amnésico es el que más probabilidades tiene de evolucionar hacia EA (Petersen et al., 2001; Fischer et al., 2007), aunque también otros autores han hallado que el subtipo DCL-multidominio; es decir, aquél en el que aparte de la memoria existen otros déficits cognitivos, también puede tener riesgo de evolucionar a demencia tipo Alzheimer (Brandt et al., 2009). No obstante, este último suele constituir el estado prodrómico de demencias no Alzheimer, tales como demencias por cuerpos de Lewy o vascular (Rasquin et al., 2004).

2. Más recientemente, los criterios NIA-AA distinguen tres subtipos de DCL debido a la EA en función de la presencia o no de biomarcadores (McKhann et al., 2011; Sperling et al., 2011):

1. DCL debido a enfermedad de Alzheimer con alto grado de certeza: si cumple los criterios centrales y además presenta un biomarcador positivo de depósito amiloide y un biomarcador positivo de daño neural.
2. DCL debido a enfermedad de Alzheimer con grado intermedio de certeza: cumple los criterios centrales pero sólo tiene un biomarcador positivo (bien de amiloidosis o de

neurodegeneración).

3. DCL probablemente no debido a enfermedad de Alzheimer: si cumple criterios centrales pero no tiene ningún biomarcador positivo.

Los criterios centrales que se mencionan son:

1. Cambios cognitivos respecto al nivel previo de la persona.
 2. Deterioro en uno o más dominios cognitivos (el síntoma más común y el más típico de los pacientes que progresan a demencia es la afectación de la memoria episódica).
 3. Preservación de las actividades de la vida diaria, mantienen buena funcionalidad e independencia en el día a día, aunque pueden tener problemas en aquellas tareas más complejas que antes realizaban sin problemas como pagar facturas, preparar una comida, etc.
 4. No demencia.
3. DSM-5 (2013, 5ª ed), de manera similar a Petersen (2004), usa un procedimiento de dos pasos. Primero distinguir entre leve-NCD y mayor-NCD; después intentar determinar la etiología subyacente (EA, demencia frontotemporal, deterioro cognitivo vascular, demencia de los cuerpos de Lewy, EP, enfermedad de Huntington, HIV/AIDS, lesión cerebral traumática y abuso de sustancias). Hay varios criterios para el diagnóstico de cada una de las categorías.

En definitiva, se puede afirmar que el constructo de DCL ha ido evolucionando desde su origen, pero los criterios diagnósticos centrales se han mantenido inamovibles (Petersen et al, 2014).

De manera similar, el conocimiento cada vez mayor de la EA también ha permitido clasificarla en función de distintos factores:

1. Según la edad de inicio.
 - a. Inicio precoz o presenil. La enfermedad comienza antes de los 65 años, su curso es rápido y sólo representa el 1% del número total de enfermos de Alzheimer.
 - b. Inicio tardío o senil. Aparece después de los 65 años, en la mayoría de los casos es esporádica, de curso lento y es la más frecuente.

2. Según implicación del factor genético.

- a. Familiar o de causa genética. Se produce una alteración o mutación en tres genes: el gen de la Proteína Precursora Amiloide (PPA) en el cromosoma 21, el gen de la Presenilina 1 (PSEN 1) en el cromosoma 14 y el gen de la Presenilina 2 (PSEN 2) en el cromosoma 1. Se heredan de forma dominante y en la mayoría de los casos coinciden con la EA precoz.
- b. Esporádica. Si bien no se conocen genes causales, están implicados diversos factores genéticos de susceptibilidad. Coincide generalmente con los casos de EA de inicio tardío, representando el 98% de los casos de EA.

La edad de comienzo y la presencia o ausencia de antecedentes familiares no son elementos clasificatorios excluyentes, pudiendo existir casos familiares de inicio precoz y tardío.

En cuanto a la tasa anual de conversión a demencia (tipo Alzheimer, por cuerpo de Lewy o vascular) de pacientes con DCL se estima que es del 10-15%, y que aumenta hasta el 50% tras tres años de seguimiento (Valls-Pedret et al., 2010). Sin embargo, también algunos estudios muestran una reversión a la normalidad hasta del 40% (muy alta). Los factores que explican esta inestabilidad están relacionados con los diferentes escenarios de evaluación, el método de reclutamiento de participantes, la naturaleza del diagnóstico clínico o la longitud del seguimiento. Recientemente se ha documentado que la estabilidad del diagnóstico mejora con períodos de seguimiento más largos, que pueden estar influenciados por los efectos de la edad, el desgaste y la mortalidad. Esto permite que los sujetos cuyo diagnóstico no es claro acaben siendo bien diagnosticados. La reversión a un estado de normalidad cognitiva también puede ser consecuencia de tratar aquello que provocaba un deterioro cognitivo (como el consumo de drogas). Mejores criterios de exclusión dependiendo del objetivo del investigador o del clínico ayudarían a reducir esta variabilidad. (Petersen et al., 2014).

Existen beneficios importantes para el individuo, la familia y la sociedad en la detección temprana del deterioro cognitivo. En primer lugar, se abre la posibilidad de detener o retrasar el avance con tratamiento farmacológico o, en el caso de demencias tratables, revertirlo. Además, se ha

encontrado efectividad en la implementación de intervenciones cognitivas. Otros beneficios incluyen la posibilidad del paciente para decidir sobre su propio futuro financiero y los cuidados médicos deseados.

3. Hipótesis explicativas de la Enfermedad de Alzheimer

A medida que se han ido encontrando marcadores de la enfermedad, se han ido desarrollando diversas hipótesis explicativas.

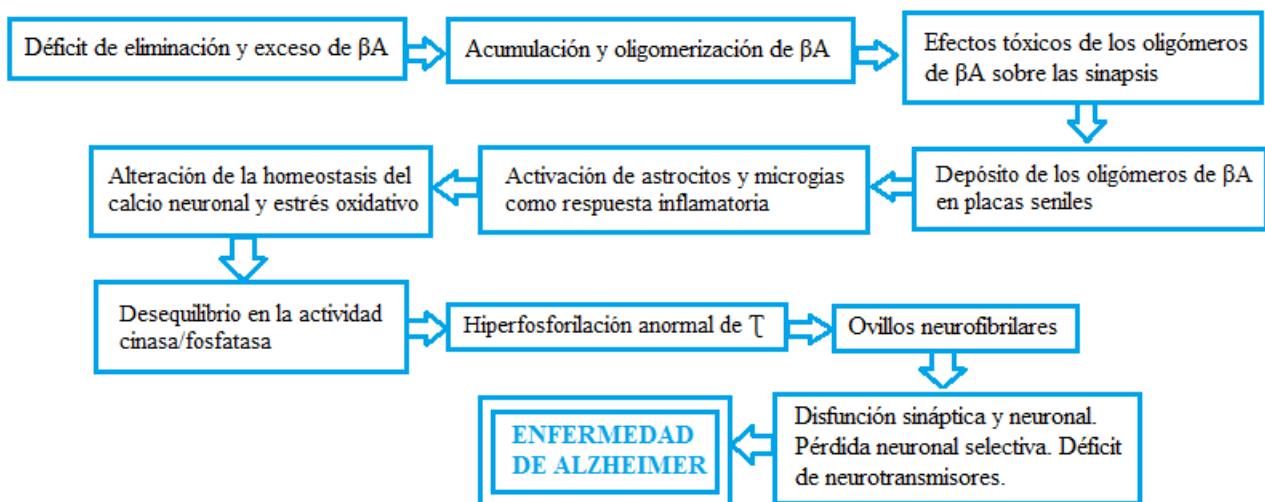
3.1. Hipótesis amiloide

El beta-amiloide (βA) es un péptido que se encarga de asegurar la efectividad de la transferencia de información (Abramov et al., 2009) amortiguando la transmisión excitatoria y previniendo la hiperactividad celular; es decir, regulando la actividad sináptica. Se sintetiza a partir de la PPA dando lugar a dos especies diferentes: el βA_{40} y el βA_{42} . A pesar de sólo diferenciarse en dos aminoácidos, ambos péptidos tienen propiedades muy diferentes: βA_{42} es más tóxico, y forma agregados y placas con mayor facilidad que el βA_{40} . En condiciones normales, existe un equilibrio entre su generación y eliminación. La acumulación y precipitación anormal del péptido fuera de la célula es lo que se relaciona con la formación de las denominadas placas seniles. Sin embargo, no fue hasta mediados de los años 80 cuando se descubrió la naturaleza química de las mencionadas placas. Su descubrimiento, junto con el de los ovillos neurofibrilares -depósitos intracelulares de la proteína tau hiperfosforilada asociada a microtúbulos- y la influencia de la Apolipoproteína E (APOE), supusieron el inicio de la investigación moderna de la EA (Hardy & Selkoe, 2002) y el marco genético para elaborar la hipótesis amiloide de la EA (Selkoe, 1991; Hardy & Higgins, 1992) (ver Figura 1). Según esta hipótesis, los procesos implicados en la enfermedad serían, en gran medida, resultado del desequilibrio entre la producción y eliminación de βA . Aunque se desconocen con exactitud los mecanismos que inducen este aumento de producción, la primera consecuencia es la acumulación de βA_{42} insolubles y de oligómeros solubles, formando lo que se conoce como placas difusas. Posteriormente, se deposita βA_{40} provocando una cascada de procesos inflamatorios -activación de astrocitos y microglías- y de liberación de proteínas. De este modo, las placas -ahora conocidas como placas seniles o neuríticas- pasan a estar formadas, además de por βA , por dendritas y axones

distróficos, astrocitos reactivos, microglías activadas y proteínas mediadoras de la inflamación. Como consecuencia de esta inflamación o de la propia neurotoxicidad de la βA , las neuritas y neuronas acaban dañadas experimentando cambios metabólicos que desencadenan la hiperfosforilación de la proteína tau y la consecuente formación de ovillos neurofibrilares. Todos estos procesos, junto con la alteración en la homeostasis de calcio y el daño celular provocado por el incremento de estrés oxidativo, se traduce en defectos en la neurotransmisión y en la aparición de síntomas clínicos.

Figura 2

Cascada amiloide (Pedrosa Serrano)



Varios hechos apoyan esta hipótesis. En primer lugar, que las mutaciones de las proteínas presenilinas provocan EA y mejoran el procesamiento de la PPA para formar βA (Scheuner et al., 1996; Duff et al., 1996; Borchelt et al., 1996). En segundo lugar, que las mutaciones en la codificación genética de la proteína causan demencia frontotemporal con parkinsonismo (Poorkaj et al., 1998; Hutton et al., 1998). Este trastorno neurodegenerativo se caracteriza por la deposición de proteína tau en ovillos neurofibrilares, pero no deposición de amiloide. Es decir, la alteración de la proteína tau no induce la formación de las placas seniles características de EA. Los ovillos neurofibrilares (tau) que se observan en EA se depositan después de que haya cambios en el metabolismo de βA y, por tanto, de que se formen las placas seniles (Hardy et al., 1998). En tercer lugar, que los ratones

transgénicos que sobreexpresan tanto PPA mutada como tau mutada, incrementan la formación de ovillos de tau, mientras que la estructura y el número de placas de amiloide permanece esencialmente inalterado (Lewis et al., 2001). Es decir, el procesamiento alterado de PPA ocurre antes que la alteración de la proteína tau en la cascada patogénica de la EA. En cuarto lugar, que cruzando ratones transgénicos PPA con ratones transgénicos con deficiencia de ApoE se observa una reducción de la deposición de β A en la descendencia (Bales et al., 1997), lo que implica que el papel genético ApoE se relaciona con el metabolismo de la β A (Corder & Saunders, 1993). Por último, que la variabilidad genética en la producción y eliminación de β A incrementa el riesgo de aparición tardía de la EA (Wavrant-DeVrièze et al., 1999; Mullan et al., 1992; Ertekin-Taner et al., 2000; Bertram et al., 2000; Olson, Goddard & Dudek, 2001). Todas estas evidencias son consistentes con la afirmación de que la acumulación de β A es el desencadenante del resto de los procesos neuropatológicos de la EA, incluida la formación de los ovillos neurofibrilares a partir de proteínas tau (Hardy & Selkoe, 2002). A pesar de que la hipótesis amiloide ofrece un marco de referencia para explicar la patogénesis de EA, no es capaz de explicar ciertas observaciones. Una de las principales objeciones hace referencia al hecho de que el número de depósitos de amiloide no correlaciona con el daño cognitivo. De hecho, hay casos de sujetos sin síntomas de EA que tienen muchos depósitos de β A (Naslund et al., 2000). Otra observación inexplicable sería que las mutaciones en PPA, PSEN1 o PSEN2 que causan EA, incrementan la deposición de β A; sin embargo, el grado en el que cada mutación particular afecta a la producción de β A en los cultivos celulares no correlaciona con la edad en que se produce el primero de los síntomas (Citron et al., 1997; Mehta et al., 1998). La causa de estas discrepancias no están claras, pero podrían deberse a que los estudios de cultivos de células no reflejan bien la complejidad de la β A en el cerebro humano (Hardy & Selkoe, 2002). También resulta controvertido el hecho de que las especies neurotóxicas del β A y la naturaleza de sus efectos en la función neuronal no se han definido en vivo; sin embargo, varias líneas de investigación convergen en que los oligómeros solubles de β A, pero no los insolubles, pueden ser los responsables de la disfunción sináptica en los cerebros de los pacientes con EA. Otra observación controvertida es que los ratones transgénicos

sometidos a deposición progresiva de β A a menudo no muestran clara pérdida neuronal (Irizarry et al., 1997). Por último, Braak & Braak (1991) encontraron que la degeneración neurofibrilar de los cuerpos celulares y de sus neuritas se incrementa gradualmente con la edad y esos cambios son anteriores a las placas amiloides morfológicamente detectables; sin embargo, los casos examinados en los estudios post-mortem eran sujetos en estadio I no demenciados todavía, por lo que no se sabe si esos cambios neurofibrilares eran prodrómicos a la EA. Puede que las lesiones neurofibrilares durante el final de la vida media puedan ocurrir al margen de la EA (Price & Morris, 1999). En conjunto, ninguna de estas debilidades son razón suficiente para abandonar la hipótesis; sin embargo, muestran importantes lagunas (Hardy & Selkoe, 2002).

3.2. Hipótesis inmunológica

Si bien la década comprendida entre 1990 y 2000 fue lo que se podría llamar la época dorada de la “hipótesis de la cascada de amiloide”, las nuevas investigaciones apuntan a la “hipótesis inmunológica”, según la cual, las microglías -células que actúan como defensa inmunitaria en el sistema nervioso central- juegan también un papel importante en el desarrollo de la enfermedad.

A mediados de 1980 se descubrió por primera vez que las células microgliales en el cerebro de los enfermos de Alzheimer podían marcarse con anticuerpos contra los Complejos Mayores de Histocompatibilidad clase II (CMH II), un marcador clásico para las células inmunes activadas (Luber-Narod & Rogers, 1988; McGeer et al., 1988; Rogers et al., 1988). Esto no sólo supuso la creación de un método más sencillo para identificar microglías, sino que también demostró que el cerebro no era tan inmunológicamente privilegiado como se suponía hasta entonces.

Un signo reconocido de la enfermedad de Alzheimer en el cerebro de los afectados es la inflamación cerebral. Cuando el sistema inmunitario detecta sustancias dañinas, como las proteínas tau y beta amiloide, reacciona enviando células que puedan atacar esas sustancias. Hasta ahora, se sabe que dos tipos de células del sistema inmunitario, los astrocitos y las microglías, cambian durante

la enfermedad. Estos cambios son especialmente notables en la microglía, célula responsable de reciclar las células dañadas o muertas, los residuos y las toxinas a través de un proceso denominado fagocitosis; y encargadas de producir sustancias proinflamatorias, las citoquinas. De este modo, en condiciones normales, la microglía tiene una función neuroprotectora, pero en la enfermedad de Alzheimer, se vuelve hiperactiva y produce gran cantidad de citoquinas, que terminan dañando las células sanas. Adicionalmente, pierden la capacidad de fagocitar las sustancias dañinas como las fibrillas de amiloide. Hoy en día, se considera que las microglias son parte fundamental en las respuestas inmunes/inflamatorias innatas de múltiples trastornos neurológicos, incluidas la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer, y se siguen realizando estudios, en particular con respecto a los estados intermedios de activación microglial y las interacciones microgliales con el péptido beta-amiloide (Cai et al., 2014; Tuppo & Arias, 2005).

En el pasado, muchas investigaciones de tratamientos antiinflamatorios fracasaron, por lo que durante un tiempo el interés hacia la neuroinflamación como posible diana terapéutica fue disminuyendo. Sin embargo, los últimos resultados están siendo esperanzadores y la investigación en este campo está resurgiendo. En esta línea de investigación, Choi et al. (2015) descubrieron que el ácido salicílico, un metabolito de la aspirina, inhibe la Gliceraldehído 3-Fosfato deshidrogenasa (GAPDH), una enzima que en condiciones de estrés oxidativo entra en el núcleo de las neuronas provocando su muerte.

3.3. Hipótesis de Tau y los ovillos neurofibrilares

Otra hipótesis explicativa de la EA, pero de menor importancia, ha sido la hipótesis de Tau y los ovillos neurofibrilares. La función principal de la proteína tau es incorporar monómeros α y β tubulina a los microtúbulos neuronales, lo que contribuye al mantenimiento, estabilidad dinámica, y control de las actividades sinápticas de las neuronas implicadas en la memoria y funciones cognitivas. Cuando esta proteína es fosforilada, disminuye su afinidad por los microtúbulos lo que facilita la

agregación y formación de ovillos neurofibrilares intracelulares, provocando neurotoxicidad (Frost et al., 2015; Martin et al., 2011). Adicionalmente, estas modificaciones en tau que implican la formación de ovillos neurofibrilares han sido asociadas con las concentraciones tóxicas de β A, pero el mecanismo concreto de esta relación sigue siendo objeto de investigación (Hernández et al., 2009; Huang & Jiang, 2009; Yin et al., 2018)

3.4. Hipótesis de la cascada mitocondrial y estrés oxidativo

La hipótesis de la cascada mitocondrial afirma que la función mitocondrial de cada individuo está determinada genéticamente y factores como el estrés metabólico y la edad avanzada reducen su eficiencia en la formación de ATP (trifosfato de adenosina) y su durabilidad (Swerdlow et al., 2010). El déficit energético resultante de la disminución de la actividad mitocondrial podría impedir el adecuado aclaramiento de los agregados de proteínas y el adecuado funcionamiento de los canales de iones, de las bombas transportadoras, de la neurotransmisión, y del transporte axonal y dendrítico en la EA. La disminución de energía podría estar también asociada con una defectuosa reducción del oxígeno y del agua y con un aumento de la formación de radicales libres que pueden dañar el ADN mitocondrial, tal como se observa desde etapas precoces de la enfermedad (Delbarba et al., 2016) y que se define como daño por estrés oxidativo.

El estrés oxidativo es el proceso de deterioro celular dependiente de la producción de radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés *reactive oxygen species*), producto del metabolismo aerobio -aunque las mitocondrias no son la única fuente de radicales libres. Los radicales libres son átomos o pequeñas moléculas altamente reactivas que a veces cumplen funciones fisiológicas tales como transducción de señales y expresión génica, activación de factores transcripcionales y protección inmunológica (Zentella & Saldaña, 1996). Su presencia dentro del organismo se encuentra en equilibrio gracias a varios sistemas de protección como la actividad de la superóxido dismutasa, la catalasa o la glutatión peroxidasa. Sin embargo, cuando por consecuencia del envejecimiento celular se rompe este equilibrio (por ejemplo, aumenta la producción de ROS

en las mitocondrias), éstos acaban dañando a la célula (al ADN, a las proteínas y a los lípidos) y a su entorno provocando muerte celular y disfunción tisular.

Es muy amplia la documentación acerca del daño oxidativo en la EA; sin embargo, aún permanecen poco claros los responsables del incremento de ROS (Angoa & Selva, 2007). Algunos de los posibles causantes son: 1) la microglía activada, ya que es fuente de óxido nítrico y superóxido, que reaccionan formando peroxinitritos; 2) los depósitos de β A, que promueven la generación de ROS por su unión con metales de transición o por su interacción con receptores de superficies que participan en la respuesta inflamatoria (Sayre et al., 2001); 3) el propio estrés oxidativo.

El cerebro es particularmente vulnerable al estrés oxidativo debido a la elevada tasa metabólica derivada de la glucosa, al bajo contenido en defensas antioxidantes, a las altas concentraciones de ácidos poliinsaturados y de actividades enzimáticas relacionadas con metales de transición y con la producción de radicales libres. Es un hecho que el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer presenta un estado de estrés oxidativo severo y los indicadores de la presencia de este estado apuntan a una relación entre la producción de beta-amiloide y estrés oxidativo, pero se desconoce si el estrés causa su producción o si, por el contrario, la mencionada proteína es un agente pro-oxidativo.

3.5. Modelo de daños acumulados

Un modelo que está muy relacionado con el estrés oxidativo es el modelo de daños acumulados. La acumulación excesiva de radicales libres, fruto de la conversión del oxígeno en energía, puede provocar la muerte neuronal pues pasan a actuar como potentes agentes oxidantes. En concreto, provocan alteraciones oxidativas acumuladas en el colágeno, la elastina y el ADN; rompen mucopolisacáridos mediante la degradación oxidativa; acumulan sustancias metabólicamente inertes (como ceras y pigmentos) y provocan la fibrosis de arteriolas capilares. De este modo, se puede concluir, que a medida que pasan los años, con el envejecimiento, las células, los tejidos, y los órganos

sufren cambios irreversibles. El almacenamiento de estos cambios son la base del **modelo de daños acumulados** que explica este proceso basándose en la acumulación de daños celulares irreversibles, en la disminución del sistema inmunológico y en el decrecimiento de la capacidad de reparación del ADN, que facilita la síntesis de proteínas anormales.

4. Factores de riesgo y prevención

El principal factor de riesgo del DCL y de la EA es la **edad**. Esto no quiere decir que la demencia sea una fase normal del envejecimiento o que ser mayor es causa suficiente para desarrollar esta patología, sino que el riesgo de padecerla incrementa notablemente con la edad (Nelson et al., 2011). Así, la evidencia clínica indica que es importante atender las quejas subjetivas de memoria pasados los 50 años (Casanova, Casanova & Casanova, 2004). Un segundo factor de riesgo es la **historia familiar de la enfermedad**. Personas con un pariente de primer grado con la EA tienen un riesgo del doble al triple de desarrollar la enfermedad (Cannon-Albright et al., 2019). Atendiendo a la **genética**, la EA presenta dos posibles manifestaciones: la EA familiar, que se caracteriza por un inicio precoz y una herencia autosómica dominante -los hijos de los portadores tendrán un 50% más de probabilidades de heredar la enfermedad-; y la EA esporádica, que presenta un inicio tardío y un patrón de herencia muy complejo. Si bien es cierto que la prevalencia de la primera es muy pequeña, en torno al 1% (Bekris et al., 2010), su evolución es muy agresiva. Los principales factores de riesgo genéticos son la Proteína Precursora de Amiloide, el gen de la Presenilina 1 y Presenilina 2 y la Apolipoproteína E. Esta última se encarga del transporte del colesterol y otros lípidos a los diferentes tejidos (Kryscio et al., 2006) pero también se asocia a la EA. Todo el mundo hereda una de las formas (alelos) del gen ApoE ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$), una del padre y otra de la madre. El alelo $\epsilon 3$ y el genotipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ son los más frecuentes en la población europea (80%), pero ni incrementan ni decrecen el riesgo a desarrollar EA. Las otras dos formas, $\epsilon 2$ y $\epsilon 4$ son mucho menos comunes. El alelo $\epsilon 4$, presente en el 15% de la población, está sobre-representado en pacientes e incrementa el riesgo de desarrollar EA esporádica o familiar de inicio tardío. Aquellos que heredan una copia del alelo $\epsilon 4$ tienen hasta 3 veces más riesgo de desarrollar EA, mientras que los que heredan dos copias tienen entre 8 y 12 veces más riesgo. No obstante, algunos portadores de APOE $\epsilon 4$ sobreviven hasta edades avanzadas sin padecer trastorno cognitivo. Por tanto, heredar la forma $\epsilon 4$ del APOE no garantiza que el individuo desarrolle DCL o EA, pero si incrementa notablemente las posibilidades (Farrer et al., 1997;

Holtzman et al., 2012; Loy et al., 2014; Raber et al., 2004; Saunders et al., 1993; Xu et al., 2013). La presencia de $\epsilon 4$ también afecta a la edad de inicio de la enfermedad, los portadores de $\epsilon 4$ tienen una edad de inicio más precoz (Spinney, 2014). Por su parte, el alelo $\epsilon 2$ decrece el riesgo de desarrollar demencia y de presentarlo, aparece a una edad más tardía. En cualquier caso, estudios con gemelos no apoyan la idea de una fuerte base genética. Por este motivo; es decir, al no ser necesario ni suficiente para ocasionar EA, la *European Federation of Neurological Associations* (EFNS) no recomienda el análisis de ApoE en la práctica rutinaria del diagnóstico de EA (Hort et al., 2010). No obstante, el genotipo ApoE es una variable importante en ensayos clínicos para evitar un sesgo genético y evaluar el efecto del genotipo sobre las variables de eficacia. El alelo $\epsilon 4$ también se asocia con frecuencia a pacientes con DCL con mayor riesgo de conversión a EA (Growdon, 1999). En algunos estudios, dicha asociación no alcanza significación estadística o se asocia a conversión en el grupo de DCL de mayor edad. Las diferencias pueden explicarse por los criterios de DCL utilizados y que no todos los estudios tienen como objetivo principal analizar la influencia de ApoE sobre la progresión del DCL. Otro factor de riesgo, pero que sólo afecta a las mujeres, sería la **menopausia**. Recientemente, la investigación llevada a cabo por la Sociedad Norteamericana de Menopausia (NAMS del inglés *The North American Menopause Society*) (2016), demostró que las mujeres tienen mejor memoria que los hombres al menos hasta la llegada de la menopausia, momento en que las capacidades de esta función quedan equilibradas para ambos géneros. Los resultados de las analíticas de sangre mostraron que las mujeres que obtenían peor resultado en las pruebas de memoria también eran las que presentaban menores niveles de estradiol. El estradiol es una hormona esteroide sexual femenina, que experimenta un cambio brusco con la menopausia debido al agotamiento de los folículos ováricos donde se produce. En otro estudio, Mosconi et al. (2018) estudiaron cómo cambia el cerebro de la mujer antes y después del fin de su ciclo fértil. Encontraron que el grupo de mujeres posmenopáusicas presentaba cambios relacionados con el alzhéimer -tasa más alta de pérdida de volumen del hipocampo y tasas más altas de deposición de $A\beta$ - en comparación con los hombres. De este modo parece que los cambios cerebrales están relacionados con la edad reproductiva y no sólo

con la edad cronológica. Otro factor de riesgo es la presencia de comorbilidad con trastornos como las **enfermedades cardiovasculares** (ataque al corazón o enfermedades del corazón). El cerebro está nutrido de una rica red de vasos sanguíneos. Así, un corazón sano ayuda a asegurar que la suficiente sangre es bombeada al cerebro y unos vasos sanguíneos sanos ayudan a asegurar la llegada correcta de oxígenos y nutrientes para su correcto funcionamiento. Los factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares - como el hábito de fumar (Anstey et al., 2007; Rusanen et al., 2010; Pendlebury, & Rothwell, 2009), la obesidad (Whitmer et al, 2008; Raji, et al., 2010; Kivipelto et al., 2005; Xu et al., 2011; Fitzpatrick et al., 2009; Rönnemaa et al., 2011; Luchsinger et al., 2012), la hipertensión (Kivipelto et al., 2005; Launer et al., 2000; Ninomiya et al., 2011; Debette et al., 2011) y la diabetes (Ohara et al., 2011; Ahtiluoto et al., 2010; Cheng et al., 2011) - también lo son de desarrollar DCL, EA u otras demencias. La **depresión** ha sido ampliamente estudiada como factor de riesgo (Byers & Yaffe, 2011; Jorm, 2000; Jorm, 2001; Petersen et al., 2014), lo mismo que la **diabetes**. La correlación entre la diabetes y la demencia es tan firme que se ha llegado a denominar diabetes tipo III a la EA. De hecho, una de las pruebas más aceptadas para diagnosticar el Alzheimer en la actualidad es la Tomografía por Emisión de Positrones (TEP) que mide el metabolismo de la glucosa, que se ve afectado de forma temprana en la enfermedad. Con esto no se puede concluir que estas alteraciones metabólicas sean la causa, pero queda patente que es un factor de riesgo importante. Con todo, habría que matizar que es la diabetes tipo 2 frente a la diabetes tipo 1 la que se asocia con un riesgo más alto de desarrollar demencia (Whitmer & Nickerson, 2015). Esto es debido a que, si bien ambos tipos de diabetes suponen problemas con la regulación del azúcar en la sangre, la causa de cada enfermedad es distinta. En la diabetes tipo 1, el sistema inmunitario ataca por error a las células beta, que producen la insulina en el páncreas. Esto deja a las personas con diabetes tipo 1 con poca o ninguna insulina. La insulina es una hormona necesaria para que las células del cuerpo puedan utilizar los carbohidratos de los alimentos como combustible. En la diabetes tipo 2, el cuerpo desarrolla resistencia a la insulina y no usa los carbohidratos con efectividad. De este modo, es posible que los niveles altos de azúcar en sangre puedan provocar algún tipo de daño en los vasos sanguíneos que contribuya a la demencia

en las personas con diabetes, pero es necesaria más investigación (Whitmer & Nickerson, 2015). Las investigaciones centradas en la relación entre la diabetes tipo 2 y la EA han encontrado que el exceso de glucosa y de β A causa iguales cambios a nivel molecular -aumento de óxido nítrico y otras especies radicales libres-, que terminan conduciendo a la pérdida de sinapsis (Akhtar et al, 2016; Macauley et al., 2015). Esto tiene implicaciones incluso a nivel de tratamiento. De hecho, tomando como base los datos recogidos por la compañía pública de seguros alemana AOK entre 2004 y 2010, parece que algunos medicamentos utilizados en el tratamiento a largo plazo de la diabetes logran reducir significativamente el riesgo de demencia; es decir, lograrían un efecto preventivo sobre el Alzheimer en los diabéticos. Todavía queda por investigar si este efecto protector se mantiene en los no diabéticos. Otro factor de riesgo es el **bajo nivel educativo**. Los estudios demuestran que las personas con menos años de formación tienen más riesgo de desarrollar Alzheimer u otra demencia (Hendrie et al., 2018; Sando et al, 2008). Adicionalmente, esta realidad suele estar asociada a un bajo nivel socioeconómico, lo que a su vez se relaciona con una peor alimentación y con un menor cuidado de la salud; es decir, con más factores de riesgo. Y es que un alto nivel educativo no sólo reduce las posibilidades de desarrollar la demencia, sino que también aumenta lo que se conoce como la **reserva cognitiva** (Sattler et al, 2012); un importante factor de prevención definido como la habilidad del cerebro para hacer un uso flexible y eficiente de la red neuronal que permita al sujeto seguir llevando a cabo tareas cognitivas a pesar de los cambios experimentados por el cerebro (Stern, 2002).

Otros factores de prevención son el **estilo de vida** -aunque no se sabe en qué grado- (Petersen et al., 2014), la **actividad física** -aunque no hay acuerdo ni en el tipo, ni en la frecuencia ni en la duración del ejercicio a realizar- (Larson et al., 2006; Laurin et al., 2001; Stephen et al., 2017; Willis et al., 2012), **dieta** rica en antioxidantes, baja en grasas saturadas y rica en vegetales, o la **actividad/estimulación mental y social** (Karp et al., 2005; Krueger et al., 2009; Labra & Menor de Gaspar Pinilla, 2015; Sharp et al., 2010; Ball et al., 2002; Hall et al., 2009; Wilson et al., 2002; Wilson et al., 2002). Entre los alimentos que “mejoran” la memoria estarían:

- Las **verduras de hoja verde**, como las coles de Bruselas, brócoli o las espinacas, por su

contenido en vitaminas A y B, y antioxidantes como flavonoides y sulforafanos, que tienen propiedades neuroprotectoras y antioxidantes (Morris et al., 2018).

- El **pescado azul**, por ser fuente de fósforo, necesario para las membranas de las neuronas, y de omega 3, que disminuye la progresión del deterioro (Barberger-Gateau et al., 2002; van de Rest et al., 2016).
- Los **frutos secos**, ricos en omega 3, fósforo, magnesio y vitaminas E y B, componentes indispensables para la salud cerebrovascular, favoreciendo un correcto aporte sanguíneo. Son ricos también en antioxidantes como los polifenoles, que retrasan el envejecimiento de las neuronas al actuar contra los radicales libres que provocan estrés oxidativo (Miller et al., 2017).
- La **fruta**, fuente importante de vitamina C, ácido fólico, minerales y antioxidantes que contribuyen al buen funcionamiento de la memoria (Miller et al., 2017). Dentro de los frutos, los que mayores beneficios aportan serían los arándanos y las manzanas ya que contienen flavonoides y los polifenoles, antioxidantes que mejoran las funciones cognitivas y luchan contra la oxidación celular. Además, tienen efecto antiinflamatorio y retrasan las enfermedades degenerativas (Williams & Spencer, 2011).
- Los **integrales**, que controlan el nivel de azúcar y colesterol en la sangre, lo cual resulta indispensable para la salud cerebral, y combaten el estrés además de mejorar la concentración y el rendimiento en etapas de esfuerzo mental (Jenkins et al, 2002).
- Conocidos todos estos factores de riesgo y prevención, distintos grupos de investigación han ido elaborando modelos multifactoriales de intervención, buscando aquel que mejor prevenga la enfermedad de Alzheimer (Park et al., 2019; Schneider & Yvon, 2013). La evidencia confirma que aquellos programas que implican la intervención sobre varios factores son más eficaces que aquellos que se focalizan en uno solo (Schneider & Yvon, 2013).

5. Tratamientos

A día de hoy no existe tratamiento curativo para la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, se dispone de tratamientos farmacológicos y no farmacológicos que han demostrado enlentecer su progresión, sin ser capaces de revertirla. Los primeros paliar los efectos de la enfermedad y los segundos alivian los síntomas y mejoran la calidad de vida de las personas afectadas y de sus familiares.

Las investigaciones han demostrado que que las terapias no farmacológicas en combinación con los tratamientos farmacológicos pueden ser tan efectivas, o incluso más, que cada uno de ellos por separado.

5.1. Tratamientos no farmacológicos

Los tratamientos no farmacológicos se basan, esencialmente, en el concepto de neuroplasticidad (Arroyo, 2002). Esta plasticidad neuronal hace referencia a la capacidad del sistema nervioso para reorganizar sus conexiones a fin de suplir algún tipo de lesión o disfunción. Aunque se sabe que el cerebro en formación presenta mayor plasticidad que la de un adulto, ambos poseen esta capacidad de reorganizarse a través de la experiencia y la ejecución de tareas diferentes (Johansson, 2004).

El grado de recuperación dependerá -además de la edad- del área del cerebro comprometida, de la cantidad de tejido dañado, de la extensión de la lesión, de la rapidez con la que se produce el daño, de los programas de rehabilitación y de los factores ambientales y psicosociales (Hernández-Muela et al., 2004). En este sentido, otro factor que se ha revelado fundamental para el éxito terapéutico es la educación de los cuidadores en el manejo del paciente, especialmente en el uso de las técnicas adecuadas de comunicación.

En la tabla 1 se pueden observar los principales tratamientos no farmacológicos existentes a día de hoy para su empleo en personas con EA.

Tabla 1

Principales tratamiento no farmacológicos para la EA (De los Reyes Aragón et al., 2012)

TIPO	TRATAMIENTO	¿EN QUÉ CONSISTE?
Tratamientos cognitivos	Estimulación cognitiva	Estimulación individualizada, adaptada a las necesidades cognitivas del paciente, para rehabilitar funciones alteradas.
	Aprendizaje sin error	Impedir a los sujetos que cometan errores durante el aprendizaje de una nueva tarea o la adquisición de una nueva información.
	Recuperación espaciada	Presentación de estímulos con un intervalo creciente, incrementando así la retención y evocación de información específica a través del tiempo.
	Imaginería visual	Solicitar al sujeto que preste atención a detalles visuales específicos de la información que debe aprender, o que genere una imagen mental del objeto que le es presentado en modalidad verbal.
	Difuminación de pistas	Dar al paciente pistas para la evocación de la información. Estas pistas disminuyen sistemáticamente a medida que el sujeto va aprendiendo, hasta que desaparecen por completo.
	Ayudas externas	Sustitución de funciones cognitivas perdidas por diferentes herramientas.
Intervención psicosocial	Terapia de orientación de la realidad	Presentación constante de la información relacionada con la orientación en tiempo, lugar y persona.
	Terapia de validación	Aplicación de técnicas basadas en una actitud de respeto y empatía por los adultos con EA.
	Terapia de reminiscencia	Estimulación para el recuerdo de experiencias pasadas a través de fotografías, videos, canciones, ropas, periódicos, cartas o cualquier otro elemento.
	Método Montessori	Trabajo a través del análisis de tareas, la repetición guiada y la progresión paulatina de lo simple a lo complejo y de lo concreto a lo abstracto.
	Terapia intergeneracional	Implementación de programas en los que los pacientes con demencia enseñan a niños a realizar diferentes actividades de la vida diaria u otras habilidades.
Otras intervenciones	Psicomotricidad y actividad física	Utilización del ejercicio físico y actividades motrices guiadas para estimular vías sensoriales y motoras.

	Musicoterapia	Utilización de la música para el manejo de diferentes síntomas presentes en la EA.
	Arteterapia	Utilización de diferentes formas de arte como método de expresión en pacientes con EA.
	Modificaciones ambientales	Realización de modificaciones en el entorno del paciente con EA para disminuir el riesgo de accidentes e impacto de sus déficits en las Actividades de la vida diaria.
	Dietas y cambio de hábitos alimenticios	Seguimiento de dietas de restricción calórica y disminución de grasas saturadas, para disminuir la presencia de radicales libres en el organismo.

Estos tratamientos son empleados en las etapas iniciales o intermedias de la EA pues en los estadios tardíos los pacientes ya no poseen los recursos cognitivos necesarios y los logros alcanzados son muy limitados. Deben aplicarse de forma selectiva, conociendo el estado cognitivo del paciente y mediante el asesoramiento de un profesional. Aunque estas técnicas también pueden usarse para la rehabilitación de otras funciones (atención, funciones ejecutivas...), en el caso de los pacientes con EA han sido utilizadas sobre todo para mejorar los problemas de memoria. Tal es así que los sujetos que participan muestran un mejor desempeño en las tareas de memoria después del tratamiento, pero también en la funcionalidad de la vida diaria, que es lo verdaderamente importante en cualquier proceso terapéutico. El objetivo último de este tipo de intervenciones es sacar el máximo partido de las funciones que aún quedan activas en el enfermo y así mejorar su calidad de vida. En cuanto a la duración de las ganancias obtenidas durante el proceso de rehabilitación, varios estudios han demostrado que éstas se mantienen entre los 6 meses y los dos años (Clare et al., 2000; Clare et al., 2001; Clare et al., 2002; Cherry & Simmons-D'Gerolamo, 2005), siendo las técnicas que mantuvieron por más tiempo las ganancias del entrenamiento la Estimulación Cognitiva, el Aprendizaje sin Error, la Recuperación Espaciada y las Ayudas Externas (De los Reyes Aragón et al., 2012).

En cuanto a la combinación con el tratamiento farmacológico, se ha demostrado mayores posibilidades de éxito cuando se aplica conjuntamente con la Estimulación Cognitiva (Chapman et al., 2004; Matsuda, 2007) que cuando se aplican por separado.

5.2. Tratamientos farmacológicos

Los ensayos clínicos realizados hasta ahora, en su búsqueda por abordar la patogénesis subyacente, han sido una gran decepción. Desde 1988 hasta ahora se han aprobado más de 100 medicamentos, pero solamente se han autorizado 4 para su uso (ver Tabla 2). Estos fármacos ni producen mejoras de las funciones cognitivas ni tienen un impacto sobre la supervivencia de los pacientes, *sólo* ralentizan la progresión de la enfermedad. Son de dos tipos: 1) inhibidores de la colinesterasa, que aumentan la cantidad de acetilcolina disponible para las células nerviosas, previniendo su descomposición y consiguiendo un aumento de la vigilia y de la activación generalizada del sujeto; y 2) antagonistas del N-metil-D-aspartato (NMDA), que restablecen la transmisión neuronal glutamatérgica, evitando los efectos excitotóxicos producidos por los valores tónicos patológicamente elevados de glutamato sináptico, que pueden dar lugar a la disfunción neuronal. De este modo, la función de todos ellos ha consistido en retrasar la progresión del deterioro cognitivo mediante la modulación de la neurotransmisión -colinérgica o glutamatérgica-, pero normalmente, sólo han resultado eficaces para algunos pacientes entre la fase primera e intermedia de la enfermedad. El porqué de este *fracaso* sigue siendo objeto de gran controversia, pero en general el debate gira en torno a tres posibles causas: 1) defectos en el diseño del estudio, por ejemplo: ensayos muy cortos o inclusión de pacientes muy avanzados en la enfermedad, lo que disminuye la posibilidad de demostrar impacto clínico; 2) defectos del estudio, por ejemplo: atacar a mecanismos incorrectos; 3) falta de biomarcadores para seleccionar a los pacientes “correctos” en los ensayos, por ejemplo: incluir pacientes en los que el curso de su enfermedad puede verse modificado. Por ello, buena parte de la investigación ha intensificado sus esfuerzos en la búsqueda de biomarcadores indicadores de cambios patológicos tempranos. El desarrollo y validación de biomarcadores facilitarán en gran medida la identificación de nuevos tratamientos y estrategias preventivas más eficaces.

Tabla 2

Medicamentos aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los EE.UU. para tratar síntomas.

Nombre del fármaco	Marca	Mecanismo de actuación	Etapas en la que se administra	Año de aprobación por la FDA
Donezepil	Aricept	Inhibidor de la colinesterasa	Todas las etapas	1996
Galantamine	Razadyne	Inhibidor de la colinesterasa	Etapas leve-moderada	2001
Memantina	Namenda	Antagonista del receptor de NMDA	Etapas moderada-grave	2003
Rivastigmina	Exelon	Inhibidor de la colinesterasa	Todas las etapas	200
Donezepil y memantina	Nanzaric	Inhibidor de la colinesterasa	Etapas moderada-grave	2014

El proceso de desarrollo de un medicamento, desde que la compañía comienza a investigar una molécula innovadora hasta que el medicamento llega al mercado, pueden transcurrir entre 10 y 15 años. En la actualidad existen varios medicamentos en fase de desarrollo, pero son necesarios más ensayos clínicos y financiación.

En marzo de 2019 tuvo lugar uno de los últimos y más sonados fracasos farmacológicos, **Aducanumab**, un fármaco antiamilóide desarrollado por las compañías farmacéuticas Biogen y Eisai. Se trataba del ensayo clínico en fase más avanzada en el que participaban personas con deterioro cognitivo leve y demencia debidas a la enfermedad de Alzheimer. La decisión de finalizar con el estudio se comunicó a través de *Globe newswire*, y llegó después de que un comité independiente evaluara los datos y concluyera que el fármaco no resultaba eficaz ni para generar mejoras funcionales ni cognitivas. Las hipótesis explicativas de este fracaso han girado en torno a si se interviene demasiado tarde en la enfermedad dado que las investigaciones apuntan que los cambios relacionados con el inicio de la enfermedad comienzan décadas antes de la aparición de los síntomas

(Coupé et al., 2019) y a si se está atacando a la diana equivocada. Este fármaco asume que la acumulación de beta amiloide es uno de los mecanismos patológicos básicos, aunque realmente se desconoce la causa de la enfermedad.

Lo mismo ocurrió años antes, en 2016, con el fármaco antiamiloides de la compañía farmacéutica Eli Lilly, **Solanezumab**, que no fue capaz de enlentecer el deterioro cognitivo de los enfermos de Alzheimer.

Ambos fármacos son anticuerpos, pero mientras que el primero se dirige a las placas amiloides, el segundo ataca a la proteína en su forma soluble.

Sorprendentemente, en octubre del 2019, Biogen anunció que tenía nuevos resultados. Al analizar los datos de los pacientes en fase inicial con dosis más altas observaron que, en comparación con el placebo, éstos presentaron una reducción del 20-30% del deterioro cognitivo luego de 78 semanas. Ante tales resultados, han solicitado a la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) permiso para su comercialización en los Estados Unidos. En caso de aprobarse, sería la primera terapia contra el Alzheimer y supondría un argumento a favor de la hipótesis amiloide.

A día de hoy no hay cura para la enfermedad pues aún no se comprende en su totalidad la patogénesis de la misma. Esto hace que el principal objetivo de la investigación sea la detección precoz, lo cual es posible porque la enfermedad es sintomática años antes de la aparición de la patología. Algunos autores sitúan el inicio de los procesos degenerativos incluso 20-30 años antes del diagnóstico (Davies et al., 1988). Adicionalmente, diversos estudios han demostrado una mayor efectividad de los tratamientos cuando éstos se inician en las fases tempranas de la EA (Duncan & Siegal, 1998; Farlow & Cummings, 2007; Nordberg, 2003).

6. Diagnóstico y marcadores

Respecto al diagnóstico, 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. Tampoco se ha establecido una batería neuropsicológica específica para diagnosticar el DCL ni la enfermedad de Alzheimer. Por lo que la selección de los tests que forman parte de un protocolo neuropsicológico es, en cierta manera, algo arbitrario y la identificación de estas dos condiciones depende del tipo y el número de pruebas neuropsicológicas que se utilicen, al igual que del criterio clínico utilizado. Por tanto, para llevar a cabo una evaluación de este tipo, la experiencia clínica del evaluador sigue siendo de suma importancia y sus decisiones deben basarse en el conocimiento empírico del perfil neuropsicopatológico de los pacientes, el cual ha sido extensamente estudiado en el caso del DCL y de la EA.

Los expertos, además de llevar a cabo evaluaciones de los principales dominios cognitivos, que tienen como objetivo final identificar posibles alteraciones y/o evaluar las necesidades de tratamiento, se apoyan en las técnicas de neuroimagen, y en los biomarcadores -del líquido cefalorraquídeo y, más actualmente, de la sangre- para llegar al diagnóstico. Técnicas como la Tomografía por Emisión de Positrones (TEP), la Resonancia Magnética (RM) o la Tomografía Axial Computerizada (TAC), producen imágenes tridimensionales -en este caso del cerebro- que permiten observar las alteraciones propias del Alzheimer: reducción de la masa cerebral, depósitos de amiloide y cambios inflamatorios (Edison et al., 2007; Parbo et al., 2017; Scahill et al., 2003). Los biomarcadores, por su parte, aportan las evidencias moleculares.

Todos estos recursos son los que permiten llevar a cabo un diagnóstico diferencial, no sólo de la EA frente al DCL sino frente a otras enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson.

6.1. Diagnóstico diferencial

Aunque el Alzheimer y el Parkinson son enfermedades distintas, ambas presentan una serie de características comunes:

1. Son enfermedades neurodegenerativas; es decir, las alteraciones que se producen en los cerebros de las personas afectadas conllevan un deterioro y pérdida progresiva de neuronas que implica disfunción cognitiva y pérdida de autonomía en la vida cotidiana.
2. A nivel fisiopatológico, ambas incluyen inflamación, mutaciones genéticas, agregados patológicos de proteínas (alfa-sinucleína, placas amiloides), activación glial, disfunción mitocondrial y estrés oxidativo.
3. Entre los signos cognitivos ambas presentan deterioro del lenguaje y del razonamiento. En ocasiones, también disfunciones ejecutivas precoces.
4. Aunque no es muy frecuente, pueden presentarse conjuntamente, particularmente en personas mayores.

Si bien todos estos elementos comunes pueden llegar a dificultar en cierta manera el diagnóstico, hay otra serie de factores distintivos:

1. El inicio de la EP suele ser más precoz, apareciendo en la mayoría de los casos entre los 50 y los 65 años o incluso antes.
2. A nivel neuropatológico la EA se caracteriza por la acumulación de proteínas beta-amiloide y tau en áreas corticales. En la EP la alteración más destacada es el depósito neuronal de la proteína alfa-sinucleína, principalmente en la sustancia nigra.
3. En el Alzheimer, el principal síntomas es la pérdida de la memoria mientras que en el Parkinson los primeros síntomas suelen ser de tipo motor: lentitud de movimientos, problemas de caminar, dificultad en el control de movimientos automáticos...

6.2. Marcadores

Para complementar el diagnóstico, los evaluadores tienen a su disposición marcadores cognitivos, biológicos y neurofisiológicos; es decir, características objetivamente medibles y evaluables que permiten predecir, con fiabilidad aceptable, si una persona con síntomas clínicos va a desarrollar en el futuro una enfermedad.

6.2.1. Marcadores cognitivos

Los marcadores **cognitivos** son fallos del funcionamiento cognitivo normotípico de acuerdo con la edad y el nivel educativo.

- La característica cognitiva más prominente en los pacientes con EA es el **deterioro de la memoria episódica** -es decir, de la capacidad de adquirir y consolidar los eventos recientes- junto con la presencia de omisiones repetitivas inusuales y la dificultad para aprender nueva información (Perry, Watson, & Hodges, 2000). Es precisamente el hipocampo - la principal área del cerebro implicada en la formación de nuevas memorias y en el aprendizaje - la primera estructura afectada por la acumulación de placas seniles y ovillos neurofibrilares. Por eso, en las primeras fases, los pacientes con la EA no recuerdan los acontecimientos recientes pero sí los hechos pasados o lo aprendido tiempo atrás -almacenados en otras áreas cerebrales. Los problemas de memoria son característicos de la enfermedad de Alzheimer, pero también de otros trastornos como la depresión o la ansiedad. Sin embargo, es posible diferenciar los problemas de memoria propios de la EA frente al de estos otros trastornos, dado que en ésta los problemas derivan de la disfunción hipocampal. De ahí que la evaluación neuropsicológica sea crucial para establecer el tipo de daño en la memoria, lo cual implica distinguir entre (Dubois et al., 2009):
 - Daño en la memoria debido a un deterioro en el hipocampo, que se traduce en un bajo rendimiento en recuerdo libre incluso con claves para el recuerdo al haber

almacenado poca información.

- Deterioro de la memoria debido al daño de la atención o de las estrategias, que se traduce en un bajo rendimiento en el recuerdo libre pero normotípico en el recuerdo con claves.
- El deterioro de las **funciones ejecutivas** y de la **velocidad perceptiva** son otras dos funciones que, junto con el deterioro de la memoria, mejor predicen la aparición de la enfermedad de Alzheimer (Baudic et al, 2006; Kelly et al., 2017; Lafleche & Albert, 1995). Dificultades en tareas cotidianas tales como escoger la ropa apropiada para vestirse cada día, planificar y preparar la comida o desplazarse a un lugar son algunas de las manifestaciones de los déficits en las funciones ejecutivas que relatan los cuidadores de pacientes con la EA (Marshall et al., 2011; Perry & Hodges, 1999). La habilidad para comparar o reconocer letras, números, objetos, dibujos o patrones durante la ejecución de tareas sencillas que involucran la percepción visual comienza a deteriorarse y manifestarse en la evaluación neuropsicológica desde etapas muy tempranas (Albert et al., 2001; Fabrigoule et al., 1998; Fox et al., 1998).
- La **habilidad verbal**, la **habilidad visoespacial** y la **atención**, son las siguientes funciones cuya ejecución difiere significativamente respecto a los controles (Bäckman et al., 2004). Los déficits lingüísticos de las personas con EA están relacionados con los déficits en el procesamiento cognitivo, particularmente con el deterioro de la memoria semántica (Hodges et al., 1992; Linn et al., 1995). Resulta especialmente característica la anomia, sobre todo para los nombres propios (Semenza et al., 2010; Reilly et al., 2011), pero también pueden observarse incoherencias en el discurso, divagaciones, lentitud y sustituciones. En lo que se refiere al deterioro de la habilidad visoespacial, parece que en los estadios iniciales de la EA existe una fuerte asociación entre ésta y la pérdida de funcionalidad. Esto es debido a la relación subyacente entre la habilidad visoespacial y las funciones ejecutivas (Fukui & Lee, 2009). Por último, las dificultades para llevar a cabo las tareas de la vida diaria por falta de concentración o por distraerse fácilmente, son interpretadas específicamente como déficits

atencionales, presentes desde etapas muy tempranas de la enfermedad (Kaplan & Foldi, 2009; Perry & Hodges, 1999).

Esta progresión de los déficits cognitivos responde a las lesiones cerebrales subyacentes, como establecieron Braak & Braak (1991). Así, el deterioro de la memoria se relaciona con lesiones en regiones temporales-mediales (hipocampo, giro parahipocampal, corteza entorrinal); mientras que el deterioro de las funciones instrumentales (lenguaje, praxis, capacidades visoespaciales), se relaciona con lesiones en áreas asociativas neocorticales.

6.2.2. Marcadores biológicos

Marcadores genéticos

Proteínas y genes que incrementan el riesgo de presentar EA. Existen dos tipos, las mutaciones y los polimorfismos. Los primeros causan el EA familiar o de inicio precoz; los segundos, en interacción con factores ambientales, se relacionan con los llamados EA esporádicos.

- **EA familiar.** En estos individuos los síntomas tienden a aparecer antes de los 65, algunas veces incluso a la temprana edad de 30 años. Representa el 1% (o menos) de los casos diagnosticados (Bekris et al., 2010) y son consecuencia de mutaciones en alguno de los siguientes genes:
 - El gen de la PPA en el cromosoma 21, que causa el 10-20% de los casos familiares. Presenta un patrón de herencia autosómico dominante.
 - Nótese que el síndrome de Down es causado por la trisomía del cromosoma 21; es decir, por una mutación que hace que estos sujetos nazcan con 3 en lugar de 2 copias del cromosoma 21. En consecuencia, tienen un riesgo mayor de desarrollar la EA. Según las estimaciones actuales, el 30% de las personas con síndrome de Down a la edad de 50 presenta la EA, porcentaje que asciende hasta el 50% o más en la década

de los 60 (Moran et al., 2018).

- El gen de la PSEN 1 en el cromosoma 14, responsable del 30-70% de los casos familiares. Presenta patrón de herencia autosómico dominante y una edad media de inicio es muy precoz, en torno a los 45 años en un rango entre 29-62 años. Se desconoce el papel del gen en el organismo.
 - En 1987 se encontró en Antioquía (Colombia) el grupo más grande conocido de miembros de la misma familia con EA familiar (Cornejo et al., 1987). Estaba causado por la mutación E280A en el gen PSEN 1 y se trataba de un cuadro de deterioro muy agresivo que ha sido estudiado durante varias generaciones.
- El gen de la PSEN 2 en el cromosoma 1, representa menos del 5% de todas las mutaciones de EA descritas.

Heredar la mutación en la PPA o en la PSEN 1 garantiza el desarrollo del subtipo precoz de Alzheimer. En cambio, la herencia de la PSEN 2 supone un 95% de probabilidad de riesgo (Goldman et al., 2011). Las mutaciones de PPA dan lugar a enfermedades más largas (de 9 a 16 años) y con una edad de inicio más tardía (entre 40 y 70 años) que las mutaciones en PSEN 1 / 2 (Holmes, 2002).

- **EA esporádico.** Los expertos consideran que, como en otras enfermedades crónicas comunes, la mayor parte de los casos de Alzheimer -los llamados esporádicos- son resultado de múltiples causas. A nivel genético estaría asociado a los siguientes marcadores:
 - El gen de la apolipoproteína E (ApoE) en el cromosoma 19 (Rebeck et al., 1993).
 - El gen codificador de la clusterina (CLU), en el cromosoma 8 (Harold et al., 2009; Lambert et al., 2009).
 - El gen codificador del receptor 1 del componente del complemento (en inglés, *complement component receptor 1* o CR1), en el cromosoma 1 (Harold et al., 2009; Lambert et al., 2009).

- El gen codificador de la proteína de ensamblaje de clatrina de unión a fosfatidilinositol (en inglés, *phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein* o PICALM) (Harold et al., 2009).
- El gen codificador del *bridging integrator* o BIN1 (Glennon et al., 2020; Holler et al., 2014; Tans et al., 2013).
- El gen TREM2. Su frecuencia es muy baja en todas las poblaciones estudiadas y su riesgo es comparable al alelo $\epsilon 4$ del gen ApoE, el principal factor de riesgo para EA esporádica (Ulrich et al., 2017).
- El ATP5H/KCTD2, el primer gen asociado al mecanismo de consumo energético del cerebro y al riesgo de sufrir EA (Boada et al., 2014).

Biomarcadores

Moléculas determinadas en fluidos periféricos que facilitan el diagnóstico de demencias. La facilidad para su obtención y procesamiento hace que éstos tengan más posibilidades de convertirse en los marcadores estándar en la EA. Sin embargo, esto requiere aún mucha investigación y el desarrollo de protocolos de los procedimientos de extracción y análisis. Últimamente se han desarrollado métodos bioquímicos para la identificación de múltiples biomarcadores a partir de la determinación simultánea de un amplio número de moléculas seleccionadas previamente (Abdi et al., 2006; Doecke, 2012). Así se llega a la obtención de “paneles” de biomarcadores, cuya determinación aporta una sensibilidad y una especificidad superior a los aportados por moléculas halladas de manera aislada. Aunque parece que esta estrategia sea prometedora a medio plazo, hasta ahora han sido hallados en LCR, orina y plasma los siguientes biomarcadores:

- En el **líquido cefalorraquídeo**, fluido que refleja la composición del espacio extracelular cerebral, es donde se ha encontrado más alto rendimiento de biomarcadores, sobre todo, disminución de la concentración de $\beta A42$ y aumento de la tau fosforilada. El problema radica en que el método de extracción, la punción lumbar, es bastante invasivo y esto va en contra

de los criterios que definen cómo sería el biomarcador ideal para la EA. Sin embargo, se ha demostrado que puede ejecutarse con buena tolerancia por parte del paciente y con baja incidencia de efectos adversos (Alcolea et al., 2014). Los biomarcadores estudiados han sido:

- **Beta-amilode (βA).** La disminución de esta proteína en el LCR probablemente refleje la acumulación de la misma en el cerebro, existiendo buena correlación entre los niveles de βA_{42} en LCR y la Tomografía por Emisión de Positrones marcado con componente Pittsburg. En pacientes con DCL, la mayoría de los estudios muestra niveles de βA_{42} en LCR intermedios entre pacientes con EA y controles. Si bien la sensibilidad para diferenciar ambos grupos es reducida, para distinguir entre controles y pacientes con EA es del 89%. La precisión aumenta si se combina βA_{42} con tau total (t-tau) o tau fosforilada (p-tau), aunque existe un gran solapamiento entre los grupos.
- **Proteína tau y tau fosforilada.** En pacientes con EA se ha observado aumento de los niveles totales de tau (del orden de 3 veces) en LCR respecto a controles (Blennow, 2004). Sin embargo, su especificidad es reducida e incrementos similares pueden observarse en otras demencias. La medición de p-tau, en cambio, ha mostrado niveles aumentados respecto a controles, con sensibilidad del 80% y especificidad del 92%. Los niveles de tau y p-tau se encuentran aumentados en pacientes con DCL que progresan a la EA, comparado con los que permanecen estables, y la sensibilidad para diferenciar ambos grupos es alta, aunque con especificidad baja (Hempel, 2003).
- Los **neurofilamentos**, proteínas constituyentes del citoesqueleto de las neuronas, han demostrado ser útiles para diferenciar entre Demencia Frontotemporal y EA de inicio precoz (de Jong, 2007).
- Otras sustancias que también se han estudiado en el LCR como posibles marcadores de la EA son **marcadores de glucosilación, de estrés oxidativo, de inflamación y**

del metabolismo fosfolipídico (Lovestone, 2006). Sin embargo, en general, no llegan a cumplir los criterios de biomarcadores.

- En **orina** se han determinado al menos dos posibles marcadores: **isoprostanos F2** y la **proteína de cadena neural** (Kim et al., 2004; Munzar et al., 2002). Si bien obtener biomarcadores por este medio implicaría grandes ventajas de accesibilidad, aún los resultados son muy incipientes y es necesaria más investigación.
- En **plasma**, si bien la fisiología de la barrera hematoencefálica limita el potencial de un posible biomarcador, es un medio de obtención de biomarcadores rápido y no invasivo. En la actualidad, se sigue empleando la punción lumbar en la práctica clínica dado que aún no existe suficiente evidencia para utilizar biomarcadores plasmáticos para la EA. Esto no impide que se siga investigando.
 - **Beta-amiloide.** Uno de los primeros marcadores investigados fue βA , pero los estudios no fueron concluyentes a la hora de diferenciar entre pacientes y controles (Irizarry, 2004). Sin embargo, parece que la ratio $\beta A_{42}/\beta A_{40}$ sí que puede ayudar a predecir la evolución de los DCL a EA (Graff-Radford et al., 2007; Toledo et al., 2013).
 - Los **plasmógenos**, fosfolípidos de la membrana cerebral, abundantes en el sistema nervioso central cuyas funciones no están del todo esclarecidas, pero que se consideran importantes en los procesos de conexión entre las neuronas. Científicos de la compañía canadiense *Life Labs* publicaron una investigación en la que se demostraba que, a mayor declive de funciones mentales, menor nivel de plasmógeno en sangre (Wood et al., 2010). La prueba que desarrollaron puede detectar niveles anormalmente bajos de esta sustancia incluso siete años antes de que los síntomas del mal de alzhéimer sean evidentes. Es necesaria más investigación pues estos resultados preliminares fueron realizados con un grupo reducido de pacientes.

- La **Proteína Neuroprotectora Dependiente de Actividad** (ADNP, según sus siglas en inglés: *Activity-dependent neuroprotector homeobox protein*), esencial para la formación del cerebro y relacionada con varios procesos cognitivos. El equipo de Illana Gozes, de la Universidad de Tel Aviv, encontró que había diferencias significativas en los niveles en la sangre de ADNP dependiendo del estado cognitivo de la persona. De este modo, el análisis permitió distinguir entre sanos y pacientes con DCL y EA (Malishkevich et al, 2016). Los resultados, no obstante, aún son preliminares.
- La **insulina**, hormona que modula procesos de homeostasis energética, reproducción, plasticidad sináptica y supervivencia neuronal, parece estar relacionada con procesos neurodegenerativos. En concreto, existen ciertos mecanismos -como la alteración en el procesamiento de PPA- que vinculan la resistencia a la insulina con la EA (Biessels et al, 2006).
- La **apolipoproteína J** (apoJ) o **clusterina** (CLU), proteína extracelular involucrada en diferentes procesos fisiológicos y chaperona en situaciones de estrés celular, desempeña funciones relacionadas con la formación y eliminación del péptido β -amiloide, principal constituyente de las placas amiloide (Lambert et al., 2009). Altas concentraciones plasmáticas de la misma se relacionan con la presencia y gravedad de la EA, pero no con el riesgo de aparición (Schrijvers et al., 2011).
- Los **microARNs**, pequeñas moléculas de ARN no codificantes que regulan la expresión génica a nivel post-transcripcional, se han hallado alterados y en gran cantidad en sujetos con EA y con DCL (Sheinerman et al., 2012; Siedlecki-Wullich et al., 2019). Los datos obtenidos hasta ahora aún no son suficientes como para hablar de un kit molecular útil para el diagnóstico, por lo que se sigue investigando (Wu et al., 2016). Uno de los últimos intentos ha sido el realizado por Siedlecki-Wullich et al. (2019), que afirman haber encontrado niveles plasmáticos

significativamente elevados de miR-92a-3p, miR-181c-5p y miR-210-3p en pacientes con DCL y EA, y confían poder desarrollar en un futuro un kit molecular sencillo, mínimamente invasivo y eficaz para el diagnóstico de la EA en sus etapas iniciales.

- Las **alteraciones redox** en la sangre periférica se han estudiado también como posibles biomarcadores. Schrag et al. (2013), en un meta-análisis, concluyeron que la cantidad total de proteínas periféricas dañadas por la oxidación no es una característica específica de la EA, pero los productos finales de la oxidación, sí que ponen en manifiesto peculiaridades en la redox de los sujetos con EA. Por su parte, Arce-Varas et al. (2017), midieron la actividad de las siguientes enzimas en la sangre periférica de pacientes con EA y DCL:

- La superóxido dismutasa (SOD), localizada en el citosol de la mitocondria, cataliza la disminución del radical superóxido para formar peróxido de hidrógeno.
- La glutatión peroxidasa (GPx) cataliza la reducción de hidroperóxidos intracelulares, peróxido de hidrógeno, grandes moléculas de peróxidos lipídicos y productos derivados de las reacciones catalizadas por la enzima lipooxigenasa.
- La catalasa (CAT) interrumpe la cadena oxidativa, detiene la peroxidación lipídica, degrada el peróxido de hidrógeno y protege a las células de la toxicidad de la β A.

Encontraron, en el líquido extracelular, reducción de la actividad de la SOD e incremento de la actividad de la GPx tanto en los pacientes con EA como con DCL; y reducción de la actividad de la CAT en los enfermos de Alzheimer. En el líquido intracelular encontraron reducción de la actividad de la SOD tanto en pacientes con EA como con DCL, coincidiendo con los resultados hallados en previos estudios en

sujetos con EA familiar y esporádico (Buizza et al., 2012). Su estudio concluye resaltando la importancia de determinar tanto la actividad de las enzimas antioxidantes como la presencia de productos finales de oxidación con el fin de identificar el perfil de alteraciones redox de la sangre periférica.

- La **p53** es una proteína conocida por su papel como supresora de tumores, pero cada vez es mayor la evidencia de su implicación apoptótica en situación de estrés celular (Cenini et al., 2008). En estas condiciones, la proteína adquiere una forma desplegada que la convierte en un potencial biomarcador pues, tanto en sujetos con DCL como con la EA, la presencia de daño oxidativo es elevada desde el inicio.
- Otras sustancias estudiadas en sangre serían **isoprostanos, colesterol, citocinas, agentes del sistema inmunitario** y demás moléculas cuya fiabilidad aún se está investigando. Pero, sobre todo, se están buscando paneles de proteínas plasmáticas señalizadoras, como el realizado por Ray et al. (2007).

6.2.3. Marcadores de neuroimagen

Las técnicas de neuroimagen - estructural y funcional - han sido aplicadas al diagnóstico de la EA durante décadas, con un grado de precisión cada vez mayor. Resultan útiles incluso en las primeras etapas de la enfermedad cuando los síntomas clínicos aún no se han expresado completamente. De hecho, las guías de práctica clínica recomiendan el uso de la neuroimagen estructural para el diagnóstico de la EA (Pitner & Bachman, 2004). Sin embargo, la principal limitación de estas técnicas es el elevado coste de la maquinaria y de la tecnología sofisticada que soporta.

- Las técnicas **estructurales** ofrecen una imagen estática del cerebro. Es de utilidad cuando se busca la localización de una lesión o los efectos de una enfermedad, por lo que se suele utilizar en el ámbito de la sanidad o práctica clínica. Para la EA se suele medir el volumen del hipocampo, el grosor del córtex, el tamaño de los ventrículos o la atrofia del cuerpo caloso,

entre otros (Chetelat & Baron, 2003; Gosche et al., 2002). El principal defecto de este tipo de pruebas es que la pérdida neuronal necesaria para ser apreciable deber ser demasiado grande, lo que supone una limitación importante para el diagnóstico precoz.

- La Resonancia Magnética consiste en emitir un campo magnético nuclear sobre el sujeto y registrar la información a través de un ordenador para que transforme dicha información en una imagen de gran resolución espacial. Con esta técnica se ha demostrado que en la etapa inicial de la EA ya se puede observar atrofia del hipocampo y de la corteza entorrinal, especialmente cuando se combinan con un volumen reducido del neocórtex. Y es precisamente la combinación de este volumen reducido del neocórtex temporal con atrofia del hipocampo o de la corteza cingulada anterior el mejor predictor de progresión a EA (Chetelat & Baron, 2003). Otro marcador importante es el agrandamiento ventricular (Nestor et al., 2008). Los ventrículos se expanden entre un 5% y un 16% por año en pacientes con EA y entre un 1.5% y 3 % por año en los ancianos sanos, convirtiéndose en una excelente medida para la detección de cambios en intervalos cortos de seguimiento (Frisoni et al., 2010; Nestor et al., 2008; Schott et al., 2005).
- La Tomografía Axial Computerizada, escáner o Tomografía Computerizada, permite, a través de rayos X, obtener imágenes radiográficas del interior del organismo en forma de cortes transversales o tridimensionales. En ocasiones se inyecta un líquido, el contraste, que suele ser un compuesto de yodo, para resaltar las imágenes y facilitar la interpretación de la prueba. Se podría decir que esta técnica es un sustituto de la RM en aquellos casos en los que no se puede disponer de ella. Es muy útil en el diagnóstico inicial pero no es muy fiable como marcador de progresión de la enfermedad.
- Las técnicas funcionales ofrecen una visión dinámica del funcionamiento cerebral. Los estudios de neuroimagen funcional consisten en la exposición del sujeto a un determinado

estímulo y en la observación de la actividad cerebral subyacente al rendimiento en la tarea cognitiva propuesta. Se suele emplear en el ámbito de la investigación. En el caso de la EA lo que se buscan son anomalías en la activación cerebral tales como la disminución de la activación en la corteza entorrinal, giro supramarginal, regiones prefrontales, lóbulo temporal anteroinferior y medial, y áreas hipocámpicas; y el aumento de la activación en la corteza parietal medial y cingulada posterior (Craig-Schapiro et al., 2008). También se buscan depósitos patógenos como el 2-(1-⁶-[(2-[F-18] fluoroetilmetilamino-2-afletilidenomalononitrilo (FDDNP) (Small et al., 2006), o la beta-amiloide (β A) (Price et al., 2005). La principal limitación de este tipo de pruebas son los distintos resultados hallados en el caso de los pacientes con DCL. Existen distintas hipótesis que intentan explicar la causa de estos resultados contradictorios (Dickerson & Sperling, 2008) pero aún es un tema por investigar.

- La Resonancia Magnética Funcional mide los pequeños cambios de flujo sanguíneo durante la actividad cerebral. Diversos estudios han encontrado que las personas con EA muestran no sólo una mayor actividad en las regiones prefrontales en comparación con los controles durante la ejecución de tareas cognitivas sino también una mayor conectividad, probablemente como mecanismo compensatorio a la neurodegeneración (Bäckman et al., 1999; Cheryl et al., 2003; Saykin et al., 1999).
- La Tomografía por Emisión de Positrones es considerada una de las técnicas más invasivas dado que implica inyectar al sujeto, por vía intravenosa, una sustancia radioactiva que se une a la glucosa dando una imagen del gasto metabólico y, por tanto, de actividad neuronal, al unirse a las células del sistema nervioso central. Esta técnica se ha empleado sobre todo para el diagnóstico precoz y diferencial de deterioro cognitivo y demencias gracias a los patrones metabólicos característicos de cada tipo de patología (Rojas et al., 2016). En concreto, la hipocaptación bilateral

de la corteza parietotemporal y cíngulo posterior se consideran pródromos de EA (Cerami et al., 2015; Rojas et al., 2016).

Cabe mencionar en este punto que la estructura y la función no se correlacionan necesariamente entre sí; es decir, puede darse el caso de un área cerebral donde hay atrofia estructural asociada a una mayor activación funcional y un rendimiento intacto (Bookheimer et al., 2000). Áreas cerebrales dañadas pueden mostrar desde la infractivación hasta la hiperactivación pasando por la activación normal en función de la dificultad de la tarea y de la capacidad para compensar las deficiencias del procesamiento (Prvulovic et al., 2005).

Estas limitaciones han hecho surgir un nuevo marcador de neuroimagen, las medidas de coordinación neuronal (CN) o medidas del grado de coherencia temporal de las señales neuronales espacialmente diferenciadas (conectividad funcional). La CN se está investigando ampliamente y se espera que se convierta en un complemento a los marcadores estructurales y funcionales al combinar la información de las redes neuronales con los cambios cerebrales (Bullmore & Sporns, 2009). Así, su enorme potencial radica en su capacidad para reflejar con sensibilidad cambios complejos en la funcionalidad cerebral.

6.2.4. Marcadores neurofisiológicos

Los marcadores **neurofisiológicos**, hallados a partir de pruebas electrofisiológicas -como el electroencefalograma. Se han encontrado una serie de patrones característicos:

- Enlentecimiento del electroencefalograma.
- Distribución anormal de las bandas de frecuencia.
- Diferencias entre el encefalograma de un EA familiar y un EA esporádico.
- Correlaciones entre el electroencefalograma y las tareas neuropsicológicas.

De todos los marcadores mencionados, en el presente trabajo nos centramos en la búsqueda de los cognitivos y de los biológicos, en concreto biomarcadores en plasma.

7. Marcadores cognitivos

La sintomatología clínica de la EA es heterogénea, reflejo de la extensa pero selectiva afectación cerebral. Se han hecho diversas clasificaciones, sobre todo en función de la edad de presentación y de la influencia genética. De hecho, el descubrimiento de la EA familiar en 1932 (Schottky, 1932), permitió estudiar mucho más en profundidad los cambios cognitivos de las fases preclínicas de la EA. Esto era posible dado que la EA familiar se comporta de manera muy similar a la EA esporádica (Lopera, 2012). De este modo, se publicaron varios estudios centrados en examinar el funcionamiento cognitivo de aquellos sujetos que aún no presentaban la EA pero que la desarrollarían al ser portadores de mutaciones genéticas presentes en sus familias (Farlow et al, 1994; Newman et al., 1994). Como resultado de estos estudios y otros similares con sujetos con DCL o EA en su etapa inicial, se conocen una serie de marcadores cognitivos, que ayudan a delimitar las distintas etapas de la enfermedad. De hecho, el diagnóstico probable de la EA se basa principalmente en criterios clínicos (McKann et al., 2011), que son un reflejo de estos marcadores.

Cuando el objetivo es el diagnóstico precoz, se ha observado una alta capacidad discriminativa en las medidas de memoria episódica, funciones ejecutivas y velocidad perceptiva, seguidas de habilidad verbal, habilidad visoespacial y atención (Bäckman et al., 2004; Small et al., 1997).

1. **Memoria episódica.** La memoria es la función cognitiva más afectada en la EA. De los procesos que la integran, codificación, consolidación y recuperación, son los dos primeros los más vulnerables desde los estados iniciales de la enfermedad (Greene, Baddeley & Hodges, 1996). Este déficit mnésico acompaña al paciente a lo largo de toda la enfermedad y es de gran utilidad de cara al diagnóstico diferencial. De entre los diferentes tipos de memoria, diversos estudios coinciden en el valor predictivo del déficit en la memoria episódica, hasta incluso 5 años antes del diagnóstico (Bäckman et al., 2004; Grober et al., 2000). Esta alteración afecta tanto al material verbal (Linn, et al., 1995) como al no-verbal (Fuld et al., 1990), así como a los distintas formas de recuperación -recuerdo libre (Grober et al., 2000;

Howieson et al., 1997), recuerdo con claves (Linn et al., 1995; Bäckman & Small, 1998) y reconocimiento (Fuld et al., 1990). En un primer momento aparece la amnesia anterógrada, provocada por fallos en la codificación de la información, y a continuación, la retrógrada. Otro tipo de memoria que también suele verse afectada en estadios iniciales es la memoria semántica, hecho que se deduce a partir de los resultados obtenidos en tareas de categorización, de fluidez o de denominación (Cuetos et al., 2005; Verma & Howard, 2012). Todos estos déficits memorísticos repercuten en el funcionamiento diario de los pacientes, ejemplos cotidianos de ello son el olvido del nombre de personas conocidas o del camino a seguir (Irish et al., 2011). Parece que sólo la memoria implícita se mantiene prácticamente conservada hasta etapas más avanzadas (Golby et al., 2005).

2. **Funciones ejecutivas.** Se definen como la capacidad que permite a una persona planificar y seleccionar, programar y monitorear las secuencias de acción apropiadas. Bajo esta definición se incluyen diferentes habilidades cognitivas y conductuales que incluyen razonamiento verbal y no verbal, la resolución de problemas, la secuenciación, la inhibición, la flexibilidad mental, la capacidad de mantener la atención y la regulación de conductas sociales. Los déficits en las funciones ejecutivas se traducen en dificultades en las tareas de la vida diaria, que suelen ser el principal motivo que lleva a los pacientes y sus familiares a consulta. Existe, además, una forma de EA con marcada afectación frontal desde fases iniciales, que cursa con trastorno disejecutivo y un cambio de personalidad (Habek et al., 2010; Herrero-Sanmartín et al., 2013). Este perfil clínico, esta variante de EA, tiene una neuropatología específica, caracterizada por la presencia de numerosos ovillos neurofibrilares en la corteza frontal.
3. **Velocidad perceptiva y de procesamiento.** Parece que la disminución de la velocidad perceptiva con la edad subyace a una serie de déficits tales como el enlentecimiento en la velocidad de procesamiento (Fisk & Warr, 1998). Sin embargo, parece existir un orden en la progresión de estos déficits. De acuerdo con Bublak et al. (2011), los aspectos más elementales del procesamiento visual, como el umbral perceptivo, se ven afectados en una

etapa anterior -antes de la aparición de un deterioro cognitivo significativo, en la fase preclínica de la EA- mientras que aspectos más complejos -como la velocidad de procesamiento y el deterioro de la memoria a corto plazo- se hacen patentes posteriormente.

4. **Habilidad verbal.** Un primer signo de disfunción en el lenguaje es el empobrecimiento de la riqueza expresiva y de la fluidez -en narrativa espontánea y en tareas de denominación- (Alegret et al., 2018; Cuetos, 2003), que desemboca en una expresión circunlocutoria (Cuetos et al., 2006; Vicente, 1992). De hecho, las tareas de fluidez verbal resultan útiles en el diagnóstico precoz (Carnero-Pardo & Lendínez-González, 1999; Cuetos et al., 2003; Groves-Weight et al., 2004). La sintaxis, por su parte, se conserva relativamente estable hasta etapas más avanzadas pero sin llegar al agramatismo (Ahmed et al., 2013). En cuanto a la comprensión, empiezan a exhibirse dificultades progresivamente y a cometerse errores (parafasias) (Savundranayagam et al., 2005). A medida que la enfermedad sigue avanzando, la afasia se hace cada vez más evidente hasta llegar a un lenguaje cada vez más estereotipado. En cuanto a la pragmática, su deterioro es lento y sutil desde el inicio de la enfermedad, requiriendo más investigación su papel en la predicción de la progresión del DCL a la EA (Gutiérrez-Rexach & Schatz, 2016; Hapman et al., 2002). Paralelamente, las habilidades para la escritura también van alterándose, e incluso a un ritmo más acelerado que el lenguaje (Croisile, 2005; González-Nosti et al., 2020; Vicente, 1992). Finalmente, mencionar la lectura, que si bien es una tarea que se mantiene preservada durante más tiempo, no consigue escaparse al deterioro. La lectura en voz alta se conserva inalterada hasta fases avanzadas, pero disminuyendo progresivamente en velocidad y precisión. En cuanto al tipo de errores que cometen los enfermos de Alzheimer, se puede observar una evolución que aporta valiosa información. Conforme avanza el deterioro aumentan en número y cambian en tipología. En un primer momento abundan los errores semánticos y los circunloquios, más adelante éstos son sustituidos por “no respuesta” y “palabras no relacionadas” y, finalmente, aparecen los errores fonológicos - aunque de escasa importancia (Cuetos et al., 2005).

5. **Habilidad visoespacial.** Esta habilidad, aún habiendo sido reconocida como marcador temprano de la enfermedad -aunque de manera muy variable entre unos individuos y otros-, no ha sido tan estudiada. Los déficits visoespaciales se manifiestan en tareas que implican discriminación o análisis visual, juicio espacial y organización perceptual (Lezak, 2004). De este modo, algunas de las deficiencias en la lectura, las operaciones numéricas y la orientación pueden ser resultado de déficits visoespaciales y no necesariamente consecuencia de un deterioro de la memoria o el lenguaje, que son otras áreas típicamente afectadas por la enfermedad (Binetti et al., 1993; Nguyen et al., 2003). Las habilidades visoconstructivas y prácticas también se muestran alteradas durante el curso de la enfermedad, manifestándose mediante la dificultad para dibujar figuras tridimensionales, incluso en tareas de copia. Politis et al. (2004) encontraron que la severidad de la demencia correlacionaba con un mayor deterioro de las praxias.
6. **Atención.** Es bastante aceptado, basándose en las diferentes funciones y representación anatómica, que existen tres subtipos de atención: selectiva, sostenida y dividida. Parece que la atención dividida y algunos aspectos de la selectiva, como el cambio de escenario y la selección de respuestas, son particularmente vulnerables mientras que la atención sostenida se conserva relativamente estable en las primeras etapas de la enfermedad (Perry & Hodges, 1999). La atención es una función estrechamente relacionada con las funciones ejecutivas y su deterioro también se manifiesta en las dificultades en tareas cotidianas.

Las tasas de conversión a EA son considerablemente mayores para las personas que presentan múltiples déficits cognitivos en comparación con aquellas que sólo presentan alteración en un único dominio (Bozoki et al., 2001; Ding et al., 2016). Esto quiere decir que el perfil típico de un sujeto con EA preclínica presenta una peor ejecución en varias áreas cognitivas, resultado de un deterioro global del cerebro de años de duración.

8. Biomarcadores

En la actualidad, la búsqueda de biomarcadores que sean de fácil identificación en la consulta del médico se está convirtiendo en un reto fundamental en el diagnóstico e intervención de la EA.

En 1999, el *National Institute of Health* (NIH) estadounidense organizó una conferencia con el propósito de delimitar las características que debía reunir un biomarcador para ser definido como tal. De este modo, se entiende por biomarcador a “una característica que es medida y evaluada de forma objetiva como un indicador de procesos biológicos normales o patológicos, o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica”. Por lo tanto, un biomarcador puede emplearse para diagnosticar una enfermedad, para establecer su gravedad, para seguir su progresión o para monitorizar la respuesta a las medidas terapéuticas (Martín-Carrasco, 2009). Para el caso concreto de la EA, biomarcador ideal debía (1998):

- 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.
- Ser fiable, reproducible, no invasivo, fácil de realizar y accesible económicamente.

En las últimas décadas se ha intentado buscar biomarcadores de la EA que pudieran considerarse como Criterios Indirectos de Valoración Clínica (CIVAC); es decir, biomarcadores que sustituyeran a las escalas cognitivas, funcionales y de síntomas neuropsiquiátricos, y que permitieran predecir un beneficio, un daño o la falta de ambos (Martín-Carrasco, 2009). En el contexto de la EA, se han propuesto gran cantidad de biomarcadores, pero aún no se ha conseguido un consenso generalizado dentro de la comunidad científica.

En la actualidad, en el ámbito clínico, se recurre a la punción lumbar. Una concentración reducida de beta-amiloide o aumentada de proteína tau en el líquido cefalorraquídeo sirve para distinguir entre pacientes con o sin Alzheimer (Blennow et al., 2010). Aunque sea una técnica

relativamente fácil de realizar y tenga una baja incidencia de efectos adversos, sigue siendo una técnica invasiva. Dada la magnitud epidemiológica de la EA, el marcador ideal debería poder obtenerse de una forma similar a los procedimientos habituales para la realización de análisis: sangre, saliva, orina... Por este motivo, en investigación, se opta por la búsqueda de biomarcadores en sangre pues ofrece importantes ventajas: 1) no es tan invasivo; 2) es más asequible; 3) más barato y rápido que la punción lumbar. Adicionalmente, para los seguimientos y la selección de candidatos para ensayos clínicos este procedimiento es más efectivo que las pruebas de neuroimagen o la propia punción lumbar. Por tanto, la búsqueda de biomarcadores en sangre resulta muy atractiva, aunque no está exenta de dificultades.

Los principales inconvenientes a la hora de encontrar biomarcadores en sangre radican en el hecho de que la enfermedad de Alzheimer es una enfermedad que progresa lentamente y en que se desconoce el grado de pérdida de integridad de la barrera hematoencefálica (BHE). Esta barrera es un escudo natural formado por una densa capa de células que regula la entrada y salida de nutrientes esenciales para el correcto funcionamiento de las neuronas a la par que las mantiene alejadas de moléculas tóxicas. Con el envejecimiento, la BHE se hace más permeable, lo que significa que aumenta la posibilidad de que sustancias tóxicas accedan al sistema nervioso central. En los enfermos de Alzheimer, esta permeabilidad es aún mayor (van de Haar et al., 2016). En 1980 se iniciaron los análisis de sangre para identificar signos de anomalías cerebrales a la par que se continuaban diversos estudios que ponían de manifiesto modificaciones en las concentraciones de las proteínas clásicamente asociadas a la EA - beta amiloide y tau - en el líquido cefalorraquídeo (LCR). Todavía hay que seguir investigando, sobre todo acerca de si lo que ocurre en el cerebro o el LCR tiene su reflejo fiel en fluidos periféricos.

Otro gran reto en la búsqueda de biomarcadores consiste en encontrar aquellos que eviten falsos positivos y falsos negativos; es decir, que distingan con exactitud entre verdaderos positivos (enfermos) y verdaderos negativos (sanos). Puede que el motivo de esta falta de especificidad, observado en la mayor parte de las pruebas diagnósticas utilizadas (neuroimagen y los biomarcadores

del LCR), radique en que aún están siendo investigados.

Encontrar controles sanos para el estudio de biomarcadores supone otra gran dificultad dado que, debido a su edad avanzada, también están en riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer y/o de presentar síntomas clínicos. De este modo, es importante considerar las comorbilidades similares entre los pacientes con Alzheimer y los controles.

El beta-amiloide es el biomarcador más ampliamente estudiado para el diagnóstico del Alzheimer. Fue secuenciado por primera vez hace unos 20 años en la sangre de pacientes de EA y de Síndrome de Down (Glennner & Wong, 1984) y un año después, se reconoció como el principal componente de las placas seniles de la EA (Masters et al., 1985). Posteriormente, se descubrieron mutaciones en la Proteína Precursora del Amiloide (Goate et al., 1991; Mullan et al., 1992; Hardy, 1992; Hendriks et al., 1992) que, junto con las mutaciones en la Presenilina 1 y Presenilina 2, conducen a la aparición temprana de depósitos de amiloide. Como el β A resultante podía ser medido en cultivos, en el líquido cefalorraquídeo y en el plasma (Haass et al., 1992; Seubert et al., 1992; Shoji et al., 1992), esto permitió a los científicos establecer las anormalidades bioquímicas causadas por las mutaciones de la PPA. Así descubrieron las dos variantes de la enfermedad: la EA familiar, como trastorno genético; y la EA esporádica, causado por factores relacionados con la calidad de vida del sujeto. En ambos casos las manifestaciones clínicas son las mismas (Lopera, 2012), pero la edad de aparición suele ser de inicio temprano en el primer caso y tardío en el segundo.

Aún hoy no está del todo claro qué niveles de beta-amiloide deben hallarse en sangre para distinguir con precisión la presencia o el estado de la enfermedad de Alzheimer. Algunas de las causas de esta heterogeneidad en los resultados hallados en investigación pueden ser la edad de los participantes, la salud cognitiva, la dieta o la variabilidad entre laboratorios. Por otro lado, la medición de beta amiloide, tanto con técnicas de imagen como en el líquido cefalorraquídeo, está asociada a un alto porcentaje de falsos positivos y negativos. Existe un 30% de ancianos cognitivamente sanos que presentan señales de acumulación de beta amiloide y de ancianos enfermos que no presentan signos de acumulación de la mencionada proteína (Yang et al., 2012).

Como los estudios neuropatológicos del cerebro muestran no sólo la presencia de placas amiloides u ovillos neurofibrilares sino también cambios neuroinflamatorios relacionados con astrocitos y microglías activadas, que segregan mediadores inflamatorios, la investigación se ha ido centrando en la búsqueda de nuevos biomarcadores, distintos al beta-amiloide.

En el 2002, Uberti et al. hallaron una correlación entre una conformación anómala de la proteína p53 y la enfermedad de Alzheimer. Por efecto del estrés oxidativo y en presencia de beta amiloide soluble, la p53 adopta una estructura terciaria desplegada que compromete sus respuestas a las diferentes lesiones citotóxicas (Lanni et al., 2007; Uberti et al. 2002). La medición de esta proteína bajo las mencionadas circunstancias la convierte en un interesante biomarcador de la EA, incluso en etapas preclínicas (Arce-Varas et al., 2017). Lanni et al. (2007) observaron también que el nivel de p53 conformacionalmente alterado era dependiente de la edad, pero no de la duración de la enfermedad. De este modo, para conocer el rendimiento diagnóstico del p53, calcularon su especificidad dentro de diferentes intervalos cronológicos. Así encontraron una especificidad del 77% y una sensibilidad del 90% en sujetos de hasta 70 años. Dichos valores se reducían fuertemente a medida que aumentaba la edad. Adicionalmente, compararon el poder diagnóstico de los marcadores del LCR (tau-total, tau-fosforilada y beta-amiloide) con el p53 y los resultados revelaron una mayor sensibilidad, pero una menor especificidad. El hecho de que las diferencias más significativas se observen en los pacientes más jóvenes, indica que la medición de la p53 anómala resulta útil para detectar la enfermedad Alzheimer de manera precoz, en sus etapas iniciales. En otro estudio, Lanni et al. (2010) encontraron que la proteína p53 conformacionalmente alterada predecía la progresión de pacientes preclínicos con DCL a EA dos años antes que el diagnóstico clínico de EA y de manera independiente al riesgo genético.

La proteína p53, localizada en el núcleo de todas las células, responde a daños en el ADN y otras señales de estrés celular induciendo la apoptosis o la detención del ciclo celular y la activación de enzimas de reparación del ADN. Inicialmente sólo se conocía su función como represor tumoral pero hoy en día se sabe que está relacionado con el mantenimiento de la integridad del genoma - llegando

a conocersele como “El Guardián del Genoma” -, con la apoptosis y con la senescencia (Gómez-Lázaro et al., 2004; Lane, 1992; Somasundaram & El-Deiry, 2000).

Si se fusionan las potencialidades de los biomarcadores en sangre con el conocimiento disponible del perfil neuropsicológico de los pacientes con Alzheimer, se podría conseguir un diagnóstico rápido, precoz y diferencial. Rápido porque la extracción de muestras de sangre implica menos tiempo que la punción lumbar o cualquiera de las pruebas de neuroimagen y porque un protocolo elaborado con pruebas breves pero de alta sensibilidad y especificidad permiten conocer rápida y eficazmente el nivel de deterioro. Precoz, pues empleando biomarcadores que aparezcan desde etapas tempranas de la enfermedad, se podría llegar a detectar incluso a sujetos en riesgo o con alta probabilidad de desarrollar dicha patología. Diferencial porque el uso de biomarcadores y pruebas específicas permite distinguir entre patologías, por semejantes que éstas sean.

MÉTODO

1. Objetivos

En base a todas estas consideraciones, la presente Tesis Doctoral tiene un objetivo general que se desglosa en cuatro específicos:

1.1. Objetivo general

- Desarrollo de un método de diagnóstico rápido, precoz y diferencial de la enfermedad de Alzheimer basado en el uso combinado de marcadores cognitivos y biológicos.

1.2. Objetivos específicos:

- Elaboración y aplicación de un protocolo de evaluación neuropsicológica que evalúe los cinco dominios cognitivos principales (atención y memoria de trabajo, función ejecutiva, lenguaje, memoria y capacidad visoespacial), teniendo en cuenta los resultados de estudios anteriores y la experiencia del grupo del profesor Cuetos
- Comparación de la ejecución del protocolo de evaluación neuropsicológica, elaborado en la presente Tesis Doctoral, por sujetos con Deterioro Cognitivo Leve, con enfermedad de Alzheimer, y con enfermedad de Parkinson.
- Comparación de la cantidad de proteína p53 conformacionalmente alterada en las muestras de sangre de los controles, de los pacientes con Deterioro Cognitivo Leve, con enfermedad de Alzheimer, y con enfermedad de Parkinson.
- Seguimiento al cabo de dos años de los pacientes con Deterioro Cognitivo Leve para la detección de los marcadores cognitivos y biológicos que predicen la evolución a enfermedad de Alzheimer.
- Correlación entre los marcadores cognitivos y la p53 conformacionalmente alterada.

2. Hipótesis

Las hipótesis que se pretenden defender en esta Tesis Doctoral son las que se enumeran a continuación:

1. El protocolo de evaluación neuropsicológico creado para la presente Tesis Doctoral permite alcanzar un diagnóstico rápido, precoz y diferencial de la Enfermedad de Alzheimer.
2. La medición de la concentración de la proteína p53 conformacionalmente alterada en plasma mediante un biosensor electroquímico complementa con un alto grado de sensibilidad y especificidad los datos neuropsicológicos.
3. La cantidad de p53 conformacionalmente alterada predice la evaluación de Deterioro Cognitivo Leve a Enfermedad de Alzheimer al cabo de dos años.
4. Los niveles de la proteína p53 conformacionalmente alterada difieren entre los sujetos con Deterioro Cognitivo Leve, Enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Parkinson y controles.
5. La concentración de la proteína p53 conformacionalmente alterada correlacionan negativamente con los test que componen el protocolo de evaluación. Es decir, a peor ejecución, mayor cantidad de biomarcador en sangre.

3. Participantes

Con el objetivo de alcanzar el diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer a partir de la correlación entre biomarcadores y nivel de deterioro cognitivo, se incluyeron en el estudio no sólo a sujetos diagnosticados con enfermedad de Alzheimer, sino también a sujetos con Deterioro Cognitivo Leve (actual Trastorno Cognoscitivo Leve) y enfermedad de Parkinson. El motivo por el cual se incluyeron los Trastornos Cognoscitivos Leves era por asegurar que el diagnóstico era precoz mientras que los pacientes con Parkinson se incluyeron para asegurar que el biomarcador era específico para el Alzheimer.

Los pacientes eran diagnosticados por los neurólogos del servicio de neurología del Hospital de Cabueñes mediante evaluaciones neuropsicológicas, análisis clínicos rutinarios y pruebas de neuroimagen (Tomografía Computerizada -TAC- y/o Resonancia Magnética cerebral -RM) con el fin de excluir la presencia de otras patologías y cuantificar el grado de deterioro cognitivo.

Con referencia a los controles -sujetos emparejados en edad, sexo y nivel educativo- se recurrió a centros de día, a centros culturales y a PUMUO, el Programa Universitario para Mayores de la Universidad de Oviedo.

Mencionar que este estudio cumple con la normalización establecida en la Resolución 196/96 del Consejo Nacional de Salud sobre investigaciones envolviendo seres humanos. Fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Hospital de Cabueñes.

3.1. Muestra protocolo

La muestra inicial de sujetos con Deterioro Cognitivo Leve y enfermedad de Alzheimer era de 25 por grupo (edad media 74.44 ± 5.21 y 75.80 ± 7.97 respectivamente) (ver tabla 3; figuras 3 y 4) y de 15 para los Enfermos de Parkinson (edad media 70.53 ± 6.74) (ver tabla 3; figura 5). Dichos pacientes fueron seleccionados por la Dra. Carmen Martínez y el Dr José María Asensi Álvarez entre los casos existentes en el servicio de neurología del Hospital de Cabueñes. A todos ellos se les

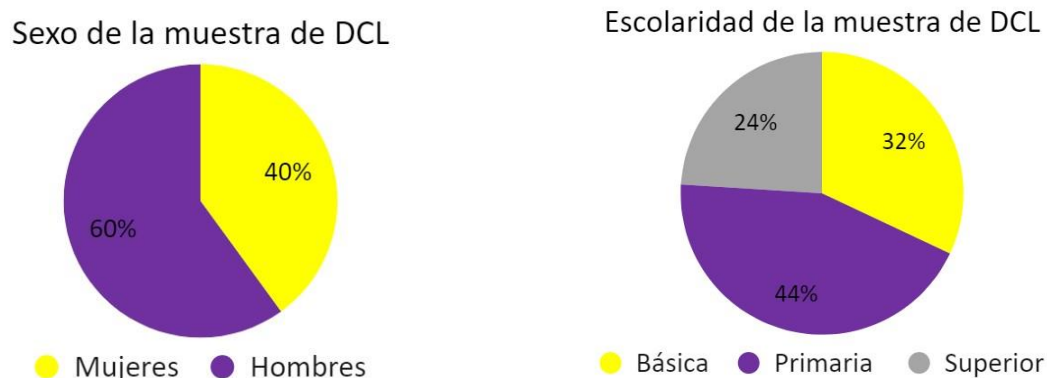
administró el protocolo neuropsicológico elaborado en la presente tesis doctoral, al menos en una ocasión.

Los criterios de inclusión para el DCL consistían en seleccionar a personas de edad avanzada con déficits cognitivos objetivos que aún no cumplieran con los criterios para un diagnóstico de demencia o EA (Petersen et al., 1999, 2001):

1. Alteración subjetiva de la memoria, corroborada por un informador fiable.
2. Alteración de la memoria objetivada mediante test con datos normativos de personas de la misma edad y nivel de escolaridad.
3. Función cognitiva general normal.
4. Realización normal de las actividades de la vida diaria.
5. Ausencia de criterios diagnósticos de demencia.

Figura 3

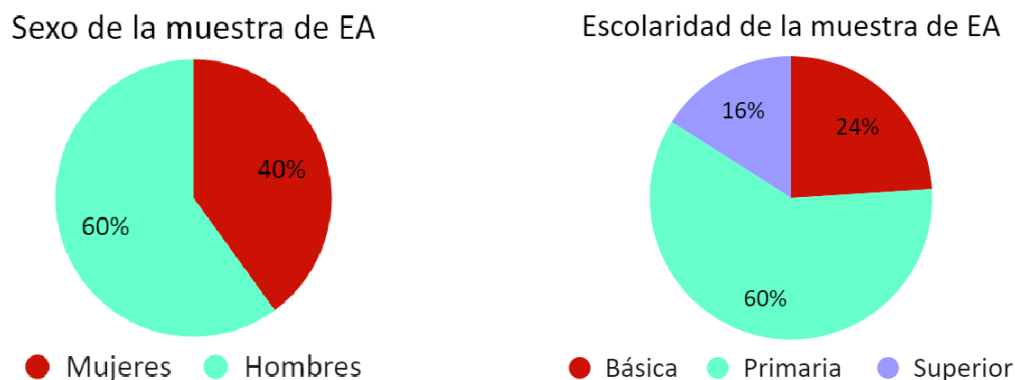
Gráficos de la distribución por sexo y nivel de escolaridad de la muestra de pacientes con DCL.



Para los pacientes con EA, el diagnóstico se realizaba siguiendo los criterios NIA-AA (McKhann et al, 2011).

Figura 4

Gráficos de la distribución por sexo y nivel de escolaridad de la muestra de pacientes con EA



Por su parte, los enfermos de Parkinson eran diagnosticados siguiendo los criterios de la *Movement Disorder Society* (Mahlknecht et al, 2016; Postuma et al., 2015):

1. EP clínicamente establecida:

- Ausencia de criterios de exclusión absolutos.
- Al menos dos criterios de apoyo.
- Ausencia de señales de alerta.

2. EP clínicamente probable:

- Ausencia de criterios de exclusión absolutos.
- Presencia de señales de alerta contrarrestadas por criterios de apoyo:
 1. Si está presente una señal de alerta, también tiene que haber, al menos, un criterio de apoyo.
 2. Si hay dos señales de alerta, se necesitan, al menos, dos criterios de apoyo.
 3. No están permitidas más de dos señales de alerta.

● Criterios de apoyo:

- Respuesta beneficiosa clara y considerable a la terapia dopaminérgica. Con el tratamiento inicial, el paciente consigue un nivel de funcionalidad normal o casi

normal. En ausencia de documentación clara de la respuesta inicial, se puede clasificar como respuesta considerable cuando se da:

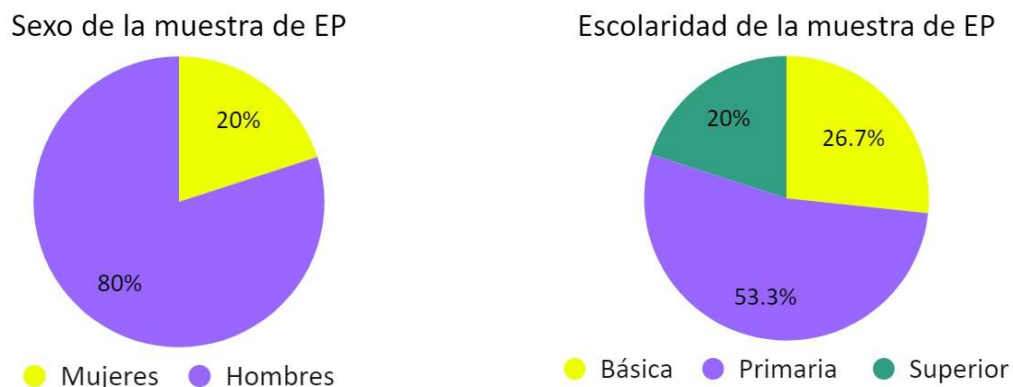
- Marcada mejoría con aumentos de dosis o marcado empeoramiento cuando la dosis disminuye. Los cambios leves no califican. Esto puede documentarse objetivamente (>30% en UPDRS III con cambio en el tratamiento) o subjetivamente (historia claramente documentada por el paciente o un cuidador fiable de los cambios).
- Marcadas e inequívocas fluctuaciones *on/off*, que incluyan, en algún momento, deterioro fin de dosis.
- Presencia de discinesias inducidas por levodopa.
- Temblor de reposo en una extremidad clínicamente documentado (ya sea en el pasado o en el examen actual).
- Presentación de pérdida olfatoria y/o denervación simpática cardíaca en la gammagrafía con metaiodobencilguanidina (MIBG).
- Criterios de exclusión absolutos:
 - Anomalías cerebelosas inequívocas, como marcha cerebelosa, ataxia de las extremidades o alteraciones oculomotoras de tipo cerebeloso (por ejemplo, nistagmo con mirada sostenida, sacudidas de onda cuadrada, sacadas hipermétricas).
 - Parálisis supranuclear de la mirada vertical o ralentización de los movimientos sacádicos verticales descendentes.
 - El diagnóstico, en los primeros 5 años de la enfermedad, de la variante conductual de demencia frontotemporal o afasia primaria progresiva probable, definidas de acuerdo con los criterios de consenso.
 - Parkinsonismo restringido a las extremidades inferiores durante más de 3 años.
 - Tratamiento con bloqueantes de receptores dopaminérgicos o depletores de

- dopamina en dosis-tiempo consistentes con parkinsonismo inducido por fármacos.
- Ausencia de respuesta observable con dosis altas de levodopa al menos en una fase moderada de la enfermedad.
 - Pérdida sensorial cortical inequívoca (por ejemplo, grafoestesia, estereognosia con modalidades sensitivas primarias intactas), apraxia ideomotora clara de una extremidad o afasia progresiva.
 - Neuroimagen funcional normal del sistema dopaminérgico presináptico.
 - La documentación de una condición alternativa capaz de producir parkinsonismo y plausiblemente conectada a los síntomas del paciente o síndrome alternativo a EP emitido por un médico experto y basado en una completa evaluación diagnóstica.
- Señales de alerta:
 - Rápida progresión del deterioro de la marcha que lleve al uso regular de silla de ruedas en los 5 primeros años de la enfermedad.
 - Ausencia completa de progresión de signos y síntomas motores en 5 o más años, salvo que la estabilidad esté relacionada con el tratamiento.
 - Disfunción bulbar precoz: disfonía grave o disartria (habla ininteligible la mayor parte del tiempo) o disfagia grave (requiere alimentos blandos, sonda nasogástrica o alimentación por gastrostomía) en los primeros 5 años de enfermedad.
 - Disfunción respiratoria inspiratoria: cualquier estridor inspiratorio diurno o nocturno o suspiros inspiratorios frecuentes.
 - Insuficiencia autonómica severa en los primeros 5 años de la enfermedad. Esto puede incluir:
 - Hipotensión ortostática: disminución de al menos 30 mmHg en la presión arterial sistólica o 15 mmHg en la diastólica a los 3 minutos de adoptar la bipedestación, en ausencia de deshidratación, medicamentos u otras enfermedades que pudieran explicar la disfunción autonómica.

- Retención urinaria grave o incontinencia urinaria en los primeros 5 años de la enfermedad (con exclusión de incontinencia de esfuerzo de larga duración y pequeña cantidad en las mujeres). En los hombres, la retención urinaria no debe ser atribuible a enfermedad de la próstata y se asociará con disfunción eréctil.
- Caídas recurrentes (>1/año), debidas a alteración del equilibrio, en los primeros 3 años de enfermedad.
- Anterocolis desproporcionada (disonía) o contracturas de las manos o de los pies dentro de los primeros 10 años de enfermedad.
- Ausencia de cualquiera de los síntomas no motores comunes de la enfermedad después de 5 años de evolución. Estos incluyen la disfunción del sueño (insomnio de mantenimiento, somnolencia diurna excesiva, trastorno de conducta del sueño REM), disfunción autonómica (estreñimiento, urgencia urinaria durante el día, ortostatismo sintomático), hiposmia o disfunción psiquiátrica (depresión, ansiedad o alucinaciones).
- Signos piramidales no explicables por otra causa y definidos como debilidad piramidal hiperreflexiva patológica evidente (excluyendo leve asimetría de reflejos y respuesta plantar extensora aislada).
- Parkinsonismo simétrico: el paciente o el cuidador informan de la aparición de los síntomas de forma simétrica y no se observa asimetría en el examen clínico.

Figura 5

Gráficos de la distribución por sexo y nivel de escolaridad de la muestra de pacientes con EP



También se revisaron la historia clínica, el examen neurológico y las exploraciones cerebrales (TAC o RM) para todos los pacientes.

Tabla 3

Muestra de pacientes con DCL, EA y EP.

Variables	DCL	EA	EP
N	25	25	15
Media de edad \pm DT (años)	74.44 \pm 5.21	75.80 \pm 7.97	70.53 \pm 6.74
Educación (B/P/S)	8/11/6	6/15/4	4/8/3
Género (H/M)	15/10	15/10	12/3

EA: Enfermedad de Alzheimer; N: Número muestral; DT: Desviación Típica; B: estudios Básicos; P: estudios Primarios; S: estudios Superiores; H: Hombre; M: Mujer

Para el reclutamiento de los controles (ver tabla 4 y figura 6) se recurrió al Programa Universitario para Mayores de la Universidad de Oviedo (PUMUO), con docencia en Gijón y Oviedo; y a diversos Centros de Mayores de Gijón, en concreto:

1. Centro de Mayores de Rocés.
2. Centro Cultural Integrado Gijón-Sur.
3. Centro Cultural Integrado Ateneo.
4. Centro de Mayores San Agustín.

Para conseguir su colaboración se les envió una carta explicando las características del estudio.

Adicionalmente, algunos familiares de los propios pacientes también se ofrecieron a participar. Los criterios de inclusión eran:

1. No tener antecedentes de trastorno psiquiátrico o neurológico actuales o pasados.
2. Una puntuación superior a 26 en el *Mini-Mental State Examination* (MMSE).

Del total de 72 sujetos evaluados, 9 fueron desechados por no cumplir con alguno de los mencionados requisitos. Los 63 restantes se emparejaron por edad, sexo y nivel educativo a los distintos grupos de pacientes.

Tabla 4

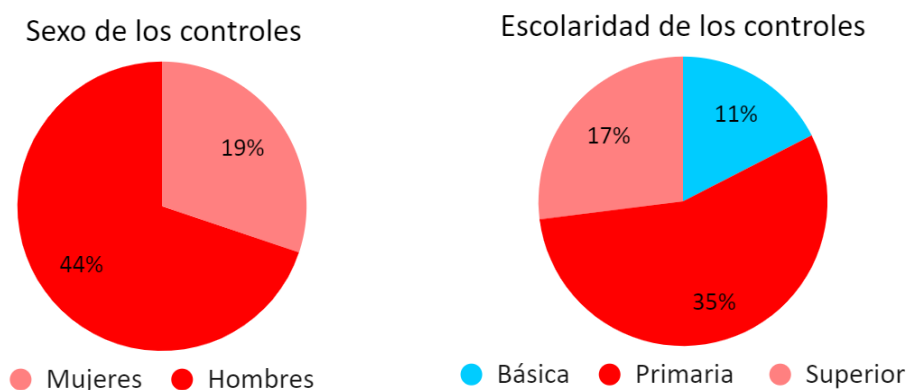
Muestra de controles total y desglose por grupos.

Variables	Control Total	Control-DCL	Control-EA	Control-EP
N	63	25	25	15
Media de edad \pm DT (años)	71.83 \pm 6.17	73.68 \pm 5.12	74.04 \pm 6.14	69.84 \pm 6.51
Educación (B/P/S)	11/35/17	8/11/6	6/15/4	4/8/3
Género (H/M)	44/19	15/10	15/10	12/3

N: Número muestral; DT: Desviación Típica; B: estudios Básicos; P: estudios Primarios; S: estudios Superiores; H: Hombre; M: Mujer.

Figura 6

Gráficos de la distribución por sexo y nivel de escolaridad de la muestra total de controles.



En los momentos iniciales del estudio se pensó en incluir una muestra de religiosos y monjas con el propósito de demostrar, al igual que hizo David Snowdon por primera vez en 1997, que el estilo de vida que comparten (mismos horarios, dieta alimenticia, ejercicio mental, vocación altruista, vida contemplativa, oración y actitud positiva ante la vida) son hábitos saludables que favorecen la salud cognitiva y, por tanto, la longevidad o la esperanza de vida activa. Al tratarse de un grupo de carácter homogéneo, muy difícil de encontrar de forma natural en la investigación clínica, se aseguraba que los resultados fueran fiables y no quedaran ensombrecidos por otras variables. Durante 3 meses se visitaron diferentes congregaciones de Asturias buscando la colaboración de las distintas congregaciones. Si bien muchas aceptaron participar, un total de 52 entre Oviedo, Gijón, Mieres, Villaviciosa y Langreo, la dificultad para poder obtener las muestras de sangre de las diferentes voluntarias hizo abandonar esta opción, que no se desecha retomar en el futuro.

3.2. Muestra seguimientos

Pasados los dos años de la primera evaluación, se llevó a cabo un seguimiento de los pacientes diagnosticados con DCL para conocer cuántos habían evolucionado a un diagnóstico de Alzheimer (DCL-EA) y cuántos habían mantenido el diagnóstico inicial (DCL). De los 25 sujetos iniciales, 2 sujetos fallecieron y 1 no aceptó continuar con el estudio. De los 22 sujetos finalmente evaluados, 8

evolucionaron a un diagnóstico de demencia tipo Alzheimer y 14 se mantuvieron estables (ver tabla 5 y figura 7).

Tabla 5

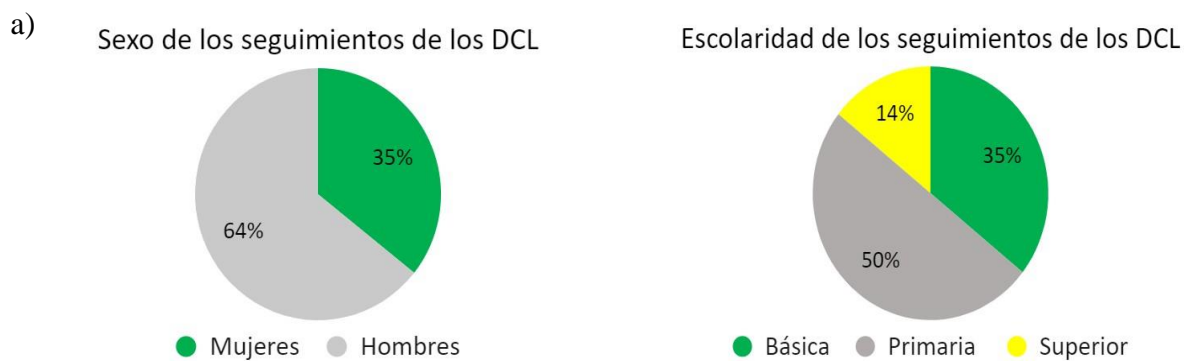
Muestra de sujetos con DCL a los que se hizo un seguimiento. Tabla 5.

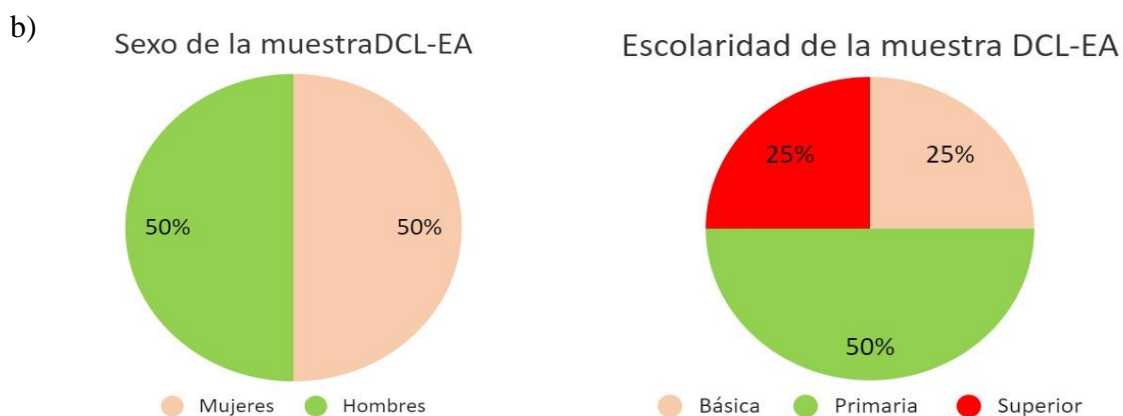
VARIABLES	DCL	DCL-EA
N	14	8
Media de edad \pm DT (años)	74.64 \pm 5.30	72.38 \pm 4.34
Educación (B/P/S)	5/7/2	2/4/2
Género (H/M)	9/5	4/4

DCL: Deterioro Cognitivo Leve; DCL-EA: Deterioro Cognitivo Leve que evoluciona a Enfermedad de Alzheimer; N: Número muestral; DT: Desviación Típica; B: estudios Básicos; P: estudios Primarios; S: estudios Superiores; H: Hombre; M: Mujer

Figura 7

Gráficos de la distribución por sexo y nivel de escolaridad de: a) la muestra de pacientes con DCL que participaron en el seguimiento y mantuvieron el diagnóstico de DCL; y b) la muestra de pacientes con DCL que participaron en el seguimiento y que evolucionaron a EA al cabo de dos años (DCL-EA).





3.3. Muestra biomarcador

La pretensión inicial era poder medir la proteína p53 anómala en todas las muestras; sin embargo, al utilizar un proceso de medición en desarrollo, un biosensor electroquímico, cuya puesta a punto requirió más tiempo de lo esperado, se decidió seleccionar una muestra aleatoria reducida de 20 DCL, 20 EA, 12 EP y sus respectivos controles (ver tablas 6 y 7; y figuras 8 y 9).

Tabla 6

Descripción de las submuestras de pacientes a los que se midió la proteína p53 conformacionalmente alterada.

VARIABLES	DCL	EA	EP
N	20	20	15
Media edad \pm DT (años)	74.95 \pm 5.31	77.25 \pm 7.79	61.6 \pm 7.3
Educación (B/P/S)	5/10/5	3/14/3	3/9/3
Género (H/M)	13/7	11/9	12/3

EA: Enfermedad de Alzheimer; EP: Enfermedad de Parkinson; DCL: Deterioro Cognitivo Leve; N: Número muestral; DT: Desviación Típica; B: estudios Básicos; P: estudios Primarios; S: estudios Superiores; H: Hombre; M: Mujer

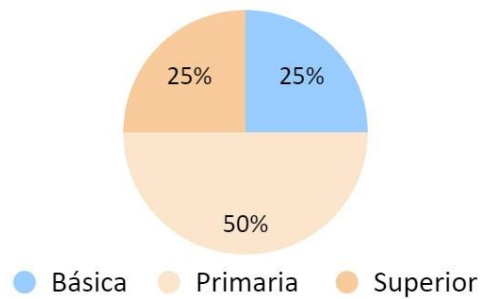
Figura 8

Gráficos de la distribución por sexo y nivel de escolaridad de las submuestras de pacientes a los que se midió la proteína p53 conformacionalmente alterada.

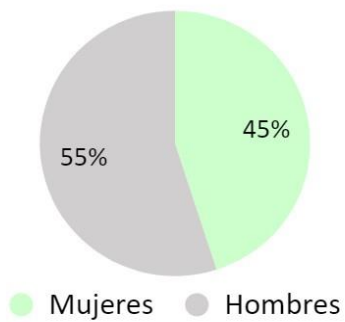
Sexo de la muestra DCL



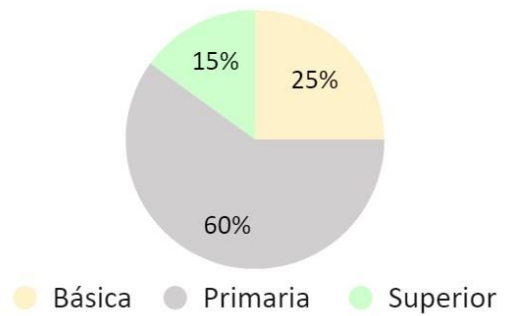
Escolaridad de la muestra DCL



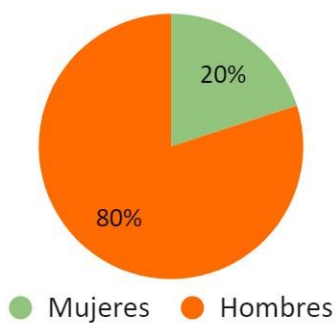
Sexo de la muestra EA



Escolaridad de la muestra EA



Sexo de la muestra EP



Escolaridad de la muestra EP

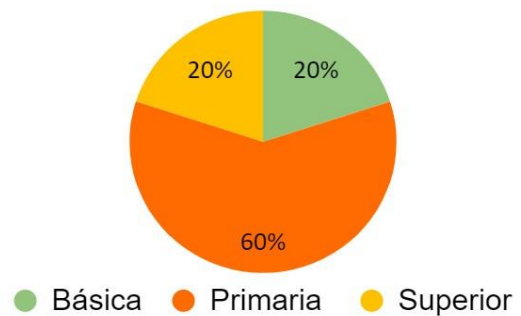


Tabla 7

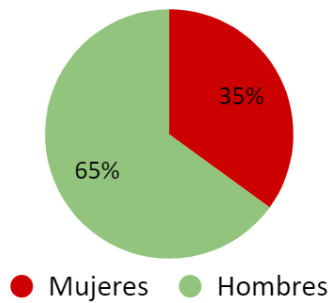
Descripción de las submuestras de controles a los que se midió la proteína p53 conformacionalmente alterada, emparejados por edad, sexo y nivel educativo con los subgrupos de pacientes. Tabla 7.

Variables	Control-DCL	Control-EA	Control-EP
N	20	20	15
Media de edad \pm DT (años)	74.10 \pm 5.54	75.45 \pm 6.01	71.27 \pm 5.61
Educación (B/P/S)	5/10/5	3/14/3	3/9/3
Género (H/M)	13/7	11/9	12/3

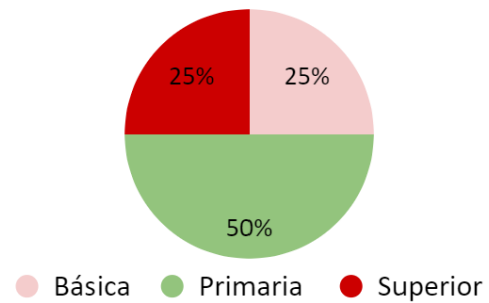
Figura 9

Gráficos de la distribución por sexo y nivel de escolaridad de la submuestras de controles a los que se midió la proteína p53 conformacionalmente alterada, emparejados por edad, sexo y nivel educativo con los subgrupos de pacientes.

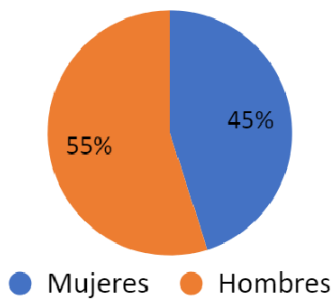
Sexo de la muestra control-DCL



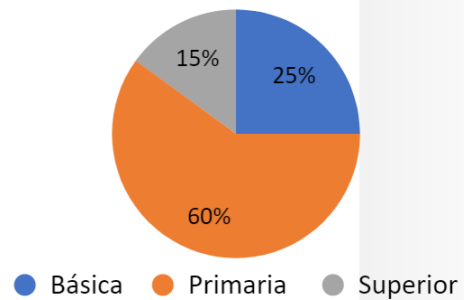
Escolaridad de la muestra control-DCL



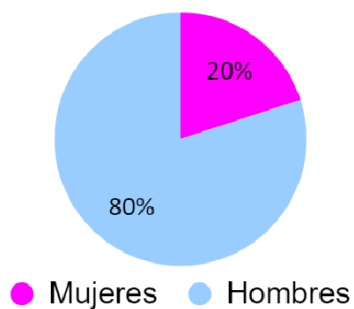
Sexo de la muestra control-EA



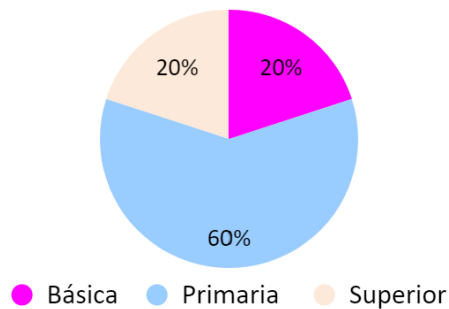
Escolaridad de la muestra control-EA



Sexo de la muestra control-EP



Escolaridad muestra control-EP



Para conocer el poder predictor del biomarcador se midió también en los pacientes con DCL que tras dos años evolucionaron a la enfermedad de Alzheimer. De la submuestra de los 20 sujetos con DCL iniciales (tabla 6), 2 fallecieron y de los 18 restantes sólo 6 cumplían los criterios diagnósticos para la EA (Tabla 8 y figura 10).

Tabla 8

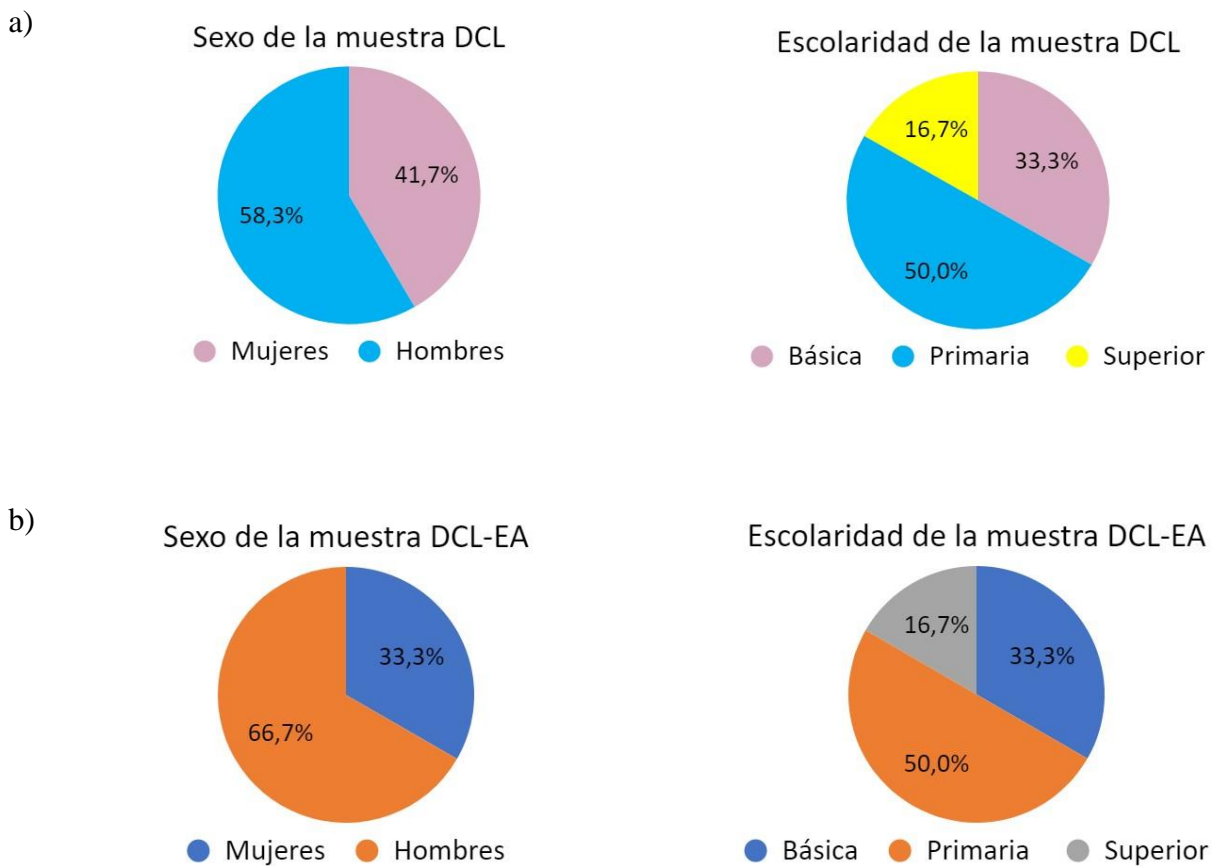
Descripción de la muestra de sujetos con DCL y DCL-EA que participaron en el seguimiento y a los que se midió la p53 conformacionalmente alterada.

Variabes	DCL	DCL-EA
N	12	6
Media de edad \pm DT (años)	75.25 \pm 5.24	73.00 \pm 4.86
Educación (B/P/S)	4/6/2	1/3/2
Género (H/M)	7/5	4/2

DCL: Deterioro Cognitivo Leve; DCL-EA: Deterioro Cognitivo Leve que evoluciona a Enfermedad de Alzheimer; N: Número muestral; DT: Desviación Típica; B: estudios Básicos; P: estudios Primarios; S: estudios Superiores; H: Hombre; M: Mujer

Figura 10

Gráficos de la distribución por sexo y nivel de descolaridad de los seguimientos de: a) la muestra de pacientes con DCL que se mantuvieron estables en el diagnóstico; y de pacientes con DCL que evolucionaron a EA al cabo de dos años (DCL-EA), cuyas concentraciones de p53 conformacionalmente alteradas fue medida.



3.4. Muestra correlaciones

Para alcanzar el diagnóstico de la EA mediante el uso combinado de dos tipos de marcadores, los biológicos y los cognitivos, era necesario conocer si existía una correlación entre las concentraciones del biomarcador y los resultados de los tests administrados a los 20 DCL, 20 EA y 30 controles (ver tabla 6 y 9).

Tabla 9

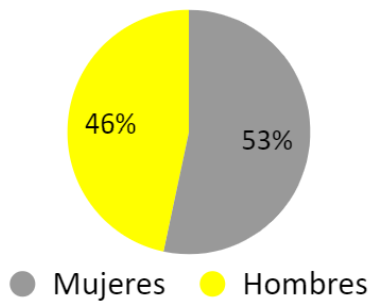
Descripción de la muestra de controles para correlacionar la p53 conformacionalmente alterada con los tests del protocolo de evaluación.

Variables	Control
N	30
Media de edad \pm DT (años)	73.8 \pm 6.12
Educación (B/P/S)	7/18/5
Género (H/M)	14/16

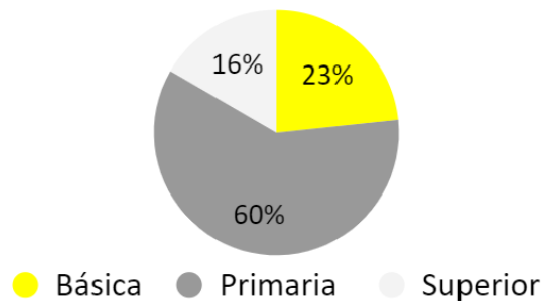
Figura 11

Gráficos de la distribución por sexo y nivel de escolaridad de los controles a los que se les midieron la proteína p53 conformacionalmente alterada.

Sexo de la muestra de controles



Escolaridad de la muestra de contr...



4. Procedimiento

4.1. Elaboración del protocolo neuropsicológico

El primero de los objetivos de la Tesis Doctoral era la elaboración de un protocolo de evaluación neuropsicológica que evaluara los cinco dominios cognitivos principales (atención y memoria de trabajo, función ejecutiva, lenguaje, memoria y capacidad visoespacial), teniendo en cuenta los resultados de investigaciones anteriores y la experiencia del grupo del profesor Cuetos (Cuetos et al., 2017; Cuetos et al., 2005; Cuetos et al., 2010; Cuetos et al., 2003; Cuetos et al., 2007; Cuetos et al., 2009; Cuetos et al., 2012; Cuetos et al., 2008; Cuetos et al., 2012).

El primer paso para elaborar el protocolo que se utilizaría en la investigación consistió en responder a dos preguntas:

1. ¿Cuántas pruebas se incluirían en el protocolo?
2. ¿Qué pruebas evalúan las funciones cognitivas superiores en adultos?

Para responder a la primera cuestión, había que tener en cuenta dos premisas. En primer lugar, que cuanto más amplia es la evaluación, más posibilidades de detectar trastornos en otros dominios distintos al de la memoria. En segundo lugar, un mayor número de pruebas incrementa el número de falsos positivos y todo aumento en la sensibilidad implica un descenso en la especificidad. ¿Cuál es entonces el número óptimo de pruebas que se debe incluir en una evaluación? Esta cuestión fue resuelta por Goldman et al. (2015) que concluyeron que dos pruebas por dominio proporcionan un enfoque eficiente y robusto para el diagnóstico.

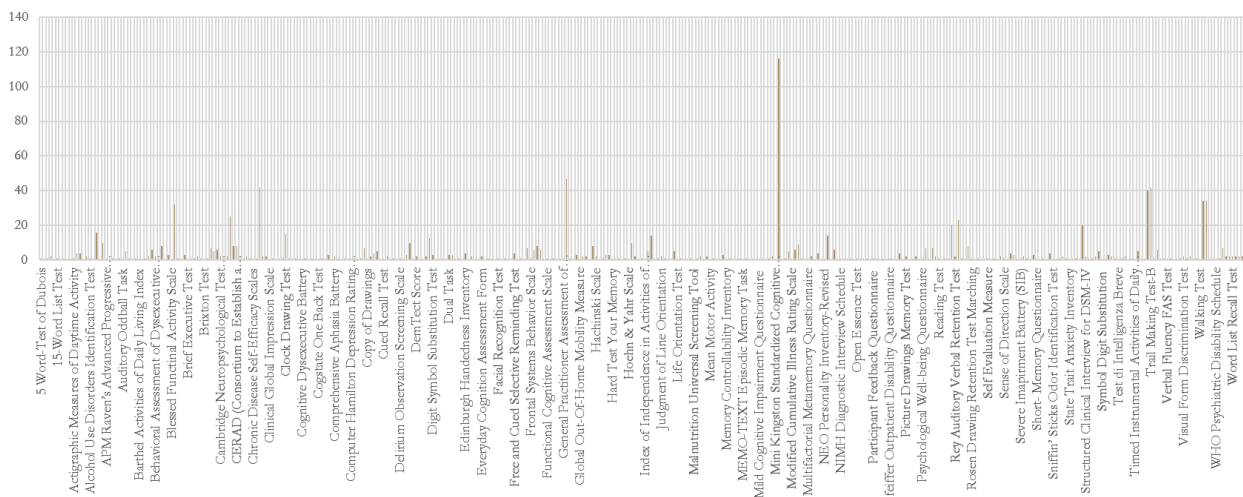
Solucionado el número de pruebas a incluir en el protocolo, quedaba por resolver cuáles serían. Para ello se recurrió, en primer lugar, a las revisiones bibliográficas, con el objetivo de incluir en el protocolo aquellos instrumentos más utilizados en clínica e investigación para la detección de la demencia; y, en segundo lugar, a la consulta del protocolo aplicado en el Hospital del Cabueñes, de donde procedía la muestra de pacientes. Con esta información y la colaboración de un grupo de expertos (psicólogos, neurólogos y neuropsicólogos), se realizó un protocolo preliminar. El boceto

resultante, fue aplicado a una muestra de controles y pacientes, y tras unas pequeñas modificaciones se llegó al protocolo final.

Para la revisión bibliográfica, se consultó la base de datos PsycINFO con las palabras: *dementia AND neuropsychological protocol* en un período de 10 años (2005-2015). De los artículos encontrados, se rescataron los tests utilizados sólo en aquellos estudios donde la muestra incluía pacientes con DCL, EA y/o EP. En total 74 pruebas diferentes, que aparecen recogidas en la tabla 10.

Tabla 10

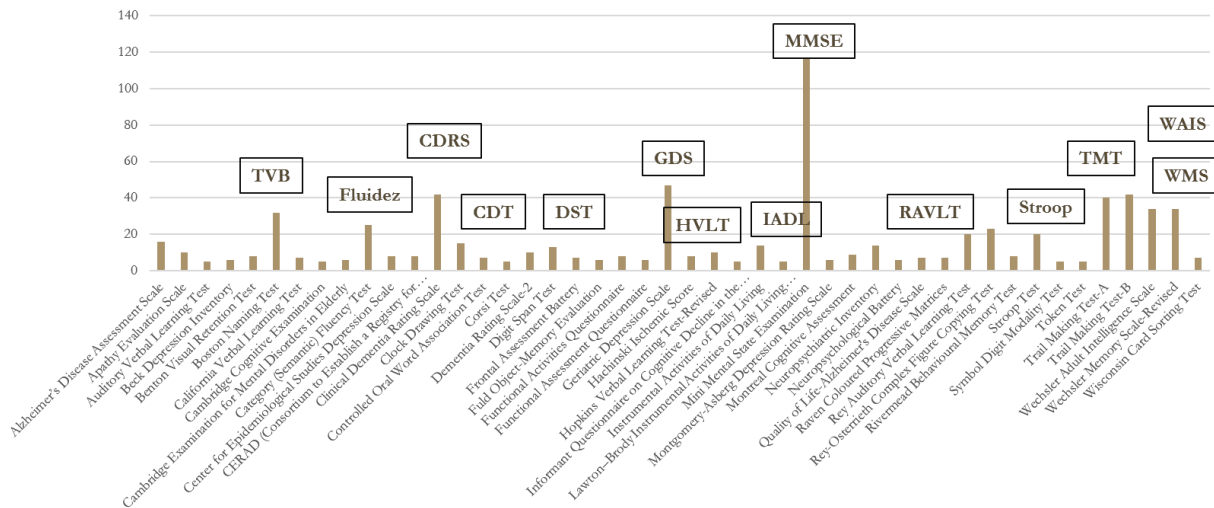
Resultados de la revisión bibliográfica sobre los tests utilizados en la evaluación de la demencia entre 2005 y 2015.



Para acotar aún más el número de pruebas, se filtraron siguiendo un criterio de frecuencia: eliminar aquellas que aparecieran menos de 5 veces. El resultado se puede observar en la tabla 11.

Tabla 11

Resultados de la revisión bibliográfica sobre los tests utilizados en la evaluación de la demencia con una frecuencia de aparición superior a 5.



Se destacan en un recuadro aquellos tests que aparecen con una frecuencia superior al resto. Como se puede observar, las pruebas más utilizadas en las evaluaciones neuropsicológicas son el *Mini-Mental State Examination* (MMSE), una prueba de screening; el *Geriatric Depression Scale* (GDS), para evaluar la depresión; el *Clinical Dementia Rating Scale* (CDRS), otra prueba de screening; el *Trail Making Test* (TMT), prueba de funciones ejecutivas; el *Wechsler Adult Intelligence Scale* (WAIS), prueba de inteligencia; el *Wechsler Memory Scale-Reviewed* (WMS-R), prueba de memoria; el *Boston Naming Test* (BNT), prueba de denominación; la Fluidez Semántica; prueba de producción de lenguaje.

Finalizada la revisión bibliográfica se consultó el protocolo de evaluación aplicado por la Dra. Carmen Martínez a sus pacientes del Hospital de Cabueñes (Anexo 1) para que, intentando prescindir de aquellas pruebas menos sensibles a las etapas iniciales de las EA y mantener el resto, el informe resultante de la investigación sirviera de base para la revisión trimestral o anual de los pacientes. Con toda esta información había que buscar y seguir algún criterio adicional y objetivo para escoger qué tests, de entre todos los posibles, se incluirían en el protocolo. Distintos autores han establecido criterios mayores y menores para seleccionar los instrumentos de evaluación que deben formar parte

de un protocolo neuropsicológico. Entre los primeros se incluyen ética, fiabilidad, validez y sensibilidad a los cambios clínicos; entre los segundos destacan la viabilidad de la administración, la validación de las pruebas con poblaciones similares, la aplicación de las mismas por diferentes grupos de trabajo y la existencia de protocolos claros y precisos de administración y puntuación. Tirapu (2007) resume en 4 preguntas los criterios de selección:

1. **¿Son adecuados los contenidos planteados y su nivel de dificultad?** Cuando se lleva a cabo una evaluación de un posible EA, el perfil de deterioro cognitivo propio de la enfermedad es ampliamente conocido, por lo que las funciones que deben evaluarse también son conocidas con anterioridad. Esto facilita determinar si los contenidos de las pruebas son o no pertinentes para el caso concreto de la EA.
2. **¿Ofrecen información sobre los mecanismos cognitivos alterados subyacentes?** Las pruebas empleadas han de proporcionar información que permita explicar la disminución del rendimiento. En muchas ocasiones es especialmente interesante el análisis de los errores.
3. **¿Cuál es la validez ecológica de las pruebas?** La validez ecológica hace referencia al grado en que una prueba relaciona el rendimiento del sujeto con su capacidad de funcionar en el mundo real; es decir, que la ejecución de la prueba no se vea alterada por el contexto clínico de evaluación, sino que refleje el rendimiento del día a día del sujeto participante.
4. **¿Hasta qué punto estas pruebas son sensibles a los cambios experimentados por los pacientes?** Algunas de las pruebas más utilizadas son muy generales, apenas informan de la magnitud de los cambios y de las áreas afectadas.

Para poder responder estas preguntas, se llevó a cabo una nueva revisión bibliográfica, pero esta vez sobre cada una de las pruebas seleccionadas, y se consultaron los manuales de aplicación, corrección e interpretación de las mismas.

Comenzamos con las pruebas de screening. En los últimos diez años ha habido un interés creciente para detectar cuadros demenciales en etapas tempranas mediante pruebas neuropsicológicas sencillas llamadas de tamizaje o cribado. Estas pruebas son breves (de cinco a veinte minutos), fáciles

de administrar e interpretar, y están diseñadas para que profesionales de la salud, no necesariamente expertos en funciones cognoscitivas, obtengan un criterio objetivo para decidir si el paciente necesita o no una evaluación más exhaustiva. Es por eso que la principal ventaja de las pruebas de tamizaje es su enorme potencial para distinguir entre *normal* y patológico; y su principal limitación es a la hora de detectar déficits cognitivos focales (Tirapu, 2007).

Una buena prueba de tamizaje debe ser sensible a cambios cognitivos en etapas iniciales de un envejecimiento patológico, debe poseer una alta sensibilidad para detectar muchos casos en etapas iniciales y una especificidad alta para minimizar el número innecesario de casos que son enviados para evaluación posterior.

Actualmente existe una gran variedad de test de screening estandarizados para detectar el deterioro cognitivo y las demencias. El más utilizado es el MMSE (Folstein et al., 1975) en sus diferentes adaptaciones al castellano -como la de Peña-Casanova (Blesa et al., 2001)- motivo por el cual fue seleccionado. También se incluyó el Montreal Cognitive Assessment (MoCA) (Lozano-Gallego et al., 2009), por ser útil en la detección de deterioro cognitivo en diferentes patologías (como Parkinson) y por poseer una sensibilidad superior al MMSE en la detección de DCL (Nasreddine et al., 2005).

En segundo lugar, se seleccionaron las pruebas de memoria. Varios estudios han demostrado la alteración de la memoria episódica (ME) como un primer síntoma cognitivo de la Enfermedad de Alzheimer (Alberca et al., 2006; Backman et al., 2001), especialmente, la memoria episódica de tipo verbal (METV) (Garrido et al, 2002). Esta alteración se caracteriza por la dificultad para aprender información verbal y por olvidarla rápidamente. Las pruebas más utilizadas para evaluarla son las que exigen el aprendizaje y posterior recuerdo de listas de palabras. Dentro de esta categoría encontramos pruebas como el Test de Aprendizaje Verbal España-Complutense (TAVEC) (Benedet & Alejandre, 2014) o la lista de palabras del *Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease* (CERAD) (Morris et al., 1989). Ambas pruebas evalúan aspectos similares, pero el TAVEC mide más funciones, tales como uso de estrategias o el efecto de primacía y resulta una prueba más

exigente. Consecuentemente, a los pacientes con enfermedades neurodegenerativas progresivas, se les administra el TAVEC en las primeras fases de su enfermedad y la lista de palabras del CERAD en estadios más avanzados. Es decir, el distinto nivel de dificultad de las pruebas tiene implicaciones clínicas: en los casos donde se sospecha DCL o demencia temprana, TAVEC; en los casos de bajo funcionamiento o demencia más avanzada, el TAVEC puede abrumar y en ese caso se escoge la lista de palabras del CERAD (Beck et al., 2012). Como el objetivo es el diagnóstico precoz, en las fases previas a la demencia, parecía que lo más acertado era usar el TAVEC, prueba que inicialmente se incluyó en el protocolo.

Los enfermos de Alzheimer, incluso en etapas tempranas, también manifiestan un deterioro progresivo de la memoria semántica (MS), que es el componente de la memoria a largo plazo que contiene el conocimiento de los objetos, hechos, conceptos y palabras y su significado. A diferencia de la memoria episódica, la memoria semántica es compartida culturalmente y no es temporalmente específica (Greene & Hodges, 1996). Para evaluarla se suelen llevar a cabo tareas de denominación. Una tarea específica y relacionada con los nombres propios, es la prueba de denominación de personajes famosos. Los nombres propios parecen ser especialmente vulnerables (Brédart, 1993; Dudas et al., 2005; Joubert et al., 2008; Semenza et al., 2003; Semenza et al., 1996), especialmente para los pacientes con DCL y EA (Greene & Hodges, 1996; Thompson et al., 2002). Éstos proporcionan menos información semántica, incluso cuando reconocen el personaje correctamente (Hodges et al., 1993). Para el presente protocolo se elaboró una presentación *ad hoc* de caras de famosos con el objetivo de que el sujeto evaluado las nombrase. Nuestra versión de la prueba incluyó una selección de cantantes, políticos, reyes, presentadores de televisión, actores, deportistas y celebridades de dos épocas distintas, la década de los 50 y la actualidad. Los resultados de su aplicación han sido recientemente publicados (García et al., 2020)

Otra prueba de denominación es el Test de Denominación de Boston (TDB) (Kaplan et al., 2001). Consta de 60 ítems y aunque posee muy buenas características psicométricas, resulta demasiado largo. Por ese motivo y con el objetivo de acortar el tiempo de evaluación y evitar el

cansancio, se optó por la versión abreviada del mismo, que consta de 15 ítems ordenados en función de la dificultad y que mantiene la habilidad de discriminar entre sujetos normotípicos y con demencia (Katsumata et al., 2015).

Es muy común que durante la aplicación de estas pruebas de denominación se dé el fenómeno de tenerlo-en-la-punta-de-la-lengua pues las palabras más vulnerables a este fenómeno son los nombres propios (Burke et al., 1991; Cohen & Faulkner, 1986; Maylor, 1990). Esta anomia es común tanto en afásicos como en EA; sin embargo, la naturaleza subyacente es distinta. Los afásicos tienen la información semántica relativamente preservada de las palabra-no-encontrada pero los EA muestran un deterioro de dicho conocimiento y fallan en la recuperación de la palabra (Beeson et al., 1997).

El deterioro del lenguaje es, por tanto, otro de los primeros síntomas del DCL y de la EA (Bozoki et al., 2001; Grundman et al., 2004; Ribeiro et al., 2006). Para evaluar la capacidad de retención de las palabras se suelen emplear, además de las pruebas de denominación de objetos, pruebas de fluidez (Cuetos et al., 2010). Así, se incluyó en el protocolo una prueba de fluidez fonológica, fluidez semántica y fluidez de acciones. Si bien es cierto que los componentes básicos subyacentes durante la ejecución de estas pruebas son la memoria semántica (categorías y significado) y el lenguaje (procesamiento léxico y fonológico), otras funciones no lingüísticas, como iniciativa, imaginación, velocidad y eficiencia de búsqueda, atención y memoria de trabajo, son también necesarias (Kertesz & Mohs, 1996). Varios estudios han mostrado que cuando un sujeto normotípico lleva a cabo una tarea de fluidez verbal, tiende a generar palabras en agrupaciones semánticas o fonéticas (Gruenewald & Lockhead, 1980; Raskin et al., 1992; Wixted & Rohrer, 1994). Así, un rendimiento óptimo implica la producción organizada de las palabras de una subcategoría, cambiando a una nueva subcategoría una vez agotada la anterior. Esta estrategia es más eficiente que consumir tiempo y recursos cognitivos en tratar de recuperar las palabras menos frecuentes de la subcategoría abierta. Estos componentes fueron operativizados por Troyer et al. (1997), quien propone los conceptos de *cluster* y *switch* respectivamente. El término *cluster* hace referencia a la agrupación de

dos o más palabras seguidas pertenecientes a la misma categoría, y el término *switching* es la habilidad para cambiar de una categoría a otra.

Para la tarea de fluidez semántica, se pide al sujeto que genere nombres comunes, dentro de una categoría determinada, tan rápido como le sea posible y en un tiempo limitado, normalmente 1 minuto. La categoría más extensamente utilizada es la de “animales” (Spreen & Strauss, 1998), validada por distintos grupos (Muruzábal et al., 1993; Guardia et al., 1997). La ejecución en esta tarea se caracteriza por una tendencia a generar más categorías con menos ejemplares dentro de cada una de ellas en comparación con el grupo control (Arroyo-Anlló et al., 2011; Weakley & Schmitter-Edgecombe, 2014). En la tarea de fluidez fonológica, se pide al sujeto que genere nombres que empiecen por una letra determinada (evitando nombres propios, de personas y lugares), tan rápido como le sea posible y en un tiempo limitado, normalmente 1 minuto. Las letras más frecuentemente empleadas son “F”, “A” y “S”. En este caso se usa la letra “P”, pues es la que se pide en el MoCA. El rendimiento de esta tarea suele ser peor que en la fluidez semántica (Weakley & Schmitter-Edgecombe, 2014), aunque los resultados son controvertidos (Laws et al., 2009; Rosser & Hodges, 1994). Finalmente, en la prueba de fluidez de acciones se le pide al sujeto diga verbos tan rápido como le sea posible y en un tiempo limitado, normalmente 1 minuto. Piatt et al. (1999) fueron los primeros en describir esta prueba y Östberg et al. (2005) han demostrado que es una prueba sensible al deterioro cognitivo leve. Es complementaria a las anteriores pruebas de fluidez dado que varios estudios han demostrado una disociación neuroanatómica para la recuperación de verbos y sustantivos. Los sustantivos comunes y propios se localizan en regiones anteriores y posteriores del lóbulo temporal, mientras que los verbos se encuentran mediatizados por circuitos frontales (Goodglass et al., 1966; Miceli et al., 1984; Baxter & Warrington, 1985; McCarthy & Warrington, 1985; Zingeser & Berndt, 1990; Caramazza & Hillis, 1991; Damasio, 1992; Damasio & Damasio, 1992; Damasio et al., 1992; Damasio & Tranel, 1993; Daniele et al., 1994).

Las funciones atencionales y ejecutivas también se encuentran alteradas ya en los sujetos con DCL (Bozoki et al., 2001; Morris et al., 2001; Griffith et al., 2003; Grundman et al., 2004; Traykov

et al., 2007; Kessels et al., 2011). Para evaluarlas, se seleccionaron el Trail Making Test (TMT), el Stroop y la prueba de dígitos del Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS). El TMT es una prueba muy sensible al daño cerebral que consta de dos formas, A y B. La forma A mide la atención selectiva y sostenida, pero también habilidades motoras (como secuenciación y velocidad de procesamiento psicomotor), habilidades visoespaciales de búsqueda visual, memoria de trabajo, impulsividad, ejecución motora y tolerancia a la frustración. La forma B, además de lo anterior, también mide la atención dividida y la flexibilidad mental (Ashendorf et al., 2008). El Stroop es una prueba que se usa como instrumento para la detección de disfunciones cerebrales y mide la atención selectiva, la velocidad de procesamiento y la inhibición (Beck et al., 2012). Por último, la prueba de Dígitos del WAIS-III (Wechsler, 1999), que mide la concentración y la memoria de trabajo. Inicialmente se pensó en incluir también la prueba de Letras y Números junto con la de Dígitos. Sin embargo, pasar las dos pruebas alargaba la evaluación y la subprueba de Letras y Números resulta demasiado exigente.

Por último, algunos estudios también han encontrado cierto deterioro en la habilidad visoespacial (Bozoki et al., 2001; Morris et al., 2001). Para evaluarla se seleccionó el Test del Reloj (TR) (copia y memoria) y la subprueba Praxia Constructiva del CERAD. En la última década ha habido un cierto auge en la aplicación del TR para el estudio y valoración de las enfermedades neurodegenerativas, especialmente para la demencia y la EA, por ser un test muy informativo. Los errores que se observan en su ejecución reflejan determinadas deficiencias atribuibles a alteraciones o lesiones neurológicas concretas (Cacho et al., 1999). Se han propuesto diferentes criterios de pautas horarias, como las “cuatro menos veinte” (Spreeen & Strauss, 1991) o las “ocho y veinte” (Freedman et al., 1994). Pero en la actualidad se ha llegado a un cierto consenso con el empleo de las “once y diez” pues se ha demostrado que es la pauta horaria más sensible para la detección de alteraciones cognitivas (Goodglass & Kaplan, 1979; Rouleau et al., 1992): requiere la participación de los dos hemisferios visoespaciales –derecho e izquierdo–, y de los lóbulos frontales para planificar la colocación de las manecillas. Además, al aplicar las dos condiciones, “a la orden” y “a la copia”, se obtiene el doble de información. Con la condición “a la orden”, se mide la capacidad lingüística

(necesaria para comprender las instrucciones verbales) y aspectos mnésicos (para recordar cómo es un reloj para poder dibujarlo, memoria semántica; para recordar las instrucciones específicas, memoria episódica). Y con la condición “a la copia”, se miden más los aspectos perceptivos (Cacho, et al., 1999). La subprueba Praxia Constructiva de CERAD consiste en copiar una serie de figuras: un círculo, un rombo, un triángulo, dos rectángulos superpuestos y un cubo. Se decidió eliminar del protocolo por dos motivos. En primer lugar, la puntuación no tiene en cuenta el tiempo, por lo que la prueba puede llegar a alargarse. En segundo lugar, la tarea no es muy compleja y los sujetos suelen realizarla bien a excepción de las dos últimas figuras. Además, el dibujo del cubo es uno de los ítems del MoCa, por lo que la prueba no resultaba, en el presente protocolo, muy informativa. Para sustituirla se pensaron dos opciones, el Test de Retención Visual de Benton (TRVB) o la Figura Compleja de Rey-Osterrieth. El TRVB (Benton, 1992) es un instrumento diseñado para evaluar, además de las habilidades visoconstructivas, la percepción visual y la memoria visual. Es capaz de detectar alteraciones y enfermedades neurológicas (Eslinger et al., 1985; Lezak et al., 2004), como la EA (Robinson-Whelen, 1992; Zanini et al., 2014). El nivel de ejecución disminuye linealmente en función de la edad, y más precipitadamente cuando se define en términos del cómputo total de errores (Benton, 1992). Consta de 3 formas equivalentes (forma C, D y E), que constan de 10 láminas cada una, y 4 formas de administración (una de copia y tres de memoria): A) exposición durante 10 segundos y reproducción inmediata del recuerdo; B) exposición durante 5 segundos y reproducción inmediata del recuerdo; C) copia de los dibujos (sin tiempo límite), para adultos mayores con deterioro cognitivo avanzado; y D) exposición durante 10 segundos y reproducción diferida del recuerdo (a los 15 segundos). Para obtener la máxima información posible, se decidió pasar la forma C con el modo de administración A (memoria) y la forma D con el modo de administración D (copia), al igual que en el estudio de Zanini et al. (2014). Como única desventaja, el tiempo de aplicación que llega a alcanzar los 20 minutos (Zanini et al., 2014). Si bien la Figura Compleja de Rey-Osterrieth (Rey, 1941; Osterrieth, 1944) evalúa lo mismo en menos tiempo (unos 10 minutos aproximadamente) y ha sido extensamente empleada (Cherrier et al., 1999; Kasai et al., 2006), finalmente se optó por el

TRVB al ser una prueba más novedosa para los participantes.

Llegado este punto se pensó en incluir en el protocolo una prueba que evaluara el funcionamiento de la vida diaria. Por definición, el DCL no debe presentar este tipo de alteraciones; sin embargo, varios estudios han sugerido que algunos individuos con DCL presentan dificultades en el funcionamiento diario (Locascio et al., 1995; Parnetti, 2000). Por ejemplo, Binigar et al. (2009) encontraron que el uso del transporte público, la preparación de comidas y el manejo diario de las finanzas y de las dosis de las medicaciones pueden modificarse en casos de DCL. Y ya a finales de los años 80, Reisberg et al. (1989) habían detectado la presencia de estos cambios funcionales y habían descrito una escala de siete estadios funcionales que iban desde la normalidad hasta la fase de demencia muy grave de la EA. Parece probable que estos pacientes sean los que evolucionan posteriormente a un cuadro demencial.

Existen dos tipos de escalas funcionales; aquellas que valoran las Funciones Básicas de la Vida Diaria (bañarse, comer, ir al baño sin ayuda) y las que aprecian funciones más complejas (manejo financiero, transporte) (Rios et al., 2001). Las primeras estarían alteradas en los casos donde el nivel de demencia es moderado/severo mientras que las segundas empezarían a verse afectadas en etapas más iniciales (Pfeffer et al., 1982). Entre las escalas que miden las Actividades Básicas de la Vida Diaria (ABVD), las más utilizadas son el Índice de Katz (IK), el Índice de Barthel (IB) y en nuestro país, la Escala Funcional de la Cruz Roja (EFCR) (Trigás-Ferrín et al., 2011). No están influenciadas ni por factores culturales ni por el sexo y para cumplimentarlas se requiere la observación directa. Sin embargo, las que son realmente útiles para detectar los primeros grados de deterioro son las escalas que miden las Actividades Instrumentales de la Vida Diaria (AIVD). Son dependientes de factores como el sexo, la cultura y las preferencias personales, y de su medida suele basarse en el juicio y no en la observación. Las más utilizadas son: el Cuestionario de Actividad Funcional de Pfeffer (FAQ, del inglés *Functional Activities Questionnaire*) (Pfeffer et al., 1982; Bermejo-Pareja & del Ser-Quijano, 1994), que permite una evaluación objetiva, a través de un informador, sobre el rendimiento del paciente en actividades instrumentales avanzadas de la vida

diaria; y la Escala de Actividades Instrumentales de Lawton y Brody (IADL, del inglés *Instrumental Activities of Daily Living*) (Lawton & Brody, 1969), que es una escala autoaplicada y que no está validada al castellano.

Si bien este criterio se satisface en la práctica clínica preguntándole al paciente o a su familiar sobre el funcionamiento diario, se ha demostrado que la inclusión de una prueba objetiva de la actividad funcional incrementa la precisión diagnóstica. Y aunque el uso de una prueba funcional además de una prueba de tamizaje cognitivo incrementa la sensibilidad para diagnosticar un envejecimiento patológico (Tappen et al., 2010), al final se decidió no incluir ninguna de estas escalas, pues ello suponía alejarse del objetivo del protocolo, que es determinar el nivel de deterioro a través de la evaluación de los cinco dominios cognitivos y no alcanzar un diagnóstico ni medir las consecuencias de ese deterioro en la vida cotidiana de los sujetos.

Se pensó también en incluir una escala de depresión con la finalidad de asegurar que los resultados no estuvieran influidos por el estado de ánimo del sujeto. Ciertos estudios han sugerido que existe una relación patogénica entre la EA y la depresión. En un metaanálisis Jorm (2000) concluyó que la depresión está asociada a un incremento del riesgo de padecer demencia. De hecho, más del 40% de los pacientes con EA sufren, en mayor o menor grado, depresión (Whooley et al., 1999; Müller-Thomsen et al. 2002; Olin et al, 2002).

La depresión en personas mayores generalmente es causada por enfermedades relacionadas con el envejecimiento físico y mental, por situaciones sociales o por dificultades financieras (Beekman et al., 2000; Cole & Dendukuri, 2003). Aunque los síntomas que caracterizan la depresión en esta población se superponen a los observados en las personas más jóvenes, no es tan fácil de identificar. Incluso los manuales diagnósticos (DSM en Estados Unidos y CIE en Europa) tienden a infraestimarla, especialmente en aquellos sujetos con demencia (Müller-Thomsen et al., 2005) -para los cuales no existe un protocolo de referencia.

El diagnóstico correcto de la depresión en los EA es de gran importancia porque puede tratarse exitosamente en la mayoría de los casos (Lyketsos & Olin, 2002). Este buen diagnóstico debería

basarse en un enfoque multidimensional: entrevista clínica, anamnesis previa a la enfermedad, observación del comportamiento del paciente, entrevista con los familiares y cuidadores, y observación de la posible alteración de los biorritmos (Colasanti et al., 2010). Esto junto con la combinación de escalas de evaluación de la depresión y los criterios del DSM/CIE son las herramientas diagnósticas que complementan el buen diagnóstico. Existe una gran variedad de escalas y cuestionarios que evalúan el estado depresivo. Algunas pruebas deben ser aplicadas por un evaluador y otras son autoaplicadas.

La prueba autoaplicada más conocida y usada es el Inventario de Depresión de Beck (BDI, del inglés *Beck Depression Inventory*) (Beck, 1972). Explora un limitado rango de síntomas ante los que el sujeto debe escoger el nivel de gravedad que mejor representa su estado durante la semana anterior. Esta característica hace que el BDI sea especialmente útil en el control de las variaciones de la intensidad de la depresión a lo largo del tiempo (Beck & Bemesderfer, 1974; Beck et al., 1988). Dado que el objetivo no era un seguimiento se buscó otra escala. La *Hamilton Depression Rating Scale* (HAM-D o HDRS) (Hamilton, 1960) fue la siguiente opción pues es considerada de manera unánime la mejor prueba cuando se estudia la depresión. Ha sido traducida a varios idiomas y es usada en todo el mundo, tanto en la práctica clínica como en la investigación. Incluso se ha convertido en un punto de referencia para otras escalas (Bagby et al., 2004). Es una entrevista semiestructurada que evalúa la gravedad de la depresión. La versión inicial estaba formada por 21 ítems, pero se redujo a 17 en la versión modificada y revisada (Hamilton, 1967). A pesar de ser ampliamente utilizada, la HDRS presenta unas limitaciones evidentes: no es adecuada para evaluar depresión en sujetos con daño cognitivo debido a su estructura específica y además requiere de personal entrenado para aplicarla (Ruhè et al., 2005). Por esos motivos fue descartada y en su lugar se pensó en la Escala de Depresión Geriátrica (GDS, del inglés *Geriatric Depression Scale*) (Yesavage et al., 1983). Esta prueba ha sido probada y usada extensamente con la población de adultos mayores con buena salud, con enfermedad médica o con deterioro cognitivo leve-moderado de EEUU, Europa y Latinoamérica. En 1986 se creó una versión reducida en la que se seleccionaron las preguntas que guardaban la mayor

correlación con los síntomas depresivos, de 30 ítems se pasó a 15 (Sheikh & Yesavage, 1986). Esta versión abreviada facilita su aplicación en pacientes con demencia leve a moderada que pueden concentrarse por lapsos breves o se fatigan con facilidad. La GDS-15 ha sido validada para el uso con pacientes con EA (Müller-Thomsen et al., 2005), dando buenos resultados en aquellos pacientes con un estado de deterioro leve (Brodaty & Luscombe, 1996), pero no en fases avanzadas (Burke et al., 1991; Feher et al., 1992; Zarb, 1996). Las preguntas están formuladas de manera clara y comprensiva, y tienen en cuenta la mayoría de los síntomas de la depresión geriátrica. Su principal limitación es que es una prueba autoaplicada y no implica recurrir a informantes próximos para corroborar la información.

Finalmente, se optó por prescindir de cualquier prueba que introdujera información subjetiva al protocolo. Además, dado que los sujetos participantes en el estudio vienen derivados del Servicio de Neurología del Hospital de Cabueñes, se entiende que, en caso de sufrir depresión, ya estarían diagnosticados.

En definitiva, el protocolo se compuso de las siguientes pruebas: MMSE y MoCA, como tests de screening; TAVEC y denominación de famosos, para evaluar la memoria; TDB y fluidez (semántica, fonológica y de acciones), para evaluar el lenguaje; TMT, Stroop y dígitos, para evaluar las funciones ejecutivas; y Test del Reloj y Test de Retención Visual de Benton, para evaluar las habilidades visoespaciales.

Una vez seleccionadas las pruebas que formarían parte del protocolo se procedió a aplicarlo a una submuestra de controles y pacientes (tabla 12) para medir el tiempo que empleaban en completarlo. El objetivo era no extenderse más allá de una hora en su aplicación, pues las baterías de pruebas neuropsicológicas integrales pueden llevar mucho tiempo y ser una carga para pacientes y administradores de los tests, disminuyendo concentración y rendimiento por causas independientes a las propias disfunciones cognitivas.

Tabla 12

Submuestra para medir el tiempo empleado en completar el protocolo inicial. Tabla 12.

Variables	EA	DCL	Control
N	5	5	5
Media de edad \pm DT (años)	86 \pm 7.07	82 \pm 6.38	74.25 \pm 6.86
Educación (B/P/S)	2/2/1	2/2/1	2/2/1
Género (H/M)	2/3	2/3	2/3
Duración de la enfermedad	4 \pm 1.4	2 \pm 1.6	

EA: Enfermedad de Alzheimer; DCL: Deterioro Cognitivo Leve; N: Número muestral; DT: Desviación Típica; B: estudios Básicos; P: estudios Primarios; S: estudios Superiores; H: Hombre; M: Mujer.

Como el tiempo empleado por controles y pacientes en completar el protocolo excedía la hora de duración se decidió reemplazar el TAVEC por la Lista de palabras del CERAD y el TRVB por la FCRO. El protocolo final, por tanto, incluiría las siguientes pruebas:

1. Montreal Cognitive Assessment (MoCA) (Lozano-Gallego et al., 2009).
2. Mini Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al., 1975).
3. Fluidez fonológica
4. Fluidez semántica.
5. Fluidez verbal.
6. Test del reloj (TR) (Shulman et al., 1986) (Cacho et al., 1999).
7. Lista de palabras del Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD) (Morris et al., 1989).
8. Figura Compleja Rey-Osterrieth (FCRO) (Osterrieth, 1944; Rey, 1941).
9. Prueba de dígitos (Wechsler, 1999).
10. Trail Making Test (TMT) (Reitan & Wolfson, 1995).

11. Test Stroop (Golden, 1978).
12. Test de Denominación de Boston (TDB) (Kaplan et al., 2001)
13. Denominación de Personajes Famosos.

Tras esta modificación, el tiempo se redujo significativamente (Tabla 13 y Figura 12).

Tabla 13

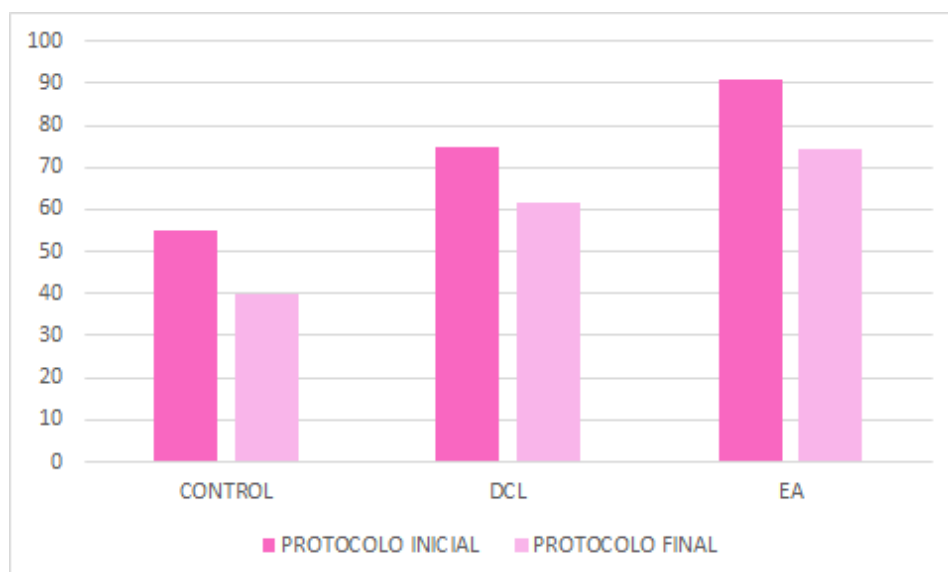
Tiempo empleado en el protocolo inicial y final por las distintas submuestras.

Grupo	Protocolo inicial	Protocolo final	p-valor
EA	90.91	74.27	.000*
DCL	74.82	61.75	.003*
Control	55.12	39.76	.000*

EA: Enfermedad de Alzheimer; DCL: Deterioro Cognitivo Leve

Figura 12

Comparación del tiempo empleado por las distintas submuestras en completar el protocolo inicial (rosa claro) y el protocolo final (rosa oscuro).



4.2. Medición del biomarcador

Para poder medir el biomarcador de la Enfermedad de Alzheimer, primero era necesario recoger muestras de sangre; lo segundo, determinar el modo de almacenamiento; y lo tercero, escoger el modo de medición.

4.2.1. Recogida de las muestras de sangre de controles y pacientes

Para la recogida de las muestras de sangre era necesario, en primer lugar, obtener el permiso del Hospital de Cabueñes. Fernando Cueto -en calidad de director del equipo de investigación de la Facultad de Psicología que, junto con la Facultad de Química y el departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Oviedo, forma parte de un estudio sobre el diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer, como parte de un proyecto subvencionado por el Ministerio de Economía y Empleo (referencia: GRUPIN 14-021)- redactó una carta solicitando permiso al director médico del Hospital para pedir la colaboración de los pacientes. En la mencionada carta se incluye, además, el compromiso de devolver un informe con los resultados de la evaluación y asegurar en todo momento el anonimato de los datos recolectados. Adjunto a esta carta se incluía un informe detallado de todo el estudio. En el Anexo 2 se adjunta la respuesta afirmativa del Comité de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias para llevar a cabo el mencionado estudio.

Una vez obtenidos los permisos, se procedió a la reclutar la muestra. Los participantes debían acudir en dos ocasiones al Hospital de Cabueñes: un día por semana en horario de tarde a la evaluación cognitiva; y otro día, de esa misma semana, pero en horario de mañana, para la extracción de sangre. Para concertar la primera cita, la doctora Carmen Martínez -en el caso de los pacientes con DCL y EA- y el doctor José María Asensi -en el caso de los pacientes con EP- informaban a los sujetos en compañía de los cuidadores de la posibilidad de participar en un estudio de diagnóstico precoz de la Enfermedad de Alzheimer. A los que aceptaban participar se les incluía en un Excel en el que se les asignaba un código de identificación y se les llamaba para concertar el día de la evaluación y el día de la extracción.

La evaluación se llevaba a cabo en una consulta de la planta de neurología del Hospital de Cabueñes, preferiblemente en el despacho de la Doctora Carmen Martínez, dado que era un lugar conocido por los pacientes. Durante una media de 55 minutos los sujetos iban completando los distintos tests y al finalizar, en presencia del cuidador/acompañante, se les entregaba dos documentos:

1. El consentimiento informado, en el que el participante afirmaba haber sido informado de las características del estudio por parte de su neurólogo de referencia y aceptaba no sólo realizar la evaluación neuropsicológica sino también dejarse extraer unas muestras de sangre con fines científicos, asegurando el anonimato en todo momento.
2. El volante que el paciente debía presentar en la ventanilla de extracciones del Hospital de Cabueñes para que los enfermeros supieran qué cantidad de sangre debían extraer y en qué tubos almacenarla. En concreto se les extraía:
 - 1 tubo de 3.5 cc con gel y sin anticoagulante.
 - 2 tubos con EDTA de 10 cc

En el caso de los controles, la forma de proceder fue prácticamente la misma. La única diferencia eran los lugares donde contactarlos; es decir, en lugar de reclutarlos en el Hospital de Cabueñes, se recurrió a centros de mayores y al Programa Universitario de Mayores de la Universidad de Oviedo. La evaluación se llevaba a cabo en salas aisladas de esos mismos lugares, pero la extracción en el propio Hospital de Cabueñes.

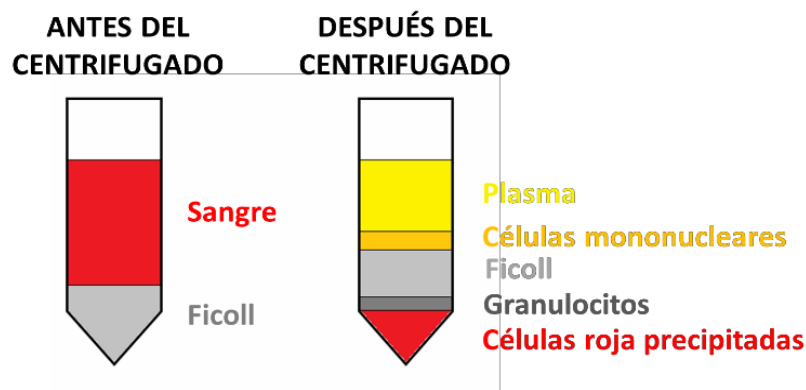
4.2.2. Protocolo de almacenamiento de las muestras de sangre

Una vez recogidas las muestras de sangre en el Hospital de Cabueñes, se llevaban esa misma mañana a Oviedo. El tubo pequeño, tras un proceso de centrifugación en el propio hospital, se almacenaba en un congelador del laboratorio de Agustín Costa, en el departamento de Química Analítica de la Facultad de Química; los tubos mayores se llevaban al laboratorio de María Teresa Fernández, en el departamento de Bioquímica y Biología Molecular del Edificio Santiago Gascón, donde se iniciaba el proceso de separación y posterior congelación del suero y linfocitos:

1. El procesamiento se lleva a cabo en una **campana extractora**, especialmente diseñada para eliminar vapores generados por compuestos químicos y mantener un ambiente limpio de contaminación. **Guantes** en las manos para evitar cualquier contacto con la sangre y los reactivos y **bata de manga larga** para evitar cualquier salpicadura.
2. Mezcla de la sangre con el tampón fosfato salino o buffer fosfato salino (conocido también por sus siglas en inglés, PBS, *Phosphate Buffered Saline*). Los tampones o buffers son concentraciones relativamente elevadas de un ácido y su base conjugada, que mantienen estables el pH de las disoluciones.
3. Separación por gradientes de densidad empleando la técnica de *Ficoll hypaque*. Esta técnica consiste en separar las Células Mononucleares de la Sangre Periférica (CMSP) de otras células de la sangre mediante centrifugado. Durante la centrifugación se van formando varias capas (Figura 13):

Figura 13

Separación por gradientes de densidad utilizando la técnica de Ficoll hypaque.



4. Recogida del suero, unos 20 mL, y almacenamiento en tubos de 50 mL en el congelador.
5. Recogida de los linfocitos en tubos eppendorfs en los que previamente se había añadido 80 µl de un Buffer. Este tampón se elabora con TRIS HCl (tris(hidroximetil)aminometano con ácido clorhídrico), Nonyl Phenoxypolyethanol (NP - 40), Inhibidor de la Proteasa, Cloruro sódico (NaCl) y agua (H₂O) destilada.

6. Sonicación y ultracentrifugación de la mezcla anterior para recoger el líquido resultante en tubos eppendorf, dejando el sedimento y almacenando el resto en el congelador. Con la sonicación se busca romper la membrana semipermeable que crea la barrera entre el interior de la célula y el ambiente extracelular. De este modo, se obtienen los organelos, proteínas, ADN, ARN mitocondrial y demás moléculas del interior de las células.

Este proceso (ver en detalle Anexo 3) se llevó a cabo con un total de 65 muestras de pacientes y 72 muestras de controles.

El objetivo inicial era buscar las concentraciones de la proteína p53 conformacionalmente alterada y de las enzimas oxidativas catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa mediante técnicas bioquímicas en colaboración con el equipo del Profesor Memo del departamento de Medicina Molecular y Traslacional de la Universidad de Brescia. Motivo por el cual se realizó una estancia doctoral en el mencionado laboratorio. Pero debido a la finalización del proyecto vinculante durante el 2017, finalmente se optó por la medición exclusiva del p53 conformacionalmente alterado mediante una técnica electroquímica desarrollada por el equipo del Profesor Agustín Costa, del departamento de Química Analítica de la Universidad de Oviedo (Amor-Gutiérrez et al., 2019).

4.2.3. Método de medición

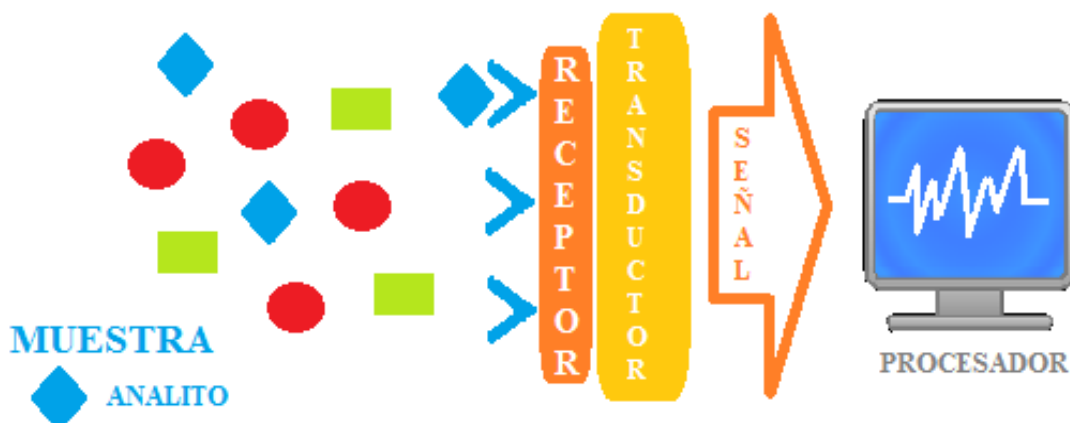
La técnica empleada para la medición de la proteína fue un biosensor electroquímico. Los sensores y biosensores electroquímicos responden a la necesidad social actual de dispositivos de análisis baratos, portátiles, fiables, y de fácil manejo. (González & Costa, 2010).

Los sensores se podrían definir como dispositivos capaces de responder a un analito concreto en el seno de una muestra compleja (González & Costa, 2010). Constan de dos elementos, representados en la Figura 14:

1. Un **receptor** preparado para detectar específicamente una sustancia, el analito.
2. Un **transductor** o **sensor**, capaz de interpretar la reacción de reconocimiento biológico que produce el receptor y traducirla en una señal cuantificable.

Figura 14

Esquema de un biosensor y fundamento de su funcionamiento



En el caso del biosensor electroquímico, el transductor es un electrodo -de ahí lo de *electroquímico*-, y en el receptor intervienen especies biológicas (enzimas, anticuerpos, receptores proteicos...) -de ahí lo de *biosensor*. De este modo, combinan la sensibilidad de las técnicas electroquímicas con la selectividad de los procesos de reconocimiento biológico.

Además de la sensibilidad y selectividad, otras ventajas fundamentales propias de los biosensores son la posibilidad de obtener resultados en tiempo real, ya sea a nivel cualitativo (si/no) o cuantitativo; la posibilidad de evaluar la cinética de la interacción (constante de afinidad, asociación, disociación...); y el bajo coste, sobre todo cuando para su construcción se emplean transductores electrodos serigrafiados.

Los transductores de los electrodos convencionales, que son los empleados en investigación, se elaboran con oro, platino o carbono. Sin embargo, esto no resulta útil en la práctica clínica cuando el fin es el interés diagnóstico y, por tanto, el empleo de un solo uso. Es decir, dado que el contacto del elemento de reconocimiento con la muestra (sangre, suero, orina...) invalida al sensor para posteriores usos, la lógica sería elaborar sensores de *usar y tirar*. La solución a este problema es el uso de la técnica del serigrafiado que, además de resolver el problema práctico y económico, presenta una serie de ventajas:

1. Flexibilidad del diseño, lo que permite cualquier geometría y variaciones tanto en el número de electrodos como en el volumen de celda electrolítica.
2. Combinación de distintos materiales electródicos, en función de las necesidades de transducción, en la misma celda electrolítica gracias a la variedad de tintas de serigrafiado (oro, platino, carbono, plata o cloruro de plata).
3. Posibilidad de pretratamientos y modificaciones. Debido a las distintas geometrías de los electrodos, así como los diferentes materiales electródicos empleados en la fabricación de los mismos, se puede llevar a cabo modificaciones en las superficies de éstos con distintos materiales y esto permite mejorar las propiedades de los mismos.
4. Adaptación a distintos soportes; es decir, los materiales empleados para la tarjeta soporte donde queda impresa la celda electrolítica y los electrodos pueden variar (plásticos, cerámicas...).
5. Automatización del proceso de producción de las tarjetas serigrafiadas una vez definido el diseño (escogidas las tintas, los tamaños de las celdas...).
6. Pequeño tamaño, por lo que las muestras requeridas para el análisis también deben ser pequeñas.
7. Portabilidad. Los sensores pueden ser manejados y transportados fácilmente pudiendo llevar a cabo determinaciones *in situ*; es decir, sin necesidad de transportar las muestras al laboratorio.
8. Fácil integración con circuitos electrónicos, lo que permite obtener directamente la señal eléctrica sin necesidad de un tratamiento previo.

En la Figura 15 se puede observar las distintas partes de una tarjeta serigrafiada con un diseño clásico de 3 electrodos:

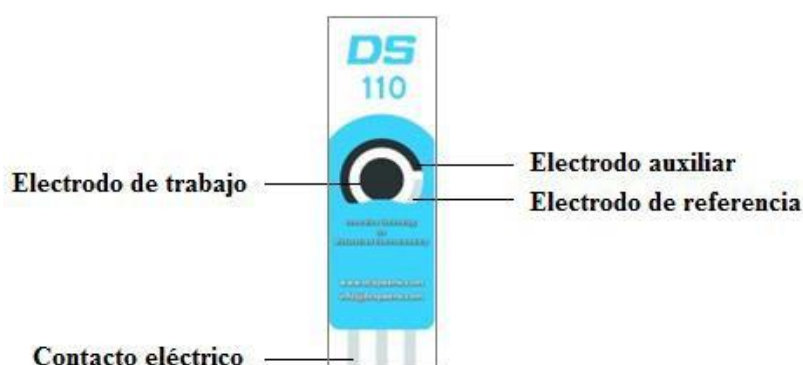
1. Electrodo de trabajo (ET). Es el que hace contacto con el analito; es decir, es donde ocurre la reacción de interés/objeto de estudio. Aplica un potencial sobre el analito y facilita la transferencia de electrones desde o hacia éste.

2. Electrodo de referencia (ER). Posee un potencial constante y conocido de modo que actúa como referencia en la medición del proceso de reducción u oxidación estudiado y controla el potencial de los electrodos de trabajo.
3. Electrodo auxiliar o contraelectrodo (CE). Su función consiste en pasar toda la corriente necesaria para equilibrar la corriente observada en el electrodo de trabajo; es decir, equilibra los electrones añadidos o eliminados por el electrodo de trabajo.

Hay muchos sistemas que tienen más electrodos, pero sus principios de diseño son generalmente los mismos.

Figura 15

Tarjeta serigrafiada con tres electrodos



Las dimensiones generales que presentan las tarjetas serigrafiadas son de 3.4 cm x 1.0 cm x 1.5 cm (largo x ancho x alto). El electrodo de trabajo es circular y presenta un diámetro de 4 mm, lo cual hace que sean óptimos para trabajar con volúmenes de aproximadamente 50 μL . Tanto el electrodo de trabajo como el auxiliar están constituidos por tinta de carbono. El electrodo de referencia y los contactos eléctricos, de plata.

El proceso de serigrafiado o *screen-printing* consiste en colocar una plantilla con el diseño deseado sobre el sustrato, haciendo pasar una tinta por esta plantilla. A continuación, una etapa de secado y curado, y finalmente, recubrimiento con un aislante que deje libre únicamente las conexiones y el área de trabajo del electrodo.

Los electrodos serigrafiados así producidos ya constituyen un buen sistema de transducción, pero se puede aumentar aún más su sensibilidad mediante la **nanoestructuración del electrodo de trabajo** con nanotubos de carbono (Fanjul-Bolado et al., 2009) o nanopartículas de oro (Martínez-Paredes et al., 2008). Entre las ventajas de la nanoestructuración destacarían:

1. Favorecimiento de los procesos electroquímicos que tienen lugar en el electrodo dado que los nanomateriales presentan un área superficial mayor. A su vez esto conlleva, de acuerdo con la ecuación de Randles-Sevcik, $i_p = 2.69 \cdot 10^5 n^{3/2} v^{1/2} D^{1/2} AC$, un aumento de la intensidad de pico. Donde la i_p es la intensidad de pico medida n el número de electrones intercambiados entre la especie electroactiva y la superficie del electrodo, v la velocidad de barrido, D el coeficiente de difusión, C la concentración y A el área del electrodo.
2. Mejora de la transferencia de carga de la molécula electroactiva con el electrodo.
3. Disminución de la energía necesaria para que tenga lugar la reacción cuando los nanomateriales actúan como catalizadores.
4. Mejora de la conexión entre el analito con la superficie del electrodo; es decir, mejora de la captura del analito.

Los electrodos de los biosensores empleados en el presente estudio fueron nanoestructurados con nanopartículas de oro. Las nanopartículas son conglomerados o agrupaciones de 100 a 1000 átomos del elemento con dimensiones nanométricas. En concreto, las nanopartículas de oro siempre han suscitado un mayor interés debido a las propiedades del mencionado metal: elevada conductividad, elevada relación superficie/volumen, excelente biocompatibilidad y baja reactividad frente a reactivos comunes. El principal inconveniente es el elevado coste, pero dado que la cantidad empleada es pequeña, el incremento no es significativo.

A lo largo del siglo pasado se han ido desarrollando distintos métodos para la preparación de nanopartículas de oro basados en la reducción de sales de oro con agentes orgánicos reductores. El método más popular fue el desarrollado por Turkevich et al. (1951). Sin embargo, en la actualidad, se ha visto la posibilidad de generar *in situ* sobre la propia superficie del electrodo serigrafiado

nanopartículas de oro de forma más sencilla, controlada y barata (Martínez-Paredes et al., 2008). Esta metodología consiste en una electrodeposición de oro sobre el electrodo de trabajo aplicando corriente o potencial eléctrico (Figura 16) (Chikae et al., 2006). Dentro de esta metodología cabe destacar el método desarrollado por Martínez-Paredes et al. (2009):

- Colocar una gota de 40 μ L de una disolución de ácido cloroáurico (HAuCl₄) sobre los electrodos de la tarjeta serigrafiada.
- Aplicar corriente negativa constante al electrodo de trabajo. Dependiendo de la acidez, de la concentración de HAuCl₄, de las intensidades aplicadas y del tiempo de electrólisis, se pueden optimizar superficies nanoestructuradas con propiedades distintas pero reproducibles y estables. El electrodo de trabajo debe ser de carbono.

Figura 16

Nanoestructuración de electrodos serigrafiados con oro.



Para la medición del p53 conformacionalmente alterado en plasma se estableció en el 2014 un convenio colaboración con el equipo de Agustín Costa, que lleva más de 10 años investigando y desarrollando métodos electroquímicos para la medición sustratos biológicos (Amor-Gutiérrez et al., 2017; Costa-Rama et al., 2014; Fanjul-Bolado et al., 2008; Fernández-Abedul & Costa-García, 2008; Neves et al., 2012). Entre los objetivos del mencionado proyecto estaba el desarrollar un biosensor electroquímico capaz de medir la cantidad de biomarcador presente en las muestras de sangre recogidas. Para ello se emplearon electrodos serigrafiados de carbono suministrados por DropSens que fueron nanoestructurados y modificados con el objetivo de que detectaran el analito del estudio;

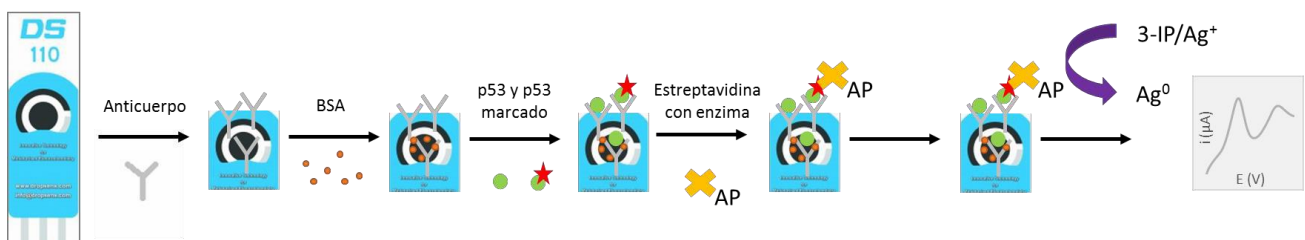
es decir el p53 conformacionalmente alterado. Las modificaciones que se llevaron a cabo fueron (Figura 17):

- **Absorción del anticuerpo monoclonal de la p53.** Los anticuerpos monoclonales son anticuerpos idénticos entre sí producidos por un solo tipo de célula del sistema inmune, un clon de linfocitos B. Gracias a su gran especificidad, sólo capta la proteína p53 conformacionalmente alterada, el analito que se pretende cuantificar.
- **Bloqueo con seroalbúmina de suero bovino (BSA, del inglés *Bovine Serum Albumin*).** Una vez absorbido el anticuerpo, se rellenan los espacios que no han sido ocupados por éstos con un buffer de bloqueo, en este caso BSA. El objetivo es prevenir uniones no específicas de los anticuerpos y evitar así falsos positivos.
- **Adición del péptido de la p53 sin marcar.** Dado que cuanto mayor concentración de esta proteína en sangre mayor es el deterioro (Cenini et al., 2008), se espera que este péptido sature los anticuerpos monoclonales.
- **Adición del péptido de la p53 marcado con biotina.** La proteína p53 marcada es el analito que esperamos medir. Por tanto, si previamente decíamos que a mayor cantidad de p53 mayor deterioro; ahora a menor cantidad de p53 biotinilado, mayor deterioro. El péptido biotinilado saturará aquellos anticuerpos que no hayan sido ocupados por el péptido p53. El motivo por el cual esta proteína está marcada con la biotina es que ésta se unirá con la estreptavidina, enzima que se añadirá en la fase siguiente.
- **Adición de estreptavidina con la enzima fosfatasa alcalina** (la estreptavidina se une a la biotina de la p53). La unión biotina/estreptavidina permite una mayor amplificación de la señal final. La fosfatasa alcalina se unirá con la última enzima añadida, 3-indoxil-fosfato.
- **Adición del sustrato de la enzima (3-indoxil-fosfato) y la plata (Ag).** La oxidación de la plata unida a través de distintos conjugados moleculares a la p53 biotinilada, es lo que se medirá finalmente. Esta oxidación tiene lugar debido a la aplicación de corriente eléctrica en la última fase.

- Registro de la señal electroquímica correspondiente a la oxidación de la plata** mediante el uso de la **técnica amperométrica**. Esta técnica se basa en la medida de la intensidad de corriente para relacionarla con la concentración del analito de interés, habiendo trazado previamente una recta de calibrado. El analito, sea o no electroactivo, debe participar en una reacción de transferencia de electrones en la superficie del electrodo, tal y como ocurre en la oxidación de la plata. La forma de amperometría más utilizada en los biosensores electroquímicos es la directa. Para ellos se parte de la hipótesis de Nernst y de la ecuación de difusión en régimen estacionario, $i_d = k C$, donde la C es la concentración del analito en la disolución, k el coeficiente de proporcionalidad entre la intensidad de difusión y i_d la concentración de analito, que tomará valores diferentes en función del electrodo empleado. Mediante esta ecuación se puede conocer la concentración del analito en la muestra, interpolando en la recta de calibrado la intensidad medida para dicha disolución de muestra. La medición es posible porque el producto de la catálisis enzimática que genera la señal analítica es la plata metálica que sólo queda depositada donde ha reaccionado el analito.

Figura 17

Proceso de desarrollo del biosensor electroquímico para la medición de la proteína p53 conformacionalmente alterada.



RESULTADOS

Los análisis estadísticos fueron realizados usando un paquete estadístico (SPSS 22, SPSS Inc., Chicago, Ill., USA).

1. Protocolo

Con el fin de determinar si los tests seleccionados para conformar el protocolo neuropsicológico permiten diferenciar entre los distintos grupos, se procedió al análisis comparativo mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis - debido al no cumplimiento de los supuestos paramétricos (tabla 14).

Tabla 14
Resultados de la prueba Kruskal-Wallis

Pruebas	Chi-cuadrado	Gl	p valor
MMSE	53.326	3	.000*
MoCA	67.856	3	.000*
Fluidez Fonológica	9.461	3	.024*
Fluidez Semántica	25.025	3	.000*
Fluidez Verbal	11.651	3	.009*
Test del Reloj			
Copia	14.765	3	.002*
Orden	20.854	3	.000*
CERAD			
Total	48.886	3	.000*
Recuerdo	58.798	3	.000*
Reconocimiento	6.496	3	.090

Figura Compleja Rey-Osterrieth

Copia	34.217	3	.000*
Memoria	62.759	3	.000*
Dígitos			
Directos	8.103	3	.044*
Inversos	12.393	3	.006*
Trail Making Test A			
Correctas	16.951	3	.001*
Error	9.296	3	.026*
Tiempo	20.827	3	.000*
Trail Making Test B			
Correctas	60.662	3	.000*
Error	35.786	3	.000*
Tiempo	52.759	3	.000*
Stroop			
P	23.000	3	.000*
C	33.269	3	.000*
PC	45.464	3	.000*
Interferencia	10.416	3	.015*
Boston	26.181	3	.000*
Famosos	56.719	3	.000*

gl: grados de libertad; MMSE: Mini Mental State Examination, MoCA: Montreal Cognitive Assessment; CERAD: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease

La prueba Kruskal-Wallis indica que hay diferencias en todas las pruebas excepto en el subtest de reconocimiento. Pero este estadístico no especifica entre qué grupos se dan, sólo indica que hay diferencias entre dos de los grupos comparados. Para saber entre qué grupos y entre qué variables se

dan estas diferencias se utilizó el estadístico no paramétrico U de Mann-Whitney, comparando los grupos dos a dos (ver tablas 15, 16, 17, 18 y 19). A fin de contrarrestar el incremento en la tasa de error tipo I debido a estar realizando sobre unos mismos datos una serie de ajustes, se realizó un ajuste en el nivel de α asumido. Aplicando la corrección de Bonferroni, el α corregido pasaría a ser 0.01; es decir, 0.05/5. Por último, según recomendaciones de la APA (2009), se calculó también el tamaño del efecto. Donde, a la hora de valorar el tamaño de los efectos obtenidos, se puede usar el criterio descrito por Cohen (1988): $d = 0.2$ (bajo), $d = 0.5$ (medio); $d = 0.8$ (grande). Donde d se calcula aplicando la siguiente ecuación:

$$d = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)SD_1^2 + (n_2 - 1)SD_2^2}{(n_1 + n_2) - 2}}}$$

Donde, d : valor d de Cohen (diferencia de Medias Estandarizadas); M_1, M_2 : valores medios del primer y segundo conjunto de datos; SD_1, SD_2 : Desviación Estándar del primer y segundo conjunto de datos.

Tabla 15

Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para los sujetos con DCL vs. Controles.

Pruebas	Grupo		U de Mann-Whitney	Z	p valor	Tamaño de efecto (d)
	DCL	Control				
	M (DT)	M (DT)				
MMSE	26.24 (2.51)	28.96 (1.17)	122.5	-3.760	.000*	1.39
MoCA	20.08 (3.95)	26.44(2.39)	53.50	-5.042	.000*	1.95
Fluidez Fonológica	12.08 (3.53)	14.36 (3.47)	208.00	-2.037	.0420	0.65
Fluidez Semántica	14.88 (4.20)	16.76 (4.30)	261.00	-1.006	.0314	0.44
Fluidez Verbal	10.68 (4.49)	12.76 (4.70)	256.500	-1.093	.275	0.45

Test del Reloj						
Copia	9.18 (1.51)	9.9 (0.41)	221.50	-2.168	.015	0.65
Orden	9.08 (1.50)	9.86 (0.60)	234.500	-2.437	.030	0.68
CERAD						
Total	12.12 (3.73)	16.28 (2.48)	96.50	-4.235	.000*	1.31
Recuerdo	1.64 (1.96)	4.68 (1.97)	87.00	-4.427	.000*	1.67
Reconocimiento	7.24 (2.62)	8.60 (1.63)	210.50	-2.024	.0430	0.62
FCRO						
Copia	30.28 (5.84)	34.20 (2.83)	134.50	-3.502	.000*	0.99
Memoria	8.02 (7.77)	21.86 (5.01)	51.00	-5.081	.000*	2.12
Dígitos						
Directos	7.68 (1.55)	9.00 (1.80)	186.00	-2.497	.013	0.79
Inversos	4.56 (2.02)	5.12 (1.45)	236.50	-1.506	.132	0.32
Trail Making Test A						
Correctas	24.60 (1.61)	25.00 (0.00)	275.000	-1.768	.077	0.35
Error	0.12 (0.33)	0.00 (0.00)	275.00	-1.769	.077	0.51
Tiempo	92.16(45.35)	62.60 (13.6)	206.00	-2.068	.039	0.89
Trail Making Test B						
Correctas	21.72 (3.60)	24.44 (1.29)	148.00	-3.484	.000*	1.01
Error	2.84 (2.98)	0.56 (1.29)	150.50	-3.433	.001*	0.99
Tiempo	252.24(111.8)	130.84(53.91)	94.50	-4.231	.000*	1.17
Stroop						
P	35.84 (8.56)	43.28 (5.55)	147.50	-3.206	.001*	1.03
C	36.24 (8.35)	45.28 (8.96)	126.50	-3.615	.000*	1.04
PC	35.80 (4.60)	47.92 (8.43)	49.00	-5.127	.000*	1.78
Interferencia	45.84 (6.59)	52.96 (10.25)	156.50	-3.031	.002*	0.83

Boston	11.52 (2.04)	12.84 (1.18)	188.50	-2.449	.014	0.79
Famosos	10.88 (4.45)	17.64 (3.29)	73.00	-4.661	.000*	1.73

*p < 0.01

M: Media; DT: Desviación Típica

Los sujetos con DCL obtuvieron resultados significativamente inferiores a los controles en casi todas las pruebas, a excepción de las pruebas de fluidez, la versión a la orden del test del reloj, dígitos inversos, subtest de reconocimiento de la Lista de palabras del CERAD y TMT-A. Las diferencias estadísticamente significativas más relevantes, con tamaños de efecto grandes ($d \geq 0.80$), se dieron en pruebas de screening, de memoria, de funciones ejecutivas y de denominación.

Tabla 16

Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para los sujetos con EA vs. controles.

Pruebas	Grupos		U de Mann-Whitney	Z	p valor	Tamaño de efecto (d)
	EA	Control				
	M (DT)	M (DT)				
MMSE	23.88 (2.76)	29.00 (1.00)	23.50	-5.680	.000*	2.47
MoCA	16.00 (3.70)	25.60 (3.14)	16.00	-5.763	.000*	2.80
Fluidez Fonológica	11.20 (5.02)	14.20 (3.29)	169.00	-2.798	.005*	0.71
Fluidez Semántica	11.48 (3.12)	16.48 (5.07)	115.50	-3.835	.000*	1.19
Fluidez Verbal	10.12 (4.39)	12.32 (5.64)	242.50	-1.363	.173	0.44
Test del Reloj						
Copia	8.60 (2.08)	9.84 (0.55)	206.50	-2.748	.006*	0.81
Orden	7.72 (2.34)	9.76 (0.88)	146.00	-3.833	.000*	1.15
CERAD						

Total	9.20 (3.82)	15.56 (2.84)	53.00	-5.050	.000*	1.89
Recuerdo	0.44 (0.96)	4.16 (1.93)	21.00	-5.837	.000*	2.44
Reconocimiento	7.32 (2.61)	8.20 (1.68)	266.50	-0.908	.364	0.40
FCRO						
Copia	21.60 (13.47)	33.80 (3.25)	106.50	-4.043	.000*	1.24
Memoria	2.96 (3.42)	19.98 (7.59)	20.00	-5.697	.000*	2.89
Dígitos						
Directos	7.76 (1.88)	8.72 (1.95)	226.00	-1.727	.084	0.50
Inversos	4.12 (1.56)	5.24 (1.48)	188.00	-2.479	.013	0.74
Trail Making Test A						
Correctas	24.44 (1.32)	24.92 (0.40)	262.00	-1.736	.082	0.49
Error	0.60 (1.32)	0.08 (0.40)	250.00	-2.011	.044	0.53
Tiempo	98.04 (44.35)	59.60 (17.66)	119.50	-3.746	.000*	1.14
Trail Making Test B						
Correctas	20.12 (4.68)	24.36 (1.82)	113.50	-4.100	.000*	1.19
Error	4.40 (3.10)	0.64 (1.82)	75.00	-4.799	.000*	1.50
Tiempo	324.16(107.86)	130.12(49.06)	31.00	-5.463	.000*	2.32
Stroop						
P	35.00 (8.97)	42.12 (6.21)	160.50	-2.953	.003*	0.92
C	33.76 (8.15)	44.28 (10.58)	134.00	-3.468	.001*	1.11
PC	37.92 (11.26)	47.68 (9.99)	114.50	-3.848	.000*	0.92
Interferencia	50.76 (13.43)	53.64 (11.01)	251.00	-1.194	.232	0.23
Boston	9.36 (3.08)	12.28 (2.01)	135.00	-3.466	.001*	1.12
Famosos	6.96 (5.80)	17.08 (3.76)	53.00	-5.044	.000*	2.07

*p < 0.01

Los sujetos con EA obtuvieron resultados significativamente inferiores a los controles en casi todas las pruebas, a excepción de las pruebas de Fluidez Verbal, subtest de Reconocimiento de la Lista de palabras del CERAD, Dígitos Directos, total puntuaciones Correctas y Errores del TMTA, y en Interferencia del Stroop. Las diferencias estadísticamente significativas más relevantes, con tamaños de efecto grandes, se dieron en pruebas de screening, de lenguaje, de memoria, de funciones ejecutivas y de denominación.

Tabla 17

Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para los sujetos con EP vs. controles.

Pruebas	Grupo		U de Mann-Whitney	Z	p valor	Tamaño de efecto (r)
	EP	Control				
	M (DT)	M (DT)				
MMSE	27.07 (3.10)	29.13 (1.13)	61.50	-2.188	.033	0.88
MoCA	21.80 (4.80)	26.00 (2.14)	55.00	-2.398	.016	1.13
Fluidez Fonológica	11.33 (6.80)	14.40 (4.01)	69.00	-1.809	.074	0.54
Fluidez Semántica	16.53 (6.39)	18.13 (5.14)	99.00	-0.562	.595	0.28
Fluidez Verbal	10.47 (3.40)	13.53 (4.45)	68.00	-1.855	.067	0.77
Test del Reloj						
Copia	9.57 (0.90)	9.87 (0.52)	90.50	-1.406	.367	0.41
Orden	9.23 (1.86)	10.00 (0.00)	82.50	-2.106	.217	0.58
CERAD						
Total	13.40 (3.87)	15.40 (2.53)	70.50	-1.764	.081	0.61
Recuerdo	3.33 (2.56)	4.00 (1.31)	97.50	-0.629	.539	0.33
Reconocimiento	8.13 (1.60)	8.47 (0.92)	99.50	-0.554	.595	0.26

FCRO						
Copia	30.10 (6.49)	35.00 (1.31)	39.00	-3.120	.002*	1.05
Memoria	13.03 (9.11)	21.83 (5.15)	50.00	-2.596	.009*	1.19
Dígitos						
Directos	8.53 (1.73)	9.27 (1.44)	84.00	-1.214	.250	0.46
Inversos	3.73 (2.02)	5.53 (1.41)	46.50	-2.793	.005*	1.03
Trail Making Test A						
Correctas	24.47 (1.25)	25.00 (0.00)	90.00	-1.792	.367	0.60
Error	0.33 (1.05)	0.00 (0.00)	97.50	-1.438	.539	0.44
Tiempo	96.87 (50.10)	52.67 (15.54)	36.50	-3.155	.001*	1.19
Trail Making Test B						
Correctas	21.67 (5.27)	24.87 (0.35)	22.50	-4.223	.000*	0.80
Error	2.20 (2.04)	0.13 (0.35)	29.50	-3.757	.000*	1.41
Tiempo	234.80(120.15)	107.93(31.65)	27.00	-3.548	.000*	1.44
Stroop						
P	33.60 (11.26)	41.80 (5.12)	62.00	-2.098	.037	0.94
C	36.07 (9.14)	47.07 (7.12)	41.00	-2.973	.002*	1.34
PC	37.87 (6.33)	50.40 (9.39)	28.50	-3.496	.000*	1.56
Interferencia	49.13 (6.85)	54.73 (9.98)	89.00	-0.979	.345	0.65
Boston	11.60 (2.92)	13.07 (1.27)	85.00	-1.156	.267	0.65
Famosos	14.00 (5.55)	17.53 (3.72)	65.50	-1.964	.050	0.75

*p < 0.01

Los sujetos con EP obtuvieron resultados significativamente inferiores a los controles, con tamaños de efecto grandes, en las pruebas de screening, habilidades visoconstructivas, memoria visual y funciones ejecutivas.

Tabla 18

Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para los sujetos con DCL vs. EA.

Pruebas	Grupos		U de Mann-Whitney	Z	p valor	Tamaño de efecto (r)
	DCL	EA				
	M (DT)	M (DT)				
MMSE	26.24 (2.51)	23.88 (2.76)	168.50	-2.809	.005*	0.89
MoCA	20.08 (3.95)	16.00 (3.70)	147.50	-3.211	.001*	1.07
Fluidez Fonológica	12.08 (3.53)	11.20 (5.02)	264.50	-0.936	.349	0.20
Fluidez Semántica	14.88 (4.20)	11.48 (3.12)	145.50	-3.255	.001*	0.92
Fluidez Verbal	10.68 (4.49)	10.12 (4.39)	276.50	-0.701	.484	0.13
Test del Reloj						
Copia	9.18 (1.51)	8.60 (2.08)	280.00	-0.723	.469	0.32
Orden	9.08 (1.50)	7.72 (2.34)	205.50	-2.268	.023	0.69
CERAD						
Total	12.12 (3.73)	9.20 (3.82)	185.50	-2.488	.013	0.77
Recuerdo	1.64 (1.96)	0.44 (0.96)	179.00	-2.8689	.004*	0.78
Reconocimiento	7.24 (2.62)	7.32 (2.61)	302.00	-0.206	.836	-0.03
FCRO						
Copia	30.28 (5.84)	21.60 (13.47)	193.50	-2.317	.021	0.84
Memoria	8.02 (7.77)	2.96 (3.42)	192.00	-2.373	.018	0.84
Dígitos						
Directos	7.68 (1.55)	7.76 (1.88)	307.50	-0.100	.920	-0.05
Inversos	4.56 (2.02)	4.12 (1.56)	288.50	-0.476	.634	-0.24
Trail Making Test A						
Correctas	24.60 (1.61)	24.44 (1.32)	300.00	-1.000	.317	0.11
Error	0.12 (0.33)	0.60 (1.32)	269.00	-1.261	.207	-0.5

Tiempo	92.16(45.35)	98.04 (44.35)	277.50	-0.679	.497	-0.13
Trail Making Test B						
Correctas	21.72 (3.60)	20.12 (4.68)	286.50	-0.894	.371	0.38
Error	2.84 (2.98)	4.40 (3.10)	211.50	-1.979	.048	-0.51
Tiempo	252.24(111.8)	324.16(107.86)	196.50	-2.254	.024	-0.65
Stroop						
P	35.84 (8.56)	35.00 (8.97)	292.00	-0.398	.690	0.1
C	36.24 (8.35)	33.76 (8.15)	245.00	-1.312	.190	0.30
PC	35.80 (4.60)	37.92 (11.26)	310.50	-0.039	.969	-0.25
Interferencia	45.84 (6.59)	50.76 (13.43)	233.50	-1.535	.125	-0.47
Boston	11.52 (2.04)	9.36 (3.08)	179.00	-2.609	.009*	0.83
Famosos	10.88 (4.45)	6.96 (5.80)	179.50	-2.585	.010*	0.8

*p < 0.01

Al comparar los sujetos con EA con los DCL, se observó que los primeros obtuvieron resultados inferiores a los segundos en prácticamente todas las pruebas. Las diferencias estadísticamente significativas más relevantes, con tamaños de efecto grandes, se dieron en pruebas de screening, de lenguaje, de memoria y de denominación.

Tabla 19

Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para los sujetos con EP vs. EA

Pruebas	Grupos		U de Mann-Whitney	Z	p valor	Tamaño de efecto (d)
	EP	EA				
	M (DT)	M (DT)				
MMSE	27.07 (3.10)	23.88 (2.76)	78.00	-3.075	.002*	1.09
MoCA	21.80 (4.80)	16.00 (3.70)	70.50	-3.283	.001*	1.35

Fluidez Fonológica	11.33 (6.80)	11.20 (5.02)	169.00	-0.519	.619	0.02
Fluidez Semántica	16.53 (6.39)	11.48 (3.12)	105.00	-2.313	.021	1.00
Fluidez Verbal	10.47 (3.40)	10.12 (4.39)	170.00	-0.491	.639	0.09
Test del Reloj						
Copia	9.57 (0.90)	8.60 (2.08)	150.00	-1.232	.305	0.60
Orden	9.23 (1.86)	7.72 (2.34)	114.00	-2.225	.040	0.71
CERAD						
Total	13.40 (3.87)	9.20 (3.82)	76.00	-3.130	.001*	1.09
Recuerdo	3.33 (2.56)	0.44 (0.96)	59.50	-3.924	.000*	1.49
Reconocimiento	8.13 (1.60)	7.32 (2.61)	161.50	-0.741	.472	0.67
FCRO						
Copia	30.10 (6.49)	21.60 (13.47)	118.50	-1.935	.053	0.80
Memoria	13.03 (9.11)	2.96 (3.42)	62.50	-3.536	.000*	1.46
Dígitos						
Directos	8.53 (1.73)	7.76 (1.88)	147.00	-1.169	.267	0.43
Inversos	3.73 (2.02)	4.12 (1.56)	154.50	-0.944	.361	-0.22
Trail Making Test A						
Correctas	24.47 (1.25)	24.44 (1.32)	150.00	-2.294	.305	0.023
Error	0.33 (1.05)	0.60 (1.32)	167.00	-0.820	.581	-0.23
Tiempo	96.87 (50.10)	98.04 (44.35)	171.50	-0.447	.659	-0.02
Trail Making Test B						
Correctas	21.67 (5.27)	20.12 (4.68)	87.50	-20158	.004*	0.31
Error	2.20 (2.04)	4.40 (3.10)	107.00	-2.265	.024	-0.84
Tiempo	234.80(120.15)	324.16(107.86)	108.00	-2.227	.026	-0.78
Stroop						
P	33.60 (11.26)	35.00 (8.97)	167.50	-0.560	.581	-0.14

C	36.07 (9.14)	33.76 (8.15)	160.500	-0.756	.455	0.27
PC	37.87 (6.33)	37.92 (11.26)	166.00	-0.602	.562	-0.01
Interferencia	49.13 (6.85)	50.76 (13.43)	186.50	-0.028	.978	-0.15
Boston	11.60 (2.92)	9.36 (3.08)	114.00	-2.063	.040	0.75
Famosos	14.00 (5.55)	6.96 (5.80)	69.00	-3.319	.001*	1.24

*p < 0.01

Al comparar los sujetos con EA con los EP, se observó que los primeros obtuvieron resultados inferiores a los segundos en todas las pruebas excepto en las pruebas que requerían mayor implicación de las funciones ejecutivas. Las diferencias estadísticamente significativas más relevantes, con tamaños de efecto grandes, se dieron en pruebas de screening, de memoria y de denominación

Por tanto, en pacientes con DCL y con EA se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los controles en casi todas las pruebas mientras que, en sujetos con EP, principalmente en las pruebas que median funciones ejecutivas. Al comparar a los pacientes con EA con los sujetos con DCL y con EP las principales diferencias se centraron en screening, memoria y lenguaje.

2. Seguimiento

Para determinar qué tests predicen la evolución de los pacientes con DCL a EA, al cabo de dos años se realizó un seguimiento. Se compararon las medias de los resultados obtenidos por los pacientes que mantuvieron el diagnóstico y los que no, partiendo del hecho de que en el momento de la evaluación todos tenían un diagnóstico de DCL. Se calculó también el tamaño del efecto, usando el criterio descrito por Cohen (1988) a la hora de valorar dicho tamaño: $d = 0,20$ (bajo) $d = 0,50$ (medio) $d \geq 0,80$ (grande) (Tabla 20).

Tabla 20

Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para los sujetos con DCL vs. DCL-EA.

Pruebas	Grupo		U de Mann-Whitney	Z	p valor	Tamaño de efecto (d)
	DCL	DCL-EA				
	M (DT)	M (DT)				
MMSE	27.00 (2.77)	24.75 (1.83)	30.000	-1.790	.082	0.958
MoCA	21.29 (4.20)	17.25 (2.60)	23.500	-2.226	.024*	1.158
Fluidez Fonológica	12.93 (3.10)	10.62 (4.50)	32.000	-1.645	.110	0.598
Fluidez Semántica	16.00 (4.38)	13.75 (4.30)	36.500	-1.346	.188	0.518
Fluidez Verbal	11.43 (5.10)	8.75 (3.54)	39.500	-1.132	.267	0.610
Test del Reloj						
Copia	9.68 (0.70)	8.75 (2.12)	47.000	-0.743	.570	0.589
Orden	9.21 (1.47)	8.50 (1.69)	41.500	-1.153	.330	0.448
CERAD						
Total	12.43 (4.70)	11.00 (1.93)	44.500	-0.827	.441	0.398
Recuerdo	2.07 (2.23)	0.50 (0.53)	34.000	-1.573	.145	0.969
Reconocimiento	7.14 (2.96)	7.00 (2.45)	49.000	-0.485	.664	0.051

FCRO						
Copia	29.29 (6.68)	31.12 (5.19)	47.500	-0.583	.570	-0.306
Memoria	9.64 (8.77)	4.94 (5.62)	38.500	-1.203	.238	0.638
Dígitos						
Directos	8.07 (1.44)	7.12 (1.46)	38.500	-1.602	0.127	0.655
Inversos	4.79 (1.93)	4.12 (2.47)	33.000	-1.078	0.297	0.302
Trail Making Test A						
Correctas	24.29 (2.13)	25.00 (0.00)	44.000	-1.373	0.441	-0.471
Error	0.21 (0.43)	0.00 (0.00)	44.000	-1.376	0.441	0.691
Tiempo	102.21 (47.50)	80.63 (45.49)	38.500	-1.197	0.238	2.593
Trail Making Test B						
Correctas	21.86 (3.74)	20.12 (4.61)	42.500	-0.939	0.365	0.414
Error	2.79 (2.99)	3.50 (3.29)	48.500	-0.524	0.616	-0.226
Tiempo	278.21(117.23)	248.50(130.26)	54.00	-0.137	0.920	0.240
Stroop						
P	34.93 (8.56)	37.00 (9.69)	51.500	-0.308	0.764	-0.226
C	37.93 (9.28)	34.87 (6.49)	39.000	-1.163	0.267	0.382
PC	36.36 (4.11)	34.62 (6.11)	36.500	-1.342	0.188	0.334
Interferencia	45.79 (6.23)	44.50 (7.39)	49.500	-0.446	0.664	2.14
Boston	12.00 (1.92)	11.12 (1.96)	41.500	-1.004	0.330	0.454
Famosos	12.07 (4.78)	8.37 (2.97)	28.000	-1.920	0.059*	0.930

Probablemente debido al pequeño tamaño muestral, la significación estadística es muy reducida. Aún así, se observan tamaños de efecto grandes y diferencias significativas en el MoCA y en la prueba de denominación de personajes Famosos , gran predictor de la demencia.

3. Proteína p53 conformacionalmente alterada

Para determinar si hay diferencias significativas de concentraciones de la proteína p53 conformacionalmente alterada (tabla 21) entre grupos se procedió al Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor (tabla 22).

Tabla 21

Concentración de p53 conformacionalmente alterada para cada grupo evaluado.

Grupo	N	Concentración (ng/ml)
		Media (Desviación típica)
EA	20	11.67 (2.01)
Control EA	20	4.41 (2.66)
DCL	20	7.74 (1.66)
Control DCL	20	4.52 (1.93)
EP	15	9.04 (3.00)
Control EP	15	3.88 (1.91)

Tabla 22

Resultados del ANOVA.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p valor
Entre grupos	904.469	5	180.894	36.824	.000
Dentro de grupos	510.883	104	4.912		
Total	1415.352	109			

La F del ANOVA indica que hay diferencias estadísticamente significativas al menos entre dos grupos para la variable concentración ($F_{5,104}=36.824$, $p<.000$). Para saber entre qué grupos se dan estas diferencias se utilizó el contraste *post-hoc Tukey* (tabla 23), dado que se cumple el supuesto de homocedasticidad y los grupos son del mismo tamaño.

Tabla 23

Resultados del contraste post-hoc de Tukey

Grupo (1)	Grupo (2)	Diferencia medias	Error estándar	p-valor
DCL	EA	-3.92885	0.70088	.000*
	CDCL	3.22200	0.70088	.000*
	EP	-1.29950	0.75704	.524
EA	DCL	3.92885	0.70088	.000*
	CEA	7.25985	0.70088	.000*
	EP	2.62935	0.75704	.010*
EP	DCL	1.29950	0.75704	.524
	EA	-2.62935	0.75704	.010*
	CEP	5.07600	0.80931	.000*

* $p < .05$

El contraste *post-hoc Tukey* demuestra que la cantidad de p53 en sangre es significativamente diferente entre pacientes con DCL y EA; entre pacientes con EA y EP; y entre pacientes con DCL, EA, EP y respectivos controles. Donde no se observan diferencias significativas es entre pacientes con DCL y EP.

4. Seguimiento de la proteína p53 conformacionalmente alterada

Para comprobar si la concentración de la proteína p53 conformacionalmente alterada predice la evolución de los sujetos con DCL a EA, se comparan las medias de las muestras de los pacientes que mantuvieron el diagnóstico y los que evolucionaron a EA, partiendo del hecho de que en el momento de la evaluación todos tenían un diagnóstico de DCL. Se calculó también el tamaño del efecto (Tabla 24).

Tabla 24

Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para comparar la p53 conformacionalmente alterada presente en los pacientes con DCL vs DCL-EA.

	Grupo		U de Mann-Whitney	Z	p valor	Tamaño de efecto (d)
	DCL	DCL-EA				
	M (DT)	M (DT)				
Concentración p53 (ng/ml)	7.15 (1.3)	8.77 (2.11)	18.00	-1.686	.102	-0.92

No se alcanza la significación estadística.

5. Correlación entre marcadores cognitivos y biomarcador

Para analizar la relación entre la proteína p53 conformacionalmente alterada y los distintos test se realizó una correlación de Spearman pues no se cumplían criterios de normalidad (tabla 25).

Tabla 25

Correlaciones entre las pruebas cognitivas realizadas por sujetos con DCL, sujetos con EA y controles; y la concentración de proteína p53 conformacionalmente alterada.

Pruebas	p53	
	Coefficiente de correlación	p-valor
MMSE	-0.658	.000*
MoCA	-0.673	.000*
FF	-0.387	.001*
FS	-0.453	.000*
FV	-0.241	.044*
Test del Reloj		
Copia	-0.334	.005*
Orden	-0.375	.001*
CERAD		
Total	-0.624	.000*
Recuerdo	-0.637	.000*
Reconocimiento	-0.079	.518
FCRO		
Copia	-0.477	.000*
Memoria	-0.639	.000*
Dígitos		

Directo	-0.283	.017
Inverso	-0.207	.086
TMT – A		
Correcto	-0.291	.014*
Errores	0.291	.014*
Tiempo	0.298	.012*
TMT – B		
Correcto	-0.461	.000*
Errores	0.467*	.000*
Tiempo	0.563	.000*
Stroop		
P	-0.248	.038*
C	-0.405	.001*
PC	-0.447	.000*
Interferencia	-0.187	.121
Boston	-0.416	.000*
Famosos	-0.499	.000*

FF: Fluidez Fonológica; FS: Fluidez Semántica; FV: Fluidez Verbal; FCRO: Figura Compleja Rey-Osterrieth; P: Palabras; C: Colores; PC: Palabra-Color.

Parece existir una correlación estadísticamente significativa entre casi todas las pruebas cognitivas y la concentración de p53 en sangre. El subtest de reconocimiento de la Lista de palabras del CERAD ($\rho = -0.079$, $p < .518$), el subtest de dígitos inversos ($\rho = -0.207$, $p < .086$), y la Interferencia del Stroop ($\rho = -0.187$, $p < .121$), no parecen tener relación con la cantidad de biomarcador en sangre. Los signos del coeficiente indican la dirección de la relación; es decir, si el signo es negativo, esto quiere decir que una variable tiende a incrementarse mientras la otra disminuye y si el signo es

positivo, todo lo contrario. Los valores del coeficiente son negativos en todos los casos a excepción de las medidas del tiempo y de los errores. Es decir, cuanto más tiempo empleen y cuantos más errores cometan, más cantidad de biomarcador en sangre tendrán los sujetos.

6. Puntos de corte para el diagnóstico precoz de la EA

Para conseguir el diagnóstico precoz y diferencial entre la EA y el DCL, calculamos los puntos de corte para cada una de las pruebas:

Tabla 26

Punto de corte para el diagnóstico de la EA

Pruebas	Área	p	PC	S	E	VPP	VPN
p53	0.936	.000*	9.25	0.95	0.95	0.95	0.90
MMSE	0.747	.007*	26	0.58	0.85	0.63	0.77
MoCA	0.783	.002*	20.5	0.55	0.95	0.95	1.00
FF	0.615	.213	10.5	0.70	0.50	0.60	0.56
FS	0.769	.004*	13.5	0.70	0.75	0.71	0.74
FV	0.541	.655	10.5	0.50	0.65	0.57	0.59
Test del Reloj							
Copia	0.580	.387	8.5	0.80	0.40	0.67	0.64
Orden	0.671	.064	9.5	0.70	0.60	0.64	0.58
CERAD							
Total	0.715	.020*	9.5	0.95	0.50	0.91	0.66
Recuerdo	0.726	.014*	0.5	0.65	0.80	0.70	0.76
Reconocimiento	0.545	.626	6.5	0.85	0.35	0.70	0.57
FCRO							
Copia	0.768	.004*	30.5	0.75	0.75	0.75	0.75
Memoria	0.738	.010*	6.5	0.55	0.95	0.66	0.91
Dígitos							
Directo	0.546	.617	7.5	0.60	0.60	0.60	0.60

Inverso	0.539	.675	5.5	0.30	0.90	0.56	0.75
TMT – A							
Correcto	0.500	1.00	25	-	-	0.50	0
Errores	0.585	.358	1.5	0.25	0	1.00	0.56
Tiempo	0.570	.449	74	0.70	0.55	0.64	0.73
TMT – B							
Correcto	0.549	.598	20.5	0.95	0.15	0.75	0.53
Errores	0.694	.036*	2.5	0.70	0.65	0.67	0.68
Tiempo	0.704	.027*	233	0.80	0.60	0.67	0.75
Stroop							
P	0.528	.766	34	0.60	0.50	0.56	0.55
C	0.630	.160	33.5	0.75	0.55	0.69	0.63
PC	0.491	.925	33	0.78	0.43	0.64	0.58
Interferencia	0.344	.091	39.5	0.95	0.20	0.80	0.54
Boston	0.754	.006*	9.5	0.80	0.60	0.75	0.67
Famosos	0.739	.010*	4.5	0.95	0.60	0.92	0.70

AUC: área bajo la curva (*area under the curve*), PC: punto de corte; VPP: valor predictivo positivo;

VPN: valor predictivo negativa.

El área bajo la curva es un parámetro para evaluar la bondad de una prueba diagnóstica que produce resultados continuos. Esta área puede interpretarse como la probabilidad de que ante un par de individuos, uno enfermo y el otro sano, la prueba los clasifique correctamente. Existen diferencias estadísticamente significativas entre las áreas correspondientes a la concentración de la proteína p53 conformacionalmente alterada y a las pruebas de screening, memoria, funciones ejecutivas y denominación entre los sujetos con DCL y EA.

Aplicando estos puntos de corte, establecimos el número de pruebas del protocolo de evaluación elaborado en la presente Tesis Doctoral en las que el sujeto debe presentar una baja ejecución y calculamos su valor predictivo positivo -o la capacidad del protocolo para detectar a sujetos con EA frente a los DCL- y negativo -o la capacidad del protocolo para detectar a los sujetos que tienen/mantienen el diagnóstico de DCL (tabla 27).

Tabla 27

Valor predictivo positivo y negativo del protocolo de evaluación neuropsicológica.

	Área	p	PC	S	E	VPP	VPN
Protocolo	0.913	.000*	9,5	1	0.80	0.83	1

AUC: área bajo la curva (area under the curve), PC: punto de corte; VPP: valor predictivo positivo;

VPN: valor predictivo negativa.

DISCUSIÓN

La evidencia neuropsicológica del deterioro simultáneo de ciertas áreas cognitivas permite llegar al diagnóstico diferencial de la EA frente a otras enfermedades neurodegenerativas, al diagnóstico precoz (Guarch et al., 2004), a establecer si el sujeto con DCL evolucionará a EA y/o a sí se mantendrá en una situación estable. Con estas premisas se elaboró un protocolo para evaluar los cinco dominios cognitivos en sujetos con DCL, EA y EP, y así determinar qué pruebas diferencian mejor entre subgrupos. Adicionalmente, se calcularon los puntos de corte de cada una de las pruebas para el diagnóstico diferencial de la EA respecto al DCL -de acuerdo al objetivo de alcanzar el diagnóstico precoz- obteniendo una alta sensibilidad y especificidad.

En nuestra muestra de sujetos con DCL y con EA encontramos diferencias estadísticamente significativas con respecto a los controles en los cinco dominios cognitivos. Esto concuerda con la evidencia cada vez mayor de que los déficits de memoria junto con otros considerados secundarios son mucho más predictivos de la progresión a demencia que los déficits memorísticos por sí solos (Alexopoulos et al., 2006; Bozoki et al., 2001; Brandt et al., 2009; Espinosa et al., 2009; Lonie et al., 2008; Ritchie et al., 2001; Sacuiu et al., 2009; Tabert et al., 2006). En concreto, nosotros encontramos que la ejecución en las pruebas de screening (MMSE y MoCA), de lenguaje (fluidez semántica, test de denominación de Boston) y de memoria (Lista de palabras del CERAD y prueba de denominación de personajes Famosos) no sólo fue significativamente inferior a la de los controles sino que también se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de pacientes, convirtiendo estas pruebas en las posibles mejores indicadoras de progresión de DCL a EA. Del mismo modo, otros estudios han observado que los sujetos con quejas subjetivas de memoria que acaban desarrollando la EA, se caracterizan por una peor ejecución de las funciones intelectuales relacionadas con el lenguaje, la memoria verbal lógica, el aprendizaje asociativo y la memoria visual (Guarch et al., 2008). El rendimiento en atención sostenida, memoria de trabajo y fluidez semántica se conserva, aunque de manera disfuncional con respecto a la normal (Chasles et al., 2020; Guarch et al., 2008; Joubert et al., 2008). En esta línea, en el análisis de las diferencias entre los sujetos que tras el seguimiento al cabo de dos años se mantuvieron estables en el diagnóstico de DCL y los que

evolucionaron a EA encontramos, precisamente, que el MoCA y la prueba de denominación de personajes Famosos son las que mejor predicen dicho tránsito. Adicionalmente, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los EP y los EA para ambas pruebas. Tomando todos estos datos en conjunto se concluye que el MoCA y la prueba de denominación de personajes Famosos no sólo son útiles en el diagnóstico precoz de la EA sino también en el diferencial. Existe evidencia suficiente acerca de la superioridad del MoCA frente al MMSE como prueba de screening y estudios recientes corroboran su capacidad predictora (Julayanont et al., 2014). Respecto a las pruebas de denominación, son especialmente discriminatorias las que implican personajes puesto que la dificultad para recordar los nombres de personas familiares y de personajes famosos es uno de los primeros síntomas de la EA, incluso cuando las pruebas de screening no pueden detectar diferencias (Semenza et al., 2003). Adicionalmente, varias investigaciones han corroborado que esta tarea es la que mejor predice la aparición de la EA en pacientes con DCL (Clague et al., 2011; Estévez-González et al., 2004; García et al., 2020).

Otras pruebas en las que los sujetos con DCL y EA, pero también los pacientes con Parkinson, eran significativamente peores que los controles fueron en las que medían funciones ejecutivas; es decir, en el TMT-B y el Stroop. Blacker et al. (2007) encontraron que el bajo rendimiento en este tipo de pruebas podría ser un predictor de la aparición del DCL en sujetos normotípicos aunque los resultados que hallaron no fueron muy contundentes.

Tomando estos datos en conjunto, Blacker et al (2007) sugieren que, durante la fase prodrómica de la EA, muchos individuos primero desarrollan una dificultad en la memoria episódica para luego continuar con un deterioro en las funciones ejecutivas. Estos resultados son consistentes con la neurobiología conocida hasta ahora de la EA, según la cual, lo que primero se observa es una pérdida neuronal en las regiones fundamentales para la memoria, las áreas mediotemporales (Hyman et al., 1984; Selkoe, 2005).

Respecto a las habilidades visoperceptivas y la memoria visual -medidas principalmente a través de la FCRO- también se vieron afectadas en los tres subgrupos de pacientes. Estos resultados

están en línea con varias investigaciones según las cuales parece que los déficits visoespaciales mejoran potencialmente el diagnóstico de la EA (Salime et al., 2018) -llegado incluso a desarrollarse recientemente una versión digital de dicha prueba (Kim et al., 2020)-, son predictores de conversión del DCL a la EA (Chen et al., 2017; Seo et al., 2018), y se relacionan con el progreso de la EP (Biundo et al., 2013; García-Díaz et al., 2018).

En cuanto a las pruebas de screening, como hemos ido viendo, se obtuvieron diferencias significativas respecto a los controles tanto en los DCL como en las EA para el MMSE y en los DCL, EA y EP para el MoCA. El MMSE es el instrumento de evaluación más empleado en el diagnóstico de la EP a pesar de su falta de validación en dicha población. Diversos estudios han puesto en cuestión la precisión y fiabilidad de esta prueba en pacientes con EP (Athey et al., 2005; Nazem et al., 2009; Zadikoff, et al, 2007) pero se sigue recomendando y empleando como instrumento de screening para la detección de la demencia. El MoCA se desarrolló como un instrumento de screening que superara las limitaciones del MMSE para la evaluación del DCL y EA. De este modo, el MoCA pero no el MMSE tienen propiedades psicométricas adecuadas como instrumento de detección del DCL o demencia en pacientes con EP y EA (Hoops et al., 2009; Nasreddine et al., 2005; Nazem et al., 2009). Hecho que corrobora que sea esta prueba y no el MMSE la que mejor predice en nuestro protocolo la conversión de DCL a EA.

Por su parte, los sujetos con EA también presentaron deterioro en fluidez (fonológica y semántica) y en el test del reloj en comparación con los controles. Si bien varios estudios avalan esta prueba como una excelente herramienta para detectar deficiencias cognitivas, no ayuda a identificar de manera consistente el deterioro cognitivo leve o distinguir entre los distintos tipos de demencia (Nishiwaki et al., 2004). De ahí que en nuestra muestra, las diferencias entre sujetos con DCL y controles no fueran estadísticamente significativas. Respecto a las pruebas de fluidez, diversos estudios han encontrado cómo éstas permiten el diagnóstico diferencial de la EA frente a otras demencias (Canning et al., 2004), muy especialmente la prueba de fluidez semántica (Cerhan et al., 2010; Monsch et al., 1994; Rosser & Hodges, 1994).

En cuanto a los sujetos con EP, se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles en las pruebas que evaluaban las funciones ejecutivas. En concreto, en la FCRO, Dígitos, TMT y Stroop. Si bien la EP ha sido típicamente caracterizada como un trastorno del movimiento, los déficits cognitivos -incluyendo la demencia- son otra característica fundamental de esta enfermedad (Aarsland et al., 2003), siendo el deterioro de las funciones ejecutivas uno de los componentes clave (Dubois & Pillon, 1997; Emre et al., 2007). Tanto es así, que son los déficits cognitivos y no los motóricos los que más impacto tienen en la calidad de vida de estos sujetos (Schrug et al., 2000).

Si bien, una buena evaluación neuropsicológica guía al diagnóstico certero y ayuda en la identificación de pacientes con DCL que evolucionarán a EA, sigue habiendo cierta incapacidad para identificarlos con precisión. Esta situación alimenta el interés en la búsqueda de biomarcadores capaces de complementar los enfoques clínicos.

Los biomarcadores pueden obtenerse a partir de diferentes tejidos o líquidos humanos. Las mediciones en plasma y suero son el método preferido en el ámbito clínico, porque son mínimamente invasivas y se recolectan y procesan fácilmente. Aun así, el descubrimiento de biomarcadores en plasma todavía es limitado porque las diferencias con respecto a los controles son pequeñas y heterogéneas, reflejando un amplio espectro de cambios, no todos necesariamente relacionados con la EA (Humpel, 2011). En este sentido, pudiera ser que el empleo de un único marcador no sea lo suficientemente potente como para mejorar la especificidad del diagnóstico a la hora de distinguir entre distintos perfiles de patologías. En la actualidad se combinan biomarcadores de líquido cefalorraquídeo, pero su uso es limitado debido a la invasividad del proceso de recolección de la muestra. Por ello, se están realizando múltiples investigaciones destinadas a descubrir biomarcadores fiables en sangre. En este marco de referencia, varios grupos de investigación llevan a cabo análisis proteómicos con los que consiguen predecir el diagnóstico de EA hasta con un 60-90% de precisión (Ray et al., 2007; Soares et al., 2009). Sin embargo, con la cuantificación única de la proteína p53 conformacionalmente alterada ya se han obtenido resultados muy positivos. Por ejemplo, Stanga et

al. (2012) a partir de la medición de la p53 predijeron la progresión a la EA en una cohorte de pacientes preclínicos con DCL antes de que fuera evidente el diagnóstico de la demencia, con un 85.5% de precisión. Distintos estudios en células sanguíneas han encontrado la capacidad de dicha proteína para discriminar entre sujetos con EA y controles, sujetos con EP y sujetos con otras demencias (Davies et al., 1988; Lanni et al., 2008, Uberti et al., 2006). En esta línea, en nuestro estudio se procedió a cuantificar la cantidad de proteína p53 conformacionalmente alterada, mediante el novedoso uso de biosensores electroquímicos, en una submuestra de pacientes con DCL, EP, EA y respectivos controles. Sin embargo, si bien se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo Alzheimer y el resto de submuestras, no se encontraron entre las concentraciones del DCL y de la EP. Era de esperar que, si la proteína p53 conformacionalmente alterada es tan específica de la EA, los sujetos con DCL tuvieran niveles más altos del biomarcador que los pacientes con EP y éstos no presentarían diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles, tal y como se ha encontrado en estudios previos (Lanni et al., 2008). Analizando con detalle las muestras de los sujetos con EP, se pueden observar dos grupos de concentraciones bastante diferentes entre sí, uno -compuesto por 5 sujetos- en torno de los 12.92 ng/ml y otro -compuesto por 10 sujetos- en torno a los 7.17 ng/ml. Atendiendo a la edad o al perfil neuropsicológico de estos subgrupos de pacientes, no hay ninguna característica capaz de justificar cantidades tan dispares entre sujetos. Es decir, los pacientes con mayores cantidades de proteína p53 conformacionalmente alterada no eran ni los más mayores ni los cognitivamente más deteriorados, a diferencia de lo que ocurría con los pacientes de Alzheimer. Si bien será necesaria más investigación, con grupos de pacientes más grandes, para poder llegar a comprender el comportamiento de esta proteína en la muestra de pacientes con Parkinson, algunas de las posibles causas podrían ser: 1) el grado de gravedad de la EP; 2) el grado de estrés oxidativo en el cerebro versus el de la periferia del organismo. La proteína p53 conformacionalmente alterada que se mide es un marcador de estrés oxidativo pero no se sabe si lo que se detecta en la sangre es un buen indicador de la que se produce en el cerebro. Adicionalmente, es posible que el proceso oxidativo sea más relevante -pero no abundante- en el cerebro, lo cual favorecería la aparición

de síntomas de EP sin cambios en el plasma y aumentaría la variabilidad; 3) la fragilidad de las neuronas dopaminérgicas puede ser mayor que la de las neuronas piramidales del hipocampo y que las colinérgicas del núcleo basal de Meynert, porque el metabolismo de la dopamina puede producir radicales hidroxilo, uno de los responsables del estrés oxidativo; 4) la dieta y el entorno podrían ser otros factores relevantes. Por ejemplo, el hierro en su versión más reducida (Fe^{2+}) es un factor determinante en la formación de radicales hidroxilo en el metabolismo de la dopamina; 5) la actividad de las enzimas antioxidantes que eliminan los radicales hidroxilo podría ser también diferente en grupos de poblaciones tanto por genética como por epigenética (dieta y entorno). Por otra parte, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los sujetos con DCL que se mantuvieron estables y los que evolucionaron a EA al cabo de dos años, probablemente a causa del pequeño tamaño muestral ya que, de hecho, los niveles del biomarcador eran más altos en los que evolucionaron a EA.

Tomados en conjunto, nuestros datos parecen apuntar a que la proteína p53 conformacionalmente alterada se trata, más bien, de un marcador de estrés oxidativo. En esta línea, Tonello et al. (2019) encontraron que en distintas condiciones de estrés oxidativo, la p53 conformacionalmente alterada siempre estaba presente. Otro dato a favor es que el estrés oxidativo, junto a los factores genéticos, la agregación de proteínas y ciertas condiciones ambientales, son los factores que inducen el desarrollo de una u otra enfermedad neurodegenerativa (Angoa & Rivas, 2007).

Por otra parte, merece mención especial el método de medición empleado en la presente Tesis Doctoral para la cuantificación de la p53 anómala. Mientras que la mayoría de investigadores emplean técnicas bioquímicas para la medición de los biomarcadores, tales como la ELISA, los biosensores electroquímicos empleados en esta investigación superan en ventajas a estas técnicas. Estos instrumentos combinan la selectividad del reconocimiento bioquímico y la alta sensibilidad de detección electroquímica. Estas características junto con sus numerosas aplicaciones comerciales, especialmente conocidas para el caso de la glucosa (Amor-Gutiérrez et al., 2017) y su rapidez en la

obtención de resultados, confirman sus atractivas ventajas. Los biosensores comenzaron a utilizarse a partir de 1977 y desde entonces, el desarrollo de estos mecanismos ha estado centrado principalmente en el campo del diagnóstico clínico -aunque también existe un creciente interés en los campos medioambiental, químico, farmacéutico y militar (González-Rumayor et al., 2005). Una de estas aplicaciones clínicas sería el diagnóstico precoz de la EA. El uso de los biosensores electroquímicos en combinación con el protocolo de evaluación neuropsicológico permitiría obtener importantes conclusiones diagnósticas en un tiempo que no excedería la hora de duración. Las correlaciones negativas estadísticamente significativas entre las pruebas de protocolo y la concentración de p53 vienen a indicar que a peor ejecución, mayor cantidad de biomarcador y mayor deterioro cognitivo.

Por último, señalar las principales limitaciones del presente trabajo. En primer lugar, el pequeño tamaño muestral del grupo de sujetos con Parkinson en comparación con el de Alzheimer y Deterioro Cognitivo Leve. No fue sencillo encontrar pacientes que cumplieran con los requisitos y que, adicionalmente, aceptaran a participar en un estudio cuyos resultados no estaban orientados a la mejora de su enfermedad. En este punto fue crucial la labor de motivación del neurólogo y la conciencia social de cada uno de los participantes. En segundo lugar, el cambio de metodología. Inicialmente, iban a cuantificarse la p53 conformacionalmente alterada junto con las enzimas oxidativas catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa mediante técnicas bioquímicas en Italia. La finalización del proyecto vinculante forzó una reestructuración de la tesis optando por la medición exclusiva de la p53 conformacionalmente alterada mediante una técnica electroquímica que en ese momento aún estaba en proceso de desarrollo. En tercer lugar, la pandemia y el confinamiento. Al cerrarse los laboratorios y paralizarse todo el país durante 3 meses, hubo que posponer las últimas mediciones. De este modo, de las 148 nuestras -entre pacientes y controles-, finalmente sólo se midieron 80. Consecuencia de esto, como hemos discutido, presuponemos que la falta de potencia estadística en algunos de los resultados esté mediada por el pequeño tamaño muestral.

En un futuro, sería interesante: 1) continuar con el seguimiento de los pacientes con Deterioro

Cognitivo Leve y estudiar la evolución conjunta del deterioro cognitivo y el biomarcador; 2) llevar a cabo las mediciones de enzimas oxidativas y, en general, de marcadores de estrés oxidativo, correlacionando los resultados con los marcadores cognitivos; 3) incorporar un grupo de religiosos, siguiendo la línea del ya famoso “Estudio de las Monjas” de David Snowdon en 1986. El estilo de vida homogéneo de estas personas elimina o permite controlar de manera eficaz cualquier posible interacción de las variables ambientales que puedan contaminar los resultados del estudio del deterioro cognitivo; 4) profundizar el estudio sobre la proteína p53 conformacionalmente alterada en los enfermos con Parkinson y, finalmente, 4) incluir otras enfermedades neurodegenerativas.

CONCLUSIONES

Las principales conclusiones que se pueden derivar de esta investigación son las siguientes:

1. De entre todas las pruebas incluidas en el protocolo de evaluación neuropsicológica, dos predicen la evolución del Deterioro Cognitivo Leve a la enfermedad de Alzheimer: el MoCA y la prueba de denominación de personajes Famosos.
2. Las pruebas que permiten un diagnóstico diferencial de la enfermedad de Alzheimer con respecto al Deterioro Cognitivo Leve y la enfermedad de Parkinson son las pruebas de screening, memoria y denominación.
3. La prueba de denominación de personajes Famosos se manifiesta como imprescindible en cualquier protocolo de evaluación al predecir la transición entre Deterioro Cognitivo Leve y enfermedad de Alzheimer y al obtenerse resultados estadísticamente significativos entre Deterioro Cognitivo Leve y enfermedad de Alzheimer, entre enfermedad de Parkinson y Alzheimer, y entre cada una de las patologías y sus respectivos controles.
4. La proteína p53 conformacionalmente alterada podría ser un biomarcador del estrés oxidativo, más que de una enfermedad específica.
5. La determinación de los niveles plasmáticos de la proteína p53 conformacionalmente alterada podría ser útil en la identificación de un mayor riesgo de desarrollar enfermedades relacionadas con estrés oxidativo y la aplicación de una profilaxis temprana.
6. La proteína p53 conformacionalmente alterada correlaciona negativamente con todas las pruebas del protocolo para los sujetos con Deterioro Cognitivo Leve y enfermedad de Alzheimer, indicando que a peor ejecución, mayor deterioro y más cantidad de biomarcador.
7. La aplicación combinada de la evaluación neuropsicológica y la bio-electroquímica permite una evaluación rápida, diferencial y precoz.

REFERENCIAS

- Aarsland, D., Andersen, K., Larsen, J., & Lolk, A. (2003). Prevalence and characteristics of dementia in Parkinson Disease. An 8-year prospective study. *Archives of Neurology*, 60(3), 387-392. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.3.387>
- Abramov, E., Dolev, I., Fogel, H., Ciccotosto, G.D., Ruff, E., & Slutsky, I. (2009). Amyloid- β as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nature Science*, 12, 1567-1576. <https://doi.org/10.1038/nn.2433>
- Abdi, F., Quinn, J.F., Jankovic, J., McIntosh, M., Leverenz, J.B., Peskind, E., Nixon, R., Nutt, J., Chung, K., Zabetian, C., Samii, A., Lin, M., Hattan, Pan, C., Wang, Y., Jin, J., Zhu, D., Li, G.J., Liu, Y.,... Zhang J. (2006) Detection of biomarkers with a multiplex quantitative proteomic platform in cerebrospinal fluid of patients with neurodegenerative disorders. *Journal of Alzheimer's Disease*, 9(3), 293-348. <https://doi.org/10.3233/jad-2006-9309>
- Ahmed, S., Haigh, A-M.F., de Jager, C.A., & Garrard, P. (2013). Connected speech as a marker of disease progression in autopsy-proven Alzheimer's disease. *Brain*, 136, 3727-3737. <https://doi.org/10.1093/brain/awt269>
- Ahtiluoto, S., Polvikoski, T., Peltonen, M., Solomon, A., Tuomilehto, J., Winblad B, Sulkava, R., & Kivipelto, M. (2010). Diabetes, Alzheimer disease, and vascular dementia: A population-based neuropathologic study. *Neurology*, 75(13), 1195–202. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181f4d7f8>.
- Akhtar, M.W., Sanz-Blasco, S., Dolatabadi, N., Parker, J., Chon, K., Lee, M.S., Soussou, W., McKercher, S.R., Ambasudhan, R., Nakamura, T., & Lipton, S.A. (2016). Elevated glucose and oligomeric β -amyloid disrupt synapses via a common pathway of aberrant protein S-nitrosylation. *Nature Communications*, 7, 10242. <https://doi.org/10.1038/ncomms10242>
- Alberca, R. & López-Pousa, S. (2006). *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Albert, M.S., Moss, M.B., Tanzi, R., & Jones, K. (2001). Preclinical prediction for AD using neuropsychological tests. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 7(5), 631-639. <https://doi.org/10.1017/s1355617701755105>.
- Alcolea, D., Martínez-Lage, P., Izaguirre, A., Clerigué, M., Carmona-Iragui, M., Alvarez, R.M., Fortea, J., Balasa, M., Morenas-Rodríguez, E., Lladó, A., Grau, O., Blenow, K., Lleó, A., Molinuevo, J.L. (2014). Feasibility of Lumbar Puncture in the Study of Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Alzheimer's Disease: A Multicenter Study in Spain. *Journal of Alzheimer's Disease*, 39(4), 719-126. <https://doi.org/10.3233/JAD-131334>.
- Alegret, M., Peretó, M., Pérez, A., Valero, S., Espinosa, A., Ortega, G., Hernández, I., Mauleón, A., Rosende-Roca, M., Vargas, L., Rodríguez-Gómez, O., Abdelnour, C., Berthier, M.L., Bak, T.H., Ruíz, A., Tárraga, L., & Boada, M. (2018). *Journal of Alzheimer's disease*, 62(2), 611-619. <https://doi.org/10.3233/JAD-170826>
- Alexopoulos, P., Grimmer, T., Pernecky, R., Domes, G., & Kurz, A. (2006). Progression to dementia in clinical subtypes of mild cognitive impairment. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 22(1), 27-34. <https://doi.org/10.1159/000093101>.
- American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th edition)*. Arlington, Va.: American Psychiatric Publishing; 2013.

- Amor-Gutiérrez, O., Costa-Rama, E., Arce Varas, N., Martínez Rodríguez, C., Novelli Ciotti, A., Fernández Sánchez, M.T. & Costa García, A. (2019). Competitive electrochemical immunosensor for the detection of unfolded p53 protein in blood as biomarker for Alzheimer's disease. *Analytica Chimica Acta*, 1093, 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.09.042>
- Amor-Gutiérrez, O., Costa-Rama, E., Costa-García, A. & Fernández-Abedul, M.T. (2017). Based maskless enzymatic sensor for glucose determination combining ink and wire electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*, 93, 40-45. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.11.008>
- Angoa Pérez, M., & Rivas Arancibia, S. (2007). Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿Causa o consecuencia? *Archivos de Neurociencia (México, D.F.)*, 12(1), 45-54.
- Anstey, K.J., von Sanden, C., Salim, A. & O’Kearney, R. (2007). Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: A meta-analysis of prospective studies. *American Journal of Epidemiology*, 166(4), 367–378.
- APA. (2009). *Publication Manual of the American Psychological Association* (6th edition). Washington, DC: American Psychological Association.
- Arango-Lasprilla, J.C., Cuetos, F., Valencia, C., Uribe, C., & Lopera, F. (2007) Cognitive changes in the preclinical phase of familial Alzheimer’s disease. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 29, (8), 892-900. <https://doi.org/10.1080/13803390601174151>
- Arce-Varas, N., Abate, G., Prandelli, C., Martínez, C., Cuetos, F., Menéndez, M., Marziano, M., Cabrera-García, D., Fernández-Sánchez, M.T., Novelli, A., Memo, M., & Uberti, D. (2017). Comparison of extracellular and intracellular blood compartments high-lights redox alterations in Alzheimer’s and Mild Cognitive Impairment patients. *Current Alzheimer Research*, 14, 1-11. <https://doi.org/10.2174/1567205013666161010125413>.
- Arroyo, E. (2002). *Estimulación psicocognoscitiva en las demencias*. Barcelona, España: Proas Science.
- Arroyo-Anlló, E.M., Lorber, Rigaleau, F., & Gil, R. (2011). Verbal fluency in Alzheimer’s disease and Aphasia. *Dementia*, 11(1), 5-18. <https://doi.org/10.1177/1471301211416609>
- Ashendorf, L., Jefferson, A.L., O’Connor, M.K., Chaisson, C., Green, R.C., & Stern, R.A. (2008). Trail Making Test errors in normal aging, mild cognitive impairment, and dementia. *Archives of Clinical Neuropsychology* 23, 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.acn.2007.11.005>
- Athey, R.J., Porter, R.W., & Walker, R.W. (2005). Cognitive assessment of a representative community population with Parkinson’s disease (PD) using the Cambridge Cognitive Assessment–Revised (CAMCOG-R). *Age Ageing*, 34, 268 –273. <https://doi.org/10.1093/ageing/afi098>
- Bäckman, L., Andersson, J.L.R., Nyberg, L., Winblad, B., Nordberg, A., & Almvist., O. (1999). Brain regions associated with episodic retrieval in normal aging and Alzheimer’s disease. *Neurology*, 52, 1861-1870.
- Bäckman, L., Jones, S., Berger, A.-K., Laukka, E.J., & Small, B.J. (2004). Multiple cognitive during the transition to Alzheimer’s disease. *Journal of Internal Medicine*, 256 (3), 195-204. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01386.x>

- Bäckman, L. & Small, B.J. (1998). Influences of cognitive support on episodic remembering: tracing the process of loss from normal aging to Alzheimer's disease. *Psychology and aging*, 13(2), 267-276. <https://doi.org/10.1037//0882-7974.13.2.267>
- Backman, L., Small, B., & Fratiglioni, L. (2001). Stability of preclinical episodic memory deficit in Alzheimer's disease. *Brain*, 124, 96-102. <https://doi.org/10.1093/brain/124.1.96>.
- Baudic, S., Dalla Barba, G., Thibaudet, M.C., Smagghe, A., Remy, P., & Traykow, L. (2006). Executive function deficits in early Alzheimer's disease and their relations with episodic memory. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 21(1), 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.acn.2005.07.002>
- Bagby, R.M., Ryder, A.G., Schuller, D.R., & Marshall, M. (2004). The Hamilton depression scale: has the gold standard become a lead weight? *The American Journal of Psychiatry*, 1, 2163-2177. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.12.2163>
- Bales, K.R., Verina, T., Dodel, R.C., Du, Y., Altstiel, L., Bender, M., Hyslop, P., Johnstone, E.M., Little, S.P., Cummins, D.J., Piccardo, P., Ghetti, B., & Paul, S.M. (1997). Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid beta-peptide deposition. *Natural Genetics*, 17(3), 263-264. <https://doi.org/10.1038/ng1197-263>.
- Ball, K., Berch, D.B., Helmers, K.F., Jobe, J.B., Leveck, M.D., Marsiske, M., Morris, J.N., <rebok, G.W., Smith, D.M., Tennstedt, S.L., Unverzagt, F.W., & Willis, S.L. (2002). Effects of cognitive training interventions with older adults: A randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association*, 288(18), 2271–81. 57. <https://doi.org/10.1001/jama.288.18.2271>
- Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D., & Jones, E. (2011). Alzheimer's disease. *Lancet*, 377(9770), 1019-1031. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61349-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61349-9)
- Barberger-Gateau, P., Letenneur, L., Deschamps, V., Pérès, K., Dartigues, J.F., & Renaud, S. (2002). Fish, meat, and risk of dementia: cohort study. *British Medical Journal*, 325 (7370), 932-3. <https://doi.org/10.1136/bmj.325.7370.932>
- Baxter, D.M., & Warrington, E.K. (1985). Category-specific phonological dysgraphia. *Neuropsychologia*, 23, 653-666. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(85\)90066-1](https://doi.org/10.1016/0028-3932(85)90066-1)
- Beck, A.T. (1972). Measuring depression: the depression inventory. In: Williams, T.A., Katz, M.M., Shields, J.A. (Eds.), *Recent Advances in the Psychobiology of the Depressive Illnesses*. U.S. Government Printing Office, Washington, DC, 209–301.
- Beck, A.T. & Bemesderfer, J. (1974). Assessment of depression: the depression inventory. In: Pichot, P. (Ed.), *Modern Problems in Pharmacopsychiatry*. Karger, Basel, Switzerland, 151–169. <https://doi.org/10.1159/000395074>
- Beck, I.R., Gagneux-Zurbriggen, A., Taylor, K.I. & Monsch, A.U. (2012). Comparison of Verbal Episodic Memory Measures: Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's disease – Neuropsychological Assessment Battery (CERAD-NAB) versus California Verbal Learning Test (CVLT). *Archives of Clinical Neuropsychology*, 27(2), 510-609. <https://doi.org/10.1093/arclin/acs056>.

- Beck, A.T., Steer, R.A. & Garbin, M.G. (1988). Psychometric properties of the Beck depression inventory: twenty-five years of evaluation. *Clinical Psychology Review*, 8, 77-100. [https://doi.org/10.1016/0272-7358\(88\)90050-5](https://doi.org/10.1016/0272-7358(88)90050-5)
- Beekman, A.T., De Beurs, E., Van Balkom, A.J., Deeg, D.J. & Van Dyck, R., (2000). Anxiety and depression in later life: co-occurrence and communality of risk factors. *The American Journal of Psychiatry*, 157, 89–95. <https://doi.org/10.1176/ajp.157.1.89>
- Beeson, P.M., Holland, A.L., & Murray, L.L. (1997). Naming famous people: an examination of tip-of-the-tongue phenomena in aphasia and Alzheimer's disease. *Aphasiology*, 11(4), 323-336. <https://doi.org/10.1080/02687039708248474>
- Bekris, L.M., Yu, C.E., Bird, T.D., & Tsuang, D.W. (2010). Genetics of Alzheimer disease. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23(4), 213–227. <https://doi.org/10.1177/0891988710383571>
- Benedet, M.J. & Alejandre, M.A. (2014). *Test de Aprendizaje Verbal España-Complutense*. Madrid: TEA Ediciones.
- Benton, S.A. (1992). *Benton Visual Retention Test*. San Antonio TX: Psychological Corporation.
- Bermejo-Pareja, F. & del Ser-Quijano, T. (1994). La graduación de las demencias y su estudio evolutivo. En del Ser T, Peña-Casanova J, eds. *Evaluación neuropsicológica y funcional de la demencia*. Barcelona: JR Prous.
- Bertram, L., Blacker, D., Mullin, K., Keeney, D., Jones, J., Basu, S., Yhu, S., McInnis, M.G., Go., R.C., Vekrellis, K., Selkoe, D.J., Saunders, A.J., & Tanzi, R.E. (2000). Evidence for Genetic Linkage of Alzheimer's Disease to Chromosome 10q. *Science*, 290, 2302-2303. <https://doi.org/10.1126/science.290.5500.2302>.
- Biessels, G.J., Staekenborg, S., Brunner, E., Brayne, C. & Scheltens, P. (2006). Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *The Lancet Neurology*, 5(2), 113. [10.1016/S1474-4422\(05\)70284-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70284-2). [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(05\)70284-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70284-2).
- Binegar, D.L., Hynan, L.S., Lacritz, L.H., Weiner, M.F., & Cullum, C.M. (2009). Can a direct IADL measure detect déficits in persons with MCI? *Current Alzheimer Research*, 6, 48-51.
- Binetti, G., Cappapa, S.F., Magni, E., Padovani, A., Bianchetti, A., & Trabucchi, M. (1996). Disorders of visual and spatial perception in the early stage of Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 777(1), 221-225. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb34422.x>
- Biogen and Eisai to discontinue phase 3 engage and emerge trials of aducanumab in Alzheimer's disease. (21 de marzo de 2019). *Globe newswire*. Recuperado de <https://www.globenewswire.com/news-release/2019/03/21/1758398/0/en/Biogen-and-Eisai-to-Discontinue-Phase-3-ENGAGE-and-EMERGE-Trials-of-aducanumab-in-Alzheimer-s-Disease.html>
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. (2001). *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 69, 89-95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>

- Biundo, R., Weis, L., Pilleri, M., Facchini, S., Formento-Dojot, P., Vallelunga, A., & Antonini, A. (2013). Diagnostic and screening power of neuropsychological testing in detecting mild cognitive impairment in Parkinson's disease. *Neurology and Preclinical Neurological Studies*, 120, 627-633. <https://doi.org/10.1007/s00702-013-1004-2>
- Blacker, D., Lee, H., Muzikasky, A., Martin, E.C., Tanzi, R., McArdle, J.J., Moss, M., & Albert, M. (2007). Neuropsychological measures in normal individuals that predict subsequent cognitive decline. *Archives of neurology*, 64(6), 862-871. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.6.862>.
- Blennow K. (2004). Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *NeuroRX*, 1, 213-25. <https://doi.org/10.1602/neurorx.1.2.213>.
- Blennow, K., Hampel, H., Weiner, M., & Zetterberg, H. (2010) Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 6, 131–44. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.4>.
- Blesa, R., Pujol, M., Aguilar, M., Santacruz, P., Bertran-Serra, I., Hernández, G., Sol, J.M., & Peña-Casanova, J., (2001). Clinical Validity of the “Mini-Mental State” for Spanish speaking communities. *Neuropsychologia*, 39, 1150-1157. [https://doi.org/10.1016/s0028-3932\(01\)00055-0](https://doi.org/10.1016/s0028-3932(01)00055-0).
- Boada, M., Antúnez, C., Ramírez-Lorca, R., DeStefano, A.L., González-Pérez, A., Gayán, J., López-Arrieta, J., Ikram, M.A, Hernández, I., Marín, J., Galán, J.J., Bis, J.C., Mauleón, A., Rosende-Roca, M., Moreno-Rey, C., Gudnasson, V., Morón, F.J., Velasco, J., Carrasco, ... Ruíz, A. (2014). ATP5H/KCTD2 locus is associated with Alzheimer's disease risk. *Molecular Psychiatry*, 19, 682-687. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.86>
- Bookheimer, S.Y., Strojwas, M.H., Cohen, M.S., Saunders, A.M., Pericak-Vance, M.A., Mazziotta, J.C., & Small, G.W. (2000). Patterns of Brain Activation in People at Risk for Alzheimer's Disease. *The New England journal of medicine*, 343 (7), 450-456. <https://doi.org/10.1056/NEJM200008173430701>.
- Borchelt, D.R., Thinakaran, G., Eckman, C.B., Lee, M.K., Davenport, F., Ratovitsky, T.,..., Sisodia, S.S. (1996). Familial Alzheimer's Disease–Linked Presenilin 1 Variants Elevate A β 1–42/1–40 Ratio In Vitro and In Vivo. *Neuron*, 17 (5), 1005-1013
- Bozoki, A., Giordani, B., Heidebrink, J. L., Berent, S., & Foster, N. L. (2001). Mild cognitive impairments predict dementia in nondemented elderly patients with memory loss. *Archives of Neurology*, 58(3), 411-416. <https://doi.org/10.1001/archneur.58.3.411>.
- Braak, H. & Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta neuropathologica*, 82, 239-259. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>
- Brandt, J., Aretouli, E., Neijstrom, E., Samek, J., Manning, K., Albert, M. S., & Bandeen-Roche, K. (2009). Selectivity of executive function deficits in mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 23(5), 607-618. <https://doi.org/10.1037/a0015851>
- Bredart, S. (1993). Retrieval failures in face naming. *Memory*, 1(4), 351-366.
- Brody, H. & Luscombe, G. (1996). Studies on affective symptoms and disorders: depression in persons with dementia. *International Psychogeriatrics*, 8, 609–622. <https://doi.org/10.1017/S104161029600292X>

- Bublak, P., Redel, P., Sorg, C., Kurz, A., Förstl, H., Müller, H.J., Schneider, W.X., & Finke, K. (2011). Staged decline of visual processing capacity in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 32(7), 1212-123. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.07.012>
- Budson, A.E., & Solomon, P.R. (2012). New criteria for Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment. Implications for the Practicing Clinician. *Practical Neurology*, 12, 88-96. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2011-000145>
- Buizza, L., Cenini, G., Lanni, C., Ferrari-Toninelli, G., Prandelli, C., Govoni, S., Buoso, E., Racchi, M., Barcikowska, M., Styczynska, M., Szybinska, A., Butterfield, D.A., Memor, M. & Uberti, D. (2012). Conformational altered p53 as an early maker of oxidative stress in Alzheimer's disease. *PLoS One*, 7(1), 29789. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029789>
- Bullmore, E.T. & Sporns, O. (2009). Complex brain networks: Graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(3), 186-198. <https://doi.org/10.1038/nrn2575>
- Burke, D.D., MacKay, D.G., Worthley, J.S. & Wade, E. (1991). On the tip of the tongue: what causes word finding failures in young and older adults? *Journal of Memory and Language*, 30(5), 542-579. [https://doi.org/10.1016/0749-596X\(91\)90026-G](https://doi.org/10.1016/0749-596X(91)90026-G)
- Busse, A., Angermeyer, M. C., & Riedel-Heller, S. G. (2006). Progression of Mild Cognitive Impairment to dementia: a challenge to current thinking. *British Journal of Psychiatry*, 189, 399-404.
- Byers, A. & Yaffe, K. (2011). Depression and risk of developing dementia. *Nature Reviews Neurology*, 7, 323-331.
- Cacho, J., García-García, R., Arcaya, J., Vicente, J.L. & Lantada, N. (1999). Una propuesta de aplicación y puntuación del test del reloj en la enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*, 28(7), 648-655. <https://doi.org/10.33588/rn.2807.98501>
- Cai, Z., Hussain, M.D., & Yan, L.J. (2014). Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *International Journal of Neuroscience*, 124(5), 307-321. doi: 10.3109/00207454.2013.833510
- Canning, S.J.D., Leach, L., Stuss, D., Ngo, L., & Black, S.E. (2004). Diagnostic utility of abbreviated fluency measures in Alzheimer disease and vascular dementia. *Neurology*, 62(4), 556-562. <https://doi.org/10.1212/WNL.62.4.556>
- Cannon-Albright, L.A., Foster, N.L., Schliep, K., Farnham, J.M., Teerlink, C.C., Kaddas, H., Tschanz, J., Corcoran, C., Kauwe, J.S.K. (2019). Relative risk for Alzheimer disease based on complete family history. *Neurology*, 92(15), 1745-1753. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000007231>
- Caramazza, A. & Hillis, A.E. (1991). Lexical organization of nouns and verbs in the brain. *Nature*, 349, 788-790.

- Carnero-Pardo, C. & Lendínez-González, A. (1999). The utility of the semantic verbal fluency test in diagnosis of dementia. *Revista de neurología*, 29(8), 709-714. <https://www.researchgate.net/publication/283755944>
- Casanova, P., Casanova, P. & Casanova, C. (2004). La memoria: introducción al estudio de los trastornos cognitivos en el envejecimiento normal y patológico. *Revista de Neurología*, 38, 469-72.
- Cenini, G., Sultana, R., Memo, M. y Butterfield, D.A. (2008). Elevated levels of pro-apoptotic p53 and its oxidative modification by lipid peroxidation product, HNE, in brain from subjects with amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 12 (3), 987-994. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00163.x>
- Cerami, C., Della Rosa, P.A., Magnani, G., Santangelo, R., Marcone, A., Cappa, S.F., & Perani, D. (2015). Brain metabolic maps in Mild Cognitive Impairment predict heterogeneity of progression to dementia. *NeuroImage: clinical*, 7, 187-194. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nicl.2014.12.004>
- Cerhan, J.H., Ivnik, R.J., Smith, G.E., Tangalos, E.C., Petersen, R.C., & Boeve, B.F. (2002). Diagnostic utility of letter fluency, category fluency and fluency difference scores in Alzheimer's disease. *The clinical Neuropsychologist*, 16(1), 35-42. <https://doi.org/10.1076/clin.16.1.35.8326>
- Chapman, S.B., Weiner, M.F., Rackley, A., Hynan, L.S. & Zientz, J. (2004). Effects of cognitive-communication stimulation for Alzheimer's disease patients treated with donepezil. *Journal of Speech, Language and Hearing Research*, 47(5), 1149-1163. [https://doi.org/10.1044/1092-4388\(2004/085\)](https://doi.org/10.1044/1092-4388(2004/085)).
- Chapman, S.B., Zientz, J., Weiner, M., Rosenberg, R., Frawley, W. & Burns, M.H. (2002). Discourse Changes in Early Alzheimer Disease, Mild Cognitive Impairment, and Normal Aging. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 16(3), 177-186.
- Chasles, M.J., Tremblay, A., Escudier, F., Lajeunesse, A., Benoit, S., Langlois, R., Joubert, S., & Rouleau, I. (2020). An examination of semantic impairment in amnesic MCI and AD: What can we learn from verbal fluency? *Archives of Clinical Neuropsychology*, 35(1), 22–30. <https://doi.org/10.1093/arclin/acz018>
- Chen, Y., Denny, K.G., Harvey, D., Farias, S.T., Mungas, D., DeCarli, C., & Beckett, L. (2017). Progression from normal cognition to mild cognitive impairment in a diverse clinic-based and community-based elderly cohort. *Alzheimer's & Dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, 13(4), 399-405. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.07.151>
- Cheng, D., Noble, J., Tang, M.X., Schupf, N., Mayeux, R. & Luchsinger JA. (2011). Type 2 diabetes and late-onset Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 31(6), 424–30.
- Cherrier, M.M., Mendez, M.F., Mohak, D., & Perryman, K.M. (1999). Performance on the Rey-Osterrieth Complex Figure test in Alzheimer disease and vascular dementia. *Neuropsychiatry, Neuropsychology, & Behavioral Neurology*, 12(2), 95–101.
- Cherry, K. E. & Simmons-D'Gerolamo, S. S. (2005). Long-term effectiveness of spaced-retrieval memory training for older adults with probable Alzheimer's disease. *Experimental Aging Research*, 31(3), 261-289. <https://doi.org/10.1080/03610730590948186>

- Chetelat, G. & Baron, J-C. (2003). Early diagnosis of Alzheimer's disease: contribution of structural neuroimaging. *Neuroimage* 18(2), 525-241. [https://doi.org/10.1016/s1053-8119\(02\)00026-5](https://doi.org/10.1016/s1053-8119(02)00026-5).
- Chikae, M., Idegami, K., Kermana, K., Nagatani, N., Ishikawa, M., Takamura, Y., & Tamiya, E. (2006). Direct fabrication of catalytic metal nanoparticles onto the surface of a screen-printed carbon electrode. *Electrochemistry Communications*, 8(8), 1375-1380. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2006.06.019>
- Choi, H.W., Tian, M., Manohar, M., Harraz, M.M., Park, S.-W., Schroeder, F.C., Snyder, S.H., & Klessig, D.F. (2015). Human GAPDH is a target of Aspirin's primary metabolite salicylic acid and its derivatives. *PLoS One*, 10(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143447>
- Citron, M., Westaway, D., Xia, W., Carlson, G., Diehl, T., Levesque, G., Johnson-Wood, K., Lee, M., Seubert, P., Davis, A., Kholodenko, D., Motter, R., Sherrington, R., Perry, B., Yao, H., Strome, R., Lieberburg, I., Rommens, J., Kim, S.,.... & Selkoe, D.J. (1997). Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid bold beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nature Medicine*, 3, 67-72. <https://doi.org/10.1038/nm0197-67>
- Clague, F., Graham, K.S., Thompson, S.A., & Hodges, J.R. (2011). Is knowledge of Famous People compromised in Mild Cognitive Impairment? *Cognitive and Behavioral Neurology*, 24(3), 134-144. <https://doi.org/10.1097/WNN.0b013e318234315a>
- Clare, L., Wilson, B. A., Carter, G., Breen, K., Gosses, A. & Hodges, J. R. (2000). Intervening with everyday memory problems in dementia of Alzheimer type: an errorless learning approach. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 22(1), 132-146. [https://doi.org/10.1076/1380-3395\(200002\)22:1;1-8;FT132](https://doi.org/10.1076/1380-3395(200002)22:1;1-8;FT132).
- Clare, L., Wilson, B., Carter, G., Hodges, J. & Adams, M. (2001). Long-term maintenance of treatment gains following a cognitive rehabilitation intervention in early dementia of Alzheimer type: A single case study. *Neuropsychological Rehabilitation*, 11 (3/4), 477-494. <https://doi.org/10.1080/09602010042000213>
- Clare, L., Wilson, B. A., Carter, G., Roth, I. & Hodges, J. R. (2002). Relearning face-name associations in early Alzheimer's disease. *Neuropsychology*, 16(4), 538-547. <https://doi.org/10.1037//0894-4105.16.4.538>
- Cohen, G. & Faulkner, D. (1986). Memory for proper names: Age differences in retrieval. *British Journal of Developmental Psychology*, 4(2), 187-197. <https://doi.org/10.1111/j.2044-835X.1986.tb01010.x>
- Cohen, J. (1988), *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*, 2nd Edition. Hillsdale: Lawrence Erlbaum.
- Colasanti, V., Marianetti, M., Micacchi, F., Amabile, G.A. & Mina, C. (2010): Test for the evaluation of depression in the elderly: a systematic review. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 50, 227-230. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2009.04.001>
- Cole, M.G. & Dendukuri, N., (2003). Risk factors for depression among elderly community subjects: a systematic review and meta-analysis. *The American Journal of Psychiatry*, 160, 1147–1156. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.160.6.1147>

- Coupé, P., Manjón, J.V., Lanuza, E., & Catheline, G. (2019). Lifespan Changes of the Human Brain in Alzheimer's Disease. *Scientific Reports*, 3998.
- Corder, E.H. & Saunders, A.M. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset. *Science*, 261, 921-923.
- Cornejo, W., Lopera, F., Uribe, C.S. & Salinas, M. (1987). Descripción de una familia con demencia presenil tipo Alzheimer. *Acta Médica Colombiana*, 12, 55-61.
- Costa-Rama, E., González-García, M.B. & Costa-García, A. (2014). Competitive electrochemical immunosensor for amyloid-beta 1-42 detection based on gold nanostructured Screen-Printed Carbon electrodes. *Sensors and actuators B. Chemical*, 201(1), 567-571. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.09.042>
- Craig-Schapiro, R., Fagan, A.M., & Holtzman, D.M. (2008). Biomarkers of Alzheimer's disease. *Neurobiology Disease*, 35(2), 128-140. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.10.003>
- Croisile, B. (2005). Writing, aging and Alzheimer's disease. *Psychologie & neuropsychiatrie du vieillissement*, 3(3), 183-197.
- Crook, T., Bartus, R.T., Ferris, S.H., Whitehouse, P., Cohen, G.D. & Gershon S. (1986) Age-associated memory impairment: proposed diagnostic criteria and measures of clinical change – report of a National Institute of Mental Health work group. *Developmental Neuropsychology*, 2(4), 261–76.
- Cuetos, F. (2003). *Anomia*. TEA Ediciones.
- Cuetos, F., Arango-Lasprilla, J.C., Uribe, C., Valencia, C., Lopera, F. (2007). Linguistic changes in verbal expression: a preclinical marker of Alzheimer's disease. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 13, 433-439. <https://doi.org/10.1017/S1355617707070609>
- Cuetos, F., Arce, N., Martínez, C., & Ellis, A.W. (2017). Word recognition in Alzheimer's disease: effects of semantic degeneration. *Journal of neuropsychology*, 11(1), 26-39. <https://doi.org/10.1111/jnp.12077>.
- Cuetos, F., González-Nosti, M. & Martínez, C. (2005). The picture-naming task in the analysis of cognitive deterioration in Alzheimer's disease. *Aphasiology*, 19(6), 545-557. <https://doi.org/10.1080/02687030544000010>
- Cuetos, F., Herrera, E. & Ellis, A.W. (2010). Impaired Word recognition in Alzheimer's disease: the role of age acquisition. *Neuropsychologia*, 48(1), 3329-3334. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2010.07.017>
- Cuetos, F., Martínez, T., Martínez, C., Izura, C. & Ellis, A.W. (2003). Lexical processing in Spanish patients with probable Alzheimer's disease. *Cognitive Brain Research*, 17(3), 549-561. [https://doi.org/10.1016/S0926-6410\(03\)00169-1](https://doi.org/10.1016/S0926-6410(03)00169-1)
- Cuetos, F., Menéndez, M. & Calatayud, T. (2007). Descripción de un nuevo test para la detección precoz de la enfermedad de Alzheimer. *Revista de neurología*, 44(8), 469-474. <https://doi.org/10.33588/rn.4408.2006403>

- Cuetos, F., Rodríguez-Ferreiro, J., & Menéndez, M. (2009). Semantic markers in the diagnosis of neurodegenerative dementias. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 28(3), 267-274. <https://doi.org/10.1159/000242438>
- Cuetos, F., Rodríguez-Ferreiro, J., Sage, K., & Ellis, A.W. (2012). A fresh look of naming accuracy and errors in Alzheimer's disease. *Journal of neuropsychology*, 6(2), 242-256. <https://doi.org/10.1111/j.1748-6653.2011.02025.x>
- Cuetos, F., Rosci, C.E., Laiacona, M., & Capitani, E. (2008). Different variables predict anomia in different subjects: A longitudinal study of two Alzheimer's patients. *Neuropsychologia*, 46, 249-260. [https://doi.org/10.6061/clinics/2015\(06\)07](https://doi.org/10.6061/clinics/2015(06)07)
- Cuetos, F., Samartino, T. & Ellis, A.W. (2012). Age Acquisition Norms from Elderly Spanish People: Characteristics and the Prediction of Word Recognition Performance in Alzheimer's Disease. *Psicologica: International Journal of Methodology and Experimental Psychology*, 33(1), 59-76. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220611>
- Damasio, A.R. (1992) Aphasia. *New England Journal of Medicine*, 326, 531-539.
- Damasio, A.R. & Damasio, H. (1992) Brain and language. *Scientific American*, 267, 63-71.
- Damasio, A.R. & Tranel, D. (1993). Nouns and verbs are retrieved with differentially distributed neural systems. *Proceedings of the National Academy of Science*, 90, 4957-4960. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.11.4957>
- Damasio, A.R., Tranel, D. & Damasio, H. (1992). Verbs but not nouns: Damage to left temporal cortices impairs access to nouns but not verbs. *Society for Neuroscience Abstracts*, 18, 387.
- Daniele, A., Giustolisi, L., Silveri, M.C., Colosimo, C. & Gainotti, G. (1994). Evidence for a possible neuroanatomical basis for lexical processing of nouns and verbs. *Neuropsychologia*, 32, 1325-1341. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(94\)00066-2](https://doi.org/10.1016/0028-3932(94)00066-2).
- Davies, L., Wolska, B., Hilbich, C., Multhaup, G., Martins, R., Simms, G., Beyreuther, K., & Masters, C.L. (1988). A 4 amyloid protein deposition and the diagnosis of Alzheimer's disease: prevalence in aged brains determined by immunocytochemistry compared with conventional neuropathologic techniques. *Neurology*, 38(11), 1688-1693. <https://doi.org/10.1212/wnl.38.11.1688>.
- Debette S, Seshadri S, Beiser A, Au R, Himali JJ, Palumbo C., Wolf, P.A., & DeCarli, C. (2011). Midlife vascular risk factor exposure accelerates structural brain aging and cognitive decline. *Neurology*, 77), 461–8. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318227b227>
- De Jong, D., Jansen, R.W., Pijnenburg, Y.A., van Geel, W.J., Borm, G.F, Kremer, H.P., & Verbeek, M.M. (2007). CSF neurofilament proteins in the differential diagnosis of dementia. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 78(9), 936-938. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2006.107326>.
- Delbarba, A., Abate, G., Prandelli, C., Marziano, M., Buizza, L., Arce-Varas, N., Novelli, A., Cuetos, F., Martínez, C., Lanni, C., Memor, M., & Uberti, D. (2016). Cells from Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment Patients. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. <https://doi.org/10.1155/2016/5923938>

- De los Reyes Aragón, C.J., Arango Lasprilla, J.C., Rodríguez Díaz, M.A., Perea Bartolomé, M.V. & Ladera Fernández, V. (2012). Rehabilitación cognitiva en pacientes con Enfermedad de Alzheimer. *Psicología desde el Caribe*, 29(2), 421-455
- Dickerson, B.C. & Sperling, R.A. (2008). Functional abnormalities of the medial temporal lobe memory system in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: insights from functional MRI studies. *Neuropsychologia* 46, 1324-1635. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.11.030>.
- Ding, D., Zhao, Q., Guo, Q., Liang, X., Luo, J., Yu, L., Zheng, L., Hong, Z. (2016). Progression and predictors of mild cognitive impairment in Chinese elderly: a prospective follow-up in the Shanghai Aging Study. *Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*, 4, 28-36. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2016.03.004>
- Doecke, J.D., Laws, S.M., Faux, N.G., Wilson, W., Burnham, S.C., Lam, C.P.,... Martins, R.N. (2012). Blood-based protein biomarkers for diagnosis of Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 69(10), 1318-1325. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2012.1282>.
- Dubois, B., Picard, G., & Sarazin, M. (2009). Early detection of Alzheimer's Disease. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11(2), 135-139.
- Dubois, B., & Pillon, B. (1997). Cognitive deficits in Parkinson's disease. *Journal of neurology*, 244(1), 2-8. <https://doi.org/10.1007/pl00007725>.
- Dudas, R. B., Clague, F., Thompson, S. A., Graham, K. S., & Hodges, J. R. (2005). Episodic and semantic memory in mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 43(9), 1266-1276. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2004.12.005>.
- Duff, K., Eckman, C., Zehr, C., Yu, X., Prada, C.M., Perez-Tur, J.,..., Younkin, S. (1996). Increased amyloid- β 42 (43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature*, 383, 710-713. <https://doi.org/10.1038/383710a0>
- Duncan, B.A., & Siegal, A.P. (1998). Early diagnosis and management of Alzheimer's disease. *The journal of Clinical Psychiatry*, 59(9), 15-21.
- Edison, P., Archer, H.A., Hinz, R., Hammers, A., Pavese, N., Tai, Y.F., Hotton, G., Cutler, D., Fox, N., Kennedy, A., Rossor, M., & Brooks, D.J. (2007) Amyloid, hypometabolism, and cognition in Alzheimer disease. An [11C] PIB and [18F] FDG PET study. *Neurology*, 68(7), 501-508. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000244749.20056.d4>.
- Emre, M., Aarsland, D., Brown, R., Burn, D.J., Duyckaerts, C., Mizuno, Y., Broe, G.A., Cummings, J., Dickson, D.W., Gauthier, S., Goldman, J., Goetz, C., Korczyn, Lees, A., Levy, R., Litvan, I., McKeith, I., Olanow, W., Poewe, W.,..., & Dubois, B. (2007). Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. *Movement Disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 22(12), 1689-1707. <https://doi.org/10.1002/mds.21507>.
- Ertekin-Taner, N., Graff-Radford, N., Younkin, L.H., Eckman, C., Baker, M., Adamson, J.,..., Younkin, S.G. (2000). Linkage of Plasma A β 42 to a Quantitative Locus on Chromosome 10 in Late-Onset Alzheimer's Disease Pedigrees. *Science*, 2303-2304.
- Eslinger, P.J., Damasio, A.R., Benton, A.L., & Van Allen, M. (1985). Neuropsychologic detection of abnormal mental decline in older persons. *Journal of the American Medical Association*, 253,

- Espinosa, A., Alegret, M., Boada, M., Vinyes, G., Valero, S., Martínez-Lage, P., ... Tárraga, L. (2009). Ecological assessment of executive functions in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, 15(5), 751-757. <https://doi.org/10.1017/S135561770999035X>
- Fabrigoule, C., Rouch, I., Taberly, A., Letenneur, L., Commenges, D., Mazaux, J.M., Orgogozo, J.M., & Dartigues, J.F. (1998). Cognitive process in preclinical phase of dementia. *Brain*, 121, 135-141. <https://doi.org/10.1093/brain/121.1.135>.
- Fanjul-Bolado, P., Queipo, P., Lamas-Ardisana, P.J., & Costa-García, A. (2009). Manufacture and evaluation of carbon nanotube modified screen-printed electrodes as electrochemical tools. *Talanta*, 74, 427-433. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2007.07.035>
- Farlow, M.R., & Cummings, J.L. (2007). Effective pharmacologic management of Alzheimer's disease. *The American Journal of Medicine*, 120(5), 338-397. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.08.036>
- Farlow, M., Murrell, J., Ghetti, B., Unverzagt, F., Zeldenrust, S., & Benson, M. (1994). Clinical characteristics in a kindred with early-onset Alzheimer's disease and their linkage to a G→T change at position 2149 of the amyloid precursor protein gene. *Neurology*, 44(1). <https://doi.org/10.1212/WNL.44.1.105>
- Farrer, L.A., Cupples, L.A., Haines, J.L., Hyman, B., Kukull, W.A., Mayeux, R., Myers, M.H., Pericak-Vance, M.A., Risch, N., & van Duijn, C.M. (1997). Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: A meta-analysis. *Journal of the American Medical Association*, 278(16), 1349–56
- Feher, E.P., Larrabee, G.J., & Crook, T.H. (1992). Factors attenuating the validity of the geriatric depression scale in a dementia population. *Journal of the American Geriatrics Society*, 40, 906–909. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1992.tb01988.x>
- Fernández-Abedul, M.T. & Costa-García, A. (2007). Carbon nanotubes (CNTs)-based electroanalysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390(1), 293-298. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-007-1686-0>
- Fischer, P., Jungwirth, S., Zehetmayers, S., Weissgram, S., Hoenigschnabl, S., & Gelpi, E. (2007). Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *Neurology*, 68, 288-91.
- Fisk, J.E. & Warr, P.B. (1998). Associative Learning and Short-Term Forgetting as a Function of Age, Perceptual Speed, and Central Executive Functioning. *The Journals of Gerontology: Series B*, 53(2), 112-121. <https://doi.org/10.1093/geronb/53B.2.P112>
- Fitzpatrick, A.L., Kuller L.H., Lopez, O.L., Diehr, P., O'Meara, E.S., Longstreth, W.T., & Luchsinger, J.A. (2009). Midlife and late-life obesity and the risk of dementia: Cardiovascular Health Study. *Archives of Neurology*, 66(3), 336–42.
- Flicker, C., Ferris, S.H., & Reisberg, B. (1991). Mild cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology*, 41, 1006–1009.

- Folstein, M.F., Folstein, S.E. & McHugh, P.R. (1975). "Mini Mental State". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12, 189-198. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(75\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0022-3956(75)90026-6).
- Fox, N.C., Warrington, E.K., Freeborough, P.A., Hartikainen, P., Kennedy, A.M., Stevens, J.M. & Rossor, M.N. (1996). Presymptomatic hippocampal atrophy in Alzheimer's disease. A longitudinal MRI study. *Brain*, 119, 2001-7.
- Fox, N.C., Warrington, E.K., Seiffer, A.L., Agnew, S.K., & Rossor, M.N. (1998). Presymptomatic cognitive deficits in individuals at risk of familial Alzheimer's disease. A longitudinal prospective study. *Brain*, 121, 1631-1639. <https://doi.org/10.1093/brain/121.9.1631>.
- Freedman, M., Leach, L., Kaplan, E., Winocur, G., Shulman, K.I. & Delis, D.C. (1994). *Clock drawing: a neuropsychological analysis*. New York: Oxford University Press.
- Frisoni, G.B., Fox, N.C., Jack, C.R., Scheltens, P. & Thompson, P.M. (2011). The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 6(2), 67-77. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2009.215>
- Frost, B., Gotz, J., & Feany, B.M. (2015). Connecting the dots between tau dysfunction and neurodegeneration. *Cell Biology*, 25 (1), 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2014.07.005>.
- Fukui, T. & Lee, E. (2009). Visuospatial Function is a significant contributor to functional status in patients with Alzheimer's disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*. 24(4), 313-321. <https://doi.org/10.1177/1533317509333903>
- Fuld, P.A., Masur, D.M., Blau, A.D., Crystal, H., & Aronson, M.K. Object-memory evaluation for prospective detection of dementia in normal functioning elderly: predictive and normative data. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 12(4), 520-528, <https://doi.org/10.1080/01688639008400998>.
- García, S., Cuetos, F., Novelli, A., & Martínez, C. (2020). Famous faces naming test predicts conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Belgica*. <https://doi.org/10.1007/s13760-020-01483-3>
- García-Díaz, A.I., Segura, B., Baggio, H.C., Uribe, C., Campabadal, A., Abos, A., Marti, M.J., Valldeoriola, F., Compta, Y. Bargallo, N., & Junque, C. (2018). Cortical thinning correlates of changes in visuospatial and visuoperceptual performance in Parkinson's disease: a 4-year follow up. *Parkinsonism and related disorders*, 46, 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2017.11.003>
- Garrido, S., Furuie, S., Buchpiguel, C., Bottino, C., Almeida, O., Cid, C., Camargo, C., Castro, C., Glabus, M., & Busatto, G. (2002). Relation between medial temporal atrophy and functional brain activity during memory processing in Alzheimer's disease: a combined MRI and SPECT study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 73, 508-516. <https://doi.org/10.1136/jnnp.73.5.508>
- Glenner, G.G., & Wong, C.W. (1984). Alzheimer's disease and Down's syndrome: sharing of a unique cerebrovascular amyloid fibril protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 122(3), 1131-1135. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(84\)91209-9](https://doi.org/10.1016/0006-291X(84)91209-9)

- Glennon, E.B., Lau, D.H.W., Gabriele, R.M.C., Taylor, M.F., Troakes, C., Opie-Martin, S., Elliott, C; Killick, R., Hanger, D.P., Perez-Nievas, B.G., & Noble, W. (2020). Bridging integrator 1 protein loss in Alzheimer's disease promotes synaptic tau accumulation and disrupts tau release. *Brain Communications*, 1-16. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa011>
- Goate, A., Chartier-Harlin, M-C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., & Hardy, J. (1991). Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*, 349, 704-706. <https://doi.org/10.1038/349704a0>
- Golby, A., Silverberg, G., Race, E., Gabrieli, S., O'Shea, J., Knierim, K., Stebbins, G., & Gabrieli, J. (2005). Memory encoding in Alzheimer's disease: an fMRI study of explicit and implicit memory. *Brain*, 128(4), 773-787. <https://doi.org/10.1093/brain/awh400>
- Golden, C.J. (1978). *Stroop Color and Word Test: a manual for Clinical and Experimental Uses*. Chicago, Illinois: Stoelting Co.
- Goldman, J.G., Holden, S., Ouyang, B., Bernard, B., Goetz, C. G. & Stebbins, G. T. (2015) Diagnosing PD-MCI by MDS task force criteria: How many and which neuropsychological tests? *Movement Disorders*, 3(30), 402-406
- Goldman, J.S., Hahn, S.E., & Bird, T. (2011). Genetic counseling and testing for Alzheimer disease: Joint practice guidelines of the American College of Medical Genetics and the National Society of Genetic Counselors. *Genetics in Medicine*, 13, 597-605. <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e31821d69b8>.
- Gómez-Lázaro, M., Fernández-Gómez, F.J., & Jordán, J. (2004). La proteína p53 en procesos neurodegenerativos en sus 25 años de historia. *Revisión en Neurociencia*, 39, 243-250. <https://doi.org/10.33588/rn.3903.2004355>
- González, M.B. & Costa, A. (2010). Los biosensores electroquímicos: herramientas de la analítica y del diagnóstico clínico. Monografía XXX: Biomarcadores: Analítica, diagnóstico y terapéutica en Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. Recuperado de <https://www.analesranf.com/index.php/mono/issue/archive>
- González-Nosti, M., Cuetos, F., & Martínez, C. (en prensa). Evolution of writing impairment in Spanish patients with Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*.
- González-Rumayor, V., García-Iglesias, E., Ruíz-Galán, O. & Gago-Cabezas, L. (2005). Aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria. Madrid: CEIM. Dirección General de Universidades e Investigación.
- Goodglass, H. & Kaplan, E. (1979). Assessment of cognitive deficit in the brain-injured patients. In Gazzaniga MS, ed. *Handbook of behavioral neurobiology*. Vol. 2. Neuropsychology. New York: Plenum Press. p. 3-22.
- Goodglass, H., Klein, B., Carey, P. & Jones, K. (1966). Specific semantic word categories in aphasia. *Cortex*, 2, 74-89. [https://doi.org/10.1016/S0010-9452\(66\)80029-1](https://doi.org/10.1016/S0010-9452(66)80029-1).
- Gosche, K.M., Mortimer, J.A., Smithe, C.D., Markesbery, W.R., & Snowdon, D.A. (2002). Hippocampal volume as an index of Alzheimer neuropathology: findings from the Nun Study. *Neurology*, 58, 1476-1482. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.10.1476>

- Graff-Radford, N.R., Crook, J.E., Lucas, J., Boeve, B.F., Knopman, D.S., Ivnik, R.J., et al. (2007). Association of low plasma Abeta42/Abeta 40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Archives of neurology*, 64, 354-362. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.3.354>.
- Greene, J.D.W., Baddeley, A.D., & Hodges, J.R. (1996). Analysis of the episodic memory deficit in early Alzheimer's disease: Evidence from the doors and people test. *Neuropsychologia*, 34(6), 537–551. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(95\)00151-4](https://doi.org/10.1016/0028-3932(95)00151-4)
- Greene, D.W., & Hodges, J.R. (1996) Identification of famous faces and famous names in early Alzheimer's disease. Relationship to anterograde episodic and general semantic memory. *Brain*, 119, 111-128. <https://doi.org/10.1093/brain/119.1.11>
- Griffith, H.R., Belue, K., Sicola, A., Krzywanski, S., Zamrini, E., Harrell, L. & Marson, D.C. (2003). Impaired financial abilities in mild cognitive impairment: a direct assessment approach. *Neurology*, 60(3), 449–457.
- Grober, E., Lipton, R.B., Hall, C., & Crystal, H. (2000). Memory impairment on free and cued selective reminding predicts dementia. *Neurology*, 54(4), 827-832. <https://doi.org/10.1212/wnl.54.4.827>.
- Groves-Wright, K., Neils-Strunjas, J., Burnett, R., & O'Neill, M.J. (2004). A comparison of verbal and written language in Alzheimer's disease. *Journal of Communication Disorders*, 37(2), 109-130. <https://doi.org/10.1016/j.jcomdis.2003.08.004>
- Growdon, J.H. (1999). Biomarkers of Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 56, 281-283
- Gruenewald, P.J. & Lockhead, G.R. (1980). The free recall of category examples. *Journal of Experimental Psychology: Human Learning and Memory*, 6, 225-240. <https://doi.org/10.1037/0278-7393.6.3.225>
- Grundman, M., Petersen, R.C., Ferris, S.H., Thomas, R.G., Aisen, P.S., Bennett, D.A., Foster, N.L., Jack, C.R., Galasko, D.R., Doody, R., Kaye, J., Sano, M., Mohs, R., Gauthier, S., Kim, H.T., Jin, S., Schultz, A.N., Schafer, K., Mulnard, R., ..., Thal, L.J. (2004). Mild cognitive impairment can be distinguished from Alzheimer disease and normal aging for clinical trials. *Archives of Neurology*, 61, 59-66. <https://doi.org/10.1001/archneur.61.1.59>.
- Guarch, J., Marcos, T., Salamero, M., & Blesa, R. (2004). Neuropsychological markers of dementia in patients with memory complaints. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 19, 352-358. <https://doi.org/10.1002/gps.1074>
- Guarch, J., Marcos, T., Salamero, M., Gastó, C., & Blesa, R. (2008). Mild cognitive impairment: a risk indicator of later dementia, or a preclinical phase of the disease? *International Journal of Geriatric psychiatry*, 23, 257-265. <https://doi.org/10.1002/gps.1871>
- Guardia, J., Peña-Casanova, J., Bertrán-Serra, I., Manero, R.M., Meza, M., Böhm, P.,... Marti, A. (1997). Versión abreviada del test Barcelona (II): puntuación global normalizada. *Neurología*, 12, 112-6.
- Gutiérrez-Rexach, J. & Schatz, S. (2016). Cognitive impairment and pragmatics. *Springerplus*, 5(127). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1759-7>

- Haass, C., Schlossmacher, M.G., Hung, A.Y., Vigo-Pelfrey, C., Mellon, A., Ostaszewski, B.L., Lieberburg, I., Koo, E.H., Schenk, D., Teplow, D.B., & Selkoe, D.J. (1992). Nature, 359, 322-325. <https://doi.org/10.1038/359322a0>
- Habek, M., Hajnsek, S., Zarkovic, K., Chudy, D., & Mubrin, Z. (2010). Frontal variant of Alzheimer's disease: clinico-CSF-pathological correlation. The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques, 37(1), 118-120. <https://doi.org/10.1017/S0317167100009768>
- Hall, C.B., Lipton, R.B., Sliwinski, M., Katz, M.J., Derby, C.A., & Verghese, J. (2009). Cognitive activities delay onset of memory decline in persons who develop dementia. Neurology, 73, 356-61. 58. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181b04ae3>
- Hamilton, M. (1960). A rating scale for depression. Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, 23, 56-62. <https://doi.org/10.1136/jnnp.23.1.56>
- Hamilton, M. (1967). Development of a rating scale for primary depressive illness. British Journal of Social and Clinical Psychology, 6, 278-296. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8260.1967.tb00530.x>
- Hampel, H., Goernitz, A., & Buerger, K. (2003). Advances in the development of biomarkers for Alzheimer's disease: from CSF total tau and Abeta (1-42) proteins to phosphorylated tau protein. Brain Research Bulletin, 61, 243-253.
- Han, J.W., Kim, T.H., Lee, S.B., Park, J.H., Lee, J.J., Huh, Y., Park, J.E., Jhoo, J.H., Lee, D.Y., Kim, K.W. (2012). Predictive validity and diagnostic stability of Mild Cognitive Impairment subtypes. Alzheimer's & Dementia, 8(6), 553-559.
- Hardy, J. (1992). Framing β -amyloid. Nature Genetics, 1, 233-234. <https://doi.org/10.1038/ng0792-233>
- Hardy, J., Duff, K., Hardy, H.G., Perez-Tur, J. & Hutton, M. (1998). Genetic dissection of Alzheimer's disease and related dementias: amyloid and its relationship to tau. Natural Neuroscience, 1(5), 355-358. <https://doi.org/10.1038/1565>
- Hardy, J.A. & Higgins, G.A. (1992). Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis. Science, 256, 184-185. <https://doi.org/10.1126/science.1566067>
- Hardy, J. & Selkoe, D.J. (2002). The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to therapeutics. Science 297, 353-356. <https://doi.org/10.1126/science.1072994>
- Harold, D., Abraham, R., Hollingworth, P., Sims, R., Gerrisk, A., Hamshere, M.L., & Williams, J. (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. Nature Genetics, 41(10), 1088-1093. <https://doi.org/10.1038/ng.440>
- Hendrie, H.C., Smith-Gamble, V., Lane, K.A., Purnell, C., Clark, D.O. & Gao, S. (2018). The association of early life factors and declining incidence rates of dementia in an early population of African Americans. Journal of gerontology. Series B, Psychological sciences and social sciences, 16(73), 82-89. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbx143>

- Hendriks, L., van Duijn, C.M., Cras, O., Cruts, M., van Hul, W., van Harskamp, F., Warren, A., McInnis, M.G., Antonarakis, A.E., Martin, J.-J., Hofman, A., & van Broeckhoven, C. (1992). Presenile dementia and cerebral haemorrhage linked to a mutation at codon 692 of the β -amyloid precursor protein gene. *Nature Genetics*, 1, 218-221. <https://doi.org/10.1038/ng0692-218>
- Hernández, F., Gómez de Barreda, E., Fuster-Matanzo, A., Licas, J.J., & Avila, J. (2009). GSK3: a possible link between beta amyloid peptide and tau protein. *Experimental Neurology*, 223 (2), 322-325. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2009.09.011>
- Hernández-Muela, S., Mulas, F. & Mattos, L. (2004). Plasticidad neuronal funcional. *Revista de Neurología*, 38(1), 58-68. <https://doi.org/10.33588/rn.38S1.2004073>
- Herrero-San Martín, A., Villarejo-Galende, A., Rábano-Gutiérrez, A., Guerrero-Márquez, C., Porta-Etessam, J., & Bermejo-Pareja, F. (2013). Frontal variant of Alzheimer's disease. Two pathologically confirmed cases and a literature review. *Revista de neurología*, 57(12), 542-548.
- Hodges, J.R., Salmon, D.P. & Butters, N. (1992). Semantic memory impairment in Alzheimer's disease: failure of access or degraded knowledge. *Neuropsychologia*, 30(4), 301-314. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(92\)90104-t](https://doi.org/10.1016/0028-3932(92)90104-t).
- Hodges, J.R., Salmon, D.P. & Butters, N. (1993). Recognition and naming of famous faces in Alzheimer's disease: a cognitive analysis. *Neuropsychologia*, 31(8), 775-788. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(93\)90128-M](https://doi.org/10.1016/0028-3932(93)90128-M)
- Holler, C.J., Davis, P.R., Beckett, T.L., Platt, T.L., Head, E. & Murphy, M.P. (2014). Bridging integrator 1 (BIN1) protein expression increases in the Alzheimer's disease brain and correlates with neurofibrillary tangle pathology. *Journal of Alzheimer's disease*, 42(4), 1221-1227. <https://doi.org/10.3233/JAD-132450>.
- Holmes, C. (2002). Genotype and phenotype in Alzheimer's disease. *British Journal of Psychiatry*, 180, 131-134. <https://doi.org/10.1192/bjp.180.2.131>
- Holtzman, D.M., Herz, J. & Bu, G. (2012). Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(3). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006312>.
- Hoops, S., Nazem, S., Siderowf, A.D., Duda, J.E., Xie, S.X., Stern, M.B. & Weintraub, D. (2009). Validity of the MoCA and MMSE in the detection of MCI and dementia in Parkinson disease. *Neurology*, 73, 1738-1745.
- Hort, J., O'Brien, J. T., Gainotti, G., Pirttila, T., Popescu, B.O., Rektorova, I., Sorbi, S., & Scheltens, P. (2010). EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*, 17(10), 1236-1248
- Howieson, D.B., Dame, A., Camicioli, R., Sexton, G., Payami, H., & Kaye, J.A. (2015). Cognitive markers preceding Alzheimer's dementia in the healthy oldest old. *Journal of the American Geriatrics Society*, 45(5). <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1997.tb03091.x>
- Huang, H.-C. & Jiang, Z.-F. (2009). Accumulated Amyloid- β Peptide and Hyperphosphorylated Tau Protein: Relationship and Links in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 16 (1), 15-27. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-0960>

- Humpel, C. (2011). Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. *Trends in Biotechnology*, 29(1), 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2010.09.007>
- Hutton, M., Lendon, C.L., Rizzu, P., Baker, M., Froelich, S., Houlden, H.,...Hyman, B.T. (1997). A β Deposition Is Associated with Neuropil Changes, but not with Overt Neuronal Loss in the Human Amyloid Precursor Protein V717F (PDAPP) Transgenic Mouse. *The Journal of Neuroscience*, 17(18), 7053-7059.
- Hutton, M., Lendon, C., Rizzu, P., Baker, M., Froelich, S., Houlden, H.,... Heutink, P. (1998). Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*, 393, 702-705. <https://doi.org/10.1038/31508>
- Hyman, B.T., Van Hoesen, G.W., Damasio, A. R., & Barnes, C.L. (1984). Alzheimer's disease: cell-specific pathology isolates the hippocampal formation. *Science*, 225, 1168-1170. <https://doi.org/10.1126/science.6474172>.
- Irish, M., Lawlor, B.A., Coen, R.F. & O'Mara, S.M. (2011). Everyday episodic memory in amnesic mild cognitive impairment: a preliminary investigation. *BMC Neuroscience*, 12(80). <https://doi.org/10.1186/1471-2202-12-80>
- Irizarry, M.C. (2004). Biomarkers of Alzheimer disease in plasma. *NueroRx*, 1, 226-234. <https://doi.org/10.1602/neurorx.1.2.226>.
- Irizarry, M.C., McNamara, M., Fedorchak, K., Hsiao, K. & Hyman, B.T. (1997). APPSw transgenic mice develop age-related A beta deposits and neuropil abnormalities, but no neuronal loss in CA1. *Journal of Neuropathological and Experimental neurology*, 56(9), 965-973.
- Jack, C.R., Lowe, V.J., Weigand, S.D., Wiste, H.J., Senjem, M.L., Knopman, D.S.,...Petersen, R.C. (2009). Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: Implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. *Brain*, 132, 1355-65.
- Jellinger, K.A. & Attems, J. (2010). Prevalence of dementia disorders in the oldest-old: an autopsy study. *Acta Neuropathologica*, 119(4), 421-433. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0654-5>
- Jenkins, D.J.A., Kendal, C.W.C., Vuksan, V., Vidgen, E., Parker, T, Fauljner, D., Mehling, C.C., Garsetti, M., Testolin, G., Cunnane, S.C., Ryan, M.A., & Corey, P.N. (2002). Soluble fiber intake at a dose approved by the US Food and Drug Administration for a claim of health benefits: serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in randomized controlled crossover trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 75(5), 834-839. <https://doi.org/10.1093/ajcn/75.5.834>.
- Johansson, B. B. (2004). Brain plasticity in health and disease. *The Keio Journal of Medicine*, 53(4), 231-246. <https://doi.org/10.2302/kjm.53.231>.
- Jorm, A.F. (2001). History of Depression as a risk factor for dementia: an updated review. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 35(6), 776-781. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1614.2001.00967.x>.
- Jorm, A.F. (2000). Is depression a risk factor for dementia or cognitive decline? A review. *Gerontology*, 46, 219-227. <https://doi.org/10.1159/000022163>.

- Joubert, S., Felician, O., Barbeau, E. J., Didic, M., Poncet, M., & Ceccaldi, M. (2008). Patterns of semantic memory impairment in Mild Cognitive Impairment. *Behavioral Neurology*, 19(1-2), 35-40.
- Julayanont, P., Brousseau, M., Chertkow, H., Phillips, N., & Nasreddine, Z.S. (2014). Montreal Cognitive Assessment Memory Index Score (MoCA-MIS) as a predictor of conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's disease. *Journal of the American Geriatrics Society*, 62(4). <https://doi.org/10.1111/jgs.12742>
- Kaplan, E. F., Goodglass, H., & Weintraub, S. (2001) *The Boston naming test*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kaplan, L. & Foldi, N.S. The complexity of Activities of Daily Living and Their Relationship to Attention in Alzheimer Disease: a review of ADL Classification Systems. *Topics in Geriatric Rehabilitation*, 25(4): 365-374. <https://doi.org/10.1097/TGR.0b013e3181bdd74e>
- Karp, A., Paillard-Borg, S., Wang, H.X., Silverstein, M., Winblad, B., & Fratiglioni, L. (2005). Mental, physical and social components in leisure activities equally contribute to decrease dementia risk *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 21(2), 65–73. <https://doi.org/10.1159/000089919>.
- Kasai, M., Meguro, K., Hashimoto, R., Ishizak, J., Yamadori, A., & Mori, E. (2006). Non-verbal learning is impaired in very mild Alzheimer's disease (CDR 0.5): Normative data from the learning version of the Rey-Osterrieth Complex Figure Test. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 60(2), 139-146. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2006.01478.x>
- Katsumata, Y., Mathews., M., Abner, E.L., Jicha, G.A., Caban-Holt, A., Smith, C.D., Nelson, P.T., Kryscio, R.J., Schmitt, FA., & Fardo, D.W. (2015). Assessing the Discriminant Ability, Reliability and Comparability of Multiple Short Forms of the Boston Naming Tests in Alzheimer's Disease Center Cohort. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 39 (3-4), 215-227. <https://doi.org/10.1159/000370108>
- Kelly, S.C., He, B., Perez, S.E., Ginsberg, S.D., Mufson, E.J., & Counts, S.E. Locus coeruleus cellular and molecular pathology during the progression of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications*, 5(8). <https://doi.org/10.1186/s40478-017-0411-2>
- Kertesz, A. & Mohs R.C. (1996). Cognition. In Gauthier S. (Ed). *Clinical diagnosis and management of Alzheimer's disease*. London: Martin Dunitz. 155-74.
- Kessels, R.P., Molleman, P.W. & Oosterman, J.M. (2011). Assessment of working-memory deficits in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's dementia using Wechsler's Working Memory Index. *Aging Clinical and Experimental Research*, 23(5-6), 487-590. <https://doi.org/10.1007/BF03325245>.
- Kim, K.M., Jung, B.H., Paeng, K.J., Kim, I., & Chung, B.C. (2004). Increased urinary F (2)-isoprostanes levels in the patients with Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin*, 64, 47-51. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2004.04.016>
- Kim, K.W., Lee, S.Y., Choi, J., Chin, J., Lee, B.H., Na, D.L., & Choi, J.H. (2020). A comprehensive evaluation of the process of copying a complex figure in early- and late-onset Alzheimer Disease: a quantitative analysis of digital pen data. *Journal of medical internet research*, 22(8). <https://doi.org/10.2196/18136>

- Kivipelto, M., Ngandu, T., Fratiglioni, L., Viitanen, M., Kåreholt, I., Winblad, B., Helkala, E.-L., Tuomilehto, J., Soininen, H., & Nissinen, A. (2005). Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Archives of Neurology*, 62(10), 1556–60.
- Kral, V.A. (1962). Senescent Forgetfulness: benign and malignant. *Canadian Medical Association Journal*, 86(6), 257-260.
- Krascio, R.J., Schmitt, F.A., Salazar, J.C., Mendiondo, M.S. & Markesbery, W.R. (2006). Risk factors transition from normal to mild cognitive impairment and dementia. *Neurology*, 66(6), 828-832.
- Krueger, K.R., Wilson, R.S., Kamenetsky, J.M., Barnes, L.L., Bienias, J.L., & Bennett, D.A. (2009). Social engagement and cognitive function in old age. *Experimental Aging Research*, 35(1):45–60. <https://doi.org/10.1080/03610730802545028>.
- Labra, J.A., & Menor de Gaspar Pinilla, J. (2015). Estimulación cotidiana y funcionamiento cognitivo: la importancia de la participación de personas mayores sanas en actividades cotidianas cognitivamente demandantes. *European Journal of Investigation in Health Psychology and Education*, 4(3), 309. <https://doi.org/10.30552/ejihpe.v4i3.83>
- Lafleche, G., & Albert, M. S. (1995). Executive function deficits in mild Alzheimer's disease. *Neuropsychology*, 9(3), 313–320. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.9.3.313>
- Lambert, J.C., Heath, S., Even, G., Campion, D., Slegers, K., Hiltunen, M.,..., Amouyel, P. (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 41(10), 1094-1099. <https://doi.org/10.1038/ng.439>
- Lane, D.P. (1992). p53, guardian of the genome. *Nature*, 358, 15-16. <https://doi.org/10.1038/358015a0>
- Lanni, C., Racchi, M., Stanga, S., Mazzini, G., Ranzenigo, A., Polotti, R., Memo, M., Govoni, S., & Uberti, D. (2010). Unfolded p53 in blood as a predictive signature of the transition from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(1), 97-104. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1347>
- Lanni, C., Racchi, M., Mazzini, G., Ranzenigo, A., Polotti, R., Sinfioriani, E., Olivari, L., Barcikowska, M., Styczynska, M., Kuznicki, J., Szybinska, A., Govoni, S., Memo, M., & Uberti, D. (2008). Conformationally altered p53: a novel Alzheimer's disease marker? *Molecular Psychiatry*, 13, 641-647. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002060>
- Lanni, C., Uberti, D., Racchi, M., Govoni, S. & Memo, M. (2007). Unfolded p53: a potential biomarker for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 12(1), 93-99. <https://doi.org/10.3233/jad-2007-12109>.
- Larson, E.B., Wang, L., Bowen, J.D., McCormick WC, Teri L, Crane P, & Kukull, W. (2006). Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Annals of Internal Medicine*, 144(2), 73–81. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-144-2-200601170-00004>.
- Launer, L.J., Ross GW, Petrovitch H, Masaki K, Foley D, White LR, & Havlik, R.J. (2000). Midlife blood pressure and dementia: The Honolulu-Asia Aging Study. *Neurobiology of Aging*, 21(1), 49–55.

- Laurin, D., Verreault, R., Lindsay, J., MacPherson, K., & Rockwood, K. (2001). Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Archives of Neurology*, 58(3), 498–504. <https://doi.org/10.1001/archneur.58.3.498>.
- Laws, K.R., Duncan, A., & Gale, T.M. (2009). “Normal” semantic-phonemic fluency discrepancy in Alzheimer’s disease? A meta-analytic study. *Cortex*, 46(5), 595-601. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2009.04.009>
- Lawton, M.P. & Brody, E.M. (1969). Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist*, 9, 343-52.
- Levy, R. (1994). Aging-associated cognitive decline. Working Party of the International Psychogeriatric Association in collaboration with the World Health Organization. *International Psychogeriatrics*, 6(1), 63–8.
- Lewis, J., Dickson, D.W., Lin, W.L., Chisholm, L., Corral, A., Jones, G.,...McGowan, E. (2001). Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP. *Science* 293, 1487-1491.
- Lezak, M.D. (2004). *Neuropsychological Assessment*. 4th ed. New York: Oxford University Press.
- Lezak, M.D., Howieson, D.B., & Loring, D.W. (2004). *Neuropsychological assessment*. New York: Oxford University Press.
- Linn, R.T., Wolf, P.A., Bachman, D.L., Knoefel, J.E., Cobb, J.L., Belanger, A.J., Kaplan, E.F., & D’Agostino, R.B (1995). The “preclinical phase” of probable Alzheimer’s disease. A 13-year prospective study of the Framingham cohort. *Archives of Neurology*, 52(2), 485-490. <https://doi.org/10.1001/archneur.1995.00540290075020>.
- Locascio, J.J, Growdon, J.H. & Corkin, S. (1995). Cognitive Test Performance in Detecting, Staging, and Tracking Alzheimer’s Disease. *Archives of Neurology*, 52, 1087-1099. <https://doi.org/10.1001/archneur.1995.00540350081020>.
- Lonie, J. A., Herrmann, L. L., Donaghey, C. L., & Ebmeier, K. P. (2008). Clinical referral patterns and cognitive profile in mild cognitive impairment. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 192(1), 59-64. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.107.035642>.
- Lopera, F. (2012). La enfermedad de Alzheimer Familiar. *Neuropsicología, Neuropsiquiatría y Neurociencias*, 12(1), 163-188.
- López-Pousa, S. (2002). Epidemiología de las demencias. En Alberca, R. & López-Pousa, S. (eds.) *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias* (pp 25-34). Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Loy, C.T., Schofield, P.R., Turner, A.M., & Kwok, J.B. (2014). Genetics of dementia. *Lancet*, 383 (9919), 828-40. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60630-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60630-3).
- Lovestone, S. (2006). Biomarkers in Alzheimer’s disease. *The Journal of Nutrition Health and Aging*, 10, 118-122.
- Lozano-Gallego, M., Hernández-Ferrándiz, M., Turró-Garriga, O., Pericot-Nierga, I., López-Pousa, S. & Vilalta-Franch, J. (2009) Validación del Montreal Cognitive Assessment (MoCA): test de

cribado para el deterioro cognitivo leve. Datos preliminares. *Alzheimer: Realidades e investigación en demencias*, 43, 4-11

- Luchsinger, J.A., Cheng, D., Tang, M.X., Schupf, N., & Mayeux, R. (2012). Central obesity in the elderly is related to late-onset Alzheimer disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 26(2), 101–5.
- Luber-Narod, J. & Rogers, J. (1988). Immune system associated antigens expressed by cells of the human central nervous system. *Neuroscience Letters* 94, 17–22. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(88\)90263-7](https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90263-7)
- Lyketsos, C.G., & Olin, J. (2002). Depression in Alzheimer's disease: overview and treatment. *Biological Psychiatry*, 52, 243–252. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(02\)01348-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(02)01348-3)
- Macauley, S.L., Stanley, M., Caesar, E.E., Yamada, S.A., Raichle, M.E., Pérez, R., Mahan, T.E., Sutphen, C.L., & Holtzman, D.M. (2015). Hyperglycemia modulates extracellular amyloid beta concentrations and neuronal activity in vivo. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(6), 2463–2467. <https://doi.org/10.1172/JCI79742>
- Mahlknecht, P., Gasperi, A., Willeit, P., Kiechl, S., Stockner, H., Willeit, J., Rungger, G., Sawires, M., Nocker, M., Rastner, V., Mair, K.J., Hotter, A., Poewe, W., & Seppi, K. (2016). Prodromal Parkinson's disease as defined per MDS research criteria in the general elderly community. *Movement Disorder*, 31(9): 1405-8. <https://doi.org/10.1002/mds.26674>.
- Malishkevich, A., Marshall, G.A., Schultz, A.P., Sperling, R.A., Aharon-Peretz, J., & Gozes, I. (2016). Blood-Borne Activity-Dependent Neuroprotective Protein (ADNP) is correlated with premorbid intelligence, clinical stage, and Alzheimer's Disease Biomarkers. *Journal of Alzheimer's Disease*, 50(1), 249-260. <https://doi.org/10.3233/JAD-150799>.
- Marshall, G.A., Rentz, D.M., Frey, M.A., Locascio, J.J., Johnson, K.A., & Sperling, R.A. (2011). Executive function and instrumental activities of daily living in MCI and AD. *Alzheimers & Dementia*, 7(3), 300-308. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2010.04.005>
- Martin, L., Latypova, X., & Terro, F. (2011). Post-translational modifications of tau protein: implications for Alzheimer's disease. *Neurochemistry International*, 58, 458-471. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.12.023>.
- Martín-Carrasco, M. (2009). Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer: definición, significación diagnóstica y utilidad clínica. *Psicogeriatría*, 1(2), 101-114.
- Martínez-Paredes, G., González-García, M.B., & Costa-García, A. (2008). Genosensor for SARS virus detection based on Gold Nanostructured Screen-Printed carbon electrodes. *Electroanalysis* 21(3-5), 379-385. <https://doi.org/10.1002/elan.200804399>
- Martínez-Paredes, G., González-García, M.B. & Costa-García, A. (2009). In situ electrochemical generation of gold nanostructured screen-printed carbon electrodes. Application to the detection of lead underpotential deposition. *Electrochimica Acta*, 54(21), 4801-4808. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2009.03.085>
- Masters, C. L., Simms, G., Weinman, N.A., Multhaup, G., McDonald, B. L., & Beyreuther, K. (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(12), 4245-4249. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.12.4245>

- Matsuda, O. (2007). Cognitive stimulation therapy for Alzheimer's disease: the effect of cognitive stimulation therapy on the progression of mild Alzheimer's disease in patients treated with donepezil. *International Psychogeriatrics*, 19(2), 241-252. <https://doi.org/10.1017/S1041610206004194>.
- Maylor, E.A. (1990). Age, blocking and the tip of the tongue state. *British Journal of Psychology*, 81(2), 123-134. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8295.1990.tb02350.x>
- McCarthy, R.A. & Warrington, E.K. (1985). Category-specificity in an agrammatic patient: the relative impairment of verb retrieval and comprehension. *Neuropsychologia*, 23, 709-727. <https://doi.org/10.1007/BF02339048>
- McGeer, P.L., Itagaki, S., & McGeer, E.G. (1988). Expression of the histocompatibility glycoprotein HLA-DR in neurological disease. *Acta Neuropathologica*, 76, 550-557. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(88\)90263-7](https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90263-7)
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D. & Stadlan, E. M. (1984) Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, 34, 939-944. <https://doi.org/10.1212/wnl.34.7.939>.
- McKhann, G.M., Knopman, D.S., Chertkow, H., Hyman, B.T., Jack, C.R., Kawas, C.H., Klunk, W.E., Koroshetz, W.J., Manly, J.J., Mayeux, R., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rossor, M.N., Scheltens, P., Carillo, M.C., Thies, B., Weintraub, S., & Phelps, C.H. (2011) The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association workgroup. *Alzheimer's & Dementia*, 7, 263-269. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>
- Mehta, N.D., Refolo, L.M., Eckman, C., Sanders, S., Yager, D., Perez-Tur, J., Younkin, S., Duff, K., Hardy, J. & Hutton, M. (1998). Increased A β 42 (43) from cell lines expressing presenilin 1 mutations. *Annals of Neurology* 43(2), 256-258.
- Miceli, G., Silveri, M.C., Villa, G. & Caramazza, A. (1984). On the basis of the agrammatic's difficulty in producing verbs. *Cortex*, 20, 207-220. [https://doi.org/10.1016/s0010-9452\(84\)80038-6](https://doi.org/10.1016/s0010-9452(84)80038-6)
- Miller, M.G., Thanthaeng, N., Poulouse, S.M., & Shukitt-Hale, B. (2017). Role of fruits, nuts, and vegetables in maintaining cognitive health. *Experimental Gerontology*, 94, 24-28. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.12.014>
- Monsch, A. U., Bondi, M. W., Butters, N., Paulsen, J. S., Salmon, D. P., Brugger, P., & Swenson, M. R. (1994). A comparison of category and letter fluency in Alzheimer's disease and Huntington's disease. *Neuropsychology*, 8(1), 25-30. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.8.1.25>
- Moran, J.A., Hogan, M., Srsic-Stoehr, K., Service, K., & Earle-Hahn, J. (2008). Enfermedad de Alzheimer & Síndrome de Down. Una guía práctica para cuidadores. National Down Syndrome Society
- Morris, J.C., Heyman, A., Mohs, R.C., Hughes, J.P., van Belle, G., Fillenbaum, G., Mellits, E.D., & Clark, C. (1989). The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part I. Clinical and neuropsychological assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*, 39(9), 1159-1165. <https://doi.org/10.1212/wnl.39.9.1159>.

- Morris, J.C., Storandt, M. & Miller, J.P. (2001). Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 58, 397-405. <https://doi.org/10.1001/archneur.58.3.397>.
- Morris, M.C., Wang, Y., Barnes, L.L., Bennett, D.A., Dawson-Hughes, B. & Booth, S.L. (2018). Nutrients and bioactives in green leafy vegetables and cognitive decline. *Neurology*, 90(3), 214-222. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004815>.
- Mosconi, L., Rahman, A., Diaz, I., Wu, X., Scheyer, O., Hristov, H.W., Vallabhajosula, S., Isaacson, R.S., de Leon, M.J., & Brinton, R.D. (2018) Increased Alzheimer's risk during the menopause transition: A 3-year longitudinal brain imaging study. *PLoS ONE* 13(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207885>
- Mullan, M., Crawford, F., Axelman, K., Houlden, H., Lilius, L., Winblad, B. & Lannfelt, L. (1992). A pathogenic mutation for probable Alzheimer's disease in the APP gene at the N-terminus of bold beta-amyloid. *Nature Genetics*, 1, 345-347. <https://doi.org/10.1038/ng0892-345>.
- Müller-Thomsen, T., Arlt, S., Mann, U., Mass, R. & Ganzer, S. (2005). Detecting depression in Alzheimer's disease: evaluation of four different scales. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 20, 271–276. <https://doi.org/10.1016/j.acn.2004.03.010>
- Müller-Thomsen, T., Mittermeier, O., & Ganzer, S. (2002). Unrecognised and untreated depression in geriatric patients with hip fractures. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 17, 683–684. <https://doi.org/10.1002/gps.661>
- Munzar, M., Levy, S., Rush, R., Averback, P. (2002) Clinical study of a urinary competitive ELISA for neural thread protein in Alzheimer disease. *Neurology & Clinical Neurophysiology*, 2002(1), 2-8. <https://doi.org/10.1162/15268740252769709>
- Muruzábal, J., Larumbe, R., Manubens, J.M., Lacruz, F., Guarch, C., Urrutia, T., et al. (1993). Test de fluencia verbal: puntuaciones de la población anciana no demente, valores de sensibilidad y especificidad. Libro Abstracts. I Encuentro Internacional de Neurología y Neurogeriatría. Sevilla: Grupo Aula Médica. p. 82.
- Myers, A., Holmans, P., Marshall, H., Kwon, J., Meyer, D., Ramic, D., ...Goate, A.M. (2000). Susceptibility locus for Alzheimer's disease on chromosome 10. *Science*, 290, 2304-2305.
- Naslund, J., Haroutunian, V., Mohs, R., Davis, K.L., Davies, P., Greengard, P. & Buxbaum, J.D. (2000). Correlation between elevated levels of amyloid beta-peptide in the brain and cognitive decline. *Journal American Medical Association*, 283(12), 1571-1577.
- Nasreddine, Z.S., Phillips, N.A., Bédirian, V., Charbonneau, S., Whitehead, V., Collin, I., Cummings, J.L., & Chertkow, H. (2005). The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. *Journal of the American Geriatrics Society*, 53(4), 695-609. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.53221.x>.
- Nazem, S., Siderowf, A.D., Duda, J.E., Have, T.T., Colcher, A., Horn, S.S., Moberg, P.J., Wilkinson, J.R., Hurtig, H.I., Stern, M.B., & Weintraub, D. (2009). Montreal Cognitive Assessment (MoCA) performance in Parkinson's disease patients with "normal" global cognition by Mini-Mental State Examination score. *Journal of the American Geriatrics Society*, 57(2), 304 –308. *tate Examination score. Journal of the American Geriatrics Society*, 57(2), 304–308. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2008.02096.x>

- Nelson, P.T., Head, E., Schmitt, F.A., Davis, P.R., Neltner, J.H., Jicha, G.A.,... Scheff, S.W. (2011). Alzheimer's disease is not "brain aging": Neuropathological, genetic, and epidemiological human studies. *Acta Neuropathologica*, 121 (5), 571-87. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0826-y>.
- Nestor, S.M., Rupsigh, R., Borrie, M., Smith, M., Accomazzi, V., Wells, J.L., Fogarty, J., & Bartha, R. (2008). Ventricular enlargement as a possible measure of Alzheimer's disease progression validated using the Alzheimer's disease neuroimaging initiative database. *Brain*, 131(9), 2443-2454. <https://doi.org/10.1093/brain/awn146>
- Neves, M.M.P.S., González-García, M.B., Nouws, H.P.A. y Costa-García, A. (2012). Celiac disease detection using transglutaminase electrochemical immunosensor fabricated on nanohybrid screen-printed carbon electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*, 31(1), 95-100. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.09.044>
- Newman, S.K., Warrington, E.K., Kennedy, A.M., & Rossor, M.N. (1994). The earliest cognitive change in a person with familial Alzheimer's disease: Presymptomatic neuropsychological features in a pedigree with familiar Alzheimer's disease confirmed at necropsy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 57(8), 967–972. <https://doi.org/10.1136/jnnp.57.8.967>
- Nguyen, A.S., Chubb, C. & Huff, F.J. (2003). Visual identification and spatial location in Alzheimer's disease. *Brain and Cognition*, 52(2), 155-166. [https://doi.org/10.1016/s0278-2626\(03\)00031-9](https://doi.org/10.1016/s0278-2626(03)00031-9).
- Ninomiya T, Ohara T, Hirakawa Y, Yoshida D, Doi Y, Hata J, Kanba, S., Iwaki, T., & Kiyohara, Y. (2011). Midlife and late-life blood pressure and dementia in Japanese elderly: The Hisayama Study. *Hypertension*, 58(1), 22–8. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.163055>
- Nishinwaki, Y., Breeze, E., Smeeth, L., Bulpitt, C.J., Peters, R., & Fletcher, A.E. (2004). Validity of the Clock-Drawing test as a screening tool for cognitive impairment in the elderly. *American Journal of Epidemiology*, 160(8), 797-807. <https://doi.org/10.1093/aje/kwh288>
- Ohara T, Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, Hata J, Iwaki T, Kanba, S., & Kiyohara, Y. (2011). Glucose tolerance status and risk of dementia in the community: The Hisayama Study. *Neurology*, 77(12), 1126–34. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31822f0435>.
- Olin, J.T., Katz, I.R., Meyers, B.S, Meyers, B.S., Schneider, L.S. & Lebowitz, B.D. (2002). Provisional Diagnostic Criteria for Depression of Alzheimer Disease: rationale and Background. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 10(2), 129-141. <https://doi.org/10.1176/appi.ajgp.10.2.129>
- Olson, J.M., Goddard, K.A. & Dudek, D.M. (2001). The amyloid precursor protein locus and very-late-onset Alzheimer disease. *American Journal of human genetics*, 69(4), 895-899.
- Organización Mundial de la Salud (2020, 21 de septiembre). Demencia. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- Östberg, P., Fernaeus, E., Hellström, A., Bogdanovic, N. & Wahlund, L. (2005). Impaired verb fluency: A sign of mild cognitive impairment. *Brain and Language*, 95(2), 273-279. <https://doi.org/10.1016/j.bandl.2005.01.010>
- Osterrieth, P.A. (1944). Le test de copie d'une figure complexe: contribution l'étude de la perception et de la mémoire. *Archives de Psychologie*, 30, 206-356.

- Parbo, P., Ismail, R., Hansen, K.V., Amidi, A., Mårup, F.H., Gottrup, H., Braendgaard, H., Eriksson, B.O., Eskildsen, S., Lund, T.E., Tietze, A., Edison, P., Pavese, N., Stokholm, M.G., Borghammer, P., Hinz, R., Aenerud, J., & Brooks, D.J. (2017). Brain inflammation accompanies amyloid in the majority of mild cognitive impairment cases due to Alzheimer's disease. *Brain*, 140(7), 2002-2011. <https://doi.org/10.1093/brain/awx120>.
- Parnetti, L. (2000). Therapeutic options in dementia. *Journal of Neurology*, 247, 163-168. <https://doi.org/10.1007/s004150050556>
- Park, J.E., Jeon, S.Y., Kim, S.A., Kim, J.H., Kim, S.H., Lee, K.W., Hwang, Y.J., Jung, G., Suk, H.W., Park, S., & Lee, D.Y. (2019). A Multidomain Intervention for Modifying Lifestyle Habits Reduces the Dementia Risk in Community-Dwelling Older Adults: A Single-Blinded Randomized Controlled Pilot Study. *Journal of Alzheimer's Disease*, 70(1), 51-60. <https://doi.org/10.3233/JAD-190016>.
- Patterson, C. (2018) Informe mundial sobre el Alzheimer 2018. La investigación de vanguardia sobre la demencia: nuevas fronteras. Londres: Alzheimer's Disease International (ADI).
- Pedrosa Serrano, M. Mecanismos bioquímicos de la Enfermedad de Alzheimer: aproximaciones terapéuticas. (Trabajo fin de grado. Universidad Complutense). Recuperado de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARCOS%20PEDROSA%20SERRANO.pdf>
- Pendlebury, S.T., & Rothwell, P.M. (2009). Prevalence, incidence, and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurology*, 8(11), 1006–18
- Pennanen, C., Kivipelto, M., Tuomainen, S., Hartikainen, P., Hänninen, T., Laakso, M.P., ... Soininen, H. (2004). Hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment and early AD. *Neurobiology of Aging*, 25, 303–310.
- Perry, R.J., & Hodges, J.R. (1999). Attention and executive deficits in Alzheimer's disease. A critical review. *Brain*, 122, 383-404. <https://doi.org/10.1093/brain/122.3.383>
- Perry, R.J., Watson, P., & Hodges, J.R. (2000). The nature and staging of attention dysfunction in early (minimal and mild) Alzheimer's disease: relationship to episodic and semantic memory impairment. *Neuropsychologia*, 38, 252–71. [https://doi.org/10.1016/s0028-3932\(99\)00079-2](https://doi.org/10.1016/s0028-3932(99)00079-2)
- Peskind, E.R., Riekse, R., Quinn, J.F., Kaye, J., Clark, C.M., Farlow, M.R., ... Galaski, D. (2005). Safety and acceptability of the research lumbar puncture. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 19, 220–225
- Petersen, C.P., Caracciolo, B., Brayne, C., Gauthier, S., Jelic, V., & Fratiglioni, L. (2014). Mild Cognitive impairment: a concept in evolution. *Journal of Internal Medicine*, 275(3), 214-228.
- Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Tangalos, E.G., & Kokmen, E. (1999). Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Archives of Neurology*, 56(3), 303-308.
- Petersen, R. C., Stevens, J. C., Ganguli, M., Tangalos, E. G., Cummings, J. L., & DeKosky, S. T. (2001). Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 56(9), 1133-1142.

- Petersen, R.C., Stevens, M., de Graaff, E., Wauters, E., van Baren, J., Hillebrand, M., ...Heutink, P. (1998). Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*, 393, 702-705.
- Pfeffer, R.I., Kurosaki, T.T., Harrah, C.H., Chance, J.M., & Filos, S. (1982) Measurement of functional activities in older adults in the community. *Journal of Gerontology*, 37, 323-339. <https://doi.org/10.1093/geronj/37.3.323>
- Piatt, A.L., Fields, J.A., Paolo, A.M. & Tröster, A.I. (1999). Action (verb naming) fluency as an executive function measure convergent and divergent evidence of validity. *Neuropsychologia*, 37, 1499-1503. [https://doi.org/10.1016/s0028-3932\(99\)00066-4](https://doi.org/10.1016/s0028-3932(99)00066-4).
- Pitner, J.K. & Bachman, D.L. (2004) A synopsis of the practice parameters on dementia from the American Academy of Neurology on the diagnosis of dementia. *The Consultant pharmacist*, 19, 52-63. <https://doi.org/10.4140/tcp.n.2004.52>
- Politis, D.G. & Rubinstein, W. (2008). Heterogeneidad clínica de la demencia y severidad de la apraxia en pacientes con demencia tipo Alzheimer. *Summa Psicológica UST*, 5(2), 41-52.
- Poorkaj, P., Bird, T.D., Wijsman, E., Nemens, E., Garruto, R.M., Anderson, L., ...Schellenberg, G.D. (1998). Tau is a candidate gene for chromosome 17 frontotemporal dementia. *Annals of neurology*, 43(6), 815-825.
- Postuma, R.B., Berg, D., Stern, M., Poewe, W., Olanow, C.W., Oertel, W., Obeso, J., Marek, K., Litvan, I., Lang, A.E., Halliday, G., Goetz, C.G., Gasser, T., Dubois, B., Chan, P., Bloem, B.R., Adler, C.H., & Deuschl, G. (2015). MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 30(12): 1591-601. <https://doi.org/10.1002/mds.26424>
- Price, J.C., Klunk, W.E., Lopresti, B.J., Lu, X., Hoge, J.A., Ziolkowski, S.K., Holt, D.P., Meltzer, C.C., Dekosky, S.T., & Mathis, C.A. (2005). Kinetic modeling of amyloid binding in humans using PET imaging and Pittsburgh Compound-B. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, 25(11), 1528-1547. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600146>
- Price, J.L. & Morris, J.C. (1999) Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Annals of neurology*, 45(3), 358-368. [https://doi.org/10.1002/1531-8249\(199903\)45:3<358::aid-ana12>3.0.co;2-x](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199903)45:3<358::aid-ana12>3.0.co;2-x).
- Prvulovic, D., Van de Ven, V., Sack, A.T., Maurer, K. & Linden, D.E. (2005). Functional Activation Imaging in Aging and Dementia. *Psychiatry research*, 140 (2), 97-113. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2005.06.006>.
- Querfurth, H.W. & LaFerla, F.M. (2010). Alzheimer's disease. *The New England Journal of Medicine*, 362; 329-344. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0909142>
- Raber, J., Huang, Y., & Ashford, J.W. (2004). ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology. *Neurobiology of Aging*, 25, 41-50.
- Raji, C.A., Ho, A.J., Parikshak, N.N., Becker, J.T., Lopez, O.L., Kuller, L.H., Hua, X., Leow, A.D., Toga, A.W., & Thompson, P.M. (2010). Brain structure and obesity. *Human Brain Mapping*, 31(3), 353-64.

- Raskin, S.H., Sliwinski, M. & Barod, J. (1992). Clustering strategies on tasks of verbal fluency in Parkinson's disease. *Neuropsychologia*, 30, 95-99. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(92\)90018-h](https://doi.org/10.1016/0028-3932(92)90018-h)
- Rasquin, S.M.C, Lodder, J., Visser, P.J., & Verhey, F.R.J. (2004). Predictive Accuracy of MCI Subtypes for Alzheimer's Disease and Vascular Dementia in Subjects with Mild Cognitive Impairment: A 2-Year Follow-Up Study. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 19, 113-119
- Ray, S., Britschgi, M., Herbert, C., Takeda-Ukimura, Y., Boxer, A., Blennow, K., Friedman, L.F., Galasko, D.R., Jutel, M., Karydas, A., Kaye, A.J., Leszek, J,m Miller, B.L., & Wyss-Coray, T. (2007). Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nature*, 13, 1359-1362. <https://doi.org/10.1038/nm1653>.
- Rebeck, G.W., Reiter, J.S., Stricklinad, D.K., & Hyman, B.T. (1993). Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: Allelic variation and receptor interactions. *Neuron*, 11(4), 575-580. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(93\)90070-8](https://doi.org/10.1016/0896-6273(93)90070-8)
- Reilly, J., Pelle, J. E., Antonucci, S. M., & Grossman, M. (2011). Anomia as a marker of distinct semantic memory impairments in Alzheimer's disease and semantic dementia. *Neuropsychology*, 25(4), 413–426. <https://doi.org/10.1037/a0022738>
- Reiman, E.M., Quiroz, Y.T., Fleisher, A.S., Chen, K., Velez-Pardos, C., Jimenez-Del-Rio, M.,...Lopera, F. (2012) Brain imaging and fluid biomarker analysis in young adults at genetic risk for autosomal dominant Alzheimer's disease in the presenilin 1 E280A kindred: A case-control study. *Lancet Neurology*, 11(2), 1048–56.
- Reisberg, B., Ferris, S.H., De León, M.J., Kluger, A., Franssen, E., Borenstein, J. & Alba, R.C. (1989). The stage specific temporal course of Alzheimer's disease: functional and behavioral concomitants based upon cross-sectional and longitudinal observation. *Progress in clinical and biological research*, 317, 23-41.
- Reisberg, B., Ferris, S.H., Kluger, A., Franssen, E., de León, M.J., Mittelman, M., ... Alba, R. (1989). Symptomatic changes in CNS aging and dementia of the Alzheimer type: cross-sectional, temporal and remediable concomitants. In Bergener M, Reisberg B (Ed.). *Diagnosis and treatment of senile dementia*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 193-223.
- Reitan, R. M., & Wolfson, D. (1995). Category test and trail making test as measures of frontal lobe functions. *The Clinical Neuropsychologist*, 9(1), 50-56.
- Rey, A. (1941). L'examen psychologique dans le cas d'encéphalopathie traumatique. *Archives de Psychologie*, 28, 286-340.
- Ribeiro, F, De Mendonca, A. & Guerreiro, M. (2006). Mild cognitive impairment: deficits in cognitive domains other than memory. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 21, 284–290.
- Rios, L.F., Pascual, S., Santos, E., López, T., Fernández, I., Navas, T., Casadevall, C. & Tejero, F. (2001). Memoria de trabajo y actividades complejas de la vida diaria en el estadio inicial de la enfermedad de Alzheimer. *Revista de Neurología*, 33, 719-722. <https://doi.org/10.33588/rn.3308.2001226>

- Ritchie, K., Artero, S., & Touchon, J. (2001). Classification criteria for mild cognitive impairment: a population-based validation study. *Neurology*, 56(1), 37-42. <https://doi.org/10.1212/wnl.56.1.37>.
- Robinson-Whelen, S. (1992). Benton Visual Retention Test performance among normal and demented older adults. *Neuropsychology*, 6(3), 261-269. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.6.3.261>
- Rodríguez, N.R., Juncos-Rabadán, O., & Mayo, D.F. (2008). Discriminación mediante marcadores cognitivos del deterioro cognitivo leve frente a envejecimiento normal. *Revista española de Geriatria y Gerontología*, 43 (5), 291-298.
- Rogers, J., Lubner-Narod, J., Styren, S.D., & Civin, W.H. (1988). Expression of immune system-associated antigens by cells of the human central nervous system: Relationship to the pathology of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 9, 339-349. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(88\)90263-7](https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90263-7)
- Rojas, G., Ladrón de Guevara, D., Jaimovich, R., Brunetti, E., Faure, E., & Gálvez, M. (2016). Neuroimágenes en demencias. Neuroimaging in dementias. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27(3), 338-356.
- Rönnemaa, E., Zethelius, B., Lannfelt, L., & Kilander, L. (2011). Vascular risk factors and dementia: 40-year follow-up of a population-based cohort. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 31(6), 60-6.
- Rosser, A. & Hodges, J.R. (1994). Initial letter and semantic category fluency in Alzheimer's disease, Huntington's disease, and progressive supranuclear palsy. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 57, 1389-1394.
- Rouleau, I., Salmon, D.P., Butters, N., Kennedy, C. & McGuire, K. (1992). Quantitative and qualitative analysis of clock drawings in Alzheimer's and Huntington's disease. *Brain and Cognition*, 18, 70-87. [https://doi.org/10.1016/0278-2626\(92\)90112-y](https://doi.org/10.1016/0278-2626(92)90112-y).
- Ruhè, H.G., Dekker, J.J., Peen, J., Holman, R. & De Jonghe, F. (2005). Clinical use of the Hamilton depression rating scale: is increased efficiency possible? A post hoc compare of Hamilton depression rating scale, Maier and Bech subscales, clinical global impression, and symptom checklist-90 scores. *Comprehensive Psychiatry*, 46, 417-427. <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2005.03.001>
- Rusanen, M., Kivipelto, M., Quesenberry, C.P., Zhou, J., & Whitmer, R.A. (2010). Heavy smoking in midlife and long-term risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Archives of Internal Medicine*, 171(4), 333-9.
- Sacuiu, S., Gustafson, D., Johansson, B., Thorvaldsson, V., Berg, S., Sjögren, M., Guo, X., Östling, S., & Skoog, I. (2009). The pattern of cognitive symptoms predicts time to dementia onset. *Alzheimer's & Dementia*, 5(3), 199-206. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2008.10.007>
- Salimi, S., Irish, M., Foxe, D., Hodges, J.R., Piguet, O., & Burrell, J.R. (2018). Can visuospatial measures improve the diagnosis of Alzheimer's disease? *Alzheimer's & Dementia: diagnosis, assessment & disease monitoring*, 10, 66-74. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2017.10.004>

- Sando, S.B., Melquist, S., Cannon, A., Hutton, M., Sletvold, O., Saltvedt, I., White, R.L., Lydersen, S., & Aasly, J. (2008). Risk-reducing effect of education in Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 23(11), 1156-1162. <https://doi.org/10.1002/gps.2043>.
- Sattler, C., Toro, P, Schönknecht, P. & Schröder, J. (2012). Cognitive activity, education and socioeconomic status as preventive factors for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Psychiatry Research*, 196(1), 90-95. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2011.11.012>.
- Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Schmechel, D., George-Hyslop, P.H., Pericak-Vance, M.A., Joo, S.H., Rosi, B.L., Gusella, J.F., Crapper-MacLachlan, D.R., Alberts, M.J., Hulette, C., Crain, B., Goldgaber, D., & Roses, A.D. (1993). Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*, 43, 1467-72. <https://doi.org/10.1212/WNL.43.8.1467>
- Savundranayagam, M.Y., Hummert, M.L., & Montgomery, R.J.V. (2005). Investigating the effects of communication problems on caregiver burden. *The Journals of gerontology. Series B, Psychological sciences and social sciences*, 60(1), 48-55. <https://doi.org/10.1093/geronb/60.1.s48>.
- Saykin, A.J., Flashman, L.A., Frutiger, S.A., Johnson, S.C., Mamourian, A.C., Moritz, C.H., O'Jile, J.R., Riordan, H.J., Santulli, R.B., Smith, C.A., & Weaver, J.B. (1999). Neuroanatomic substrates of semantic memory impairment in Alzheimer's disease: Patterns of functional MRI activation. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 5(5), 377-392. <https://doi.org/10.1017/S135561779955501X>
- Sayre, L.M., Smith, M.A., Perry, G. (2001). Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Current Medicinal Chemistry*, 8, 721-38. <https://doi.org/10.2174/0929867013372922>.
- Selkoe, D.J. (1991). The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, 6(4), 487-498. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90052-2](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90052-2)
- Selkoe, D.J. (2005). Defining molecular targets to prevent Alzheimer Disease. *Archives of Neurology*, 62(2), 192-195. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.2.192>.
- Semenza, C., Mondini, S., Borgo, F., Pasini, M., & Sgaramella, M. T. (2003). Proper Names in Patients with Early Alzheimer's Disease. *Neurocase*, 9(1), 63-69. <https://doi.org/10.1076/neur.9.1.63.14370>
- Semenza, C., Nichelli, F., & Gamboz, N. (1996). The primacy effect in free recall of lists of common and proper names: A study on young, elderly, and Alzheimer's disease subjects. *Brain and Language*, 55(1), 45-47.
- Seo, E.H., Kim, H., Choi, K.Y., Lee, K.H., & Choo, I.H. (2018). Pre-Mild Cognitive Impairment: can visual memory predict who rapidly converts to Mild Cognitive Impairment? *Psychiatry Investigation*, 15(9), 869-875. <https://doi.org/10.30773/pi.2018.07.29.1>
- Seubert, P., Vigo-Pelfrey, C., Esch, F., Lee, M., Dovey, H, Davis, D., Sinha, S., Schiossmacher, M., Whaley, J., Swindlehurst, C., McCormack, R., Selkoe, D., Lieberburg, I., & Schenk, D. (1992). Isolation and quantification of soluble Alzheimer's β -peptide from biological fluids. *Nature*, 359, 325-327. <https://doi.org/10.1038/359325a0>

- Scahill, R.I., Frost, C., Jenkins, R., Whitwell, J.L., Rossor, M.N. & Fox, N.C. (2003). A longitudinal study of brain volume changes in Normal Aging using serial registered Magnetic Resonance Imaging. *Archives of Neurology*, 60(7), 989-994. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.7.989>.
- Scheuner, D., Eckman, C., Jensen, M., Song, X., Citron, M., Suzuki, N., Bird, T.D., Hardy, J., Hutton, M., Kukull, W., Larson, E., Levy-Lahad, E., Viitanen, M., Peskind, E., Poorkaj, P., Schellenberg, G., Tanzi, R., Wasco, W., Lannfelt, L., Selkoe, D., & Younkin, S. (1996). Secreted amyloid beta protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 2, 864-870. <https://doi.org/10.1038/nm0896-864>
- Schneider, N., & Yvon, C. (2013). A review of multidomain interventions to support healthy cognitive ageing. *The journal of nutrition, health & aging*, 17, 252-257. <https://doi.org/10.1007/s12603-012-0402-8>.
- Schott, J.M., Price, S.L., Frost, C., Whitwell, J.L., Rossor, M.N., & Fox, N.C. (2005). Measuring atrophy in Alzheimer's disease: a serial MRI study over 6 and 12 months. *Neurology*, 65(1): 119-124. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000167542.89697.0f>
- Schottky, J. (1932). Ueber praesenile Verblodungen. *Zeitschrift für die gesamte Neurologie und Psychiatrie*, 140, 333-397
- Schrag, A., Jahanshahi, M., & Quinn, N. (2000). What contributes to quality of life in patients with Parkinson's disease? *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry*, 69(3), 308-312. <https://doi.org/10.1136/jnnp.69.3.308>.
- Schrag, M., Mueller, C., Zabel., Crofton, A., Krisch, W.M., Ghribi, O., Squitti, R., & Perry, G. (2013). Oxidative stress in blood in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a meta-analysis. *Neurobiology of disease*, 59, 100-110. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.07.005>.
- Sharp, E.S., Reynolds, C.A., Pedersen, N.L., & Gatz, M. (2010). Cognitive engagement and cognitive aging: Is openness protective? *Psychology Aging*, 25(1), 60-73. <https://doi.org/10.1037/a0018748>.
- Sheikh, J.I., & Yesavage, J.A. (1986). Geriatric Depression Scale (GDS): recent evidence and development of a shorter version. *Clinical Gerontologist: The Journal of Aging and Mental Health*, 5(1-2), 165-173. https://doi.org/10.1300/J018v05n01_09
- Sheinerman, K., Tsivinsky, V., Crawford, F., Mullan, M., Abdullah, L., & Umansky, S. (2012). Plasma microRNA biomarkers for detection of mild cognitive impairment. *Aging*, 4(9), 590-605. <https://doi.org/10.18632/aging.100486>.
- Siedlecki-Wullich, D., Catalá-Solsona, J., Fábregas, C., Hernández, I., Clarimon, J., Lleó, A., Boada, M., Saura, C.A., Rodríguez-Álvarez, J., & Miñano-Molina, A.J. (2019). Altered microRNAs related to synaptic function as potential plasma biomarkers for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy* 11(46). <https://doi.org/10.1186/s13195-019-0501-4>
- Shoji, M., Golde, T.E., Ghiso, J., Cheung, T.T., Estus, S., Shaffer, L.M., Cai, X.D., McKay, D.M., Tintner, R., & Frangione, B. (1992). Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing. *Science*, 258, 126-129. <https://doi.org/10.1126/science.1439760>.

- Schrijvers, E.M.C., Koudstaal, P.J., Hofman, A., & Breteler, M.M.B. (2011). Plasma clusterin and the risk of Alzheimer's Disease. *Journal of the American Medical Association*, 305(13), 1322-1326. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.381>
- Shulman, K.I., Shedletsky, R. & Silver, I.L. (1986). The challenge of time: clock-drawing and cognitive function in the elderly. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 1, 135-140. <https://doi.org/10.1002/gps.930010209>
- Small, B.J., Fratiglioni, L., Viitanen, M., Winblad, B., & Bäckman, L. (2000). The course of cognitive impairment in preclinical Alzheimer's disease. *Archives Neurology*, 57, 839–844.
- Small, B.J., Herliyz, A., Fratiglioni, L., Almkvist, O., & Bäckman, L. Cognitive predictors of incident Alzheimer's disease: A prospective longitudinal study. *Neuropsychology*, 11(3), 413-420. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.11.3.413>
- Small, G.W., Kepe, V., Ercoli, L.M., Siddarth, P., Bookheimer, S.Y., Miller, K.J., Lavretsky, H., Burggren, A.C., Cole, G.M., Vinters, H.V., Thompson, P.M., Huang, S.-C., Satyamurthy, N., Phelps, M.E., & Barrio, J.R. (2006). PET of brain amyloid and tau in mild cognitive impairment. *The New England Journal of medicine*, 355(25), 2652-2663. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa054625>.
- Snowdon, D.A. (1997). Aging and Alzheimer's disease: Lessons from the Nun Study. *Gerontologist*, 37, 150-156.
- Soares, H.D., Chen, Y., Sabbagh, M., Rohrer, A., Schrijvers, E., & Breteler, M. (2009). Identifying early markers of Alzheimer's disease using quantitative multiplex proteomic immunoassay panels. *Biomarkers in brain disease*, 1180, 56-67. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05066.x>.
- Somasundaram, K. & El-Deiry, W. (2000) Tumor suppressor p53: regulation and function. *Frontiers in Bioscience*, 5, 424-437. <https://doi.org/10.2741/somasund>.
- Sperling, R.A., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Bennett, D.A., Craft, S., Fagan, A.M., Iwatsubo, T., Jack, C.R., Kaye, J., Montine, T.J., Park, D.C., Reiman, E.R., Rowe, C.C., Siemers, E., Stern, Y., Yaffe, K., Carrillo, M.C., Thies, B., Morrison-Bogorad, M., ... Phelps, C.H. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer & Dementia*, 7(3), 280-292 <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.003>
- Spillantini, M.G., Bird, T.D. & Ghetti, B. (1998) Frontotemporal dementia and Parkinsonism linked to chromosome 17: a new group of tauopathies. *Brain Pathology*, 8 (2), 387–402
- Spinney, L. (2014). Alzheimer's disease: The forgetting gene. *Nature*, 510(7503), 26-8. <https://doi.org/10.1038/510026a>
- Spreen, O. & Strauss, E. (1991). A compendium of neuropsychological test. New York: Oxford University Press.
- Spreen, O. & Strauss, E. (1998). A compendium of neuropsychological test. Administration, norms and commentary. 2 ed. New York: Oxford. p. 447-59.

- Stanga, S., Lanni, C., Sinforiani, E., Mazzini, G., & Racchi, M. (2012). Searching for predictive blood biomarkers: misfolded p53 in Mild Cognitive Impairment. *Current Alzheimer Research*, 9(10), 000-000.
- Stephen, R., Hongisto, K., Solomon, A., & Lönnroos, E. (2017). Physical Activity and Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *The Journals of Gerontology Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 72(6), 733-739. <https://doi.org/10.1093/gerona/glw251>
- Stelzmann, R.A., Schnitzlein H.N., & Murtagh F.R. (1995). An English Translation of Alzheimer's 1907 Paper, "Über eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde". *Clinical Anatomy*, 8, 429-431.
- Stern, Y. (2002). What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 8, 448-460. [https://doi.org/10.1017.S1355617701020240](https://doi.org/10.1017/S1355617701020240)
- Stern, Y., Arenaza-Urquijo, E.M., Bartrés-Faz, D., Belleville, S., Cantilon, M., Chetelat, G.,... Vuoksima, E. Whitepaper: Defining and investigating cognitive reserve, brain reserve, and brain maintenance. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association*, 18 <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.07.219>
- Savva, G.M. & Brayne, C. (2010). Epidemiología y repercusión de la demencia. En Weiner, M.F. & Lipton, A.M. (eds.). *Manual de Enfermedad de Alzheimer y otras demencias* (pp. 17-21). Madrid: Editorial Panamericana.
- Swerdlow, R.H., Burns, J.M., & Khan, S.M. (2010). The Alzheimer's disease mitochondrial cascade hypothesis. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(s2), 265-279. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0977-0>
- Tabert, M. H., Manly, J. J., Liu, X., Pelton, G. H., Rosenblum, S., Jacobs, M., Zamora, D., Goodkind, M., Bell, K., Stern, Y., & Devanand, D. P. (2006). Neuropsychological prediction of conversion to Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *Archives of General Psychiatry*, 63(8), 916-924. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.8.916>.
- Tans, M.S., Yu, J.T., & Tan, L. (2013). Bridging integrator 1 (BIN1): form, function, and Alzheimer's disease. *Trends in molecular medicine*, 19(10), 594-603. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2013.06.004>
- Tappen, R. M., Rosselli, M., & Engstrom, G. (2010). Evaluation of the Functional Activities Questionnaire (FAQ) in cognitive screening across four American ethnic groups. *Clinical Neuropsychology*, 24(4), 646-661. <https://doi.org/10.1080/13854040903482855>
- The North American Menopause Society (NAMS) (2016). Memory and impact of reproductive aging. The North American Menopause Society (NAMS). Recuperado de <http://www.menopause.org/docs/default-source/2016-docs/memory-and-impact-of-reproductive-aging.pdf>
- 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" (1998). *Neurobiology of Aging*, 19(2), 109-116.

- Thompson, S.A., Graham, K.S., Patterson, K., Sahakian, B.J., & Hodges, J.R. (2002). Is knowledge of famous people disproportionately impaired in patients with early and questionable Alzheimer's disease? *Neuropsychology*, 16(3), 344-358. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.16.3.344>
- Tirapu, J. (2007). La evaluación neuropsicológica. *Intervención Psicosocial*, 16(2), 189-211
- Toledo, J.B., Shaw, L.M., & Trojanowski, J.Q. (2013). Plasma amyloid beta measurements – a desired but elusive Alzheimer's disease biomarker. *Alzheimer's Research & Therapy*, 5(8). <https://doi.org/10.1186/alzrt162>
- Tonello, S., Stradolini, F., Abate, G., Uberti, D., Serpelloni, M., Carrara, S., & Sardini, E. (2019). Electrochemical detection of different p53 conformations by using nanostructures surfaces. *Scientific reports*, 9, 17347. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53994-6>
- Traykov, L., Raoux, N., Latour, F., Gallo, L., Hanon, O., Baudic, S., Bayle, C., Wenisch, E., Remy, P., & Rigaud, A.S. (2007). Executive functions deficit in mild cognitive impairment. *Cognitive and Behavioral Neurology*, 20(4), 219-224. <https://doi.org/10.1097/WNN.0b013e31815e6254>.
- Trigás-Ferrín, M., Ferreira-González, L., & Mejide-Míguez, H. (2011). Escalas de valoración funcional en el anciano. *Galicia Clínica*, 72(1), 11-16.
- Troyer, A.K., Moscovitch, M. & Winocur, G. (1997). Clustering and switching as two components of verbal fluency: Evidence from younger and older healthy adults. *Neuropsychology*, 11, 138-146. <https://doi.org/10.1037//0894-4105.11.1.138>.
- Tuppo, E. E., & Arias, H. R. (2005). The role of inflammation in Alzheimer's disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(2), 289-305. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2004.07.009>
- Turkevich, J., Stevenson, P. & Hillier, J. (1951). A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society Home*, 11, 55-75. <https://doi.org/10.1039/df9511100055>
- Uberti, D., Carsana, T., Bernardi, E., Rodella, L., Grigolato, P., Lanni, C., Racchi, M., Govoni, S., & Memo, M. (2002) Selective impairment of p53-mediated cell death in fibroblasts from sporadic Alzheimer's disease patients. *Journal of Cell Science*. 115(15), 3131–3138.
- Uberti, D., Lanni, C., Carsana, T., Francisconi, S., Missale, C., Racchi, M.,... Memo, M. (2006). Identification of mutant-like conformation p53 in fibroblasts from sporadic Alzheimer's disease patients. *Neurobiology of Aging*, 27(9), 1193-1201.
- Ulrich, J.D., Ulland, T.K., Colonna, M., & Holtzman, D.M. (2017). Elucidating the role of TREM2 in Alzheimer's Disease. *Neuron*, 94(2), 237-248. doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.042
- Valls-Pedret, C., Molinuevo, J.L., & Rami, L. (2010). Diagnóstico precoz de la Enfermedad de Alzhéimer: fase prodrómica y preclínica. *Revista de Neurología*, 51(8), 471-480.
- van de Haar, H. J., Burgmans, S., Jansen, J. F. A., van Osch, M. J. P., van Buchem, M. A., Muller, M., Hofman, P.A.M., Verhey, F.R.J., & Backes, W. H. (2016). Blood-Brain Barrier Leakage in Patients with Early Alzheimer Disease. *Radiology*, 281(2), 527-535. <https://doi.org/10.1148/radiol.2016152244>.

- Van de Rest, O., Wang, Y., Barnes, L.L., Tangney, C., Bennet, D.A., & Morris, M.C. (2016). APOE ϵ 4 and the associations of seafood and long-chain omega-3 fatty acids with cognitive decline. *Neurology*, 86(22), 2063-2070. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002719>.
- Verma, M. & Howard, R.J. (2012). Semantic memory and language dysfunction in early Alzheimer's disease: a review. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 27(12). <https://doi.org/10.1002/gps.3766>
- Vicente, M.J. (1992). Envejecimiento normal versus demencia de alzheimer: valor del lenguaje en el diagnóstico diferencial. *Revista de Logopedia, foniatría y audiolología*, 12(3), 171-179. [https://doi.org/10.1016/S0214-4603\(92\)75548-X](https://doi.org/10.1016/S0214-4603(92)75548-X)
- Villemagne, V.L., Burnham, S., Bourgeat, P., Brown, B., Ellis, K.A., Salvado, O., Szoeki, C., Macaulay, S.L., Martins, R., Maruff, P., Ames, D., Rowe, C.C., & Masters, C.L. (2013). Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: A prospective cohort study. *The Lancet Neurology*, 12(4), 357–67. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70044-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70044-9).
- Wang H-X, Xu W, Pei J-J. (2012). Leisure activities, cognition and dementia. *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease*, 1822(3), 482–91.
- Wavrant-DeVrièze, F., Lambert, J-C., Stas, L., Crook, R., Cotel, R., Pasquier, F. (1999). Association between coding variability in the LRP gene and the risk of late-onset Alzheimer's disease. *Human Genetics*, 104 (5), 432-434.
- Weakley, A. & Schmitter-Edgecombe, M. (2014). Analysis of verbal fluency ability in Alzheimer's disease: the role of clustering, switching and semantic proximities. *Archives of Clinical Neuropsychology*, 29(3), 256-268. <https://doi.org/10.1093/arclin/acu010>
- Wechsler, D. (1999). Wechsler Abbreviated Scale of Intelligence. The Psychological Corporation: Harcourt Brace & Company. New York, NY.
- Whitmer RA, Gustafson DR, Barrett-Connor E, Haan MN, Gunderson EP, Yaffe K. (2008). Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology*, 71, 1057–64.
- Whitmer, R. & Nickerson, H. (2015). Alzheimer's Association International Conference, Washington, D.C.
- Whooley, M.A., Kip, K.E., Cauley, J.A., Ensrud, K.E., Nevitt, M.C., & Browner, W.S. (1999). Depression falls and risk of fracture in older women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Archives of Internal Medicine*, 159, 484–490. <https://doi.org/10.1001/archinte.159.5.484>
- Williams, R.J. & Spencer J.P.E. (2011). Flavonoids, cognition, and dementia: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(1), 35-45. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.010>.
- Willis, B.L., Gao, A., Leonard, D., DeFina, L.F., & Berry, J.D. (2012). Midlife fitness and the development of chronic conditions in later life. *Archives of Internal Medicine*, 172(17), 1333–40. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2012.3400>

- Wilson, R.S., Mendes De Leon, C.F., Barnes, L.L., Schneider, J.A., Bienias, J.L., Evans, D.A., & Bennet, D.A. (2002). Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *Journal of the American Medical Association*, 287(6), 742–8. 59. <https://doi.org/10.1001/jama.287.6.742>.
- Wilson, R.S., Bennett, D.A., Bienias, J.L., Aggarwal, N.T., Mendes De Leon, C.F., Morris, M.C., Schneider, J.A., & Evans, D.A. (2002). Cognitive activity and incident AD in a population-based sample of older persons. *Neurology*, 59(12), 1910–4. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000036905.59156.a1>.
- Wixted, J.T. & Rohrer, D. (1994). Analyzing the dynamics of free recall: An integrative review of the empirical literature. *Psychometric Bulletin & Review*, 1, 89-106.
- Wood, P.L., Mankidy, R., Ritchie, S., Heath, D., Wood, J.A., Flax, J., Goodenowe, D.B. (2010). Circulating plasmalogen levels and Alzheimer Disease Assessment Scale – Cognitive scores in Alzheimer patients. *Journal of Psychiatry Neuroscience*, 35 (1), 59-62. <https://doi.org/10.1503/jpn.090059>
- Wu, H.Z., Ong, K.L., Seeher, K., Armstrong, N.J., Thakamuthu, A., Brodaty, H., Sachdev, P., & Mather, K. (2016). Circulating microRNAs as biomarkers of Alzheimer’s Disease: a systematic review. *Journal of Alzheimer’s disease*, 49(3), 755-766. <https://doi.org/10.3233/JAD-150619>.
- Xu WL, Atti AR, Gatz M, Pedersen NL, Johansson B, Fratiglioni L. (2011). Midlife overweight and obesity increase late-life dementia risk: A population-based twin study. *Neurology*, 3; 76(18), 1568–74.
- Xu, W.L., Caracciolo, B., Wang, H.X., Santoni, G., Winblad, B., & Fratiglioni, L. (2013). Accelerated progression from mild cognitive impairment to dementia among APOE $\epsilon 4\epsilon 4$ carriers. *Journal of Alzheimer’s Disease*, 33(2), 507-5015.
- Yang, L., Rieves, D., & Ganley, C. (2012). Brain amyloid imaging–FDA approval of florbetapir F18 injection. *The New England Journal of Medicine*, 367, 885–7. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1208061>
- Yesavage, J.A., Brink, T.L., Rose, T.L., Lum, O., Huang, V., Adey, M.B., & Leirer, V.O. (1983). Development and validation of a geriatric depression screening scale: A preliminary report. *Journal of Psychiatric Research*, 17, 37-49. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(82\)90033-4](https://doi.org/10.1016/0022-3956(82)90033-4)
- Yin, J.X., Han, P.C., Song, M., Nielsen, M., Beach, T.G., Serrano, G.E., Liang, W.S., Caselli, R.J., & Shi, J. (2018). Amyloid- β increases Tau by mediating Sirtuin 3 in Alzheimer’s Disease. *Molecular Neurobiology*, 55(11), 8592-8601. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0977-0>
- Zadikoff, C., Fox, S.H., Tang-Wai, D.F., Thomsen, T., de Bie, R.M., Wadia, P. ..., Marras, C. (2007). A comparison of the mini mental state exam to the Montreal cognitive assessment in identifying cognitive deficits in Parkinson’s disease. *Movement Disorders*, 23(2), 297–299
- Zanini, A.M., Wagner, G.P., Zortea, M., Segabinazi, J.D., Salles, J.F., Bandeira, D.R. & Trentini, C.M. (2014). Evidence of criterion validity for the Benton Visual Retention Test: comparison between older adults with and without a possible diagnosis of Alzheimer’s disease. *Psychology and Neuroscience*, 7 (2), 131-138. <https://doi.org/10.3922/j.psns.2014.006>

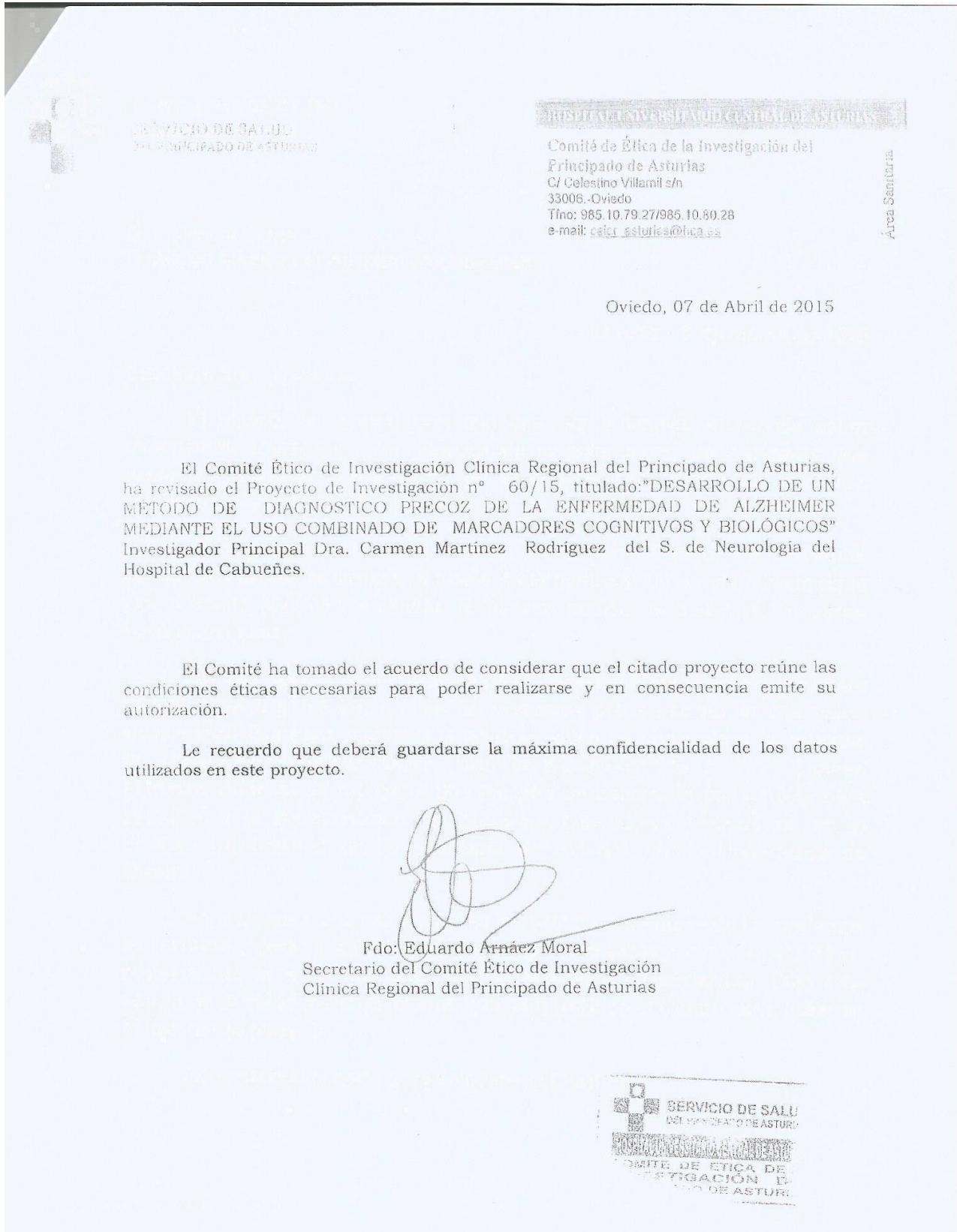
- Zarb, J. (1996). Correlates of depression in cognitively impaired hospitalized elderly referred for neuropsychological assessment. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 18, 713–723. <https://doi.org/10.1080/01688639608408294>
- Zentella, M., & Saldaña, Y. (1996) Papel fisiológico de los radicales libres. *Boletín de Educación Bioquímica*, 15(4), 152-161.
- Zingeser, L.B. & Berndt, R.S. (1990). Retrieval of nouns and verbs in agrammatism and anomia. *Brain and Language*, 39, 14-32. [https://doi.org/10.1016/0093-934x\(90\)90002-x](https://doi.org/10.1016/0093-934x(90)90002-x).

ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de evaluación del Hospital de Cabueñes

1. Mini-Mental State Examination.
2. Test del Reloj.
3. Trail Making Test.
4. Fluidez verbal semántica.
5. Fluidez verbal fonológica.
6. Subtest de semejanzas del Test de Barcelona.
7. Test de Denominación de Boston.
8. Subtest de listas de palabras del Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD).
9. Subtests de dibujos del GERMCIDE.
10. Subtest de praxia constructiva del CERAD.
11. Subtest de Dígitos (orden directo e inverso) de la Escala Wechsler de Inteligencia para Adultos.
12. Subtests de clave de números del test de Barcelona.

Anexo 2. Informe del Comité de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias.



Anexo 3. Protocolo de análisis de las muestras de sangre.

- Encender luz y campana.
- 1/2 Proporción de sangre = 1/2 Proporción de PBS (nevera). AGITAR bien para mezclarlo.
- Tubos nuevos con 1/3 FICOLL de la dilución de sangre (si hay 12 ml de sangre, 4 ml de FICOLL).
- Depositar nº 2 sobre FICOLL muy despacio para NO MEZCLAR y PIPETA NUEVA POR PACIENTE.
- Meter en centrifugación 25 min. a 2200 rpm. IGUALAR EN PESO CON AGUA.
- MIENTRAS CENTRIFUGA, ir a por HIELO a la 3º planta y preparar el BUFFER en tubos Eppendorf con micropipetas (microlitros).
 - TRISHCL (nevera) 10 µl
 - NP- 40 (sacar del armario y poner en agua caliente para diluir) 7'1 µl
 - PROTEASE INHIBITOR (congelador) 10 µl
 - NAACL (nevera) 27'7 µl
 - H₂O destilada 945 µl
- AGITAR bien el BUFFER hasta que quede todo bien difuminado. Poner 80 µl de BUFFER en cada microtubo (3 por paciente)
- Cuando termine de centrifugar, recoger el SUERO y a continuación, los LINFOCITOS hasta llenar 3 de los microtubos con Buffer como máximo por paciente. NO LLENAR DEL TODO. Por último, recoger los GÓBULOS ROJOS y eliminar todo el suero posible antes de congelarlo.
- Llevar los microtubos al SONICADOR en el 4º piso con 60 de potencia y 5 seg. y hacerlo 5 veces con cada microtubo. LIMPIAR con alcohol ANTES, entre MUESTRA Y MUESTRA de cada paciente, y al FINAL.
- Meter a ultracentrifugar en el 4º piso durante 20 min. a 12000 rpm a 4°C. Que quede balanceado.
- Recoger el líquido en nuevos microtubos eppendorf y dejar el sedimentado.

