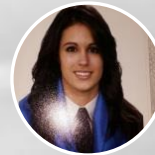
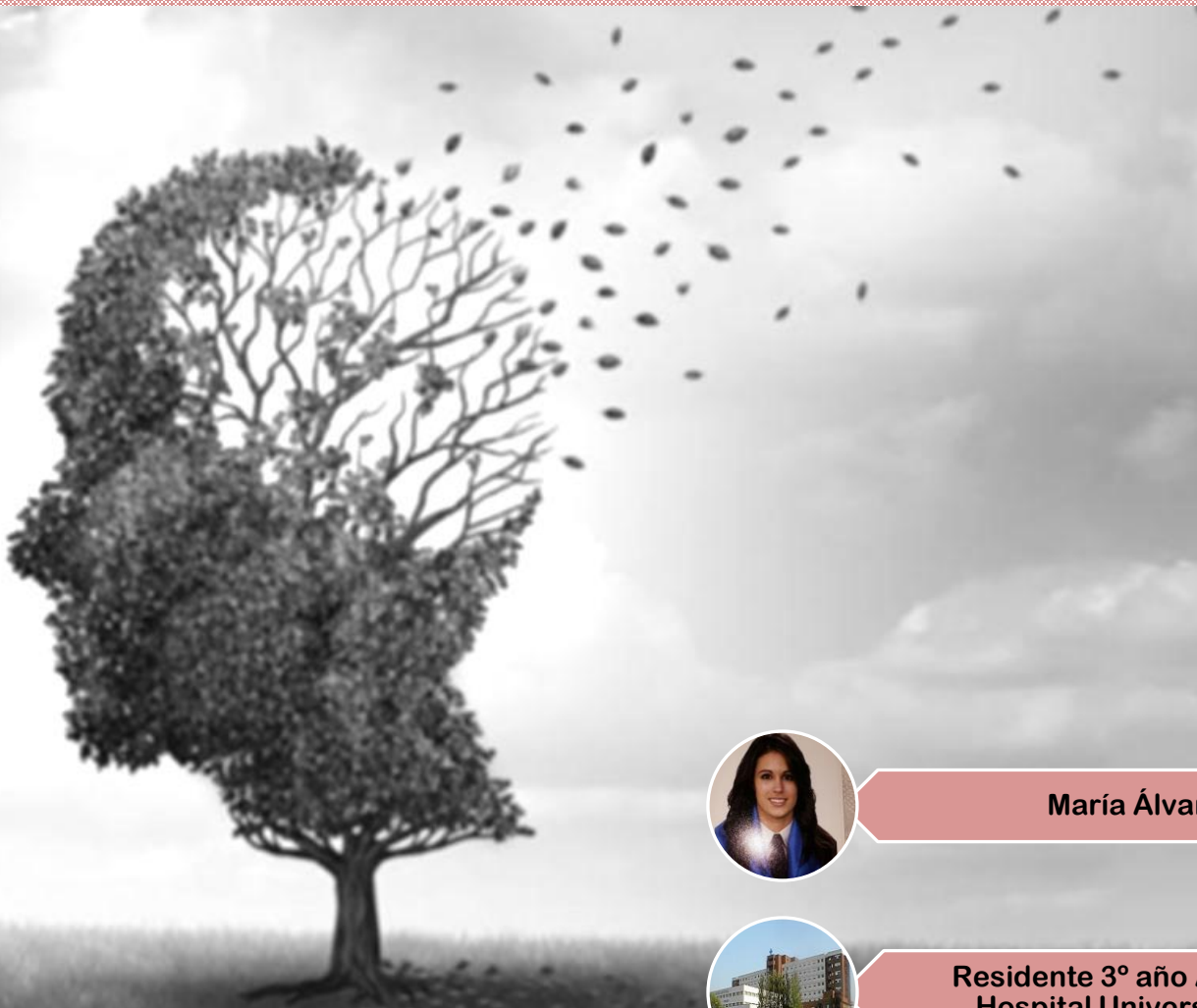


ESTUDIO BIOQUÍMICO EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER



María Álvarez Montuno



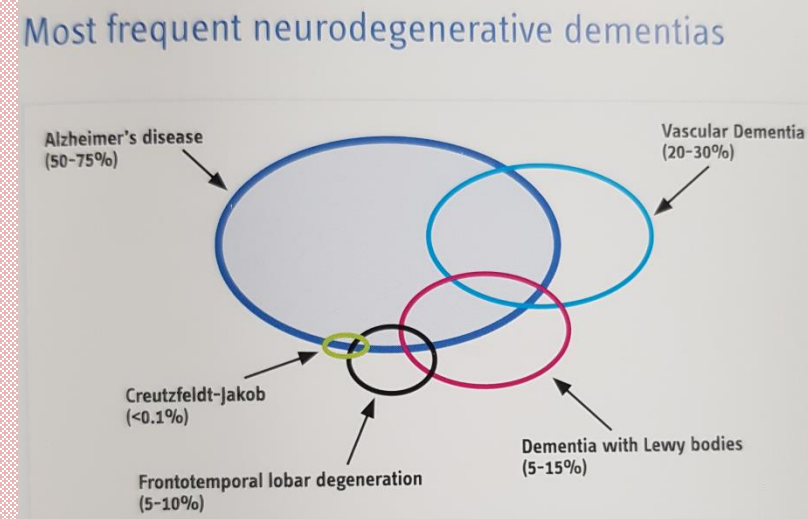
**Residente 3º año Análisis Clínicos en
Hospital Universitario de Badajoz**

ÍNDICE

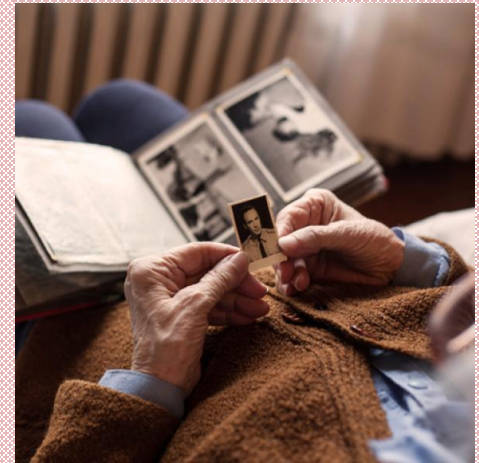
- **INTRODUCCIÓN**
- **MECANISMO NEUROBIOLÓGICO**
- **BIOMARCADORES DE ALZHEIMER**
- **ANÁLISIS EN NUESTRO LABORATORIO**
- **CONCLUSIONES**

INTRODUCCIÓN

- **La Enfermedad de Alzheimer (EA)**
 - Demencia más frecuente → 20% de ≥ 80 años
 - Trastorno degenerativo progresivo
 - Deterioro cognitivo y funcional grave
 - Actualmente es incurable

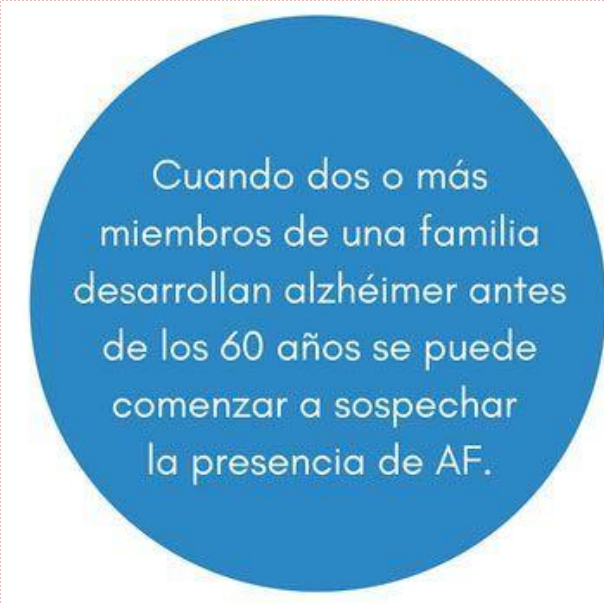


- El proceso degenerativo
 - 20-30 años antes del inicio de los síntomas
 - FASE PRECLÍNICA
- Primer síntoma
 - Memoria episódica afectada
 - FASE DETERIORO COGNITIVO LEVE (DCL)
- Criterios de diagnóstico actuales NO permiten reconocer EA en fase preclínica, solo se puede diagnosticar cuando aparece la demencia



- **EA familiar:**

- **Tipo raro (5% del total de casos)**
- **Inicio en edad temprana**
- **Autosómico dominante**
- **Genes implicados → codifican para APP**
- **Factor común → Acumulación de $A\beta$ → Cascada de amiloide como causa primaria.**

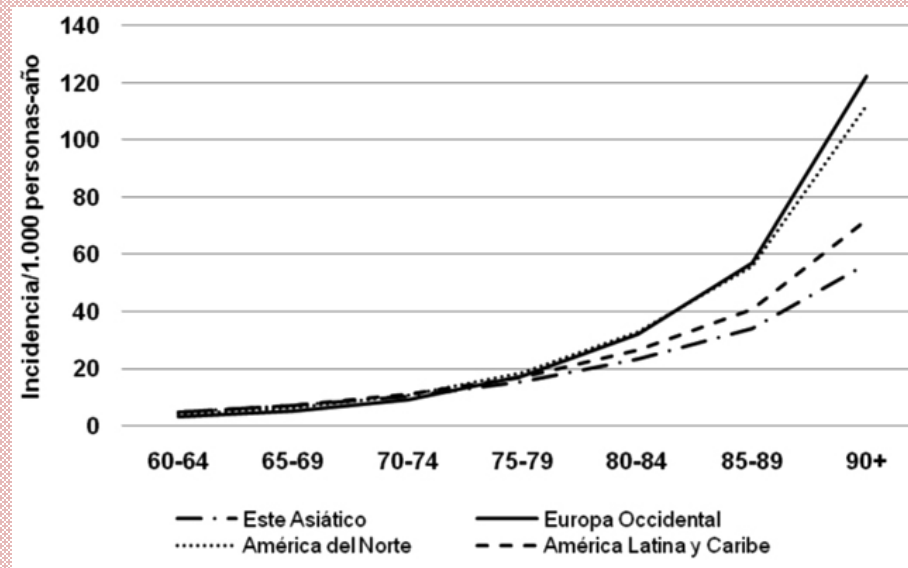


Cuando dos o más miembros de una familia desarrollan alzhéimer antes de los 60 años se puede comenzar a sospechar la presencia de AF.

- **FACTORES DE RIESGO**

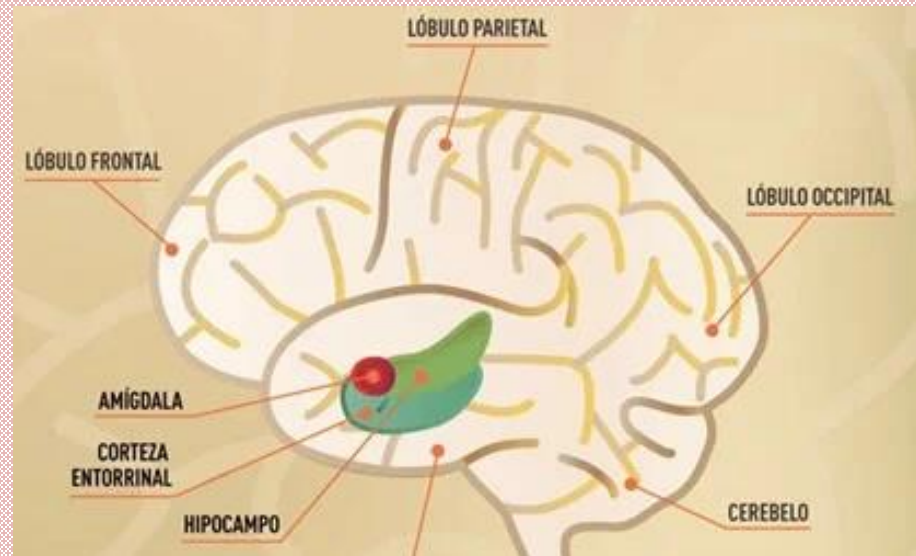
- La edad es el más importante

- Prevalencia aumenta exponencialmente en ≥ 75 años
 - Estrés oxidativo y citoquinas proinflamatorias son parte del mecanismo central del envejecimiento y a su vez son un mecanismo neurobiológico implicado en EA



MECANISMO NEUROBIOLÓGICO

- Combinación de eventos → SÍNDROME
- Pérdida selectiva de neuronas en el hipocampo y la corteza



```
graph TD; A[ALTERACIONES CARACTERISTICAS] --> B[PLACAS AMILOIDES (SENILES)  
-Extracelulares]; A --> C[OVILLOS NEUROFIBRILARES  
-Intracelulares  
-Más tardío];
```

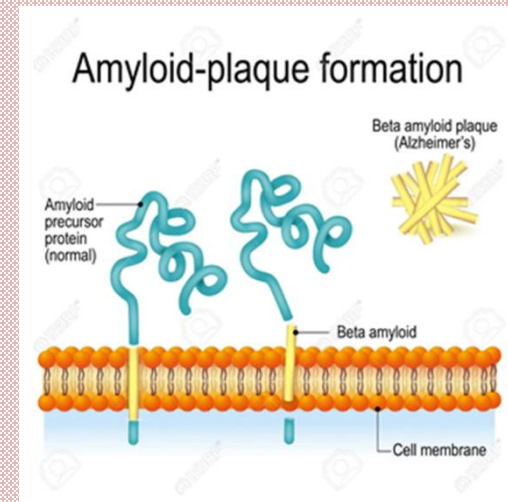
ALTERACIONES CARACTERISTICAS

**PLACAS AMILOIDES
(SENILES)**
-Extracelulares

OVILLOS NEUROFIBRILARES
-Intracelulares
-Más tardío

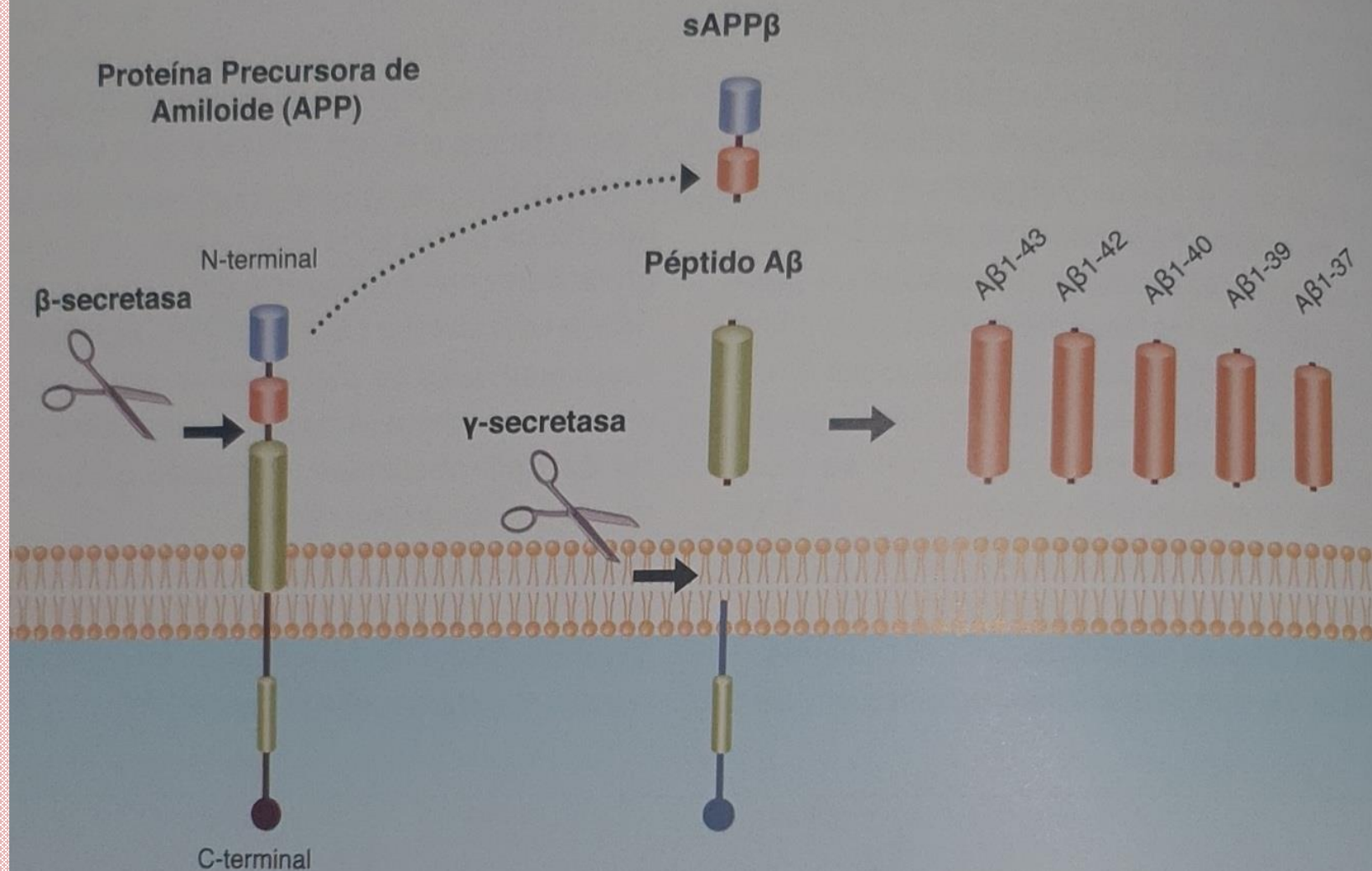
- **PLACAS DE AMILOIDE:**

- Productos del procesamiento de APP
- APP función desconocida
 - Podría ser un factor de crecimiento
 - Isoforma en SN: Unión a Cu y heparina



- $A\beta$ surge de proteólisis APP por secretasas
- Mutaciones en sitio de corte de APP o γ -secretasa
 - Producto $A\beta$ insoluble
 - Se agregan como sábanas β plegadas
 - Tóxicas

Proteína Precursora de Amiloide (APP)



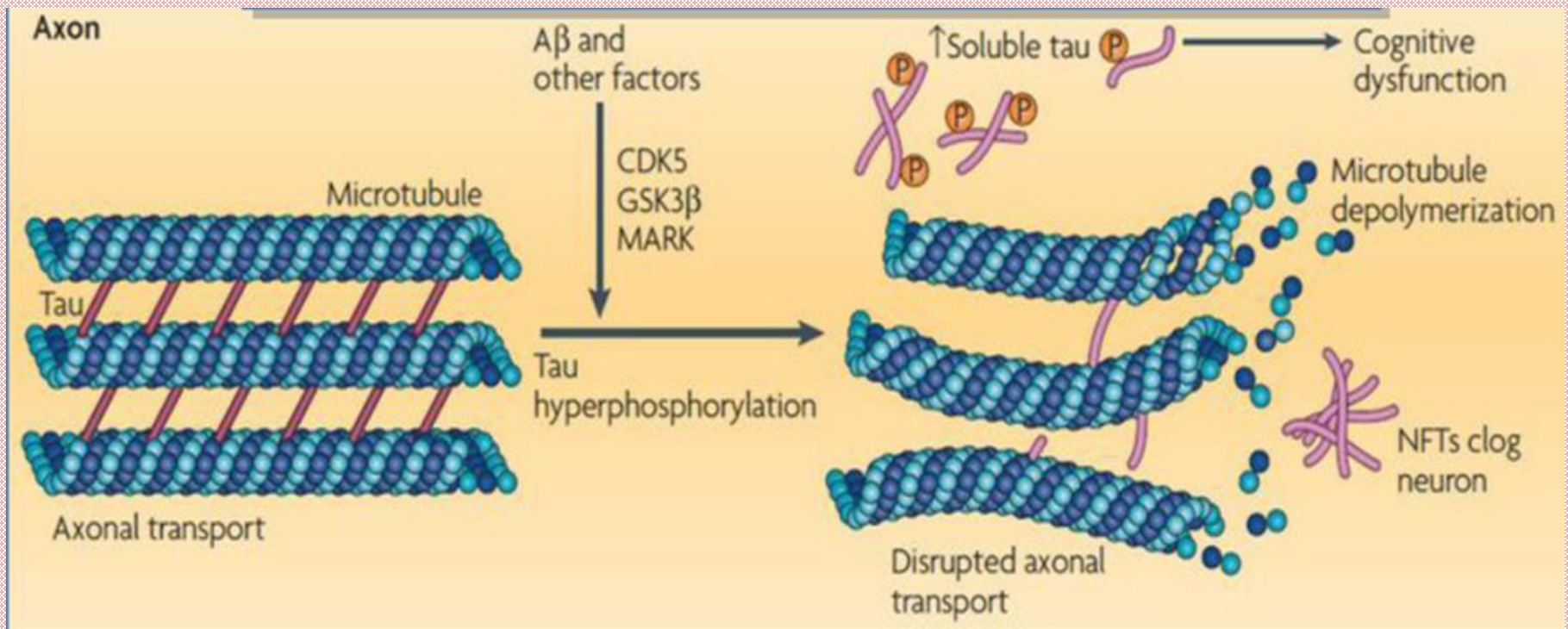
- **Mecanismos por los que $A\beta$ genera daño celular:**
 - Activando la microglia
 - Activando la respuesta inflamatoria con liberación de citoquinas neurotóxicas
 - Produciendo daño oxidativo en células vecinas
 - Induciendo mecanismos de apoptosis
 - Dificultando la perfusión
 - Afectando los contactos sinápticos interneuronales

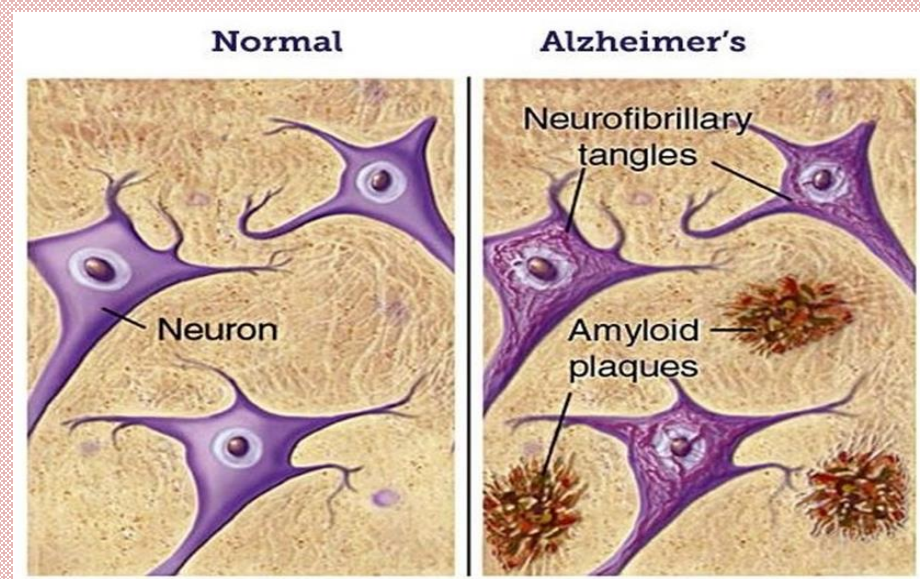
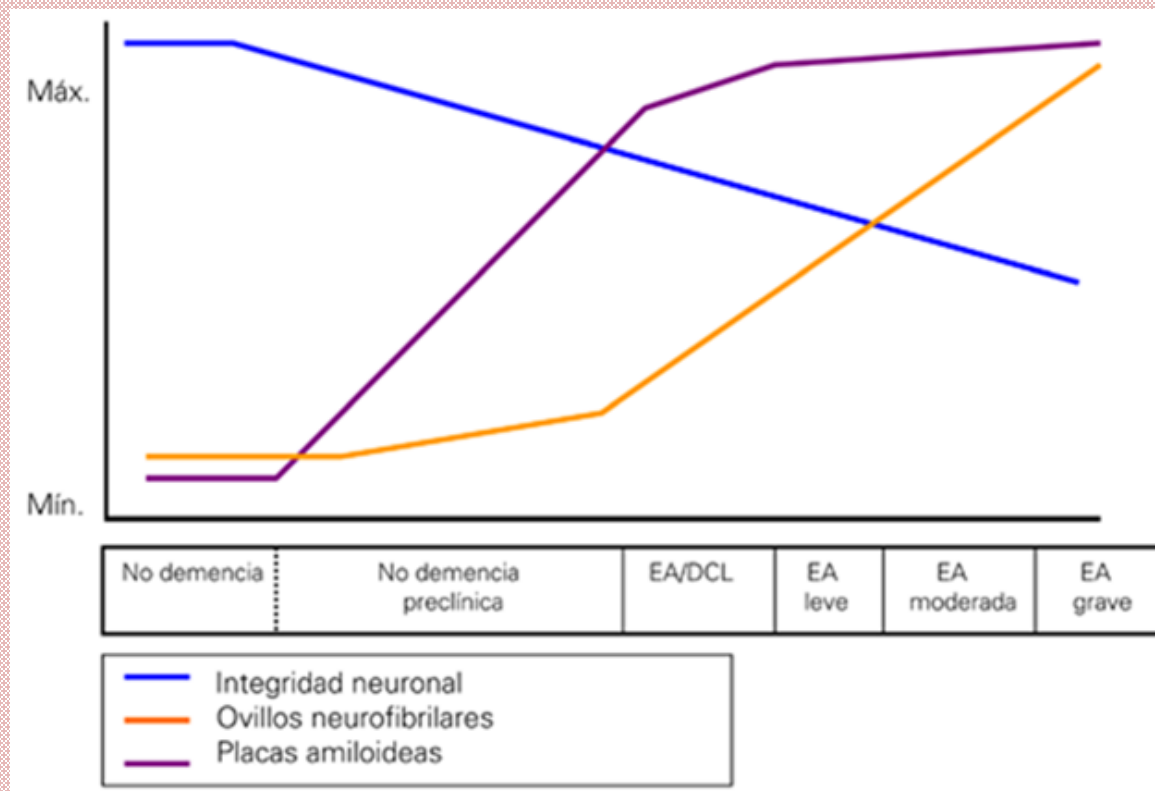
- **OVILLOS NEUROFIBRILARES**

- Proteína Tau **NORMAL** se asocia a los microtúbulos y los estabiliza → Requerido para transporte axonal
- Ovillos **PATOLÓGICOS** formados de filamentos helicoidales apareados de Tau hiperfosforilada de manera anormal
 - La agregación de Tau reduce su habilidad para estabilizar los microtúbulos → Muerte neuronal
 - Aparición es un evento relativamente temprano en la EA

$A\beta$ es capaz de activar las quinasas capaces de fosforilar Tau, tales como GSK3 β y CDK5

Presencia de Tau es esencial para la neurotoxicidad inducida por $A\beta$





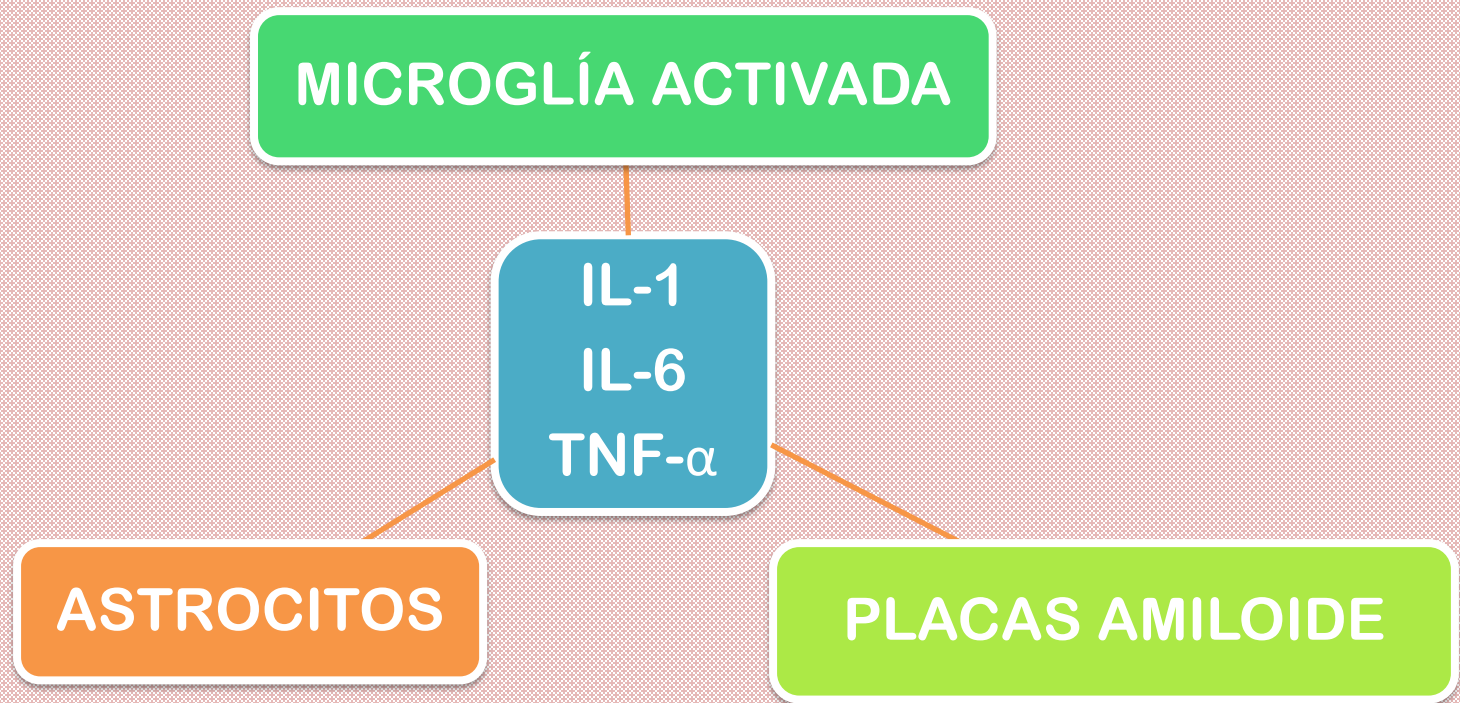
- **DAÑO OXIDATIVO**

- Estrés oxidativo muy importante en SCN debido a:
 - Alto contenido en lípidos
 - Gran consumo de oxígeno
- Aún no esta claro si es un mecanismo causal o solo está implicado en la propagación del daño.
- $\text{NO} + \text{O}_2^- \rightarrow \text{ONOO}^- \rightarrow$ Genera los daños propios del estrés oxidativo y nitrosativo
- Ocurre en etapas tempranas de la enfermedad



- **INFLAMACIÓN**

- Aún no está claro si es un mecanismo causal o solo está implicado en la propagación del daño.



BIOMARCADORES DE ALZHEIMER

- **BIOMARCADOR**: Sustancia específica que es medida y evaluada objetivamente, que actúa como indicador de procesos biológicos normales o patológicos, o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica.
 - Riesgo → Identifica población más susceptible
 - Diagnostico → Diferencia y precoz
 - Pronóstico
 - Progresión
 - Monitorizar respuesta terapéutica

TABLA 1. Características de un biomarcador

Específico	>75%	Para una enfermedad en particular
Sensible	>85%	Fácilmente cuantificable
Predictivo		Relevante para la progresión de la enfermedad y/o el tratamiento
Sólido		Rápido, simple y con análisis económicos
Estable		Iguals concentraciones a cualquier hora del día
No invasivo		Fácil obtención de muestras (sangre, orina, etc.)
Relevancia preclínica y clínica		Válido en modelos animales/celulares y humanos

- **TIPOS DE BIOMARCADORES EN EA**

- **GENÉTICOS → Riesgo**

- Los más exactos conocidos hasta ahora son los implicados en EA de comienzo precoz :
 - PS1 cromosoma 14
 - PS2 cromosoma 1
 - APP cromosoma 21
 - Otros implicados en riesgo de padecer EA (no familiar)
 - APOE: Alelo e4 de la apolipoproteína E (apoE4) → El más estudiado

- **NEUROIMAGEN → Diagnostico**

- Exactitud y precisión cada vez mayores
 - Sin embargo, el cumplimiento de los requisitos exigidos para ser considerados biomarcadores es todavía parcial

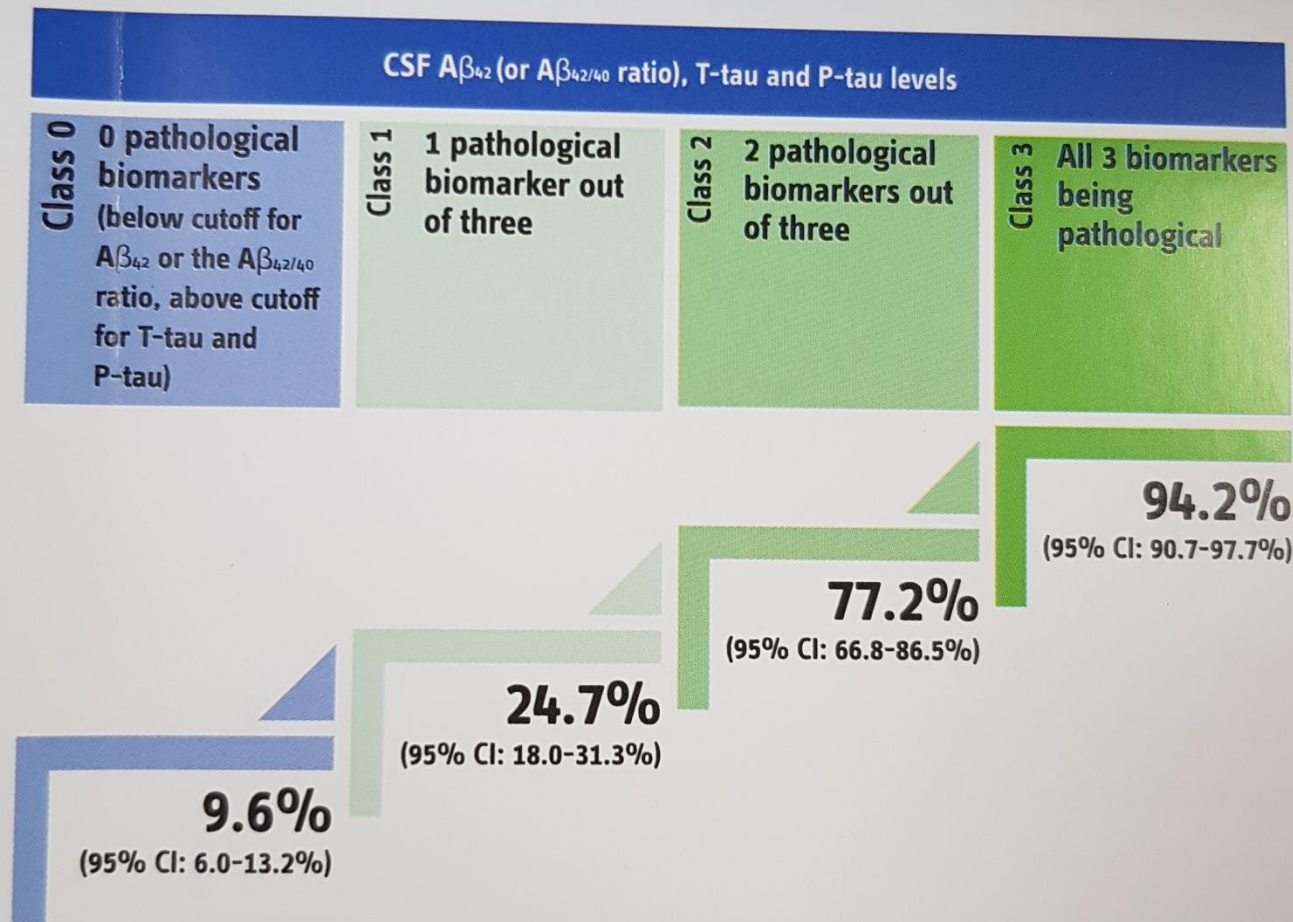
– BIOQUÍMICOS

• LIQUÍDO CEFALORRAQUIDEO

- **Tau total** duplican o triplican el valor encontrado en controles sanos → Marcador de daño neuronal
- **Tau fosforilada** duplican o triplican el valor encontrado en controles sanos → Marcador de daño neuronal
- **β -amiloide 1-40** no difieren de la población control
- **β -amiloide 1-42** disminuidos en 50% EA → Marcador de amiloidosis
- **Ratio $A\beta$ 1-42/ $A\beta$ 1-40** → Marcador de amiloidosis

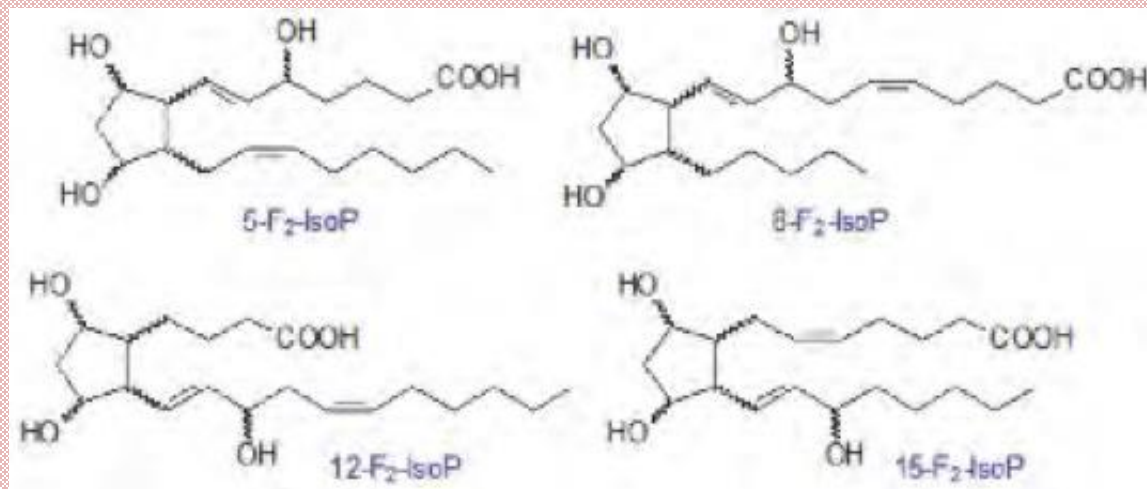
- **Ratio respecto $A\beta$ 1-42**
 - Refleja mejor la presencia de amiloidosis cerebral
 - Reduce los falsos positivos ya que:
 - $A\beta$ 1-42 refleja diferentes procesos patológicos distintos a la amiloidosis no específicamente ligados a EA
 - Ratio refleja la reducción selectiva de $A\beta$ 1-42 en relación a otro péptido amiloide, lo cual es más específico de EA

Model 3: AD risk adapted from Lehmann S, *et al.* *Alzheimers Res Ther.* 2014; *Front Aging Neurosci.* 2018



Graphic illustration of the AD scale. Predictive value based on CSF pattern signature. Representation of lesional burden in the brain via CSF biomarkers levels.

- Otras sustancias en estudio en LCR:
 - Citocinas (p. ej. IL1, SB100)
 - Ubiquitina
 - Neuromodulina
 - Isoprostanos F2 → Concretamente IPF2A



ANÁLISIS EN NUESTRO LABORATORIO

- PREANALITICA

- Tubos de recogida y de almacenamiento de polipropileno-polietileno u otros tubos de baja adherencia con tapón de rosca.
- Centrifugar 2000g/10 min
- Tiempo de procesamiento < 2h
- Conservación a -80°C durante 10 años o más
- Máximo dos ciclos de congelación-descongelación



**Inmunoensayo quimioluminiscente
completamente automatizado y optimizado**



LUMIPULSE G600II

Reduce la variabilidad interensayo



Dado que no son comparables los resultado de diferentes técnicas entre
si



Cada centro debe validar sus puntos de corte y establecer su algoritmo
de interpretación de los biomarcadores

**PERFIL BQ NO
COMPATIBLE CON EA**

- AB1-42 > 599
- Ratio > 0,069
- Tau total < 404
- Tau P < 56,5

**PERFIL BQ COMPATIBLE
CON EA**

- AB1-42 < 599
- Ratio < 0,069
- Tau total > 404
- Tau P > 56,5

**PERFIL BQ NO
CONCLUYENTE:
Amiloidosis /Comienzo EA**

- AB1-42 < 599
- Ratio < 0,069
- Tau total < 404
- Tau P < 56,5

**PERFIL BQ NO
SUGESTIVO DE EA**

- AB1-42 > 599
- Ratio > 0,069
- Tau total > 404
- Tau P > 56,5

CONCLUSIONES

- El Alzheimer es la demencia más común, donde la edad es el mayor factor de riesgo.
- EA es resultado terminal de una interacción compleja de factores genéticos, ambientales y fisiológicos.
- Hay una variante rara que es el EA familiar de herencia autosómica dominante con inicio en edad temprana.
- Alteraciones características son primero las placas amiloides extracelulares y más tarde los ovillos neurofibrilares intracelulares.

- Los biomarcadores bioquímicos usados habitualmente son los de LCR:
 - Tau-t y Tau-P como marcadores de daño neuronal.
 - AB1-42 y Ratio AB1-42/AB1-40 como marcadores de amiloidosis.
- Actualmente se sigue investigando para encontrar nuevos biomarcadores en LCR, plasma e incluso orina.
- En nuestro laboratorio se usa un método automatizado de quimioluminiscencia.
- Los datos obtenidos se interpretan según nuestra técnica con unos puntos de corte y algoritmos propios revisados en base a bibliografía específica



¡GRACIAS!

