

Proteína tau como biomarcador en Alzheimer preclínico

Tau protein as a biomarker in preclinical Alzheimer's disease

Javiera Arriagada¹, Rocío Álvarez^{1,2}

Resumen

El desarrollo de biomarcadores de la proteína tau para el diagnóstico temprano de la enfermedad de Alzheimer (EA) emerge como un desafío fundamental, pudiendo mejorar la efectividad de un tratamiento preventivo o que enlentezca la progresión de la enfermedad. Esta revisión analiza las evidencias que justificarían el uso de la proteína tau como biomarcador en Alzheimer preclínico. Para esto se seleccionaron artículos científicos (2011-2021) que incluyeran a la proteína tau en plasma y plaquetas como biomarcador. La presencia de la proteína tau fosforilada en el líquido cefalorraquídeo presenta limitaciones por su carácter invasivo mientras que las técnicas de imagen son costosas. La medición de tau en plaquetas se correlaciona con la severidad de la demencia, y sería útil en el seguimiento de la EA. Sin embargo, la pertinencia de su uso en la detección temprana de EA se mantiene en discusión. La presencia de proteína tau fosforilada en plasma correspondería al biomarcador con mayor nivel de desarrollo, respecto de beta amiloide. La proteína tau plasmática detecta la EA con gran precisión en casos de demencia y ha sido validada por estudios neuropatológicos. p-tau217 plasmática medida por primera vez junto a técnicas de imagen, fue importante en la etapa preclínica de EA pudiendo predecir la formación de ovillos neurofibrilares. La correlación entre especies fosforiladas de tau en plasma y EA preclínica ha sido bien establecida, por lo que su uso como biomarcador podría ser de utilidad para la comprensión del proceso fisiopatológico de la neurodegeneración y la detección temprana de EA.

Palabras clave: Alzheimer preclínico; biomarcador; plaquetas; plasma; proteína tau; tau fosforilada

Abstract

The development of tau protein biomarkers for the early diagnosis of Alzheimer's disease (AD) emerges as a fundamental challenge, which may improve the effectiveness of preventive treatment or slow the progression of the disease. This review analyzes the evidence that would justify the use of tau protein as a biomarker in preclinical Alzheimer's disease. For this purpose, we selected scientific articles (2011-2021) that included tau protein in plasma and platelets as a biomarker. Phosphorylated tau protein in cerebrospinal fluid has limitations due to its invasiveness, while imaging techniques are expensive. The tau measurement in platelets correlates with the severity of dementia and would be helpful in the follow-up of AD. However, the relevance of its use in the early detection of AD remains under discussion. Plasma phosphorylated tau protein would correspond to the biomarker with the highest level of development for beta-amyloid. Plasma tau protein detects AD with high accuracy in cases of dementia, and neuropathological studies validate its use. Plasma p-tau217 measured for the first time with imaging techniques was important in preclinical AD and could predict the formation of neurofibrillary tangles. The correlation between plasma phosphorylated tau species and preclinical AD is well-established, so its use as a biomarker would help understand the pathophysiological process of neurodegeneration and early AD detection.

Keywords: Biomarker; phosphorylated tau; platelets; plasma; preclinical Alzheimer; tau protein

Fecha de envío: 2022-01-30 - Fecha de aceptación: 2022-06-09

Introducción

En la actualidad, alrededor de 50 millones de personas en el mundo padecen de demencia y se estima que el 50% corresponde a

enfermedad de Alzheimer (EA). Se espera que para el año 2050 la población con demencia ronde los 152 millones de personas, 72% de las cuales corresponderán a EA (Alzheimer disease international,

(1) Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile

(2) Centro de investigación Farmacopea Chilena, Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile

Autor de correspondencia: rocio.alvarez@uv.cl



2021). Además, esta patología reviste un alto costo para los países, transformándose en un importante problema de salud pública (Wong, 2020).

La EA fue descrita por primera vez por el neurólogo alemán Alois Alzheimer en el año 1906, tras estudiar el caso de Auguste Deter, una mujer de 51 años que presentaba alteración cognitiva, desorientación, alucinaciones y otros cambios de comportamiento (Soria Lopez *et al.*, 2019). La EA es un tipo de demencia que, como síntomas más característicos; cursa con deterioro cognitivo, pérdida de la memoria, cambios en el comportamiento y desorientación (Barage & Sonawane, 2015). Los hallazgos histopatológicos de esta enfermedad; en su etapa avanzada; corresponden a placas seniles, formadas por depósitos de péptido β - amiloide, y ovillos neurofibrilares formados por proteína tau hiperfosforilada. Junto a estos marcadores histopatológicos, se ha identificado daño en las neuronas colinérgicas del cerebro basal anterior, lo cual se correlaciona con el deterioro cognitivo característico de las personas con EA (Du *et al.*, 2018). A la fecha, no se ha logrado identificar la etiopatogenia de esta enfermedad y no existen tratamientos eficaces para abordarla.

Desde su descubrimiento en 1906, se han postulado numerosas hipótesis que intentan explicar su causa. Entre las más estudiadas se encuentran la hipótesis de la cascada amiloidea y la hipótesis de tau, las cuales se basan en los marcadores histopatológicos encontrados en cerebros *post mortem* de pacientes con EA (Du *et al.*, 2018). Por otro lado, se encuentra la hipótesis colinérgica, la cual dio paso al desarrollo de medicamentos inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa de uso clínico, que permiten tratar la patología únicamente a nivel sintomático desde hace más de dos décadas (Gandía *et al.*, 2006).

En este ámbito se ha generado gran interés en el estudio de los biomarcadores, y más recientemente, como una posible herramienta para la identificación del Alzheimer preclínico, haciendo posible su detección en personas con un estado cognitivo normal (Tan *et al.*, 2014). Resultados de estudios recientes han permitido proponer que la proteína tau podría ser de gran utilidad como biomarcador en el diagnóstico temprano de la EA y en el diseño de posibles tratamientos para esta patología. Esto considerando que las pruebas clínicas para el tratamiento de la EA dirigidas al péptido β -amiloide no han demostrado ser eficaces (Congdon & Sigurdsson, 2018). Por su parte los estudios sobre la proteína tau, han demostrado la presencia de ovillos neurofibrilares en otros tipos de demencia con ausencia del marcador histopatológico β -amiloide, indicando que una disfunción de tau y/o la formación de los ovillos neurofibrilares podrían contribuir a la etiología de la EA (Naseri *et al.*, 2019).

El propósito de esta revisión apunta a analizar las evidencias que justificarían el uso de la proteína tau como biomarcador para la detección precoz de la EA, así como de los métodos disponibles para ello.

Metodología

La revisión de la literatura se realizó entre abril y junio de 2021, en base a una búsqueda de artículos científicos (fuentes primarias) en la plataforma PUBMED, estableciéndose los últimos 10 años (2011-2021) e idioma inglés, como estrategia de búsqueda exhaustiva. Se utilizaron las siguientes palabras clave, junto al operador booleano AND: “*preclinic Alzheimer*”, “*Tau protein*”, “*biomarker*”, “*platelets*”, “*plasma*”, “*Alzheimer hypothesis*”, “*tau*”, “*oligomers*”, “*hyperphosphorylation*”, “*Alzheimer disease*”, “*synaptic*”, “*amyloid hypothesis*”, “*alterations*”, “*preclinical alzheimer’s disease*”, “*criteria*”, “*phosphorylated*”, “*Alztau*”. Para la discusión se actualizó la literatura a diciembre de 2021 y se incorporaron algunos artículos de revisión en la sección de resultados en la última versión del manuscrito. La figura 1 sintetiza el proceso de búsqueda y selección de artículos realizada.

Resultados

Se obtuvo un total de 11 artículos, 9 de los cuales corresponden a artículos de investigaciones sobre proteína tau, 1 documento de consenso sobre criterios de diagnóstico para la enfermedad de Alzheimer y 1 revisión acerca de la formación de oligómeros de tau inducida por hiperfosforilación.

Principales hipótesis en la enfermedad de Alzheimer

Como se señaló anteriormente, desde el hallazgo de los marcadores histopatológicos de la EA hasta la actualidad, se han estudiado las principales hipótesis que intentan explicar la etiopatogénesis de esta patología: la hipótesis de tau y la hipótesis amiloidea (β -amiloide). Esta última ha sido la más estudiada a través de los años para intentar explicar la causa de la EA. La hipótesis de la cascada amiloide se basa en que la acumulación de agregados del péptido β -amiloide es tóxica, provocando cambios neuropatológicos, pérdida neuronal y sináptica, y daño cognitivo (Drachman, 2014). Además, la hipótesis postula que los agregados de β -amiloide inducirían la formación de los ovillos neurofibrilares de tau (Puzzo *et al.*, 2020).

Entre los principales mecanismos de daño a nivel celular se encuentran la neuroinflamación y la excitotoxicidad mediada por glutamato. Recientemente implicados como mecanismos fisiopatológicos de la EA, estos han aportado a la comprensión de las bases biológicas de la enfermedad y al desarrollo de posibles nuevas estrategias terapéuticas (Graham *et al.*, 2017).

yor longitud; además de los componentes de 410, 412, 381 y 383 aminoácidos. El componente más corto, de 352 aminoácidos, se

encuentra únicamente en el cerebro fetal (isoforma fetal de tau) (Wegmann *et al.*, 2021) (Fig. 2).

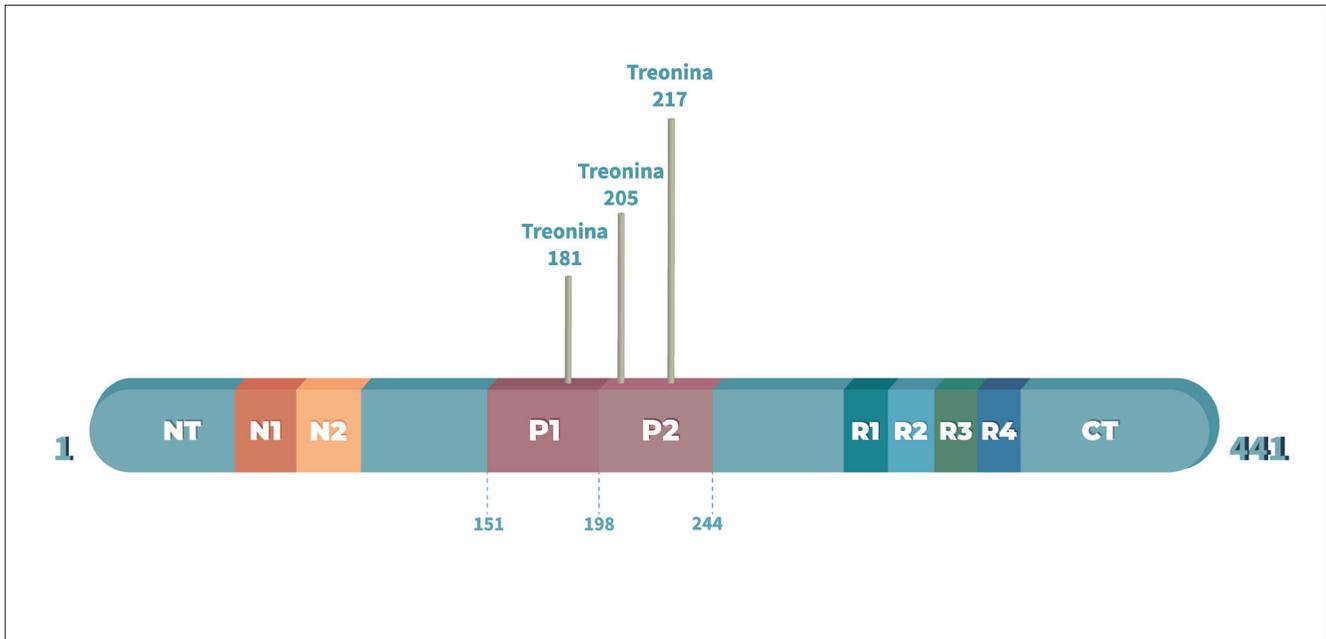


Figura 2: Representación esquemática de la estructura de la proteína tau humana indicando algunos de los sitios de fosforilación más relevantes en su rol como biomarcador en EA. La figura muestra la estructura de la proteína tau humana de mayor longitud (441 aminoácidos), una de las seis isoformas presentes en el sistema nervioso central. Las isoformas de la proteína tau difieren por la ausencia o presencia de uno o dos insertos de 29 aminoácidos en el extremo N-terminal (N1 y N2), en combinación de tres (R1, R2 y R4; 3R) o cuatro (R1 - R4; 4R) regiones de repetición en el extremo C-terminal. Las modificaciones postraduccionales de la proteína tau aislada de cerebros *postmortem* de pacientes con EA se distribuyen de manera heterogénea en la secuencia de tau, con una mayor abundancia de sitios fosforilados en los dominios de la proteína ricos en prolina (P1 y P2), entre los residuos de treonina 181 y serina 235 y en regiones del extremo C-terminal (repeticiones R1–R4). N1 y N2, insertos de la región N-terminal, se observan también frecuentemente fosforilados (Wegmann, *et al.*, 2021). Los sitios de fosforilación de la proteína tau en treonina 181, treonina 205 y treonina 217 han sido correlacionados con estadios tempranos de la EA y se localizan en la región con mayor abundancia de sitios fosforilados. Ilustración: Francisca Márquez.

La proteína tau puede ser modificada por O-glucosil-N-acilación, además de sufrir otras diversas modificaciones postraduccionales entre las que destacan la acetilación, ubiquitinación, metilación y fosforilación. La fosforilación de tau en estados normales controla diversos procesos como es la afinidad por la unión a los microtúbulos, la distribución subcelular y el transporte axonal (Gu & Liu, 2020).

De acuerdo a Wegmann *et al.* (2021), a lo largo de la secuencia de aminoácidos de la proteína tau, se ha logrado predecir 85 posibles sitios de fosforilación en residuos de serina, treonina y tirosina, de los cuales más de 50 se encuentran modificados. La distribución de los sitios de fosforilación en la secuencia de tau es asimétrica, con la mayor parte de los sitios no modificados localizados en el extremo N-terminal, mientras que la mitad del extremo C-terminal contiene la mayoría de los sitios de fosforilación observados. Las modificaciones postraduccionales de la proteína tau aislada de cerebros *postmortem* de pacientes con EA se distribuyen de manera heterogénea en la secuencia de tau, con una mayor abundancia de

sitios fosforilados en los dominios de la proteína ricos en prolina, entre los residuos de treonina 181 y serina 235 y en regiones del extremo C-terminal (repeticiones R1–R4). La proyección del extremo N-terminal incluye los insertos N1 y N2 y también se observa frecuentemente fosforilada (Fig. 2).

En las tauopatías; conjunto de patologías en las que existe un descontrol de la fosforilación; esta es mediada principalmente por las quinasas dependiente de ciclina-5 (Cdk5) y quinasas glucógeno sintasa - 3β (GSK3β) (Iqbal *et al.*, 2013). La hiperfosforilación de tau conduce a la acumulación de agregados de la proteína en el citoplasma de la neurona, principal componente de los ovillos neurofibrilares y marcador histopatológico presente en la EA. Se ha comprobado también la transferencia de oligómeros entre neuronas mediante transporte vesicular (Šimić *et al.*, 2016) (Fig. 3). Esta acumulación de la proteína tau tiene como resultado la degeneración neurofibrilar, la cual no solo está presente en la EA, sino que también en otras tauopatías, tales como, enfermedad de

Pick, degeneración corticobasal, demencia pugilística, y demencia frontotemporal con parkinsonismo (Iqbal *et al.*, 2013). En este último caso, se trata de una enfermedad neurodegenerativa autosómica dominante, excepcionalmente rara, producida por mutaciones en la región de unión a microtúbulos en el gen que codifica para la proteína tau. Los mecanismos patogénicos estarían relacionados a la alteración de la proporción de las isoformas de tau o a su funcionalidad. Las manifestaciones clínicas incluyen trastornos de la personalidad, del comportamiento y disfunción motora con signos del parkinsonismo atípico tales como bradicinesia, rigidez, inestabilidad postural y espasticidad (Wszolek *et al.*, 2006).

En la EA, la proteína tau hiperfosforilada induce la formación de oligómeros, los cuales corresponden a un estado intermedio entre los monómeros y una cadena larga de polímeros (Iqbal *et al.*, 2013). Según los autores Gu y Liu (2020) "los oligómeros de tau son las especies más tóxicas que inducen neurotoxicidad y neurodegeneración en la enfermedad de Alzheimer." De hecho, un estudio realizado en ratones demostró que estos oligómeros al ser inyectados próximos al hipocampo producían un deterioro inmediato de la memoria y además se observó que inducían la disfunción sináptica (Lasagna-Reeves *et al.*, 2011).

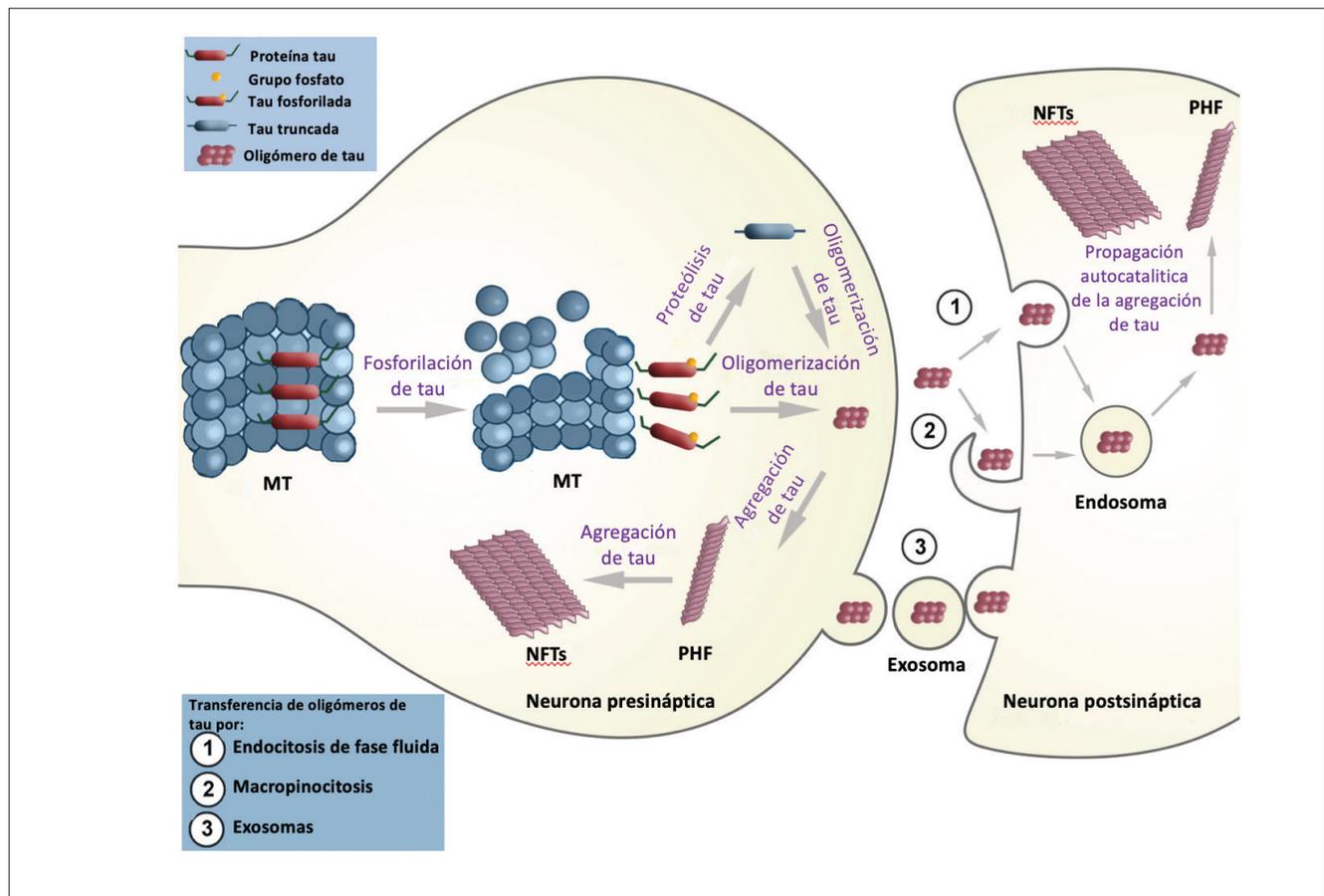


Figura 3: Esquema de la formación y vías de propagación anterógrada de los agregados de tau por transporte vesicular (endocitosis, macropinocitosis). La figura muestra la asociación entre la proteína tau y los microtúbulos (MT) cumpliendo la función de estabilización. La fosforilación de tau produce la formación de oligómeros cuya agregación conduce a la formación de filamentos helicoidales pareados (PHF; del inglés *paired helical filaments*) los que a su vez permiten la formación de ovillos neurofibrilares (NFTs; del inglés *neurofibrillary tangles*), uno de los marcadores histopatológicos de la enfermedad de Alzheimer. (adaptada de Šimić *et al.* 2016. *Creative Commons by Attribution (CC-BY)* license. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Biomarcadores tempranos en la enfermedad de Alzheimer.

Un biomarcador es definido como un indicador de la presencia o del desarrollo de una enfermedad y se asocia directamente con las manifestaciones clínicas y el pronóstico (Guzmán-Martínez *et al.*, 2012).

Dado que las placas seniles y los ovillos neurofibrilares son los marcadores histopatológicos de la EA, tanto el péptido β-amiloide como la proteína tau fosforilada han sido estudiados como biomarcadores para la detección temprana de EA, debido a que conducen a la formación de placas seniles y ovillos neurofibrilares, respectivamente (Morris *et al.*, 2014).

En los últimos años, las investigaciones se han centrado en la búsqueda de un diagnóstico temprano de la EA, considerando que el Alzheimer preclínico abarca desde que se presentan las primeras lesiones cerebrales neuropatológicas hasta la aparición de los primeros síntomas clínicos de la enfermedad (Dubois *et al.*, 2016). El National Institute on Aging (NIA) en conjunto con la Alzheimer Association (AA) han adoptado el concepto de EA *continuum*, la cual presenta tres etapas bien definidas, (1) etapa asintomática o preclínica de la enfermedad (2) sintomática prodrómica o defecto cognitivo leve debido a la EA y (3) completamente sintomática o

demencia tipo Alzheimer. La fase preclínica está definida por el International Working Group (IWG), como la etapa de la EA que no está expresada clínicamente, esto quiere decir que la patología molecular de esta enfermedad está presente en el cerebro, pero existe ausencia de síntomas y por el NIA-AA como la etapa fisiopatológica en la que están presentes biomarcadores moleculares *in vivo* de la EA, pero ausencia de síntomas. Según la NIA-AA la fase preclínica del Alzheimer está dividida en 3 etapas, las cuales se caracterizan por la presencia de biomarcadores específicos en cada una de ellas (Morris *et al.*, 2014) (Tabla 1).

Tabla 1: Cuadro comparativo de las etapas de la enfermedad de Alzheimer (EA) y Alzheimer preclínico de acuerdo a las definiciones de los principales grupos de trabajo en el área. (Morris *et al.*, 2014).

EA Grupo internacional de trabajo (International Working Group; IWG)	EA <i>continuum</i> Instituto Nacional de Envejecimiento y Asociación de Alzheimer (National Institute on Aging - Alzheimer's Association; NIA-AA)
Alzheimer preclínico	1. EA asintomática o preclínica
1. EA prodrómica	2. EA sintomática prodrómica (Defecto cognitivo leve debido a EA)
2. Demencia tipo Alzheimer	3. EA completamente sintomática (Demencia tipo Alzheimer).
Alzheimer preclínico	EA asintomática o preclínica
<p>Etapa de la EA que no está expresada clínicamente. La patología molecular de esta enfermedad está presente en el cerebro, pero existe ausencia de síntomas.</p> <p>Este estadio puede ser detectado únicamente por biomarcadores de EA y no por los métodos clínicos disponibles en la actualidad.</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Asintomáticos con riesgo de EA (evidencias de patología molecular), cognitivamente normales. b. EA presintomático. Asintomáticos portadores de mutación (hereditaria). 	<p>Etapa fisiopatológica en la que están presentes biomarcadores moleculares <i>in vivo</i> de la EA, pero existe ausencia de síntomas.</p> <p>Propone un ordenamiento temporal hipotético de los cambios de los biomarcadores.</p> <p>Etapa 1: Desregulación de los niveles de péptido β-amiloides, observado por una disminución de los niveles de $A\beta_{42}$ en líquido cefalorraquídeo (LCR).</p> <p>Etapa 2: Etapa 1 + Disfunción y pérdida sináptica/neuronal (neurodegeneración) y aumento de tau fosforilada en LCR.</p> <p>Etapa 3: Etapa 1 + Etapa 2 + Deterioro cognitivo leve.</p>

Para la medición *in vivo* de estos biomarcadores, se utilizan técnicas de imagen como tomografía por emisión de positrones (PET del inglés *positron emission tomography*) y por resonancia magnética (MRI del inglés *magnetic resonance imaging*). Además, se realizan análisis en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) (Morris *et al.*, 2014), sangre (Suárez-Calvet *et al.*, 2020; Moscoso *et al.*, 2021) y plaquetas (Fariás *et al.*, 2012).

Las pruebas de imagen fueron las primeras en ser aplicadas y son de utilidad para identificar los biomarcadores llamados de degeneración. Se utilizan para el diagnóstico de la atrofia del lóbulo temporal medial el cual se realiza mediante MRI y para identificar

una reducción en el metabolismo de la glucosa en las regiones temporoparietales mediante PET (Morris *et al.*, 2014). Según la opinión de Besson *et al.* (2015) en su estudio, los biomarcadores de neuroimagen se deben utilizar como complemento, ya que no arrojan resultados definitivos, más bien estos muestran distintos procesos patológicos.

Por su parte, en los análisis de muestras de LCR es posible medir los niveles de los biomarcadores de β -amiloides, específicamente la isoforma 42 de este ($A\beta_{42}$) y la proteína tau fosforilada, de la cual la más utilizada es la tau fosforilada en treonina-181 (Morris *et al.*, 2014; Suárez-Calvet *et al.*, 2020).

En el estadio preclínico de la EA, se ha identificado de forma característica, que se produce una desregulación de los niveles de $A\beta_{42}$ (ver tabla 1). Esta desregulación es posible interpretarla a partir de las mediciones de LCR que muestran una disminución de $A\beta_{42}$ o un aumento de los depósitos amiloideos en la corteza cerebral, determinado mediante PET (Morris *et al.*, 2014). Por otra parte, se ha comprobado que existe un aumento en los niveles de la proteína tau fosforilada en LCR en la etapa preclínica de la EA (Suárez-Calvet *et al.*, 2020).

Biomarcadores en plasma y plaquetas en estadio preclínico de la EA.

La búsqueda de marcadores periféricos accesibles para la detección temprana de EA, ha conducido al desarrollo de estudios, además de plasma, en plaquetas (Akingbade *et al.*, 2018). Estas últimas serían las más prometedoras debido a que se les ha propuesto como un marcador biológico periférico de la función neuronal para la detección temprana de la EA (Shi *et al.*, 2020).

Recientemente se ha demostrado que, en plasma sanguíneo al igual que en LCR, se puede obtener proteína tau fosforilada en treonina 181 (p-tau181) como biomarcador (Fig. 2). En el estudio de Suárez-Calvet *et al.* (2020), en el que se midieron los niveles de p-tau181 con un anticuerpo dirigido a fragmentos N- terminales, se observó que N-p-tau181 aumenta de forma significativa en la etapa preclínica del Alzheimer. De acuerdo con estos resultados los autores destacan la importancia de este biomarcador en el diagnóstico de la EA y su utilidad en la predicción del deterioro cognitivo en las personas. Por su parte, también se ha demostrado que, el aumento de p-tau181 ocurre en pacientes que presentan acumulación del péptido β -amiloide (Moscoso *et al.*, 2021). Sin embargo, en otro trabajo se analizaron los datos obtenidos de la iniciativa de neuroimagen de la EA (ADNI, del inglés *Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative*), la cual fue lanzada por un conjunto de asociaciones entre ellas la NIA el año 2003. En este estudio se

analizaron 570 participantes del ADNI, que se clasificaron como cognitivamente normales según los criterios de la NIA-AA. Luego fueron separados según los tipos de biomarcadores anormales o marcadores cognitivos, que se encontraran asociados a la etapa preclínica de la EA. Con estos datos se realizó un análisis estadístico, en el que se obtuvo como resultado que la neurodegeneración (aumento de proteína tau fosforilada en LCR) sola era 2,5 veces más común que la amiloidosis sola detectada al inicio del estudio (Edmonds *et al.*, 2015).

En estudios realizados en plaquetas, se demostró la presencia de proteína tau mediante la técnica de inmunotransferencia encontrándose que existen dos variantes de ésta, las cuales se describen como tau de alto peso molecular (HMW, del inglés *high molecular weight*) con un peso > 80 kDa y de bajo peso molecular (LMW, del inglés *low molecular weight*) con un peso < 80 kDa. En estudios realizados en muestras de sangre de pacientes con EA, la variante de HMW de la proteína tau se encontró aumentada mientras que la variante LMW estaba disminuida, demostrando que existe una variación de la proporción de las dos variantes (HMW/LMW) entre estos pacientes y los sujetos controles. Además, este aumento de la variante de HMW de tau se ha relacionado con el uso de los monómeros de tau que forma los oligómeros de esta proteína (Neumann *et al.*, 2011). En el estudio de Slachevsky *et al.* (2017), los niveles y proporción de las variantes de tau (HMW/LMW) se correlacionaron con la severidad de la demencia, la cual se determinó mediante una puntuación de acuerdo a la clasificación de la demencia clínica (CDR, del inglés *clinical dementia rating*). Los autores sugieren que los cambios en la proporción de las variantes de tau (HMW/LMW) están asociadas con la distribución de los ovillos neurofibrilares en la corteza cerebral. Según los hallazgos obtenidos en los estudios iniciales se postuló que estas variantes de tau (HMW/LMW) podrían servir como posibles biomarcadores, y se hipotetizó que la variante de tau HMW correspondería a agregados de oligómeros de la proteína (Neumann *et al.*, 2011) (Tabla 2).

Tabla 2: Principales biomarcadores centrales y periféricos desarrollados en el estudio de enfermedad de Alzheimer

Técnicas de medición/muestras	Biomarcador	Autor
Pruebas de imagen	→ Metabolismo reducido de la glucosa en las regiones temporoparietales mediante PET → Atrofia del lóbulo temporal medial mediante MRI	Morris <i>et al.</i> 2014
Líquido cefalorraquídeo (LCR)	→ Proteína tau fosforilada en treonina 181 en LCR → Péptido β -amiloide ₄₂ en LCR	Suárez-Calvet <i>et al.</i> 2020 Morris <i>et al.</i> 2014
Otros fluidos biológicos	→ Proteína tau fosforilada en treonina 181 en plasma → Proteína tau en plasma mediante anticuerpo monoclonal tau 51 →roteína tau en plaquetas obtenidas a partir de plasma	Suárez-Calvet <i>et al.</i> 2020 González <i>et al.</i> 2020 Guzmán-Martínez <i>et al.</i> 2019

PET: (del inglés *positron emission tomography*) tomografía de emisión de positrones; MRI: (del inglés *magnetic resonance imaging*) resonancia magnética.

Se ha postulado a tau en plaquetas como un biomarcador de gran utilidad en la EA, sobre todo como una herramienta para evaluar el seguimiento de esta enfermedad, debido a que la modificación de la proporción de las variantes de tau (HMW/LMW) se ve más afectada a medida que la enfermedad se encuentra en sus estados más avanzados. Sumado a los hallazgos de la proteína tau en plaquetas, los resultados del estudio realizado en el trabajo titulado *Platelet Tau Pattern Correlates with Cognitive Status in Alzheimer's Disease*, mostraron que la proporción entre las variantes de HMW/LMW presenta una sensibilidad 75,7% y especificidad 73,7% para identificar la EA (Fariás *et al.*, 2012). Junto con estos antecedentes, otros estudios han llevado al desarrollo de un método de análisis de tau en plaquetas como biomarcador que lleva por nombre Alz-tau[®]. El estudio para demostrar la utilidad de Alz-tau[®] consistió en la recolección de una muestra de sangre venosa, para su posterior centrifugación y obtención de plaquetas, seguido de la extracción de las proteínas de esta. Se realizó electroforesis y posteriormente Western blot utilizando anticuerpos anti-tau5 y anti-*paired helical filament-tau* (PHF-1). La intensidad de las bandas y la proporción de las variantes de tau (HMW/LMW) fue cuantificada mediante un software. Como resultado de este estudio se observó que: (1) el anticuerpo útil para la medición reactiva de biomarcadores es tau5, (2) en los pacientes con EA la proporción de las variantes de tau HMW/LMW fue significativamente alta en comparación con los sujetos controles, (3) Alz-tau[®] podría ser un biomarcador universal, útil para ser aplicado en una amplia población del mundo, (4) este biomarcador de tau en plaquetas resulta ser preciso y confiable para la detección de la EA y para ser utilizada en conjunto con otras herramientas para el diagnóstico de esta enfermedad (Guzmán-Martínez *et al.*, 2019). Este grupo de investigación demostró, además, que al utilizar un anticuerpo diferente a tau5, el anticuerpo monoclonal tau51 en muestras de plasma sanguíneo, se obtiene un patrón electroforético de la proteína tau similar al observado al utilizar la muestra de plaquetas. Además, en su estudio se observa un aumento de la proporción de las variantes de tau (HMW/LMW) en sujetos con EA en comparación con los sujetos controles. Se postula que este nuevo biomarcador en plasma sería una herramienta para utilizar en conjunto con Alz-tau[®] y así lograr un diagnóstico más certero utilizando los dos tipos de muestra (plasma y plaquetas). Con estos antecedentes los autores proponen que ambos biomarcadores serían de utilidad en el diagnóstico de la etapa preclínica de la EA (González *et al.*, 2020).

En esta misma línea, se ha demostrado que altos niveles de proteína tau fosforilada (p-tau231, serina 396 y 404) junto con un ratio bajo de proteína precursora de β -amiloide, serían un potencial indicador en personas con deterioro cognitivo leve (Shi *et al.*, 2020).

Discusión

De acuerdo a la revisión que sistematiza los criterios del IWG y de la NIA-AA, se ha planteado que ambos grupos de trabajo tienen en común el reconocimiento de un estadio preclínico de la enfermedad, la aceptación de un diagnóstico de EA antes de la demencia y la incorporación de biomarcadores de EA para diagnosticar (IWG) o apoyar el diagnóstico (NIA-AA) de la EA. En la medida en que los biomarcadores se utilizan en el diagnóstico clínico de la EA, el proceso de diagnóstico pasa de ser un enfoque sindrómico inespecífico a uno en el que la EA se considera como una entidad clínico-biológica (Morris *et al.*, 2014). De esta forma, los criterios establecidos buscan extrapolar los resultados de los biomarcadores como datos relevantes. Los biomarcadores son una herramienta útil en las etapas tempranas de la enfermedad, estos pueden marcar la diferencia y aportar en el manejo de decisiones futuras. El estudio de los llamados biomarcadores de imagen (PET y MRI) y de LCR abrieron paso para que se consideraran nuevos criterios de la EA por parte de IWG y NA-AA, llegando a la aceptación del estadio preclínico de la EA definido como "evidencia de cambios patológicos de Alzheimer en individuos cognitivamente sanos" (Scheltens *et al.*, 2016). Sin embargo, estos biomarcadores tienen grandes limitaciones en cuanto al costo (PET y MRI) y la accesibilidad, debido a que para obtener una muestra de LCR se requiere realizar una punción lumbar. Diversos autores coinciden con respecto a las limitaciones en el uso de las técnicas de imagen y de las técnicas de análisis de muestras de LCR antes mencionadas para la detección de la patología en sus distintos estadios, estas tienen un elevado costo (Morris *et al.*, 2014) y son metodologías invasivas (Neumann *et al.*, 2011), lo que las convierte en métodos poco accesibles para la comunidad en general e implican un riesgo. Estas limitaciones han sido la base de la justificación en el estudio de nuevos biomarcadores, que puedan ser de menor costo y menos invasivos para la población. Es así como el estudio de los marcadores periféricos cobra gran relevancia.

Recientemente un panel de expertos realizó la adaptación de un marco metodológico de cinco fases del ámbito de la oncología para la evaluación sistemática de la validación e implementación de biomarcadores en la EA (Ashton *et al.*, 2021). De acuerdo a este estudio, la proteína tau fosforilada en plasma, presenta validez analítica y primera evidencia de validez clínica, logrando completar la fase 1; justificando su evaluación en sangre para el diagnóstico de la EA y la demencia por EA; fase 2; discriminación entre pacientes con demencia por EA, pacientes cognitivamente sanos y demencias que no son por EA definiendo el ensayo clínico a utilizar y efectos de covariables; y fase 3; utilidad de los biomarcadores sanguíneos

para detectar enfermedades prodrómicas, ej.: predecir el futuro desarrollo de demencia por EA en pacientes con deterioro cognitivo leve así como definir los criterios de positividad. De esta forma la proteína tau fosforilada en plasma correspondería al biomarcador con mayor nivel de desarrollo comparativo, mientras que A β ha presentado evidencia de fase 1 y parcialmente de fase 2. La medición de proteína tau en plasma, ha considerado la identificación del sitio de fosforilación correspondiente. De esta forma, la p-tau plasmática (p-tau217 y p-tau181) pone de manifiesto la EA en los casos de demencia con gran precisión y está validada por estudios neuropatológicos, y puede también poner de manifiesto el riesgo de EA en el futuro, lo que es comparable a los modelos de riesgo de p-tau181 del LCR. Estos autores señalan que, sin embargo, el campo de los biomarcadores sanguíneos carece aún de estándares de comparación entre ensayos (plataformas de ensayo, orientación preanalítica covariables comunes), necesario para informar sobre los puntos de corte precisos de los biomarcadores. Se necesita más información sobre estos objetivos secundarios en las fases 2 y 3 antes de que puedan iniciarse los estudios de la fase 4 (rendimiento en el mundo real) y la fase 5 (evaluación del impacto/coste) para los biomarcadores sanguíneos (Ashton *et al.*, 2021).

A pesar de que estos biomarcadores han sido identificados y estudiados en estadios avanzados de la enfermedad, se les ha considerado para la detección de la EA temprano, ya que, se ha postulado que estos serían los responsables del daño en el tejido nervioso a largo plazo. En este contexto, la medición de tau en plaquetas constituye otra línea de trabajo que ha sido postulado como un biomarcador para la detección temprana de la EA. La utilidad de la medición de la proteína tau en plaquetas está basada en estudios que demuestran una estrecha relación entre la modificación de los niveles de esta proteína en plaquetas y el deterioro del nivel cognitivo en pacientes con EA (Guzmán-Martínez *et al.*, 2019). El método desarrollado para la medición de proteína tau en plaquetas (Alz-tau[®]) fue validado por estudios clínicos (Fariás *et al.*, 2012; Guzmán-Martínez *et al.*, 2012; Slachevsky *et al.*, 2017). En estos trabajos, la medición de la proteína tau en plaquetas se ha realizado considerando la presencia de dos diferentes especies de tau, así como su ratio (HMW/LMW), el cual se ha observado es mayor en presencia de EA, respecto de sujetos controles. Las plaquetas serían un reservorio de estas especies y su ratio no mostraría modificación en sujetos cognitivamente normales, a diferencia de lo que ocurre en EA en la que la especie de mayor peso molecular (HMW) estaría mayormente presente. Las especies HMW de la proteína tau corresponderían a las formas oligoméricas de esta, cuyas acumulaciones parecieran correlacionarse con la fisiopatología de la EA, que ocurre en cerebro, así como en las células periféricas de la sangre (Slachevsky *et al.* 2017). Tal como fue mencionado por

otros autores, el campo de los biomarcadores sanguíneos carece aún de estándares de comparación entre ensayos, lo cual es aplicable también a los estudios sobre las especies de tau de HMW y LMW en plaquetas, existiendo la necesidad de contar con más investigaciones que permitan realizar un análisis comparativo.

Las investigaciones de tau en plaquetas incluyen también trabajos que han abordado la medición de sus formas fosforiladas. En el trabajo llevado a cabo por Mukaetova-Ladinska *et al.* (2018), en la que se realizó la medición de p-tau (Thr205, Thr181), dicha proteína no discriminó entre sujetos controles y el grupo EA. Sin embargo, identificó niveles aumentados del extremo C-terminal de la proteína tau como posible indicador de estadios tempranos de deterioro cognitivo, requiriendo más estudios y un mayor número de participantes.

Teniendo en cuenta las restricciones que existen al comparar entre distintos métodos de medición de tau, al contrario de Alz-tau[®], la medición de la proteína tau fosforilada en plasma, específicamente p-tau181 fue llevado a cabo utilizando un equipo llamado SIMOA HD-X instrument (Suárez-Calvet *et al.*, 2020). La replicación a gran escala del estudio de este biomarcador se vería dificultada en Chile, ya que el instrumento utilizado no es de uso común en los laboratorios del país.

Respecto al nuevo anticuerpo monoclonal tau51 al igual que Alz-tau[®] descrito por el mismo grupo de investigación, presenta poca especificidad para la EA (Gonzalez *et al.*, 2020), debido a que los niveles de tau en plasma se modifican con otras patologías relacionadas con la proteína tau como lo es el síndrome de Down (Tatebe *et al.*, 2017), por lo que de utilizar este posible biomarcador en solitario no se obtendrían resultados certeros para evaluar la EA.

Otro de los hallazgos recientes e importantes que se han realizado en cuanto a la proteína tau, es el estudio del fragmento N-terminal de la proteína tau como predictor de futuro deterioro cognitivo en pacientes ancianos sanos. Se estudió el fragmento N-terminal de la proteína tau como un potencial predictor de deterioro cognitivo, neurodegeneración, acumulación de tau y desarrollo de deterioro cognitivo leve y EA en pacientes ancianos clínicamente normales. Como resultado del estudio se observó un aumento de los niveles de este fragmento en aquellos participantes que progresaron a una etapa de deterioro clínico durante el seguimiento longitudinal que se llevó a cabo. La limitación que presenta esta medición es que aún no existe una estandarización de este ensayo (Chhatwal *et al.*, 2020).

Durante el año 2021 fue implementado en algunos centros asistenciales de Chile, el método de medición de proteína tau en plaquetas (Alz-tau[®]). La utilidad de las variantes de la proteína

tau (HMW/LMW) en plaquetas para el diagnóstico del estadio preclínico o temprano de la EA es materia de debate y sus consideraciones exceden el propósito de esta revisión. Sin embargo, existe evidencia robusta que sustenta su utilidad y aporte fundamental en el esclarecimiento de los procesos biológicos implicados en la neurodegeneración. Es importante considerar además que, a la fecha en Chile, los dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*; tales como los mencionados en esta revisión; no tienen mandato legal de solicitar registro sanitario, siendo un trámite voluntario que puede ser realizado por el fabricante legal o el representante autorizado de un fabricante legal (ISP, 2022). En este sentido, resulta fundamental contar a corto plazo con una regulación en estas materias para garantizar la calidad, efectividad y seguridad de los nuevos métodos de detección de EA y su etapa prodrómica.

En tanto, un estudio reciente en el que se realizaron experimentos electrofisiológicos, conductuales e identificación histopatológica, sugiere que el péptido β -amiloide y la proteína tau actúan en paralelo y no en serie como lo postula la hipótesis amiloidea (Puzzo *et al.*, 2020). Esto significaría que la acumulación del péptido β -amiloide no es necesaria para la disfunción de la proteína tau y su posterior acumulación como ovillos neurofibrilares, por lo que tau podría ser el responsable de la etiología de la EA. En este sentido, las investigaciones acerca de la proteína tau en plasma como biomarcador en EA, serían las que presentan un mayor nivel de desarrollo, de acuerdo al modelo propuesto por Ashton *et al.* (2021), quedando aún por demostrar evidencias de fase 4 (rendimiento en el mundo real) y fase 5 (evaluación del impacto/coste).

Debido a que no existe consenso aún respecto a qué biomarcador predice de mejor forma la acumulación de tau en el tiempo, en los diferentes estadios de EA, un reciente estudio realizó por primera vez el enriquecimiento de los resultados de un ensayo clínico incorporando la medición de biomarcadores en fluidos biológicos junto a técnicas de imagen, particularmente midió p-tau217 junto a PET, comparando directamente su capacidad predictiva. Los resultados de este ensayo clínico demostraron que p-tau217 plasmática fue más importante en EA preclínica, mientras que tau medido por PET fue más importante en EA prodrómica. Sin embargo, en el caso de las personas que se encuentran en la fase preclínica de la enfermedad, p-tau217 plasmática superó a PET a la hora de predecir la futura formación de ovillos neurofibrilares. Este estudio además aportó con datos relevantes para reducir el tamaño muestral en los ensayos clínicos de EA preclínica y prodrómica que utiliza PET para medir tau. (Leuzy *et al.*, 2021).

Es en este contexto que los biomarcadores basados en proteína tau cobran mayor relevancia para el estudio de la EA y relevan su importancia en el estudio de la fisiopatología de la neurodegeneración.

Conclusión

Los resultados de los estudios de biomarcadores expuestos en la presente revisión evidencian que la proteína tau se encuentra elevada en aquellos pacientes que presentan la etapa preclínica de la EA y la EA como tal y podría ser de utilidad en la detección temprana de la enfermedad, permitiendo contar con una ventana más oportuna para el tratamiento de la enfermedad. Además, la medición de esta proteína en plasma presentaría ventajas al ser menos invasiva y de menor costo y tendría gran utilidad para el monitoreo de la evolución del proceso fisiopatológico que subyace a la EA.

Contribuciones y reconocimientos:

J. Arriagada realizó la búsqueda bibliográfica y redacción del manuscrito, adaptación de figuras y tablas. R. Álvarez contribuyó a la redacción, discusión, diseño de tablas, figuras y revisión final del manuscrito en calidad de profesora guía.

Agradecimientos a las profesoras, Dra. Caroline Weinstein y Dra. Arlek González por sus comentarios a la versión inicial del manuscrito, en el marco de la asignatura Seminario de licenciatura, de la carrera de Química y Farmacia de la Universidad de Valparaíso.

Referencias

- ADI (2021). Alzheimer's Disease International. Dementia facts & figures. Accedido en <https://www.alzint.org/> el 06 de mayo del 2021.
- Akingbade O, Gibson C, Kalaria RN. & Mukaetova-Ladinska, E B. (2018). Platelets: Peripheral Biomarkers of Dementia?. *Journal of Alzheimer's disease JAD* **63**, 1235–1259.
- Ashton NJ, Leuzy A, Karikari TK, Mattsson-Carlsson N, Dodich A, Boccardi M, Corre J, Drzezga A, Nordberg A, Ossenkoppele R, Zetterberg H, Blennow K, Frisoni GB, Garibotto V. & Hansson O. (2021). The validation status of blood biomarkers of amyloid and phospho-tau assessed with the 5-phase development framework for AD biomarkers. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* **48**, 2140–2156.
- Barage SH. & Sonawane KD. (2015). Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides* **52**, 1–18.
- Besson FL, La Joie R, Doevre L, Gaubert M, Mézenge F, Egret S, Landeau B, Barré L, Abbas A, Ibazizene M, de La Sayette V, Desgranges B, Eustache F. & Chételat G. (2015). Cognitive and Brain Profiles Associated with Current Neuroimaging Biomarkers of Preclinical Alzheimer's Disease. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* **35**, 10402–10411.

- Chhatwal JP, Schultz AP, Dang Y, Ostaszewski B, Liu L, Yang HS, Johnson KA, Sperling RA. & Selkoe DJ. (2020). Plasma N-terminal tau fragment levels predict future cognitive decline and neurodegeneration in healthy elderly individuals. *Nature communications* **11**, 1-10.
- Congdon EE. & Sigurdsson EM. (2018). Tau-targeting therapies for Alzheimer disease. *Nature reviews. Neurology* **14**, 399-415.
- Drachman DA. (2014). The amyloid hypothesis, time to move on: Amyloid is the downstream result, not cause, of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association* **10**, 372 - 380.
- Du X, Wang X. & Geng M. (2018). Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. *Translational neurodegeneration* **7**, 2.
- Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, Andrieu S, Bakardjian H, Benali H, Bertram L, Blennow K, Broich K, Cavado E, Crutch S, Dartigues JF, Duyckaerts C, Epelbaum S, Frisoni GB, Gauthier S, Genthon R. & Gouw AA. (2016). Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's & dementia: the journal of the Alzheimer's Association* **12**, 292-323.
- Edmonds EC, Delano-Wood L, Galasko DR, Salmon DP. & Bondi MW. (2015). Subtle Cognitive Decline and Biomarker Staging in Preclinical Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease: JAD* **47**, 231-242.
- Farías G, Pérez P, Slachevsky A. & Maccioni RB. (2012). Platelet tau pattern correlates with cognitive status in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* **31**, 65-69.
- Gandía L, Alvarez RM, Hernández-Guijo JM, González-Rubio JM, de Pascual R, Rojo J. & Tapia L. (2006). Anticolinesterásicos en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer [Anticholinesterases in the treatment of Alzheimer's disease]. *Revista de neurología* **42**, 471-477.
- González A, Guzmán-Martínez L. & Maccioni RB. (2020). Plasma Tau Variants Detected by a Novel Anti-Tau Monoclonal Antibody: A Potential Biomarker for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease JAD* **77**, 877-883.
- Graham WV, Bonito-Oliva A. & Sakmar TP. (2017). Update on Alzheimer's Disease Therapy and Prevention Strategies. *Annual review of medicine* **68**, 413-430.
- Gu JL. & Liu F. (2020). Tau in Alzheimer's Disease: Pathological Alterations and an Attractive Therapeutic Target. *Current medical science* **40**, 1009-1021.
- Guzmán-Martínez L, Farías GA. & Maccioni RB. (2012). Emerging noninvasive biomarkers for early detection of Alzheimer's disease. *Archives of medical research* **43**, 663-666.
- Guzmán-Martínez L, Tapia JP, Farías GA, González A, Estrella M. & Maccioni, RB. (2019). The Alz-tau Biomarker for Alzheimer's Disease: Study in a Caucasian Population. *Journal of Alzheimer's disease: JAD* **67**, 1181-1186.
- Iqbal K, Gong CX. & Liu F. (2013). Hyperphosphorylation-induced tau oligomers. *Frontiers in neurology* **4**, 112.
- ISP. (2022). Instituto de Salud Pública. Accedido en <https://www.ispch.cl/> el 28 de enero de 2022.
- Lasagna-Reeves CA, Castillo-Carranza DL, Sengupta U, Clos AL, Jackson GR & Kaye R. (2011). Tau oligomers impair memory and induce synaptic and mitochondrial dysfunction in wild-type mice. *Mol Neurodegener* **6**, 1-14.
- Leuzy A, Smith R, Cullen NC, Strandberg O, Vogel JW, Binette AP, Borroni E, Janelidze S, Ohlsson T, Jögi J, Ossenkoppele R, Palmqvist S, Mattsson-Carlgen N, Klein G, Stomrud E. & Hansson O. (2021). Biomarker-Based Prediction of Longitudinal Tau Positron Emission Tomography in Alzheimer Disease. *JAMA neurology*, e214654.
- Morris JC, Blennow K, Froelich L, Nordberg A, Soininen H, Waldemar G, Wahlund LO. & Dubois B. (2014). Harmonized diagnostic criteria for Alzheimer's disease: recommendations. *Journal of internal medicine* **275**, 204-213.
- Moscoso A, Grothe MJ, Ashton NJ, Karikari TK, Lantero Rodríguez J, Snellman A, Suárez-Calvet M, Blennow K, Zetterberg H & Schöll M. (2021). Longitudinal Associations of Blood Phosphorylated Tau181 and Neurofilament Light Chain With Neurodegeneration in Alzheimer Disease. *JAMA neurology* **78**, 396-406.
- Mukaetova-Ladinska EB, Abdell-Ail Z, Andrade J, da Silva JA, Boksha I, Burbaeva G, Kalaria RN & O'Brien JT. (2018). Platelet Tau Protein as a Potential Peripheral Biomarker in Alzheimer's Disease: An Explorative Study. *Current Alzheimer research*, **15**, 800-808.
- Naseri NN, Wang H, Guo J, Sharma M. & Luo W. (2019). The complexity of tau in Alzheimer's disease. *Neuroscience letters* **705**, 183-194.
- Neumann K, Farías G, Slachevsky A, Perez P. & Maccioni, RB. (2011). Human platelets tau: a potential peripheral marker for Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* **25**, 103-109

- Puzzo D, Argyrousi EK, Staniszewski A, Zhang H, Calcagno E, Zuccarello E, Acquarone E, Fa' M, Li Puma DD, Grassi C, D'Adamio L, Kanaan NM, Fraser PE. & Arancio O. (2020). Tau is not necessary for amyloid- β -induced synaptic and memory impairments. *The Journal of clinical investigation* **130**, 4831-4844.
- Sánchez-Montoya E, Andresen, M, Corrales, R, Gallardo, J, Noriega, N, Weinstein-Opppenheimer, CR. (2021). El caso de aducanumab ¿Más esperanza que ciencia? *Ars Médica Revista de Ciencias Médicas* **46**, 7-8.
- Scheltens P, Blennow K, Breteler MM, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S & Van der Flier WM. (2016). Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)* **388**, 505-517.
- Shi Y, Gu L, Wang Q, Gao L, Zhu J, Lu X, Zhou F, Zhu D, Zhang H, Xie C. & Zhang Z. (2020) Platelet Amyloid- β Protein Precursor (A β PP) Ratio and Phosphorylated Tau as Promising Indicators for Early Alzheimer's Disease. *The Journals of Gerontology* **75**, 664-670.
- Šimić G, Babić Leko M, Wray S, Harrington C, Delalle I, Jovanov-Milošević N, Bažadona D, Buée L, de Silva R, Di Giovanni G, Wischik C. & Hof PR. (2016). Tau Protein Hyperphosphorylation and Aggregation in Alzheimer's Disease and Other Tauopathies, and Possible Neuroprotective Strategies. *Biomolecules* **6**, 6.
- Slachevsky A, Guzmán-Martínez L, Delgado C, Reyes P, Farías GA, Muñoz-Neira C, Bravo E, Farías M, Flores P, Garrido C, Becker JT, López OL. & Maccioni RB. (2017). Tau Platelets Correlate with Regional Brain Atrophy in Patients with Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* **55**, 1595-1603.
- Soria Lopez JA, González HM. & Léger GC. (2019). Alzheimer's disease. *Handbook of clinical neurology* **167**, 231-255.
- Suárez-Calvet M, Karikari TK, Ashton NJ, Lantero Rodríguez J, Milà-Alomà M, Gispert JD, Salvadó G, Minguillon C, Fauria K, Shekari M, Grau-Rivera O, Arenaza-Urquijo EM, Sala-Vila A, Sánchez-Benavides G, González-de-Echávarri JM, Kollmorgen G, Stoops E, Vanmechelen E, Zetterberg H. & Blennow K. (2020). Novel tau biomarkers phosphorylated at T181, T217 or T231 rise in the initial stages of the preclinical Alzheimer's continuum when only subtle changes in A β pathology are detected. *EMBO Molecular Medicine* **12**, 1-19.
- Tatebe H, Kasai T, Ohmichi T, Kishi Y, Takeya T, Waragai M. & Tokuda T. (2017). Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome. *Molecular Neurodegeneration* **12**, 1-11.
- Tan CC, Yu JT. & Tan L. (2014). Biomarkers for preclinical Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* **42**, 1051-1069.
- Wegmann S, Biernat J. & Mandelkow E. (2021). A current view on Tau protein phosphorylation in Alzheimer's disease. *Current Opinion in Neurobiology* **69**, 131-138.
- Wszolek ZK, Tsuboi Y, Ghetti B, Pickering-Brown S, Baba Y. & Cheshire WP. (2006). Frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17). *Orphanet Journal of Rare Disease* **1**, 1-9.
- Wong, W. (2020). Economic burden of Alzheimer disease and managed care considerations. *The american journal of managed care* **26**, 177-183.