

The CORCOBIA Study: cut-off points of Alzheimer's Disease CSF biomarkers in a multicentric study

Puig-Pijoan, A., MD^{1,2}; García-Escobar, G., PhD²; Fernández-Lebrero, A., MD^{1,2,3}; Manero Borràs, R.M., MSc^{1,2}; Sánchez Benavides, G., PhD^{3,4}; Navalpotro Gómez, I., MD, PhD^{1,2,3}; Cascales Lahoz, D., MD¹; Suárez-Calvet, M., MD, PhD^{1,3,4,10}; Grau-Rivera, O., MD, PhD^{1,3,4,10}; Boltés Alandí, A., MD⁵; Pont Sunyer, MC., MD⁵; Ortiz-Gil, J., PhD^{5,6,7}; Carrillo-Molina, S., MSc^{5,6}; López-Villegas, D., MD^{4,8}; Abellán Vidal, M.T., MD⁸; Martínez-Casamitjana, M.I., MSc⁸; Hernández Sánchez, J.J., PhD⁹; Peña-Casanova, J., MD, PhD²; Roquer González, J., MD, PhD^{1,4}; Padrós Fluvià, A., PhD⁹; Puente Periz, V., MD^{1,2}

1. Cognitive Impairment and Movement Disorders Unit, Neurology Department, Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Barcelona, Spain.
2. Integrative Pharmacology and Systems Neurosciences Research Group, Neurosciences Research Program, Hospital del Mar Medical Research Institute (IMIM), Barcelona, Spain.
3. Barcelonaβeta Brain Research Center (BBRC), Pasqual Maragall Foundation, Barcelona, Spain.
4. IMIM (Hospital del Mar Medical Research Institute), Barcelona, Spain.
5. Servei de Neurologia, Hospital General de Granollers, Granollers, Spain.
6. Unitat de Psicologia, Hospital General de Granollers, Granollers, Spain.
7. Fundación para la Investigación y Docencia Maria Angustias Gimenez (FIDMAG), Sant Boi del Llobregat, Spain.
8. Centre Emili Mira, Institut de Neuropsiquiatria i Addiccions (INAD), Parc de Salut Mar, Santa Coloma de Gramenet, Spain.
9. Laboratori de Referència de Catalunya, Sant Boi del Llobregat, Spain.
10. Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES), Madrid, Spain.

Corresponding: Puig-Pijoan, A; Puente Periz, V

Summary:

Introduction: The analysis of the *core* biomarkers of Alzheimer's Disease (AD) in the cerebrospinal fluid (CSF) is recommended in the clinical units where it is available. Because of the absence of universal validated values, the determination of specific cut-off points for each center and its population is recommended. The main objective of the CORCOBIA study was to determine the cut-off points of *core* AD CSF biomarkers for several centers (Parc de Salut Mar, Barcelona and Hospital General de Granollers), which work with the same reference laboratory (Laboratori de Referència de Catalunya). **Methods:** prospective study including cognitively healthy subjects (HC, n=42), subjects with amnesic mild cognitive impairment (aMCI, n=35) and patients with dementia due to Alzheimer's Disease (AD, n=48), in whom clinical and neuropsychological assessment, neuroimaging, APOE genotyping and lumbar puncture to analyze amyloid beta peptides (A β 42, A β 40), total tau (tTau) and phosphorylated Tau (pTau181) using the Lumipulse G600II (Fujirebio) was performed. The values of Sensitivity (Se), Specificity (Sp), predictive values and area under the curve (AUC) were calculated, determining the cut-off point according to the Youden index by comparing the groups of HC and AD. **Results:** the resulting cut-offs and their AUC were the following: A β 42 750pg/ml (AUC 0.809); A β 42/A β 40 0.062 (AUC 0.78); pTau181 69.85pg/ml (AUC 0.81); tTau 522.0 pg/ml (AUC 0.79); A β 42/tTau 1.76 (AUC 0.86); A β 42/pTau181 10.25 (AUC 0.86). **Conclusions:** the determination of cut-off points of *core* AD CSF biomarkers for the participating centers allows a better diagnostic accuracy. The ratio CSF A β 42/pTau181 shows the highest AUC and better balance between sensitivity and specificity.

Keywords: Alzheimer's disease, biomarkers, amyloid, tau, cut-off points, sensitivity, specificity, cerebrospinal fluid, dementia

Estudio CORCOBIA: determinación de puntos de corte de biomarcadores de enfermedad de Alzheimer en LCR en un estudio multicéntrico

Puig-Pijoan, A., MD^{1,2}; García-Escobar, G., PhD²; Fernández-Lebrero, A., MD^{1,2,3}; Manero Borràs, R.M., MSc^{1,2}; Sánchez Benavides, G., PhD^{3,4}; Navalpotro Gómez, I., MD, PhD^{1,2,3}; Cascales Lahoz, D., MD¹; Suárez-Calvet, M., MD, PhD^{1,3,4,10}; Grau-Rivera, O., MD, PhD^{1,3,4,10}; Boltés Alandí, A., MD⁵; Pont Sunyer, MC., MD⁵; Ortiz-Gil, J., PhD^{5,6,7}; Carrillo-Molina, S., MSc^{5,6}; López-Villegas, D., MD^{4,8}; Abellán Vidal, M.T., MD⁸; Martínez-Casamitjana, M.I., MSc⁸; Hernández Sánchez, J.J., PhD⁹; Peña-Casanova, J., MD, PhD²; Roquer González, J., MD, PhD^{1,4}; Padrós Fluvià, A., PhD⁹; Puente Periz, V., MD^{1,2}

1. Unitat de Deteriorament Cognitiu i Transtorns del Moviment, Servei de Neurologia, Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Barcelona, España.
2. Farmacologia Integrada i Neurociència de Sistemes, Programa de Neurociències, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM), Barcelona
3. BarcelonaBeta Brain Research Center (BBRC), Pasqual Maragall Foundation. Barcelona, Spain.
4. IMIM (Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques-Hospital del Mar), Barcelona, España.
5. Servei de Neurologia, Hospital General de Granollers, Granollers, Spain. .
6. Unitat de Psicologia, Hospital General de Granollers, Granollers, Spain.
7. Fundación para la Investigación y Docencia Maria Angustias Gimenez (FIDMAG), Sant Boi del Llobregat, Spain.
8. Centre Emili Mira, Institut de Neuropsiquiatria i Addiccions (INAD), Parc de Salut Mar, Santa Coloma de Gramenet, Spain.
9. Laboratori de Referència de Catalunya, Sant Boi del Llobregat, Spain.
10. Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES), Madrid, Spain.

Corresponding: Puig-Pijoan, A; Puente Periz, V

Resumen:

Introducción: El análisis de biomarcadores bioquímicos de Enfermedad de Alzheimer (EA) en líquido cefalorraquídeo (LCR) se recomienda como parte del diagnóstico en los centros en los que está disponible. Ante la ausencia de valores universales validados, se recomienda la determinación de puntos de corte (PdC) específicos para cada centro y su población. El objetivo principal del proyecto CORCOBIA fue determinar los PdC de biomarcadores de EA en LCR para varios centros (Parc de Salut Mar de Barcelona y Hospital General de Granollers), que trabajan con el mismo laboratorio de referencia (Laboratori de Referència de Catalunya). **Métodos:** estudio prospectivo incluyendo sujetos cognitivamente sanos (CS, n=42), con deterioro cognitivo ligero amnésico (DCLa, n=35) y con demencia tipo Alzheimer (DTA, n= 48), realizando valoración clínica y neuropsicológica, neuroimagen, genotipado APOE y punción lumbar para analizar los péptidos beta amiloides (A β 42, A β 40) y las proteínas tau total (tTau) y tau fosforilada (pTau181) mediante el autoanalizador Lumipulse G600II (Fujirebio). Se calcularon los valores de Sensibilidad (S), Especificidad (E), valores predictivos y área bajo la curva (ABC), determinando el punto de corte según índice de Youden comparando los grupos de CS y DTA. **Resultados:** Los PdC y ABC fueron los siguientes: A β 42 750pg/ml (ABC 0.809); A β 42/ A β 40 0.062 (ABC 0.78); pTau181 69.85pg/ml (ABC 0.81); tTau 522.0 pg/ml (ABC 0.79); A β 42/tTau 1.76 (ABC 0.86); A β 42/pTau181 10.25 (ABC 0.86). **Conclusiones:** la determinación de PdC para biomarcadores de EA en LCR para los centros participantes permite una mejor precisión diagnóstica, siendo la ratio A β 42/pTau181 en LCR el parámetro con mayor ABC y mejor balance entre sensibilidad y especificidad.

Palabras clave: enfermedad de Alzheimer, biomarcadores, amiloide, tau, puntos de corte, sensibilidad, especificidad, líquido cefalorraquídeo, demencias

Introducción

La determinación de biomarcadores bioquímicos de la Enfermedad de Alzheimer (EA) en el líquido cefalorraquídeo (LCR) permite una mayor precisión en el diagnóstico de la enfermedad¹, siendo recomendada en las guías de diagnóstico actuales para los

centros que disponen de ella^{2,3}. Las medidas de los niveles de A β 42, A β 42/A β 40, tau total (tTau) y tau fosforilada en la treonina 181 (pTau181) en LCR fueron incluidas en 2011 en los criterios revisados de diagnóstico de enfermedad de Alzheimer de la NIA-AA y posteriormente en las guías de práctica clínica vigentes en nuestro entorno²⁻⁵. Durante la última década, la determinación de dichos biomarcadores se ha ido incorporando de forma progresiva en el proceso diagnóstico del deterioro cognitivo, en mayor medida en centros con unidades especializadas. La comercialización de autoanalizadores, métodos y reactivos estandarizados durante los últimos años ha favorecido su implantación en los laboratorios. Sin embargo, ante la ausencia de valores universales, debido a diferentes factores tanto poblacionales como metodológicos (factores preanalíticos y analíticos), se sigue recomendando la determinación de los puntos de corte (PdC) específicos para cada centro y su población².

En este contexto, el estudio CORCOBIA (Correlación de instrumentos cognitivos y biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer) tiene como objetivo principal la determinación de los PdC de los biomarcadores principales de la EA en LCR para la población de los centros participantes (Hospital del Mar y Centre Emili Mira –CAEM- del Parc de Salut Mar) y Hospital General de Granollers, que trabajan con el mismo laboratorio de referencia (Laboratori de Referència de Catalunya, LRC). Se llevó a cabo una sistematización de las fases preanalítica y analítica y se analizó la correlación de instrumentos cognitivos estandarizados (batería Neuronorma)⁶ con los biomarcadores de LCR. En el presente artículo se describen los resultados referentes a la determinación de PdC de los biomarcadores incluidos.

Metodología

El estudio CORCOBIA fue aprobado por el comité ético del “Institut Hospital del Mar d’Investigacions Mèdiques” (IMIM, 2014/5638) y siguió las recomendaciones éticas para la investigación recogidas en la declaración Helsinki (2013). Se realizó conjuntamente entre el Hospital del Mar (Parc de Salut Mar, Barcelona) y el Laboratori de Referència de Catalunya (LRC) con dos centros colaboradores: CAEM (Parc de Salut Mar, Santa Coloma de Gramenet) y el Hospital General de Granollers.

Participantes

Se incluyeron sujetos valorados en los distintos centros con los siguientes diagnósticos: cognitivamente sanos (CS), deterioro cognitivo ligero amnésico (DCLa)³ y demencia tipo Alzheimer en grado leve (DTA) según criterios NIA-AA (2011)^{4,7}. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado del estudio aprobado previamente por el comité de ética; en el caso de pacientes con diagnóstico de DTA leve se obtuvo el consentimiento firmado tanto por el participante como por el responsable del mismo.

Los criterios de selección de todos los participantes fueron los siguientes: *Criterios de inclusión:* a) edad comprendida entre 60 y 85 años, b) audición, visión y condiciones físicas adecuadas para realizar las evaluaciones, c) escolaridad mínima para realizar la valoración neuropsicológica, d) estado médico y tratamiento farmacológico estable durante 3 meses antes del comienzo del estudio. *Criterios de exclusión:* a) falta de voluntad o incapacidad del sujeto para colaborar adecuadamente en el estudio, b) cualquier patología del sistema nervioso central (SNC) diferente de las estudiadas que pueda afectar a la cognición, c) trastorno psiquiátrico que, a juicio del investigador, afecte las capacidades cognitivas de los participantes (ej. episodio depresivo mayor, trastorno bipolar, trastorno distímico descompensado, esquizofrenia o episodio psicótico, según criterios DSM-V), d) hipotiroidismo y/o déficits vitamínicos (B12, ácido fólico) o cualquier otra condición médica que, a juicio del investigador, interfiera en el rendimiento cognitivo de los participantes, e) cualquier condición médica que implique contraindicación para la realización de una punción lumbar (ej. tratamiento activo con anticoagulantes, trastornos hematológicos que afecten a la coagulación como plaquetopenia significativa o coagulopatías, insuficiencia hepática grave o patología lumbar que implique alto riesgo para la realización de la misma), i) consumo de alcohol en patrón de abuso o consumo de sustancias tóxicas que, a juicio del investigador, puedan interferir en la valoración cognitiva, j) presencia de hipoacusia grave, ambliopía importante o ceguera y k) existencia de cualquier situación que pudiera hacer al sujeto, según la opinión del investigador principal, inadecuado para el estudio.

Los participantes fueron asignados a los diferentes grupos según los siguientes criterios: I) "DTA": pacientes con deterioro cognitivo moderado según la Global Deterioration Scale (GDS)⁸ que a su vez cumplen criterios diagnósticos de DTA "probable" según criterios NIA-AA de 2011⁴; II) "DCLa": pacientes con deterioro cognitivo ligero según GDS con perfil amnésico primario³; III) "CS": sujetos que presentan un estudio neuropsicológico normal ajustado por edad y escolaridad.

Procedimientos

Los pacientes incluidos con diagnóstico clínico de DCLa y de DTA leve fueron valorados en las consultas de neurología de los tres centros colaboradores. La muestra de participantes cognitivamente sanos (CS) estaba compuesta por acompañantes de pacientes (42.9%) y por sujetos con quejas cognitivas subjetivas con rendimientos dentro de la normalidad para la edad y escolaridad en la exploración neuropsicológica (57.1%).

La participación del estudio consistía en la realización de una visita informativa y firma del consentimiento informado, valoración neuropsicológica extensa normalizada (mediante la batería Neuronorma)⁶ Resonancia Magnética (RM) en los pacientes con evidencia de deterioro cognitivo, determinación del genotipo APOE y realización de una punción lumbar (PL).

Punción lumbar y análisis del LCR:

Se realizó una PL (espacios intervertebrales L3-L4 o L4-L5), entre las 8 y las 10 am y en condiciones de ayuno (8h), mediante aguja de 0,7 milímetros y calibre 22 G. El procedimiento preanalítico se realizó siguiendo las recomendaciones publicadas por Vanderstichele et al. (2012)⁹ y fue el siguiente: a) dispensación del LCR en un tubo inerte de polipropileno de 10ml (Sarstedt Ref. 62610201) y envío al laboratorio, b) centrifugación del LCR a temperatura ambiente (10 minutos / 2000g), c) alicuotado del sobrenadante en microtubos de polipropileno inerte de 500 mcL (Starstedt Ref. 72.730.006), d) traslado inmediato al laboratorio de referencia en hielo seco y e) congelación a -80°C. El tiempo máximo permitido entre la PL y la congelación en hielo seco inicial y posteriormente en congeladores a -80° fue de 4 y 12h respectivamente.

El proyecto se inició en noviembre de 2014, los primeros análisis de las muestras de LCR se llevaron a cabo durante el año 2018, realizándose mensualmente desde la primera serie siguiendo este procedimiento: a) descongelación de las alícuotas de LCR durante 30 minutos a temperatura ambiente, b) homogeneización de cada alícuota en un agitador durante 10 segundos cada una, c) cuantificación en el analizador Lumipulse G 600 II (Fujirebio, Bélgica), donde se miden los biomarcadores A β 42, A β 40, tTau y pTau181 (pg/mL) mediante un método de inmunoensayo heterogéneo quimioluminiscente automatizado (CLEIA) utilizando reactivos IVD de Fujirebio.

Genotipado *APOE*

El estudio molecular del genotipo *APOE* se realizó analizando muestras de ADN genómico de los pacientes mediante ensayos PCR de discriminación alélica utilizando reactivos “*APOE* Real Type, de Progenie Molecular”, determinando la presencia de los polimorfismos rs7412 (g8041C>T) y rs429358 (g7903 T>C) que permiten definir el diplotipo de *APOE* para los alelos ϵ 2, ϵ 3 y ϵ 4, que a su vez codifican las isoformas *APOE*- ϵ 2, *APOE*- ϵ 3 y *APOE*- ϵ 4 respectivamente.

Análisis estadístico

Determinación de puntos de corte de biomarcadores de EA en LCR:

Se obtuvieron los PdC mediante un estudio de capacidad de clasificación de sujetos CS y DTA usando curvas ROC, eligiendo el PdC con el índice de Youden más alto. Se realizó un análisis descriptivo de las características demográficas de estos dos grupos. Se calcularon pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) y posteriormente se realizó una comparación paramétrica de medias mediante pruebas *t* de Student o no paramétrica mediante la prueba *U* de Mann-Whitney de las variables numéricas según correspondiese. Se realizó una comparación de frecuencias de las variables categóricas entre ambos grupos mediante chi-cuadrado. El umbral de significación considerado fue $p < 0,05$. Para la determinación de los PdC de cada una de los biomarcadores principales de EA en LCR (A β 42, tTau y pTau181) y de las ratios (A β 42/ A β 40, A β 42 / tTau y A β 42 / pTau181) se obtuvieron curvas ROC, las áreas bajo de la curva (ABC), intervalos de confianza (IC 95%) y el conjunto de valores de sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) asociados a cada punto de

corte. Se seleccionó aquel punto de corte con el valor del índice de Youden más alto (índice de Youden: S+E-1).

Clasificación de los sujetos con DCLa según los criterios A/T/N:

Los PdC calculados se aplicaron en los sujetos con diagnóstico clínico de DCLa, clasificándolos según la clasificación ATN de la NIA-AA (2018) en las siguientes categorías: A-T-N- (biomarcadores de EA normales); A+T-N- (*Continuum* Alzheimer – Cambio patológico tipo Alzheimer); A+T+N± (*Continuum* Alzheimer - EA); A+T-N+ (*Continuum* Alzheimer – Cambio patológico tipo Alzheimer con sospecha de patología concomitante); A-T+N+, A-T+N-, A-T-N+ (Cambio patológico no tipo EA)¹⁰. Dichas variantes fueron determinadas según los PdC de los biomarcadores que ofrece el presente estudio. De esta manera, se consideró A+ cuando el valor de Aβ42 y/o Aβ42/Aβ40 fue inferior al punto de corte, y T+ y N+ cuando el valor fue superior al PdC de pTau181 y tTau respectivamente. Se realizó un análisis descriptivo de los datos sociodemográficos expresados en medias y desviaciones estándar de las variables numéricas (edad y años de escolaridad) y porcentajes de la variable categórica dicotómica (sexo) de cada grupo de sujetos correspondientes a cada variante A/T/N.

Resultados

Se incluyeron un total de 125 sujetos valorados en los distintos centros (105 de ellos en el Hospital del Mar, 15 en el Hospital General de Granollers, y 5 en el Centre Emili Mira, con los siguientes diagnósticos: 42 (CS), 35 (DCLa), 48 (DTA en grado leve).

Determinación de puntos de corte de biomarcadores de EA en LCR:

La muestra utilizada para calcular los puntos de corte estaba compuesta por 90 sujetos (42 CS, 48 DTA leve). La media de edad fue de 72.5 (5.9) años y el 62.2% eran mujeres. Tal y como muestra la tabla 1, los sujetos con DTA eran ligeramente mayores que los CS, aunque esta diferencia no alcanzó el umbral de significación establecido (71.3 vs 73.7 p=0.059). Las diferencias sí fueron significativas para la escolaridad y el sexo, mostrando menos años de escolaridad y un porcentaje mayor de mujeres el grupo de sujetos con DTA leve que el grupo CS (8 vs 9.5 y 72.9% vs 50% respectivamente,

$p < 0.001$). Por otro lado, se observó un rendimiento significativamente superior en el *Mini Mental State Examination* (MMSE)¹¹ y un porcentaje inferior de portadores de APOE- $\epsilon 4$ en el grupo CS respecto al de DTA (28.1 vs 21.3 y 17.1% vs 70.5% respectivamente, $p < 0.001$).

En cuanto al tiempo entre la obtención de las muestras y su análisis, la mediana fue de 5.5 meses (rango 0-17.3 meses). El 61.1% de las muestras se analizaron conjuntamente en mayo de 2018, realizándose posteriormente series mensualmente hasta completar el 38.9% restante.

En la tabla 2 se presentan los datos descriptivos del conjunto de medidas de los biomarcadores en LCR (A β 42, A β 42/A β 40, tTau, pTau181, A β 42/tTau y A β 42/pTau181) y los resultados de la comparación entre los grupos CS y DTA, en los que se observan diferencias estadísticamente significativas en todas ellas ($p < 0.001$).

La figura 1 muestra las curvas ROC del conjunto de los biomarcadores analizados, los cuales obtuvieron una ABC con valores que oscilan entre el 0.78 y 0.86. Los valores seleccionados para determinar los puntos de corte óptimos para los biomarcadores principales de la EA en LCR fueron los siguientes: A β 42 = 750 pg/ml, tTau = 522 pg/ml, pTau181 = 69.9 pg/ml y de las ratios: A β 42/A β 40 = 0.062, A β 42/tTau = 1.755 y A β 42/pTau181 = 10.3. Los valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos e índices de Youden se ofrecen en la tabla 3. El índice de sensibilidad fue superior al 80% para todos los biomarcadores y ratios, excepto para tTau (70.8%). El índice de especificidad fue superior al 70% en todos los casos excepto para la ratio A β 42/A β 40 (64.3%). La combinación de biomarcadores mediante la ratio A β 42/pTau181 obtuvo el índice de Youden más alto (0.62) con una ABC de 0.86.

Clasificación de los sujetos DCLa según los criterios A/T/N:

De la muestra de sujetos con DCLa (n=35), 25 sujetos (71.4%) se clasificaron dentro del “Continuum Alzheimer”: 5 sujetos (14.3%) como “Cambio patológico tipo Alzheimer” (A+T-N-) y 20 (57.1%) como “EA” (A+T+N \pm). Por otro lado, 9 sujetos (25,7%) presentaron biomarcadores de EA normales (A-T-N-), y 1 sujeto (2.86%) se categorizó como “Cambio patológico no tipo EA”, puesto que presentaba un perfil A-T+N+. En la

tabla 4 se muestran la frecuencia y porcentajes de sujetos de cada perfil A/T/N y sus características sociodemográficas.

Eventos adversos:

Seis de los participantes en el estudio (4.8%) sufrieron algún evento adverso relacionado con la punción lumbar, 5 de ellos cefalea post punción y un caso de mareo, todos ellos recuperados *ad íntegram*. No se registraron eventos adversos graves. No se registraron eventos adversos en relación al resto de procedimientos del estudio.

Discusión

A pesar del desarrollo de sistemas de análisis semiautomatizados para la determinación de biomarcadores de la EA en LCR, no se dispone de valores de referencia universales para la interpretación de los mismos. El presente trabajo describe los valores de PdC obtenidos mediante un estudio prospectivo multicéntrico con el propósito de aplicarlos en la práctica clínica en nuestra población de una forma fiable.

Determinación de puntos de corte de biomarcadores de EA en LCR:

Se obtuvieron los PdC mediante un estudio de capacidad de clasificación de sujetos CS y DTA usando curvas ROC, eligiendo el PdC con el índice de Youden más alto. La elección de PdC para un biomarcador particular puede realizarse mediante diferentes aproximaciones estadísticas (ej. valores de normalidad en población sana, controlando la sensibilidad o especificidad deseada, maximizando la precisión o mediante curvas ROC -representación gráfica de sensibilidad vs 1- especificidad de los posibles puntos de corte), siendo esta última aproximación práctica habitual en investigación clínica. La elección de los PdC tras el estudio de capacidad mediante curvas ROC según el índice de Youden más alto permite un óptimo balance entre sensibilidad y especificidad^{12,13}, que consideramos adecuado en el ámbito de la práctica clínica en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer, siendo esta determinación una prueba más en el proceso diagnóstico. Si bien otros estudios han optado por definir los PdC de biomarcadores bioquímicos de EA en LCR basándose en la concordancia con el estudio con tomografía por emisión de positrones (PET) cerebral con radiotrazadores de amiloide o por patrón de hipometabolismo sugestivo de EA con fluorodesoxiglucosa (FDG)¹⁴⁻¹⁷, la obtención

de estos PdC mediante una aproximación de casos y controles también ha sido utilizada en trabajos previos¹⁸⁻²⁰. Con el objetivo de optimizar la fiabilidad del diagnóstico clínico, el presente estudio dispone de unos criterios de inclusión y exclusión que cumplen con las recomendaciones de práctica clínica habitual para el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer^{3,4,7}, así como una extensa batería neuropsicológica para la correcta caracterización de los sujetos. Así mismo, se han utilizado criterios restrictivos en cuanto al grado de patología cerebrovascular (RM cerebral con leucoaraiosis en grado menor o igual a 1 en la escala de Fazekas, más allá de otros criterios habituales como la ausencia de infartos estratégicos o de gran vaso).

Respecto al tiempo transcurrido entre la obtención y el análisis de las muestras, aunque la recogida de muestras se inició el año 2014 y las recomendaciones citadas indican estabilidad de las muestras durante 2 años⁹, una publicación posterior de Willemse et al., (2017) muestra que los niveles de A β 42, tTau y pTau181 se mantendrían estables durante 12 años a una temperatura de -80^o²¹.

Aunque el estudio incluyó también un grupo de sujetos con DCLa, los datos de estos no se utilizaron para el cálculo de los puntos de corte debido a que el diagnóstico de DCL es relativamente inestable y en algunos casos los sujetos clasificados como tal no progresan a demencia o incluso revierten a normalidad psicométrica²². Sin embargo, la inclusión de este grupo con DCL ha permitido aplicar los resultados obtenidos y explorar la capacidad de clasificación de los mismos de acuerdo al esquema A/T/N.

Las diferencias en cuanto a las características demográficas entre los grupos a partir de los que se obtienen los PdC (CS y DTA) concuerdan con los factores de riesgo conocidos de la enfermedad. El grupo con demencia fue ligeramente mayor que el de referencia, aunque la diferencia en las medias de edad fue inferior a 3 años y no alcanzó significación estadística. Sí se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al sexo y el nivel de escolaridad. Estas diferencias concuerdan con el mayor riesgo de DTA observado en mujeres y en sujetos con menor escolaridad reportado en la literatura²³⁻²⁵. Respecto al genotipado del gen *APOE*, se observan diferencias en cuanto al porcentaje de portadores de la variante *APOE*- ϵ 4, siendo éste más alto en el

grupo de DTA, un resultado esperable debido al aumento de riesgo de EA en los portadores de esta variante alélica^{26,27}.

En cuanto a los valores obtenidos de los diferentes biomarcadores estudiados, así como la combinación de los mismos mediante ratios, se observan diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos para todos ellos, hecho que concuerda con el diagnóstico clínico. Todos los biomarcadores y ratios obtienen áreas bajo la curva (ABC) superiores al 0.78, destacando las obtenidas mediante la combinación de biomarcadores indicadores de amiloidosis y depósito de proteína tau (A β 42/pTau181 y A β 42/tTau, ABC 0.86), en consonancia con estudios previos^{28,29}. Se observan globalmente niveles de sensibilidad y especificidad superiores al 70%, alcanzando en su mayoría valores superiores al 75% en ambos estadísticos. Los biomarcadores aislados con valores de sensibilidad más altos fueron aquellos indicativos de amiloidosis (A β 42 y A β 42/A β 40), especialmente el ratio A β 42/A β 40 (S 89%), aunque con unos valores de especificidad más modestos (71% y 64% respectivamente). Este hecho podría deberse al diferente patrón temporal de alteración de dichos biomarcadores, elevándose tempranamente respecto a tTau y pTau181³⁰, así como a la inclusión de sujetos con niveles bajos de péptidos amiloide en LCR por amiloidosis cerebral no directamente relacionada con la EA. Se observó una mejor especificidad de los dos biomarcadores indicativos de depósito de proteína tau, a favor de tTau respecto pTau181 (78.6% y 76.26% respectivamente). La combinación de biomarcadores indicativos de amiloidosis y taupatía mediante el ratio A β 42/pTau181 obtiene los valores con mayor ABC y mejor balance entre sensibilidad y especificidad, aconsejable en el diagnóstico de una enfermedad con carácter irreversible, sin perder de vista la necesidad de detección de pacientes en fases tempranas. Tal y como han demostrado varios estudios anteriores, la ratio A β 42/pTau181 se considera un biomarcador en LCR con una elevada precisión³¹⁻³³. En conjunto, los resultados obtenidos apoyan el uso de los PdC obtenidos en la práctica clínica, preferiblemente mediante la combinación de los mismos.

Variantes A/T/N en sujetos con DCLa

La mayoría de los sujetos del grupo DCLa presentan un perfil de biomarcadores de EA alterado, cumpliendo criterios diagnósticos de DCLa debido a EA³. Este elevado

porcentaje podría relacionarse con la realización de un estudio neuropsicológico formal y extenso en el estudio, que conlleva una óptima clasificación clínica de los sujetos, reforzando el papel de la valoración neuropsicológica en la práctica clínica habitual. Los resultados obtenidos nos han permitido un diagnóstico etiológico más preciso en pacientes con diagnóstico clínico de DCLa, siendo similares a los reportados en distintos trabajos sobre la aplicabilidad del sistema de clasificación A/T/N en otras cohortes³⁴⁻³⁹.

Limitaciones

Respecto a las limitaciones del estudio, se considera que una mayor muestra de sujetos en cada uno de los grupos pudiera haber aumentado la potencia estadística del mismo. Por otro lado, a pesar de que se asumen niveles de los biomarcadores dentro de la normalidad en el grupo control, no es descartable la inclusión de sujetos en fases preclínicas de EA. Este posible sesgo de selección es inherente a la clasificación estrictamente clínica y psicométrica, si bien el uso de una extensa batería neuropsicológica puede minimizarlo. Asimismo, a pesar de la optimización del estudio diagnóstico mediante un adecuado protocolo y la experiencia en los centros participantes, no se dispone de un estudio anatomopatológico de los pacientes con diagnóstico de DTA que confirme la etiología. Por otro lado, la inclusión de algunos sujetos con quejas cognitivas subjetivas, implica un mayor riesgo inclusión de sujetos en fases preclínicas de la EA⁴⁰, si bien la evidencia en este sentido ha aumentado en los años posteriores al diseño del estudio y no se tuvo en cuenta en aquel momento. A pesar del riesgo de inclusión de sujetos en fases preclínicas de EA en el grupo control, la comparación entre los grupos más alejados a nivel psicométrico podría disminuir su efecto, ante niveles de biomarcadores presumiblemente más alejados de la normalidad en los sujetos con EA en fase de demencia. Por último, las dificultades en cuanto al reclutamiento de los sujetos, especialmente en referencia al grupo control, así como de aspectos logísticos en cuanto a la creación de circuitos de envío de muestras de forma sistematizada y fiable, conllevó un retraso considerable respecto el calendario de ejecución del proyecto previsto inicialmente.

Por otro lado, el diseño del presente estudio conlleva un detallado protocolo de valoración clínica, neuropsicológica y de neuroimagen que permite una adecuada

caracterización de los sujetos. Además, se ha realizado en un marco de práctica clínica habitual, donde se observa una mayor heterogeneidad en cuanto a características demográficas, clínicas, comorbilidades o tratamientos farmacológicos respecto a estudios en cohortes de investigación. Esta aproximación proporciona una mayor validez externa para la aplicación de los PdC descritos en otras unidades especializadas.

Conclusiones

El presente estudio ha permitido la determinación de PdC para los biomarcadores de EA en LCR para la población de referencia de los centros implicados, con valores estadísticos que apoyan su uso en la práctica clínica de forma fiable y con bajo riesgo de eventos adversos. La combinación de biomarcadores indicativos de amiloidosis y taupatía mediante la ratio $A\beta_{42}/p\text{Tau}_{181}$ es el que proporciona un mejor balance entre sensibilidad y especificidad.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración de los participantes en el estudio y sus familiares, así como la de todos los profesionales de los distintos centros que han participado en el mismo (enfermería y auxiliares de enfermería de hospitales de día y equipo técnico de laboratorio).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

MSC ha trabajado como consultor y en consejos asesores para *Roche Diagnostics International Ltd* I ha ofrecido sesiones en simposios patrocinados por Roche Diagnostics, S.L.U and Roche Farma, S.A.

Financiación

La presente investigación no ha recibido ayudas específicas provenientes de agencias del sector público, sector comercial o entidades sin ánimo de lucro.

MSC percibe financiación por parte del Consejo Europeo de Investigación (*European Research Council* (ERC) en el marco del programa de investigación e innovación Europeo Horizonte 2020 (*European Union's Horizon, Grant agreement* No. 948677) y beca Marie Skłodowska-Curie (No 847648 (LCF/BQ/PR21/11840004), así como del Instituto de Salud Carlos III (PI19/00155), y por la Fundació la Caixa (ID 100010434).

ING y JR perciben financiación por parte del Instituto de Salud Carlos III (ISCI-III-FEDER, PI21/00194).

Bibliografía

1. Shaw LM, Arias J, Blennow K, et al. Appropriate use criteria for lumbar puncture and cerebrospinal fluid testing in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. 2018;14(11):1505-1521. doi:10.1016/J.JALZ.2018.07.220
2. Amer G, Manzano MS, Fortea J, Villarejo A, Sánchez-Valle R. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. In: Luzán, ed. *Guías Diagnósticas y Terapéuticas de La Sociedad Española de Neurología 2018. Guía Oficial de Práctica Clínica En Demencias*. 5th ed. Ediciones SEN; 2018:35-41.
3. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. 2011;7(3):270-279. doi:10.1016/J.JALZ.2011.03.008
4. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. 2011;7(3):263-269. doi:10.1016/J.JALZ.2011.03.005
5. Balasa M, Piñol Ripoll G, Molinuevo Guix JL, Lleó Bisa A, Lladó Plarrumaní A. *Guies Clíniques d'ús de Biomarcadors de Malaltia d'Alzheimer En Líquid Cefalorraquidi En l'avaluació de Pacients Amb Deteriorament Cognitiu.*; 2015.
6. Peña-Casanova J, Blesa R, Aguilar M, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): methods and sample characteristics. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists*. 2009;24(4):307-319. doi:10.1093/ARCLIN/ACP027

7. Manzano MS, Fortea J, Villarejo A, Sánchez-Valle R. *Guías Diagnósticas y Terapéuticas de La Sociedad Española de Neurología 2018. Guía Oficial de Práctica Clínica En Demencias*. 5th ed. (Luzán, ed.). Ediciones SEN; 2018.
8. Reisberg B, Ferris SH, de Leon MJ, Crook T. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *The American journal of psychiatry*. 1982;139(9):1136-1139. doi:10.1176/AJP.139.9.1136
9. Vanderstichele H, Bibl M, Engelborghs S, et al. Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. 2012;8(1):65-73. doi:10.1016/J.JALZ.2011.07.004
10. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. 2018;14(4):535-562. doi:10.1016/J.JALZ.2018.02.018
11. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of psychiatric research*. 1975;12(3):189-198. doi:10.1016/0022-3956(75)90026-6
12. Bartlett JW, Frost C, Mattsson N, et al. Determining cut-points for Alzheimer's disease biomarkers: statistical issues, methods and challenges. *Biomarkers in medicine*. 2012;6(4):391-400. doi:10.2217/BMM.12.49
13. Ruopp MD, Perkins NJ, Whitcomb BW, Schisterman EF. Youden Index and optimal cut-point estimated from observations affected by a lower limit of detection. *Biometrical journal Biometrische Zeitschrift*. 2008;50(3):419-430. doi:10.1002/BIMJ.200710415
14. Hansson O, Seibyl J, Stomrud E, et al. CSF biomarkers of Alzheimer's disease concord with amyloid- β PET and predict clinical progression: A study of fully automated immunoassays in BioFINDER and ADNI cohorts. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. 2018;14(11):1470-1481. doi:10.1016/J.JALZ.2018.01.010
15. Alcolea D, Pegueroles J, Muñoz L, et al. Agreement of amyloid PET and CSF biomarkers for Alzheimer's disease on Lumipulse. *Annals of clinical and translational neurology*. 2019;6(9):1815-1824. doi:10.1002/ACN3.50873
16. Álvarez I, Aguilar M, González JM, et al. Clinic-Based Validation of Cerebrospinal Fluid Biomarkers with Florbetapir PET for Diagnosis of Dementia. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 2018;61(1):135-143. doi:10.3233/JAD-170753
17. Wang MJ, Yi S, Han JY, et al. Analysis of Cerebrospinal Fluid and [11C]PIB PET Biomarkers for Alzheimer's Disease with Updated Protocols. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 2016;52(4):1403-1413. doi:10.3233/JAD-160143
18. Molinuevo JL, Gispert JD, Dubois B, et al. The AD-CSF-index discriminates Alzheimer's disease patients from healthy controls: a validation study. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 2013;36(1):67-77. doi:10.3233/JAD-130203

19. Alcolea D, Carmona-Iragui M, Suárez-Calvet M, et al. Relationship Between-Secretase, Inflammation and Core Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014;42:157-167. doi:10.3233/JAD-140240
20. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, et al. CSF Biomarkers and Incipient Alzheimer Disease in Patients With Mild Cognitive Impairment. *JAMA*. 2009;302(4):385-393. doi:10.1001/JAMA.2009.1064
21. Willemse EAJ, van Uffelen KWJ, van der Flier WM, Teunissen CE. Effect of long-term storage in biobanks on cerebrospinal fluid biomarker A β 1-42, T-tau, and P-tau values. *Alzheimer's & dementia (Amsterdam, Netherlands)*. 2017;8:45-50. doi:10.1016/J.DADM.2017.03.005
22. Sanz-Blasco R, Ruiz-Sánchez de León JM, Ávila-Villanueva M, Valentí-Soler M, Gómez-Ramírez J, Fernández-Blázquez MA. Transition from mild cognitive impairment to normal cognition: Determining the predictors of reversion with multi-state Markov models. *Alzheimer's & Dementia*. Published online 2021. doi:10.1002/ALZ.12448
23. Meng X, D'Arcy C. Education and dementia in the context of the cognitive reserve hypothesis: a systematic review with meta-analyses and qualitative analyses. *PLoS one*. 2012;7(6). doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0038268
24. Winblad B, Amouyel P, Andrieu S, et al. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *The Lancet Neurology*. 2016;15(5):455-532. doi:10.1016/S1474-4422(16)00062-4
25. Fratiglioni L, Qiu C. Oxford Textbook of Old Age Psychiatry. In: Oxford University Press; 2013. doi:10.1093/med/9780199644957.003.0031
26. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science (New York, NY)*. 1993;261(5123):921-923. doi:10.1126/SCIENCE.8346443
27. Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, et al. Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid beta peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(17):8098-8102. doi:10.1073/PNAS.90.17.8098
28. Fagan AM, Shaw LM, Xiong C, et al. Comparison of analytical platforms for cerebrospinal fluid measures of β -amyloid 1-42, total tau, and p-tau181 for identifying Alzheimer disease amyloid plaque pathology. *Archives of neurology*. 2011;68(9):1137-1144. doi:10.1001/ARCHNEUROL.2011.105
29. Rivero-Santana A, Ferreira D, Perestelo-Pérez L, et al. Cerebrospinal Fluid Biomarkers for the Differential Diagnosis between Alzheimer's Disease and Frontotemporal Lobar Degeneration: Systematic Review, HSROC Analysis, and Confounding Factors. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 2017;55(2):625-644. doi:10.3233/JAD-160366
30. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *The Lancet Neurology*. 2013;12(2):207-216. doi:10.1016/S1474-4422(12)70291-0

31. Parnetti L, Chiasserini D, Eusebi P, et al. Performance of a β 1-40, a β 1-42, total tau, and phosphorylated tau as predictors of dementia in a cohort of patients with mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*. 2012;29(1):229-238. doi:10.3233/JAD-2011-111349
32. Santangelo R, Masserini F, Agosta F, et al. CSF p-tau/A β 42 ratio and brain FDG-PET may reliably detect MCI "imminent" converters to AD. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2020;47(13):3152-3164. doi:10.1007/S00259-020-04853-4
33. Ferreira D, Rivero-Santana A, Perestelo-Pérez L, et al. Improving CSF Biomarkers' Performance for Predicting Progression from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease by Considering Different Confounding Factors: A Meta-Analysis. *Frontiers in aging neuroscience*. 2014;6(OCT). doi:10.3389/FNAGI.2014.00287
34. Burnham SC, Coloma PM, Li QX, et al. Application of the NIA-AA Research Framework: Towards a Biological Definition of Alzheimer's Disease Using Cerebrospinal Fluid Biomarkers in the AIBL Study. *The journal of prevention of Alzheimer's disease*. 2019;6(4):248-255. doi:10.14283/JPAD.2019.25
35. Altomare D, de Wilde A, Ossenkoppele R, et al. Applying the ATN scheme in a memory clinic population: The ABIDE project. *Neurology*. 2019;93(17):E1635-E1646. doi:10.1212/WNL.0000000000008361
36. Moscoso A, Silva-Rodríguez J, Aldrey JM, et al. Staging the cognitive continuum in prodromal Alzheimer's disease with episodic memory. *Neurobiology of aging*. 2019;84:1-8. doi:10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2019.07.014
37. Yu JT, Li JQ, Suckling J, et al. Frequency and longitudinal clinical outcomes of Alzheimer's AT(N) biomarker profiles: A longitudinal study. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*. 2019;15(9):1208-1217. doi:10.1016/J.JALZ.2019.05.006
38. Mattsson-Carlgren N, Leuzy A, Janelidze S, et al. The implications of different approaches to define AT(N) in Alzheimer disease. *Neurology*. 2020;94(21):e2233-e2244. doi:10.1212/WNL.0000000000009485
39. Allegri RF, Chrem Méndez P, Calandri I, et al. Prognostic value of ATN Alzheimer biomarkers: 60-month follow-up results from the Argentine Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Alzheimer's & dementia (Amsterdam, Netherlands)*. 2020;12(1). doi:10.1002/DAD2.12026
40. Rabin LA, Smart CM, Amariglio RE. Subjective Cognitive Decline in Preclinical Alzheimer's Disease. *Annual review of clinical psychology*. 2017;13:369-396. doi:10.1146/ANNUREV-CLINPSY-032816-045136

Tabla 1: Características de la muestra para la creación de los puntos de corte (n=90)

	CS (n=42)	DTA leve (n=48)	p valor
Edad (años)	71.3 (5.45)	73.7 (6.14)	0.059 ^a
Escolaridad (años)	9.50 (8-15)	8 (6-10)	0.012 ^b
Sexo femenino (n, %)	21 (50)	35 (72.9)	0.025 ^c
MMSE	28.1 (1.54)	21.3 (2.84)	<0.001 ^a
Portador ApoE-ε4 (n,%)^d	7 (17.1)	31 (70.5)	<0.001 ^c

Las variables de Edad y MMSE están expresadas en medias (desviación estándar) y de Escolaridad en mediana (rango intercuartílico).

CS, Cognitivamente sanos; DTA, Demencia tipo Alzheimer; MMSE, Mini Mental State Examination; APOE-ε4: portadores de alelo ApoE-ε4 (homo o heterocigotos).

^a prueba t; ^b prueba U de Mann-Whitney ^c Chi-cuadrado de Pearson ^d n=85 (44 DTA leve y 41 CS)

Tabla 2: Medidas de LCR (n=90)

	CS (n=42)	DTA leve (n=48)	p valor^a
Aβ42 (pg/ml)	1061 (679.0-1526.7)	611.5 (511.5 - 716.5)	<0.001
Aβ42 / Aβ40	0.083 (0.051-0.109)	0.044 (0.038 - 0.055)	<0.001
tTau (pg/ml)	391.0 (283.2-516.0)	715.5 (468.7 - 979.0)	<0.001
pTau181 (pg/ml)	52.7 (41.1-71.8)	120.0 (79.0 -170.9)	<0.001
Aβ42 / tTau	2.86 (1.55 -5.09)	0.81 (0.54 - 1.37)	<0.001
Aβ42 / pTau181	24.7 (10.9 -38.0)	4.76 (3.12 - 9.04)	<0.001

Las variables están expresadas en medianas (rango intercuartílico).

LCR, Líquido cefalorraquídeo; CS, Cognitivamente sanos; DTA, Demencia tipo Alzheimer; A β , proteína beta-Amiloide; tTau, proteína Tau total; pTau181, proteína Tau fosforilada en la treonina 181

^a Prueba U de Mann Whitney

Tabla 3: Puntos de corte del conjunto de biomarcadores de LCR

	Punto de corte	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Youden	ABC [IC 95%]	<i>p</i>
Aβ42 (pg/ml)	750.0	83.3%	71.4%	76.9%	78.9%	0.548	0.81 [0.72 – 0.90]	<0.001
Aβ42/ Aβ40	0.062	89.6%	64.3%	74.1%	84.4%	0.539	0.78 [0.68 – 0.88]	<0.001
tTau (pg/ml)	522.0	70.8%	78.6%	79.1%	70.2%	0.494	0.79 [0.70 – 0.89]	<0.001
pTau (pg/ml)	69.9	81.3%	76.2%	79.6%	78.0%	0.574	0.81 [0.72 – 0.90]	<0.001
Aβ42 / tTau	1.75	87.5%	73.8%	79.2%	83.8%	0.613	0.86 [0.78 – 0.94]	<0.001
Aβ42/ pTau181	10.25	83.3%	78.6%	81.6%	80.5%	0.619	0.86 [0.78 – 0.94]	<0.001

LCR, líquido cefalorraquídeo; VPP, Valor Predictivo Positivo; VPN, Valor Predictivo Negativo; ABC, Area bajo la curva; IC, intervalo de confianza; Aβ, proteína beta-Amiloide, tTau, Tau total; pTau181, Tau fosforilada en la treonina 181, pg,picogramos; ml,mililitros

Tabla 4: Características sociodemográficas y perfiles A/T/N en sujetos con DCLa (n=35)

Perfil A/T/N	N (%)	Edad	Escolaridad	Sexo (%mujeres)
<i>Continuum de la EA</i>				
A+T-N-	5 (14.9)	71.6 (4.93)	10.6 (4.56)	40
A+T+N-	2 (5.7)	78.5 (3.54)	7.00 (1.41)	0
A+T+N+	18 (51.4)	74.1 (4.42)	9.33 (4.10)	77.8
Cambio patológico no tipo EA				
A-T+N+	1 (2.9)	75.0	8	100
Biomarcadores de la EA normales				
A-T-N-	9 (25.7)	76.2 (3.15)	7.78 (2.59)	22.2

Las variables numéricas están expresadas en medias (desviación estándar) y la variable dicotómica en porcentajes. DCLa, deterioro cognitivo ligero amnésico; EA, enfermedad de Alzheimer.

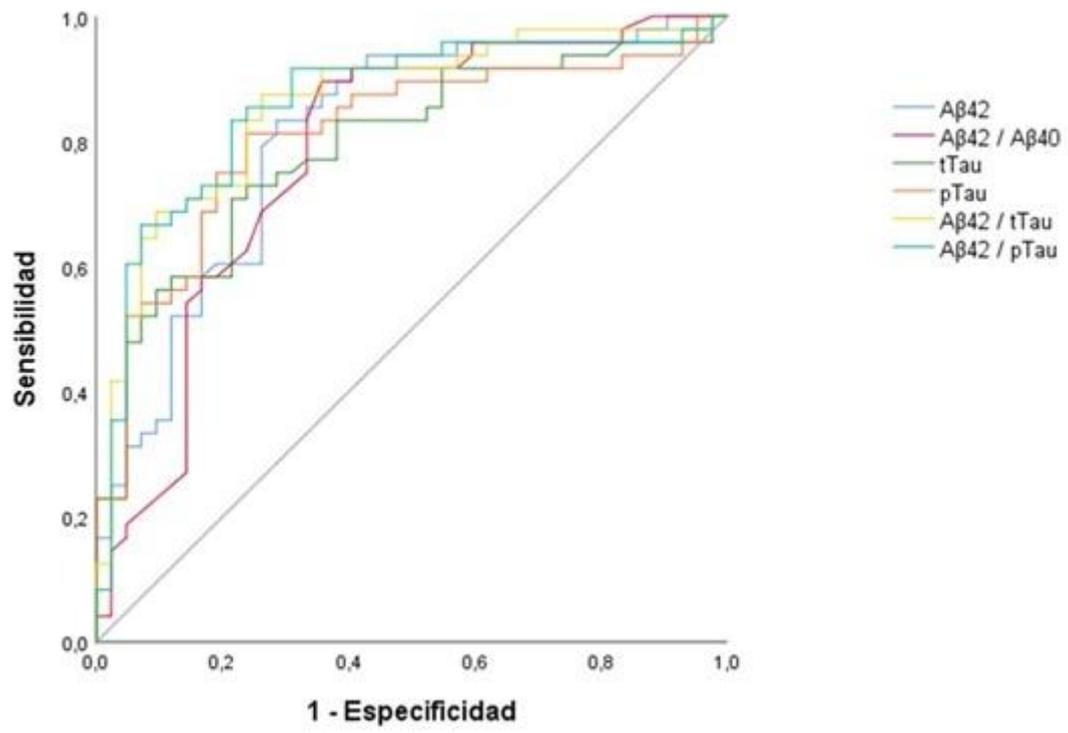


Figura 1: Curvas ROC del conjunto de biomarcadores de LCR analizados en el estudio