

TRABAJO FINAL DE GRADO

Eficacia de los marcadores biológicos
como modelo predictivo de la
enfermedad de Alzheimer

Grado en Medicina. Facultad de Ciencias de la Salud.

Curso académico 2020-2021

Autor: David Ruiz Raga

Tutor: Francisco de Asís Ros Bernal

TRABAJO DE FIN DE GRADO (TFG) - MEDICINA

EL/LA PROFESOR/A TUTOR/A hace constar su **AUTORIZACIÓN** para la Defensa Pública del Trabajo de Fin de Grado y **CERTIFICA** que el/la estudiante lo ha desarrollado a lo largo de 6 créditos ECTS (150 horas)

TÍTULO del TFG: EFICACIA DE LOS MARCADORES BIOLÓGICOS COMO MODELO PREDICTIVO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

ALUMNO/A: David Ruiz Raga

DNI: 73591931G

PROFESOR/A TUTOR/A: Francisco Ros Bernal

Fdo (Tutor/a): FRANCISCO ROS BERNAL

ÍNDICE

ABREVIATURAS	4
RESUMEN.....	6
ABSTRACT	7
EXTENDED SUMMARY	8
1. ANTECEDENTES.....	10
1.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA EA	10
1.2. FACTORES DE RIESGO	11
1.2. PATOGÉNESIS.....	12
1.3. DIAGNÓSTICO	14
1.4. BIOMARCADORES	16
2. OBJETIVOS.....	21
3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	21
4. JUSTIFICACIÓN DE LA REVISIÓN.....	22
5. MATERIAL Y METODOS	23
5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	23
5.2. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA DE ARTÍCULOS	24
5.3. EXTRACCIÓN DE DATOS	25
5.4. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD.....	27
6. RESULTADOS	29
6.1. BIOMARCADORES CONVENCIONALES	29
6.2. FACTORES NEUROTRÓFICOS CEREBRALES.....	31
6.3. BIOMARCADORES INFLAMATORIOS	32
6.4. NUEVOS BIOMARCADORES	34
6.5. CONJUNTO DE BIOMARCADORES VALIDADOS A NIVEL DE GRUPO	36
7. DISCUSIÓN.....	38
7.1. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	38
7.2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	43
8. CONCLUSIONES.....	45
9. BIBLIOGRAFÍA.....	47

ABREVIATURAS

A β : β -amiloide

A β 42: β -amiloide en su isoforma de 42 aminoácidos

A β PP: Proteína A β plaquetaria

ApoE4: Alelo Épsilon 4 de la Apolipoproteína E

APP: Proteína Precursora de Amiloide

ARNm: Ácido Ribonucleico Mensajero

BDNF: Brain-Derived Neurotrophic Factor

CT: Colesterol Total

DCL: Deterioro Cognitivo Leve

DSM: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

EA: Enfermedad de Alzheimer

EMA: Agencia Europea de Medicamentos

FAD: Familiar Alzheimer Disease

FDA: Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos

FTD: Demencia Frontotemporal

HDL-C: Colesterol Lipoproteico de alta densidad

HFABP: Heart-Type Fatty Acid-Binding Protein

ICD-10: International Classification of Diseases

IGF-1: Factor de crecimiento insulínico tipo 1

LCR: Líquido Cefalorraquídeo

LDL-C: Colesterol Lipoproteico de baja densidad

MCP-1: Proteína Quimiotáctica de Monocitos 1

MMSE: Mini Mental State Examination

NfL: Cadena Ligera de Neurofilamento

NGF: Nerve Growth Factor

NINCDS-ADRDA: Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares (NINCDS) y la Asociación de Enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados (ADRDA)

NPTXR: Receptor-1 Neuronal Pentraxin

NSE: Enolasa Neuronal Específica

P-TAU: Tau Fosforilada en treonina18

PET: Tomografía Electrónica de Positrones

PSEN1: Presenilina 1

PSEN2: Presenilina 2

SAD: Sporadic Alzheimer Disease

SIGN: Scottish Intercollegiate Guidelines Network

SPCD: Síntomas Psicológicos y Conductuales de la Demencia

T-TAU: Tau Total

TG: Triglicéridos

TGF- β 1: Factor de Crecimiento Transformante β 1

tmCLIC1: Proteína Transmembrana del Canal Intracelular de Cloruro 1

TREM2: Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 2

VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vascular

VILIP-1: Proteína 1 similar a la Visinina

VPN: Valor Predictivo Negativo

VPP: Valor Predictivo Positivo

YKL-40: Proteína 1 similar a la Quitinasa-3

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La aparición de los biomarcadores ha creado un nuevo concepto de la enfermedad de Alzheimer, en el que se intentan caracterizar los principales procesos patológicos de la EA décadas antes de que aparezcan los primeros síntomas clínicos, por lo que suponen un paso hacia el cambio de diagnóstico y de futuras posibilidades de tratamiento.

OBJETIVOS: Resumir los biomarcadores que se encuentran actualmente en uso clínico y los que se están desarrollando para detectar la enfermedad de Alzheimer en sus diferentes etapas.

METODOLOGÍA: Tras una revisión exhaustiva de la bibliografía en Pubmed y Cochrane Library, se incluyeron los artículos que cumplieran los criterios de inclusión. Se elaboró una tabla con la extracción de datos y se evaluó la calidad metodológica mediante las escalas SIGN.

RESULTADOS: Se obtienen 17 estudios de los cuales 14 son meta-análisis. Se encuentran diferencias significativas en la mayoría de los biomarcadores estudiados entre pacientes diagnosticados con enfermedad de Alzheimer y los controles, tanto en líquido cefalorraquídeo como en sangre, sobre todo cuando se realiza un análisis a nivel grupal.

CONCLUSIÓN: Los marcadores descritos podrían usarse como biomarcadores no solo para detectar la enfermedad de Alzheimer cuando los síntomas son claros, sino también en la etapa temprana, ya que tales procesos inflamatorios pueden preceder a los síntomas de demencia y detectarse antes.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Biomarkers have created a new concept of Alzheimer's disease, in which the main pathological processes of AD have already occurred decades before we can clinically diagnose the first symptoms. Therefore they represent a step towards the change of diagnosis and future treatment possibilities.

OBJECTIVES: To summarize the biomarkers that are currently in clinical use and those that are being developed to detect Alzheimer's disease in its different stages.

METHODOLOGY: After an exhaustive review of the literature found in Pubmed and Cochrane Library, articles that met the inclusion criteria were admitted. A table was prepared with the data extraction and the methodological quality was evaluated using the SIGN scales.

RESULTS: 17 studies were obtained, of which 14 are meta-analysis. Significant differences are found in most of the biomarkers studied between patients diagnosed with Alzheimer's disease and controls, both in cerebrospinal fluid and in blood, especially if they are studied at the group level.

CONCLUSION: The markers described could be used as biomarkers not only to detect Alzheimer's disease when the symptoms are clear, but also in the early stage, since inflammatory processes can precede dementia symptoms and be detected earlier.

EXTENDED SUMMARY

The number of patients with dementia and other cognitive problems is increasing worldwide, especially at the expense of Alzheimer's disease (AD) as it is the most common cause of dementia. This neurodegenerative disorder is characterized by the formation of β -amyloid plaques and neurofibrillary tangles in the brain parenchyma, causing synapses and neuronal loss. This leads to clinical symptoms, such as progressive memory deficits. While the classic diagnostic criteria for AD are based on clinical data of established symptomatic disease, the newer criteria aim to identify the disease in its early stages, although there is no agreement on the best approach. For this, they incorporated the use of specific biomarkers of AD to reach a diagnosis such as the identification of β -amyloid and tau depositions. Thus, although the basic clinical criteria for AD dementia will continue to be the cornerstone of diagnosis in clinical practice, it is expected that biomarker evidence will improve the pathophysiological specificity of the diagnosis of AD dementia, since for the moment biomarkers have managed to change the clinical approach of the disease to a change in biological and pathological alterations decades before the appearance of the first symptoms of the illness, allowing a change in diagnosis and future treatment possibilities.

This systematic review aims to know the new findings of the scientific evidence regarding the use of biomarkers in AD, because studies on the efficacy and usefulness of specific biomarkers vary greatly and new related markers are being identified each time. We will also try to determine if, thanks to advances in the use of biomarkers for early diagnosis, it can be predicted that patients with mild cognitive impairment will end up developing Alzheimer's disease and if they can be applied in clinical practice in the near future.

A bibliographic search is carried out in Pubmed and Cochrane Library using the MeSH terms "Alzheimer disease" and "biomarkers" adding the following subheadings: "blood", "cerebrospinal fluid" and "diagnosis". The established inclusion and exclusion criteria are then applied, obtaining a total of 17 studies, including 14 meta-analysis and 3 clinical trials. A data extraction table is prepared with the following information from each article: study authors, journal and publication date, type of study, number of participants and study population, measured biomarkers, most relevant results, level of evidence and conclusions. To assess the methodological quality and determine the grade of recommendation, the SIGN criteria were used.

The results of the 17 studies have been divided according to the biomarkers used and are qualitatively exposed to be able to show them in a homogeneous way. First, the results show that the detection of t-tau, p-tau and A β 42 in CSF are reasonably sensitive tests for the diagnosis of AD dementia, but they have low specificity, so a negative test of the cited biomarkers in CSF in patients with MCI almost indicates the absence of AD. In addition, lower levels of A β 42 / A β 40 are evidenced in blood compared to control subjects without any type of chronic A β -related disease.

Regarding brain neurotrophins, both EA and MCI are associated with a reduction in peripheral BDNF levels, but individual peripheral BDNF levels may not be adequate as a diagnostic marker. CSF also shows a significant decrease in BDNF in patients with AD, confirming that AD is accompanied by an aberrant neurotrophin profile (BDNF), and future research on neurotrophins as biomarkers and therapeutic targets may be warranted for EA.

Elevated concentrations of inflammatory biomarkers are also found in peripheral blood in patients with AD, while only an increase in TGF- β , MCP-1 and YKL-40 is observed in CSF. These results provided evidence to support that systemic inflammation could be a biomarker for the diagnosis of AD.

Of the new blood biomarkers, the CLIC1 protein in monocytes, the levels of LDL-C and CT, and the platelet indicator A β PP had significant differences in AD patients compared to controls, as did the CSF biomarkers sTREM2 and the NPTXR protein. that are associated with disease progression.

Finally, the levels of the markers BDNF, IGF-1, VEGF, TGF- β 1, MCP-1 and IL-18 in blood serum differ significantly for all analytes except of the VEGF between patients diagnosed with AD and healthy controls, therefore the analysis of a panel of six markers in blood serum under standardized conditions may serve as a diagnostic tool for dementia in the future. Because of their consistency, T-tau, P-tau, A β 42, and NFL in CSF should be used in clinical practice and clinical research.

In regard of the limitations of the present systematic review, although an exhaustive search of the bibliography has been carried out, it is possible that some relevant studies on the subject have been lost. The enormous heterogeneity of the reviews studied must also be considered, which has caused difficulties in unifying the results and expressing them quantitatively.

1. ANTECEDENTES

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una condición neurodegenerativa incurable y progresiva, que representa más del 50% de las demencias (es la causa más común de demencia) y que a nivel mundial afecta al 5% de los hombres y al 6% de las mujeres mayores de 60 años en todo el mundo(1). Esta alta prevalencia de la enfermedad la convierte en un problema importante de salud pública, debido al alto costo financiero y emocional(2).

La EA generalmente se presenta en forma esporádica (SAD), pero en aproximadamente un 10% de los pacientes se manifiesta en forma familiar (FAD). Las formas familiares pueden tener una edad de inicio tardío o precoz. La EA familiar de inicio precoz, antes de los 65 años, tiene un patrón de herencia autosómico dominante y puede ser causado por mutaciones en el gen de la proteína precursora de amiloide (APP) o de las presenilinas 1 y 2 (PSEN1 y PSEN2)(3). Sin embargo, no se deben considerar la EA familiar y EA esporádica como dos entes aislados, de hecho la presencia del alelo épsilon 4 de la apolipoproteína E (ApoE4) es el factor de susceptibilidad genética universalmente más reconocido en la EA esporádica(4).

Los ensayos clínicos de terapias para la EA hasta la fecha no han tenido éxito en revertir, detener o ralentizar el deterioro cognitivo. Se cree que parte de este fracaso es debido al reclutamiento de individuos con un diagnóstico de demencia leve o moderada, etapas de la EA que se acompañan de un incremento en la muerte neuronal. Por lo tanto, es importante diagnosticar al paciente en etapas muy tempranas de la enfermedad, e inscribirlo en ensayos clínicos, para identificar y aplicar terapias que tengan las mejores posibilidades de preservar una función cognitiva normal(5).

1.1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA EA

La EA presenta un inicio insidioso y deterioro progresivo de las funciones conductuales y cognitivas, incluyendo la memoria, la comprensión, el lenguaje, la atención, el razonamiento y el juicio. Los síntomas de la enfermedad dependen de la etapa de la enfermedad. Se puede clasificar en preclínica o presintomática, leve y demencia dependiendo del grado de deterioro cognitivo, si bien estas etapas son diferentes de la clasificación DSM-5(6,7). El síntoma inicial y más común que se presenta es la pérdida episódica de la memoria a corto plazo con una relativa preservación de la memoria a

largo plazo (7,8). El deterioro de la memoria a corto plazo se continúa con un declive en la resolución de problemas, el juicio, el funcionamiento ejecutivo, la falta de motivación y la organización, lo que conduce a problemas con la realización de multitareas y el pensamiento abstracto(9). En las primeras etapas, el deterioro del funcionamiento ejecutivo va de sutil a significativo. A esto le sigue el trastorno del lenguaje y el deterioro de las aptitudes visuoespaciales. Los síntomas neuropsiquiátricos como la apatía, el aislamiento social, la desinhibición, la agitación, la psicosis y la deambulación también son comunes en las etapas intermedias y finales. La dificultad para realizar las tareas motrices aprendidas (dispraxia), la disfunción olfativa, los trastornos del sueño, los signos motores extrapiramidales como la distonía, la acatisia (incapacidad para mantenerse quieto que se acompaña de una sensación de intranquilidad a nivel corporal) y los síntomas parkinsonianos se presentan en las últimas etapas de la enfermedad. A esto le siguen los reflejos primitivos, la incontinencia y la dependencia total de los cuidadores (10).

1.2. FACTORES DE RIESGO

Entre los factores de riesgo hay que destacar, como se ha mencionado antes, la susceptibilidad génica. En el caso de la FAD, los tres principales genes implicados, APP, PSEN1 y PSEN2 podrían constituir marcadores muy tempranos de la enfermedad. Por el contrario, aunque podría pensarse que la SAD, dada su tardía aparición, después de los 65 años, no tendría implicaciones genéticas, se han descrito algunas variantes genéticas (no mutaciones) en esta forma de EA, que son factores de riesgo para la aparición temprana de la enfermedad, por ejemplo, ApoE4 acelera la aparición de la condición(11).

Junto con los factores genéticos, el envejecimiento es un riesgo importante para el desarrollo de EA. No hay que obviar que es una enfermedad neurodegenerativa asociada con la edad. Es más, varios factores de riesgo relacionados con el estilo de vida (infecciones crónicas, inactividad física, dieta, estrés crónico, diabetes, obesidad, hipertensión, hipercolesterolemia) también pueden acelerar el desarrollo de este tipo de demencia. En definitiva, la mayoría de los expertos coinciden en que la EA se desarrolla como resultado de la combinación de múltiples factores de riesgo modificables y no modificables en lugar de una sola causa(12). Los factores del estilo de vida, a diferencia

del envejecimiento o los factores genéticos, son factores modificables y su alteración podría retrasar el desarrollo de la enfermedad (11).

1.2. PATOGÉNESIS

La EA es una enfermedad heterogénea con características neuropatológicas y neurobiológicas complejas. Respecto a la etiología de la EA, no se conocen la causa o las causas que promueven su desarrollo, aunque se han propuesto diferentes hipótesis que ayudan a entender el complejo proceso neurodegenerativo de esta enfermedad. Neuropatológicamente, la EA se caracteriza por i) una pérdida neuronal sobre todo en las estructuras del lóbulo temporal medial y las cortezas de asociación temporo-parietal asociada con una incrementada reacción neuroinflamatoria, ii) ovillos neurofibrilares intraneuronales compuestos de proteína tau agregada e hiperfosforilada y iii) placas neuríticas extracelulares que consisten en depósitos de péptidos β -amiloide ($A\beta$), principalmente en su isoforma de 42 aminoácidos ($A\beta_{42}$) (13) (ver *Figura 1*).

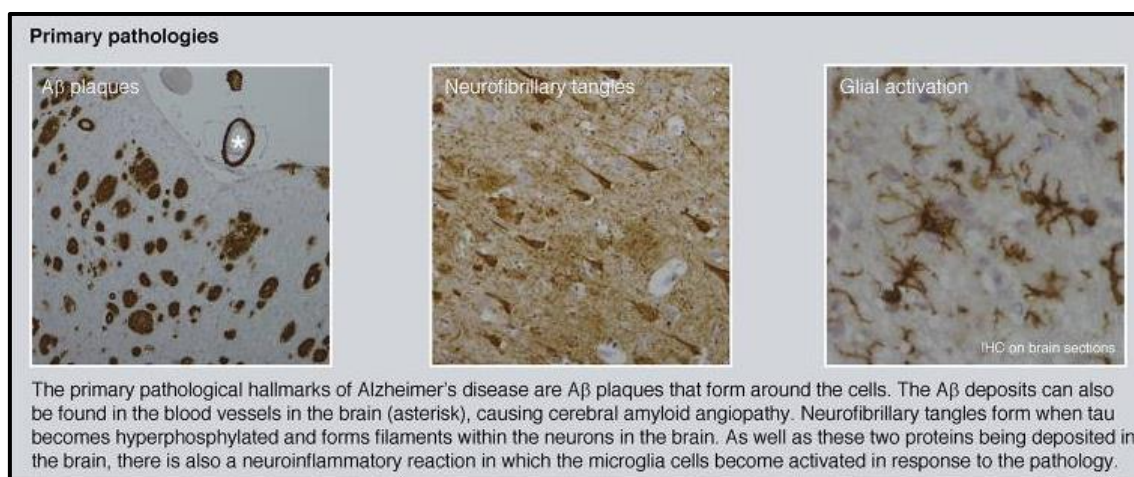


Figura 1. Anatomía patológica de la EA. En estas imágenes se observan las placas de beta amiloide, los ovillos neurofibrilares y la activación microglial características de la EA (*Imagen extraída de Lashley T et al., 2018*).

Debido a que los cerebros de los pacientes con EA presentan de manera característica, pero no exclusiva, estos depósitos de $A\beta$ y proteína tau, ambos han sido postulados como candidatos etiológicos de la enfermedad.

La teoría de la cascada amiloide establece que el desequilibrio entre la producción y eliminación de $A\beta$ en el cerebro es el evento desencadenante que acaba conduciendo a la degeneración neuronal y la demencia(13). $A\beta_{42}$ es un péptido de 42 aminoácidos

generado a partir del procesamiento de la APP. Según esta hipótesis, la APP sería metabolizada por la vía amiloidogénica, cuando la APP es escindida por las β y γ secretasas, lo que provocaría un exceso en la producción de péptido $A\beta$ y/o un defecto de su eliminación y su liberación al espacio extracelular en las vesículas sinápticas (14) (ver *Figura 2*).

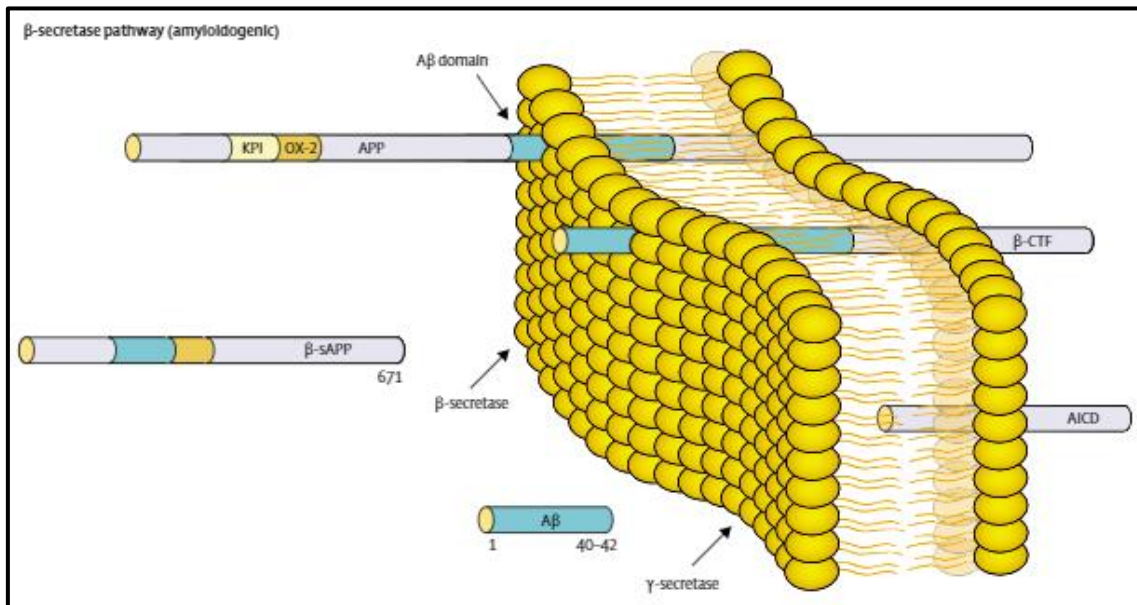


Figura 2. Metabolismo de la APP con generación de $A\beta$. Se muestra el procesamiento amiloidogénico de la APP mediante la β y γ secretasas, generando depósitos de $A\beta$ (*Imagen extraída de Blennow K et al, 2006*).

De esta manera, $A\beta_{42}$ se oligomeriza y acumula en forma de placas seniles en el sistema límbico y la corteza asociativa, ejerciendo así efectos tóxicos en las sinapsis neuronales (interfieren la memoria a largo plazo en el hipocampo y alteran la plasticidad sináptica). En una segunda etapa, habría una respuesta glial, activación de los astrocitos y la microglía circundante, que liberaría citocinas o componentes del sistema del complemento dando lugar a una respuesta inflamatoria. (1)

Por otra parte, la presencia de ovillos intraneuronales compuestos por proteína tau anormalmente hiperfosforilada motivó que alteraciones en esta proteína fuesen asociadas con el origen de la EA. Tau es una fosfoproteína axonal cuya función está regulada según su estado de fosforilación, y que interviene en muchos procesos como la unión a microtúbulos, su distribución subcelular y el transporte axonal. En su estado activo funcional está desfosforilada, mediante su desfosforilación y fosforilación regulan

el ensamblaje y desensamblaje de los microtubulos respectivamente, alterando la organización del citoesqueleto neuronal. La hiperfosforilación de tau induce su acumulación en el citoplasma de la neurona, originando la formación de oligómeros y agregados de tau como filamentos fibrilares y ovillos, que comprometen la función neuronal y sináptica (11).

Existen también evidencias que sugieren que puede haber un mecanismo patogénico convergente entre la enfermedad cerebrovascular y las placas A β . La hipótesis neurovascular sugiere que los vasos sanguíneos disfuncionales pueden causar alteraciones cognitivas al afectar el suministro de nutrición neuronal y reducir la eliminación de A β del cerebro (15). Sin embargo, otros investigadores creen que la patología vascular coexistente puede ocurrir independientemente del proceso de la enfermedad y solo aumenta la probabilidad de demencia en pacientes asintomáticos con patología de bajo grado (16).

1.3. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la EA se basa fundamentalmente en la historia clínica, el patrón de déficits cognitivos y en parámetros adicionales evaluados a través de pruebas complementarias, incluidos análisis de sangre e imágenes estructurales del cerebro, para descartar causas no degenerativas de los síntomas. Actualmente, un diagnóstico definitivo de una demencia neurodegenerativa requiere confirmación histopatológica en la autopsia, ya que diferentes trastornos cerebrales que causan demencia degenerativa se caracterizan por patologías más o menos distintas (13). Sin embargo, cuanto más se sabe de su fisiopatología, más certeza se debe poner en su diagnóstico. Cada vez más, y con la perspectiva de la modificación de la enfermedad, se ha producido un cambio hacia el uso de biomarcadores para diagnosticar formas específicas de demencia en etapas tempranas, también en las etapas previas a la demencia de la enfermedad, y con más especificidad.

Los biomarcadores se agregaron a los criterios de diagnóstico del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares (NINCDS) y la Asociación de Enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados (ADRDA) (NINCDS-ADRDA) en 2011 al demostrar que los depósitos de amiloide y la degeneración neurofibrilar estaban presentes 20 y 10 años antes del inicio del deterioro de la memoria, respectivamente (17).

Como resultado de estos hallazgos, se definieron nuevos criterios de diagnóstico sobre los que se basó la clasificación de la evolución de la enfermedad en tres estadios clínicos. En primer lugar, la etapa preclínica, en la que el paciente presenta cambios patológicos cerebrales, que pueden originarse décadas antes de la consulta al especialista, sin síntomas clínicos evidentes. En esta etapa, se pueden observar alteraciones en LCR y biomarcadores de imágenes, aunque, en la actualidad, no permiten predecir si el paciente desarrollará demencia. La segunda etapa es el deterioro cognitivo leve (DCL), que está caracterizado por las alteraciones en la memoria que no correlacionan con la edad y educación de la persona, pero que no interfieren con su independencia, pudiendo progresar o no a una demencia tipo Alzheimer. La etapa final es la demencia tipo Alzheimer, en la que los síntomas son lo suficientemente importantes como para afectar la capacidad del paciente, que pierde su autonomía y es totalmente dependiente (18) (ver *Figura 3*).

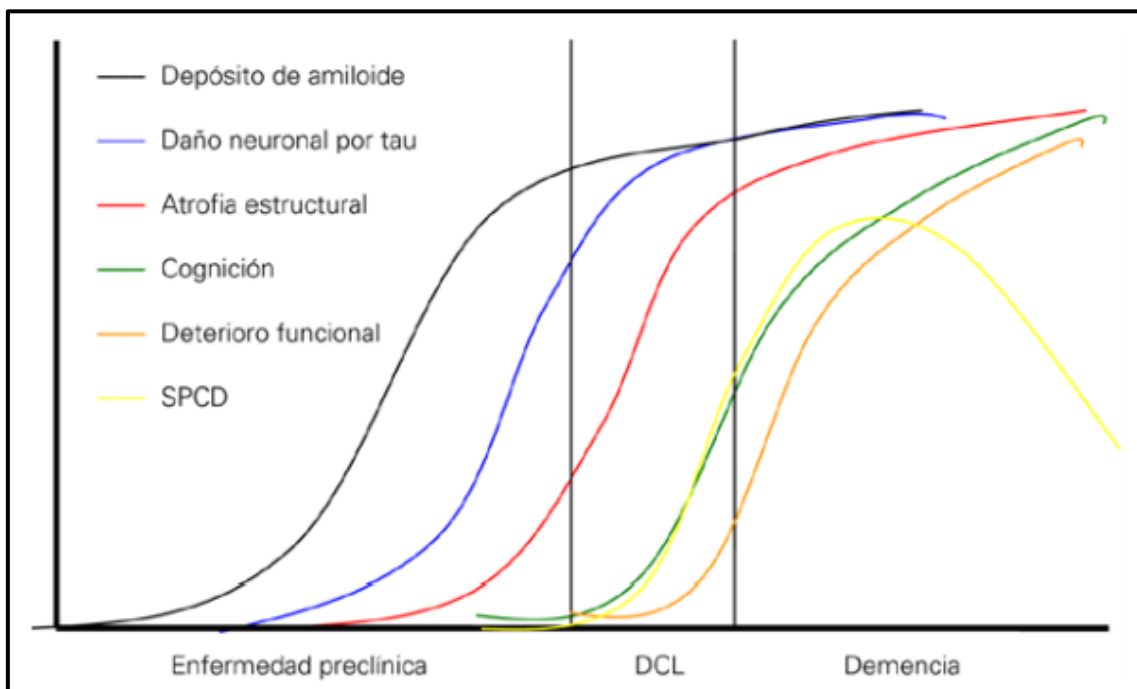


Figura 3. Sucesión de parámetros biológicos y clínicos en la EA. Durante la etapa preclínica se acumula beta amiloide y tau, que inducen un deterioro estructural, cognitivo y funcional que derivan en los síntomas psicológicos y conductuales de la demencia (SPCD) que acontecen en el último estadio de la enfermedad (*Imagen extraída de J. López-Álvarez, et al. 2015*).

La definición de una etapa preclínica que podría iniciarse muchos años antes del debut de los síntomas, aumentó la importancia de los biomarcadores en el proceso

diagnóstico. En este sentido, diferentes estudios sugieren que es posible que los biomarcadores se utilicen de manera fiable como indicadores del estadio de la enfermedad (19,20). Es así como los biomarcadores surgen como nuevas herramientas de diagnóstico.

1.4. BIOMARCADORES

Un biomarcador es una característica que se mide y evalúa objetivamente como indicador de procesos biológicos normales, procesos patógenos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica. Los biomarcadores se pueden utilizar para guiar el diagnóstico clínico, estimar el riesgo o el pronóstico de la enfermedad, evaluar el estadio de la enfermedad y controlar la progresión y / o la respuesta a la terapia (21). Uno de los objetivos del estudio de los biomarcadores en esta enfermedad es identificar a las personas con cambios patológicos de la EA antes de que surjan los signos clínicos, así como predecir las probabilidades de que estas personas progresen clínicamente y a qué ritmo (22).

Los biomarcadores de EA más comúnmente establecidos son β -amiloide 42 ($A\beta$ 1-42), tau total (t-tau) y tau fosforilada en treonina18 (p-tau). Estos biomarcadores se pueden medir en la sangre y el líquido cefalorraquídeo (LCR). Los niveles alterados en el LCR de cualquiera de estos parámetros son pruebas diagnósticas reconocidas de enfermedad cerebral compatible con EA (23). Se ha demostrado una alta precisión diagnóstica de estos biomarcadores para la EA, con una sensibilidad y especificidad que alcanzan el 85-90%(24).

En este sentido la presencia de placas amiloides se correlaciona con niveles significativamente reducidos de $A\beta$ 42 en el LCR de pacientes diagnosticados con EA, en comparación con personas cognitivamente normales, pareados en la edad (22). Es probable que la disminución de $A\beta$ 42 en LCR se deba a su secuestro en placas amiloides en el espacio extracelular del parénquima cerebral (25).

Un LCR con una disminución en la concentración de $A\beta$ 42 es útil como marcador que predice la progresión de la enfermedad clínica futura y la tasa de deterioro cognitivo, especialmente en las primeras etapas clínicas de la enfermedad (26), ya que se pueden detectar niveles reducidos de $A\beta$ 42 en el LCR de pacientes con DCL, así como en las etapas preclínicas de la EA (varios años antes de la aparición de los primeros síntomas

subjetivos de alteraciones en la memoria) por lo que es uno de los principales marcadores que existe en la actualidad. La carga total de A β también se puede evaluar en el cerebro mediante tomografía electrónica de positrones (PET)(27).

En cuanto a la proteína tau, sus niveles altos en el LCR pueden reflejar daño neuronal, como lo sugieren los aumentos de tau después de una lesión neuronal aguda, como un accidente cerebrovascular y lesiones cerebrales traumáticas(22). Aunque tau fosforilado (p-tau) es el indicador más específico de la EA, tanto la tau total (t-tau) como p-tau se comportan de forma muy similar en la EA, aumentando sus concentraciones en LCR (13). Ambos incrementos se asocian con la carga de ovillos neurofibrilares y, como son indicadores de daño neuronal, también se correlacionan con la gravedad clínica de la enfermedad, aumentando sus niveles al mismo tiempo que se incrementa el deterioro cognitivo.

Resumiendo, en las primeras etapas de la EA aparecen niveles más bajos de A β en el LCR y se considera un predictor de la evolución de DCL a EA y, de la misma manera, niveles altos de p-tau y t-tau en LCR pueden predecir con buena precisión una EA incipiente en pacientes con DCL. Estas alteraciones de parámetros aparecen incluso en sujetos cognitivamente normales, donde es posible detectar anomalías de A β y tau en el LCR muchos años antes de que se diagnostique DCL (18).

Además, la atrofia cerebral marcada tanto en la EA como en otros casos de demencia pueden observarse con imágenes por resonancia magnética. En ese sentido se ha evidenciado que la disminución en el metabolismo de la glucosa evidenciada mediante la fluorodesoxiglucosa (FDG) -PET también es una característica de la enfermedad (27).

1.4.1. NUEVOS BIOMARCADORES

Las sensibilidades y especificidades de los biomarcadores notificadas para el diagnóstico clínico de la EA varían ampliamente. Se necesitan nuevos biomarcadores para identificar procesos patógenos adicionales que aumentarán la precisión del diagnóstico / pronóstico, ayudarán en el diagnóstico diferencial, identificarán casos con patologías mixtas y definirán la trayectoria de los cambios de biomarcadores a lo largo del tiempo. Además, debido a que es probable que ningún biomarcador funcione satisfactoriamente por sí solo, la identificación y el desarrollo de biomarcadores de LCR adicionales que no reflejen directamente la patología de la EA (placas y ovillos), sino

que reflejen procesos más generales como la neurodegeneración y la inflamación, podrían ser muy útiles(22).

Un candidato es la proteína 1 similar a la visinina (VILIP-1), una proteína sensora de calcio intracelular específica de neuronas. Se han observado aumentos en LCR de VILIP 1 en la EA siendo un fuerte predictor de deterioro cognitivo en individuos con DCL / demencia muy leve y en controles cognitivamente normales(28).

Otro candidato con un grado similar de validación en el LCR es la proteína 1 similar a la quitinasa-3 (YKL-40), una proteína astrocítica que se regula al alza en condiciones neuroinflamatorias(29).

En los últimos años se han descrito nuevos biomarcadores relacionados con otros aspectos fisiopatológicos tales como disfunción vascular, integridad neuronal y sináptica y neuroinflamación. Entre ellos destaca la cadena ligera de neurofilamento (NfL), un filamento intermedio del citoesqueleto neuronal, que es abundante en axones. Este neurofilamento es reconocido como un marcador de daño neuronal, aumentando tanto en LCR como en sangre asociado con diferentes enfermedades neurodegenerativas. Aunque no es específico para la EA, los niveles sanguíneos de NfL podrían ser útiles para fines de detección, de manera que cuando se detectan niveles elevados de NfL, los sujetos podrían someterse a pruebas de biomarcadores de EA conocidos. Otros biomarcadores, como la neurogranina (un marcador de disfunción de la sinapsis) o marcadores de inflamación como TREM2 requieren una validación más exhaustiva antes de que se incluyan en el panel de biomarcadores de EA aceptados (23).

1.4.2. UTILIDAD CLÍNICA DE LOS BIOMARCADORES

Se ha sugerido que existe un umbral neuropatológico más allá del cual cualquier tratamiento no revertirá el deterioro en la cognición dado el alto nivel de afectación neuronal. Por lo tanto, mucha de la investigación en la EA se focaliza en el tratamiento preventivo, es decir, en detener o ralentizar la neurodegeneración antes de que se vuelva demasiado grave. Dado que dicho tratamiento tendrá que administrarse antes de cualquier signo de disfunción cognitiva para que sea eficaz, es necesario establecer criterios de valoración clínicos alternativos. La Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) han declarado que la tasa de progresión de la enfermedad podría determinarse utilizando biomarcadores indicativos de la patología subyacente(27).

En la práctica clínica actual, en ausencia de una terapia modificadora de la enfermedad para la EA, sólo se obtiene LCR para la evaluación de A β 42, tau o p-tau en circunstancias específicas. Por ejemplo, en individuos con síntomas muy leves, especialmente en individuos menores de 60 años, la evaluación del LCR puede ser útil en el diagnóstico diferencial entre otras enfermedades neurodegenerativas como la demencia frontotemporal (FTD) e incluso ciertos trastornos psiquiátricos como la depresión(22). En este sentido, aunque a día de hoy la combinación de A β 42 y tau siguen siendo los biomarcadores esenciales de la EA, la adición de nuevos biomarcadores aumentará la precisión del diagnóstico / pronóstico al identificar patologías distintas de la EA posibilitando una mayor discriminación en el diagnóstico.

Sin embargo, en la actualidad los estudios individuales sobre la validez de los biomarcadores varían mucho y no existe ningún meta-análisis completo que haya evaluado su rendimiento diagnóstico. Tampoco se ha incluido en ningún estudio a los biomarcadores emergentes que reflejan la neurodegeneración, la activación de las células gliales y el metabolismo de la APP, que como se ha expuesto se muestran como prometedoras herramientas de diagnóstico(22).

Pero la cuestión es la siguiente: “si no se dispone de un fármaco modificador de la enfermedad, ¿cuál es el objetivo de aplicar biomarcadores en la práctica clínica?” Varios de los artículos han recomendado su uso en situaciones específicas. Por ejemplo, existe un acuerdo generalizado de que en la enfermedad de inicio temprano (menores de 65 años) los biomarcadores podrían ser útiles. La confirmación diagnóstica permitiría tomar decisiones que cambiarían la vida y mejoraría el diagnóstico diferencial con otros tipos de enfermedades radicalmente diferentes. También pueden existir implicaciones genéticas para otros miembros de la familia (es decir, formas autosómicas dominantes de EA) en los que se ha demostrado que los portadores cognitivamente normales del ApoE4, que tienen riesgo de EA de aparición tardía, también muestran niveles reducidos de amiloide en el LCR (18). Por último, podría ser útil en pacientes sospechosos de padecer EA, pero que presentan condiciones psiquiátricas premórbidas, que aumentan significativamente la dificultad diagnóstica (23).

De igual manera, aparte de su papel en el diagnóstico, los biomarcadores se postulan como herramientas indispensables para el desarrollo de futuras terapias de EA. Actualmente, su uso en ensayos clínicos mejora la clasificación de los participantes

según la enfermedad subyacente, permite estadificar la enfermedad más precisamente y también permite una mejor y más temprana evaluación de la respuesta al tratamiento (23).

Concluyendo, los biomarcadores de la EA han alcanzado una etapa crítica en su desarrollo. Dado que los nuevos biomarcadores se validan en grandes cohortes, es probable que algún día un panel de biomarcadores ayude en el diagnóstico de la EA preclínica y sintomática, con exclusión de otras formas de demencia. En caso de que los ensayos clínicos actuales o futuros de medicamentos para la EA proporcionen evidencia de que los síntomas de la enfermedad pueden detenerse o retrasarse, es probable que se utilicen biomarcadores de LCR validados con alta sensibilidad y especificidad para la EA en el entorno clínico para ayudar al diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, como se ha propuesto recientemente.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo final de grado será analizar mediante una revisión sistemática de la bibliografía, el papel de los biomarcadores en la aparición de la EA y discutir la eficacia de los marcadores biológicos que se están desarrollando para detectar la enfermedad en su estadio más precoz.

Como objetivos secundarios resumiremos los biomarcadores que se encuentran actualmente en uso clínico y valoraremos los retos asociados a la aplicación de estos biomarcadores con fines de diagnóstico y pronóstico de la EA. También intentaremos determinar si, gracias a los avances del uso de biomarcadores para el diagnóstico precoz, se puede predecir que pacientes con DCL acabarán desarrollando la EA y si se pueden aplicar en la práctica clínica en un futuro cercano.

3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

Los objetivos se concretan en las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Cuáles son los biomarcadores utilizados actualmente para detectar la EA en su etapa preclínica?
- ¿Se han desarrollado nuevos biomarcadores específicos que permitan detectar la EA precozmente? ¿Se pueden aplicar en la práctica clínica actual?
- ¿Existen biomarcadores que puedan predecir el desarrollo de la enfermedad a partir de un deterioro cognitivo leve?
- ¿Qué utilidad clínica tendrá la detección precoz de la enfermedad gracias a los biomarcadores? ¿Es posible aplicar una terapia modificadora de la enfermedad con resultados significativos en un estadio tan temprano?
- ¿Qué otra utilidad, además de diagnóstica, tienen los biomarcadores específicos de la EA?

4. JUSTIFICACIÓN DE LA REVISIÓN

El número de pacientes con demencia y otros problemas cognitivos está aumentando a nivel mundial, sobre todo a expensas de EA al ser la causa más común de demencia. Este trastorno neurodegenerativo se caracteriza por la formación de placas de β -amiloide y ovillos neurofibrilares en el parénquima cerebral, que provocan alteraciones sinápticas y pérdida neuronal. Esto conduce a síntomas clínicos, como déficits progresivos de memoria.

Mientras que los criterios diagnósticos clásicos de la EA se basan en datos clínicos de enfermedad sintomática establecida, los criterios más nuevos tienen como objetivo identificar la enfermedad en sus primeras etapas. Para eso, incorporaron el uso de biomarcadores específicos de la EA para llegar a un diagnóstico como la identificación de deposiciones de β -amiloide y tau. De manera que aunque los criterios clínicos básicos para la demencia por EA seguirán siendo la piedra angular del diagnóstico en la práctica clínica, se espera que la evidencia de biomarcadores mejore la especificidad fisiopatológica del diagnóstico de demencia por EA, ya que por el momento los biomarcadores han conseguido cambiar el enfoque clínico de la enfermedad a un cambio en las alteraciones biológicas y patológicas décadas antes de la aparición de los primeros síntomas, permitiendo un cambio en el diagnóstico y futuras posibilidades de tratamiento.

Con esta revisión sistemática queremos conocer los nuevos hallazgos de la evidencia científica respecto al uso de biomarcadores en la EA ya que actualmente los estudios sobre la eficacia y utilidad de los biomarcadores específicos varían mucho y cada vez se están identificando nuevos marcadores relacionados. De igual manera pretendemos observar si, aparte de su papel diagnóstico y detección precoz de la enfermedad, los biomarcadores están relacionados con el futuro desarrollo de nuevas terapias o si pudieran permitir una más temprana evaluación de la respuesta al tratamiento que cambiara el curso de la enfermedad.

5. MATERIAL Y METODOS

La siguiente metodología contempla las indicaciones de las guías PRISMA (30) .

Se realizó una búsqueda sistemática en PUBMED, COCHRANE LIBRARY, desde el 1 de enero de 2016 hasta el 20 de abril de 2020.

La estrategia de búsqueda electrónica se basó en la combinación de términos MESH (Medical Subject Headings) con sus correspondientes palabras clave. Esta asociación fue: "Alzheimer Disease"[Majr] AND "Biomarkers"[MeSH].

Después de la búsqueda inicial, se revisaron todos los títulos y abstracts clasificándolos en estudios incluidos y excluidos.

5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Para la selección de artículos en nuestro estudio, se utilizaron los siguientes criterios de inclusión:

- Intervención a estudio: diagnóstico de la EA por medio de biomarcadores en sangre y LCR.
- Estudios publicados en los últimos 5 años, desde el 1 de enero de 2016 hasta el 20 de abril de 2021.
- Estudios realizados en población humana.
- Idioma de publicación: español o inglés.
- Texto de artículo completo y original.
- Diseños de estudio de alta evidencia científica: ensayos clínicos, metaanálisis y revisiones sistemáticas.

Por otro lado, los criterios de exclusión para no incluir artículos en nuestro estudio fueron:

- Estudios publicados antes del 1 de enero de 2016.
- Estudios realizados en animales.
- Estudios que analicen biomarcadores como respuesta a un tratamiento.
- Estudios que comparen biomarcadores por razones de raza o sexo.
- Estudios relacionados con otros conceptos que no incluyan el estudio de biomarcadores.
- Estudios en pacientes con otras enfermedades no neurodegenerativas.

- Estudios de baja evidencia científica.

5.2. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA DE ARTÍCULOS

Se realizó una primera búsqueda en la base de datos PUBMED utilizando los términos MeSH [*“Alzheimer disease” AND “biomarkers”*] indicado que fueran *“MeSH Major Topic”*. Tras los resultados obtenidos y aplicando los filtros elegidos según nuestros criterios de inclusión y exclusión se obtuvieron un total de 21 artículos. Sin embargo, y dada la elevada heterogeneidad de los artículos obtenidos, decidimos acotar y realizar una nueva búsqueda modificando los parámetros de la misma.

Para esta segunda búsqueda, seguimos la misma estrategia, pero añadiendo a los términos MeSH diversos *subheadings (blood, cerebrospinal fluid, diagnosis)* para tener un resultado más homogéneo de artículos que estudien los biomarcadores de una manera similar. Consecuentemente, realizamos la misma búsqueda estableciendo sólo como *MeSH Major Topic* el término *“Alzheimer disease”* quedándose de esta manera nuestra estrategia de búsqueda definitiva: (*“Alzheimer Disease/blood”*[Majr] OR *“Alzheimer Disease/cerebrospinal fluid”*[Majr] OR *“Alzheimer Disease/diagnosis”*[Majr]) AND (*“Biomarkers/blood”*[Mesh] OR *“Biomarkers/cerebrospinal fluid”*[Mesh]). De esta búsqueda obtuvimos 2191 resultados.

Tras esto, hemos aplicado los filtros necesarios para establecer nuestros criterios de inclusión y exclusión. En primer lugar, acotamos la fecha de publicación a los últimos 5 años, reduciéndose el número de artículos a 794. Luego, aplicando los criterios de texto completo, estudios en humanos y artículos escritos en inglés o español el resultado son 769.

Por último, decidimos seleccionar los artículos con la evidencia científica más alta, de manera que el número de resultados se reduce a 42 artículos, de los cuales 17 son ensayos clínicos y 25 son revisiones sistemáticas o metaanálisis.

De estos 42 artículos restantes sólo 15 cumplen los criterios de inclusión, ya que el resto los hemos descartado por:

- Estudios que se basaban en el estudio de biomarcadores como respuesta al aplicar un tratamiento: 12
- Estudios cuyo objetivo es comparar biomarcadores según género o raza: 2

- Estudios en pacientes con enfermedades no neurodegenerativas: 3
- Estudios que se basan en el estudio de paneles de biomarcadores genéticos o por imagen: 5
- Estudios relacionados con otros conceptos que no incluyan el estudio de biomarcadores: 5

Se realiza además una segunda búsqueda en la base de datos COCHRANE LIBRARY empleando los mismos términos [“*Alzheimer disease*” AND “*biomarkers*”] como palabras clave o *keywords*. De esta manera obtenemos 4 revisiones que acotando la fecha de publicación a los últimos 5 años se reducen a 3 estudios y descartando una revisión, por no cumplir los criterios de inclusión, obtenemos un resultado final de 2 revisiones. En cuanto a estudios clínicos nos aparecen 118 resultados, a los que volvemos aplicar el filtro de la fecha de publicación y el resultado se reduce a 48, de los cuales solo 1 artículo cumple los criterios de inclusión. Finalmente, son 3 los resultados que hemos obtenido en esta base de datos, de los cuales uno de ellos coincide con la búsqueda realizada en PUBMED, por lo que el resultado final de artículos son 17 (ver *Figura 4*).

5.3. EXTRACCIÓN DE DATOS

Para la extracción de los datos de mayor interés se diseña una tabla (ver *Anexo 1*) para recoger y simplificar las características de los diferentes estudios compuesta por los siguientes apartados:

- Autor principal, revista y fecha de publicación.
- Tipo de estudio: si es una revisión o un ensayo clínico.
- Población a estudio: tipos y número de pacientes incluidos en los ensayos clínicos y en los estudios de las revisiones sistemáticas.
- Biomarcadores utilizados y lugar de extracción.
- Resultados sobre biomarcadores: síntesis descriptiva de los resultados obtenidos en cuanto a la evidencia que exista sobre la relación de cada uno de los biomarcadores con la aparición de la EA.
- Nivel de evidencia
- Conclusión de cada estudio

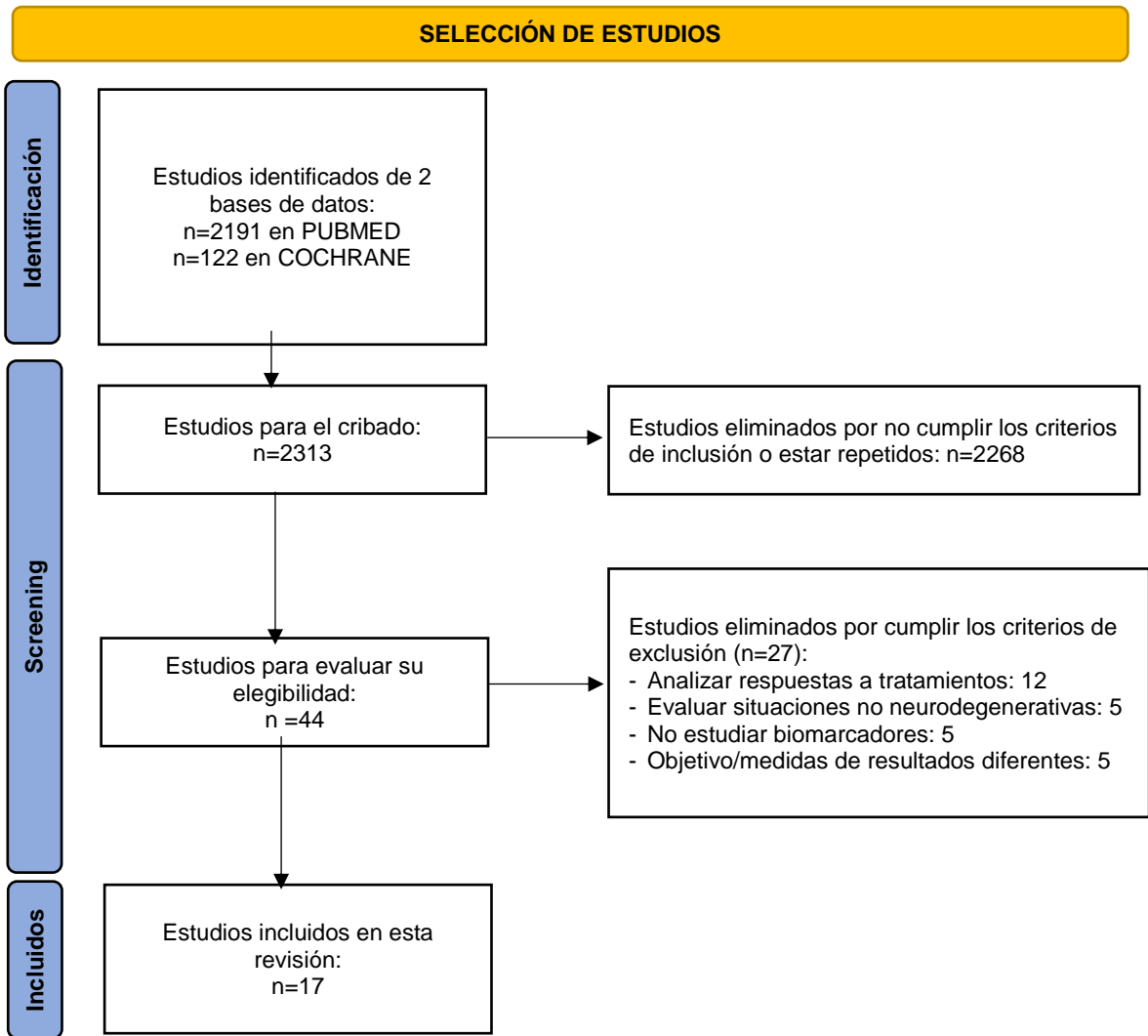


Figura 4. Diagrama de flujo de PRISMA 2020 para nuevas revisiones sistemáticas en el que se resume la estrategia de búsqueda planteada.

5.4. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD

Para llevar a cabo la lectura crítica de los diferentes artículos incluidos en la revisión, así como la evaluación de su calidad metodológica, se ha utilizado los criterios SIGN (Scottish Intercollegiate Guidelines Network) específicamente diseñado para revisiones sistemáticas, que consisten en una checklist a la que sometemos a cada uno de los estudios que conforman nuestra revisión (ver *Anexos 2 y 3*).

Según esta herramienta, la evaluación metodológica de los estudios seleccionados como posibles fuentes de evidencia se basa en una serie de criterios que se centran en aquellos aspectos del diseño del estudio que, según las investigaciones, tienen un efecto significativo sobre el riesgo de sesgo en los resultados informados y las conclusiones extraídas.

Estos criterios difieren entre los tipos de estudios y se utiliza una variedad de listas de verificación para aportar un grado de coherencia al proceso de evaluación. Estas listas de verificación se sometieron a evaluación y adaptación para cumplir con los requisitos de SIGN para lograr un equilibrio entre el rigor metodológico y la practicidad de uso. Se ha seguido el algoritmo que proporciona SIGN para clasificar el diseño del estudio y utilizar de manera correcta las guías de verificación (ver *Anexo 4*).

La calidad metodológica de los estudios que conforman esta revisión se muestra en la Tabla 1, donde cada estudio es clasificado en elevada, aceptable, baja e inaceptable calidad según los criterios expuestos en el Anexo 3. Los resultados de cada estudio se detallan de forma individual en el Anexo 5 mediante las listas de verificación del SIGN.

ESTUDIOS	CALIDAD METODOLÓGICA
Ritchie C et al. 2017	++
Kokkinou M et al. 2021	++
Zhang S et al. 2020	++
Kim BY et al. 2017	++
Du Y et al. 2018	+
Xie B et al. 2020	++
Lai KSP et al. 2017	++
Chen X et al. 2018	+
Su C et al. 2019	+
Ostrowski PP et al. 2016	+
Carlini V et al. 2020	NO APLICABLE
Shi Y et al. 2020	+
Wu Y et al. 2019	++
Liu D et al. 2018	++
Begcevic I et al. 2018	NO APLICABLE
Olsson B et al. 2016	++
Schipke CG et al. 2019	NO APLICABLE

Tabla 1. Niveles de calidad metodológica del SIGN de los artículos incluidos en la revisión sistemática. Alta calidad (++): se cumplen la mayoría de los criterios. Poco o ningún riesgo de sesgo. Aceptable (+): se cumplen la mayoría de los criterios. Algunos fallos en el estudio con un riesgo asociado de sesgo. Baja calidad (-): la mayoría de los criterios no se cumplen o fallas significativas relacionadas con aspectos clave del diseño del estudio. Rechazo (0): estudio de mala calidad con defectos importantes. Tipo de estudio incorrecto. No aplicable: según el algoritmo no se requiere una lista de verificación.

6. RESULTADOS

Tras realizar una exhaustiva búsqueda bibliográfica de los estudios publicados y aplicar los criterios de inclusión y exclusión establecidos, se seleccionaron finalmente 17 artículos.

Entre los estudios incluidos se encuentran tres ensayos clínicos y catorce revisiones sistemáticas, si bien el objetivo de cada una de ellas ha sido distinto. Así pues, algunos estudios pretendían resumir cualitativamente los biomarcadores y otros analizar su precisión diagnóstica. Dada la heterogeneidad de los datos encontrados y la variabilidad de los resultados entre los estudios, los resultados serán analizados cualitativamente. Hemos decidido clasificar los resultados según el tipo de biomarcador estudiado y el lugar de extracción, y sólo mostraremos aquellos resultados que son relevantes para nuestra revisión sistemática y estadísticamente significativos.

En todos los artículos el diagnóstico de EA y DCL se basa en los criterios diagnósticos estándar para la EA, como son los criterios de ICD-10, MMSE score, DSM IV-V y el Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares y la Asociación de Enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados (NINCDS-ADRDA).

6.1. BIOMARCADORES CONVENCIONALES

En la primera sección comentaremos los estudios que analizan los biomarcadores centrales de neurodegeneración, algunos de ellos ya utilizados como criterios diagnósticos en EA. En primer lugar, **Ritchie C et al. (Cochrane Database of Systematic Reviews 2017)** (31) tenían como objetivo determinar la exactitud de diagnóstico de t-tau y p-tau en LCR para detectar a pacientes con DCL al inicio, una condición que representa un estado de transición entre la función cognitiva normal y la demencia, que evolucionarían clínicamente hacia una demencia tipo EA. Las medidas de resultados se analizaron mediante curvas ROC y se muestran mediante el valor predictivo que se traduce en la probabilidad de convertirse a EA a partir de DCL al tener un biomarcador positivo.

Los resultados demostraron que la detección de t-tau y p-tau en LCR son pruebas razonablemente sensibles para el diagnóstico posterior de la demencia por EA, pero tienen poca especificidad, por lo que se concluye que el valor predictivo negativo (VPN)

es mayor que el valor predictivo positivo (VPP). Es decir, una prueba que indique la ausencia de anomalías en los biomarcadores y, por tanto, que sugiera la ausencia de enfermedad, tiene más valor que un biomarcador positivo que indique enfermedad.

De igual manera, **Kokkinou M et al. (Cochrane Database of Systematic Reviews 2021)** (32) quisieron determinar la precisión diagnóstica de A β 42 en el plasma y el LCR para distinguir la EA de otras formas de demencia. Al no obtener resultados significativos en plasma, la evidencia de la revisión se limita a los estudios basados en LCR. Los resultados de la precisión diagnóstica de A β 42 para diferenciar sujetos con EA de una población sin pacientes con EA son los siguientes: la sensibilidad combinada es del 79% (IC del 95%: 73% a 85%) y la especificidad combinada es del 60% (IC del 95%: 52% a 67%). Además, también se observa que la precisión de usar A β 42 como marcador de la enfermedad en LCR depende del umbral utilizado para definir la positividad de la prueba, por lo que el patrón de sensibilidad y especificidad se altera dependiendo del umbral empleado.

Finalmente, **Zhang S et al. (J Mol Neurosci. 2020)** (33) pretenden aclarar si los antecedentes médicos relacionados con el A β de los sujetos control influían en la medida de A β en plasma y por tanto determinaban su utilidad como biomarcador de EA. La medición de los resultados se obtiene mediante la relación A β 42 / A β 40 al ser más confiable y menos variable porque elimina los errores de las concentraciones absolutas. En cuanto a los resultados, sólo se encuentran diferencias significativas en la relación A β 40 y A β 42 / A β 40 en plasma cuando se compara con sujetos sin ningún tipo de enfermedad crónica relacionada con A β , de manera que los pacientes con EA poseen una proporción plasmática de A β 42 y A β 42 / A β 40 más baja y niveles más altos de A β 40 que los sujetos control (ver *Tabla 2*).

	P-TAU, T-TAU	Aβ42	Aβ42 / Aβ40
Ritchie C n=1282 pacientes	Mayor sensibilidad en LCR que especificidad		
Kokkinou M n= 5000 pacientes		Mayor sensibilidad en LCR que especificidad	
Zhang S n=1395 pacientes y 3160 controles			↓ en sangre (según antecedentes)

Tabla 2. Biomarcadores convencionales. Se exponen los resultados de los tres artículos más relevantes en relación con el tipo de biomarcador estudiado.

6.2. FACTORES NEUROTRÓFICOS CEREBRALES

En la segunda sección hemos decidido comparar los factores neurotróficos cerebrales, de los cuales el más estudiado y el más relevante para nuestra revisión es el factor neurotrófico derivado del cerebro o “brain-derived neurotrophic factor” (BDNF). **Kim BY et al. (Mol Neurobiol. 2017)** (34) exploran la asociación entre la EA y los niveles de BDNF en sangre. También analizan los niveles de esta proteína en el DCL. Los resultados del meta-análisis general mostraron diferencias, aunque no significativas en los niveles de BDNF entre pacientes con EA y controles. Tampoco se encuentran diferencias en los niveles de BDNF entre EA y DCL. Sin embargo, un meta-análisis de pacientes con EA con MMSE <20 (EA avanzada) en comparación con los controles mostró diferencias significativas, de manera que los pacientes con EA con una puntuación MMSE <20 tenían niveles más bajos de BDNF en comparación con sus controles sanos. Además, al emparejar los resultados según la variable edad el grado de diferencia estadísticamente significativa fue mayor.

De igual manera, **Du Y et al. (J Mol Neurosci. 2018)** (35) realizan una revisión sistemática de los estudios que miden los niveles de diferentes factores neurotróficos en sangre, LCR y biopsias de cerebros post-mortem para aclarar el perfil del factor neurotrófico en pacientes con EA. Los pacientes con EA tenían niveles significativamente reducidos de BDNF en sangre en comparación con los controles, mientras que no se observaron diferencias significativas para los demás biomarcadores en sangre. En cuanto al LCR, las concentraciones de BDNF se redujeron y los niveles del factor de crecimiento nervioso o “nerve growth factor” (NGF) se elevaron

significativamente en pacientes con EA, mientras que el análisis del resto de biomarcadores en LCR no evidenció diferencias entre los grupos.

Por último, **Xie B et al. (Int J Neurosci. 2020)** (36) pretenden detectar si la EA o el DCL se acompaña de niveles reducidos de BDNF en la sangre y evaluar el valor diagnóstico de los niveles periféricos de BDNF en pacientes con EA o DCL. En esta revisión se obtuvo una reducción significativa de los niveles de BDNF periférico en pacientes con EA en comparación con sujetos sanos, y en el meta-análisis de efectos aleatorios se observa una tendencia a la reducción de BDNF en DCL en comparación con sujetos sanos y una tendencia a la reducción de BDNF en pacientes con EA en comparación con DCL, apoyando el vínculo entre la reducción de los niveles periféricos de BDNF y EA o DCL. Por último, para evaluar el valor diagnóstico como técnica de screening del biomarcador se utilizó el análisis de la curva ROC que reveló que los niveles periféricos de BDNF pueden no ser un biomarcador óptimo para el diagnóstico de EA o del DCL por su baja sensibilidad y especificidad (ver *Tabla 3*).

	BDNF EN SANGRE	BDNF EN LCR
Kim BY n= 2303 pacientes y 1294 controles	↓ en EA con MMSE< 20	
Du Y n=2217 pacientes y 1817 controles	↓ en EA	↓ en EA
Xie B n=1856 pacientes y 1625 controles aprox.	↓ en EA y DCL Baja sensibilidad y especificidad	

Tabla 3. Biomarcador BDNF. Se exponen los resultados de los tres artículos más relevantes en relación con muestras en sangre y en LCR.

6.3. BIOMARCADORES INFLAMATORIOS

En cuanto a los biomarcadores inflamatorios nos centraremos fundamentalmente en aquellas citoquinas y factores inflamatorios que han evidenciado presentar diferencias significativas en la detección de la EA, aunque nuestro objetivo final es comparar globalmente el conjunto de biomarcadores inflamatorios como marcador diagnóstico.

Lai KSP et al. (J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2017) (37) tienen como objetivo proporcionar un análisis actualizado y más completo de las citocinas (incluyendo quimiocinas periféricas, factores estimulantes de colonias y adipocinas), proteínas reactivas de fase aguda, moléculas de adhesión celular y fibrinógenos, en el cual se obtiene que los pacientes con EA tenían significativamente mayores concentraciones en sangre para IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-18, α 1 anticimotripsina, CXCL-10, EGFR, homocisteína, PCR, IFN- γ , receptores de TNF solubles 1 y 2, TNF- α TACE y VCAM-1. Los demás marcadores inflamatorios no obtuvieron diferencias significativas.

Especialmente significativa y relevante fue la asociación entre las puntuaciones de MMSE y las concentraciones de IL-6, lo que permitía discriminar entre pacientes con EA y controles sanos.

Por otra parte, **Chen X et al. Front Immunol. 2018.** (38) abordaron los niveles de citocinas presentes en el LCR de pacientes con EA, enfermedad de Parkinson y esclerosis lateral amiotrófica. Para focalizar los resultados obtenidos en nuestro estudio, describiremos solo los relacionados con la EA. Los niveles de TGF- β , MCP-1 y YKL-40 β en LCR aumentaron significativamente en pacientes con EA en comparación con los controles. Por el contrario, los niveles de IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α no se asociaron significativamente con la EA. Es de reseñar como hemos analizado anteriormente los niveles de IL-6 son más altos en sangre (37), este estudio muestra que no varían en el LCR.

Finalmente, **Su C et al. Psychogeriatrics. 2019.** (39) tienen como objetivo resumir los resultados de los estudios relativos a la detección de citocinas y quimiocinas periféricas, en sangre, en pacientes con EA y DCL además de explorar los biomarcadores inflamatorios periféricos que permitan establecer las diferencias entre las dos entidades. Los autores encontraron diferencias significativas para la proteína C-reactiva (PCR), IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12, IL-18, CCL2 / MCP-1, CCL7 / MCP-3, CXCL8 / IL-8 y CXCL10 / IP-10 al comparar pacientes con EA con sujetos sanos. Estos marcadores fueron similares entre pacientes con DCL y sujetos sanos excepto en MCP-1. De igual manera, se observaron unos niveles significativamente más elevados para IL-1 β , IL-6, IL-12 en pacientes con EA frente a pacientes con DCL (*ver tabla 4*).

	BM INFLAMATORIOS EN SANGRE	BM INFLAMATORIOS EN LCR
Lai KSP n= 13344 pacientes y 12912 controles	↑↑	
Chen X n= 2629 pacientes y 2049 controles		↑
Su C n= 5000 aprox.	↑↑ en EA ↑ en DCL	

Tabla 4. Biomarcadores inflamatorios. Se exponen los resultados de los tres artículos más relevantes en relación con muestras en sangre y en LCR.

6.4. NUEVOS BIOMARCADORES

En el siguiente apartado se analizan los posibles biomarcadores emergentes de la EA en sangre periférica. Uno de los marcadores periféricos que se postula para detectar la EA en un estadio temprano es el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1). **Ostrowski PP et al. PLoS One. 2016** (40) realizaron una revisión sistemática que demostraba que en 5 estudios los sujetos con EA tenían niveles séricos de IGF-1 significativamente más altos que los sujetos control, 2 informaron que no hubo diferencias significativas entre los dos grupos y 3 informan de niveles séricos más bajos de IGF-1 en pacientes con EA. Estos resultados sugieren que los sujetos con EA tienen niveles de IGF-1 en suero casi idénticos a los de los controles emparejados, por lo que no se considera un buen marcador sérico para la EA.

Por otra parte, **Carlini V et al. (Int J Mol Sci. 2020)** (41) postularon que existe una mayor expresión de la proteína transmembrana del canal intracelular de cloruro 1 (tmCLIC1) en los monocitos de pacientes con EA con diagnóstico confirmado en comparación con individuos ancianos sanos. Para ello se utilizaron técnicas de inmunolocalización con un anticuerpo dirigido contra la porción externa de la proteína y registros electrofisiológicos de la corriente de membrana. Se observó tanto un aumento de la proteína como del ARNm de CLIC1 en los monocitos sanguíneos de pacientes con EA, con lo que podría ser un buen marcador para el diagnóstico de la EA.

De igual manera **Shi Y et al. (J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2020)** (42) asociaron la acumulación plaquetaria de proteína A β (A β PP) y de tau fosforilada (P-tau) en residuos threonina 231 y 181 y en residuos de serina 396 y 404. En su estudio, demostraron que

la relación A β PP fue más baja en las plaquetas de pacientes con DCL, mientras que aumentaban los niveles de P-tau231 y tau fosforilada Ser396 / 404.

Finalmente, **Wu Y et al. (Biomarkers. 2019)** (43) realizaron una revisión sistemática y meta-análisis en muestras de individuos asiáticos para investigar la relación entre los niveles de lípidos en suero y el riesgo de EA. Este grupo demostró que, en la población asiática, los niveles de colesterol lipoproteico de baja densidad (LDL-C) y colesterol total (CT) en el grupo de pacientes con EA fueron significativamente más altos que los del grupo de control. Además, los sujetos con un nivel más alto de LDL-C y / o CT presentaban un mayor riesgo de padecer EA, no observándose esta relación con el nivel de colesterol lipoproteico de alta densidad (HDL-C) o con los triglicéridos totales (TG). (ver *Tabla 5*).

	BM USADO	RESULTADOS
Ostrowski PP n= 850 pacientes y 871 controles	IGF-1	No existen diferencias
Carlini V n= 35 pacientes y 29 controles	CLIC1	Existen diferencias en EA
Shi Y n=43 pacientes y 45 controles	BM PLAQUETARIOS	Existen diferencias en DCL
WU Y n= 3423 pacientes y 6127 controles	BM LIPIDICOS	Existen diferencias en EA

Tabla 5. Nuevos biomarcadores con muestras en sangre. Se exponen los resultados de los cuatro artículos más relevantes en relación con su significación estadística.

En las últimas décadas han emergido nuevos biomarcadores que han sido analizados en LCR dada su potencial relevancia para el diagnóstico de la EA.

Dentro de estos estudios, **Liu D et al. (Neurosci Lett. 2018)** (44) demostraron que existe un aumento significativo de los niveles de la fracción soluble del receptor de activación expresado en las células mieloides 2 (sTREM2) en el LCR de los pacientes con EA en todos sus estadios (pacientes con EA preclínica (pre-EA), DCL y demencia) a diferencia de los controles no EA. Sin embargo, este aumento era específico del LCR no observándose a nivel plasmático.

Recientemente, **Begcevic I et al. (F1000Res. 2018)** (45) evaluaron en LCR 30 proteínas potencialmente capaces de diferenciar diferentes estadios de la EA, es decir, DCL

(grupo control), demencia de EA leve, moderada y grave. Entre todas las nuevas proteínas, solo el receptor-1 neuronal pentraxin (NPTXR) mostró una diferencia estadísticamente significativa entre DCL y los grupos combinados de EA moderada y severa (la concentración de NPTXR disminuyó en etapas avanzadas). Por tanto, se postula que NPTXR es un nuevo biomarcador de EA en el LCR, que disminuye progresivamente conforme aumenta la gravedad de la enfermedad (*ver Tabla 6*).

	BM USADO	RESULTADOS
Liu D n=839 pacientes y 754 controles	STREM 2	Existen diferencias en EA
Begcevic I n= 87 pacientes y 14 controles	NPTRX	Existen diferencias entre DCL y EA

Tabla 6. Nuevos biomarcadores con muestras en LCR. Se exponen los resultados de los dos artículos más relevantes en relación con su significación estadística.

6.5. CONJUNTO DE BIOMARCADORES VALIDADOS A NIVEL DE GRUPO

Por último, describimos los resultados de dos estudios especialmente relevantes que analizan los biomarcadores ya vistos, tanto convencionales como nuevos, de manera conjunta.

En primer lugar, **Olsson B et al. (Lancet Neurol. 2016)** (46) realizaron un meta-análisis que examinaba la literatura científica de los 15 biomarcadores más prometedores tanto en LCR como en sangre, incluidos los biomarcadores establecidos para la EA con el fin de diferenciar cuáles pueden usarse para discriminar clínicamente a los pacientes con EA de los controles. En LCR, t-tau, NFL, p-tau y A β 42 presentaban un gran efecto discriminativo, mientras que NSE, VLP-1, HFABP y YKL-40 tuvieron moderado efecto. De los biomarcadores plasmáticos y séricos, solo la t-tau plasmática presentó una relevancia significativa.

En segundo lugar, **Schipke CG et al. Neurodegener Dis Manag. 2019** (47) analizaron seis proteínas sanguíneas (BDNF, IGF-1, VEGF, TGF- β 1, MCP-1 e IL-18) como medidas fuertes y reproducibles para identificar pacientes con EA. El análisis por separado de cada biomarcador mostró que los niveles medios de proteína de BDNF, IGF-1, TGF- β 1 y MCP-1 se redujeron significativamente en pacientes con EA en comparación con los controles. Por el contrario, los niveles séricos medios de IL-18

aumentaron significativamente en los pacientes con EA mientras que VEGF no variaba. Por su parte, el análisis de clasificación basado en algoritmos reveló que la combinación de las seis proteínas séricas permitiría identificar pacientes con EA, con una sensibilidad del 76% y una especificidad del 95% (ver *Tabla 7*).

	MEDIO ANALIZADO	BM SIGNIFICATIVOS
Olsson B n=11000 pacientes aprox. y 7000 controles aprox.	LCR	Gran efecto: t-tau, NFL, P-tau y los A β 42 Moderado efecto: NSE, VLP-1, HFABP y YKL-40
	SANGRE	t-tau
Schipke CG n= 81 pacientes y 79 controles	SANGRE	BDNF, IGF-1, VEGF, TGF- β 1, MCP-1 e IL-18

Tabla 7. Biomarcadores analizados a nivel de grupo. Se exponen los resultados de los dos artículos más relevantes en relación con los biomarcadores más significativos.

7. DISCUSIÓN

7.1. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

La presente revisión sistemática ofrece un análisis cualitativo de los estudios y avances sobre los biomarcadores actuales y en investigación que se pueden utilizar para el diagnóstico de la EA. El método más fiable es la medición de la concentración de péptidos beta amiloide y tau en el LCR. Sin embargo, la extracción de muestras líquidas del SNC es un procedimiento invasivo que no es adecuado para un programa de prevención a gran escala. Idealmente, los análisis de sangre son el procedimiento de diagnóstico más manejable y accesible para implementar a toda la población.

En cuanto a los biomarcadores convencionales, inicialmente se demostró que la EA está asociada con niveles más bajos de A β 42 en el LCR y niveles más altos de t-tau y p-tau en el LCR en comparación con los controles (46). Un año más tarde, se postuló que una prueba de p-tau y t-tau en LCR negativa en personas con DCL, probablemente refleje la ausencia de patología de la EA (31). Sin embargo, en el muestreo de LCR para los niveles de tau, un resultado positivo tiene un significado demasiado pobre como para indicar la posterior presencia de la EA. Similares resultados se han observado al evaluar la precisión de A β 42 para diferenciar la EA de otros subtipos de demencia, ya que volvemos a encontrar un patrón de mayor sensibilidad que especificidad por lo que es poco probable que A β 42 se utilice de forma aislada para hacer un diagnóstico (32). En este sentido, se ha demostrado que los pacientes con EA poseen una relación A β 42 / A β 40 similar a los sujetos de control, que es significativamente menor si en la población control excluimos a aquellos pacientes que padecen alguna enfermedad asociada con la demencia (33).

La principal limitación de estas revisiones y las revisiones publicadas anteriormente sobre pruebas de amiloide, tau y patología de la EA demuestran consistentemente una sensibilidad razonable y una especificidad escasa, es decir, que una prueba de LCR negativa, en personas con DCL, probablemente refleje la ausencia de patología de la EA, sin embargo, un resultado positivo no necesariamente indica la presencia de la EA. Además, esperamos que el desarrollo de ensayos clínicos de alta calidad nos ayudará a obtener, en el futuro, una conclusión más precisa del impacto de los antecedentes médicos de los pacientes en relación con el potencial biomarcador del plasma A β en la EA .

Dado que la utilidad de los biomarcadores actuales para la EA está limitada por la especificidad y la sensibilidad equívocas para identificar a los individuos en riesgo, se han evidenciado otros biomarcadores con alto potencial de diagnóstico. En este sentido, diferentes estudios sugieren que los niveles de BDNF en LCR pueden constituir un biomarcador prometedor que mejore la precisión diagnóstica en la EA. A este respecto el BDNF puede atravesar la barrera hematoencefálica, de manera que sus niveles en el LCR están altamente asociados con los observados en sangre periférica.

Aunque inicialmente se mostró que los niveles de BDNF en sangre no difieren entre pacientes con EA, DCL y controles sanos, al correlacionar dichos niveles con la puntuación MMSE, una herramienta objetiva para evaluar la gravedad de la enfermedad, se observa que a medida que la EA progresa a sus estadios más severos (lo que implica puntajes MMSE más bajos), los niveles de BDNF comienzan a disminuir (34). De igual manera, se ha demostrado que los niveles de BDNF se redujeron significativamente tanto en el LCR como en la sangre de los pacientes con EA en comparación con los sujetos control, lo que constituye una fuerte evidencia clínica de que la EA se acompaña de un perfil de neurotrofina anormal en la zona central y periférica (35). Sin embargo, otros estudios realizados en sangre, han mostrado asociación entre los niveles reducidos de BDNF en sangre y el desarrollo de EA o DCL, aunque es preciso verificar, con más estudios, si los niveles periféricos de BDNF pueden servir como un biomarcador confiable para la validación del diagnóstico de EA o DCL (36).

En definitiva, no se observa una heterogeneidad significativa entre los estudios para BDNF en LCR lo que indica la solidez de este biomarcador para diferenciar entre pacientes con EA y controles. En cambio, los altos niveles de heterogeneidad entre los estudios de BDNF en sangre sugieren que los niveles periféricos de BDNF pueden no ser adecuados como marcador de diagnóstico de EA y DCL en la etapa actual, ya sea por la heterogeneidad basada en las poblaciones de pacientes, clasificados independientemente de la etapa temprana o tardía de la enfermedad, o por la liberación diferencial de BDNF de las plaquetas, observada en varios estudios, durante la extracción de suero (ya que las plaquetas son la principal fuente de BDNF en la sangre). Creemos que el papel de los niveles periféricos de BDNF como un biomarcador potencial para el cribado de EA o DCL se dilucidará si se tienen en cuenta algunos criterios en investigaciones futuras, como el estadio/gravedad de la EA especificado en base a las puntuaciones del MMSE, estudios de clasificación posiblemente basados en

un método unificado para medir el nivel de BDNF, o investigaciones de los niveles de BDNF relacionados con la concentración o el recuento de plaquetas. Por lo que se necesitan más estudios clínicos para evaluar la regulación aberrante del factor neurotrófico en la EA, tanto en el SNC como en el periférico.

En cuanto a la inflamación cerebral, se sabe que es una de las características distintivas de la EA y se origina en el SNC donde varios productos inflamatorios se forman y se eliminan rápidamente en el torrente sanguíneo, de manera que el paso de citocinas a través de la barrera hematoencefálica permite estimar la respuesta inflamatoria periféricamente. Se han encontrado numerosos marcadores proinflamatorios elevados en pacientes con EA en comparación con sanos, lo que indica inflamación crónica en la EA. Pero, lo que es más importante, los niveles de IL-6 están elevados en la población con EA y se correlacionan inversamente con las puntuaciones medias del MMSE sugiriendo que IL-6 juega un papel crítico en la cascada inflamatoria y se puede correlacionar clínicamente con la severidad de la EA (37).

Además de las asociaciones significativas entre los niveles de citocinas en sangre periférica y las enfermedades neurodegenerativas, diversos estudios han mostrado niveles de citocinas aberrantes en el LCR de pacientes con EA (48). Al comparar los parámetros alterados en el LCR de pacientes con EA se muestra que mientras existe un aumento paralelo, en LCR y en sangre, en los parámetros de TGF- β , los aumentos de IL-1 β e IL-6 en sangre, que aumentaban significativamente en los pacientes con la EA, no variaron en el LCR de estos pacientes (38). Por tanto, la importancia clínica de los marcadores inflamatorios periféricos sigue sin estar clara ya que concentraciones elevadas de marcadores inflamatorios periféricos pueden no correlacionar con la actividad inflamatoria dentro del SNC. A pesar de ello, y a la espera de estudios más concluyentes, que permitan determinar adecuadamente la utilidad clínica de estos marcadores inflamatorios en el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y manejo de la EA, no se descarta que los marcadores inflamatorios anteriormente indicados, y analizados en los diferentes meta-análisis, pueden resultar biomarcadores útiles en sangre para identificar la EA de manera precoz.

Como se ha expuesto, la identificación de biomarcadores en sangre periférica es una opción atractiva para uso clínico futuro porque ofrece una detección de mayor precisión, son más fáciles de obtener y cuestan menos de adquirir para el cribado. Por tanto, es

un campo que en la última década ha sido ampliamente abordado, permitiendo plantear nuevos candidatos a ser biomarcadores eficaces.

En modelos animales de la EA se observó un aumento en los niveles de IGF-1 en suero, los estudios en pacientes con EA no mostraron evidencia suficiente para concluir la relación entre los niveles séricos de IGF-1 y la EA, cuestionando la noción de que la disminución de IGF-1 es un sello distintivo de la EA, así como el uso de suplementos de IGF-1 como un tratamiento integral para la enfermedad (40). Sin embargo, no se consideraron dos variables críticas que pueden haber afectado la relación entre el IGF-1 y la EA como la progresión de la enfermedad y la heterogeneidad del paciente, incluidos los polimorfismos genéticos. Los estudios futuros sobre IGF-1 y EA deberían centrarse en controlar las variables comentadas ya que la estratificación por progresión de la enfermedad y diferencias genéticas puede exponer subtipos actualmente desconocidos de EA que responden de manera diferente a la suplementación con IGF-1.

Otro marcador novedoso es la proteína CLIC1, cuya sobreexpresión en la membrana plasmática de monocitos circulantes indica la presencia de un proceso neurodegenerativo en el SNC, los ensayos clínicos realizados hasta la fecha muestran las diferencias entre los monocitos aislados de los controles y los pacientes con EA mediante la microscopía confocal y la electrofisiología, dos técnicas muy sensibles (41). La principal limitación de este estudio es que las señales fluorescentes que provienen de las células son difíciles de detectar con espectrofotómetros convencionales, por lo que se está trabajando en aumentar la señal de toda la población de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) mediante el uso de anticuerpos o un sistema de detección más sensibles.

En relación con el DCL se ha demostrado que los pacientes con DCL presentan una proporción de A β PP plaquetaria más baja y una p-tau plaquetaria más alta, en comparación con controles normales (42), sugiriendo que los indicadores plaquetarios pueden ser valiosos para evaluar el deterioro cognitivo, lo que puede redundar en un mejor screening, prevención o intervención temprana de la EA.

Finalmente, en relación con estos nuevos biomarcadores séricos, se demostró una estrecha relación entre los niveles de LDL-C, CT y EA en poblaciones asiáticas, proporcionando evidencia de que los niveles de los dos lípidos pueden ser predictores

independientes del riesgo de EA de los individuos (43). Aun así, dada la elevada heterogeneidad de los resultados que todavía existe incluso con poblaciones de la misma etnia, nos hace pensar que las diferencias étnicas no pueden explicar completamente los resultados contradictorios en la literatura. Por lo que otras mediciones como la gravedad de la enfermedad o los métodos de diagnóstico, también deben investigarse en el futuro, con una muestra bastante integrada y más grande. De esta manera, en las pruebas de lípidos de rutina se pueden identificar biomarcadores simples y mínimamente invasivos, que podemos combinar con trabajos de investigación adicionales y aplicarlos a futuros diagnósticos clínicos, monitoreo y predicción de riesgos para pacientes con EA.

De igual manera han surgido nuevos potenciales biomarcadores detectables en LCR. Principalmente destacamos dos, sTREM2 y NPTXR. Se detectó un aumento de los niveles de sTREM2 en la etapa pre-EA que disminuyen en la etapa de EA, pero aún permaneciendo elevados en comparación con los controles. Este patrón de observación sugiere que los niveles de sTREM2 podrían mapear la progresión de la EA que coincide con la aparición de los primeros síntomas, pero aún se necesitan más estudios para investigar la función biológica de sTREM2, detectado en LCR, en la progresión de la EA (44). En segundo lugar, la proteína NPTXR puede tener valor como biomarcador de LCR para evaluar la eficacia de nuevas terapias para la EA, ya que los niveles de NPTXR en el LCR disminuyen proporcionalmente a medida que la EA se agrava (45). Sin embargo, este hallazgo debe ser validado en una cohorte más grande, con un seguimiento longitudinal que abarque las diferentes fases clínicas de la EA, desde las etapas preclínicas hasta las etapas clínicas más avanzadas.

Por tanto, se observa que la especificidad y sensibilidad de un único biomarcador para el diagnóstico de la EA tiene limitaciones y podría verse comprometida por varios factores que enmascaren su eficacia, por lo que se ha considerado que la integración de múltiples biomarcadores debería proporcionar un diagnóstico correcto y temprano de la EA. En este sentido se han realizado estudios en los que se analizó la función de seis proteínas neuromoduladoras: BDNF, IGF-1, VEGF, TGF- β 1, MCP-1 e IL-18, y excepto VEGF, las demás difieren significativamente en sus concentraciones séricas entre pacientes con EA y controles, lo que respalda el uso de los seis paneles de biomarcadores para distinguir entre sujetos asintomáticos y pacientes con demencia sintomática (47). Aun así, se deben realizar estudios clínicos adicionales que incluyan

pacientes con EA en diferentes entornos clínicos y en diferentes etapas de la enfermedad, especialmente en las etapas iniciales, incluir un examen neuropsicológico en el grupo de control para descartar que pudieran tener demencia temprana, así como controles de la enfermedad emparejados por edad a los grupos de pacientes, ya que los grupos en los estudios analizados en la presente revisión no fueron emparejados por edad. Actualmente, se están realizando estudios que controlan todos estos factores, y los estudios de validación adicionales podrán indicar si las seis proteínas pueden llegar a formar una firma característica en el suero de los pacientes con EA que indique procesos neurodegenerativos.

Como corolario podemos indicar que la investigación sobre los biomarcadores de la EA está cambiando rápidamente, se necesita por tanto la validación de los biomarcadores adicionales, y anteriormente comentados, asociados con la patogénesis de la enfermedad, para un mejor pronóstico, un diagnóstico más específico, una predicción de la gravedad y la progresión de la enfermedad y una mejor clasificación de los pacientes en los ensayos clínicos.

En cuanto a la utilidad en la práctica clínica de estas revisiones se sugiere que cuando se utilicen estas pruebas para ayudar al diagnóstico clínico, se deben considerar sus limitaciones diagnósticas y el bajo beneficio incremental, ya que en ausencia de intervenciones que modifiquen la enfermedad, el riesgo de sobrediagnóstico para un paciente puede causar más daño que el infradiagnóstico. Sin embargo, este es un campo en constante revisión y, si se dispone de intervenciones de prevención secundaria o de modificación de la enfermedad, esta opinión cambiará, más aún si las intervenciones son efectivas, de bajo costo y bien toleradas.

7.2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Esta revisión sistemática presenta varias limitaciones. En primer lugar, dado que la búsqueda se ha realizado únicamente en la base de datos PubMed y en The Cochrane Library es probable que algunos estudios relevantes no hayan sido localizados. Igualmente puede ocurrir con el idioma ya que sólo se han incluido aquellos artículos publicados en lengua inglesa o castellana por lo que pueden existir artículos de interés divulgados en otros idiomas diferentes a los estipulados.

Otra limitación es la gran heterogeneidad de los estudios incluidos en cuanto a los biomarcadores estudiados y la presentación de resultados de estos, ya que cada estudio ha utilizado diferentes escalas para diagnosticar la EA y diferentes herramientas para medir los resultados, con lo que ha sido imposible realizar un metaanálisis o valoración cuantitativas de los mismos. Esto puede ser debido a que el diagnóstico de la EA es clínico y por tanto las medidas de los biomarcadores aún no han estandarizado sus parámetros ni en LCR ni en sangre. Por esta razón se ha optado por realizar un análisis cualitativo de los resultados obtenidos en los estudios.

Finalmente, una limitación inevitable en cualquier revisión es el sesgo de publicación, que se basa en el hecho de que el alcance de los hallazgos obtenidos en un estudio se ve afectado por las condiciones e implicaciones de sus resultados, por lo que es más probable que encontremos resultados que sean positivos en relación a la hipótesis o que indiquen que una intervención es efectiva, al considerarse de mayor impacto.

8. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones de nuestra revisión son:

1. Aunque sigue existiendo incertidumbre respecto al verdadero valor de las pruebas con biomarcadores convencionales para el manejo de personas con DCL, podemos decir que en presencia de niveles normales de LCR t-tau, p-tau y A β , el DCL no es debido a una futura EA. Además, se respalda la relación plasmática A β 42 / A β 40 como biomarcador de EA y se destaca la importancia de la información del historial médico para los estudios clínicos. En cambio, a nivel de grupo, A β 42, t-tau, p-tau y NFL en LCR son biomarcadores que pueden separar a los pacientes con EA de los controles, mientras que A β 42, t-tau y p-tau también discriminan entre DCL y EA, siendo útiles para la detección precoz.
2. Se evidencia que la EA se acompaña de una reducción de los niveles de BDNF periférico y su relación con la gravedad de la enfermedad. Aunque el BDNF periférico puede no ser adecuado como marcador diagnóstico único, es probable que la combinación de los niveles periféricos de BDNF con otros biomarcadores que reflejen diversas vías neuropatológicas en la EA sea el enfoque más adecuado para el cribado y el diagnóstico de pacientes con EA o DCL en el futuro.
3. Existen concentraciones elevadas de biomarcadores inflamatorios periféricos en pacientes con EA, enfatizando el papel de la inflamación periférica en la patología de la EA y apoyando el hecho de que la inflamación sistémica podría ser un biomarcador para el diagnóstico de la enfermedad.
4. Existen nuevos biomarcadores periféricos con asociaciones significativas en pacientes con la EA que permiten distinguirlos de la población sin EA, como la proteína CLIC1, los niveles de LDL y CT o la A β PP plaquetaria en el DCL, así como biomarcadores en LCR asociados a la progresión de la EA como sTREM 2 y la proteína cerebral NPTXR.
5. Siguiendo protocolos estandarizados, la cuantificación reproducible de proteínas séricas sanguíneas inmunitarias y neuroromoduladoras es posible en controles sanos y en pacientes con EA. Esto abre la posibilidad de implementar estas

proteínas como biomarcadores de la EA, como, por ejemplo, el conjunto de proteínas definido utilizado como algoritmo basado en los 6 biomarcadores que podría ser un candidato valioso para una mayor validación analítica y clínica.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2006;368(9533):387–403.
2. Prince M, Bryce R, Albanese E, Wimo A, Ribeiro W, Ferri CP. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc*. 2015;9(1):63-75.e2.
3. Bettens K, Sleegers K, Van Broeckhoven C. Current status on Alzheimer disease molecular genetics: from past, to present, to future. *Hum Mol Genet*. 2010;19(R1):R4–11.
4. Montesanto A, Crocco P, Anfossi M, Smirne N, Puccio G, Colao R, et al. The Genetic Variability of UCP4 Affects the Individual Susceptibility to Late-Onset Alzheimer's Disease and Modifies the Disease's Risk in APOE-varepsilon4 Carriers. *J Alzheimers Dis*. 2016;51(4):1265–74.
5. Price JL, Ko AI, Wade MJ, Tsou SK, Mckeel DW, Morris JC. Neuron Number in the Entorhinal Cortex and CA1 in Preclinical Alzheimer Disease [Internet]. Vol. 58, *Arch Neurol*. 2001. Available from: <https://jamanetwork.com/>
6. American Psychiatric Association (Washington). DSM-5 : manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. 5{u00AA} e. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2014. XLVIII, 947 p.
7. Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, Andrieu S, et al. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's and Dementia*. 2016.
8. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. Vol. 6, *Lancet Neurology*. 2007. p. 734–46.
9. Calderon-Garcidueñas AL, Duyckaerts C. Alzheimer disease. *Handb Clin Neurol*. 2017;145:325–37.
10. Iqbal K, Liu F, Gong C-X. Alzheimer disease therapeutics: focus on the disease and not just plaques and tangles. *Biochem Pharmacol*. 2014 Apr;88(4):631–9.

11. Pérez M, Hernández F, Avila J. Protein biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease at different stages of neurodegeneration. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):1–10.
12. Castello MA, Soriano S. On the origin of Alzheimer's disease. *Trials and tribulations of the amyloid hypothesis.* Vol. 13, *Ageing Research Reviews.* Elsevier; 2014. p. 10–2.
13. Lashley T, Schott JM, Weston P, Murray CE, Wellington H, Keshavan A, et al. Molecular biomarkers of Alzheimer's disease: progress and prospects. *DMM Dis Model Mech.* 2018;11(5).
14. Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell* [Internet]. 2012;148(6):1204–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.040>
15. Zlokovic B V. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci.* 2011;12(December):723–39.
16. Long JM, Holtzman DM. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. *Cell.* 2019;179(2):312–39.
17. McKhann G. the diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2012;7(3):263–9.
18. Lloret A, Esteve D, Lloret MA, Cervera-Ferri A, Lopez B, Nepomuceno M, et al. When does Alzheimer's disease really start? The role of biomarkers. *Int J Mol Sci.* 2019;20(22):1–15.
19. Perrin RJ, Craig-Schapiro R, Malone JP, Shah AR, Gilmore P, Davis AE, et al. Identification and Validation of Novel Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Staging Early Alzheimer's Disease. [cited 2021 Mar 24]; Available from: www.plosone.org
20. El Kadmiri N, Said N, Slassi I, El Moutawakil B, Nadifi S. Biomarkers for Alzheimer Disease: Classical and Novel Candidates' Review. *Neuroscience.* 2018;370:181–90.
21. Fagan AM, Perrin RJ. Upcoming candidate cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease [Internet]. Vol. 6, *Biomarkers in Medicine.* NIH Public Access; 2012 [cited 2021 Mar 25]. p. 455–76. Available from: [/pmc/articles/PMC3477809/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23111111/)

22. Sutphen CL, Fagan AM, Holtzman DM. Progress update: Fluid and imaging biomarkers in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2014;75(7):520–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.07.031>
23. Mendez PC, Surace E, Bérigamo Y, Calandri I, Vazquez S, Sevlever G, et al. Biomarkers for Alzheimer's disease. Where we stand and where we are headed. *Medicina (B Aires)*. 2019;79(6–1):546–51.
24. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2016;15(7):673–84.
25. Hong S, Quintero-Monzon O, Ostaszewski BL, Podlisny DR, Cavanaugh WT, Yang T, et al. Neurobiology of Disease Dynamic Analysis of Amyloid-Protein in Behaving Mice Reveals Opposing Changes in ISF versus Parenchymal A during Age-Related Plaque Formation. 2011;
26. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, et al. CSF Biomarkers and Incipient Alzheimer Disease in Patients With Mild Cognitive Impairment [Internet]. Vol. 302, *JAMA*. 2009 [cited 2021 Mar 25]. Available from: www.jama.com
27. Lawrence E, Vegvari C, Ower A, Hadjichrysanthou C, De Wolf F, Anderson RM. A systematic review of longitudinal studies which measure Alzheimer's disease biomarkers. *J Alzheimer's Dis*. 2017;59(4):1359–79.
28. Tarawneh R, D'Angelo G, MacY E, Xiong C, Carter D, Cairns NJ, et al. Visinin-like protein-1: Diagnostic and prognostic biomarker in Alzheimer disease. *Ann Neurol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2021 Mar 25];70(2):274–85. Available from: [/pmc/articles/PMC3154071/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2154071/)
29. Østergaard C, Johansen JS, Benfield T, Price PA, Lundgren JD. YKL-40 is elevated in cerebrospinal fluid from patients with purulent meningitis. *Clin Diagn Lab Immunol* [Internet]. 2002 [cited 2021 Mar 25];9(3):598–604. Available from: [/pmc/articles/PMC119997/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/119997/)
30. Urrutia G, Bonfill X. PRISMA_Spanish.pdf [Internet]. Vol. 135, *Medicina Clínica*. 2010. p. 507–11. Available from: [http://es.cochrane.org/ sites/es.cochrane.org/](http://es.cochrane.org/sites/es.cochrane.org/)

31. Ritchie C, Smailagic N, Ah N, Ukoumunne O, Ec L, Martin S. Tau en LCR y cociente de tau/ABeta en LCR para el diagnóstico de la demencia de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias en los pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL). 2017;(Dcl).
32. Kokkinou M, Lc B, Smailagic N, Ah N, Hyde C, Ukoumunne O, et al. Kokkinou M, Beishon LC, Smailagic N, Noel-Storr AH, Hyde C, Ukoumunne O, Worrall RE, Hayen A, Desai M, Ashok AH, Paul EJ, Georgopoulou A, Casoli T, Quinn TJ, Ritchie CW. 2021;
33. Zhang S, Huang S-Y, An X-B, Zeng L, Ai J. Medical Histories of Control Subjects Influence the Biomarker Potential of Plasma A β in Alzheimer's Disease: a Meta-analysis. 2031; Available from: <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01510-1>
34. Kim BY, Lee SH, Graham PL, Angelucci F, Lucia A, Pareja-Galeano H, et al. Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment: a Comprehensive Systematic Review and Meta-analysis. 2035;
35. Du Y, Wu H-T, Qin X-Y, Cao C, Liu Y, Cao Z-Z, et al. Postmortem Brain, Cerebrospinal Fluid, and Blood Neurotrophic Factor Levels in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. 2031; Available from: <https://doi.org/10.1007/s12031-018-1100-8>
36. Xie B, Zhou H, Liu W, Yu W, Liu Z, Jiang L, et al. International Journal of Neuroscience Evaluation of the diagnostic value of peripheral BDNF levels for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: results of a meta-analysis Evaluation of the diagnostic value of peripheral BDNF levels for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: results of a meta-analysis. Available from: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ines20>
37. Lai KSP, Liu CS, Rau A, Lanctôt KL, Köhler CA, Pakosh M, et al. Peripheral inflammatory markers in Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis of 175 studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2021 Apr 29];88(10):876–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28794151/>

38. Yodoi J, Chiurchiù V, Chiu I, Cheng Y, Liu Q, Chen X, et al. Cerebrospinal Fluid Inflammatory Cytokine Aberrations in Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease and Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Immunol* | www.frontiersin.org [Internet]. 2018;9:2122. Available from: www.frontiersin.org
39. Su C, Zhao K, Xia H, Xu Y. Peripheral inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. *Psychogeriatrics* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2021 Apr 29];19(4):300–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30790387/>
40. Ostrowski PP, Barszczyk A, Forstenpointner J, Zheng W, Feng ZP. Meta-analysis of serum insulin-like growth factor 1 in Alzheimer's disease. *PLoS One* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2021 Apr 29];11(5). Available from: [/pmc/articles/PMC4881955/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26611955/)
41. Carlini V, Verduci I, Cianci F, Cannavale G, Fenoglio C, Galimberti D, et al. CLIC1 Protein Accumulates in Circulating Monocyte Membrane during Neurodegeneration. *Int J Mol Sci Artic* [Internet]. Available from: www.mdpi.com/journal/ijms
42. Shi Y, Gu L, Wang Q, Gao L, Zhu J, Lu X, et al. Platelet amyloid- β protein precursor (A β PP) ratio and phosphorylated tau as promising indicators for early Alzheimer's disease. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci*. 2020;75(4):664–70.
43. Wu Y, Wang Z, Jia X, Zhang H, Zhang H, Li J, et al. Prediction of Alzheimer's disease with serum lipid levels in Asian individuals: a meta-analysis. 2019; Available from: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ibmk20>
44. Liu D, Cao B, Zhao Y, Huang H, McIntyre RS, Rosenblat JD, et al. Soluble TREM2 changes during the clinical course of Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Neurosci Lett*. 2018 Nov 1;686:10–6.
45. Begcevic I, Tsolaki M, Brinc D, Brown M, Martinez-Morillo E, Lazarou I, et al. Open Peer Review Discuss this article (0) Comments Neuronal pentraxin receptor-1 is a new cerebrospinal fluid biomarker of Alzheimer's disease progression [version 1; referees: 4 approved]. 2018; Available from:


<https://doi.org/10.12688/f1000research.15095.1>

46. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2021 Apr 30];15(7):673–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27068280/>
47. Schipke CG, Günter O, Weinert C, Scotton P, Sigle J-P, Kallarackal J, et al. Definition and quantification of six immune- and neuroregulatory serum proteins in healthy and demented elderly. *Neurodegener Dis Manag*. 2019;9(4):193–203.
48. Smith JA, Das A, Ray SK, Banik NL. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in neurodegenerative diseases. Vol. 87, *Brain Research Bulletin*. Elsevier; 2012. p. 10–20.


ANEXO 1. TABLA DE EXTRACCIÓN DE DATOS

AUTOR, REVISTA, FECHA	TIPO DE ESTUDIO	POBLACION A ESTUDIO	BIOMARCADORES	RESULTADOS	CALIDAD METODOLÓGICA	CONCLUSIÓN
Ritchie C et al. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2017	Revisión sistemática de 15 estudios	1.282 participantes con DCL	Niveles de t-tau, p-tau y el cociente p-tau/ABeta en LCR	Detectar t-tau y p-tau en LCR son pruebas razonablemente sensibles para el diagnóstico posterior de la demencia por EA, pero tienen poca especificidad.	ALTA	La prueba de diagnóstico del LCR, como una única prueba, carece de la exactitud para identificar a los pacientes con DCL que desarrollarían EA. Los datos indicaron que una prueba negativa del LCR, en los pacientes con DCL, casi indica la ausencia de EA.
Kokkinou M et al. Cochrane Database of Systematic Reviews 2021	Revisión sistemática de 39 estudios	5000 participantes con EA y otros tipos específicos de demencia	ABeta42 en el LCR	La prueba de la ABeta42 en LCR tiene más sensibilidad que especificidad, y su precisión diagnóstica depende del umbral utilizado para definir la positividad de la prueba.	ALTA	La medición de los niveles de ABeta42 en el LCR podría ayudar a diferenciar la EA de otros subtipos de demencia, pero la prueba no es perfecta y es poco probable que la ABeta42 se utilice de forma aislada para hacer un diagnóstico.
Zhang S et al. J Mol Neurosci. 2020	Meta-análisis de 19 estudios, 8 de los cuales con sujetos libres de enfermedad amiloidea	Se incluyó un total de 1395 pacientes con EA y 3160 sujetos de control	Nivel de Aβ40 y Aβ42 en plasma	La relación Aβ42 / Aβ40 de los sujetos con EA fue significativamente menor que la de los sujetos de control con el análisis de los 8 artículos específicos.	ALTA	Los pacientes con EA poseen una menor proporción plasmática de Aβ42, Aβ42 / Aβ40 y niveles más altos de Aβ40 que sujetos de control sin ningún tipo de enfermedad crónica relacionada con Aβ. Se evidencia la relación plasmática Aβ42 / Aβ40 como biomarcador de EA. Se destaca la importancia de la información del historial médico para los estudios clínicos.
Kim BY et al. Mol Neurobiol. 2017	Meta-análisis de 26 estudios	1584 pacientes con EA, 556 pacientes con DCL y 1294 controles	Niveles periféricos de BDNF en pacientes con EA o DCL y controles sanos.	Los pacientes con EA con una puntuación baja (<20) del mini examen del estado mental (MMSE) tenían niveles de BDNF periféricos más bajos en comparación con los controles.	ALTA	Este metanálisis muestra que los niveles de BDNF en sangre periférica parecen aumentar en la EA temprana y disminuir en los pacientes con EA con puntuaciones MMSE bajas.
Du Y et al. J Mol Neurosci. 2018	Meta-análisis de 98 artículos	2217 pacientes con EA y 1817 controles sanos	Niveles de factor neurotrófico cerebral (BDNF, NGF, NT-3, NT-4, GDNF, IGF y VEGF) en sangre, LCR y biopsias de cerebros post-mortem	Los niveles de BDNF en sangre periférica disminuyeron significativamente en los pacientes con EA en comparación con los controles. En LCR mostró una disminución significativa de BDNF y un aumento de los niveles de NGF en pacientes con EA.	ACEPTABLE	La EA se acompaña de un perfil de neurotrofinas aberrante, y es posible que se justifiquen futuras investigaciones sobre las neurotrofinas como biomarcadores (especialmente BDNF y NGF en LCR) y dianas terapéuticas para la EA.
Xie B et al. Int J Neurosci. 2020	Meta-análisis de 34 estudios	28 artículos (3851 individuos) sobre EA, 18 (6463) en DCL y 12 (1569) en los dos tipos de pacientes	Niveles de BDNF en plasma y en suero en sujetos sanos, con EA y con DCL.	Los pacientes con EA y DCL tienen niveles significativamente disminuidos de BDNF periférico en comparación con los controles sanos. Aun así el análisis de la curva ROC revela que los niveles periféricos de BDNF pueden no ser un biomarcador óptimo para el diagnóstico de EA y DCL.	ALTA	Tanto EA y DCL se acompañan de una reducción de los niveles de BDNF periférico, pero los niveles de BDNF periférico pueden no ser adecuados como marcador diagnóstico.
Lai KSP et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2017	Meta-análisis de 175 estudios	13344 pacientes con EA y 12 912 controles sanos	51 biomarcadores inflamatorios periféricos	Los pacientes con EA tenían significativamente mayor concentraciones en sangre para IL-1β, IL-2, IL-6, IL-18, α1 antitripsina, CXCL-10, EGF, homocisteína, hsCRP, IFN-γ, receptores de TNF solubles 1 y 2, TNF-α, TACE y VCAM-1. Los niveles de IL-6 se correlacionaron inversamente con las puntuaciones medias del MMSE.	ALTA	La EA se acompaña de una respuesta inflamatoria periférica y que la IL-6 puede ser un marcador biológico útil para correlacionar con la gravedad del deterioro cognitivo.
Chen X et al. Front Immunol. 2018	Meta-análisis de 71 estudios	2629 pacientes (EA, EP, ELA) y 2049 controles	Niveles de citocinas inflamatorias (TGF-β, MCP-1, YKL-40β, IL-1β, IL-6, IL-8 y TNF-α) en LCR	Los niveles de TGF-β, MCP-1 y YKL-40 en el LCR estaban significativamente elevados en los pacientes con EA en comparación con los controles.	ACEPTABLE	Estos resultados no solo refuerzan la evidencia clínica de que las enfermedades neurodegenerativas se acompañan de un aumento de la respuesta inflamatoria, sino que también revelan el perfil de respuesta inflamatoria único en el SNC de los pacientes con EA, EP y ELA.
Su C et al. Psychogeriatrics. 2019	Meta-análisis de 88 estudios	5000 participantes con EA o DCL	Biomarcadores inflamatorios en sangre.	Se encuentran concentraciones elevadas de biomarcadores inflamatorios como PCR, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-12, IL-18, MCP-1, MCP-3, IL-8 y proteína 10 inducible por interferón-γ en pacientes con EA	ACEPTABLE	Estos resultados proporcionaron evidencia para apoyar que la inflamación sistemática podría ser un biomarcador para el diagnóstico de EA, además de ser un evento posterior durante la progresión de la enfermedad de EA.

Ostrowski PP et al. PLoS One.2016	Meta-análisis de 10 estudios	850 pacientes con EA y 871 controles	Niveles de IGF-1 en suero	No se establece una relación clara entre el IGF-1 bajo y los sujetos con EA ya que el análisis en su conjunto no muestra una tendencia significativa en ninguna dirección.	ACEPTABLE	El nivel de IGF-1 es probablemente un factor personalizado crítico.
Carlini V et al. Int J Mol Sci. 2020	Ensayo clínico	Se reclutan 19 mujeres y 16 hombres pacientes con EA junto con sus respectivos controles	Medición la proteína CLIC1 por inmunofluorescencia en monocitos periféricos	El análisis de microscopía confocal y las mediciones electrofisiológicas destacan la presencia significativa de CLIC1 transmembrana (tmCLIC1) en monocitos de pacientes con EA	NO APLICABLE	Se pueden utilizar análisis de sangre y tecnologías convencionales para discriminar entre individuos sanos y pacientes con procesos neurodegenerativos en curso.
Shi Y et al. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2020	Ensayo clínico + meta-análisis del presente estudio	Se reclutan 43 sujetos con DCL y 45 controles	Indicadores plaquetarios: índice AβPP, P-tau231, P-tau181 y Ser396 / 404 tau fosforilada	En las plaquetas de pacientes con DCL, el nivel de la relación AβPP fue significativamente más bajo y los niveles de P-tau231 y tau fosforilada Ser396 / 404 fueron significativamente más altos.	ACEPTABLE	Las plaquetas de sujetos DCL mostraron una relación de AβPP más baja y niveles más altos de P-tau231 y tau fosforilada Ser396 / 404 en comparación con los controles normales, que pueden ser críticos para identificar la EA temprana.
Wu Y et al. Biomarkers. 2019	Meta-análisis de 37 estudios	6127 personas sanas y 3423 pacientes con EA de China, Japón e India	Niveles de lípidos en sangre (HDL-C, LDL-C, TC y TG)	Los resultados demostraron que los pacientes con EA mostraron niveles más altos de LDL-C y CT en comparación con los de los controles sanos. Las personas con niveles más altos de LDL-C y / o CT tenían un mayor riesgo de EA.	ALTA	Los niveles séricos de LDL-C y TC se asociaron con el riesgo de EA en individuos asiáticos. El perfil de lípidos de rutina puede ser útil para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de la EA.
Liu D Neurosci Lett. 2018	Meta-análisis de 8 estudios	82 pacientes con pre-EA, 159 con DCL, 598 con EA y 754 controles.	Concentración de sTREM2 en LCR y plasma.	Niveles de sTREM2 en LCR significativamente elevados en todos los grupos del continuo de EA. Sin embargo, para los niveles de sTREM2 medidos en plasma, no se encontraron diferencias significativas	ALTA	Los resultados actuales indicaron que los niveles de sTREM2 fluctúan en función de la etapa clínica en la EA y podría ser un nuevo biomarcador inflamatorio involucrado en diferentes etapas de la EA.
Begcevic I et al. F1000Res. 2018	Ensayo clínico	Se divide a los pacientes en DCL (14 controles) y en EA leve, moderada y severa (87 pacientes)	Niveles de 30 proteínas cerebrales entre las que se incluyen Aβ1-42, t-tau, p-tau y NPTXR en LCR	La mejor discriminación entre DCL y las etapas más avanzadas de la EA se observó para la proteína NPTXR. Los pacientes con EA grave tuvieron niveles progresivamente más bajos.	NO APLICABLE	Concluimos que la proteína NPTXR en el LCR es un nuevo biomarcador potencial de la progresión de la EA y podría tener una utilidad importante para evaluar el éxito del tratamiento en ensayos clínicos.
Olsson B et al. Lancet Neurol. 2016	Meta-análisis de 231 artículos	11000 pacientes con EA y DCL estable y 7000 sujetos sanos	Niveles en plasma y LCR de: T-tau, NFL, P-tau, Aβ42, NSE, VLP-1, HFABP, MCP-1, GFAP y YKL-40	. Los biomarcadores centrales del LCR T-tau, P-tau y Aβ42, LCR NFL y T-tau plasmático estaban fuertemente asociados con la EA y DCL. Los biomarcadores emergentes de LCR NSE, VLP-1, HFABP y YKL-40 se asociaron moderadamente con la EA, mientras que Aβ42 y Aβ40 en plasma no lo fueron.	ALTA	Debido a su consistencia, T-tau, P-tau, Aβ42 y NFL en LCR deben usarse en la práctica clínica y la investigación clínica.
Schipke CG et al. Neurodegener Dis Manag. 2019	Ensayo clínico	81 pacientes con EA y 79 controles sanos.	Niveles de los marcadores BDNF, IGF-1, VEGF, TGF-β 1, MCP-1 e IL-18 en suero sanguíneo	Los resultados para la cuantificación de los seis marcadores en suero sanguíneo son estables y sus concentraciones difieren significativamente para todos los analitos excepto VEGF entre pacientes diagnosticados con EA y controles saludables.	NO APLICABLE	El análisis de un panel de seis marcadores en suero sanguíneo en condiciones estandarizadas puede servir como una herramienta de diagnóstico en la atención primaria de la demencia en el futuro.

		Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses	
SIGN		SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: <i>Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10 [cited 10 Sep 2012]</i>	
Study identification (<i>Include author, title, year of publication, journal title, pages</i>)			
Guideline topic:		Key Question No:	
Before completing this checklist, consider: Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.			
Checklist completed by:			
Section 1: Internal validity			
<i>In a well conducted systematic review:</i>		<i>Does this study do it?</i>	
1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> If no reject
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/> If no reject
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		

 SIGN	Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses Notes for completion of checklist	
<p>SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. <i>BMC Medical Research Methodology</i> 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10 [cited 10 Sep 2012]</p>		
<p>Must refers to a statement that has to be fulfilled for the question to receive a yes answer. Should statements are a mark of quality but not a necessity for a yes answer. These should be used to assess the overall quality of the paper.</p>		
Section 1: Internal validity		
<i>In a well conducted systematic review:</i>		Notes
1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	The PICO must be clear in the paper even if not directly referred to. The research question and inclusion criteria should be established before the review is conducted.
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	<p>At least two relevant electronic sources must be searched. The report must list the databases used (e.g., Central, EMBASE, and MEDLINE). (Cochrane register/Central counts as two sources; a grey literature search counts as supplementary). (PubMed and MEDLINE count as one database.)</p> <p>Key words and/or MESH terms must be stated and where feasible the search strategy should be provided. Dates for the search should be provided.</p> <p>The paragraph above is the minimum requirement.</p> <p>All searches should be supplemented by consulting current contents, reviews, textbooks, specialized registers, or/and experts in the particular field of study, and by reviewing the references in the studies found.</p> <p>The paragraph above is a quality criteria which affects the overall rating of the review.</p> <p><i>Notes</i></p> <p>This criterion will not apply in the case of prospective meta-analysis - this is where meta-analysis is based on pre-selected studies identified for inclusion before the results of those studies are known. Such reports must state that they are prospective.</p>
1.3	At least two people should have selected studies.	At least two people should select papers. There should be a consensus process to resolve any differences
1.4	At least two people should have	At least two people should extract data and should report that a consensus was agreed. One person

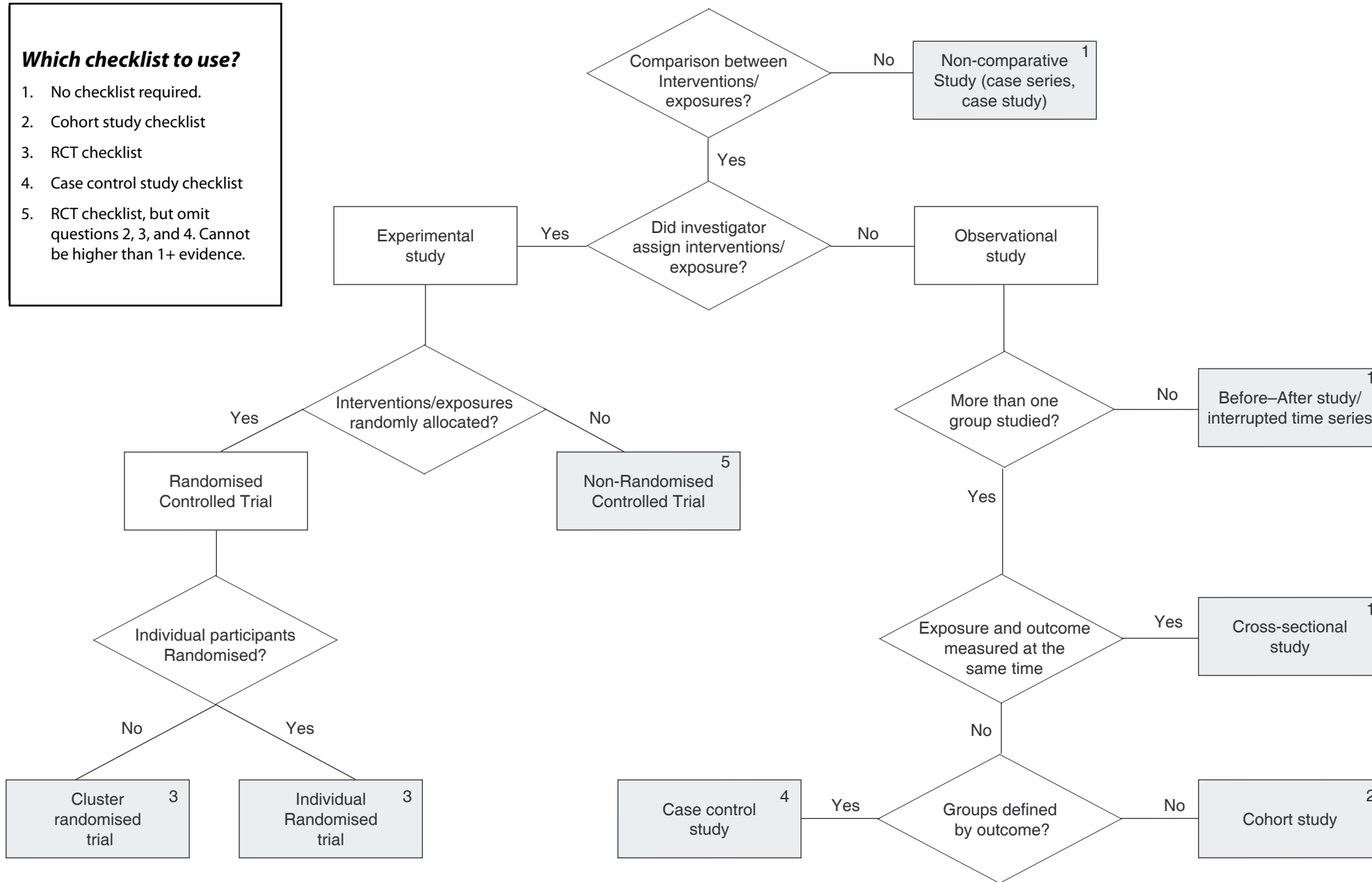
	extracted data.	checking the others data extraction is accurate is acceptable.
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	<p>The authors should state that they searched for reports regardless of their publication status. The authors should state whether or not they excluded any reports (from the systematic review), based on their publication status.</p> <p>If review indicates that there was a search for “grey literature” or “unpublished literature,” indicate “yes.” SIGLE database, dissertations, conference proceedings, and trial registries are all considered grey for this purpose. If searching a source that contains both grey and non-grey, must specify that they were searching for grey/unpublished lit.</p>
1.6	The excluded studies are listed.	Limiting the excluded studies to references is acceptable.
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	<p>In an aggregated form such as a table, data from the original studies should be provided on the participants, interventions and outcomes. The ranges of characteristics in all the included studies e.g., age, race, sex, relevant socioeconomic data, disease status, duration, severity, or other diseases should be reported. (Note that a format other than a table is acceptable, as long as the information noted here is provided).</p> <p>Absence of this will make it impossible to form guideline recommendations. Mark as (-) original papers would need to be examined.</p>
1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and documented	<p>It can include use of a quality scoring tool or checklist, e.g. risk of bias assessment, or a description of quality items, with some kind of result for EACH study (“low” or “high” is fine, as long as it is clear which studies scored “low” and which scored “high”; a summary score/range for all studies is not acceptable).</p> <p>Absence of this will make it impossible to form guideline recommendations. Mark as (-)</p>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	<p>Examples include sensitivity analysis based on study quality, exclusion of poor quality studies, and statements such as ‘the results should be interpreted with caution due to poor quality of included studies’</p> <p>The results of the methodological rigor and scientific quality should be considered in the analysis and the conclusions of the review, and explicitly stated in formulating recommendations.</p> <p>Cannot score “yes” for this question if scored “no” for question 1.8.</p>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	<p>Studies that are very clinically heterogeneous should not be combined in a meta-analysis.</p> <p>Look at the forest plot—do the results look similar across the studies?</p>

		<p>For the pooled result a test should be done to assess statistical heterogeneity i.e. Chi-squared (χ^2) test for homogeneity and/or I^2 test for inconsistency.</p> <p>If significant heterogeneity is apparent the authors should have explored possible explanations using methods such as sensitivity analysis or meta-regression. A random effects analysis may be used to take account of between-study variation but is not a 'fix' for heterogeneity.</p> <p>Planned subgroup analyses should be pre-specified and limited in number because conducting many subgroup analyses increases the probability of obtaining a statistically significant result by chance. Conclusions based on post-hoc subgroup analyses must be interpreted with caution.</p> <p>Cannot score "yes" for this question if scored "no" for question 1.8.</p>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately	<p>The possibility of publication bias should be assessed where possible, commonly done by visual inspection of a funnel plot together with a statistical test for asymmetry (e.g., Egger regression test) although other statistical and modelling approaches may be reported.</p> <p>Absence of a funnel plot doesn't mean the likelihood of publication bias was not assessed appropriately (there are other methods); 10 studies is just a ball-park minimum number for a funnel plot and a plot is of little use when there are few studies.</p>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Potential sources of support should be clearly acknowledged in both the systematic review and the included studies.
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY		
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	<p>Rate the overall methodological quality of the study, using the following as a guide:</p> <p>High quality (++) : Majority of criteria met. Little or no risk of bias..</p> <p>Acceptable (+) : Most criteria met. Some flaws in the study with an associated risk of bias.</p> <p>Low quality (-) : Either most criteria not met, or significant flaws relating to key aspects of study design.</p> <p>Reject (0) : Poor quality study with significant flaws. Wrong study type. Not relevant to guideline.</p>


Algorithm for classifying study design for questions of effectiveness

Which checklist to use?

1. No checklist required.
2. Cohort study checklist
3. RCT checklist
4. Case control study checklist
5. RCT checklist, but omit questions 2, 3, and 4. Cannot be higher than 1+ evidence.



ANEXO 5. CHECKLIST DE LOS ESTUDIOS INCLUIDOS

		<h3>Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses</h3>	
SIGN		SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: <i>Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10 [cited 10 Sep 2012]</i>	
Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages) Ritchie C et al. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2017			
Guideline topic:		Key Question No:	
Before completing this checklist, consider: Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.			
Checklist completed by:			
Section 1: Internal validity			
<i>In a well conducted systematic review:</i>		<i>Does this study do it?</i>	
1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> If no reject
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/> If no reject
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Kokkinou M et al. Cochrane Database of Systematic Reviews 2021

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Zhang S et al. J Mol Neurosci. 2020

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input checked="" type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input checked="" type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Kim BY et al. Mol Neurobiol. 2017

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Du Y et al. J Mol Neurosci. 2018

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input type="checkbox"/> Acceptable (+) <input checked="" type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Xie B et al. Int J Neurosci. 2020

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Lai KSP et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2017

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Chen X et al. Front Immunol. 2018

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input checked="" type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input type="checkbox"/> Acceptable (+) <input checked="" type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Su C et al. Psychogeriatrics. 2019

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input checked="" type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input type="checkbox"/> Acceptable (+) <input checked="" type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Ostrowski PP et al. PLoS One.2016

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input checked="" type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input type="checkbox"/> Acceptable (+) <input checked="" type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C., et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Shi Y et al. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2020

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input checked="" type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input checked="" type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input type="checkbox"/> Acceptable (+) <input checked="" type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Wu Y et al. Biomarkers. 2019

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Liu D Neurosci Lett. 2018

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		



Methodology Checklist 1: Systematic Reviews and Meta-analyses

SIGN

SIGN gratefully acknowledges the permission received from the authors of the AMSTAR tool to base this checklist on their work: *Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA, Boers M, Andersson N, Hamel C, et al. Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. BMC Medical Research Methodology 2007, 7:10 doi:10.1186/1471-2288-7-10. Available from <http://www.biomedcentral.com/1471-2288/7/10> [cited 10 Sep 2012]*

Study identification (Include author, title, year of publication, journal title, pages)

Olsson B et al. Lancet Neurol. 2016

Guideline topic:

Key Question No:

Before completing this checklist, consider:

Is the paper relevant to key question? Analyse using PICO (Patient or Population Intervention Comparison Outcome). IF NO reject. IF YES complete the checklist.

Checklist completed by:

Section 1: Internal validity

In a well conducted systematic review:

Does this study do it?

1.1	The research question is clearly defined and the inclusion/ exclusion criteria must be listed in the paper.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		If no reject	
1.2	A comprehensive literature search is carried out.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Not applicable <input type="checkbox"/>	
		If no reject	
1.3	At least two people should have selected studies.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input checked="" type="checkbox"/>
1.4	At least two people should have extracted data.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
			Can't say <input type="checkbox"/>
1.5	The status of publication was not used as an inclusion criterion.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.6	The excluded studies are listed.	Yes <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
1.7	The relevant characteristics of the included studies are provided.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

1.8	The scientific quality of the included studies was assessed and reported.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.9	Was the scientific quality of the included studies used appropriately?	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.10	Appropriate methods are used to combine the individual study findings.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Can't say <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>
1.11	The likelihood of publication bias was assessed appropriately.	Yes <input checked="" type="checkbox"/> Not applicable <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
1.12	Conflicts of interest are declared.	Yes <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
SECTION 2: OVERALL ASSESSMENT OF THE STUDY			
2.1	What is your overall assessment of the methodological quality of this review?	High quality (++) <input checked="" type="checkbox"/> Acceptable (+) <input type="checkbox"/> Low quality (-) <input type="checkbox"/> Unacceptable – reject 0 <input type="checkbox"/>	
2.2	Are the results of this study directly applicable to the patient group targeted by this guideline?	Yes <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
2.3	Notes:		