



Universidad de Oviedo

**Influencia de la concentración de  
proteínas en LCR en la  
cuantificación de  $\beta$ -amiloide como  
biomarcador de Enfermedad de  
Alzheimer**

---

Trabajo de Fin de Grado

**David Gutiérrez Rodríguez**  
Curso 2020-2021

Grado en Medicina

Universidad de Oviedo

Tutor: Dr. Manuel Menéndez González

## **RESUMEN**

El péptido  $\beta$ -amiloide juega un papel central en la patogenia de la Enfermedad de Alzheimer. Este péptido se une a ciertas proteínas, tales como la albúmina, las inmunoglobulinas y la transtiretina, en distintas proporciones en los distintos fluidos biológicos. La cuantificación de  $\beta$ -amiloide en líquido cefalorraquídeo (LCR) es un biomarcador universalmente aceptado para apoyar el diagnóstico de la enfermedad; sin embargo, los valores de referencia de normalidad/anormalidad no tienen en cuenta la concentración concomitante de proteínas en el LCR. Planteamos la posibilidad de que los niveles de  $\beta$ -amiloide en LCR pudieran verse afectados por la concentración concomitante de proteínas en el LCR. Para tratar de dar respuesta a esta cuestión correlacionamos la concentración de  $\beta$ -amiloide con la concentración de proteínas en LCR en una serie de casos a estudio por deterioro cognitivo en el HUCA.

No encontramos relación entre la concentración de  $\beta$ -amiloide licuoral y la concentración de proteínas en sangre o en LCR. Tampoco encontramos relación entre la concentración de  $\beta$ -amiloide licuoral y la edad de los pacientes, sin embargo, encontramos una relación estadísticamente significativa entre el índice de  $\beta$ -amiloide licuoral y el sexo, siendo el índice amiloide menor en mujeres que en hombres.

## **ABSTRACT**

$\beta$ -amyloid peptide plays a central role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. This peptide binds a number of proteins such as albumin, immunoglobulines and transthyretin, in different proportions in the different

biologic fluids. The measurement of  $\beta$ -amyloid in the cerebrospinal fluid (CSF) is universally accepted to support the diagnosis of Alzheimer's disease. However reference values of normality/abnormality do not have into account the concomitant levels of proteins in the CSF. We raise the possibility that levels of  $\beta$ -amyloid might be influenced by the concomitant levels of proteins in the CSF. In order to answer this question we correlated the levels of  $\beta$ -amyloid with the levels of proteins in the CSF in a series of cases being evaluated for cognitive impairment in HUCA.

We found no association between CSF  $\beta$ -amyloid and CSF or blood proteins. We found no association between CSF  $\beta$ -amyloid and age but we did find association between CSF  $\beta$ -amyloid and gender, being lower in women than in men.

## ÍNDICE

<b>1. Introducción:</b> .....	4
<b>2. Estado actual del tema:</b> .....	6
<b>3. Hipótesis de trabajo/ Objetivos:</b> .....	9
<b>4. Diseño del estudio:</b> .....	9
<b>Pacientes y métodos</b> .....	9
<b>Análisis estadístico</b> .....	10
<b>5. Resultados:</b> .....	10
<b>6. Discusión de los resultados:</b> .....	16
<b>7. Conclusiones:</b> .....	17
<b>8. Bibliografía:</b> .....	18
<b>9. Anexos:</b> .....	22

## 1. Introducción:

La Enfermedad de Alzheimer, descrita por Alois Alzheimer en 1906, es una patología neurodegenerativa, progresiva e irreversible que se caracteriza clínicamente por deterioro cognitivo y cambios conductuales progresivos. Histopatológicamente se caracteriza por la presencia de placas seniles extracelulares formadas por fibrillas insolubles de  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ); y ovillos neurofibrilares intracelulares compuestos por agregados de la proteína Tau fosforilada (Figura 1). (1).

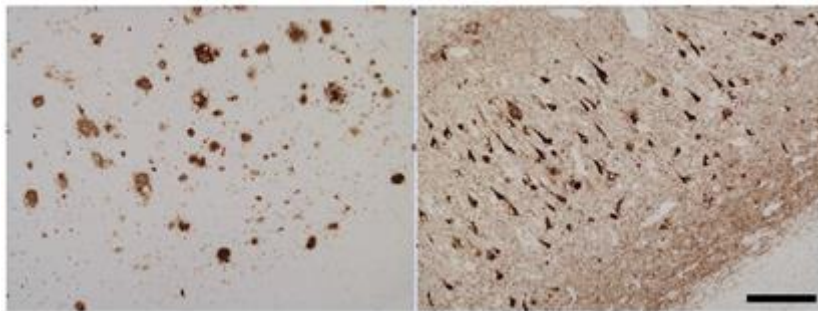


Figura 1: Placas amiloides extracelulares (izquierda) y ovillos neurofibrilares intracelulares (derecha).

Conocer la fisiopatología de la enfermedad es clave a la hora de poder estandarizar unos procedimientos diagnósticos adecuados que permitan detectar las primeras alteraciones en el curso patológico. El péptido  $\beta$ -amiloide tiene un papel central en la fisiopatología de la EA. La llamada hipótesis de la cascada amiloide, propuesta en la década de los 90, y aún hoy vigente, defiende que la acumulación cerebral de  $\beta$ -amiloide desencadenaría una cascada de eventos patológicos e inflamatorios que conducen a una hiperfosforilación de la proteína Tau y posterior formación de ovillos neurofibrilares (2).

Dicha proteína  $\beta$ -Amiloide, es un componente del metabolismo celular normal, que se origina a partir del procesamiento proteolítico de la proteína precursora del amiloide (APP). No obstante, en determinadas conformaciones y a determinadas concentraciones presenta alta tendencia a agregar entre sí, formando agregados insolubles que se depositarán en el cerebro (3).

El  $\beta$ -amiloide está presente no sólo en el líquido cefalorraquídeo sino también en el plasma. Sin embargo, la cuantificación de  $\beta$ -amiloide debe realizarse en el LCR porque es el único fluido biológico que representa la dinámica de agregación que está aconteciendo en el tejido cerebral.

El  $\beta$ -amiloide circulante en el plasma está compuesto no sólo por el  $\beta$ -amiloide producido en el cerebro y transportado a través de la barrera hematoencefálica (BHE), sino también por el producido en tejidos y órganos periféricos como el hígado, la piel, incluso las plaquetas que también producen APP y secretan este péptido  $\beta$ -amiloide (4). Debido a este origen diverso del  $\beta$ -amiloide plasmático y a la presencia de la barrera hematoencefálica no existe un equilibrio directo entre el  $\beta$ -amiloide del SNC y el  $\beta$ -amiloide plasmático (Figura 2). (5).

La funcionalidad de la barrera hematoencefálica puede verse alterada en múltiples enfermedades neurodegenerativas e inflamatorias (6). Su integridad se puede estimar en base al cociente albúmina en LCR / albúmina en sangre. En condiciones normales su valor debe ser menor de 9. Si aumentara este cociente nos indicaría una pérdida de la integridad anatómica y/o funcional de la barrera hematoencefálica (7).

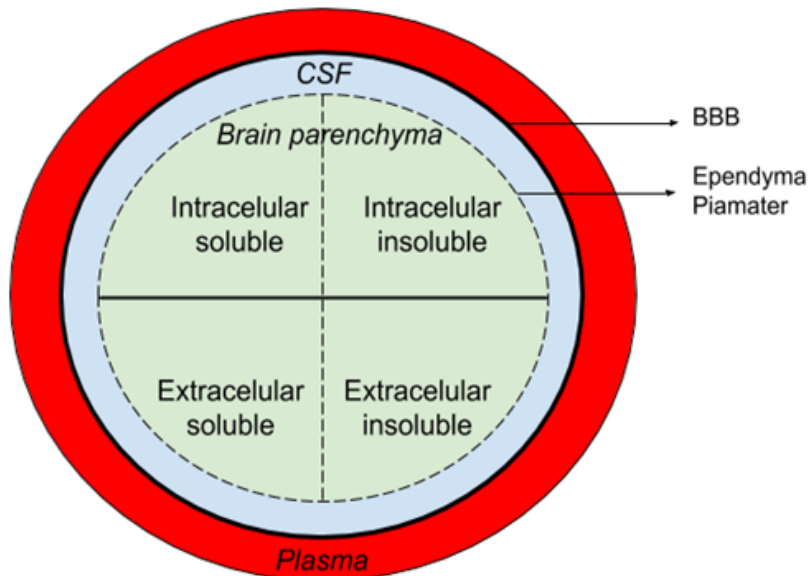


Figura 2: Compartimentos celulares y fluidos biológicos en los que se encuentra presente A $\beta$ . Existe equilibrio entre A $\beta$  extracelular y el LCR; no así entre el A $\beta$  del SNC y el A $\beta$  plasmático, por la presencia de la BHE y porque el origen del A $\beta$  plasmático es diverso, no solo procede del SNC.

## 2. Estado actual del tema:

Las especies más abundantes de  $\beta$ -amiloide son las de 40 aminoácidos (A $\beta$ 40) y el  $\beta$ -amiloide de 42 aminoácidos (A $\beta$ 42). La forma insoluble del A $\beta$ 42 es la más importante en la patogenia de la EA, ya que constituye el componente principal de las placas neuríticas (8).

Se conoce que los niveles de A $\beta$ 42, se reducen en la EA, existiendo una correlación inversa entre el grado de reducción y la carga de placa amiloide en el cerebro. Además, también se altera la concentración de la proteína Tau (tanto en su forma fosforilada como el conjunto de isoformas, la Tau-total), representando la mencionada disfunción a nivel de los ovillos neurofibrilares (9). Así, los marcadores mejor validados para el diagnóstico de la EA son de tipo biológico. Los péptidos A $\beta$ 42, T-tau y P-tau en LCR, son los que han demostrado resultados más consistentes. Es sabido que, en la EA normalmente los niveles de A $\beta$ 42 disminuyen y aumentan los de T-tau y Ptau

en LCR (10). Uno de los problemas en la cuantificación del A $\beta$ 42 es que necesita unas condiciones de recogida de la muestra y un procesado específico, ya que la tendencia del amiloide a agregar y unirse a superficies hace que sea relativamente fácil que los resultados puedan falsearse. Por este motivo se ha generalizado el uso del índice de amiloide, consistente en el cociente A $\beta$ 1-42/A $\beta$ 1-40, ya que el A $\beta$ 40 actúa “de control interno”, haciendo que la fiabilidad de los resultados aumente notablemente.

A continuación, se recogen los puntos de corte de los biomarcadores utilizados, basados en los estándares del laboratorio del HUCA (Tabla1).

Tabla 1: Límites de referencia de los biomarcadores.

<p>Valores patológicos de los biomarcadores para la EA:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● A<math>\beta</math>42: &lt;599 pg/ml.</li> <li>● T-tau: &gt; 404 pg/ml.</li> <li>● P-tau &gt; 56,5 pg/ml.</li> <li>● A<math>\beta</math>1-42/A<math>\beta</math>1-40: &lt; 0,069.</li> </ul>	<p>Rango de concentración normal para la cuantificación de proteínas en sangre y LCR:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Proteínas totales en LCR: 10-45 mg/dl</li> <li>● Proteínas en Sangre: 64-83 mg/dl.</li> <li>● Albúmina en Sangre: 35-52 g/l.</li> </ul>
---	--

La disminución del A $\beta$ 42 en el líquido cefalorraquídeo (LCR) sería detectable en fases de la enfermedad patológica, aún sin síntomas clínicos, pero apenas se modificaría con el curso clínico. La alteración en las concentraciones de t-tau y p-tau indicaría neurodegeneración y progresión clínica.

La volumetría del hipocampo y la captación de glucosa (FDG) serían también marcadores de progresión clínica, incrementando su alteración con la evolución del cuadro clínico (Figura 3) (11).



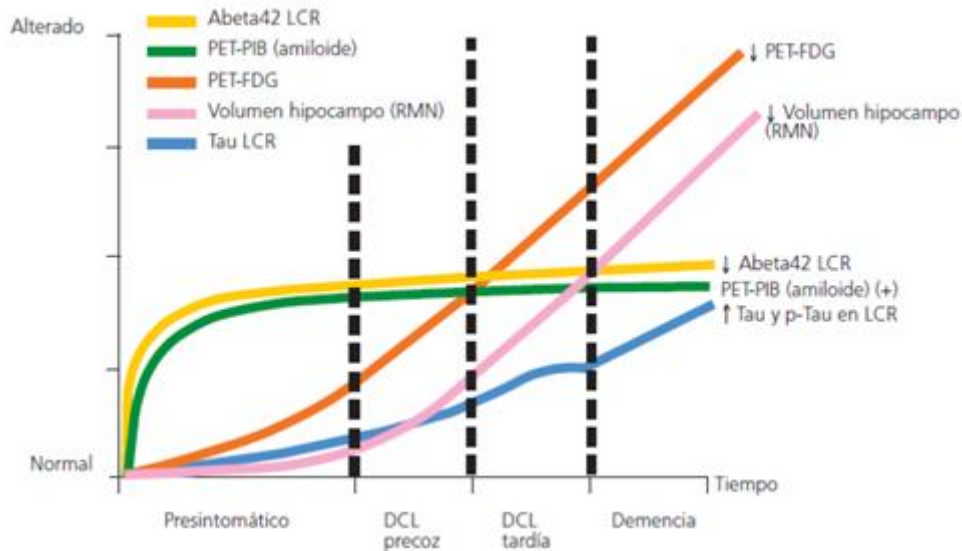


Figura 3: Marcadores y progresión de la enfermedad de Alzheimer.

Por todo ello, la cuantificación del A $\beta$ 42, Tau y Tau-fosforilada en LCR, ha demostrado una sensibilidad y especificidad satisfactoria para distinguir entre sujetos sanos y casos de EA (12). Estos marcadores se detectan en momentos diferentes del proceso fisiopatológico de la enfermedad y señalan hitos sucesivos en su progresión, encontrándose alterados desde fases preclínicas (13).

El péptido  $\beta$ -amiloide se une a ciertas proteínas, tales como la albúmina, las inmunoglobulinas y la transtiretina, en distintas proporciones en los distintos fluidos biológicos. La cuantificación de  $\beta$ -amiloide en líquido cefalorraquídeo (LCR) es un biomarcador universalmente aceptado para apoyar el diagnóstico de la enfermedad; sin embargo, los valores de referencia de normalidad/anormalidad no tienen en cuenta la concentración concomitante de proteínas en el LCR ni en la sangre. Tampoco tienen en cuenta variables demográficas básicas, como el sexo y edad del paciente.

### **3. Hipótesis de trabajo/ Objetivos:**

Hipótesis de trabajo: los niveles de  $\beta$ -amiloide en LCR se pueden afectar por otras variables como la concentración concomitante de proteínas en el LCR y/o en la sangre, así como por las variables demográficas sexo y edad.

Objetivo principal: averiguar si existe relación entre la concentración de  $\beta$ -amiloide licuoral y la concentración de proteínas en LCR en una serie de casos a estudio por deterioro cognitivo en el HUCA.

Objetivo secundario 1: averiguar si existe relación entre la concentración de  $\beta$ -amiloide licuoral y la concentración de proteínas en la sangre en una serie de casos a estudio por deterioro cognitivo en el HUCA.

Objetivo secundario 2: averiguar si existe relación entre la concentración de  $\beta$ -amiloide licuoral y las variables demográficas sexo y edad en una serie de casos a estudio por deterioro cognitivo en el HUCA.

### **4. Diseño del estudio:**

#### **Pacientes y métodos**

Este estudio ha sido presentado al Comité de Ética de la Investigación del Principado de Asturias, quien después de revisarlo, ha autorizado la exención del Consentimiento Informado para su realización (T.F.G. nº 2021.097).

Se realizó un estudio retrospectivo y descriptivo sobre pacientes del servicio de neurología del HUCA a los que se les realizó punción lumbar como parte del estudio por sospecha de deterioro cognitivo de entre 50 y 80 años, independientemente del diagnóstico final.

Se revisaron las historias clínicas para recoger las siguientes variables: sexo, edad, A $\beta$ -40 y A $\beta$ -42 en líquido cefalorraquídeo, tau total y tau fosforilada en LCR, proteínas en LCR, proteínas en sangre, albúmina y prealbúmina en sangre. Además, con dichos datos se calculó el índice amiloide (A $\beta$ 1-42/A $\beta$ 1-40) y el cociente de albúmina (albúmina LCR/ albúmina sangre).

### **Análisis estadístico**

Los datos se recogieron inicialmente en una tabla en formato Excel. Todos los análisis han sido llevados a cabo con el software estadístico R en su versión 4.0.3. Se ha llevado a cabo un análisis descriptivo y un análisis de correlación de las variables. Para el análisis descriptivo, se ha calculado n (%) de las variables categóricas y mediana y media de las variables continuas. En el análisis de correlación, para ver las asociaciones entre cada variable dependiente e independiente, se han realizado modelos de regresión lineal. Tanto las variables dependientes como las independientes son parámetros analíticos, a excepción de las demográficas que corresponden a la edad y el sexo:

- Variables dependientes: A $\beta$ -42, índice amiloide, Tau-total y Tau-fosforilada.
- Variables independientes: demográficas (edad, sexo), proteínas en LCR, proteínas en sangre, albúmina y pre-albúmina en sangre, proteínas LCR/Proteínas sangre y proteínas LCR/ albúmina sangre.

### **5. Resultados:**

Inicialmente se seleccionaron 43 sujetos a los que se les había realizado punción lumbar. De ellos, se descartaron 8 casos por no estar accesibles los

resultados a través del sistema informático Millenium, por lo que la muestra final quedó constituida por 35 casos.

A continuación, se muestran los datos del análisis descriptivo numérico de las variables problema (Tabla 2) y los valores numéricos de los modelos univariantes (Tabla 3), donde se indican los estimadores, intervalos de confianza al 95% y los p valores.

Tabla 2: Descriptivo numérico de las variables.

<b>Sexo</b> Hombre: 20 (57.1%) Mujer: 15 (42.9%)	<b>Proteínas_LCR</b> Mean (SD): 39.9 (14.3) Median [Q1, Q3]: 39.0 [29.8, 46.0] Missing: 3 (8.6%)
<b>Edad</b> Mean (SD): 67.9 (7.33) Median [Q1, Q3]: 69.0 [64.5, 73.5]	<b>Proteínas_sangre</b> Mean (SD): 68.9 (7.07) Median [Q1, Q3]: 70.5 [66.0, 73.0] Missing: 21 (60.0%)
<b>A<math>\beta</math>_42</b> Mean (SD): 578 (300) Median [Q1, Q3]: 478 [349, 789]	<b>Albúmina_sangre</b> Mean (SD): 42.6 (5.15) Median [Q1, Q3]: 42.5 [41.3, 43.7] Missing: 25 (71.4%)
<b>Índice amiloide</b> Mean (SD): 0.0601 (0.0292) Median [Q1, Q3]: 0.0490 [0.0380, 0.0700] Missing: 22 (62.9%)	<b>Pre-albúmina_sangre</b> Mean (SD): 23.1 (4.96) Median [Q1, Q3]: 22.0 [20.0, 26.0] Missing: 26 (74.3%)
<b>Tau total</b> Mean (SD): 479 (358) Median [Q1, Q3]: 421 [186, 754]	<b>Proteína_LCR/Proteína_sangre</b> Mean (SD): 0.599 (0.247) Median [Q1, Q3]: 0.630 [0.426, 0.690] Missing: 24 (68.6%)
<b>Tau fosforilada</b> Mean (SD): 79.2 (58.0) Median [Q1, Q3]: 69.0 [31.0, 111]	<b>Proteína_LCR/Albúmina_sangre</b> Mean (SD): 0.911 (0.307) Median [Q1, Q3]: 0.831 [0.734, 1.11] Missing: 27 (77.1%)

Tabla 3: Valores numéricos de los modelos univariantes.

<b>β-Amiloide 42</b>					
<i>Predictors</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Observaciones</i>	
Sexo [Mujer]	0.01	-0.33 – 0.35	0.965	35	
Edad	0.00	-0.02 – 0.03	0.850	35	
Proteínas LCR	-0.00	-0.01 – 0.01	0.798	32	
Proteínas sangre	-0.00	-0.04 – 0.03	0.783	14	
Albúmina sangre	0.01	-0.06 – 0.07	0.849	10	
Pre-Albúmina sangre	0.04	-0.01 – 0.09	0.182	9	
Proteínas LCR / proteínas sangre	0.65	-0.17 – 1.47	0.157	11	
Proteínas LCR / albúmina sangre	0.34	-0.88 – 1.55	0.606	8	
<b>Índice Amiloide</b>					
<i>Predictors</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Observaciones</i>	
Sexo [Mujer]	-0.54	-0.94 – -0.15	<b>0.021</b>	13	
Edad	-0.02	-0.05 – 0.01	0.312	13	
Proteínas LCR	0.01	-0.00 – 0.03	0.178	12	
Proteínas sangre	-0.03	-0.12 – 0.07	0.647	4	
Albúmina sangre	-0.01	-0.13 – 0.12	0.930	4	
Pre-Albúmina sangre	0.05	-0.04 – 0.14	0.404	4	
Proteínas LCR / proteínas sangre	1.21	-0.34 – 2.76	0.368	3	
Proteínas LCR / albúmina sangre	1.99	-2.51 – 6.48	0.546	3	
<b>Tau total</b>					
<i>Predictors</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Observaciones</i>	
Sexo [Mujer]	0.37	-0.18 – 0.91	0.194	35	
Edad	0.00	-0.04 – 0.04	0.958	35	
Proteínas LCR	0.00	-0.02 – 0.02	0.928	32	
Proteínas sangre	0.05	-0.01 – 0.10	0.154	14	
Albúmina sangre	0.05	-0.06 – 0.15	0.423	10	
Pre-Albúmina sangre	-0.01	-0.12 – 0.10	0.887	9	
Proteínas LCR / proteínas sangre	-1.15	-2.58 – 0.29	0.151	11	
Proteínas LCR / albúmina sangre	-0.55	-2.21 – 1.11	0.538	8	
<b>Tau fosforilada</b>					
<i>Predictors</i>	<i>Estimates</i>	<i>CI</i>	<i>p</i>	<i>Observaciones</i>	
Sexo [Mujer]	0.36	-0.17 – 0.88	0.190	35	
Edad	0.01	-0.02 – 0.05	0.522	35	
Proteínas LCR	-0.00	-0.02 – 0.02	0.855	32	
Proteínas sangre	0.04	-0.02 – 0.09	0.229	14	
Albúmina sangre	0.05	-0.05 – 0.14	0.341	10	
Pre-Albúmina sangre	0.00	-0.12 – 0.13	0.960	9	
Proteínas LCR / proteínas sangre	-0.99	-2.61 – 0.63	0.261	11	
Proteínas LCR / albúmina sangre	-0.45	-2.23 – 1.33	0.639	8	

Los siguientes gráficos muestran las asociaciones entre el  $\beta$ -amiloide y las proteínas tanto en LCR como en sangre, en los que no se aprecia una relación estadísticamente significativa:

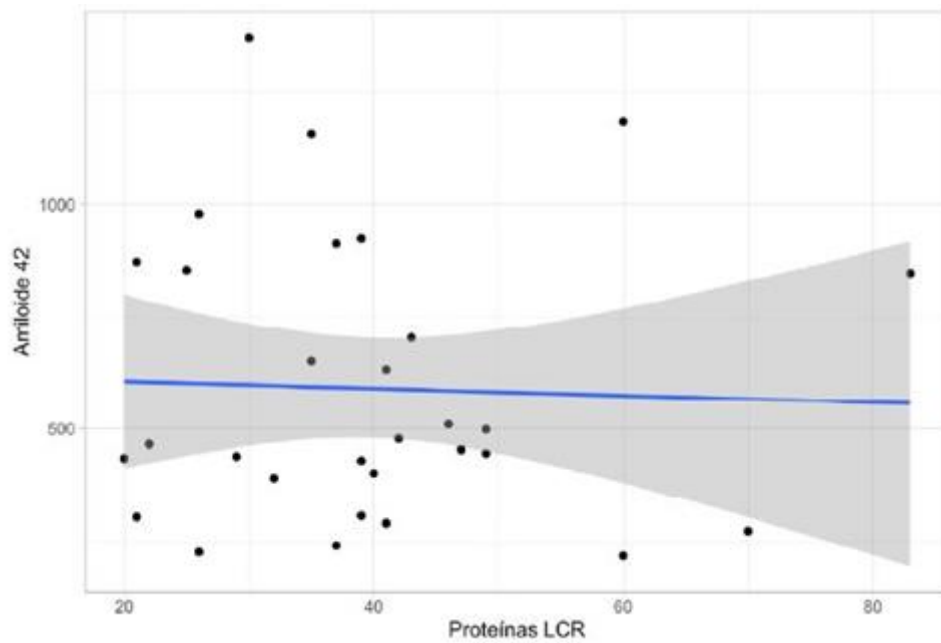


Figura 4: Gráfico regresión lineal entre el  $\beta$ -amiloide y proteínas LCR.

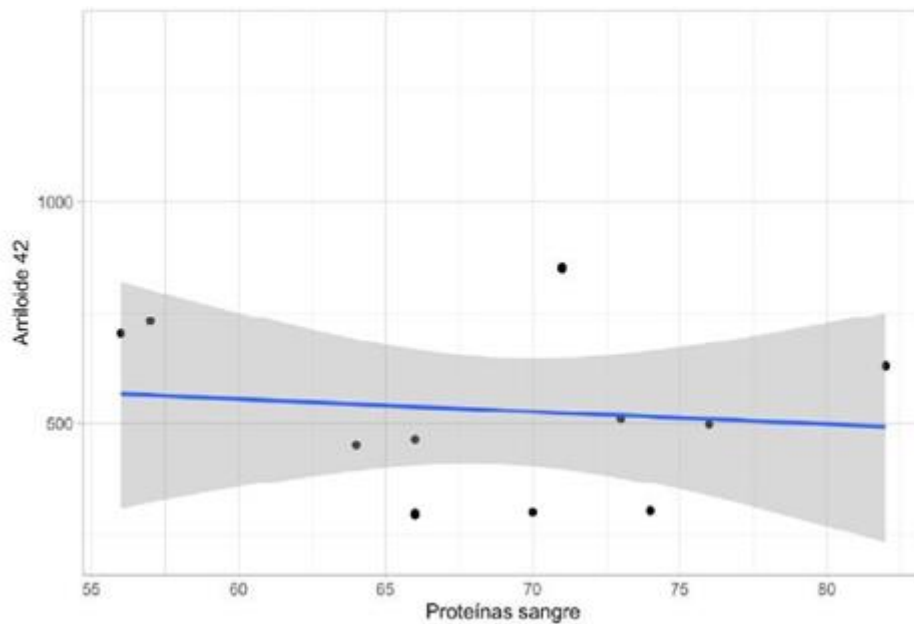


Figura 5: Gráfico regresión lineal entre el  $\beta$ -amiloide y proteínas sangre.

También se representa las relaciones entre el  $\beta$ -amiloide y las variables demográficas (edad y sexo), sin obtener tampoco una relación significativa:

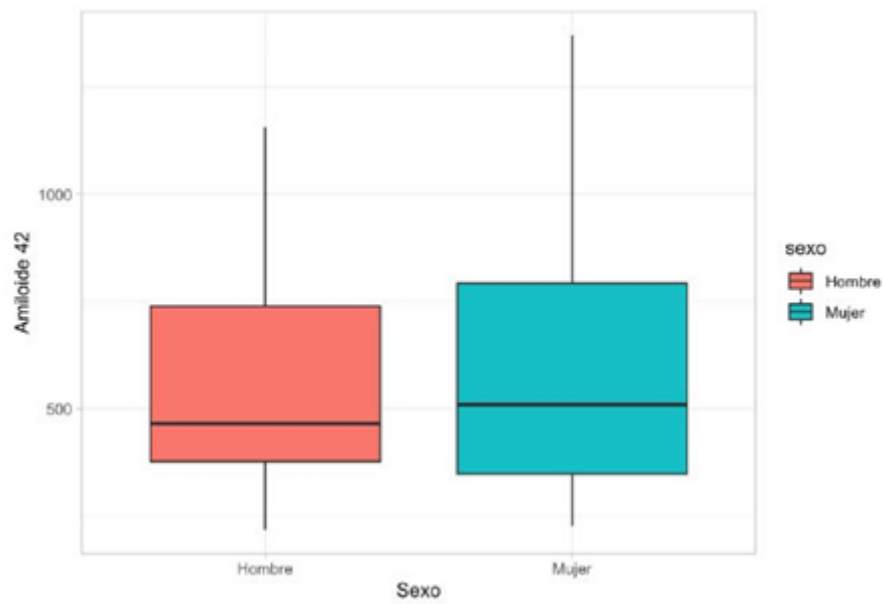


Figura 6: Diagrama de caja del  $\beta$ -amiloide y sexo.

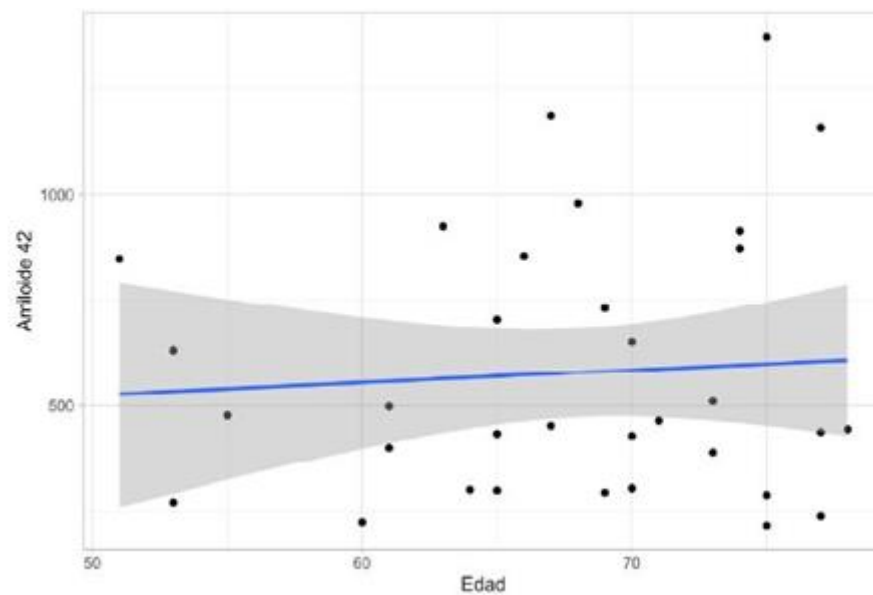


Figura 7: Gráfico regresión lineal entre el  $\beta$ -amiloide y la edad.

Si nos fijamos en el índice amiloide y su relación con las proteínas en el LCR, no se encuentran relaciones estadísticas llamativas; sin embargo sí se obtiene una relación estadísticamente significativa entre el índice amiloide y el sexo, siendo este menor en mujeres que en hombres ( $p = 0.021$ ):

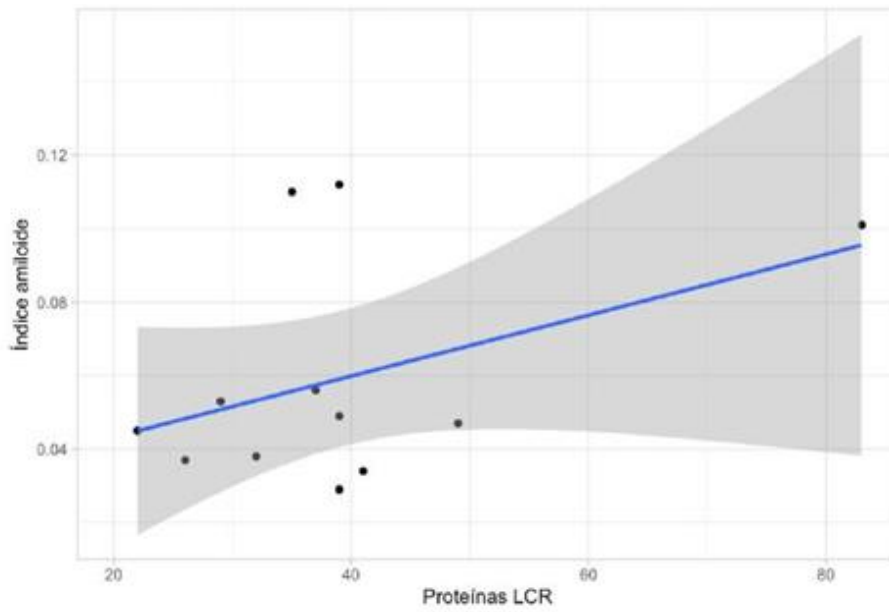


Figura 8: Gráfico regresión lineal entre el Índice amiloide y proteínas LCR.

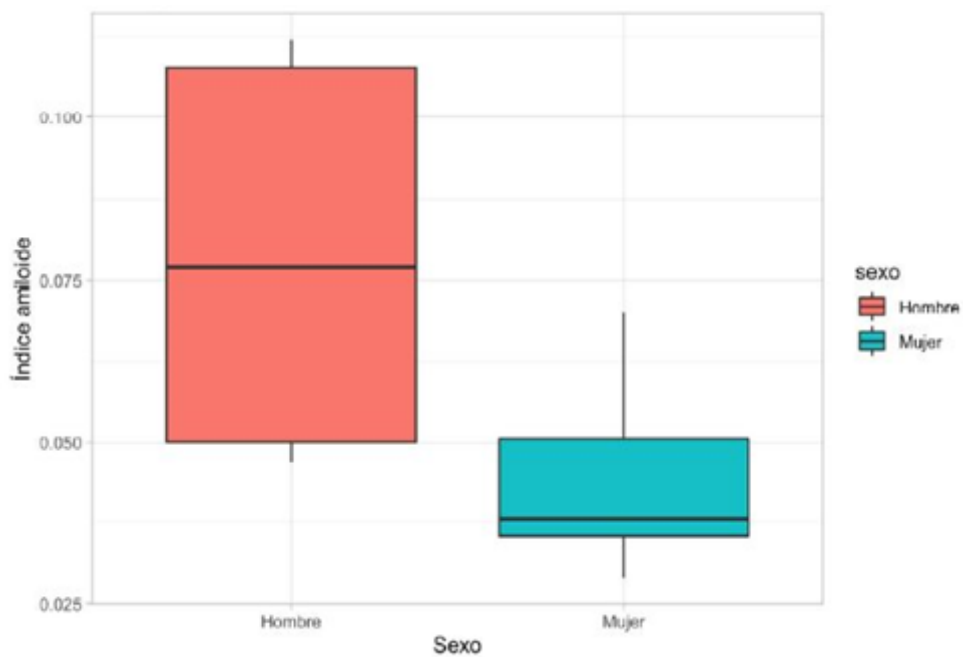


Figura 9: Diagrama de caja del índice amiloide y el sexo.



## **6. Discusión de los resultados:**

La naturaleza altamente hidrofóbica del  $\beta$ -amiloide favorece su oligomerización e interacción con muchas proteínas, como por ejemplo la albúmina. En relación con este hecho, hay estudios que sugieren que aproximadamente el 90% del  $\beta$ -amiloide presente en el plasma se encuentra unido a proteínas y por tanto sólo una pequeña parte de este péptido se encontraría libre en el plasma (14).

Estos procesos de unión a proteínas ocurren no sólo en el plasma, sino también en el sistema nervioso central, aunque la concentración de albúmina en el líquido cefalorraquídeo sea mucho menor que en el plasma (15). Sin embargo, es importante señalar que en la enfermedad de Alzheimer los niveles cerebrales de albúmina se encuentran incrementados, ya sea debido a defectos en la barrera hematoencefálica o a un aumento en la producción de albúmina por parte de las células gliales (16). Por este motivo, y porque la información proporcionada por los laboratorios que fabrican los métodos de medición no especifica si miden amiloide libre o amiloide total, resulta importante dilucidar si la concentración proteica en sangre y LCR podría influir sobre la concentración de beta-amiloide. Del mismo modo, es necesario conocer si la concentración de  $\beta$ -amiloide podría depender de las variables demográficas principales: sexo y edad.

En nuestro estudio no hallamos asociaciones entre el  $\beta$ -amiloide y las proteínas tanto en LCR como en sangre. Y tampoco hemos visto que exista una influencia de la edad en el resto de los marcadores estudiados. Hay que tener en cuenta que el pequeño tamaño de la muestra con la que trabajamos puede limitar la aparición de relaciones estadísticas entre las variables a estudio.

Sin embargo, sí encontramos una relación significativa entre el índice amiloide y el sexo, siendo menor en las mujeres. Este parámetro actualmente se utiliza como referencia para valorar si existe amiloidosis cerebral.

Recientemente se ha publicado un artículo en el que se analizaban las posibles diferencias entre los biomarcadores neurodegenerativos del LCR y la integridad de la barrera hematoencefálica respecto al sexo. En dicho estudio se identificaron en los hombres, niveles más altos de  $Q_{A\beta}$  (Cociente albúmina), que es un marcador de integridad de la BHE; y niveles más altos de proteínas ligeras de neurofilamento (NFL), un marcador de neurodegeneración. Actualmente, los rangos de referencia para ambos valores del  $Q_{A\beta}$  y NFL se ajustan comúnmente por edad, pero no se aplica ningún ajuste por sexo (17), por lo que se trata de un aspecto de gran relevancia clínica que debería ser revisado.

## **7. Conclusiones:**

1. No existe relación entre la concentración de  $\beta$ -amiloide licuoral y la concentración de proteínas, tanto en LCR como en sangre.
2. No existe relación entre la concentración de  $\beta$ -amiloide licuoral y la edad de los pacientes.
3. Existe relación estadísticamente significativa entre el índice de  $\beta$ -amiloide licuoral y el sexo, siendo el índice amiloide menor en mujeres que en hombres.
4. Son necesarios estudios más amplios para confirmar estos hallazgos.
5. En caso de confirmarse, podría ser necesario establecer puntos de corte específicos para el índice licuoral de  $\beta$ -amiloide en hombres y en mujeres.

## 8. Bibliografía:

1. Glenner GG, Wong CW. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984 May 16;120(3):885-90. doi: 10.1016/s0006-291x(84)80190-4. PMID: 6375662.
2. Hardy JA, Higgins GA. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science.* 1992 Apr 10;256(5054):184-5. doi: 10.1126/science.1566067. PMID: 1566067.
3. Shoji M, Golde TE, Ghiso J, Cheung TT, Estus S, Shaffer LM, et al. Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing. *Science.* 1992 Oct 2;258(5079):126-9. doi: 10.1126/science.1439760. PMID: 1439760.
4. Roher AE, Esh CL, Kokjohn TA, Castaño EM, Van Vickle GD, Kalback WM, et al. Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and their significance for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2009 Jan;5(1):18-29. doi: 10.1016/j.jalz.2008.10.004. PMID: 19118806; PMCID: PMC2663406.
5. Menendez-Gonzalez M, Padilla-Zambrano HS, Alvarez G, Capetillo-Zarate E, Tomas-Zapico C. and Costa A (2018) Targeting Beta-Amyloid at the CSF: A New Therapeutic Strategy in Alzheimer's Disease. *Front. Aging Neurosci.* 10:100. doi: 10.3389/fnagi.2018.00100.
6. Burgmans S, van de Haar HJ, Verhey FR, Backes WH. Amyloid- $\beta$  interacts with blood-brain barrier function in dementia: a systematic review. *J*

Alzheimers Dis. 2013;35(4):859-73. doi: 10.3233/JAD-122155. PMID: 23542866.

7. Martínez C, Llombart I. Recomendaciones para el estudio de las proteínas del líquido cefalorraquídeo. QUÍMICA CLÍNICA 2002; 21 (2) 83-90.

8. Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, Mizusawa H, Nukina N, Ihara Y. Visualization of A beta 42(43) and A beta 40 in senile plaques with end-specific A beta monoclonals: evidence that an initially deposited species is A beta 42(43). Neuron. 1994 Jul;13(1):45-53. doi: 10.1016/0896-6273(94)90458-8. PMID: 8043280.

9. Buerger K, Ewers M, Pirttilä T, Zinkowski R, Alafuzoff I, Teipel SJ, et al. CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. Brain. 2006 Nov;129(Pt 11):3035-41. doi: 10.1093/brain/awl269. Epub 2006 Sep 29. PMID: 17012293.

10. Galasko D, Chang L, Motter R, Clark CM, Kaye J, Knopman D, et al. High cerebrospinal fluid tau and low amyloid beta42 levels in the clinical diagnosis of Alzheimer disease and relation to apolipoprotein E genotype. Arch Neurol. 1998 Jul;55(7):937-45. doi: 10.1001/archneur.55.7.937. PMID: 9678311.

11. Ribas G, Rubio I, López-Sendón JL, et al. (2011). Sensibilidad de biomarcadores en el líquido cefalorraquídeo en enfermedades neurodegenerativas. Alzheimer. Realidades e investigación en demencia. 10.5538/1137-1242.2011.49.26.

12. Engelborghs S, De Vreese K, Van de Castele T, Vanderstichele H, Van Everbroeck B, et al. Diagnostic performance of a CSF-biomarker panel in autopsy-confirmed dementia. *Neurobiol Aging*. 2008 Aug;29(8):1143-59. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2007.02.016. Epub 2007 Apr 10. PMID: 17428581.
13. López, J.A, Agüera, F.O. (2015). "Nuevos criterios diagnósticos de la demencia y la enfermedad de Alzheimer: una visión desde la psicogeriatría". *Psicogeriatría*: 5 (1): 3-14.
14. Biere AL, Ostaszewski B, Stimson ER, Hyman BT, Maggio JE, Selkoe DJ. Amyloid beta-peptide is transported on lipoproteins and albumin in human plasma. *J Biol Chem*. 1996 Dec 20;271(51):32916-22. doi: 10.1074/jbc.271.51.32916. PMID: 8955133.
15. Stanyon HF, Viles JH. Human serum albumin can regulate amyloid- $\beta$  peptide fiber growth in the brain interstitium: implications for Alzheimer disease. *J Biol Chem*. 2012 Aug 10;287(33):28163-8. doi: 10.1074/jbc.C112.360800. Epub 2012 Jun 20. PMID: 22718756; PMCID: PMC3431649.
16. Erickson MA, Banks WA. Blood-brain barrier dysfunction as a cause and consequence of Alzheimer's disease. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013 Oct;33(10):1500-13. doi: 10.1038/jcbfm.2013.135. Epub 2013 Aug 7. PMID: 23921899; PMCID: PMC3790938.

17. Skillbäck, T, Blennow, K, Zetterberg, H, et al. Sex differences in CSF biomarkers for neurodegeneration and blood-brain barrier integrity. *Alzheimer's Dement.* 2021; 13: e12141. <https://doi.org/10.1002/dad2.12141>.

## 9. Anexos:

### Autorización del Comité de Ética:

GOBIERNO DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS	Comité de Ética de la Investigación del Principado de Asturias
CONSEJERÍA DE SALUD	Hospital Universitario Central de Asturias
Dirección General de Calidad, Transformación y Gestión del Conocimiento	N-1, S3.19 Avda. de Roma, s/n 33011 Oviedo Tfno: 9851079 27 (ext. 37927/38026), ceim.asturias@asturias.org

Oviedo, 10 de febrero de 2021

El Comité de Ética de la Investigación del Principado de Asturias, ha revisado el Proyecto de Investigación (Trabajo Fin de Grado) T.F.G. nº 2021.097, titulado "Influencia de la concentración de proteínas en LCR en la cuantificación de -amiloide como biomarcador de Enfermedad de Alzheimer", Investigador Principal Manuel Menéndez González, Hospital Universitario Central de Asturias.

El Comité ha tomado el acuerdo de considerar que el citado proyecto reúne las condiciones éticas necesarias para poder realizarse y en consecuencia emite su autorización.

Se acepta la exención del Consentimiento Informado.

"Se recuerda la limitación al acceso a la historia clínica por los estudiantes, cuando los pacientes no hayan dado su consentimiento."

Le recuerdo que deberá guardarse la máxima confidencialidad de los datos utilizados en este proyecto.