

Aus dem Zentrum für Neurologie und Psychiatrie
der Universität zu Köln
Klinik und Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. F. Jessen

Zusammenhang von Plasma-Biomarkern mit klinischen Diagnosen bei Patient*innen einer Gedächtnisambulanz

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Michelle Gerards
aus Aachen

promoviert am 11. April 2024

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink

1. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. F. Jessen
2. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. rer. nat. R. Wiesner

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/ eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die Entwicklung der Fragestellung und Festlegung der Untersuchungsparameter sind von mir mit Unterstützung von Herrn. Prof. Dr. Frank Jessen und Frau Dr. Ann-Katrin-Schild durchgeführt worden. Die dieser Arbeit zugrundeliegende statistische Auswertung wurden von mir selbst ausgeführt und die zugrundeliegenden Daten wurden mit meiner Mitarbeit in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Uniklinik Köln ermittelt.

Die dieser Arbeit zugrundeliegenden Messergebnisse wurden ohne meine Mitarbeit im Clinical Neurochemistry Laboratory am Institute of Neuroscience and Physiology der Sahlgrenska Academy an der Universität Göteborg erhoben.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 04.12.2023

Unterschrift:

Danksagung

Mein Dank gilt folgenden Personen, die mich auf meinem Weg unterstützt und mein Interesse für wissenschaftliches Arbeiten geprägt haben. Besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Frank Jessen und Frau Dr. Ann-Katrin Schild für die Einführung in dieses Forschungsgebiet und die Unterstützung während der Erarbeitung meiner Dissertation. Ihre konstruktive Kritik und Ihr Engagement haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Außerdem möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich während der gesamten Zeit moralisch unterstützt und auf meinem Weg begleitet haben. Ich möchte meinem Partner Colin Busch danken, der mich begleitet und bedingungslos unterstützt hat. Danken möchte ich außerdem meinen Freund*innen, insbesondere Alina Nießen, Anne Cremer und Ronja Jung, die mir in schwierigen Zeiten beigestanden und mir Mut und Kraft gegeben haben. Zuletzt möchte ich meiner Mitstudentin und guten Freundin Jasmin Kleingans danken, die mich mit der Arbeitsgruppe bekannt gemacht und in meiner gesamten Studienzzeit begleitet hat.

Diese Arbeit ist meinem Vater gewidmet, der immer an mich geglaubt und mich unterstützt hat. Leider konnte er das Ende meines Studiums und die Fertigstellung dieser Arbeit nicht mehr miterleben.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	7
1 ZUSAMMENFASSUNG	8
2 EINLEITUNG	10
2.1 Alzheimer-Krankheit	10
2.1.1 Bedeutung für die Bevölkerung und das Gesundheitssystem	10
2.1.2 Demenzkriterien und neuropathologische Merkmale der Alzheimer-Krankheit	10
2.1.3 Risikostadien: Subjektive kognitive Störung und leichte kognitive Störung	11
2.1.4 Aktuelle Therapiemöglichkeiten	12
2.2 Diagnostik der Alzheimer-Krankheit	13
2.2.1 Aktueller Standard der Diagnostik in Gedächtnisambulanzen	13
2.2.2 Weiterentwicklung und Frühdiagnostik	14
2.2.3 Herausforderungen bei der Bestimmung von Plasma-Biomarkern	15
2.3 Biomarker	16
2.3.1 Amyloid: Amyloid-beta40 und Amyloid-beta42	16
2.3.2 Tau: Phosphoryliertes-Tau und Total-Tau	17
2.3.3 Neurofilament Light	18
2.4 Fragestellung und Zielsetzung	18
3 PUBLIKATION: ALZHEIMER'S DISEASE PLASMA BIOMARKERS DISTINGUISH CLINICAL DIAGNOSTIC GROUPS IN MEMORY CLINIC PATIENTS, GERARDS ET AL., 2022	20
4 DISKUSSION	31
4.1 Diagnostische Leistung der Amyloid-Biomarker im Plasma	31
4.2 Diagnostische Leistung der Tau-Biomarker im Plasma	33
4.3 Diagnostische Leistung des Biomarkers Neurofilament Light im Plasma	35

4.4	Limitationen der vorliegenden Arbeit	36
4.5	Stärken der vorliegenden Arbeit	38
4.6	Ausblick	38
5	LITERATURVERZEICHNIS	40
6	VORABVERÖFFENTLICHUNG VON ERGEBNISSEN	53

Abkürzungsverzeichnis

AD *Alzheimer Krankheit, Alzheimer's disease*
Amyloid-PET *Amyloid-Positronen-Emissions-Tomographie*
A β *Amyloid-beta*
A β 40 *Amyloid-beta40*
A β 42 *Amyloid-beta42*
ATN *Amyloid-Tau-Neurodegeneration*
AUC *Fläche unter der Kurve; Area under the Curve*
DAT *Klinisches Alzheimer-Demenz-Syndrom; Dementia of Alzheimer's type*
ICD *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*
MCI *Leichte kognitive Störung; Mild Cognitive Impairment*
NFL *Neurofilament Light, Neurofilament Light*
Patient*in *Patient und Patientin*
Patient*innen *Patienten und Patientinnen*
PTau *Phosphoryliertes-Tau-Protein*
PTau181 *Phosphoryliertes-Tau-Protein181*
SCD *Subjektive kognitive Störung; Subjective Cognitive Decline*
Simoa *Single Molecule Array*
TTau *Total-Tau-Protein*

1 Zusammenfassung

Die Alzheimer-Krankheit (Alzheimer's disease [AD]) ist die häufigste Ursache einer altersbedingten Demenz und eine Herausforderung unserer Zeit^{1,2}. Mit der Entwicklung von neuen kausalen Therapieansätzen zur Behandlung der AD werden Screeningtests, die überall verfügbar und günstig sind, bedeutender, um Patienten und Patientinnen (Patient*innen) in prodromalen Stadien frühzeitig identifizieren zu können^{3,4}. Dabei sind Plasma-Biomarker Zeit und Kosten sparend, minimal invasiv und werden von Patient*innen gut toleriert^{5,6}. Mehrere Studien haben gezeigt, dass Biomarker aus dem Blut auch in frühen Stadien geeignet sind, um eine AD zu erkennen^{7,8}, es werden jedoch noch Daten aus der klinischen Praxis in Gedächtnisambulanzen benötigt, um den klinischen Nutzen abschätzen zu können.

Ziel dieser Studie war es, zu prüfen, ob die Plasma-Biomarker Amyloid-beta42 (A β 42), Amyloid-beta40 (A β 40), Phosphoryliertes-Tau-Protein181 (pTau181), Total-Tau-Protein (tTau) und Neurofilament Light (NFL) die diagnostischen Gruppen klinisches Alzheimer-Demenz-Syndrom (Dementia of Alzheimer's type [DAT]), leichte kognitiver Störung (Mild Cognitive Impairment [MCI]) und subjektive kognitiver Störung (Subjective Cognitive Decline [SCD]) in einer routinemäßigen Gedächtnisambulanz außerhalb eines hoch standardisierten Forschungsrahmens unterscheiden können.

Dazu wurden Plasmaproben von 144 Patient*innen aus der Gedächtnisambulanz der Uniklinik Köln untersucht. Die Plasma-Biomarker wurden mittels einer ultrasensitiven Single Molecule Array (Simoa) Immunoassay Technologie gemessen. Die statistische Analyse umfasste u.a. den Kruskal-Wallis-Test, lineare Regression und Receiver-Operating-Characteristics-Analysen.

Von den Plasma-Biomarkern zeigten pTau181 ($H(2)=34,43$, $p<0,001$) und NFL ($H(2)=27,66$, $p<0,001$) statistisch signifikante Gruppeneffekte. Patient*innen mit DAT zeigten dabei höhere Plasmawerte als Patient*innen mit MCI und SCD. Darüber hinaus zeigten die Ratios A β 42/A β 40 ($H(2)=7,50$, $p=0,02$) und pTau181/A β 42 ($H(2)=25,26$, $p<0,001$) signifikante Gruppeneffekte. PTau181 zeigte die höchste Fläche unter der Kurve (Area under the Curve [AUC]) zur Differenzierung der verschiedenen diagnostischen Gruppen.

Die mit der Simoa-Technologie analysierten Plasma-Biomarker konnten in einem Studienkollektiv einer Gedächtnisambulanz außerhalb spezifischer Forschungsbedingungen zwischen verschiedenen Diagnosegruppen unterscheiden. Die Ratio A β 42/A β 40 erlaubte eine signifikante Unterscheidung zwischen SCD und DAT. PTau181 unterschied zwischen allen Gruppen und zeigte höhere Werte in fortgeschritteneren Stadien der kognitiven Beeinträchtigung. Diese Ergebnisse stimmen mit früheren Ergebnissen überein, die zeigen, dass pTau181

bei Patient*innen mit DAT erhöht ist, aber auch zwischen verschiedenen frühen Stadien der Krankheit unterscheiden kann^{8,9}. Es konnte auch bestätigt werden, dass pTau181/A β 42 zwischen Gruppen unterscheidet, wobei keine Überlegenheit gegenüber pTau181 festgestellt werden konnte. Im Gegensatz zu pTau181 konnte NFL nicht zwischen SCD und MCI unterscheiden.

Die Limitationen dieser Studie ergeben sich vor allem aus dem versorgungsnahen Studiendesign. Aufgrund von fehlender Empfehlung zu einer Bestimmung von Liquor-Biomarkern bei SCD und eingeschränkter Empfehlung bei MCI, konnten diese als Validierung nicht in die Analyse aufgenommen werden. Eine gesunde Kontrollgruppe fehlte, da die Stichprobe auf Patient*innen der Gedächtnisambulanz begrenzt war. Außerdem wurde die Simoa-Technologie bislang nur in der Forschung eingesetzt und nicht in der klinischen Praxis. Zwar führt das versorgungsnah Design zu Limitationen, jedoch ergeben sich hieraus auch Stärken. Alle Patient*innen die sich in der klinischen Routine mit SCD, MCI und DAT vorstellten, konnten in die Studie aufgenommen werden. Es gab keine studienspezifischen Ein- oder Ausschlusskriterien.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass Plasma pTau181 und NFL sowie die Ratios A β 42/A β 40 und pTau181/A β 42 ausreichend robust sind, um diagnostische Gruppen mit begrenzter Stichprobengröße in einer Gedächtnisambulanz zu unterscheiden. In Übereinstimmung mit jüngsten Studien erwies sich pTau181 als der vielversprechendste Biomarker. Dies lässt auf einen potenziellen klinischen Nutzen in frühen symptomatischen Stadien schließen. Die Einführung von Plasma-Biomarkern in die klinische Praxis in Gedächtnisambulanzen und möglicherweise sogar in nicht spezialisierten und allgemeinmedizinischen Einrichtungen wird die Zugänglichkeit zu Biomarker basierter Diagnostik erheblich verbessern.

2 Einleitung

2.1 Alzheimer-Krankheit

2.1.1 Bedeutung für die Bevölkerung und das Gesundheitssystem

Die Alzheimer-Krankheit (Alzheimer's disease [AD]) ist die häufigste Ursache einer altersbedingten Demenz und eine der führenden Erkrankungen unserer Zeit. Die Belastung für die Gesundheitssysteme ist groß und stellt zunehmend eine weltweite Herausforderung dar^{1,2}.

Im Jahr 2021 lebten in Deutschland 1,8 Millionen Menschen mit einer Demenz.¹⁰ Im Jahr 2016 waren es noch 1,6 Millionen Menschen². Weltweit waren 2016 circa 44 Millionen Menschen erkrankt¹¹. Schätzungen zufolge könnte diese Zahl in Deutschland im Jahr 2050 auf bis zu 2,8 Millionen und weltweit auf 139 Millionen steigen. Nicht zuletzt beruht diese Entwicklung auf einer zunehmenden demografischen Alterung der Bevölkerung¹⁰.

Das klinische Alzheimer-Demenz-Syndrom (Dementia of Alzheimer's type [DAT]) erzeugt immense ökonomische, medizinische sowie soziale Kosten.¹² Dabei steigen die Kosten pro Patient und Patientin (Patient*in) mit zunehmender Progression der Erkrankung stark an. Zum Beispiel liegen die durchschnittlichen Kosten der medizinischen Behandlung und Pflege für Patienten und Patientinnen (Patient*innen) mit leichter DAT in Deutschland bei ca. 1600 Euro pro Monat, bei Patient*innen mit schwerer DAT bei über 5000 Euro pro Monat¹³.

2.1.2 Demenzkriterien und neuropathologische Merkmale der Alzheimer-Krankheit

Die Syndrom-Definition Demenz erfolgt in Deutschland aktuell nach den Kriterien des International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems (ICD) 10. Die Diagnosestellung der DAT beruht auf der Erfüllung der allgemeinen Demenzkriterien sowie der spezifischen Kriterien für eine DAT der National Institute on Aging and Alzheimer's Association. Zu den allgemeinen Kriterien einer Demenz gehört die Beeinträchtigung der Funktion der Alltagsaktivitäten, eine Verschlechterung des Zustandes im Zeitverlauf, ein objektivierbarer Nachweis der kognitiven Verschlechterung durch neuropsychologische Testung und die Beeinträchtigung von mindestens zwei der folgenden Bereiche: Gedächtnisfunktionen, Verstehen und Durchführung komplexer Aufgaben/ Urteilsfähigkeit, räumlich-visuelle Funktionen,

Sprachfunktionen oder Persönlichkeitsveränderungen. Zu den spezifischen Kriterien einer DAT gehört zusätzlich ein langsamer Symptombeginn über Monate bis Jahre. Dabei sind erste und deutliche Symptome ein Defizit der episodischen Gedächtnisfunktionen kombiniert mit einem Defizit in einer weiteren der oben genannten Domänen bei der anamnestischen Variante. Non-anamnestische Varianten können sprachbezogen, visuell-räumlich oder exekutiv sein. Dabei müssen mögliche andere Ursachen einer Demenz ausgeschlossen sein.¹⁴

Die AD ist neuropathologisch durch die Ablagerung von Tau-Fibrillen und Beta-Amyloid-Plaques charakterisiert¹⁵⁻¹⁷. Es gibt Hinweise darauf, dass pathologische Prozesse mehr als zwei Jahrzehnte vor Symptombeginn einsetzen. In diesem frühen Stadium zeigen sich zuerst Amyloid-Plaques, dann Tau Ablagerungen, gefolgt von einer Abnahme des kortikalen Metabolismus 10-15 Jahre vor Symptombeginn. Nachfolgend tritt eine Hirnatrophie bereits 5-10 Jahre vor Symptombeginn auf.^{18,19}

In dem von der National Institute on Aging and Alzheimer's Association entwickelten Forschungsrahmen ist die AD anhand der zugrundeliegenden pathophysiologischen Prozesse, die entweder postmortem in einer Autopsie oder in vivo anhand von Biomarkern dokumentiert werden können, definiert. Biomarker werden in Marker für Beta-Amyloid (A β) Ablagerungen, pathologisches Tau und Neurodegeneration unterteilt. Damit teilt die Amyloid-Tau-Neurodegeneration(ATN)-Klassifikation die verschiedenen Biomarker anhand des zugrundeliegenden pathologischen Prozesses, der von diesen gemessen wird, ein.²⁰

Biomarker stellen objektive diagnostische Richtwerte dar, welche genau gemessen werden können und reproduzierbar sind. Sie sind abzugrenzen von klinischen Symptomen, welche subjektiv durch Patient*innen angegeben und im Rahmen von neuropsychologischen Testungen objektiviert werden können.²¹

2.1.3 Risikostadien: Subjektive kognitive Störung und leichte kognitive Störung

Zu den Risikostadien einer DAT gehören die subjektive kognitive Störung (Subjective Cognitive Decline [SCD]) und die leichte kognitive Störung (Mild Cognitive Impairment [MCI]).

Bei der SCD handelt es sich um eine durch die Patient*innen subjektiv wahrgenommene Verschlechterung der kognitiven Leistungsfähigkeit ohne objektivierbare Nachweise bei altersentsprechend unauffälliger neuropsychologischer Testung. SCD tritt im späten präklinischen Stadium der AD auf, das kürzlich in Übereinstimmung mit den Kriterien der US National Institute on Aging-Alzheimer's Association als Stadium 2 der AD bezeichnet wurde²². Auch wenn die Ursachen einer SCD heterogen sein können, stellt die SCD einen Risikofaktor für eine zukünftige kognitive Verschlechterung und die Entwicklung einer MCI und einer DAT

dar²². Bei den SCD-Fällen, die zu einer Demenz fortschreiten, ist die DAT die häufigste Form, aber auch andere Demenzformen treten auf²³. Mögliche Ursachen einer SCD können neben einer Neurodegeneration kognitive Symptome im Rahmen anderer Erkrankungen oder Medikamentennebenwirkungen, aber auch Erschöpfungszustände sein²⁴. Differentialdiagnostisch kann eine subjektive Verschlechterung der Kognition auch im Rahmen von Depressionen und Angststörungen auftreten. Darüber hinaus wurde in einer kürzlich durchgeführten Meta-Analyse gezeigt, dass der Anteil der SCD-Fälle mit Amyloid-Pathologie in den einzelnen Stichproben je nach spezifischen Rekrutierungskriterien und -bedingungen erheblich variiert²⁵.

Im Gegensatz zu SCD ist bei MCI typischerweise neben einer subjektiv wahrgenommenen Verschlechterung auch eine objektivierbare kognitive Störung bei erhaltener Alltagskompetenz vorhanden¹⁴. Auch MCI ist ein heterogenes Syndrom, das durch andere Erkrankungen ausgelöst werden kann²⁶. MCI mit dem Hauptsymptom Gedächtnisstörung ist jedoch mit einem besonderen Risiko für die Entwicklung einer DAT assoziiert¹⁴. Pathophysiologische Merkmale der AD können schon im Stadium MCI nachgewiesen werden²⁷. Als Abgrenzung zur DAT sind die Aktivitäten des alltäglichen Lebens größtenteils unbeeinträchtigt und damit die Kriterien einer Demenz nicht erfüllt²⁸.

2.1.4 Aktuelle Therapiemöglichkeiten

Momentan sind in Deutschland nur symptomatische Therapien in der Behandlung der AD zugelassen. Kausale Therapieansätze zeigten bislang mäßige Erfolge mit einer leichten Progressionsverzögerung der AD^{29,30}.

In der Entwicklung befinden sich Wirkstoffe, die auf eine Vielzahl von Zielprozessen gerichtet sind. Derzeit laufen ca. 190 Phase 1, 2 und 3 Studien, in denen Medikamente zur Behandlung der AD untersucht werden. Dabei sind krankheitsmodifizierende Therapien mit 79% der in Studien befindlichen Arzneimitteln am häufigsten vertreten³¹.

Eines dieser krankheitsmodifizierenden Medikamente ist der monoklonale Antikörper Lecanemab, der sich gegen A β richtet. Im Gegensatz zu vorherigen Wirkstoffen, konnte in Studien neben der Reduktion des A β auch eine klinische Wirksamkeit und Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf nachgewiesen werden³². Im Januar 2023 erfolgte die Marktzulassung in den Vereinigten Staaten^{33,34}. Die Zulassung in Europa wurde beantragt³⁵.

Auch die Amyloid-Antikörper Aducanumab und Donanemab zeigten dosis- und zeitabhängig bei Patient*innen mit prodromaler oder leichter Alzheimer-Demenz eine Reduktion der A β Last im Gehirn^{36,37}. Donanemab zeigte zudem eine klinische Verlangsamung des kognitiven Abbaus³⁶. Neben den Amyloid-Antikörpern, die 19% der Phase 3 Studien ausmachen,

befinden sich u.a. Wirkstoffe in Phase 3 Studien, die auf die Zielprozesse synaptische Plastizität, oxidativer Stress, Stoffwechsel, Tau und Inflammation einwirken³¹.

Mit der Entwicklung neuer kausaler Therapieansätze zur Behandlung der AD wird der frühe Zeitpunkt der Diagnosestellung für einen Therapieerfolg entscheidend sein³.

2.2 Diagnostik der Alzheimer-Krankheit

2.2.1 Aktueller Standard der Diagnostik in Gedächtnisambulanzen

Gedächtnisambulanzen sind interdisziplinäre Einrichtungen, die sich auf die Diagnostik und Therapie von Gedächtnisstörungen spezialisiert haben. Ziel ist dabei, eine mögliche Demenzerkrankung frühzeitig zu erkennen und diese differentialdiagnostisch von normalen Alterungsprozessen, Stoffwechselstörungen, anderen organischen Erkrankungen und prodromalen Stadien wie der SCD und MCI unterscheiden zu können. Im Anschluss können entsprechende Patient*innen individuell betreut und evidenzbasierten Therapien zugeführt werden.³⁸

In einer spezialisierten Gedächtnisambulanz erfolgt der diagnostische Nachweis der neuropathologischen Merkmale aktuell mit Hilfe von Biomarkern aus dem Liquor^{39,40} oder spezieller radiologischer Bildgebung, wie z.B. der Amyloid-Positronen-Emissions-Tomographie (Amyloid-PET)⁴¹. Nachweislich nehmen Laborwerte im klinischen Alltag eine zentrale Rolle ein und beeinflussen bis zu 70% der klinisch medizinischen Entscheidungen⁴². Auch bei der Diagnostik der AD sind sie von zentraler Bedeutung, da die Präzision der nur anhand von Symptomen und klinischem Erscheinungsbild gestellten Diagnose teils ungenügend ist⁴³.

Zu den Kernbiomarkern im Liquor zählen Amyloid-beta42 (A β 42), Total-Tau-Protein (tTau) und das Phosphorylierte-Tau-Protein (pTau)⁴⁴. Sie reflektieren Schlüsselaspekte der Pathogenese, vor allem neuronale und axonale Degeneration, Phosphorylierung von Tau in Tangles und die Oligomerisierung, Aggregation und Ablagerung der A β 42 Peptide in Plaques⁴⁴. Charakterisierend ist hierbei eine Erhöhung von tTau und pTau bei gleichzeitiger Erniedrigung von A β 42 im Liquor⁴⁵. Die diagnostische Leistung bei zusätzlicher Anwendung der Liquor-Biomarker ist nachweislich besser als bei ausschließlich klinischer Diagnosestellung⁴⁶. Es gibt außerdem Hinweise darauf, dass Liquor A β 42 und Amyloid-PET in symptomatischen Phasen in ihrer Aussagekraft gleichwertig sind^{47,48}, wobei Liquor A β 42 Level schon 5-10 Jahre vor Symptombeginn erniedrigt sind, während Amyloid-PET Befunde noch unauffällig erscheinen⁴⁹.

Neben der Liquorpunktion und der Amyloid-PET kann eine Bestimmung des Genotyps erfolgen. Hierzu ist vor allem das Apolipoprotein E von Bedeutung. Das Apolipoprotein E Gen

kodiert für Apolipoprotein E, ein Glykoprotein, das im Gehirn stark exprimiert wird⁵⁰. Die Bestimmung des Genotyps ist viel mehr für die Risikoeinteilung als für die klinische Diagnosestellung von Bedeutung.

Vor allem die Kombination aus klinischer Symptomatik und Biomarker-Ergebnissen führt schlussendlich zur Diagnosestellung einer Alzheimer-Demenz. Laut den International Working Group-2-Kriterien für Alzheimer-Demenz muss dabei im Hinblick auf die Biomarker mindestens ein Kriterium der Pathologie erfüllt sein: Entweder muss im Liquor A β 42 erniedrigt und tTau bzw. pTau erhöht sein oder ein positiver Amyloid-PET-Befund oder der Nachweis einer Mutation, die zu einer monogen vermittelten AD führt, vorliegen. Darüber hinaus erfordert die Diagnose nach diesen Kriterien eine klinische Symptomatik, zumindest eine leichte kognitive Störung¹⁴.

2.2.2 Weiterentwicklung und Frühdiagnostik

Mit den derzeit verfügbaren diagnostischen Mitteln ist die Diagnosestellung einer AD zwar gut möglich, jedoch bringen diese auch einige deutliche Nachteile mit sich. Eine Lumbalpunktion zur Entnahme des Liquors ist invasiv. Auch wenn das Verfahren heute als relativ sicher anzusehen ist, können seltene Komplikationen auftreten, die von leichtem postpunktionalem Rückenschmerz bis hin zu potentiell schwerwiegender zerebraler Herniation reichen können⁵¹. Ein Amyloid-PET ist teuer und Patient*innen werden Strahlung ausgesetzt. Außerdem ist ein Zugang zu einer Amyloid-PET oft nur in spezialisierten Zentren vorhanden^{52,53}. Im klinischen Alltag werden Lumbalpunktionen und vor allem Amyloid-PET unregelmäßig genutzt⁵⁴. Plasma-Biomarker hingegen sind Zeit und Kosten sparend und damit auch aus ökonomischer Sicht interessant. Blutentnahmen sind einfacher, risikoärmer, weniger invasiv und werden von Patient*innen gut toleriert^{5,6}. Im Rahmen der Basisdiagnostik ist eine laborchemische Blutuntersuchung zum Ausschluss von sekundären Ursachen einer Gedächtnisstörung bereits Teil der Routine in Gedächtnisambulanzen⁵⁵.

Mit der Entwicklung von neuen kausalen Therapieansätzen zur Behandlung der AD und der Annahme, dass für den Erfolg zukünftiger Therapieverfahren vor allem der frühe Zeitpunkt der Diagnosestellung entscheidend ist, werden Screeningtests, die überall verfügbar und günstig sind, bedeutender. So könnten vor allem Patient*innen in prodromalen Stadien frühzeitig erkannt werden und von einer möglichen Behandlung profitieren.^{3,4}

Dabei können Plasma-Biomarker auch für Verlaufsbeobachtungen und Kontrollen von Medikamentenwirksamkeit interessant und hilfreich sein⁶.

2.2.3 Herausforderungen bei der Bestimmung von Plasma-Biomarkern

Im Hinblick auf die Bestimmung von Biomarkern einer AD im Plasma sind die Unterschiede in der Bestimmung von im Gehirn produzierten Proteinen im Liquor und Plasma von besonderer Bedeutung. Über die Blut-Hirn-Schranke findet eine Kommunikation zwischen zentralem und peripherem System statt. Durch den kontinuierlichen und uneingeschränkten Austausch des Liquors mit dem Gehirn sind Biomarker-Konzentrationen im Liquor jedoch erheblich höher als im Blut^{56,57}. Im Gehirn gebildete Proteine müssen, nachdem sie in den Blutkreislauf eingetreten sind, mit einer komplexen Matrix aus vielen verschiedenen Plasmaproteinen, wie z.B. Albumin, Immunglobulin-G und Transferrin, in teilweise über 10-fach höherer Konzentration konkurrieren^{52,58}. Hinzu kommt, dass ein im Gehirn gebildetes Protein dem Stoffwechsel des peripheren Systems unterliegt. Es ist somit wahrscheinlich, dass dieses Protein zum Beispiel durch Proteasen abgebaut, in der Leber metabolisiert und über die Niere ausgeschieden oder durch peripheres Gewebe in bedeutenden Mengen gebildet wird^{52,56}.

Des Weiteren stellen analytische Faktoren einen Unterschied in der Bestimmung von Liquor- und Plasma-Biomarkern dar. Dabei können Störungen durch heterophile Antikörper oder Unterschiede in der Blutgewinnung, Blutabnahme, Verarbeitung und Lagerung einen großen Einfluss auf individuelle Resultate haben⁵². Neben der Schwierigkeit der Messung, stellt die Standardisierung von Schwellenwerten zwischen verschiedenen Laboren und die Replikation von Resultaten ein Problem dar⁵⁹. Diese Unterschiede müssen in der Bestimmung und Etablierung von Plasma-Biomarkern bedacht werden. Darüber hinaus können Plasma-Biomarker bislang gut auf Gruppenebene verschiedene diagnostische Kategorien unterscheiden, während die diagnostische Schärfe noch nicht ausreichend ist⁶⁰. Dies sind unter anderem Gründe dafür, dass es bisher keinen Goldstandard in der Bestimmung von Plasma-Biomarkern gibt und weitere Forschung wichtig und notwendig ist.

Eine neue ultrasensitive Methode zur Bestimmung von Proteinen im Plasma in sub-femtomolaren Konzentrationen ist die Simoa-Technologie. Hierbei handelt es sich um ein digitales Enzyme-linked Immunosorbent Assay, welches von der Firma Quanterix entwickelt wurde⁶¹. Unter Forschungsbedingungen konnten gute Ergebnisse bei der Bestimmung der Plasma-Biomarker erzielt werden^{62,63}.

2.3 Biomarker

2.3.1 Amyloid: Amyloid-beta40 und Amyloid-beta42

Amyloid-Plaques sind Eiweißablagerungen, die bei AD pathologisch im Gehirn akkumulieren³⁹. Die für AD charakteristischen Amyloid-Ablagerungen werden anhand ihres molekularen Gewichts bestimmt und sind als β -Amyloid ($A\beta$) bekannt⁶⁴. Die zwei Unterarten Amyloid-beta40 ($A\beta$ 40) und $A\beta$ 42 sind Produkte der enzymatischen Zerschneidung des Amyloid-Precursor-Proteins durch die Beta- und Gamma-Sekretase^{65,66}. Die mangelnde Clearance von $A\beta$ wird gemäß der Amyloid-Hypothese auf den Zusammenbruch homöostatischer Prozesse, die die proteolytische Spaltung des Amyloid-Precursor-Proteins regulieren, zurückgeführt⁶⁷. Dabei sind $A\beta$ 42-Ablagerung in Form von Oligomeren am frühesten nachweisbar⁶⁸. Plaques und lösliche Amyloid Oligomere sind assoziiert mit dem lokalen Verlust von Synapsen und synaptischer Dysfunktion^{69,70}.

Die Abnahme des Liquor $A\beta$ 42 bei kognitiv beeinträchtigten Patient*innen im Vergleich zu unbeeinträchtigten Gleichaltrigen konnte in zahlreichen Studien belegt werden. Die Bestimmung von $A\beta$ gehört zur klinischen Routinediagnostik bei Verdacht auf AD^{71,72}. Es wird angenommen, dass die pathophysiologische Basis für die Erniedrigung des Liquor $A\beta$ 42 bei der AD die Aggregation des hydrophobischen Peptids ist, welches dadurch in Plaques sequestriert vorliegt. Dementsprechend werden geringere Mengen des Peptids in den Extrazellulärraum und in den Liquor sekretiert⁷³.

Die Bestimmung von Plasma $A\beta$ ist grundsätzlich schwierig²⁶. Die $A\beta$ Konzentrationen im Plasma sind circa 10 Mal niedriger als im Liquor, wobei der Gesamt-Protein-Gehalt im Blut 10-fach höher ist⁵⁸. Dies führt vor allem zu technischen Schwierigkeiten bei der Messung der Konzentration des Plasma Biomarkers. Schon früh gab es widersprüchliche Hinweise auf mögliche Veränderungen von $A\beta$ 42 im Plasma während des Krankheitsverlaufs, wobei einige Studien nicht in der Lage waren, im Querschnitt zwischen DAT und Kontrollen zu unterscheiden^{4,74,75}.

Seit 2018 werden mit neuen hochsensitiven Messverfahren stabil niedrige Werte bei DAT festgestellt, wobei die Ratio $A\beta$ 42/ $A\beta$ 40 vielversprechende Ergebnisse liefert^{7,76-81}. Im Liquor ist die Ratio $A\beta$ 42/ $A\beta$ 40 bereits ein potenter diagnostischer Marker, der die $A\beta$ Veränderungen bei Patient*innen mit DAT repräsentiert. Der Nutzen der Ratio beruht wahrscheinlich darauf, dass $A\beta$ 42 die größere pathologische Relevanz zu haben scheint, wohingegen $A\beta$ 40 die individuelle Gesamtproduktion von $A\beta$ besser repräsentiert⁸². Es gibt Hinweise darauf, dass auch eine erniedrigte Ratio im Plasma auf das Vorliegen einer DAT und stärkere kognitive Einschränkungen hinweist^{78,81,83,84}.

2.3.2 Tau: Phosphoryliertes-Tau und Total-Tau

Tau ist ein Mikrotubuli-assoziiertes-Protein, das im physiologischen Zustand unter anderem Mikrotubuli stabilisiert und die synaptische Integrität und Funktion aufrechterhält⁸⁵. Die pathologische Ablagerung von modifiziertem Tau-Protein in Neuronen ist ein häufiger Aspekt vieler neurodegenerativer Erkrankungen, die unter dem Begriff „Tauopathien“ zusammengefasst werden. Bei diesen Erkrankungen nehmen die Tau-Aggregate die Form von neurofibrillären Tangles an⁸⁶.

Bei Patient*innen mit AD verliert Tau die Fähigkeit an Mikrotubuli zu binden und damit seine physiologische Funktion⁸⁷. Pathophysiologisch beruht dies unter anderem auf einer anormalen Hyperphosphorylierung des Tau-Proteins⁸⁸. Anormale Hyperphosphorylierung spielt eine entscheidende Rolle bei der Bildung von neurofibrillären Tangles und scheint eine führende Ursache des neuronalen Untergangs zu sein⁸⁹. Auch wenn der exakte neurotoxische Mechanismus noch nicht abschließend geklärt werden konnte, wird angenommen, dass die Tau vermittelte Neurodegeneration durch Fehlfaltung, welche sowohl zum Verlust der physiologischen Funktion als auch zu einem pathologischen Funktionsgewinn führt, entsteht⁸⁶.

Bei Patient*innen mit AD sekretieren Neuronen unter anderem mehr Tau in den Extrazellulärraum, sodass die Konzentrationen von pTau und tTau im Liquor erhöht sind^{45,45,57}. PTau scheint ein spezifischer Marker für die AD zu sein. PTau181 Level sind bei Patient*innen mit AD erhöht, bei anderen Formen der Demenz, bei akuten Hirnverletzungen oder bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen jedoch nicht^{90–92}. Höhere tTau-Werte prognostizieren einen schnelleren Progress der kognitiven Verschlechterung⁴⁹. Dies unterstützt die Vermutung, dass tTau-Level mit der Intensität der Neurodegeneration zusammenhängen⁵². Jedoch können auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen, wie z.B. nach traumatischen Hirnverletzungen, Schlaganfall oder bei der Creutzfeld-Jakob-Erkrankung, erhöhte Liquor tTau-Werte nachgewiesen werden^{92–94}. Liquor tTau und pTau gehören zu den Kernbiomarkern in der Alzheimerdiagnostik⁴⁴.

Plasma pTau181 ist bei Patient*innen mit MCI und noch stärker bei Patient*innen mit DAT erhöht^{8,9,95,96}. Mittels Plasma pTau181 kann zwischen DAT und Kontrollen unterschieden werden^{9,52,81,95–98}. Es korreliert in mehreren Untersuchungen mit dem entsprechenden Liquor-Biomarker und mit Amyloid-PET-Scan-Ergebnissen^{8,9,52,95,98,99}. PTau181 scheint im Verlauf eine Verschlechterung der klinischen Symptome und des neuropsychologischen Status prognostizieren zu können^{62,98,99}. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass auch Plasma pTau181 zwischen AD und anderen neurodegenerativen Erkrankungen differenzieren kann^{8,9,99,100}. In der Kombination mit A β 42/A β 40 scheint pTau der beste Biomarker in präklinischen Stadien zu sein¹⁰¹. Andere Plasma pTau Biomarker, wie pTau217, zeigen ähnliche Ergebnisse^{81,102,103}.

Auch im Plasma zeigen sich erhöhte Level von tTau bei DAT im Vergleich zu MCI und Kontrollen^{56,104–106}. Dabei steht tTau im Zusammenhang mit schlechterer Kognition und mehr Hirnatrophie^{56,105,106}. Eine Unterscheidung zwischen MCI und Kontrollen anhand des tTau-Wertes scheint nicht möglich zu sein¹⁰⁶. Dies deutet darauf hin, dass tTau im Plasma möglicherweise kein geeigneter Biomarker in frühen Stadien ist¹⁰⁶. Es konnte bereits gezeigt werden, dass Plasma tTau nur schlecht mit Liquor tTau korreliert^{56,105,106}.

Die Ratio pTau181/A β 42 im Liquor prognostiziert eine stärkere klinische Verschlechterung bei Patient*innen mit MCI und zeigte eine vergleichbare Genauigkeit wie die Amyloid-PET-Bildgebung¹⁰⁷.

2.3.3 Neurofilament Light

Das Protein Neurofilament Light (NFL) ist Bestandteil des axonalen Zytoskeletts und wird vor allem in myelinisierten Axonen exprimiert^{108,109}. Veränderte NFL Werte gehen mit Hirnschädigung, -atrophie und Neurodegeneration einher¹⁰⁹.

NFL ist ein möglicher Marker zur Einschätzung der Krankheits-Progression und des Ansprechens auf Medikation, wobei die Werte im Blut und Liquor stark korrelieren^{110–113}.

Der Biomarker NFL gilt als unspezifischer Marker für Neurodegeneration¹⁰¹. Eine Erhöhung kann bei verschiedenen neurodegenerativen Krankheitsbildern, wie der Multiplen Sklerose¹¹⁴, der progressiven supranukleären Blickparese¹¹⁵ oder der Amyotrophen Lateralsklerose¹¹⁶ festgestellt werden.

Auch erste Ergebnisse der Alzheimerforschung zeigen, dass Plasma NFL eine Unterscheidung zwischen Patient*innen mit DAT und A β positiver MCI und Kontrollpersonen ermöglicht^{117,118}. Veränderungen der Plasma NFL-Konzentration werden mit Amyloid-Ablagerungen im Amyloid-PET in Verbindung gebracht¹¹⁹. NFL ist mit kognitiven Defiziten und bildgebenden Kennzeichen der AD in frühen Stadien und im gesamten Krankheitsverlauf assoziiert¹¹⁷. Dabei sind höhere Baseline Plasmaspiegel mit schlechterer kognitiver Leistung im Längsschnitt assoziiert^{112,117}.

2.4 Fragestellung und Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit untersucht, ob Plasma-Biomarker, im konkreten Plasma A β 42, A β 40, pTau181, tTau und NFL, zur Unterscheidung der diagnostischen Gruppen DAT, MCI und SCD geeignet sind. Dazu wurden neben den einzelnen Biomarkern auch deren Ratios untersucht.

Hierzu gehören die Ratios A β 42/A β 40 und pTau181/A β 42. Des Weiteren wurde überprüft, ob es einen Zusammenhang der Biomarker mit Alter, Bildungsjahren und dem Geschlecht gibt.

Ziel der Arbeit war die Analyse der vorliegenden Blutproben der Gedächtnisambulanz Köln im Hinblick auf die Bestimmung von Plasma A β 42, A β 40, pTau181, tTau und NFL. Es wurde geprüft, wie die Plasma-Biomarker bei der Unterscheidung der diagnostischen Gruppen von Patient*innen mit DAT, MCI und SCD in einer routinemäßigen Gedächtnisambulanz außerhalb eines hoch standardisierten Forschungsrahmens anwendbar sind. Neben der Auswertung der Blutproben bilden erhobene klinische Daten die Grundlage der Analyse.

Dabei hebt sich diese Arbeit von bisherigen Untersuchungen zum einen dadurch ab, dass neben den diagnostischen Gruppen DAT und MCI auch das präklinische Stadium SCD untersucht wird und zum anderen dadurch, dass es sich um ein praxisnahes Studiendesign ohne spezifische Ein- oder Ausschlusskriterien handelt und die Ergebnisse Hinweise auf die routinemäßige Anwendbarkeit in Gedächtnisambulanzen liefern.

3 Publikation: Alzheimer's Disease Plasma Biomarkers Distinguish Clinical Diagnostic Groups in Memory Clinic Patients, Gerards et al., 2022

Alzheimer's Disease Plasma Biomarkers Distinguish Clinical Diagnostic Groups in Memory Clinic Patients

Michelle Gerards^a Ann-Katrin Schild^a Dix Meiberth^a Ayda Rostamzadeh^a
Jörg Janne Vehreschild^{b,c} Sebastian Wingen-Heimann^{b,d} Wibke Johannis^e
Pamela Martino Adami^f Oezguer A. Onur^g Alfredo Ramirez^{f,h,i,j,k}
Thomas K. Karikari^l Nicholas J. Ashton^{l,m,n,o} Henrik Zetterberg^{l,p,q,r,s}
Kaj Blennow^{l,p} Franziska Maier^a Frank Jessen^{a,j,k}

^aDepartment of Psychiatry and Psychotherapy, Faculty of Medicine, University Hospital Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany; ^bDepartment I for Internal Medicine, Faculty of Medicine, University Hospital Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany; ^cGerman Centre for Infection Research (DZIF), Partner Site Bonn-Cologne, Cologne, Germany; ^dFOM University of Applied Sciences, Cologne, Germany; ^eInstitute of Clinical Chemistry, Faculty of Medicine, University Hospital Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany; ^fDivision of Neurogenetics and Molecular Psychiatry, Department of Psychiatry and Psychotherapy, Faculty of Medicine, University Hospital Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany; ^gDepartment of Neurology, Faculty of Medicine, University Hospital Cologne, University of Cologne, Cologne, Germany; ^hDepartment of Neurodegenerative Diseases and Geriatric Psychiatry, Medical Faculty, University Hospital Bonn, Bonn, Germany; ⁱDepartment of Psychiatry & Glenn Biggs Institute for Alzheimer's and Neurodegenerative Diseases, San Antonio, TX, USA; ^jGerman Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE), Bonn, Germany; ^kCluster of Excellence Cellular Stress Responses in Aging-associated Diseases (CECAD), University of Cologne, Cologne, Germany; ^lDepartment of Psychiatry and Neurochemistry, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden; ^mWallenberg Centre for Molecular and Translational Medicine, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden; ⁿDepartment of Old Age Psychiatry, Maurice Wohl Clinical Neuroscience Institute, King's College London, London, UK; ^oUnit for Dementia at South London & Maudsley, NIHR Biomedical Research Centre for Mental Health & Biomedical Research, London, UK; ^pClinical Neurochemistry Laboratory, Sahlgrenska University Hospital, Mölndal, Sweden; ^qUK Dementia Research Institute, University College London, London, UK; ^rDepartment of Neurodegenerative Disease, UCL Institute of Neurology, London, UK; ^sHong Kong Center for Neurodegenerative Diseases, Hong Kong, China

Keywords

Alzheimer's dementia · Alzheimer's disease · Biomarkers · Plasma · SIMOA-HD-Analyzer

Abstract

Introduction: Several recent research studies show high performance of blood biomarkers to identify Alzheimer's disease also in the pre-dementia mild cognitive impairment

(MCI) stage, but data from the routine clinical care memory clinic setting are needed. **Methods:** We examined plasma samples of 144 memory clinic patients, including dementia of Alzheimer type (DAT, $n = 54$), MCI ($n = 57$), and subjective cognitive decline (SCD, $n = 33$), who either presented as self-referrals or were referred by general practitioners or neurologists or psychiatrists. The plasma biomarkers, amyloid-beta42 (A β 42), amyloid-beta40 (A β 40), phospho-Tau181 (pTau181), total-tau (tTau), and neurofilament light (NFL), as

well as different ratios, were measured using the ultrasensitive single molecule array (Simoa) immunoassay technology. Statistical analysis including Kruskal-Wallis test, linear regression, and receiver operating characteristics analyses was performed. **Results:** Of the single markers, we observed statistically significant group effects of pTau181 ($H(2) = 34.43, p < 0.001$) and NFL ($H(2) = 27.66, p < 0.001$). All individual group comparisons of pTau181 were significant, while the contrast of SCD versus MCI for NFL was not significant. In addition, the ratios of A β 42/A β 40 ($H(2) = 7.50, p = 0.02$) and pTau181/A β 42 ($H(2) = 25.26, p < 0.001$) showed significant group effects with significant difference between all groups for pTau181/A β 42 and an SCD versus MCI difference for A β 42/A β 40. pTau181 showed the highest area under the curve of 0.85 for the discrimination of SCD and DAT with a sensitivity of 80% and a specificity of 79% at a cut-off of 12.2 pg/mL. Age influenced A β 42, A β 40, and NFL concentrations. **Conclusion:** Plasma pTau181 and NFL, as well as the ratios A β 42/A β 40 and pTau181/A β 42, are biomarkers, which can differentiate diagnostic groups in a memory clinic setting outside of research studies.

© 2022 The Author(s).
Published by S. Karger AG, Basel

Introduction

Dementia of Alzheimer's type (DAT) is a major health care challenge of our times [1]. Alzheimer's disease (AD) is neuropathologically characterized by the accumulation of neurofibrillary tangles composed of aggregated tau protein and amyloid deposition [2]. There is evidence that these pathological processes begin more than two decades before the onset of symptoms. Hence, biomarkers of amyloid deposition and tau aggregation can detect the disease in patients already in early stages [3]. Subjective cognitive decline (SCD) occurs at the late preclinical stage of AD, recently labeled as stage 2 [4], and is also a risk factor for the development of mild cognitive impairment (MCI) and DAT. SCD is not specific to AD and can also be caused by normal aging, depression, and other psychiatric and neurological disorders [5]. In addition, a recent meta-analysis reported substantial variation of the proportion of SCD cases with amyloid pathology among individual samples, depending on the specific recruitment criteria and settings [6]. In those SCD cases, who progress to dementia, DAT is the most common, but other dementia types also occur [7].

The detection of neuropathological changes in patients currently requires amyloid-positron emission tomography (amyloid-PET) or biomarkers obtained from

cerebrospinal fluid (CSF) [8–10]. Core biomarkers in CSF include amyloid-beta42 (A β 42), total-tau protein (ttau), and phosphorylated tau protein (pTau) [11]. Both the use of amyloid-PET and CSF biomarkers are limited concerning access and are either costly or invasive, and rare complications can occur [12, 13]. The recent evolution of plasma biomarkers provides potentially novel opportunities in the future regarding improved accessibility as well as lower risk [14, 15]. Since the early diagnosis of AD before the stage of DAT is most likely critical for the success of future therapies, accessible tests for the identification of pre-dementia stages of AD are becoming increasingly important [16, 17].

There was early inconsistent evidence about potential changes of plasma A β 42 throughout the disease course [18], with some studies not being able to differentiate between DAT and controls in a cross-sectional setting [16, 19]. Stable lower effects in DAT are found from 2018 onward using new measurement techniques, with the A β 42/amyloid-beta40 (A β 40) ratio providing promising results [20–26].

Plasma phospho-Tau181 (pTau181) distinguishes between DAT and controls and is elevated to a lesser extent in patients with MCI [14, 27–32]. There is also evidence that plasma pTau181 differentiates between DAT and other neurodegenerative diseases [29, 30]. Other plasma pTau markers, such as pTau217, show similar results [33, 34]. The ratio of pTau181/A β 42 in CSF predicted greater clinical decline in MCI patients and showed a comparable accuracy as PET imaging [35].

Some studies showed increased levels of tTau in DAT compared to MCI and controls and provided evidence for an association of tTau with poor cognition and brain atrophy [20, 36, 37]. Some findings suggest that the overlap between normal aging and AD is large, implying that tTau may not be a suitable biomarker when measured in plasma [36]. Increased tTau values were also detected in other neurodegenerative diseases suggesting that tTau is a nonspecific biomarker of neuronal damage [38, 39].

The biomarker neurofilament light (NFL) is considered an unspecific marker for neurodegeneration which can be measured in CSF, but also in plasma [40]. NFL concentration differentiates between patients with DAT and controls [41]. Changes in plasma NFL were associated with amyloid deposition in amyloid-PET [42]. NFL was associated with cognitive deficits and magnetic resonance imaging (MRI) characteristics of DAT at early stages and throughout the disease course [41]. Higher baseline plasma levels were associated with poorer longitudinal cognition [41, 43]. The goal of this study is to test how

these plasma biomarkers perform with regard to the differentiation of the diagnostic groups of patients with DAT, MCI, and SCD in a routine care memory clinic setting outside of a highly standardized research setting.

Methods

We included samples and data from patients of the memory clinic of the Centre for Memory Disorders (ZfG) at the University Hospital of Cologne who gave written consent to provide blood samples for research purposes. The study was approved by the Ethics Commission of the medical faculty of the University of Cologne. The study complied with the Declaration of Helsinki.

Study Sample

Our study included 144 patients who were clinically diagnosed with SCD ($n = 33$), MCI ($n = 57$), or DAT ($n = 54$) at the memory clinic between 2016 and 2018. Patients either presented as self-referrals or were referred by general practitioners or neurologists or psychiatrists.

Clinical Examination and Diagnosis

All patients underwent a comprehensive clinical examination, including medical history, caregiver report, psychopathological and physical examination, the Mini-Mental State Examination (MMSE), extended neuropsychological testing, standard blood laboratory measures, and MRI. CSF for diagnostic purposes was obtained in 31 DAT and 17 MCI cases. Note that according to the current guidelines, CSF biomarker sampling is not recommended in SCD outside of research due to the yet unclear meaning in determining the individual cause and prognosis of SCD. For this reason, CSF biomarkers were only obtained in 2 SCD cases, who specifically demanded AD biomarker assessment.

The syndromal diagnosis of DAT, MCI, and SCD was established based on all available information by the treating physician. Patients with DAT and MCI met the clinical National Institute on Aging and Alzheimer's Association (NIA-AA) criteria [4]. Both were defined by cognitive impairment as documented by the MMSE and by extended neuropsychological testing. The groups were discriminated by the presence of impairment in activities of daily living, which interfere with independence based on clinical judgment in the case of DAT and the absence thereof in the case of MCI. Thirty-five MCI patients (61%) were multi-domain MCI. Of these, 34 patients were amnesic multi-domain. One was non-amnesic multi-domain (language and executive function domain affected). Twenty-one patients (37%) were single-domain MCI of which 18 were single-domain amnesic MCI, two were single-domain visuo-construction, and one single-domain language. Following proposed criteria [5], SCD was defined by a complaint of cognitive decline and age-, sex-, and education-adjusted unimpaired cognitive performance in extended neuropsychological testing.

The clinical and neuropsychological work-up together with the laboratory and MRI information was used in all groups to exclude non-AD causes of cognitive impairment as good as possible, including psychiatric disorders. Patients fulfilling clinical criteria of a depressive episode, or any other detectable non-AD cause of cognitive impairment, were not included. The DAT group comprised

early- and late-onset cases. Note that the definition of groups in this study is based on the clinical diagnoses of DAT, MCI, and SCD only and does not incorporate CSF biomarker information as inclusion or exclusion criterion.

Plasma Biomarkers

All patients agreed to plasma sampling for research purposes when they first presented in the clinic. Research plasma samples were obtained within the diagnostic process of the respective participant and stored directly at -20° and permanently at -80°C . None of the samples was thawed and refrozen before this study. The samples were shipped on dry ice to and analyzed in Gothenburg (Clinical Neurochemistry Laboratory, Institute of Neuroscience and Physiology, Sahlgrenska Academy). Biomarker measurements were performed through ultrasensitive single molecule array (Simoa) immunoassay technology (Quanterix, Billerica, MA, USA) [44]. The laboratory was blinded to patient diagnoses and other clinical data. The following numbers of measurements were obtained: A β 42 - $n = 142$; A β 40 - $n = 144$; pTau181 - $n = 143$; tTau - $n = 144$; NFL - $n = 144$. Calibrators were run in duplicates, and samples were diluted 4-fold and run in singlicates. Results were compensated for the dilution. Two QC levels were run in duplicates at the beginning and the end of each run. Intra-assay coefficients of variation were below 10%.

Statistical Analysis

Differences between diagnostic groups in age, years of education, and plasma biomarkers were assessed using the nonparametric Kruskal-Wallis test, χ^2 test, and post hoc comparison. Linear regression was used to examine the correlation between plasma biomarkers, age, sex, and years of education. In the case of significant associations, the group difference analyses were performed with ANCOVAs adjusted for respective covariates. To determine the diagnostic accuracy, receiver operating characteristic (ROC) analysis was used to calculate areas under the curve (AUCs) for the comparisons of SCD versus (vs.) MCI plus DAT, SCD vs. MCI, SCD vs. DAT, and MCI vs. DAT. Potential cut-off values are proposed.

In addition, the plasma biomarkers across all groups of those cases with pathological CSF biomarkers were plotted against those with normal CSF biomarkers. Note that for this step, the clinical routine CSF and the respective cut-off data obtained from the central laboratory of the University Hospital of Cologne were used. The following local cut-offs were applied to define CSF positivity: A β 42 < 629 pg/mL, pTau > 61 pg/mL, tTau < 290 pg/mL, and A β 42/A β 40 < 0.095 pg/mL. In addition to plotting, the plasma measures of CSF-positive and CSF-negative cases across all groups were compared with t tests. All analysis and statistics were performed in SPSS (Version 26.0, IBM, Armonk, NY, USA).

Results

Sample Characteristics

The age ranged from 42 to 90 years with a mean age of 69.7 (standard deviation [SD] = 10.1) years (Table 1) with 31% of the patients being under the age of 65 (55% of SCD, 32% of MCI, and 15% of DAT patients). Statisti-

Table 1. Characteristics of the diagnostic groups and plasma biomarker measures

Sample characteristics	SCD mean (±SD)/ n	MCI mean (±SD)/ n	DAT mean (±SD)/ n	H ₂ O ₂ /X ² ¹	p value ¹	Z ²	p value ²	Z ³	p value ³	Z ⁴	p value ⁴
N	33	57	54								
Age, years	63.1 (9.6)	69.1 (9.7)	74.3 (8.2)	27.2	<0.001	-25.9	0.01	-47.8	<0.001	-21.9	0.01
Male, n (%)	12 (36.4)	33 (57.9)	24 (44.4)	4.3	0.12						
Years of education	14 (3)	13 (3)	12 (2)	12.4	<0.02	18.0	0.03	30.6	<0.001	12.6	0.08
MMSE results	29 (2.0)	27 (2.1)	23 (3.6)	73.5	<0.001	31.8	<0.001	75.8	<0.001	44.1	<0.001
Verbal fluency (semantic)	21 (3.4)	17 (4.8)	13 (4.7)	49.3	<0.001	36.3	<0.001	63.4	<0.001	27.1	<0.001
Boston naming test	23 (3.9)	16 (4.9)	11 (3.8)	70.9	<0.001	37.8	<0.001	75.4	<0.001	37.6	<0.001
Wordlist learning	15 (1.6)	14 (1.6)	12 (2.3)	33.4	<0.001	24.6	0.01	49.8	<0.001	25.2	<0.001
Wordlist delayed recall	8 (1.5)	5 (2.6)	2 (1.6)	74.4	<0.001	41.5	<0.001	77.4	<0.001	35.9	<0.001
Wordlist recognition	9 (1.0)	8 (3.2)	6 (4.4)	21.9	<0.001	21.5	0.02	38.0	<0.001	16.5	0.01
Constructional praxis	11 (0.9)	10 (1.2)	9 (1.9)	30.8	<0.001	13.5	0.11	44.1	<0.001	30.6	<0.001
Delayed constructional savings	10 (1.8)	6 (2.9)	3 (2.4)	71.9	<0.001	24.3	<0.001	74.7	<0.001	40.4	<0.001
CERAD sum score	87 (8.3)	69 (13.0)	52 (12.0)	77.1	<0.001	40.8	<0.001	78.6	<0.001	37.8	<0.001
Aβ42, pg/mL	13.2 (4.1)	12.4 (3.9)	13.0 (3.2)	1.8	0.40						
Aβ40, pg/mL	278.8 (88.3)	297.9 (83.9)	313.9 (60.6)	4.7	0.09						
pTau181, pg/mL	9.5 (6.4)	17.2 (21.2)	18.6 (8.8)	34.4	<0.001	-28.3	0.01	-53.4	<0.001	-25.0	0.01
tTau, pg/mL	2.4 (1.0)	2.6 (2.1)	2.2 (0.8)	1.2	0.56						
NFL, pg/mL	12.9 (9.3)	14.5 (7.2)	22.1 (14.1)	27.7	<0.001	-14.5	0.34	-45.2	<0.001	-30.6	<0.001
Aβ42/Aβ40	0.045 (0.008)	0.042 (0.012)	0.042 (0.007)	7.5	0.02	20.3	0.03	24.3	0.01	4.0	0.61
pTau181/Aβ42	0.9 (1.1)	1.7 (2.4)	1.5 (0.7)	25.3	<0.001	-29.5	<0.001	-45.8	<0.001	-16.3	0.04

SD, standard deviation; n, number; SCD, subjective cognitive decline; MCI, mild cognitive impairment; DAT, dementia of Alzheimer's type; H₂O₂, chi²-test; z, post hoc test; Aβ42, amyloid-beta42; Aβ40, amyloid-beta40; pTau181, phospho-Tau181; tTau, total tau; NFL, neurofilament light. ¹p values reported are for comparison between all diagnostic groups, ²SCD-MCI, ³SCD-DAT, ⁴MCI-DAT using analysis of variance. Individual group comparisons were only made in cases of a significant overall group effect using post hoc tests.

Table 2. ROC performance of plasma biomarkers

Plasma biomarkers	SCD versus MCI AUC (p value)	SCD versus MCI + DAT AUC (p value)	SCD versus DAT AUC (p value)	MCI versus DAT AUC (p value)
Aβ42	0.58 (p = 0.20)	0.57 (p = 0.25)	0.55 (p = 0.44)	0.54 (p = 0.47)
Aβ40	0.55 (p = 0.44)	0.59 (p = 0.10)	0.64 (p = 0.03)	0.57 (p = 0.18)
pTau181	0.72 (p < 0.001)	0.78 (p < 0.001)	0.85 (p < 0.001)	0.69 (p < 0.001)
tTau	0.52 (p = 0.80)	0.51 (p = 0.48)	0.57 (p = 0.30)	0.54 (p = 0.43)
NFL	0.61 (p = 0.10)	0.70 (p < 0.001)	0.81 (p < 0.001)	0.72 (p < 0.001)
Aβ42/Aβ40	0.64 (p = 0.03)	0.66 (p = 0.01)	0.67 (p = 0.01)	0.53 (p = 0.62)
pTau181/Aβ42	0.72 (p < 0.001)	0.77 (p < 0.001)	0.81 (p < 0.001)	0.62 (p = 0.03)

ROC, receiver operating characteristics; SCD, subjective cognitive decline; MCI, mild cognitive impairment; DAT, dementia of Alzheimer's type; AUC, area under the curve; Aβ42, amyloid-beta42; Aβ40, amyloid-beta40; pTau181, phospho-Tau181; tTau, total-tau; NFL, neurofilament light.

Table 3. Possible cut-off points SCD versus MCI and SCD versus DAT

Plasma biomarker	SCD versus MCI			SCD versus DAT		
	cut-off, pg/mL	sensitivity, %	specificity, %	cut-off, pg/mL	sensitivity, %	specificity, %
Aβ40	na	na	na	≥273.6	80	42
pTau181	≥8.4	80	55	≥12.2	80	79
NFL	na	na	na	≥12.7	80	67
Aβ42/Aβ40	≤0.048	80	47	≤0.048	80	47
pTau181/Aβ42	≥0.58	80	50	≥0.77	80	75

Possible cut-off points for plasma biomarkers with significant results in ROC analysis for SCD versus MCI and SCD versus DAT. Shown are exemplary cut-off values with a sensitivity of 80% for comparison of biomarkers. ROC, receiver operating characteristics; SCD, subjective cognitive decline; MCI, mild cognitive impairment; DAT, dementia of Alzheimer's type; Aβ40, amyloid-beta40; Aβ42, amyloid-beta42; pTau181, phospho-Tau181; NFL, neurofilament light; na, not available due to no significant ROC analysis.

cally significant group differences in age ($p < 0.001$) and years of education ($p < 0.001$) were observed (Table 1). Post hoc tests showed group effects of age for SCD-MCI ($p = 0.01$), SCD-DAT ($p < 0.001$), and MCI-DAT ($p = 0.01$) and of years of education for SCD-MCI ($p = 0.03$) and SCD-DAT ($p < 0.001$), but not for MCI-DAT ($p = 0.08$). There were no significant group differences for sex ($p = 0.12$).

Association of Plasma Biomarkers, Age, Years of Education, and Sex

There was no association of any plasma biomarker with years of education or sex. The age of participants affected the concentration of Aβ42 ($p < 0.001$), of Aβ40 ($p < 0.001$), and of NFL ($p < 0.001$). Older patients showed

increased plasma values. Other biomarkers or their ratios were not correlated with age.

There was an association of Aβ42 with age also in all individual diagnostic groups: SCD ($p = 0.01$), MCI ($p = 0.02$), and DAT ($p = 0.02$), and of Aβ40 with age in patients with SCD ($p = 0.02$) and DAT ($p = 0.01$), but not in patients with MCI ($p = 0.12$). Furthermore, an increase of NFL with age was observed for SCD ($p < 0.001$), MCI ($p < 0.001$), and DAT ($p = 0.01$).

Group Differences of Plasma Biomarkers

All plasma biomarker measures for all groups are listed in Table 1. The AUCs of all comparisons are displayed in Table 2. In Table 3, cut-offs are proposed for individual markers at a sensitivity level of 80%. Figure 1 shows

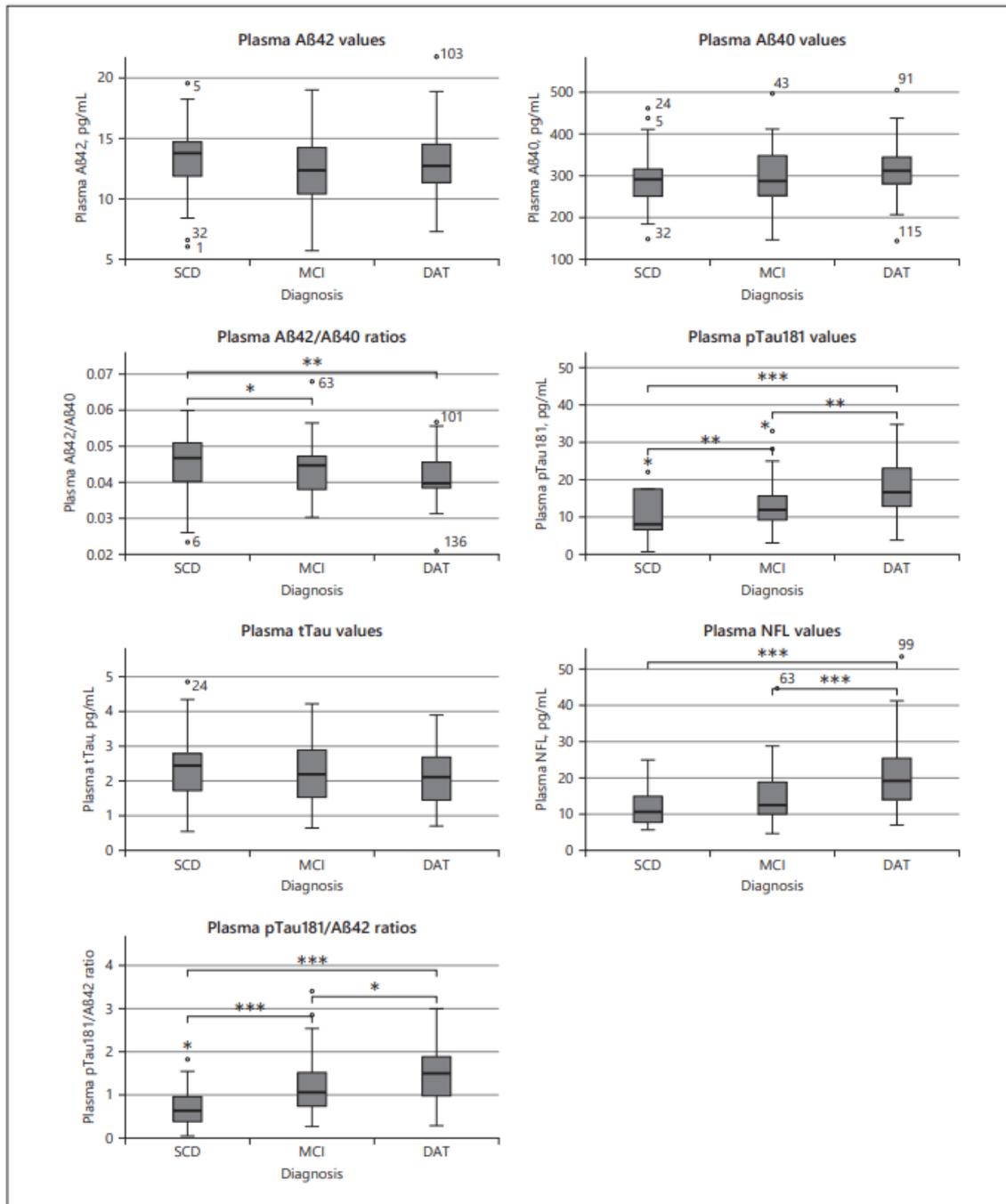


Fig. 1. Plasma biomarker distribution across the diagnostic groups.

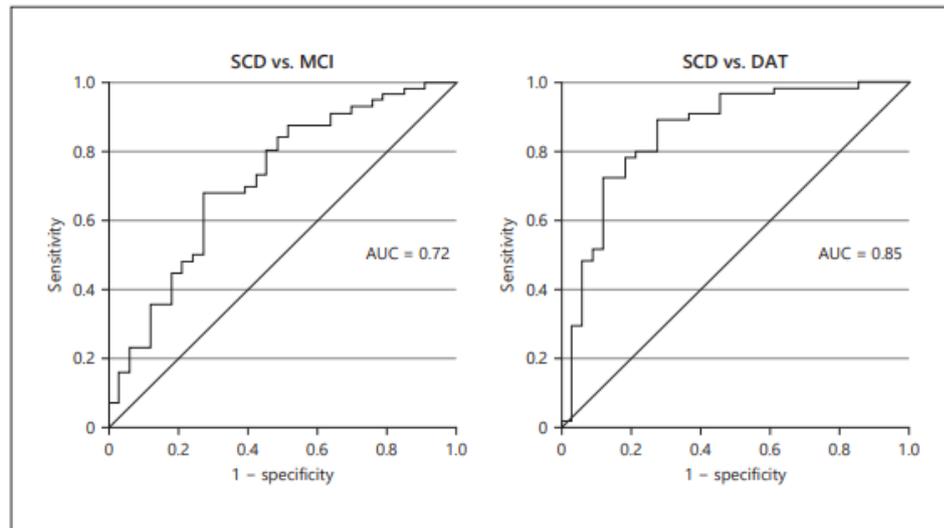


Fig. 2. ROC performance of pTau181 for SCD versus MCI and SCD versus DAT.

the distribution of the biomarker data separated by the diagnostic groups.

A β 42 concentrations were not significantly different between the diagnostic groups ($p = 0.4$). Neither were there any significant differences in A β 42 between groups when adjusted for age ($p = 0.07$). The AUC in ROC analysis was 0.58 for SCD vs. MCI ($p = 0.20$), 0.57 for SCD vs. MCI + DAT ($p = 0.25$), 0.55 for SCD vs. DAT ($p = 0.44$), and 0.54 for MCI vs. DAT ($p = 0.47$) indicating that the performance of A β 42 to discriminate between diagnostic groups is poor.

The ANOVA for A β 40 did not show a significant group effect ($p = 0.09$). Furthermore, there were no significant differences in A β 40 between groups when adjusting for age ($p = 0.94$). ROC analysis showed an AUC of 0.55 for SCD vs. MCI ($p = 0.44$), 0.59 for SCD vs. MCI + DAT ($p = 0.10$), and 0.57 for MCI vs. DAT ($p = 0.18$). Only the ROC for SCD vs. DAT with an AUC of 0.64 ($p = 0.03$) was significant.

Significant group effects for plasma pTau181 were observed ($p < 0.001$). Post hoc test showed differences in all diagnostic groups with pTau181 increasing with the severity of impairment: SCD-MCI ($p = 0.01$), SCD-DAT ($p < 0.001$), and MCI-DAT ($p = 0.01$). The AUC for SCD vs. MCI was 0.72 ($p < 0.001$), for SCD vs. MCI + DAT 0.78 ($p < 0.001$), for SCD vs. DAT 0.85 ($p < 0.001$), and for MCI

vs. DAT 0.69 ($p < 0.001$) (Fig. 2). At a cut-off of 10.2 pg/mL, pTau181 had a sensitivity of 80% and a specificity of 79% to distinguish between SCD and DAT. Furthermore, at a cut-off point with a sensitivity of 80%, a specificity of 55% to distinguish between SCD and MCI was reached.

tTau was not significantly different between diagnostic groups ($p = 0.56$). ROC analysis showed an AUC of 0.52 for SCD vs. MCI ($p = 0.80$), 0.51 for SCD vs. MCI + DAT ($p = 0.48$), 0.57 for SCD vs. DAT ($p = 0.30$), and 0.54 for MCI vs. DAT ($p = 0.43$).

Significant group effects for NFL were observed ($p < 0.001$). Post hoc test showed differences between SCD-DAT ($p < 0.001$) and MCI-DAT ($p > 0.001$) with NFL values increasing with the severity of impairment. The contrast SCD-MCI was not significant ($p = 0.34$). Significant differences in NFL between groups remained when adjusted for age ($p = 0.04$). ROC analysis was significant for SCD vs. MCI + DAT with an AUC of 0.7 ($p < 0.001$), for SCD vs. DAT with an AUC of 0.81 ($p < 0.001$), and for MCI vs. DAT with an AUC of 0.72 ($p < 0.001$), but not for SCD vs. MCI with an AUC of 0.61 ($p = 0.09$). A cut-off of 12.7 pg/mL for the differentiation of SCD and DAT showed a sensitivity of 80% and a specificity of 67%.

The plasma biomarkers in relation to CSF positivity or negativity of the respective marker are shown in Figure 3. Direct comparison of the plasma biomarkers between

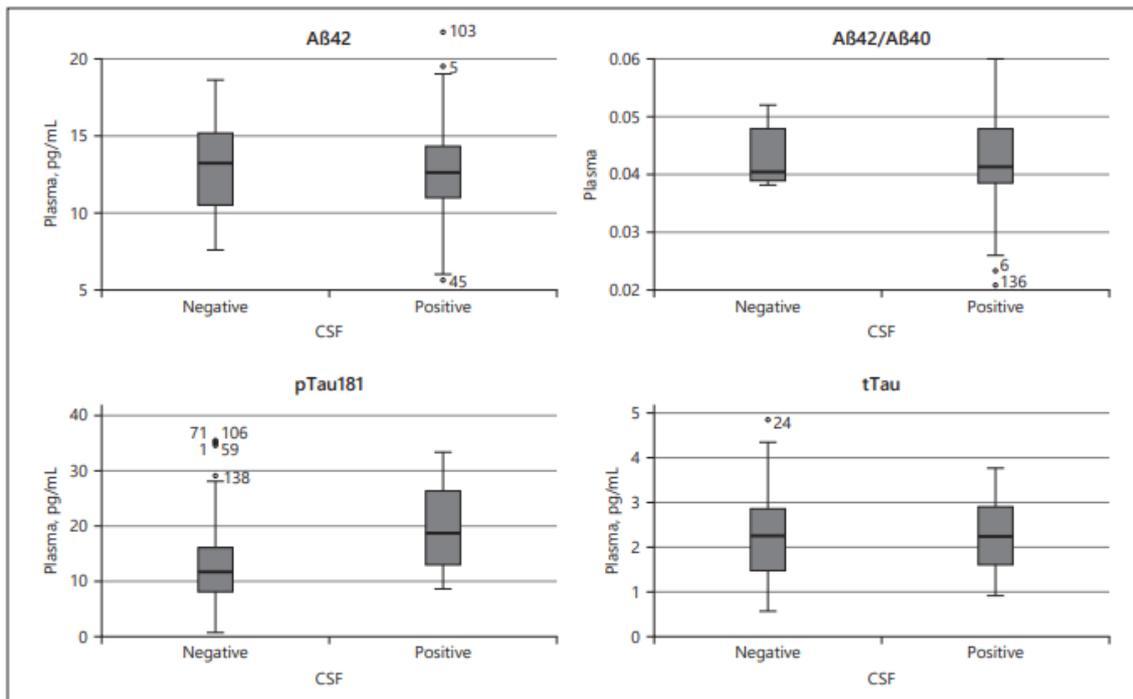


Fig. 3. Plasma biomarker values in relation to CSF biomarker classification as positive or negative according to the measurements and cut-off obtained and applied locally in routine care.

CSF-positive and CSF-negative cases revealed a significant group difference for plasma pTau181 when tested one-sided ($p = 0.034$, a priori hypothesis of increased concentration in CSF-positive cases) and a trend-level difference at two-sided testing ($p = 0.069$). None of the other plasma biomarkers showed a significant difference between the respective CSF-positive and CSF-negative cases.

Biomarker Ratios

Significant group effects ($p = 0.02$) were observed for Aβ42/Aβ40. Post hoc test showed a decrease of the ratio between SCD-DAT ($p = 0.01$) and SCD-MCI ($p = 0.03$), but not between MCI-DAT ($p = 0.61$). The ability to discriminate between SCD vs. MCI with an AUC of 0.64 ($p = 0.03$), between SCD vs. MCI + DAT with an AUC of 0.66 ($p = 0.01$), and between SCD vs. DAT with an AUC of 0.67 ($p = 0.01$) indicated better diagnostic performance than Aβ42 or Aβ40 alone. The ability to discriminate between MCI vs. DAT with an AUC of 0.53 ($p = 0.62$) was

poor. Cut-off points reached a specificity of 47 at a sensitivity of 80% for SCD vs. DAT and SCD vs. MCI.

Significant group effects for pTau181/Aβ42 were observed ($p < 0.001$). Post hoc test showed an increase in the ratio between SCD-MCI ($p < 0.001$), SCD-DAT ($p < 0.001$), and MCI-DAT ($p = 0.04$). Furthermore, pTau181/Aβ42 showed an AUC of 0.72 ($p < 0.001$) for SCD vs. MCI, of 0.77 ($p < 0.001$) for SCD vs. MCI + DAT, of 0.81 ($p < 0.001$) for SCD vs. DAT, and of 0.62 ($p = 0.03$) for MCI vs. DAT. Cut-off points reached a specificity of 75% at a sensitivity of 80% for SCD vs. DAT and a specificity of 50% at a sensitivity of 80% for SCD vs. MCI.

Discussion/Conclusion

Plasma biomarkers analyzed with the Simoa technology can discriminate between diagnostic groups in a routine memory clinic setting outside of specific research

studies. The ratio of A β 42/A β 40 was higher in SCD compared to MCI and DAT. This agrees with the model of amyloid level plateauing in the early phase of the disease [3]. In agreement with previous studies, we also found that neither plasma A β 42 nor A β 40 alone can distinguish between groups [16, 19]. A β 42/A β 40 achieved AUCs between 0.64 and 0.67 providing the best discrimination between SCD and DAT. With AUCs <0.7, these results are of low clinical relevance but may be meaningful in the future in combination with additional diagnostic markers. pTau181 differed between all groups and showed higher values in more advanced stages of impairment. It provided the best discrimination between SCD and DAT achieving an AUC of 0.85 and a specificity of over 79% at a sensitivity of 80%. With a slightly lower sensitivity and specificity, pTau181 also differentiates between SCD and MCI. Plasma pTau181 concentrations were higher in CSF pTau181-positive cases compared with negative cases. These findings agree with previous studies showing that pTau181 is increased in patients with DAT, but also discriminates between different early stages of the disease [28, 29]. We confirm that the ratio of plasma pTau181/A β 42 differs between the groups as previously shown in CSF [35]. The combination of pTau181/A β 42 was not superior to pTau181 alone, indicating that the combination does not improve the ability to discriminate between diagnostic groups. Our study indicates that tTau discriminates poorly between the diagnostic groups. Some previous studies showed a modest association of tTau with conversion to DAT [37], whereas others suggested that tTau is not a suitable biomarker for discriminating DAT from other groups, which is in agreement with our findings [36]. In contrast to pTau181, NFL did not differentiate between SCD and MCI. NFL differed, however, between SCD and MCI in comparison with DAT. NFL values increased with the severity of impairment and achieved a sensitivity of 80% and specificity of 67% for discriminating SCD and DAT. An association between higher NFL values and DAT diagnosis has been shown previously [41]. NFL was correlated with age; however, the overall statistically significant difference between the diagnostic groups remained with adjustment for age.

Our study has limitations. We did not include CSF biomarkers of the full sample, because the numbers of CSF samples in the SCD group and also in the MCI group were low due to the lack of clinical recommendation for standard use in these groups. Furthermore, CSF was measured locally in the clinical diagnostic context, whereas plasma biomarkers were measured in the research context in the laboratory in Gothenburg. We did not include

a healthy control group as we restricted the sampling to memory patients attending the memory clinic only. Furthermore, longitudinal data were not available as these data are derived from routine care, which does not comprise systematic follow-up of patients. Finally, while highly promising for wider application in routine care in the future, at present, the Simoa technology is mainly used in research and has not yet been in clinical practice.

The strength of our study is the real-world design. All patients who presented with SCD, MCI, or DAT in clinical routine and who were willing to participate were included. There were no additional study-specific inclusion or exclusion criteria.

We found that the plasma measures of pTau181 and NFL, as well as the ratios A β 42/A β 40 and pTau181/A β 42, are sufficiently robust to differentiate diagnostic groups with limited sample size in a memory clinic setting. In agreement with recent research studies, pTau181 proved to be the most promising biomarker that distinguishes between all three groups of SCD, MCI, and DAT suggesting potential clinical use also in early symptomatic stages. The implementation of plasma biomarkers in memory clinic procedures and potentially even in nonspecialized and general practice settings will substantially increase accessibility to biomarker-based diagnostics.

Statement of Ethics

Our research complied with the guidelines for human studies and was conducted in accordance with the World Medical Association Declaration of Helsinki. Participants gave their written informed consent before participating in the study. The study was approved by the Ethics Commission of the Faculty of Medicine of Cologne University, approval number 20-1503. The study was registered in the German Clinical Trials Register under the clinical trial number DRKS00023471.

Conflict of Interest Statement

Henrik Zetterberg has served at scientific advisory boards and/or as a consultant for AbbVie, Alector, Eisai, Denali, Roche, Wave, Samumed, Siemens Healthineers, Pinteon Therapeutics, NervGen, AZTherapies, CogRx, and Red Abbey Labs, has given lectures in symposia sponsored by Cellectricon, Fujirebio, AlzeCure, and Biogen, and is a co-founder of Brain Biomarker Solutions in Gothenburg AB (BBS), which is a part of the GU Ventures Incubator Program (outside submitted work). Kaj Blennow has served as a consultant, at advisory boards or at data monitoring committees for Abcam, Axon, Biogen, JOMDD/Shimadzu, Julius Clinical, Lilly, MagQu, Novartis, Prothena, Roche Diagnostics, and Siemens Healthineers, and is a co-founder of Brain Biomarker Solutions in Gothenburg AB (BBS), which is a part of the GU Ventures Incuba-

tor Program, all unrelated to the work presented in this paper. Frank Jessen has received fees for advice and presentations from AbbVie, AC Immune, Biogen, Böhringer, Danone, Eisai, Green Valley, Grifols, Janssen, MSD, Roche, and Vifor. Within the last 3 years, Oezguer A. Onur has received fees for advice from Biogen.

Funding Sources

The project was funded intramurally by the Department for Psychiatry and Psychotherapy of the University Hospital Cologne. Henrik Zetterberg is a Wallenberg Scholar supported by grants from the Swedish Research Council (#2018-02532), the European Research Council (#681712), Swedish State Support for Clinical Research (#ALFGBG-720931), the Alzheimer Drug Discovery Foundation (ADDF), USA (#201809-2016862), the AD Strategic Fund and the Alzheimer's Association (#ADSF-21-831376-C, #ADSF-21-831381-C, and #ADSF-21-831377-C), the Olav Thon Foundation, the Erling-Persson Family Foundation, Stiftelsen för Gamla Tjänarinnor, Hjärtfonden, Sweden (#FO2019-0228), the European Union's Horizon 2020 research and innovation program under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement no. 860197 (MIRIADE), and the UK Dementia Research Institute at UCL. Kaj Blennow is supported by the Swedish Research Council (#2017-00915), the Alzheimer Drug Discovery Foundation (ADDF), USA (#RDAPB-201809-2016615), the Swedish Alzheimer Foundation (#AF-742881), Hjärtfonden, Sweden (#FO2017-0243), the Swedish state under the agreement between the Swedish government and the County Councils, the ALF agreement (#ALF-GBG-715986), the European Union Joint Program for Neurodegenerative Disorders (JPND2019-466-236), the National Institute of Health (NIH), USA (grant no. #1R01AG068398-01), and the Alzheimer's Association 2021 Zenith Award (ZEN-21-848495). Oezguer A. Onur was supported by a grant from the Marga and Walter Boll Foundation.

References

- 1 GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019 May;18(5):459–80.
- 2 Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet.* 2006 Jul 29; 368(9533):387–403.
- 3 Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TL, Fagan AM, Goate A, Fox NC, et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2012 Aug 30; 367(9):795–804.
- 4 Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2018 Apr;14(4):535–62.
- 5 Jessen F, Amariglio RE, van Boxtel M, Breteler M, Ceccaldi M, Chetelat G, et al. A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2014 Nov;10(6): 844–52.
- 6 Janssen O, Jansen WJ, Vos SJB, Boada M, Parnetti L, Gabryelewicz T, et al. Characteristics of subjective cognitive decline associated with amyloid positivity. *Alzheimers Dement.* 2021 Dec 8. Epub ahead of print.
- 7 Slot RER, Sikkes SAM, Berkhof J, Brodaty H, Buckley R, Cavado E, et al. Subjective cognitive decline and rates of incident Alzheimer's disease and non-Alzheimer's disease dementia. *Alzheimers Dement.* 2019 Mar;15(3): 465–76.
- 8 Frisoni GB, Boccardi M, Barkhof F, Blennow K, Cappa S, Chiotis K, et al. Strategic roadmap for an early diagnosis of Alzheimer's disease based on biomarkers. *Lancet Neurol.* 2017 Aug;16(8):661–76.
- 9 Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med.* 2018 Dec; 284(6):643–63.
- 10 Shea YF, Barker W, Greig-Gusto MT, Loewenstein DA, Duara R, DeKosky ST. Impact of amyloid PET imaging in the memory clinic: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis.* 2018; 64(1):323–35.
- 11 Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2003 Oct;2(10):605–13.
- 12 Costerus JM, Brouwer MC, van de Beek D. Technological advances and changing indications for lumbar puncture in neurological disorders. *Lancet Neurol.* 2018 Mar;17(3):268–78.
- 13 Wittenberg R, Knapp M, Karagiannidou M, Dickson J, Schott J. Economic impacts of introducing diagnostics for mild cognitive impairment Alzheimer's disease patients. *Alzheimers Dement.* 2019;5:382–7.
- 14 Zetterberg H, Blennow K. Blood biomarkers: democratizing Alzheimer's diagnostics. *Neuron.* 2020 Jun 17;106(6):881–3.

- 15 Blennow K. Phenotyping Alzheimer's disease with blood tests. *Science*. 2021 Aug 6; 373(6555):626–8.
- 16 Toledo JB, Vanderstichele H, Figurski M, Aisen PS, Petersen RC, Weiner MW, et al. Factors affecting A β plasma levels and their utility as biomarkers in ADNI. *Acta Neuropathol*. 2011 Oct;122(4):401–13.
- 17 Blennow K, Dubois B, Fagan AM, Lewczuk P, de Leon MJ, Hampel H. Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2015 Jan;11(1):58–69.
- 18 Schupf N, Tang MX, Fukuyama H, Manly J, Andrews H, Mehta P, et al. Peripheral A β sub-species as risk biomarkers of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 16; 105(37):14052–7.
- 19 Feinkohl I, Schipke CG, Kruppa J, Menne F, Winterer G, Pischon T, et al. Plasma amyloid concentration in Alzheimer's disease: performance of a high-throughput amyloid assay in distinguishing Alzheimer's disease cases from controls. *J Alzheimers Dis*. 2020;74(4):1285–94.
- 20 Zetterberg H, Wilson D, Andreasson U, Minthon L, Blennow K, Randall J, et al. Plasma tau levels in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2013;5(2):9.
- 21 Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, Kato T, Doecke J, Dore V, et al. High performance plasma amyloid-beta biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature*. 2018 Feb 8; 554(7691):249–54.
- 22 Shahpasand-Kroner H, Klafki HW, Bauer C, Schuchhardt J, Huttenrauch M, Stazi M, et al. A two-step immunoassay for the simultaneous assessment of A β 38, A β 40 and A β 42 in human blood plasma supports the A β 42/A β 40 ratio as a promising biomarker candidate of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2018 Dec 8;10(1):121.
- 23 Verberk IMW, Slot RE, Verfaillie SCJ, Heijst H, Prins ND, van Berckel BNM, et al. Plasma amyloid as prescreener for the earliest Alzheimer pathological changes. *Ann Neurol*. 2018 Nov;84(5):648–58.
- 24 Vogelgsang J, Shahpasand-Kroner H, Vogelgsang R, Streit F, Vukovich R, Wiltfang J. Multiplex immunoassay measurement of amyloid- β 42 to amyloid- β 40 ratio in plasma discriminates between dementia due to Alzheimer's disease and dementia not due to Alzheimer's disease. *Exp Brain Res*. 2018 May; 236(5):1241–50.
- 25 Schindler SE, Bollinger JG, Ovod V, Mawuenyega KG, Li Y, Gordon BA, et al. High-precision plasma beta-amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis. *Neurology*. 2019 Oct 22;93(17):e1647–59.
- 26 Giudici KV, de Souto Barreto P, Guyonnet S, Li Y, Bateman RJ, Vellas B, et al. Assessment of plasma amyloid-beta42/40 and cognitive decline among community-dwelling older adults. *JAMA Netw Open*. 2020 Dec 1;3(12):e2028634.
- 27 Mielke MM, Hagen CE, Xu J, Chai X, Vemuri P, Lowe VJ, et al. Plasma phospho-tau181 increases with Alzheimer's disease clinical severity and is associated with tau- and amyloid-positron emission tomography. *Alzheimers Dement*. 2018 Aug;14(8):989–97.
- 28 Yang CC, Chiu MJ, Chen TF, Chang HL, Liu BH, Yang SY. Assay of plasma phosphorylated tau protein (Threonine 181) and total tau protein in early-stage Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2018;61(4):1323–32.
- 29 Janelidze S, Mattsson N, Palmqvist S, Smith R, Beach TG, Serrano GE, et al. Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia. *Nat Med*. 2020 Mar;26(3):379–86.
- 30 Karikari TK, Pascoal TA, Ashton NJ, Janelidze S, Benedet AL, Rodriguez JL, et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts. *Lancet Neurol*. 2020 May;19(5):422–33.
- 31 Hansson O, Cullen N, Zetterberg H; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, Blennow K, Mattsson-Carlgen N. Plasma phosphorylated tau181 and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Ann Clin Transl Neurol*. 2021 Jan;8(1):259–65.
- 32 Zetterberg H, Blennow K. Moving fluid biomarkers for Alzheimer's disease from research tools to routine clinical diagnostics. *Mol Neurodegener*. 2021 Feb 19;16(1):10.
- 33 Barthelemy NR, Horie K, Sato C, Bateman RJ. Blood plasma phosphorylated-tau isoforms track CNS change in Alzheimer's disease. *J Exp Med*. 2020 Nov 2;217(11):e20200861.
- 34 Palmqvist S, Janelidze S, Quiroz YT, Zetterberg H, Lopera F, Stomrud E, et al. Discriminative accuracy of plasma phospho-tau217 for Alzheimer disease vs other neurodegenerative disorders. *JAMA*. 2020 Aug 25;324(8):772–81.
- 35 Hansson O, Seibyl J, Stomrud E, Zetterberg H, Trojanowski JQ, Bittner T, et al. CSF biomarkers of Alzheimer's disease concord with amyloid-beta PET and predict clinical progression: a study of fully automated immunoassays in BioFINDER and ADNI cohorts. *Alzheimers Dement*. 2018 Nov;14(11):1470–81.
- 36 Mattsson N, Zetterberg H, Janelidze S, Insel PS, Andreasson U, Stomrud E, et al. Plasma tau in Alzheimer disease. *Neurology*. 2016 Oct 25;87(17):1827–35.
- 37 Pase MP, Beiser AS, Himali JJ, Satizabal CL, Aparicio HJ, DeCarli C, et al. Assessment of plasma total tau level as a predictive biomarker for dementia and related endophenotypes. *JAMA Neurol*. 2019 May 1;76(5):598–606.
- 38 Ost M, Nysten K, Csajbok L, Ohrfelt AO, Tullberg M, Wikkelso C, et al. Initial CSF total tau correlates with 1-year outcome in patients with traumatic brain injury. *Neurology*. 2006 Nov 14;67(9):1600–4.
- 39 Skillback T, Rosen C, Asztely F, Mattsson N, Blennow K, Zetterberg H. Diagnostic performance of cerebrospinal fluid total tau and phosphorylated tau in Creutzfeldt-Jakob disease: results from the Swedish Mortality Registry. *JAMA Neurol*. 2014 Apr;71(4):476–83.
- 40 Moscoso A, Grothe MJ, Ashton NJ, Karikari TK, Lantero Rodriguez J, Snellman A, et al. Longitudinal associations of blood phosphorylated tau181 and neurofilament light chain with neurodegeneration in Alzheimer disease. *JAMA Neurol*. 2021 Apr 1;78(4):396–406.
- 41 Mattsson N, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Association of plasma neurofilament light with neurodegeneration in patients with Alzheimer disease. *JAMA Neurol*. 2017 May 1;74(5):557–66.
- 42 Mielke MM, Syrjanen JA, Blennow K, Zetterberg H, Vemuri P, Skoog I, et al. Plasma and CSF neurofilament light: relation to longitudinal neuroimaging and cognitive measures. *Neurology*. 2019 Jul 16;93(3):e252–60.
- 43 Preische O, Schultz SA, Apel A, Kuhle J, Kaeser SA, Barro C, et al. Serum neurofilament dynamics predicts neurodegeneration and clinical progression in presymptomatic Alzheimer's disease. *Nat Med*. 2019 Feb;25(2):277–83.
- 44 Rissin DM, Kan CW, Campbell TG, Howes SC, Fournier DR, Song L, et al. Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. *Nat Biotechnol*. 2010 Jun; 28(6):595–9.

4 Diskussion

Die AD ist die häufigste Ursache einer altersbedingten Demenz und eine der führenden Erkrankungen unserer Zeit. Die Belastung für die Gesundheitssysteme stellt zunehmend eine Herausforderung dar^{1,2}. Mit der Entwicklung von neuen kausalen Therapieansätzen zur Behandlung der AD wird Diagnostik, die überall verfügbar und günstig ist, bedeutender, um Patient*innen in prodromalen Stadien frühzeitig identifizieren zu können^{3,4}. Dabei sind Plasma-Biomarker Zeit und Kosten sparend, minimal invasiv und werden von Patient*innen gut toleriert^{5,6}.

Ziel dieser Studie war es, zu prüfen, ob die Plasma-Biomarker A β 42, A β 40, pTau181, tTau und NFL bei der Unterscheidung der diagnostischen Gruppen DAT, MCI und SCD in einer routinemäßigen Gedächtnisklinik außerhalb eines hoch standardisierten Forschungsrahmens anwendbar sind.

Die mit der Simoa-Technologie analysierten Plasma-Biomarker konnten in einer Untersuchung außerhalb spezifischer Forschungsbedingungen zwischen verschiedenen Diagnosegruppen unterscheiden. Dabei wick die diagnostische Trennschärfe der unterschiedlichen Biomarker voneinander ab.

4.1 Diagnostische Leistung der Amyloid-Biomarker im Plasma

Für die Konzentration von A β 42 lag der Mittelwert für SCD bei 13,2 pg/ml, für MCI bei 12,4 pg/ml und für DAT bei 13,0 pg/ml. Die Mittelwerte waren nicht signifikant unterschiedlich. Die Plasmawerte waren bei männlichen und weiblichen Patient*innen vergleichbar. In der Standarddiagnostik geht eine Abnahme des Liquor A β 42 mit einer DAT einher^{71,72}. Schon früh gab es widersprüchliche Hinweise auf mögliche Veränderungen von A β 42 im Plasma während des Krankheitsverlaufs, wobei A β 42 in einigen Studien nicht in der Lage war, im Querschnitt zwischen DAT und Kontrollen zu unterscheiden^{4,74,75}. Eine Unterscheidung der Diagnosegruppen mittels A β 42 war auch in dieser Untersuchung nicht möglich. Das Alter zum Untersuchungszeitpunkt hatte einen signifikanten Einfluss auf Plasma A β 42. Ein Zusammenhang zwischen dem Alter und A β konnte in vorherigen Untersuchungen bereits nachgewiesen werden^{120,121}.

Plasma A β 40 wies bei Patient*innen mit SCD und MCI geringere Werte als bei Patient*innen mit DAT auf. Mit 278,8 pg/ml wies die Gruppe SCD den niedrigsten mittleren Wert auf, wohingegen DAT mit 313,9 pg/ml den höchsten mittleren Wert zeigte. Im Plasma zeigten sich bisher inkonsistente Ergebnisse für die diagnostische Trennschärfe von A β 40. Teilweise konnte der selbe Effekt im Plasma wie auch im Liquor nachgewiesen werden^{84,122}, teilweise gab es aber keinen Unterschied zwischen den Plasmawerten bei DAT und Kontrollen¹²³.

Die Konzentration von Plasma A β 40 war in der vorliegenden Untersuchung zwischen den Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Die unzureichende Unterscheidung zwischen Diagnosegruppen wurde bereits in anderen Studien beschrieben^{4,75}.

Hinzu kommt, dass A β im Zusammenhang mit Erkrankungen des vaskulären Systems, wie zum Beispiel dem Nachweis von White Matter Lesions oder einer ischämischen Herzkrankheit, nachgewiesen erhöht sein kann⁸⁴. Besonders ältere Patient*innen weisen oft multimorbide Erkrankungen auf. Komorbiditäten wie eine ischämische Herzerkrankung sind Erkrankungen, die Einfluss auf das periphere System haben können.

Die Mittelwerte der Plasma Ratio A β 42/A β 40 lagen bei Patient*innen mit SCD bei 0,045, bei Patient*innen mit MCI bei 0,042 und bei Patient*innen mit DAT bei 0,042. Die Mittelwerte waren nicht signifikant unterschiedlich. Die Ratio nahm mit Schweregrad der kognitiven Beeinträchtigung ab, wobei es keinen Unterschied zwischen den Geschlechtern gab. Diese Beobachtungen sind mit anderen Studienergebnissen, in denen die Ratio bei Patient*innen mit DAT niedriger war als in den Kontrollen, vereinbar^{78,83,84}.

Der Gruppenvergleich zeigte, dass der Unterschied nur zwischen den Diagnosegruppen SCD und DAT signifikant war. Darüber hinaus wies die Ratio A β 42/A β 40 in der vorliegenden Untersuchung eine schwache Güte als Testverfahren für die Abgrenzung einer objektivierbaren kognitiven Verschlechterung im Rahmen einer MCI oder DAT von einer SCD, für die Abgrenzung einer MCI von einer SCD und einer DAT von einer SCD auf. Die AUCs lagen zwischen 0,64 und 0,67. Die Ratio A β 42/A β 40 war bei SCD im Vergleich zu MCI und DAT höher, eine deutliche Unterscheidung zwischen MCI und DAT gab es nicht. Dies stimmt mit dem Modell überein, wonach die Amyloid-Ablagerungen in der frühen Phase der Krankheit ein Plateau erreichen¹⁸. Ein möglicher Cut-off-Wert zur Abgrenzung einer DAT von einer SCD war 0,048.

Zusammenfassend konnte in Übereinstimmung mit früheren Studien gezeigt werden, dass weder Plasma A β 42 noch A β 40 allein ausreichend gut zwischen den Gruppen unterscheiden können^{4,75}. Die Ratio A β 42/A β 40 war bei SCD im Vergleich zu MCI und DAT höher.

A β 42/A β 40 erreichte AUCs zwischen 0,64 und 0,67 und bot die beste Unterscheidung zwischen SCD und DAT. Mit AUCs <0,7 sind diese Ergebnisse von geringer klinischer Relevanz, könnten aber in Zukunft in Kombination mit zusätzlichen diagnostischen Markern von Bedeutung sein.

4.2 Diagnostische Leistung der Tau-Biomarker im Plasma

PTau181 zeigte höhere Werte in fortgeschritteneren Stadien der kognitiven Beeinträchtigung. Patient*innen mit SCD wiesen Mittelwerte von ca. 9,5 pg/ml auf, Patient*innen mit MCI ca. 17,2 pg/ml und Patient*innen mit DAT ca. 18,6 pg/ml. Dieser Effekt stimmt mit Erkenntnissen vorheriger Studien überein^{8,9,95,96}. Ein signifikanter Einfluss des Geschlechts auf die Plasma-Biomarker war nicht nachweisbar.

Der Gruppenvergleich zeigte, dass der Unterschied von pTau181 in den verschiedenen Diagnosegruppen signifikant war. Diese Erkenntnis deckt sich mit vorherigen Untersuchungen, in denen Plasma pTau181 eine ausreichend gute diagnostische Trennschärfe, auch in frühen Stadien, zeigte^{9,52,95–98}. Die AUCs für pTau181 lagen zwischen 0,69 und 0,85. PTau181 besaß eine schwache Trennschärfe zur Differenzierung von Patient*innen mit MCI und DAT von den objektiv unauffälligen Patient*innen mit SCD. Das bedeutet, pTau181 war bereits für die Unterscheidung objektivierbarer kognitiver Einschränkungen von nur subjektiver kognitiver Verschlechterung geeignet. Mittels Plasma pTau181 konnte außerdem eine Sensitivität von ca. 80% bei einer Spezifität von ca. 55% zur Unterscheidung einer MCI in Abgrenzung einer SCD erreicht werden. Somit kann pTau181 auch zwischen frühen Stadien der Erkrankung differenzieren. Es ist bekannt, dass MCI und SCD heterogene Syndrome sind²⁶. Die pathologische Erhöhung von Plasma pTau181 scheint bereits ausgeprägt genug um Patient*innen mit MCI ausreichend gut von Patient*innen mit SCD differenzieren zu können. Dies stimmt mit der Erkenntnis überein, dass pathophysiologische Merkmale einer AD schon im Stadium der SCD und MCI nachgewiesen werden können²⁷. Mit der Annahme, dass für den Erfolg zukünftiger Therapieverfahren vor allem der frühe Zeitpunkt der Diagnosestellung entscheidend ist, ist die Identifikation von Patient*innen in prodromalen Stadien von besonderer Bedeutung³. Plasma pTau181 ist für die Differenzierung in frühen Stadien geeignet und bietet die Chance, eine mögliche Erkrankung frühzeitig zu erkennen.

Die beste Trennschärfe wies pTau181 bei der Unterscheidung von SCD und DAT mit einer AUC von 0,85 auf. Hier konnte bei einer Sensitivität von 80% eine Spezifität von 79% erreicht werden. Im Hinblick auf die Zunahme der pathologischen Veränderungen mit dem Schweregrad der kognitiven Einschränkungen war die beste diagnostische Leistung des Plasma-Biomarkers bei der Unterscheidung zwischen SCD und DAT zu erwarten.

Hingegen bot pTau181 für die Unterscheidung einer DAT in Abgrenzung einer MCI nur eine schwache diagnostische Trennschärfe. Damit ist eine Abgrenzung möglich, jedoch von bedingter klinischer Relevanz. Auch dies stimmt mit der Erkenntnis überein, dass Patient*innen mit MCI bereits spezifische pathologische Merkmale einer AD aufweisen²⁶. Es ist demnach wahrscheinlich, dass sich die pathologischen Veränderungen der Diagnosegruppen MCI und DAT ähneln, es jedoch immer noch signifikante Unterschiede im Ausmaß der pathologischen Veränderungen gibt. Plasma pTau181 zeigte darüber hinaus eine ausgezeichnete Trennschärfe für die Abgrenzung einer DAT von einer SCD. Beispielsweise zeigte ein Cut-off-Wert von ca. 12 pg/ml eine Sensitivität von 80% bei einer Spezifität von 79%.

Es gab keinen Einfluss von Alter und Bildungsjahre auf Plasma pTau181. Auch wenn das mediane Alter des Studienkollektivs mit der Schwere der Diagnose anstieg, gab es keinen signifikanten Einfluss auf Plasma pTau181.

Ferner weisen andere Studien darauf hin, dass Plasma pTau181 zwischen einer DAT und anderen neurodegenerativen Erkrankungen unterscheiden kann und somit spezifisch für den Nachweis einer AD geeignet ist^{8,9}. In der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass Plasma pTau181 ein diagnostischer Marker für eine DAT und ihre Risikostadien ist, jedoch konnte keine Aussage über die Abgrenzung von anderen neurodegenerativen Erkrankungen getroffen werden.

Die Plasmawerte von tTau nahmen mit zunehmender Ausprägung der Diagnose leicht ab. Pathophysiologisch wurde vielmehr erwartet, dass Patient*innen mit AD höhere tTau Plasmawerte aufweisen. Als Kernbiomarker im Liquor weist ein erhöhtes tTau auf eine AD hin^{45,57}. Auch im Plasma zeigten sich teilweise Assoziationen von tTau und der Entwicklung einer DAT¹⁰⁵. DAT Patient*innen zeigten im Vergleich zu Kontrollen und MCI Patient*innen erhöhte Werte^{56,104–106}.

Plasma tTau konnte in dieser Studie nicht zwischen den Diagnosegruppen unterscheiden. Frühe Studien wiesen darauf hin, dass mittels tTau eine DAT von früheren Stadien unterschieden werden konnte^{56,104–106}. Andere Untersuchungen legen nahe, dass tTau kein geeigneter Biomarker für die Unterscheidung einer DAT von anderen Diagnosegruppen ist und stimmen mit den hiesigen Ergebnissen überein¹⁰⁶.

Die Ratio pTau181/A β 42 war bei Patient*innen mit DAT im Gegensatz zu MCI und SCD erhöht. Auch der Gruppenvergleich zeigte, dass es zwischen den Diagnosegruppen SCD und MCI sowie SCD und DAT signifikante Unterschiede gab. Es konnte bestätigt werden, dass sich die Ratio pTau181/A β 42 im Plasma zwischen den Gruppen unterscheidet. Dies konnte bereits im Liquor gezeigt werden¹⁰⁷.

Im Plasma wies pTau181/A β 42 eine diagnostische Trennschärfe zur Unterscheidung aller Gruppen auf. Dabei war pTau181/A β 42 für die Abgrenzung einer SCD von einer MCI gleich gut geeignet wie pTau181 allein. Für die anderen Zustandsvariablen war die Trennschärfe minimal schlechter als bei pTau181. Die Ratio aus pTau181 und A β 42 scheint die Fähigkeit zur Gruppenunterscheidung nicht zu verbessern.

Zusammenfassend unterschied Plasma pTau181 zwischen allen Gruppen und zeigte höhere Werte in fortgeschrittenen Stadien der Beeinträchtigung. PTau181 bot die beste Unterscheidung zwischen SCD und DAT und erreichte eine AUC von 0,85 und eine Spezifität von über 79% bei einer Sensitivität von 80%, konnte aber auch zwischen den frühen Stadien MCI und SCD differenzieren. TTau scheint anhand der vorliegenden Ergebnisse ein ungeeigneter Plasma-Biomarker zur Differenzierung der verschiedenen Diagnosegruppen zu sein. Die Ratio pTau181/A β 42 war pTau181 gegenüber nicht überlegen. Dies weist darauf hin, dass die Ratio die Fähigkeit zur Unterscheidung zwischen den Diagnosegruppen nicht verbessert.

4.3 Diagnostische Leistung des Biomarkers Neurofilament Light im Plasma

Die Plasmawerte von NFL stiegen mit dem Schweregrad der Diagnose an und waren bei DAT mit einem Mittelwert von 22,1 pg/ml deutlich höher als bei SCD und MCI mit Mittelwerten von 12,9 pg/ml und 14,5 pg/ml. Dieser Effekt stimmt mit Ergebnissen aus früheren Untersuchungen überein¹¹⁷.

Der Gruppenvergleich zeigte, dass sich Plasma NFL zwischen den Diagnosegruppen SCD und DAT stark sowie zwischen MCI und DAT mittelstark unterschied. Dies weist darauf hin, dass Plasma NFL ein geeigneter Marker zur Differenzierung der Diagnosegruppen ist. Frühere Untersuchungen bestätigten den Zusammenhang zwischen erhöhten NFL-Werten und einer DAT Diagnose¹¹⁷.

Die Analyse der Trennschärfe von NFL zeigte, dass NFL ausreichende gut zur Abgrenzung einer objektivierbaren kognitiven Verschlechterung im Rahmen einer MCI oder DAT von einer SCD sowie für die Abgrenzung einer MCI von einer DAT geeignet war. Darüber hinaus zeigte NFL eine ausgezeichnete Differenzierung einer DAT von einer SCD. Die AUCs lagen zwischen 0,70 und 0,81. Ein Cut-off-Wert von beispielsweise 12,7 pg/ml für die Unterscheidung von DAT und SCD würde bei ca. 80% der erkrankten Patient*innen ein positives Testergebnis anzeigen, während ca. 67% der gesunden Patient*innen auch ein negatives Ergebnis erhalten würden. Ähnlich gut wie Plasma pTau181 konnte auch NFL eine DAT von einer MCI abgrenzen. Bereits in vorherigen Studien konnte gezeigt werden, dass NFL zwischen frühen Stadien und einer DAT unterscheiden kann^{117,118}. NFL zeigte hingegen keine ausreichende

diagnostische Trennschärfe zur Unterscheidung einer MCI von einer SCD und eignete sich somit nicht zur Unterscheidung früher Stadien.

Darüber hinaus konnte ein signifikanter Zusammenhang des Alters und des Plasma NFLs nachgewiesen werden. Dies stimmt mit der Annahme überein, dass NFL vor allem ein Marker der Hirnatrophie und Neurodegeneration ist¹⁰⁹. NFL korrelierte zwar mit dem Alter, der insgesamt statistisch signifikante Unterschied zwischen den Diagnosegruppen blieb jedoch auch nach Adjustierung für das Alter bestehen.

Wie bereits in anderen Studien gezeigt werden konnte, scheint NFL als Marker der Neurodegeneration bei vielen anderen neurodegenerativen Erkrankungen erhöht zu sein¹¹⁴⁻¹¹⁶. Da in dem vorliegenden Fall keine vergleichende Analyse mit anderen neurodegenerativen Erkrankungen vorgenommen werden konnte, kann an dieser Stelle keine Aussage darüber getroffen werden, ob und wie gut mittels Plasma NFL zwischen diesen Erkrankungen unterschieden werden kann.

Plasma NFL ist ein geeigneter Marker zur Differenzierung einer DAT und ihrer Risikostadien. Im Gegensatz zu pTau181 konnte mittels NFL nicht zwischen den frühen Stadien SCD und MCI unterschieden werden.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass Plasma pTau181 und NFL sowie die Ratios A β 42/A β 40 und pTau181/A β 42 ausreichend robust sind, um diagnostische Gruppen mit begrenzter Stichprobengröße in einer Gedächtnisambulanz unterscheiden zu können.

4.4 Limitationen der vorliegenden Arbeit

Begrenzungen ergaben sich vor allem aus dem praxisnahen Studiendesign. Es wurden keine Liquor-Biomarker in die Analyse einbezogen, da die Anzahl der Liquor-Proben in der SCD-Gruppe und teilweise auch in der MCI-Gruppe aufgrund fehlender klinischer Empfehlung für die Standardanwendung in diesen Gruppen gering war. Darüber hinaus wurden die vorhandenen Liquor-Proben vor Ort im klinisch-diagnostischen Kontext gemessen, während die Plasma-Biomarker im Forschungskontext in einem Labor in Göteborg gemessen wurden. Es ist kein Vergleich von Plasma- und Liquor-Biomarkern möglich.

Hinzu kommt, dass es keine gesunde Kontrollgruppe gab, da die untersuchte Stichprobe ausschließlich aus Patient*innen der Gedächtnisambulanz bestand, die aufgrund von klinischen Symptomen in der Gedächtnisambulanz vorstellig wurden. Im Vorhinein wurden

weder Gruppengrößen noch Kontrollen festgelegt. Es handelte sich vielmehr um einen Querschnitt der in einer Gedächtnisambulanz vorstelligen Patient*innen in der klinischen Routine über einen Zeitraum von zwei Jahren.

Außerdem standen keine Längsschnittdaten zur Verfügung, da die vorliegenden Daten aus der Routineversorgung stammen, die keine systematische Verlaufskontrolle der Patient*innen vorsieht. Somit kann keine Aussagen über die Dynamik der Biomarker getroffen werden.

Eine weitere Limitation ergibt sich aus der neuartigen Simoa-Technologie. Diese ist zwar vielversprechend für eine breite Anwendung in der Routineversorgung in der Zukunft, wird derzeit aber hauptsächlich in der Forschung und noch nicht in der klinischen Praxis eingesetzt. Somit ist zum jetzigen Zeitpunkt unklar, wie die genaue Anwendung zur Bestimmung der Plasma-Biomarker in der Routine aussehen wird. Auch Messfehler können nicht ausgeschlossen werden. Vor allem im Zusammenhang mit der Probenentnahme und der Stauungszeit bis zur Abnahme, der Zeit bis zum Einfrieren, einer unkontrollierten Fastenzeit vor Abnahme und dem Zeitpunkt der Blutabnahme in der klinischen Routine können Fehler und eine variable Handhabung nicht ausgeschlossen werden.

Die verschiedenen Diagnosegruppen waren nicht gleich stark vertreten. Insbesondere die Gruppe SCD bestand mit nur 23% des Patientenkollektivs aus 33 Patient*innen. Die Gruppengröße schwächt die Aussagekraft der Evidenz. Die Patient*innen waren zwischen 42 und 90 Jahre alt. Aufgrund der mittleren Gruppengröße fand keine Unterscheidung zwischen Patient*innen mit frühem und spätem Beginn der DAT statt. Es kann keine valide Aussage über die Unterschiede in der Ausprägung der Biomarker bei jüngeren und älteren Patient*innen mit DAT getätigt werden.

Begrenzend kommt hinzu, dass die vorliegende Studie ausschließlich Patient*innen mit DAT und den Risikostadien MCI und SCD untersuchte. Andere neurodegenerative Erkrankungen wurden nicht eingeschlossen. Allein anhand dieser Untersuchung kann keine Aussage über die Spezifität der Plasma-Biomarker für AD getroffen werden. Mögliche Komorbiditäten wurden nicht in die Analyse miteinbezogen. Dabei ist nicht auszuschließen, dass diese einen Einfluss auf die gemessenen Plasma-Biomarker haben.

Da sich die vorliegende Studie aufgrund der geographischen Lage der Gedächtnisambulanz mit eine Stichprobe aus der überwiegend europäischen Bevölkerung beschäftigt, konnten keine Aussagen über ethnische Unterschiede der Konzentrationen der vorliegenden Plasma-Biomarker getroffen werden und eine Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere ethnische Gruppen ist nicht gewährleistet.

Zuletzt ist eine weitere Limitation des zugrundeliegenden Studiendesigns eine Diagnosestellung durch verschiedene Untersucher in der klinischen Routine. Die Daten der neuropsychologischen Testung entstammten den Untersuchungen bei erstmaliger Vorstellung der Patient*innen, welche in der Datenbank hinterlegt waren. Somit gab es keinen einheitlichen Untersucher. Jedoch folgte die neuropsychologische Testung mittels standardisierter Testanleitung, sowie die Anamneseerhebung mittels standardisiertem Aufnahmebogen, um die Interrater-Reliabilität zu reduzieren.

4.5 Stärken der vorliegenden Arbeit

Aus dem versorgungsnahen Design ergeben sich jedoch nicht nur Limitationen, sondern vor allem auch die Stärken der vorliegenden Arbeit. Das Studienkollektiv bestand aus Patient*innen einer Gedächtnisambulanz, die im klinischen Alltag vorstellig wurden. Es handelte sich also nicht um ein für die Forschung akquiriertes Studienkollektiv. Dabei gab es, bis auf die schriftliche Zustimmung durch die Patient*innen, keine weiteren Ein- oder Ausschlusskriterien. Aufgrund dessen wurden die Patient*innen ausgebildet, die sich in der klinischen Routine mit DAT, MCI oder SCD vorstellten und die im klinischen Alltag von den genannten Ergebnissen profitieren könnten. Darüber hinaus wurden die bekannten Plasma-Biomarker alle bei demselben Patientenkollektiv analysiert. Somit konnte mittels Vergleiches aller Biomarker eine Aussage darüber getroffen werden, wie geeignet die einzelnen Biomarker waren und ob eine Kombination den einzelnen Biomarkern überlegen war. Außerdem wurden neben DAT auch die Risikostadien untersucht. Insbesondere zu den Plasma-Biomarkern bei SCD gibt es bislang wenige Daten.

Insbesondere die Kombination des versorgungsnahen Designs, der Analyse der bekanntesten Plasma-Biomarker an einem Patientenkollektiv und der Einschluss der Risikostadien MCI und SCD neben DAT stellen die Stärken der Studie dar.

4.6 Ausblick

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass Plasma pTau181 und NFL sowie die Ratios A β 42/A β 40 und pTau181/A β 42 ausreichend robust sind, um diagnostische Gruppen mit begrenzter Stichprobengröße in einer Gedächtnisambulanz zu unterscheiden. In Übereinstimmung mit jüngsten Forschungsstudien erwies sich pTau181 als der vielversprechendste Biomarker, der zwischen allen drei Gruppen von SCD, MCI und DAT unterscheiden konnte. Dies

lässt auf einen potenziellen klinischen Nutzen in frühen symptomatischen Stadien schließen. Jedoch sind weitere Untersuchungen notwendig, bevor ein Einzug in die klinische Routine denkbar ist. Eine Analyse größerer Kohorten von Studienkollektiven aus Gedächtnisambulanzen, u.a. mit dem Einschluss einer gesunden Kontrollgruppe, und der Vergleich mit aktuellen Biomarkern wie Liquor-Biomarkern und Amyloid-PET-Untersuchungen ist anstrebenswert. Weiterführend sind Verlaufskontrollen von Patient*innen aus Gedächtnisambulanzen mit erneuter Bestimmung der Plasma-Biomarker interessant, um zusätzliche Informationen über die Dynamik der Biomarker erhalten zu können. Auch ein systematischer Vergleich der Plasma-Biomarker bei verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen kann zusätzliche Informationen über die Spezifität der Biomarker liefern. Um die Ergebnisse möglichst generalisieren zu können, ist die Untersuchung und der Vergleich verschiedener Ethnizitäten wichtig. Abschließend muss gezeigt werden, dass neuartige Bestimmungsmethoden, wie die Simoa-Technologie, auch in der klinischen Praxis in Routinelaboren eingesetzt werden können. Absehbar ist, dass die Einführung von Plasma-Biomarkern in die klinische Routine der Gedächtnisambulanzen und möglicherweise sogar in nicht spezialisierte und allgemeinmedizinische Einrichtungen die Zugänglichkeit zu Biomarker basierter Diagnostik erheblich verbessern wird.

5 Literaturverzeichnis

- 1 GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 2019; **18**: 459–80. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30499-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30499-X).
- 2 Bickel H. Das Wichtigste 1: Die Häufigkeit von Demenzerkrankungen. https://www.alzheimer-bayern.de/images/downloads/demenz/8_Zahlen/DAlzG_H%C3%A4ufigkeit_Stand_Juni_2018.pdf (accessed Oct 26, 2022).
- 3 Blennow K, Dubois B, Fagan AM, Lewczuk P, Leon MJ de, Hampel H. Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 2015; **11**: 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.02.004>.
- 4 Toledo JB, Vanderstichele H, Figurski M, et al. Factors affecting A β plasma levels and their utility as biomarkers in ADNI. *Acta Neuropathol* 2011; **122**: 401–13. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0861-8>.
- 5 Lista S, Faltraco F, Prvulovic D, Hampel H. Blood and plasma-based proteomic biomarker research in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology* 2013; **101-102**: 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.06.007>.
- 6 O'Bryant SE, Mielke MM, Rissman RA, et al. Blood-based biomarkers in Alzheimer disease: Current state of the science and a novel collaborative paradigm for advancing from discovery to clinic. *Alzheimer's & Dementia* 2017; **13**: 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.09.014>.
- 7 Verberk IMW, Slot RE, Verfaillie SCJ, et al. Plasma Amyloid as Prescreener for the Earliest Alzheimer Pathological Changes. *Ann Neurol*. 2018; **84**: 648–58. <https://doi.org/10.1002/ana.25334>.
- 8 Janelidze S, Mattsson N, Palmqvist S, et al. Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia. *Nature Medicine* 2020; **26**: 379–86. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0755-1>.
- 9 Karikari TK, Pascoal TA, Ashton NJ, et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts. *Lancet Neurol* 2020; **19**: 422–33. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30071-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30071-5).

- 10 Blotenberg I, Thyrian JR. Informationsblatt 1: Die Häufigkeit von Demenzerkrankungen. https://www.deutsche-alzheimer.de/fileadmin/Alz/pdf/factsheets/infoblatt1_haeufigkeit_demenzerkrankungen_dalzg.pdf (accessed Oct 26, 2022).
- 11 GBD 2016 Dementia Collaborators. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 2019; **18**: 88–106. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30403-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30403-4).
- 12 World Health Organization. The epidemiology and impact of dementia. Current state and future trends. http://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/en/ (accessed May 17, 2020).
- 13 Wimo A, Reed CC, Dodel R, et al. The GERAS Study: A Prospective Observational Study of Costs and Resource Use in Community Dwellers with Alzheimer's Disease in Three European Countries – Study Design and Baseline Findings. *Journal of Alzheimer's Disease* 2013; **36**: 385–99. <https://doi.org/10.3233/JAD-122392>.
- 14 Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, Psychosomatik und Nervenheilkund, Deutsche Gesellschaft für Neurologie. S3-Leitlinie "Demenzen". (Langversion – Januar 2016). AWMF-Resgister-Nr. 038-013. https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/038-013l_S3-Demenzen-2016-07.pdf (accessed Dec 10, 2020).
- 15 Blennow K, Leon MJ de, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *The Lancet* 2006; **368**: 387–403. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69113-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69113-7).
- 16 Wang Y, Mandelkow E. Tau in physiology and pathology. *Nature Reviews Neuroscience* 2016; **17**: 22–35. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.1>.
- 17 Zhao LN, Long H, Mu Y, Chew LY. The toxicity of amyloid β oligomers. *Int J Mol Sci* 2012; **13**: 7303–27. <https://doi.org/10.3390/ijms13067303>.
- 18 Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TLS, et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2012; **367**: 795–804. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1202753>.
- 19 Gordon BA, Blazey TM, Su Y, et al. Spatial patterns of neuroimaging biomarker change in individuals from families with autosomal dominant Alzheimer's disease: a longitudinal study. *Lancet Neurol* 2018; **17**: 241–50. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30028-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30028-0).

- 20 Jack, Clifford R, Jr, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 2018; **14**: 535–62. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>.
- 21 Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS* 2010; **5**: 463–66. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177>.
- 22 Jessen F, Amariglio RE, van Boxtel M, et al. A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 2014; **10**: 844–52. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.01.001>.
- 23 Slot RER, Sikkes SAM, Berkhof J, et al. Subjective cognitive decline and rates of incident Alzheimer's disease and non-Alzheimer's disease dementia. *Alzheimer's & Dementia* 2019; **15**: 465–76. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.10.003>.
- 24 Stone J, Pal S, Blackburn D, Reuber M, Thekkumpurath P, Carson A. Functional (Psychogenic) Cognitive Disorders: A Perspective from the Neurology Clinic. *J Alzheimers Dis* 2015; **48 Suppl 1**: S5-S17. <https://doi.org/10.3233/JAD-150430>.
- 25 Janssen O, Jansen WJ, Vos SJ, et al. Characteristics of subjective cognitive decline associated with amyloid positivity. *Alzheimer's & Dementia* 2022; **18**: 1832–45. <https://doi.org/10.1002/alz.12512>.
- 26 Blennow K. A Review of Fluid Biomarkers for Alzheimer's Disease: Moving from CSF to Blood. *Neurology and Therapy* 2017; **6**: 15–24. <https://doi.org/10.1007/s40120-017-0073-9>.
- 27 Andreasen N, Minthon L, Vanmechelen E, et al. Cerebrospinal fluid tau and Abeta42 as predictors of development of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Neurosci Lett* 1999; **273**: 5–8. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(99\)00617-5](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(99)00617-5).
- 28 Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of Internal Medicine* 2004; **256**: 183–94. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01388.x>.
- 29 Persson CM, Wallin AK, Levander S, Minthon L. Changes in cognitive domains during three years in patients with Alzheimer's disease treated with donepezil. *BMC Neurol* 2009; **9**: 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-9-7>.

- 30 Ito K, Ahadiel S, Corrigan B, French J, Fullerton T, Tensfeldt T. Disease progression meta-analysis model in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 2010; **6**: 39–53. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2009.05.665>.
- 31 Cummings J, Zhou Y, Lee G, Zhong K, Fonseca J, Cheng F. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2023. *Alzheimers Dement (N Y)* 2023; **9**: e12385. <https://doi.org/10.1002/trc2.12385>.
- 32 van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, et al. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* 2023; **388**: 9–21. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2212948>.
- 33 FDA Office of Media Affairs. FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer's Drug, 2021.
- 34 FDA Office of Media Affairs. FDA Grants Accelerated Approval for Alzheimer's Disease Treatment, 2023.
- 35 Eisai Co., Ltd. LECANEMAB CONFIRMATORY PHASE 3 CLARITY AD STUDY MET PRIMARY ENDPOINT, SHOWING HIGHLY STATISTICALLY SIGNIFICANT REDUCTION OF CLINICAL DECLINE IN LARGE GLOBAL CLINICAL STUDY OF 1,795 PARTICIPANTS WITH EARLY ALZHEIMER'S DISEASE. 28.09.2022.
- 36 Eli Lilly and Company. Lilly's Donanemab Significantly Slowed Cognitive and Functional Decline in Phase 3 Study of Early Alzheimer's Disease, 2023.
- 37 GlobeNewswire. Biogen Completes Submission of Biologics License Application to FDA for Aducanuman as a Treatment for Alzheimer's Disease, 2020.
- 38 Monsch AU, Kressig RW. Specific care program for the older adults: Memory Clinics. *European Geriatric Medicine* 2010; **1**: 128–31. <https://doi.org/10.1016/j.eur-ger.2010.03.006>.
- 39 Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med* 2018; **284**: 643–63. <https://doi.org/10.1111/joim.12816>.
- 40 Frisoni GB, Boccardi M, Barkhof F, et al. Strategic roadmap for an early diagnosis of Alzheimer's disease based on biomarkers. *Lancet Neurol* 2017; **16**: 661–76. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30159-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30159-X).

- 41 Shea Y-F, Barker W, Greig-Gusto MT, Loewenstein DA, Duara R, DeKosky ST. Impact of Amyloid PET Imaging in the Memory Clinic: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Alzheimer's Disease* 2018; **64**: 323–35. <https://doi.org/10.3233/JAD-180239>.
- 42 Graham H. Beastall, Ian D. Watson. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: an appreciation. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2013; **51**: 3–4. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0546>.
- 43 Beach TG, Monsell SE, Phillips LE, Kukull W. Accuracy of the clinical diagnosis of Alzheimer disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005-2010. *J Neuropathol Exp Neurol* 2012; **71**: 266–73. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31824b211b>.
- 44 Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003; **2**: 605–13. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00530-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00530-1).
- 45 Olsson B, Lautner R, Andreasson U, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2016; **15**: 673–84. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00070-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00070-3).
- 46 Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, et al. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol*. 2009; **65**: 403–13. <https://doi.org/10.1002/ana.21610>.
- 47 Blennow K, Mattsson N, Schöll M, Hansson O, Zetterberg H. Amyloid biomarkers in Alzheimer's disease. *Trends in Pharmacological Sciences* 2015; **36**: 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.03.002>.
- 48 Palmqvist S, Zetterberg H, Mattsson N, et al. Detailed comparison of amyloid PET and CSF biomarkers for identifying early Alzheimer disease. *Neurology* 2015; **85**: 1240–49. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001991>.
- 49 Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin ÅK, Blennow K, Hansson O. Cerebrospinal Fluid Levels of β -Amyloid 1-42, but Not of Tau, Are Fully Changed Already 5 to 10 Years Before the Onset of Alzheimer Dementia. *Arch Gen Psychiatry* 2012; **69**: 98–106. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.155>.
- 50 Muñoz SS, Garner B, Ooi L. Understanding the Role of ApoE Fragments in Alzheimer's Disease. *Neurochem Res* 2019; **44**: 1297–305. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2629-1>.

- 51 Costerus JM, Brouwer MC, van de Beek D. Technological advances and changing indications for lumbar puncture in neurological disorders. *Lancet Neurol* 2018; **17**: 268–78. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30033-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30033-4).
- 52 Schöll M, Maass A, Mattsson N, et al. Biomarkers for tau pathology. *Molecular and Cellular Neuroscience* 2019; **97**: 18–33. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2018.12.001>.
- 53 Wittenberg R, Knapp M, Karagiannidou M, Dickson J, Schott J. Economic impacts of introducing diagnostics for mild cognitive impairment Alzheimer's disease patients. *Alzheimers Dement (N Y)* 2019; **5**: 382–87. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2019.06.001>.
- 54 Bocchetta M, Galluzzi S, Kehoe PG, et al. The use of biomarkers for the etiologic diagnosis of MCI in Europe: an EADC survey. *Alzheimer's & Dementia* 2015; **11**: 195-206.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.06.006>.
- 55 Hausner L, Frölich L, Arnim CAF von, et al. Gedächtnisambulanzen in Deutschland – strukturell-organisatorische Voraussetzungen und Aufgabenfelder. *Der Nervenarzt* 2021; **92**: 708–15. <https://doi.org/10.1007/s00115-020-01007-7>.
- 56 Zetterberg H, Wilson D, Andreasson U, et al. Plasma tau levels in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2013; **5**: 9. <https://doi.org/10.1186/alzrt163>.
- 57 Sjögren M, Vanderstichele H, Ågren H, et al. Tau and A β 42 in Cerebrospinal Fluid from Healthy Adults 21–93 Years of Age: Establishment of Reference Values. *Clin Chem* 2001; **47**: 1776–81. <https://doi.org/10.1093/clinchem/47.10.1776>.
- 58 Song F, Poljak A, Valenzuela M, Mayeux R, Smythe GA, Sachdev PS. Meta-analysis of plasma amyloid- β levels in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2011; **26**: 365–75. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-101977>.
- 59 Altuna-Azkargorta M, Mendioroz-Iriarte M. Blood biomarkers in Alzheimer's disease. *Neurologia (Engl Ed)* 2021; **36**: 704–10. <https://doi.org/10.1016/j.nrleng.2018.03.006>.
- 60 Teunissen CE, Verberk IMW, Thijssen EH, et al. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: towards clinical implementation. *Lancet Neurol* 2022; **21**: 66–77. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00361-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00361-6).
- 61 Rissin DM, Kan CW, Campbell TG, et al. Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. *Nat Biotechnol* 2010; **28**: 595–99. <https://doi.org/10.1038/nbt.1641>.

- 62 Simrén J, Leuzy A, Karikari TK, et al. The diagnostic and prognostic capabilities of plasma biomarkers in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 2021; **17**: 1145–56. <https://doi.org/10.1002/alz.12283>.
- 63 Chatterjee P, Pedrini S, Ashton NJ, et al. Diagnostic and prognostic plasma biomarkers for preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 2022; **18**: 1141–54. <https://doi.org/10.1002/alz.12447>.
- 64 Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K. Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985; **82**: 4245–49. <https://doi.org/10.1073/pnas.82.12.4245>.
- 65 Masters CL, Bateman R, Blennow K, Rowe CC, Sperling RA, Cummings JL. Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers* 2015; **1**: 15056. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.56>.
- 66 Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, et al. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987; **325**: 733–36. <https://doi.org/10.1038/325733a0>.
- 67 De-Paula VJ, Radanovic M, Diniz BS, Forlenza OV. Alzheimer's disease. *Subcell Biochem* 2012; **65**: 329–52. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5416-4_14.
- 68 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; **13**: 45–53. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90458-8](https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90458-8).
- 69 Koffie RM, Meyer-Luehmann M, Hashimoto T, et al. Oligomeric amyloid beta associates with postsynaptic densities and correlates with excitatory synapse loss near senile plaques. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**: 4012–17. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811698106>.
- 70 Ashe KH, Zahs KR. Probing the biology of Alzheimer's disease in mice. *Neuron* 2010; **66**: 631–45. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.04.031>.
- 71 Olsson B, Lautner R, Andreasson U, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2016; **15**: 673–84. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00070-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00070-3).
- 72 Molinuevo JL, Blennow K, Dubois B, et al. The clinical use of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's

- Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimer's & Dementia* 2014; **10**: 808–17.
<https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.03.003>.
- 73 Andreasen N, Hesse C, Davidsson P, et al. Cerebrospinal fluid beta-amyloid(1-42) in Alzheimer disease: differences between early- and late-onset Alzheimer disease and stability during the course of disease. *Archives of Neurology* 1999; **56**: 673–80.
<https://doi.org/10.1001/archneur.56.6.673>.
- 74 Schupf N, Tang MX, Fukuyama H, et al. Peripheral Aβ subtypes as risk biomarkers of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; **105**: 14052–57.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0805902105>.
- 75 Feinkohl I, Schipke CG, Kruppa J, et al. Plasma Amyloid Concentration in Alzheimer's Disease: Performance of a High-Throughput Amyloid Assay in Distinguishing Alzheimer's Disease Cases from Controls. *Journal of Alzheimer's Disease* 2020; **74**: 1285–94. <https://doi.org/10.3233/JAD-200046>.
- 76 Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, et al. High performance plasma amyloid-β biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature* 2018; **554**: 249–54. <https://doi.org/10.1038/nature25456>.
- 77 Shahpasand-Kroner H, Klafki H-W, Bauer C, et al. A two-step immunoassay for the simultaneous assessment of Aβ₃₈, Aβ₄₀ and Aβ₄₂ in human blood plasma supports the Aβ₄₂/Aβ₄₀ ratio as a promising biomarker candidate of Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2018; **10**: 121. <https://doi.org/10.1186/s13195-018-0448-x>.
- 78 Vogelgsang J, Shahpasand-Kroner H, Vogelgsang R, Streit F, Vukovich R, Wiltfang J. Multiplex immunoassay measurement of amyloid-β(42) to amyloid-β(40) ratio in plasma discriminates between dementia due to Alzheimer's disease and dementia not due to Alzheimer's disease. *Exp Brain Res* 2018; **236**: 1241–50. <https://doi.org/10.1007/s00221-018-5210-x>.
- 79 Schindler SE, Bollinger JG, Ovod V, et al. High-precision plasma β-amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis. *Neurology* 2019; **93**: e1647-e1659.
<https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000008081>.
- 80 Giudici KV, Souto Barreto P de, Guyonnet S, Li Y, Bateman RJ, Vellas B. Assessment of Plasma Amyloid-β₄₂/40 and Cognitive Decline Among Community-Dwelling Older

- Adults. *JAMA Netw Open* 2020; **3**: e2028634. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.28634>.
- 81 Brickman AM, Manly JJ, Honig LS, et al. Plasma p-tau181, p-tau217, and other blood-based Alzheimer's disease biomarkers in a multi-ethnic, community study. *Alzheimer's & Dementia* 2021; **17**: 1353–64. <https://doi.org/10.1002/alz.12301>.
- 82 Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT, JR. The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry* 1993; **32**: 4693–97. <https://doi.org/10.1021/bi00069a001>.
- 83 Graff-Radford NR, Crook JE, Lucas J, et al. Association of low plasma Abeta42/Abeta40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Archives of Neurology* 2007; **64**: 354–62. <https://doi.org/10.1001/archneur.64.3.354>.
- 84 Janelidze S, Stomrud E, Palmqvist S, et al. Plasma β -amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci Rep* 2016; **6**: 26801. <https://doi.org/10.1038/srep26801>.
- 85 Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; **72**: 1858–62. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.5.1858>.
- 86 Gendron TF, Petrucelli L. The role of tau in neurodegeneration. *Mol Neurodegener* 2009; **4**: 13. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-4-13>.
- 87 Kolarova M, García-Sierra F, Bartos A, Ricny J, Ripova D. Structure and pathology of tau protein in Alzheimer disease. *Int J Alzheimers Dis* 2012; **2012**: 731526. <https://doi.org/10.1155/2012/731526>.
- 88 Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Quinlan M, Tung YC, Zaidi MS, Wisniewski HM. Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem* 1986; **261**: 6084–89.
- 89 Gong C-X, Iqbal K. Hyperphosphorylation of microtubule-associated protein tau: a promising therapeutic target for Alzheimer disease. *Curr Med Chem* 2008; **15**: 2321–28. <https://doi.org/10.2174/092986708785909111>.
- 90 Hampel H, Buerger K, Zinkowski R, et al. Measurement of phosphorylated tau epitopes in the differential diagnosis of Alzheimer disease: a comparative cerebrospinal fluid study. *Arch Gen Psychiatry* 2004; **61**: 95–102. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.61.1.95>.

- 91 Hesse C, Rosengren L, Andreasen N, et al. Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neurosci Lett* 2001; **297**: 187–90. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(00\)01697-9](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(00)01697-9).
- 92 Skillbäck T, Rosén C, Asztely F, Mattsson N, Blennow K, Zetterberg H. Diagnostic Performance of Cerebrospinal Fluid Total Tau and Phosphorylated Tau in Creutzfeldt-Jakob Disease: Results From the Swedish Mortality Registry. *JAMA Neurol* 2014; **71**: 476–83. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.6455>.
- 93 Hesse C, Fressengeas N, Wolfersberger D, Kugel G. Self-focusing of a continuous laser beam in KNbO₃ in the presence of an externally applied electric field. *Optical Materials* 2001; **18**: 187–90. [https://doi.org/10.1016/S0925-3467\(01\)00164-1](https://doi.org/10.1016/S0925-3467(01)00164-1).
- 94 Öst M, Nylén K, Csajbok L, et al. Initial CSF total tau correlates with 1-year outcome in patients with traumatic brain injury. *Neurology* 2006; **67**: 1600. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000242732.06714.0f>.
- 95 Mielke MM, Hagen CE, Xu J, et al. Plasma phospho-tau₁₈₁ increases with Alzheimer's disease clinical severity and is associated with tau- and amyloid-positron emission tomography. *Alzheimer's & Dementia* 2018; **14**: 989–97. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.013>.
- 96 Yang C-C, Chiu M-J, Chen T-F, Chang H-L, Liu B-H, Yang S-Y. Assay of Plasma Phosphorylated Tau Protein (Threonine 181) and Total Tau Protein in Early-Stage Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 2018; **61**: 1323–32. <https://doi.org/10.3233/JAD-170810>.
- 97 Tatebe H, Kasai T, Ohmichi T, et al. Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome. *Mol Neurodegener* 2017; **12**: 63. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0206-8>.
- 98 Thijssen EH, La Joie R, Wolf A, et al. Diagnostic value of plasma phosphorylated tau₁₈₁ in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Nature Medicine* 2020; **26**: 387–97. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0762-2>.
- 99 Karikari TK, Ashton NJ, Brinkmalm G, et al. Blood phospho-tau in Alzheimer disease: analysis, interpretation, and clinical utility. *Nature Reviews Neurology* 2022; **18**: 400–18. <https://doi.org/10.1038/s41582-022-00665-2>.

- 100 Moscoso A, Grothe MJ, Ashton NJ, et al. Longitudinal Associations of Blood Phosphorylated Tau181 and Neurofilament Light Chain With Neurodegeneration in Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* 2021; **78**: 396–406. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.4986>.
- 101 Leuzy A, Mattsson-Carlsson N, Palmqvist S, Janelidze S, Dage JL, Hansson O. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med* 2022; **14**: e14408. <https://doi.org/10.15252/emmm.202114408>.
- 102 Barthélemy NR, Horie K, Sato C, Bateman RJ. Blood plasma phosphorylated-tau isoforms track CNS change in Alzheimer's disease. *J Exp Med* 2020; **217**. <https://doi.org/10.1084/jem.20200861>.
- 103 Palmqvist S, Janelidze S, Quiroz YT, et al. Discriminative Accuracy of Plasma Phospho-tau217 for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders. *JAMA* 2020; **324**: 772–81. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.12134>.
- 104 Tzen K-Y, Yang S-Y, Chen T-F, et al. Plasma A β but Not Tau is Related to Brain PiB Retention in Early Alzheimer's Disease. *ACS Chem Neurosci* 2014; **5**: 830–36. <https://doi.org/10.1021/cn500101j>.
- 105 Pase MP, Beiser AS, Himali JJ, et al. Assessment of Plasma Total Tau Level as a Predictive Biomarker for Dementia and Related Endophenotypes. *JAMA Neurol* 2019; **76**: 598–606. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.4666>.
- 106 Mattsson N, Zetterberg H, Janelidze S, et al. Plasma tau in Alzheimer disease. *Neurology* 2016; **87**: 1827–35. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003246>.
- 107 Hansson O, Seibyl J, Stomrud E, et al. CSF biomarkers of Alzheimer's disease concord with amyloid- β PET and predict clinical progression: A study of fully automated immunoassays in BioFINDER and ADNI cohorts. *Alzheimer's & Dementia* 2018; **14**: 1470–81. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.01.010>.
- 108 Fuchs E, Cleveland DW. A Structural Scaffolding of Intermediate Filaments in Health and Disease. *Science* 1998; **279**: 514. <https://doi.org/10.1126/science.279.5350.514>.
- 109 Petzold A. Neurofilament phosphoforms: Surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss. *Journal of the Neurological Sciences* 2005; **233**: 183–98. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2005.03.015>.

- 110 Bacioglu M, Maia LF, Preische O, et al. Neurofilament Light Chain in Blood and CSF as Marker of Disease Progression in Mouse Models and in Neurodegenerative Diseases. *Neuron* 2016; **91**: 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.05.018>.
- 111 Brureau A, Blanchard-Bregeon V, Pech C, et al. NF-L in cerebrospinal fluid and serum is a biomarker of neuronal damage in an inducible mouse model of neurodegeneration. *Neurobiology of Disease* 2017; **104**: 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.04.007>.
- 112 Preische O, Schultz SA, Apel A, et al. Serum neurofilament dynamics predicts neurodegeneration and clinical progression in presymptomatic Alzheimer’s disease. *Nature Medicine* 2019; **25**: 277–83. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0304-3>.
- 113 Ebenau JL, Pelkmans W, Verberk IMW, et al. Association of CSF, Plasma, and Imaging Markers of Neurodegeneration With Clinical Progression in People With Subjective Cognitive Decline. *Neurology* 2022; **98**: e1315-e1326. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000200035>.
- 114 Barro C, Benkert P, Disanto G, et al. Serum neurofilament as a predictor of disease worsening and brain and spinal cord atrophy in multiple sclerosis. *Brain* 2018; **141**: 2382–91. <https://doi.org/10.1093/brain/awy154>.
- 115 Rojas JC, Karydas A, Bang J, et al. Plasma neurofilament light chain predicts progression in progressive supranuclear palsy. *Ann Clin Transl Neurol* 2016; **3**: 216–25. <https://doi.org/10.1002/acn3.290>.
- 116 Lu C-H, Macdonald-Wallis C, Gray E, et al. Neurofilament light chain: A prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 2015; **84**: 2247–57. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001642>.
- 117 Mattsson N, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K, Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative. Association of Plasma Neurofilament Light With Neurodegeneration in Patients With Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* 2017; **74**: 557–66. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.6117>.
- 118 Giacomucci G, Mazzeo S, Bagnoli S, et al. Plasma neurofilament light chain as a biomarker of Alzheimer’s disease in Subjective Cognitive Decline and Mild Cognitive Impairment. *J Neurol* 2022; **269**: 4270–80. <https://doi.org/10.1007/s00415-022-11055-5>.

- 119 Mielke MM, Syrjanen JA, Blennow K, et al. Plasma and CSF neurofilament light: Relation to longitudinal neuroimaging and cognitive measures. *Neurology* 2019; **93**: e252-e260. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000007767>.
- 120 Li H, Zhu H, Wallack M, et al. Age and its association with low insulin and high amyloid- β peptides in blood. *J Alzheimers Dis* 2016; **49**: 129–37. <https://doi.org/10.3233/JAD-150428>.
- 121 Lue L-F, Pai M-C, Chen T-F, et al. Age-Dependent Relationship Between Plasma A β 40 and A β 42 and Total Tau Levels in Cognitively Normal Subjects. *Front Aging Neurosci* 2019; **11**: 222. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00222>.
- 122 Hanon O, Vidal J-S, Lehmann S, et al. Plasma amyloid levels within the Alzheimer's process and correlations with central biomarkers. *Alzheimer's & Dementia* 2018; **14**: 858–68. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.01.004>.
- 123 Fišar Z, Jiráček R, Zvěřová M, et al. Plasma amyloid beta levels and platelet mitochondrial respiration in patients with Alzheimer's disease. *Clin Biochem* 2019; **72**: 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.04.003>.

6 Vorabveröffentlichung von Ergebnissen

Gerards M, Schild AK, Meiberth D, Rostamzadeh A, Vehreschild JJ, Wingen-Heimann S, Johannis W, Martino Adami P, Onur OA, Ramirez A, Karikari TK, Ashton NJ, Zetterberg H, Blennow K, Maier F, Jessen F. Alzheimer's Disease Plasma Biomarkers Distinguish Clinical Diagnostic Groups in Memory Clinic Patients. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2022;51(2):182-192. doi: 10.1159/000524390. Epub 2022 May 3. PMID: 35504263.