

ΚΛΑΣΣΙΚΟΙ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ ALZHEIMER ΣΤΟ ΠΛΑΣΜΑ. ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΜΑΣΤΕ ΣΗΜΕΡΑ;

Γεώργιος Παρασκευάς*, Ιωάννα Τσαντζαλή*, Ελένη Σιδερά, Αικατερίνη Θεοδώρου, Αντώνης Μαυρόματος, Βασιλική Κότσαλη-Πετεινέλλη, Κωνσταντίνος Βουμβουράκης

Β' Νευρολογική Κλινική Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικόν»

* Και οι δύο συγγραφείς συμμετείχαν εξίσου στη δημιουργία του παρόντος άρθρου

Περίληψη

Οι βιοδείκτες της νόσου Alzheimer στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (αμυλοειδές Αβ, υπερφωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη τ και ολική πρωτεΐνη τ) αποτελούν χρήσιμο βοήθημα στην διαφορική διαγνωστική της νόσου και έχουν ενσωματωθεί σε πολλά διαγνωστικά κριτήρια. Ο προσδιορισμός των ίδιων βιοδεικτών στο πλάσμα αποφεύγει την σχετικώς παρεμβατική οσφυονωτιαία παρακέντηση και την πιθανή, έστω βραχεία, νοσηλεία, και επιτρέπει ακόμα και πολλαπλές επαναλήψεις αν κριθεί απαραίτητη η παρακολούθηση, ή για επανέλεγχο αμφίβολων αποτελεσμάτων. Τα μέχρι τώρα δεδομένα, αν και όχι πολλά, υποστηρίζουν ότι η υπερφωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη τ (τ_{p-181}) στο πλάσμα παρουσιάζει υψηλή διαγνωστική αξία παρόμοια με αυτή του εγκεφαλονωτιαίου υγρού με ικανοποιητικό διαχωρισμό από άλλα αίτια άνοιας, ενώ τα επίπεδα αμυλοειδούς πλάσματος (λόγος $A\beta_{42}/A\beta_{40}$) αποτελούν εξαιρετικό δείκτη του αμυλοειδικού φορτίου στον εγκέφαλο, ικανοποιητικό υποκατάστατο της τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων και, ενδεχομένως, ικανοποιητική εξέταση ελέγχου (screening). Αρκετές μελέτες χρειάζονται ακόμα, κυρίως για την βελτιστοποίηση της μεθοδολογίας προσδιορισμού των βιοδεικτών του πλάσματος, την βελτιστοποίηση της διαγνωστικής τους αξίας, ιδιαίτερα μέσω συνδυασμού αυτών και την οικονομικά προσιτή διάδοση της χρήσης τους στην καθημερινή πρακτική.

Λέξεις ευρητηρίου: νόσος Alzheimer, αμυλοειδές Αβ, υπερφωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη τ, ολική πρωτεΐνη τ, βιοδείκτες πλάσματος

CLASSICAL ALZHEIMER'S DISEASE BIOMARKERS IN PLASMA. CURRENT STATUS

George P. Paraskevas, Ioanna Tsantzali, Eleni Sideri, Ekaterini Theodorou, Antonis Mavromatos, Vasiliki Kotsali-Peteinelli, Konstantinos Voumvourakis

2nd Department of Neurology, National and Kapodistrian University of Athens, Medical School, «Attikon» General University Hospital

Abstract

Cerebrospinal fluid (CSF) levels of amyloid peptide Aβ, phospho-tau protein and total tau protein are currently considered as the 3 established (core) biomarkers for Alzheimer's disease (AD). They have been incorporated in various diagnostic criteria as a useful tool in the (differential) diagnosis of AD. Assessment of the same biomarkers in plasma does not require the relatively invasive lumbar puncture and allows sampling in the community, storing of larger quantities of plasma, testing a larger spectrum of analytes and repeated testing when this is considered necessary for follow up and for marginal or conflicting results. Data so far indicate that plasma phospho-tau (τ_{p-181}) offers a high diagnostic value, similar to that of CSF τ_{p-181} , with a very good discrimination between AD and other dementia disorders. Plasma amyloid, in the form of the $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ ratio, seems to be very good predictor of brain amyloid burden and offers a useful screening tool and a good substitute of amyloid positron emission tomography. The above data are encouraging; however, further studies are needed for optimization of assessment methods for plasma biomarkers, optimization of their diagnostic value and for widespread availability in every day practice.

Key words: Alzheimer's disease, amyloid peptide Aβ, phospho-tau, total tau, plasma biomarkers

1. Εισαγωγή

Οι συγκεντρώσεις στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) του β αμιλοειδικού πεπτιδίου με 42 αμινοξέα ($A\beta_{42}$), της πρωτεΐνης τ φωσφορυλιωμένης στη θρεονίνη της θέσης 181 (τ_{p-181}) και της ολικής πρωτεΐνης τ (τ_T) θεωρούνται σήμερα ως κλασσικοί βιοδείκτες της νόσου Alzheimer (NA) [1]. Οι πρώτοι δύο αντανακλούν τους βασικούς παθοβιοχημικούς μηχανισμούς της NA, δηλαδή την εξωκυττάρια συσσώρευση αμιλοειδούς υπό μορφή αμιλοειδικών πλάκων και την υπερφωσφορυλίωση της πρωτεΐνης τ με ενδοκυττάρια συσσώρευση υπό μορφή νευροϊνδιακών βλαβών αντίστοιχα [2, 3], ενώ ο τρίτος αποτελεί μη ειδικό δείκτη νευρωνικής ή/και αξονικής εκφύλισης/καταστροφής [4]. Τα παραπάνω μόρια έχουν μελετηθεί εκτεταμένα τις τελευταίες 2 δεκαετίες και, με ειδικότητα και ευαισθησία που προσεγγίζει ή ξεπερνά το 90%, έχουν πλέον ενσωματωθεί σε διαγνωστικά κριτήρια [5] και συστάσεις [6], ως διαγνωστικά εργαλεία χρήσιμα για την (διαφορική) διάγνωση της NA εν ζώη. Πρόσφατα, εντάσσονται στα «πυρηνικά» χαρακτηριστικά για την αναγνώριση της NA *in vivo*, ως μια βιολογική παθολογική διαδικασία, ανεξάρτητα από το είδος, την βαρύτητα και την παρουσία ή απουσία, των συμπτωμάτων ενός ασθενούς σε μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή [7].

2. Γιατί βιοδείκτες αίματος;

Καθώς το ENY βρίσκεται σε στενή δομική και λειτουργική σχέση με το εξωκυττάριο/διάμεσο υγρό, θεωρείται ότι αντανακλά με σχετική ακρίβεια τις βιοχημικές διεργασίες που συμβαίνουν στον εγκέφαλο [8]. Ωστόσο για την δειγματοληψία ENY απαιτείται οσφυονωτιαία παρακέντηση (ΟΝΠ). Πρόκειται για διαδικασία ρουτίνας για τις νευρολογικές κλινικές, που συνήθως είναι καλά ανεκτή, με χαμηλό ποσοστό ανεπιθύμητων ενεργειών, η πιο συχνή από τις οποίες είναι η κεφαλαλγία [9]. Η χρησιμοποίηση μη τραυματικής βελόνης ελαττώνει την πιθανότητα κεφαλαλγίας [9] και, στο σύννηθες ηλικιακό φάσμα των ασθενών με νοντικές διαταραχές, το ποσοστό κεφαλαλγίας μετά από ΟΝΠ είναι <4.5% [10] ακόμα και όταν χρησιμοποιούνται οι κλασσικές βελόνες τύπου Quincke [11]. Παρ' όλα αυτά, η ΟΝΠ παραμένει μια σχετικώς παρεμβατική διαδικασία, που σπάνια εκτελείται από γιατρούς άλλων ειδικοτήτων, απαιτεί νοσοκομειακή νοσηλεία σε κάποιες χώρες ή ιδρύματα, αποτελεί συχνά πηγή φόβου ή ανησυχίας για τους ασθενείς και τους συγγενείς τους, ενώ και η ποσότητα του λαμβανόμενου ENY δεν είναι απεριόριστη. Από την άλλη μεριά η αιμοληψία είναι ουσιαστικά μια μη παρεμβατική διαδικασία, που δεν απαιτεί νοσηλεία, μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα, επιτρέπει την συλλογή σαφώς μεγαλύτερου δείγματος για τον προσδιορισμό πολύ περισσότερων ουσιών, ενώ και η επαναλαμβανόμενη αιμοληψία (για ερευνητικούς σκοπούς, για μακροχρόνια παρακολούθηση, ή για επαναξιολόγηση διαγνωστικά αμφίβολων

αποτελεσμάτων) δεν αποτελεί πρόβλημα και, σε κάθε περίπτωση, είναι μακράν πιο αποδεκτή από την επαναλαμβανόμενη ΟΝΠ.

Με βάση τα παραπάνω, τα τελευταία λίγα χρόνια, μεταξύ άλλων, οι κλασσικοί βιοδείκτες της NA δηλαδή $A\beta_{42}$, τ_{p-181} and τ_T στο αίμα (συνήθως πλάσμα, σπανιότερα ορός) έχουν αρχίσει να συγκεντρώνουν το ερευνητικό ενδιαφέρον αρκετών κέντρων [12, 13]. Έχει παρατηρηθεί, ότι στη NA οι δείκτες αυτοί μεταβάλλονται προς στην παθολογική κατεύθυνση στο πλάσμα σχεδόν ταυτόχρονα με το ENY και με καμπύλες μεταβολής παρόμοιες με αυτές του ENY [14]. Παρά την ποιοτική ομοιότητα των μεταβολών, ο βαθμός ποσοτικής μεταβολής προς στην παθολογική κατεύθυνση για το $A\beta_{42}$ (μείωση) και την τ_T (αύξηση) είναι μικρότερος στο πλάσμα σε σχέση με το ENY, όμως για την τ_{p-181} ο βαθμός αύξησης είναι παρόμοιος και στα δύο υγρά [14].

3. Επίπεδα αμιλοειδούς

Στατιστικώς σημαντική μείωση του $A\beta_{42}$ στο πλάσμα ασθενών με NA έχει παρατηρηθεί από τους Shin και συν. [15], χωρίς μεταβολή του $A\beta_{40}$ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Ωστόσο, ο λόγος $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ έκανε ακόμα πιο εμφανή την διαφορά. Ομοίως, η Janelidze και συν. [16] παρατήρησαν στο πλάσμα σημαντική μείωση του $A\beta_{42}$ και του λόγου $A\beta_{42}/A\beta_{40}$, χωρίς μεταβολή του $A\beta_{40}$. Προς στην ίδια κατεύθυνση με στατιστικώς σημαντικές διαφορές ήταν και τα ευρήματα δύο ακόμα μελετών [17, 18] όμως, ο λόγος $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ (αν και καλύτερος από μόνο το $A\beta_{42}$) παρουσίαζε μέτρια διαχωριστική ικανότητα μεταξύ σποραδικής προγεροντικής NA και φυσιολογικών υγείων ατόμων, με εμβασδόν κάτω από την καμπύλη ROC της τάξης του 0,76 και ευαισθησία και ειδικότητα, που δεν ξεπερνούσαν το 70% [17], λόγω ικανού βαθμού αλληλοεπικάλυψης τιμών μεταξύ NA και λοιπών ομάδων [16, 18]. Ωστόσο, με εξελιγμένες τεχνικές ανίχνευσης ακριβείας (multiplexed, densely aligned sensor array), ο λόγος $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ φαίνεται ότι μπορεί να φτάσει σε ικανά ποσοστά διαχωρισμού της NA από την ομάδα ελέγχου με εμβασδόν κάτω από την καμπύλη 0,925 και ευαισθησία και ειδικότητα της τάξης του 90% [19].

Ο λόγος $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ στο πλάσμα φαίνεται ότι προβλήπει το φορτίο αμιλοειδούς στον εγκέφαλο ανεξαρτήτως της παρουσίας ή απουσίας συμπτωμάτων άνοιας [18, 20, 21] γεγονός που μπορεί να αποδειχθεί χρήσιμο για την πρώιμη (στο προσυμπτωματικό στάδιο) διάγνωση της NA και την ένταξη ατόμων αυτού του σταδίου σε μελέτες νέων φαρμάκων. Ο παθολογικός λόγος $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ αναγνωρίζει την παρουσία αμιλοειδούς στον εγκέφαλο με εμβασδόν κάτω από την καμπύλη της τάξης του 0,88, που αυξάνει σε 0,94 αν προστεθεί και το APO E4, ενώ αναγνωρίζει την παρουσία αυξημένης phospho-tau στο ENY με εμβασδόν κάτω από την καμπύλη της τάξης του 0,85 [22]. Επίσης,

μειωμένα επίπεδα $A\beta_{42}$ συνδέονται με μειωμένο όγκο ιπποκάμπου και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης NA [23].

Δεν συμφωνούν όλες οι μελέτες με τα παραπάνω και οι Feinkohl και συν., δεν παρατηρούν στατιστικώς σημαντική διαφορά στο $A\beta_{42}$, $A\beta_{40}$ και $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ στο πλάσμα ασθενών με NA [24], ενώ, αντίθετα, 2 μελέτες βρίσκουν αυξημένο το $A\beta_{42}$ στο πλάσμα της NA σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [25, 26].

Στην πλειοψηφία τους οι προαναφερθείσες μελέτες χρησιμοποιούν πιο προηγμένη μεθοδολογία, όπως υπερευαίσθητες τεχνικές ανοσοπροσδιορισμού, φασματομετρία μάζας, Simoa (single molecule array), Luminex xMAP®, ή IMR (immunomagnetic reduction). Το γεγονός αυτό συνεπάγεται κάποια αύξηση του κόστους, καθώς η προϋπάρχουσα, χαμηλού κόστους τεχνική υποδομή της συνήθους ELISA, που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των κλασικών βιοδεικτών στο ENY, τις περισσότερες φορές δεν μπορεί να αξιοποιηθεί στο πλάσμα.

4. Επίπεδα υπερφωσφορυλιωμένης πρωτεΐνης τ

Η τ_{p-181} στο πλάσμα είναι αυξημένη στη NA κατά 3,5 φορές σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και η αύξηση αυτή είναι η μεγαλύτερη από κάθε άλλο βιοδείκτη [14, 27, 28, 29]. Τα επίπεδα στο πλάσμα συσχετίζονται ισχυρά και με τα επίπεδα στο ENY [14] και με το φορτίο εναπόθεσης πρωτεΐνης τ και αμυλοειδούς στον εγκέφαλο, όπως αυτό εκφράζεται με την τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων [27]. Σε ασυμπτωματικά άτομα η σε ήπια νοτική διαταραχή, η ανεύρεση υψηλών επιπέδων πλάσματος προμηνύει την μελλοντική εμφάνιση άνοιας τύπου Alzheimer [29].

Τα επίπεδα πλάσματος της τ_{p-181} έδειξαν σημαντική αξία για τον διαχωρισμό της NA από άλλες νευροεκφυλιστικές νόσους με εμβασμό κάτω από την καμπύλη της τάξης του 0,94-0,98 [29]. Ειδικά για ιστολογικά επιβεβαιωμένη μετωποκροταφική εκφύλιση το εμβασμό κάτω από την καμπύλη είναι της τάξης 0,88 [28]. Το ίδιο εμβασμό, για την αγγειακή άνοια είναι 0,92, για τη νόσο Parkinson ή ατροφία πολλαπλών συστημάτων 0,82 και για την προϊούσα υπερπυρηνική παράλυση ή φλοιοβασικό σύνδρομο 0,88 [30]. Η διαχωριστική αυτή ικανότητα φαίνεται σαφώς ανώτερη από αυτή του λόγου $A\beta_{42}/A\beta_{40}$, καθιστώντας την τ_{p-181} του πλάσματος πολλά υποσχόμενο βιοδείκτη, με διαγνωστική αξία παρόμοια με αυτήν της τ_{p-181} του ENY [31]. Και πάλι όμως χρησιμοποιείται υπερευαίσθητη τεχνική ανοσοπροσδιορισμού με ηλεκτροχημειοφωταύγεια, που έχει αναπτυχθεί και σταθμιστεί σε συγκεκριμένα κέντρα [27, 30] και δεν είναι επί του παρόντος μαζικά διαθέσιμη.

5. Επίπεδα ολικής πρωτεΐνης τ και άλλοι βιοδείκτες

Παρά κάποιες αρχικές παρατηρήσεις για μείωση [31], τα επίπεδα της τ είναι αυξημένα στο πλάσμα

ασθενών με NA αν και χωρίς ισχυρή συσχέτιση με τα επίπεδα του ENY [32, 33]. Ωστόσο αύξηση έχει παρατηρηθεί και σε άλλα νοσήματα, συμπεριλαμβανομένης της μετωποκροταφικής άνοιας [34], περιορίζοντας την ειδικότητα αυτού του βιοδείκτη, του οποίου ο προσδιορισμός στο πλάσμα απαιτεί μέθοδο Simoa.

Δείκτης αξονικής καταστροφής θεωρείται επίσης και η NFL (neurofilament light) που παρουσιάζει σημαντική αύξηση στο πλάσμα ασθενών με NA [35], αλλά και σε άλλα νοσήματα, καθιστώντας αυτόν το βιοδείκτη ευαίσθητο, αλλά όχι ειδικό [13].

Η α -συνουκλεΐνη του πλάσματος, που είναι αυξημένη στη νόσο Parkinson [36], θα μπορούσε θεωρητικά να αποτελέσει χρήσιμο βιοδείκτη για τον διαχωρισμό μεταξύ NA και συνουκλεΐνοπαθειών με σωμάτια Lewy. Ωστόσο πολύπλοκα μεθοδολογικά προβλήματα, που αφορούν τόσο στο είδος του προσδιοριζόμενου μορίου (μονομερής, ολιγομερής, ολική, φωσφορυλιωμένη), όσο και στην επίδραση πολλαπλών συγχρητικών (κυρίως προαναλυτικών) παραγόντων, επιβάλλουν περαιτέρω έρευνα για την εκτίμηση της διαγνωστικής αξίας της α -συνουκλεΐνης του πλάσματος [13].

6. Συμπεράσματα

Λόγω των προαναφερθέντων πλεονεκτημάτων της αιμοληψίας, έναντι της ΟΝΠ, κατά το τελευταίο διάστημα, ο προσδιορισμός βιοδεικτών για τη NA στο πλάσμα, έχει συγκεντρώσει σημαντικό ενδιαφέρον [12, 13, 37, 38]. Αν και οι μελέτες δεν είναι προς το παρόν πολυάριθμες, ο αριθμός τους αυξάνει με γρήγορους ρυθμούς. Αν χρησιμοποιηθεί ένας μεμονωμένος δείκτης, η τ_{p-181} μπορεί να έχει την μεγαλύτερη διαγνωστική αξία [29, 30]. Από την άλλη μεριά, ο λόγος $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ μπορεί να προβλέψει με εξαιρετική ικανότητα την παρουσία αμυλοειδούς στον εγκέφαλο ακόμα και στην ασυμπτωματική φάση της NA [22], προσφέροντας ένα εργαλείο ακόμα και μαζικής ανίχνευσης του πληθυσμού και ένα σαφώς φθηνότερο και πιο προσιτό υποκατάστατο της τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων (PET αμυλοειδούς), περιορίζοντας την ανάγκη της τελευταίας μέχρι και κατά 90% [39]. Αρκετές μελέτες χρειάζονται ακόμα, κυρίως για την βελτιστοποίηση της μεθοδολογίας προσδιορισμού των βιοδεικτών του πλάσματος, την βελτιστοποίηση της διαγνωστικής τους αξίας, ιδιαίτερα μέσω συνδυασμού αυτών και την οικονομικά προσιτή διάδοση της χρήσης τους στην καθημερινή πρακτική.

Βιβλιογραφία

- [1] Blennow K, Zetterberg H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J Intern Med* 2018;284:643-663.
- [2] Sjögren M, Minthon L, Davidsson P, Granérus A-K, Clarberg A, Vanderstichele H et al. CSF levels of tau, beta-amyloid(1-42) and GAP-43 in frontotemporal dementia, other types of

- dementia and normal aging. *J Neural Transm (Vienna)* 2000;107:563-579.
- [3] Vanderstichele H, De Vreese K, Blennow K, Andreasen N, Sindic C, Ivanoiu A et al. Analytical performance and clinical utility of the INNOTEST PHOSPHO-TAU181P assay for discrimination between Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:1472-1480.
- [4] Blennow K, Wallin A, Agren H, Spenger C, Siegfried J, Vanmechelen E. Tau protein in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for axonal degeneration in Alzheimer disease? *Mol Chem Neuropathol* 1995;26:231-245.
- [5] Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol* 2014;13:614-629.
- [6] Simonsen AH, Herukka SK, Andreasen N, Baldeiras I, Bjerke M, Blennow K et al. Recommendations for CSF AD biomarkers in the diagnostic evaluation of dementia. *Alzheimer's Dement* 2017;13:274-284.
- [7] 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;14:535-562.
- [8] Shetty AK, Zanirati G. The Interstitial System of the Brain in Health and Disease. *Aging Dis* 2020;11:200-211.
- [9] Engelborghs S, Niemantsverdriet E, Struyfs H, Blennow K, Brouns R, Comabella M et al. Consensus guidelines for lumbar puncture in patients with neurological diseases. *Alzheimers Dement* 2017;8:111-126.
- [10] Andreasen N, Minthon L, Davidsson P, Vanmechelen E, Vanderstichele H, Winblad B, Blennow K. Evaluation of CSF-tau and CSF-Abeta42 as diagnostic markers for Alzheimer disease in clinical practice. *Arch Neurol* 2001;58:373-379.
- [11] Kapaki E, Paraskevas GP, Zalonis I, Zournas C. CSF tau protein and beta-amyloid (1-42) in Alzheimer's disease diagnosis: discrimination from normal ageing and other dementias in the Greek population. *Eur J Neurol* 2003;10:119-128.
- [12] Zetterberg H, Blennow K. Blood Biomarkers: Democratizing Alzheimer's Diagnostics. *Neuron* 2020;106:881-883.
- [13] Obrocki P, Khatun A, Ness D, Senkevich K, Hanrieder J, Capraro F et al. Perspectives in fluid biomarkers in neurodegeneration from the 2019 biomarkers in neurodegenerative diseases course-a joint PhD student course at University College London and University of Gothenburg. *Alzheimers Res Ther* 2020;12:20. doi: 10.1186/s13195-020-00586-6.
- [14] Palmqvist S, Insel PS, Stomrud E, Janelidze S, Zetterberg H, Brix B et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarker trajectories with increasing amyloid deposition in Alzheimer's disease. *EMBO Mol Med* 2019;11:e11170. doi: 10.15252/emmm.201911170.
- [15] Shin HS, Lee SK, Kim S, Kim HJ, Chae WS, Park SA. The Correlation Study between Plasma Aβ Proteins and Cerebrospinal Fluid Alzheimer's Disease Biomarkers. *Dement Neurocogn Disord*. 2016;15:122-128.
- [16] Janelidze S, Stomrud E, Palmqvist S, Zetterberg H, van Westen D, Jeromin A et al. Plasma β-amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci Rep* 2016;6:26801.
- [17] Kim HJ, Park KW, Kim TE, Im JY, Shin HS, Kim S et al. Elevation of the Plasma Aβ40/Aβ42 Ratio as a Diagnostic Marker of Sporadic Early-Onset Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 2015;48:1043-1050.
- [18] 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;84:648-658.
- [19] Kim K, Kim MJ, Kim DW, Kim SY, Park S, Park CB. Clinically accurate diagnosis of Alzheimer's disease via multiplexed sensing of core biomarkers in human plasma. *Nat Commun*. 2020;11:119.
- [20] Doecke JD, Pérez-Grijalba V, Fandos N, Fowler C, Villemagne VL, Masters CL et al. Total Aβ(42)/Aβ(40) ratio in plasma predicts amyloid-PET status, independent of clinical AD diagnosis. *Neurology* 2020;94:e1580-e1591.
- [21] Vergallo A, Mégret L, Lista S, Cavado E, Zetterberg H, Blennow K et al. Plasma amyloid β 40/42 ratio predicts cerebral amyloidosis in cognitively normal individuals at risk for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2019;15:764-775.
- [22] Schindler SE, Bollinger JG, Ovod V, Mawuenyega KG, Li Y, Gordon BA et al. High-precision plasma β-amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis. *Neurology* 2019;93:e1647-e1659.
- [23] Hilal S, Wolters FJ, Verbeek MM, Vanderstichele H, Ikram MK, Stoops E et al. Plasma amyloid-β levels, cerebral atrophy and risk of dementia: a population-based study. *Alzheimers Res Ther* 2018;10:63.
- [24] Feinkohl I, Schipke CG, Kruppa J, Menne F, Winterer G, Pischon T, Peters O. 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;74:1285-1294.
- [25] Teunissen CE, Chiu M-J, Yang C-C, Yang S-Y, Scheltens P, Zetterberg H et al. Plasma amyloid-

- beta (Abeta42) correlates with cerebrospinal fluid Abeta42 in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2018;62:1857-1863.
- [26] Fan L-Y, Tzen K-Y, Chen Y-F, Chen T-F, Lai Y-M, Yen R-F et al. The relation between Brain amyloid deposition, cortical atrophy, and plasma biomarkers in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* 2018;10:175.
- [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;14:989-997.
- [28] Thijssen EH, La Joie R, Wolf A, Strom A, Wang P, Iaccarino L et al. Diagnostic value of plasma phosphorylated tau181 in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Nat Med* 2020;26:387-397.
- [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;26:379-386.
- [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;19:422-433.
- [31] Sparks DL, Kryscio RJ, Sabbagh MN, Ziolkowski C, Lin Y, Sparks LM et al. Tau is reduced in AD plasma and validation of employed ELISA methods. *Am J Neurodegener Dis* 2012;1:99-106.
- [32] Zetterberg H, Wilson D, Andreasson U, Mint-hon L, Blennow K, Randall J et al. Plasma tau levels in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* 2013;5:9.
- [33] Molinuevo JL, Ayton S, Batrla R, Bednar MM, Bittner T, Cummings J et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers. *Acta Neuropathol* 2018;136:821-853.
- [34] Foiani MS, Woollacott IO, Heller C, Bocchetta M, Heslegrave A, Dick KM et al. Plasma tau is increased in frontotemporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018;89:804-807.
- [35] Mattsson N, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K. Association of Plasma Neurofilament Light with Neurodegeneration in patients with Alzheimer disease. *JAMA Neurol* 2017;74:557-566.
- [36] Bougea A, Stefanis L, Paraskevas GP, Emmanouilidou E, Vekrelis K, Kapaki E. Plasma alpha-synuclein levels in patients with Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neuro Sci* 2019;40:929-938.
- [37] Simrén J, Ashton NJ, Blennow K, Zetterberg H. An update on fluid biomarkers for neurodegenerative diseases: recent success and challenges ahead. *Curr Opin Neurobiol.* 2020;61:29-39.
- [38] Westwood S, Baird AL, Anand SN, Nevado-Holgado AJ, Kormilitzin A, Shi L et al. Validation of Plasma Proteomic Biomarkers Relating to Brain Amyloid Burden in the EMIF-Alzheimer's Disease Multimodal Biomarker Discovery Cohort. *J Alzheimers Dis* 2020;74:213-225.
- [39] Palmqvist S, Insel PS, Zetterberg H, Blennow K, Brix B, Stomrud E et al. Accurate risk estimation of β -amyloid positivity to identify prodromal Alzheimer's disease: Cross-validation study of practical algorithms. *Alzheimers Dement.* 2019;15:194-204.