

Übereinstimmung und Zusammenhang von
Liquorbiomarkerkonstellationen bei Alzheimer Demenz und Überprüfung
der Anwendbarkeit auf die NIA-AA Kriterien

Jennifer Elisabeth Rösler

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Medicine and Health der
Technischen Universität München zur Erlangung einer
Doktorin der Medizin (Dr.med.)
genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfende der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Panagiotis Alexopoulos
2. Prof. Dr. Bernhard Hemmer

Die Dissertation wurde am 29.09.2023 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die TUM School of Medicine and Health am 13.03.2024
angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung der Publikationen
2. Einleitung
 - 2.1. Epidemiologie und Risikofaktoren der Alzheimer Demenz
 - 2.2. Neuropathologie
 - 2.3. Symptome
 - 2.4. Diagnostik
 - 2.4.1. Kognitive Kurztestung/Neuropsychologische Diagnostik
 - 2.4.2. Bildgebung
 - 2.4.3. Labordiagnostik
 - 2.4.3.1. Bestimmung des ApoE-Genotyps
 - 2.4.3.2. Liquordiagnostik
 - 2.5. Therapie
 - 2.5.1. Medikamentöse Therapien
 - 2.5.1.1. Acetylcholinesterasehemmer
 - 2.5.1.2. Memantine
 - 2.5.1.3. Pharmakotherapie von psychischen Verhaltenssymptomen
 - 2.5.1.4. Antikörpertherapie
3. Material und Methoden Publikation 1
 - 3.1. Studiendesign und Stichprobe
 - 3.2. Liquorprobenanalyse
 - 3.3. ApoE-Genotypisierung
 - 3.4. Klassifizierung neurochemischer Biomarkerwerte
 - 3.5. Statistische Analyse
4. Material und Methoden Publikation 2
 - 4.1. Studiendesign und Stichprobe
 - 4.2. Liquorprobenanalyse
 - 4.3. ApoE-Genotypisierung
 - 4.4. Klassifizierung neurochemischer Biomarkerwerte
 - 4.5. NIA-AA Kategorisierung der Teilnehmer
 - 4.6. Statistische Analyse
5. Themenübergreifende Diskussion
 - 5.1. Zusammenfassung der Hauptergebnisse
 - 5.2. Diskussion in Bezug zur aktuellen Literatur

5.3. Limitationen der Studien

6. Originalveröffentlichung

6.1. Fluid biomarker agreement and interrelation in dementia due to Alzheimer's disease

6.2. Mapping CSF biomarker profiles onto NIA-AA guidelines for Alzheimer's disease

7. Literaturverzeichnis

8. Verzeichnis der Abkürzungen

9. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

10. Danksagung

1. Zusammenfassung der Publikationen

Die Richtlinien des National Institutes of Aging and Alzheimer's Disease (NIA-AA) schlagen die Inkorporierung von Biomarkern zur Einschätzung der individuellen Wahrscheinlichkeit des Vorliegens der Alzheimer Krankheit (AK) bei klinischen Studien vor (McKhann *et al.* 2011). Auch die internationale Arbeitsgruppe IWG befürwortet eine Integration von Biomarkern für die Diagnosestellung im Rahmen klinischer Forschung, sowohl in präklinischen, als auch in symptomatischen Krankheitsstadien (Dubois *et al.* 2014). Obwohl die NIA-AA Kriterien für präklinische Alzheimer Demenz (AD) und symptomatische Stadien bereits in Verbindung mit bildgebenden Biomarkern angewendet wurden, gibt es für die Anwendbarkeit der Kriterien auf Biomarkerinformationen aus der Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) noch wenige Untersuchungen. Die NIA-AA Kriterien deuten darauf hin, dass es eine signifikante Grauzone gibt, in der nicht festgestellt werden kann ob der einzelne Patient für einen bestimmten Biomarker positiv oder negativ ist (Molinuevo *et al.* 2014). Vorausgesetzt der Annahme, dass Biomarkerveränderungen bei AD Jahre, oder sogar Jahrzehnte vor dem Auftreten von klinischen Symptomen auftreten und während der klinischen Krankheitsphase stabil bleiben (Jack *et al.* 2013; Villemagne *et al.* 2013; Aisen *et al.* 2017; McDade and Bateman 2017), implizieren sowohl NIA-AA- und IWG-Kriterien, dass Biomarker im Demenzstadium im Allgemeinen positiv für AD sind. Daher sollte ein hohes Maß an Übereinstimmung zwischen den Biomarkern erwartet werden. Vorherige Studien haben den Grad der Übereinstimmung zwischen verschiedenen Biomarkern bei AD untersucht. Eine Reihe von Studien berichtete über eine gute, aber immer noch unvollständige Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen Amyloid- β ($A\beta$)-Positronenemissionstomographie (PET) und den $A\beta_{42}$ -Spiegeln im CSF, während der Grad der Übereinstimmung zwischen anderen etablierten Biomarkern für AD als schlecht befunden wurden (Fagan *et al.* 2006; Jagust *et al.* 2009a; Yakushev *et al.* 2012; Landau *et al.* 2013; Alexopoulos *et*

al. 2014; Leuzy *et al.* 2015; Skillback *et al.* 2015). Die meisten Untersuchungen umfassten eine Kombination aus Bildgebungs- und CSF-Biomarkern und es gibt nur begrenzte Belege für die Vergleiche zwischen CSF-Biomarkern. Dennoch wurde eine CSF-Analyse für die routinemäßige klinische Aufarbeitung der symptomatischen AD empfohlen, um die diagnostische Wirksamkeit zu erhöhen. CSF-Biomarker zeigen mit relativ hoher Genauigkeit die neuropathologischen Veränderungen der AD auf (Wallin *et al.* 2006; Shaw *et al.* 2009; Molinuevo *et al.* 2014; Bocchetta *et al.* 2015; Schjønning Nielsen *et al.* 2016; Herukka *et al.* 2017; Simonsen *et al.* 2017). Darüber hinaus haben die bisherigen Studien eine Dichotomisierungsstrategie zur Klassifizierung von Biomarkern angewendet, wobei die Tatsache vernachlässigt wurde, dass Grenzwerte in der klinischen Praxis nicht eindeutig als positiv oder negativ eingestuft werden können.

Ziel der ersten Studie war, den Grad der Übereinstimmung und die Wechselbeziehung zwischen den etablierten CSF-Biomarkern A β 1-42, Gesamt-Tau und phosphoryliertem Tau (pTau181) in zwei unabhängigen Kohorten zu untersuchen. Es wurden eine multizentrische und eine monozentrische Kohorte mit AD Patienten untersucht. Hierfür wurde eine Dichotomisierungs- und eine Trichotomisierungsstrategie verwendet. Hier zeigte sich in beiden Kohorten, sowohl nach Trichotomisierung, als auch nach Dichotomisierung eine geringe Übereinstimmung und Wechselbeziehung zwischen den Biomarkern. Ausnahme war eine moderate Übereinstimmung zwischen pTau/Gesamt-Tau in der monozentrischen Kohorte nach Dichotomisierung. Diese Ergebnisse sprechen gegen die vereinfachte Annahme einer generellen Biomarkerpositivität im Stadium der AD.

Die zweite Studie umfasste eine monozentrische Kohorte mit gesunden Kontrollen, Krankheitskontrollen und Patienten mit symptomatischer AD, sowie eine multizentrische Kohorte mit

gesunden Kontrollen und Patienten mit AD und hatte zum Ziel, die verschiedenen Liquorbiomarkerkonstellationen zu kategorisieren und auf die NIA-AA Kriterien anzuwenden. Die CSF-Biomarker A β 42, Gesamt-Tau und pTau181 wurden mit handelsüblichen Assays gemessen. Die Biomarkerwerte wurden für das Vorliegen einer Alzheimerpathologie in die Kategorien negativ, grenzwertig oder positiv trichotomisiert. In Kontrollen variierte das Vorhandensein normaler CSF-Profile zwischen 13,6 und 25,4% in den untersuchten Gruppen, während bis zu 8,6% von ihnen abnormale CSF-Biomarker aufwiesen. Bei 40,3 bzw. 52,9% der Patienten mit klinischer AD wurde ein typisches CSF-Profil für AD festgestellt. Ungefähr 40% der potenziellen Biomarker-Konstellationen werden in den NIA-AA-Richtlinien nicht berücksichtigt und mehr als 40% der Teilnehmer konnten nicht in die NIA-AA-Kategorien mit unterschiedlichen Biomarker-Konstellationen eingeteilt werden. In dieser Studie wurde ein verfeinertes Schema vorgeschlagen, das alle möglichen Biomarker-Konstellationen abdeckt. Die Ergebnisse der Studie weisen auf eine Diskrepanz zwischen klinischer Symptomatik bzw. Diagnose und CSF-Biomarkern hin.

2. Einleitung

2.1 Epidemiologie und Risikofaktoren der Alzheimer Demenz

Die AD ist mit 60-80% aller Demenzerkrankungen die häufigste Demenzform (Blennow *et al.* 2006). Es handelt sich hierbei vorwiegend um eine Erkrankung des älteren Menschen. Die Wahrscheinlichkeit für über 85-jährige an einer AD zu erkranken beträgt zwischen 25-40% (Golde *et al.* 2011). Demenz ist der Hauptrisikofaktor für Pflegebedürftigkeit im Alter weltweit. Somit wirkt sich Demenz auf viele unterschiedliche Bereiche (körperliche, soziale und ökonomische) der Betroffenen aus und beeinträchtigt deren Beziehungen zu Familie und Gesellschaft (WHO 2022). Weltweit sind ca. 50 Millionen Menschen von Demenz betroffen (Cahill 2020). In Deutschland leben aktuell fast

1,8 Millionen Demenzkranke; zwei Drittel von ihnen sind von AD betroffen. Jährlich treten etwa 440.000 Neuerkrankungen auf (Gesellschaft 2023). Infolge der demographischen Entwicklungen kommt es zu weitaus mehr Neuerkrankungen als zu Sterbefällen unter den bereits Erkrankten. Somit nimmt die Zahl der Demenzkranken kontinuierlich zu und bis zum Jahr 2050 ist eine Verdoppelung der Demenzerkrankungen zu erwarten (Golde *et al.* 2011).

Die weltweiten Kosten durch Demenz verursacht betragen im Jahr 2015 geschätzt 818 Millionen US-Dollar. Dies entsprach einem Anstieg von 35% gegenüber dem Jahr 2010 (Wimo *et al.* 2017).

Der wichtigste und somit Hauptrisikofaktor für eine sporadische bzw. spät manifeste Demenz ist das höhere Lebensalter. Als weiterer gesicherter epidemiologischer Risikofaktor für die sporadische AD gilt das Apolipoprotein-E-Gen (ApoE), dass es in drei unterschiedlichen Allelen gibt: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$.

Das ApoE4-Allel erhöht das Risiko an einer AD zu erkranken; für Heterozygote um ca. das Dreifache und für Homozygote um ca. das 15-fache (Förstl 2017). Außerdem gibt es seltene genetisch bedingte Formen der AD, die autosomal-dominant vererbt werden und bei jüngeren Patienten mit einer hohen Penetranz auftreten. Sie werden durch Mutationen im Amyloid-Precursor-Protein (APP-Gen), Im Präsenilin-Gen oder im Präsenilin-2-Gen verursacht (Blennow *et al.* 2006).

Zu den beeinflussbaren Risikofaktoren für die AD zählen eine geringe Schulbildung, geringe geistige und körperliche Aktivität während des Lebens, Schädel-Hirn-Traumata, Ernährungsfaktoren (erhöhter Alkoholkonsum, Übergewicht) sowie typische kardiovaskuläre Risikofaktoren (z.B. Hypertonie, Hypercholesterinämie, Typ-2-Diabetes, Nikotinkonsum) (de la Torre 2010; Vos *et al.* 2015). Beispielsweise zeigte sich in einer Metaanalyse mit insgesamt 96.158 Teilnehmern, dass eine

antihypertensive Therapie bei Patienten mit arterieller Hypertonie sowohl das Risiko einer Demenz als auch das Risiko kognitiver Einschränkungen reduziert (Hughes *et al.* 2020).

2.2 Neuropathologie

Der bayerische Neuropathologe und Psychiater Alois Alzheimer beschrieb 1906 erstmals die histopathologischen Veränderungen im Gehirn einer Frau, Auguste D., die an einer präsenilen Demenz verstorben war. Hierbei handelte es sich um die sogenannten intrazellulären Neurofibrillen und die extrazellulären Amyloidplaques (Abbildung 1), sowie neuronalen Zellverlust (Grundke-Iqbal *et al.* 1986).

Darauf wurde durch Blennow *et al.* die Amyloidkaskaden-Hypothese formuliert. Diese Hypothese beschreibt ein Ungleichgewicht zwischen β -Amyloid-Produktion und dessen Abbau, der auf Dauer zu einem Nervenzellverlust führt und in einer Demenz mündet (Blennow *et al.* 2006). Die Amyloidkaskaden-Hypothese ist bis heute gültig, wenngleich der gesamte Pathomechanismus bislang noch nicht verstanden ist.

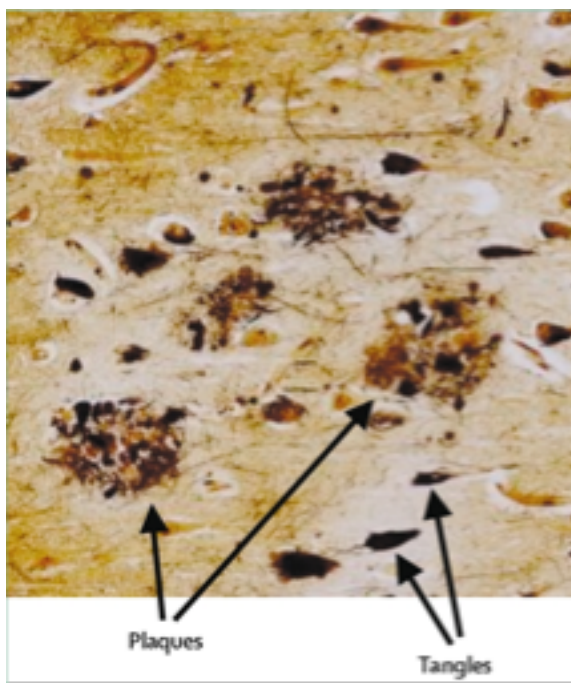


Abbildung 1: links extrazelluläre Amyloidplaques (Plaques), rechts intrazelluläre Neurofibrillen (Tangles) (Blennow *et al.* 2006)

A β -Plaques entstehen aus der enzymatischen Spaltung eines Transmembranproteins, dem sogenannten Amyloid-Vorläufer-Protein. Der physiologische bzw. nicht-amyloidogene Abbauprozess von APP erfolgt durch die α -Sekretase, welche APP in 2 Bruchstücke spaltet, die einem kompletten enzymatischen Abbau unterliegen (Abbildung 2). Beim amyloidogenen Abbauweg entstehen A β -Plaques aus aggregiertem hydrophilem A β 42, dass aus pathologischer enzymatischer Abspaltung durch die β - und die γ -Sekretase von APP abgespalten wird (Förstl 2017). Die A β 42-Fragmente aggregieren und bilden Oligomere, die dann als extrazelluläre Amyloidplaques im Gehirngewebe abgelagert werden und zu einer gestörten Synapsenfunktion und einer inflammatorischen Reaktion durch Mikroglia und Astrozyten führen.

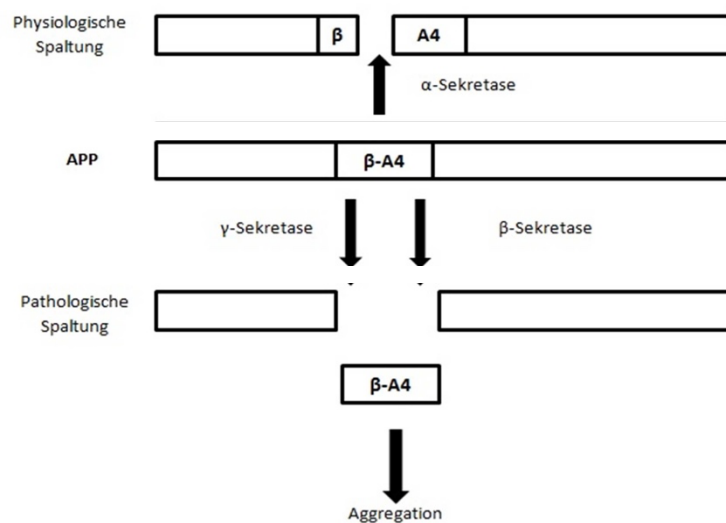


Abbildung 2: Schematische Abbildung der physiologischen (oben) und der pathologischen Spaltung (unten) von APP (Förstl 2017).

Der zweite gestörte Mechanismus bei der AD ist die Tau-Pathologie. Sie führt zur intrazellulären Ablagerung der sogenannten Neurofibrillenbündel. Bei den Neurofibrillen handelt es sich um abnormale intrazelluläre Ablagerungen von

hyperphosphoriliertem Tau-Protein (Grundke-Iqbal *et al.* 1986). Tau ist ein Mikrotubuli-stabilisierendes Protein, das an Mikrotubuli gebunden ist und zur integralen Zellstruktur gehört. Bei der AD kommt es zu einer Hyperphosphorilierung von Tau-Protein, sodass die Bindung an Mikrotubuli destabilisiert wird (Drechsel *et al.* 1992).

Es kommt zu einer Störung des axonalen Transportes in der Zelle, die Zelle geht zugrunde. Tau akkumuliert und bildet sogenannte Neurofibrillenbündel, die als „Grabsteine“ der Zelle nach dem Zelluntergang verbleiben (Gendreau and Hall 2013). Warum es zu einer abnormen Hyperphosphorilierung kommt ist bisher unbekannt.

Der durch die Erkrankung bedingte Neuronenzellverlust führt zu einem cholinergen Defizit im Nucleus basalis Meynert (NBM), welcher sich dann symptomatisch durch kognitive Defizite bemerkbar macht (Hardy and Selkoe 2002; Förstl 2017).

Bei der genetischen Form der AD spielen Mutationen im APP-Gen und im Präsenilin1- und Präsenilin2-Gen eine Rolle. Präseniline sind Bestandteile der γ -Sekretase, die den amyloidogenen Abbauweg von APP bedingen.

Bei der sporadischen AD werden hohes Alter und der ApoE4-Genotyp als die wichtigsten Risikofaktoren genannt. ApoE4 kodiert für einen intrazerebralen Cholesterintransporter. Zum einen wird ApoE4 als weniger effizient als die anderen ApoE-Allele vermutet, zum anderen soll es eine zusätzliche Rolle beim amyloidogenen Abbauweg spielen, indem es als Chaperon für die Entstehung von A β 42 sorgt (Blennow *et al.* 2006).

2.3 Symptome

Die Symptome der AD entwickeln sich über Jahre langsam schleichend progredient. Es ist eine degenerative Erkrankung, die letzten Endes letal verläuft. Zu Beginn kommt es bei einem typischen Verlauf zu einem Verlust des episodischen Gedächtnisses, sowie Einschränkungen der Alltagskompetenz, wie

zum Beispiel der Urteilsfähigkeit, Orientierung und Entscheidungsfindung (Blennow *et al.* 2006). Zusätzlich können neuropsychologische Symptome wie Aphasie, Agnosie und Apraxie und psychische Verhaltensstörungen wie Depression und in späten Stadien Agitation, Aggression, Apathie, Wandern, Unruhe und Störungen des Schlaf-Wach-Rhythmus auftreten (Cook *et al.* 2003).

Mit dem Fortschreiten der Erkrankung werden die Patienten zunehmend pflegebedürftig und versterben schließlich an unspezifischen Ursachen, wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen oder Infektionskrankheiten (Kukull *et al.* 1994).

Die NIA-AA beschreibt in ihren Richtlinien drei Stadien der AD, in der die Bestimmung der bildgebenden und Liquorbiomarker Anwendung findet. Eine präklinische Phase, die Phase der leichten kognitiven Beeinträchtigung (LKB) und die der manifesten AD. Sie postulieren eine lange asymptomatische Phase, in der der pathophysiologische Prozess der Amyloidpathologie und Neurodegeneration ohne bzw. nur mit subtilen kognitiven Veränderungen einhergeht. Die präklinische Phase wird in drei Stadien unterteilt. Im ersten Stadium besteht eine Amyloid-Positivität in Liquor oder Bildgebung. Im zweiten Stadium kommen Zeichen der Neurodegeneration hinzu. Im dritten Stadium können zudem subtile kognitive Defizite bemerkt werden, die noch keine kognitive Störung diagnostizieren lassen (Sperling *et al.* 2011). Diese Gruppe asymptomatischer Individuen hat in erster Linie eine Bedeutung für die Forschung mit dem Ziel Faktoren zu definieren, die kognitive Defizite oder den Progress in eine AD in der Zukunft bei amyloidpositiven Individuen voraussagen (Sperling *et al.* 2011). Das Stadium der LKB, oder „Mild cognitive impairment (MCI)“ genannt, ist gekennzeichnet durch klinische Kernkriterien, die auf eine Einschränkung von kognitiven Leistungen ohne Beeinträchtigung im alltäglichen Leben deuten. Unterstützend sollen Bildgebungs- und Liquorbiomarker auf die Ätiologie einer

AD vor allem im Forschungssetting hinzugezogen werden (Albert *et al.* 2011).

Das Stadium der AD wird in unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten eingeteilt. Hierbei wird unterschieden, je nach Biomarkerpositivität bzw. -verfügbarkeit, ob es sich um eine mögliche, wahrscheinliche oder pathophysiologisch diagnostizierte AK, oder ob es sich um eine Demenzform mit anderer zugrundeliegender Ätiologie handelt (McKhann *et al.* 2011).

2.4 Diagnostik

Die Diagnose einer Demenz ist eine Syndromdiagnose, die anhand klinischer Kriterien (z.B. ICD-10) gestellt wird. Die klinische Diagnosestellung einer kognitiven Beeinträchtigung oder eines Demenzsyndromes erfolgt in erster Linie durch eine Eigen- und/oder Fremdanamnese (Förstl 2017). Hier geht es vor allem um die zeitliche Dynamik der Symptome und es müssen Einschränkungen in der Alltagsbewältigung vorliegen. Die Erhebung eines psychopathologischen Befundes, eine klinisch internistische und neurologische Untersuchung spielen eine erhebliche Rolle in der Differentialdiagnostik der Demenzen und dienen vor allem dem Ausschluss potentiell reversibler Ursachen.

2.4.1 Kognitive Kurztestung/ Neuropsychologische Diagnostik

Kognitive Kurztests wie der Mini-Mental-Status-Test (MMST), der Demenz-Detektions-Test (DemTect), sowie der Montreal Cognitive Assessment Test (MoCA) und Addenbrooke's Cognitive Examination III (ACE-III) sind geeignete Instrumente für ein Demenz-Screening. Hierbei wird auch durch die Prüfung einzelner kognitiver Domänen bereits eine differentialdiagnostische Einordnung des Syndroms ermöglicht. Für die ausführliche kognitive Testung eignet sich unter anderem die Testbatterie des Consortium to establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD) oder des Alzheimer's Disease Assessment Scale – Cognitive subscale (ADAS cog) (Rubin *et al.* 1989; Morris 1993;

Kueper *et al.* 2018). Der CERAD überprüft Fähigkeiten der Orientierung, der Sprache, der konstruktiven Praxis und des Gedächtnisses. Ein weiteres Werkzeug ist der Clinical Dementia Rating Scale, welcher darüber hinaus eventuelle Störungen des sozialen und häuslichen Lebens und der Pflege berücksichtigt.

2.4.2 Bildgebung

Der bildgebenden Diagnostik kommt im Wesentlichen zwei Funktionen zu. Zum einen sollen behandelbare Ursachen einer Demenz detektiert werden (z.B. Tumoren, Hämatome, Normaldruckhydrozephalus, Infektionen). Zum anderen kann sie anhand des Atrophiemusters oder weiterer struktureller Auffälligkeiten zur ätiologischen Differenzierung primärer Demenzerkrankungen beitragen. Bei ca. 5% aller Demenzerkrankungen wird eine potentiell behandelbare bzw. reversible Ursache durch die zerebrale Bildgebung entdeckt (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016). Daher sollte im Rahmen einer Demenzabklärung ein zerebrales MRT, oder bei Kontraindikationen ein zerebrales CT durchgeführt werden.

Strukturell ist die AD durch eine progrediente Hirnatrophie mit besonderer Akzentuierung im medialen Temporallappen und im Hippocampus charakterisiert.

In klinisch unklaren Fällen oder im Rahmen von klinischen Studien kommen nuklearmedizinische Verfahren, wie das ¹⁸F-FDG-PET bzw. ^{99m}Tc HMPAO-SPECT, zum Einsatz. Hier werden der Glukosemetabolismus bzw. die zerebrale Perfusion dargestellt, wobei ein negativer Befund die Alzheimer-Diagnose praktisch ausschließt (Scheltens *et al.* 2016). Es gibt moderne Bildgebungsverfahren, die in hochspezialisierten Zentren vorhanden sind und die die Amyloid Pathologie und die Tau Pathologie detektieren können (Hall *et al.* 2017; Ruan and Sun 2023).

2.4.3 Labordiagnostik

Die klinische und neuropsychologische Untersuchung allein weisen auf das Demenzsyndrom hin, lassen jedoch keinen Schluss über die ätiologische Zuordnung des Demenzsyndroms zu. So wird in den meisten Leitlinien empfohlen potenziell reversible Ursachen der Demenz mit Hilfe laborchemischer Untersuchungen auszuschließen. In den meisten Leitlinien werden Blutbild, Elektrolyte, Blutzucker, TSH, CRP, Blutsenkung, Leber- und Nierenfunktionswerte, Vitamin B12 und Folsäure als Standardbestimmung genannt (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016). Vielversprechende neuere Ergebnisse weisen auf den potenziellen Nutzen von pTau als Blutbiomarker hin, der mit hoher Sensitivität und Spezifität die AD detektieren können (Thijssen *et al.* 2021).

2.4.3.1 Bestimmung des Apolipoprotein-E-Genotyps

Das Apolipoprotein-E-Gen ist in Abhängigkeit von der Allelkonstellation ($\epsilon 4$) ein Risikofaktor für die AK. In der deutschen Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der Demenzen wird die Bestimmung des Apolipoprotein-E-Genotyps nicht empfohlen (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016).

2.4.3.2 Liquordiagnostik

Die Liquordiagnostik dient dem Ausschluss anderer, z.B. entzündlicher ZNS-Erkrankungen und kann bei Bestimmung der Neurodegenerationsmarker A β 42, pTau und Gesamt-Tau die Diagnose einer neurodegenerativen Erkrankung, wie der Alzheimerkrankheit stützen. Um eine differentialdiagnostische Einschätzung gegenüber anderen Demenzen treffen zu können oder für eine Verlaufsbeurteilung eignen sich die Degenerationsmarker nicht. Im Kontext aller vorliegenden Befunde können die Marker im klinischen Alltag jedoch hinweisend für eine

Alzheimerkrankheit unterstützend wirken (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016).

Je nach Verfügbarkeit der Biomarker und ihrer Positivität wird in den Richtlinien der NIA-AA von unterschiedlichen Wahrscheinlichkeiten für das Vorliegen einer AD ausgegangen. In der präklinischen Phase werden drei verschiedenen Stadien postuliert, die zunächst eine Positivität der Amyloidmarker in Liquor oder Bildgebung beschreiben. Im Verlauf kommen Marker der Neurodegeneration hinzu und schließlich kann es zu einem subtilen kognitiven Verfall kommen, der jedoch noch keine Diagnose einer LKB zulässt. Im symptomatischen Stadium der LKB und der AD werden unterschiedliche Wahrscheinlichkeiten (möglich, wahrscheinlich, mit Nachweis der Alzheimer Pathologie und Demenz wahrscheinlich anderer Ätiologie) postuliert (Albert *et al.* 2011; McKhann *et al.* 2011).

Die folgende Tabelle erläutert die AD Demenz Kriterien mit Integration der Biomarker.

Diagnosekategorie	Biomarker weisen auf AD Ätiologie hin	Amyloidbiomarker (PET oder CSF)	Neurodegeneration (CSF Tau, FDG-PET oder strukturelles MRT)
Mögliche AD			
Basierend auf klinischen Kriterien	Uninformativ	Nicht verfügbar, widersprüchlich, nicht bestimmt	Nicht verfügbar, widersprüchlich oder nicht bestimmt
Mit 3 Evidenzstufen bzgl. AD Pathophysiologie	Intermediär	Nicht verfügbar, nicht bestimmt	Positiv
	Intermediär	Positiv	Nicht verfügbar oder nicht bestimmt

Wahrscheinliche AD (einschließlich atypischer klinischer Präsentation)	Hoch	Positiv	Positiv
Basierend auf klinischen Kriterien	Uninformativ	Nicht verfügbar, widersprüchlich oder nicht bestimmt	Nicht verfügbar, widersprüchlich oder nicht bestimmt
Mit Evidenz für AD Pathophysiologie	Hoch aber schließt andere Ätiologie nicht aus	Positiv	Positiv
Demenz aufgrund anderer Ätiologie	Niedrigste Wahrscheinlichkeit	Negativ	Negativ

Tabelle 1: Demenz Kriterien der AD mit Berücksichtigung von Biomarkern (McKhann et al. 2011).

2.5 Therapie

2.5.1 Medikamentöse Therapien

Die zurzeit zugelassenen Medikamente in Deutschland sind nur gering wirksam und dienen ausschließlich zur symptomatischen Behandlung der Kernsymptomatik (u.a. kognitive Störungen, Beeinträchtigung der Alltagstätigkeiten) und der Behandlung von psychischen Verhaltenssymptomen (z.B. Depression, Wahn, Halluzinationen, Apathie). Zugelassene Medikamente in Deutschland sind die Acetylcholinesterasehemmer und der nicht-kompetitive NMDA-Antagonist Memantin (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016).

2.5.1.1 Acetylcholinesterasehemmer

Acetylcholinesterase-Hemmer (Donepezil, Galantamin und Rivastigmin) sind zur Behandlung der leichten bis mittelschweren AD zugelassen. Sie verbessern die Acetylcholin-vermittelte neuronale Signalübertragung, die durch die Neurodegeneration im Rahmen der Alzheimererkrankung vermindert ist. Über eine Inhibition der Cholinesterase und somit des Abbaus des Neurotransmitters steht Acetylcholin über eine längere Dauer im synaptischen Spalt cholinergischer Synapsen zur Verfügung. Galantamin beeinflusst darüber hinaus die nikotinergen Rezeptoren der Präsynapse und bewirkt somit eine zusätzliche Acetylcholinfreisetzung (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016).

2.5.1.2 Memantine

Memantine sind nicht-kompetitive NMDA-Antagonisten. Sie bewirken eine Inhibition der Freisetzung von Glutamat. Bei der AD wird dem chronischen Überschuss der Glutamatfreisetzung eine Rolle der Alzheimer-bedingten Zellfunktionsstörung und Zelldegeneration zugesprochen. Zugelassen ist Memantin im moderaten bis schweren Demenzstadium bei AD (Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie 2016).

2.5.1.3 Pharmakotherapie von psychischen Verhaltenssymptomen

Beim Auftreten psychotischer Symptome, Depressionen mit Apathie oder Unruhe können Neuroleptika (z.B. Risperidon, Olanzapin, Quetiapin) oder Antidepressiva (Citalopram, Venlafaxin, Mirtazapin) eingesetzt werden.

2.5.1.4 Antikörper Therapie

Die Europäische Arzneimittelbehörde EMA hat den Antrag auf Zulassung von Aducanumab im Dezember 2021 abgelehnt. In den USA ist der Wirkstoff unter dem Namen Aduhelm seit Juni 2021 zugelassen (e.V.). Es handelt sich um einen monoklonalen

Antikörper, der sich gegen β -Amyloid richtet und zu einer Plaque-Reduktion führt (Woloshin and Kesselheim 2022). In den bisherigen Studien konnte jedoch kein klinischer Benefit für das Medikament gezeigt werden, sodass die Zulassung der US-Food and Drug Administration FDA kontrovers diskutiert wird (Avgerinos *et al.* 2021).

Rezente ist eine erste große positive Studie erschienen, in der der monoklonale Antikörper Lecanemab zu einer Reduktion der Amyloidkonzentrationen, sowie zu einem geringeren Fortschreiten der kognitiven Einschränkungen bei beginnender AD geführt hat (van Dyck *et al.* 2023).

2.5.2 Nicht-medikamentöse Therapien

Eine große Bedeutung kommt den nicht-medikamentösen Therapien der an AD erkrankten Menschen zu, um eine möglichst lange Selbständigkeit der Aktivitäten des täglichen Lebens zu ermöglichen. Dazu zählen sogenannte Begleittherapien wie z.B. Ergotherapie, Verhaltenstherapie, Logopädie, Kunst-/Musiktherapie, Gedächtnistraining, Selbsterhaltungstherapie, sowie Gesprächsrunden für Patienten und Angehörige.

3. Material und Methoden Publikation 1

3.1 Studiendesign und Stichprobe

Die Studie umfasste Patienten mit AD, die zwischen 2005 und 2012 am Zentrum für kognitive Störungen des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München (TUM, monozentrische Kohorte, N=119) im Rahmen einer diagnostischen Abklärung ihrer kognitiven Beschwerden vorstellig wurden. Die zweite Stichprobe enthält Patienten der Phase 1 und 2 der Alzheimer Dementia Neuroimaging Initiative (ADNI 1 und 2, multizentrische Kohorte, N=178). Die in dieser Studie verwendeten ADNI-Daten wurden am 6. Juli 2015 aus der ADNI-Datenbank unter <http://www.adni-info.org> abgerufen.

Alle Studienteilnehmer erfüllten die NIA-AA Kriterien und die diagnostischen Richtlinien des NINDS-ADRDA für AD bzw. wahrscheinliche AD (McKhann *et al.* 1984; McKhann 2011). Die Studienverfahren wurden von den institutionellen Prüfungsausschüssen aller teilnehmenden Zentren genehmigt und alle Teilnehmer und oder Bevollmächtigten erteilten eine schriftliche Einverständniserklärung.

3.2 Liquorprobenanalyse

Die CSF-Peptidkonzentrationen wurden in ADNI mit der Multiplex-xMAP-Luminex-Plattform mit Reagenzien auf Basis des Innogenetics Immunoassay-Kits im ADNI Biomarker-Kernlabor der University of Pennsylvania nach veröffentlichten Methoden (INNO-BIA AlzBio 3; Gent, Belgien) gemessen (Shaw *et al.* 2009; Kim *et al.* 2011). An der TUM wurden die Biomarkerwerte mit im Handel erhältlichen enzymgebundenen Immunosorbens-Assays (ELISA, Innogenetics, Gent, Belgien) bestimmt (Vandermeeren *et al.* 1993; Vanderstichele *et al.* 2000; Alexopoulos *et al.* 2013).

3.3. ApoE-Genotypisierung

ApoE-Genotypen wurden durch Analyse von Blutproben unter Verwendung der zuvor beschriebenen Standard-Polymerase-Kettenreaktion und Restriktionsenzymverdauung bestimmt (Wenham *et al.* 1991; Zivelin *et al.* 1997; Saykin *et al.* 2010). Die Teilnehmer wurden als Träger oder Nicht-Träger des ApoE- ϵ 4-Allels klassifiziert.

3.4 Klassifizierung neurochemischer Biomarkerwerte

Der Biomarkerwert jedes Patienten wurde in einer Dichotomisierungsstrategie (positiv oder negativ für AD) und in einer Trichotomisierungsstrategie (positiv, negativ oder borderline) eingestuft. Die Dichotomisierungsstrategie basierte auf zuvor veröffentlichten Biomarker-Cutoffs, die für jede verwendete Messmethode spezifisch waren, sodass in beiden Datensätzen

unterschiedliche Grenzwerte angewendet wurden (Hulstaert *et al.* 1999; Jagust *et al.* 2009a; Shaw *et al.* 2009; Landau *et al.* 2013). In den folgenden Tabellen sind die angewendeten Grenzwerte in den unterschiedlichen Kohorten aufgeführt.

	TUM-Kohorte	ADNI-Kohorte
A β 42-Konzentration (ng/l)	< 642	< 192
t-Tau-Konzentration (ng/l)	> 252	> 94
p-Tau-Konzentration (ng/l)	> 61	> 24

Tabelle 2: Positiv-Grenzwerte der beiden Kohorten TUM und ADNI in ng/l. Alle anderen Biomarkerwerte wurden als negativ angesehen.

Die Trichotomisierungsstrategie stützte sich auf zuvor veröffentlichte Grenzwertbereiche, die mit dem Ziel definiert wurden einen vernünftigen Kompromiss zwischen der Minimierung der Wahrscheinlichkeit einer künstlichen Kategorisierung von Grenzwerten als positiv oder negativ zu erzielen (Alexopoulos *et al.* 2016). Gleichzeitig wurde ein überwältigender Teil der Messwerte jeden Biomarkers als Grenzwert eingestuft (Alexopoulos *et al.* 2016).

TUM-Kohorte	Positiv	Negativ	Borderline
A β 42-Konzentration (ng/l)	< 579,72	> 704,28	579,72-704,28

t-Tau-Konzentration (ng/l)	> 331,11	<172,89	172,89-331,11
p-Tau-Konzentration (ng/l)	> 68,68	< 53,32	53,32-68,68

Tabelle 3: Grenzwerte der Trichotomisierungsstrategie in der TUM-Kohorte in ng/l.

ADNI-Kohorte	Positiv	Negativ	Borderline
Aβ42-Konzentration (ng/l)	< 177,62	> 206,38	177,62-206,38
t-Tau-Konzentration (ng/l)	> 104,15	< 83,85	83,85-104,15
p-Tau-Konzentration (ng/l)	> 27,41	< 20,59	20,59-27,41

Tabelle 4: Grenzwerte der Trichotomisierungsstrategie in der ADNI-Kohorte in ng/l.

Basierend auf der Anzahl positiver Biomarker nach Dichotomisierung und Trichotomisierung wurden die Patienten in die vier Klassen der Skala Paris-Nord, Lille, Montpellier (PML) eingeteilt, sodass ein detaillierter Charakter der Organisation in Studiengruppen vorgestellt wird (Lehmann *et al.* 2014). Die PML-Skala besteht aus vier Klassen, die einem (Klasse 1), zwei (Klasse 2), drei (Klasse 3) oder keinen (Klasse 0) pathologischen Markern entsprechen.

3.5 Statistische Analyse

Die statistischen Analysen wurden mit SPSS v19.0 für Windows (IBM Corp., Somers, NY, USA) und in MATLAB R2012a

(MathWorks, MA, USA) durchgeführt und umfasste die Distanzkorrelationsanalyse (DCA) und die Kappa (k)-Statistik. DCA wurde durchgeführt um die Wechselbeziehung zwischen einzelnen CSF-Biomarkern zu untersuchen. DCA ist ein nicht lineares Maß für die statistische Abhängigkeit, das zwischen 0 und 1 liegt, wobei Werte nahe 0 die Unabhängigkeit anzeigen (Székely *et al.* 2007). Es reagiert empfindlich auf nichtlineare Wechselbeziehungen, die durch Standardkorrelationsmaße wie den Pearson-Koeffizienten und den Spearman-Koeffizienten möglicherweise übersehen werden und ist nicht von der Klassifizierung des Biomarkers abhängig. Die zufallskorrigierte Übereinstimmung wurde unter Verwendung von Cohens und Fleiss' Kappa (k) berechnet.

In dieser Statistik zeigt $k \leq 0,40$ eine schlechte, $0,41-0,60$ eine mäßige, $0,61-0,80$ eine gute und $k \geq 0,81$ eine sehr gute Übereinstimmung an. Im Gegensatz zu Cohens Kappa, mit dem zwei Bewertungen einer Variablen verglichen werden, ist Fleiss' Kappa ein statistisches Maß für die Bewertung der Zuverlässigkeit und Übereinstimmung zwischen mehr als zwei Bewertungen (Fleiss JL 2003).

Data set	Monocentric (TUM)		Multicentric (ADNI)	
	Yes	No	Yes	No
<i>APOE</i> $\epsilon 4$ Carriers	Yes	No	Yes	No
<i>N</i>	59	27	126	52
Distance correlation				
A β 42/p-Tau	0.188	0.470	0.230	0.438
A β 42/t-Tau	0.169	0.451	0.194	0.336
p-Tau/t-Tau	0.917	0.914	0.643	0.718
Dichotomization of biomarker values				
Fleiss kappa	0.032	0.357	0.052	0.338
Cohen's kappa				
A β 42/p-Tau	- 0.122	0.408	- 0.026	0.424
A β 42/t-Tau	- 0.139	0.216	- 0.031	0.282
p-Tau/t-Tau	0.427	0.456	0.280	0.397
Trichotomization of biomarker values				
Fleiss kappa	0.094	0.190	0.004	0.301
Cohen's kappa				
A β 42/p-Tau	- 0.003	0.230	0.152	0.346
A β 42/t-Tau	0.031	0.246	0.015	0.252
p-Tau/t-Tau	0.288	0.152	0.136	0.368

Tabelle 5: Studienstichprobe und Grad der Übereinstimmung der Biomarker

4. Material und Methoden Publikation 2

4.1 Studiendesign und Stichprobe

Das Studiendesign wurde von den institutionellen Prüfungsausschüssen aller teilnehmenden Zentren genehmigt. Alle Teilnehmer oder deren Bevollmächtigten erteilten eine schriftliche Einverständniserklärung. Die Analysen umfassten einen monozentrischen Datensatz, im Weiteren MUC genannt, der Personen umfasste, die am Universitätsklinikum TUM rekrutiert wurden und einen multizentrischen Datensatz, der Teilnehmer der ersten Phase der ADNI mit verfügbaren CSF-Daten zu Konzentrationen von A β 42, t-Tau und p-Tau. ADNI ist ein Gemeinschaftsprojekt von akademischen Institutionen und privaten Unternehmen in den USA und Kanada. Die in dieser Publikation verwendeten ADNI-Daten wurden am 31. Juli 2013 aus der ADNI-Datenbank (www.adni-info.org) abgerufen. Die allgemeinen Zulassungskriterien für ADNI sind unter adni-info.org/Scientists/ADNIGrant/ProtocolSummary.aspx beschrieben. Die Datensätze bestanden aus Patienten mit AD und Kontrollen. Patienten mit AD erfüllten die NIA-AA Kriterien und die Kriterien der National Institute of Neurological and Communicative Disorders und der Stroke/AD and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) für eine AD und eine wahrscheinliche AD (McKhann *et al.* 1984; Petersen *et al.* 2010; McKhann *et al.* 2011). Gesunde Kontrollen in beiden Datensätzen umfassten ältere Personen ohne neuropsychiatrische Störungen oder subjektive Gedächtnisbeschwerden und mit normalen neurokognitiven Testergebnissen, die in ihrem täglichen Leben unabhängig waren (Petersen *et al.* 2010; Pernecky *et al.* 2013). Die Liquorproben der gesunden MUC-Kontrollgruppe wurden im Rahmen geplanter urologischer und orthopädisch chirurgischer Eingriffe unter Spinalanästhesie im Krankenhaus der TUM gewonnen (Pernecky

et al. 2013). Der MUC-Datensatz enthielt auch eine Stichprobe von Krankheitskontrollen, bei denen keine Störung des ZNS diagnostiziert wurde. Sie hatten keine subjektiven Gedächtnisbeschwerden und waren in ihren täglichen Aktivitäten unabhängig. Lumbalpunktion und strukturelle Bildgebung zeigten keine Auffälligkeiten. Die Erhebung der Neurodegenerationsmarker dieser Stichprobe wurde nicht zur Erstellung einer klinischen Diagnose verwendet.

4.2 Liquorprobenanalyse

Die Liquor-Peptidkonzentrationen wurden in ADNI mit einer Multiplex-Plattform (Kim *et al.* 2011) und in MUC mit einem handelsüblichen enzymgebundenen Immunosorbens-Assays gemessen (Vandermeeren *et al.* 1993; Vanderstichele *et al.* 2000; Alexopoulos *et al.* 2013).

4.3 Apo-E-Genotypisierung

Apo-E-Genotypen wurden mit der Standardmethode der Polymerase-Kettenreaktion bestimmt (Jagust *et al.* 2009b). Für Krankheitskontrollen stehen keine APO-E-Genotypdaten zur Verfügung, da von Ihnen keine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt wurde.

4.4 Klassifizierung neurochemischer Biomarkerwerte

Die Biomarkerwerte jedes Patienten wurden entweder als positiv für AD, negativ für AD oder als grenzwertig eingestuft. Die Definition der Grenzwertbereiche basierte auf zuvor veröffentlichten Biomarker-Grenzwerten, die für jede verwendete Messmethode spezifisch waren (Hulstaert *et al.* 1999; Jagust *et al.* 2009b; Shaw *et al.* 2009; Landau *et al.* 2010; Guo *et al.* 2013a). Die Standardabweichungen (SD) in der monozentrischen und multizentrischen Stichprobe wurden getrennt bestimmt, da die für die Peptidmessungen in beiden Datensätzen verwendeten Methoden unterschiedlich waren. Der Bereich der Grenzwerte

wurde mit dem Ziel festgelegt, einen Kompromiss zwischen der Minimierung der Wahrscheinlichkeit einer künstlichen Kategorisierung als positiv oder negativ und der gleichzeitigen Klassifizierung von <25% der gemessenen Werte jedes Biomarkers als Grenzwert zu erzielen. Werte innerhalb von 20% der SD ab dem jeweiligen Cutoff wurden als Grenzwert klassifiziert. A β 42-Konzentrationen, die niedriger als der definierte Bereich der A β 42-Grenzwerte und t-Tau- bzw. p-Tau-Werte, die höher als die jeweiligen Grenzbereiche lagen, wurden als positiv für das Vorliegen einer AD angenommen. Alle anderen Biomarkerwerte wurden als negativ angesehen.

In der MUC-Stichprobe wurden die folgenden Konzentrationen als positiv für AD angesehen:

A β 42 <579,72 ng/l

t-Tau > 331,11 ng/l

p-Tau >68,68 ng/l.

Die folgenden Konzentrationen wurden als negativ für AD angesehen:

A β 42 > 704,28 ng/l

t-Tau <172,89 ng/l

p-Tau <53,32 ng/l.

Die AD-Positivität im ADNI-Datensatz wurde definiert als:

A β 42 <177,62 ng/l

t-Tau >104,15 ng/l

p-Tau >27,41 ng/l.

Die AD-Negativität wurde definiert als:

A β 42 >206,38 ng/l

t-Tau <83,85 ng/l

p-Tau <20,59 ng/l.

4.5 NIA-AA Kategorisierung der Teilnehmer

Gemäß den NIA-AA Algorithmen und ihren Liquorbiomarkerwerten wurden die Kontrollen in die präklinischen AD Stadien 1 oder 2 oder als nicht pathologisch in Bezug auf das Vorhandensein der

AD eingestuft. Patienten mit einer Demenz wurden in Gruppen mit hohen Zwischenstufen, eine geringe Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Alzheimerpathologie oder als nicht aussagekräftig bezüglich einer Alzheimerpathologie eingeteilt. Teilnehmer mit Biomarkerkonstellationen, die nicht von den NIA-AA-Richtlinien berücksichtigt wurden, konnten nicht in die NIA-AA-Kategorien eingeteilt werden. An dieser Stelle werden Modifikationen der NIA-AA-Algorithmen vorgeschlagen, sodass alle potenziellen Biomarkerkonstellationen integriert und spezifiziert werden können. In dem modifizierten Algorithmus ist die relative Bedeutung von A β 42 im Vergleich zu t-Tau und p-Tau größer. Personen mit positiven A β 42-Werten werden mindestens als hohe Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer AD eingestuft, während Personen mit negativen A β 42-Werten als niedrig wahrscheinlich eingestuft werden. Personen mit negativen A β 42- und negativen oder grenzwertigen Neurodegenerationsmarkern werden in die Kategorie mit der niedrigsten Wahrscheinlichkeit eingeteilt. Personen mit grenzwertigen A β 42 in Verbindung mit mindestens einem positiven Neurodegenerationsmarker p-Tau oder t-Tau werden als mittlere AD Wahrscheinlichkeit eingestuft, während Personen ohne positive Neurodegenerationsmarker als Personen mit geringer AD Wahrscheinlichkeit eingestuft werden. Bei einer Reihe von Teilnehmern (n=18) war nur ein Biomarker für Neurodegeneration (t-Tau oder p-Tau) verfügbar. Aufgrund eines hohen Korrelationsgrades zwischen p-Tau/t-Tau stellten wir die Hypothese auf, dass nicht verfügbare Biomarker mit dem verfügbaren Biomarker übereinstimmen (Mattsson *et al.* 2009).

4.6 Statistische Analyse

Die statistischen Analysen wurden in SPSS v19.0 für Windows (IBM Corp., Somers, NY, USA) und in der Version MATLAB R2012a (Mathworks, Natick, MA) durchgeführt. Die Normalität der Datenverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Die Unterschiede zwischen den diagnostischen Gruppen

in Bezug auf demografische Daten und Biomarkerdaten, sowie APO-E4-Allelverteilung wurden mit Varianzanalyse, Bonferroni-Post-hoc-Analyse, Kruskal-Wallis-Test, Mann-Whitney-Test und Chi-Quadrat-Test nach Bedarf und in jedem Datensatz separat bewertet. Die Rohbiomarkerdaten beider Datensätze wurden mittels nichtnegativer Matrixfaktorisierung (NNMF) grafisch dargestellt, einer Datenlertechnik, die sich besonders zur Analyse positiv bewerteter Daten eignet, um die verfügbaren Informationen in einer niedrigen Dimension (2D) zu verdichten. Die Gesamtmenge der Messungen $X_i = \{A\beta 42, t\text{-tau}, p\text{-tau}\}$, unwahrscheinlich $i, i = 1, 2, \dots, N$, wobei N die Gesamtzahl der Teilnehmer ist, wurde als $X [N \times 3 \text{ angenähert}] \approx W [N \times 2] B [2 \times 3]$, um den durch die Frobenius-Form verursachten Rekonstruktionsfehler zu minimieren: $\|X - WB\|_F^2$. Auf diese Weise nahm der dem i -ten Teilnehmer zugeordnete Messvektor X_i die Form von $X_i = w_{i1} B_1 + w_{i2} B_2$ an, wobei B_1, B_2 die Einheitslängenvektoren für eine sparsame 2D-Darstellung und w_{i1}, w_{i2} die entsprechenden Komponenten waren. Ein zweiseitiges Signifikanzniveau von 0,05 wurde verwendet.

5. Themenübergreifende Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

In der ersten Publikation wurden nach einer Dichotomisierung der Biomarkerwerte 56,7% der Patienten in der TUM-Stichprobe und 64,6% der Teilnehmer aus der ADNI-Stichprobe in die PML-Skala Klasse 3 eingestuft. Die Cohen-Kappa-Werte schwankten zwischen -0,005 und 0,379, während der Fleiss-Kappa-Wert in den TUM- und ADNI-Stichproben 0,145 bzw. 0,197 betrug. Nach der Trichotomisierung der Biomarkerwerte wurden 37,5% bzw. 55,6% der Patienten in der TUM- bzw. ADNI-Stichprobe in die PML-Skala Klasse 3 eingestuft. Die Cohen's Kappa-Werte lagen zwischen 0,076 und 0,272. Der Fleiss-Kappa-Wert betrug 0,104 in der TUM-Stichprobe und 0,152 in der ADNI-Stichprobe. Sowohl die Fleiss-, als auch die Cohen's Kappa-Werte deuten auf eine schlechte

Übereinstimmung zwischen den Liquorbiomarkern hin, sowohl nach Dichotomisierung, als auch nach Trichotomisierung der Werte. Bemerkenswert ist, dass die Kappa-Werte in der ADNI-Kohorte mit Ausnahme von t-Tau/p-Tau nach Dichotomisierung höher waren. Die hier festgestellte schlechte Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Biomarkern ist nicht auf die Kategorisierungsstrategien zurückzuführen, da DCA-Werte von weniger als 0,273 ebenfalls auf einen geringen Grad der Abhängigkeit hindeuten.

Die Ergebnisse der Übereinstimmungs- und Korrelationsanalysen bei ApoE ϵ 4-Trägern und Nicht-Trägern zeigen bei ersteren eine schlechte Übereinstimmung zwischen den Biomarkern in beiden Datensätzen mit Ausnahme von t-Tau/p-Tau in der TUM-Kohorte nach Dichotomisierung der Biomarkerwerte. Bei Nicht-Trägern deuten die Kappa-Werte auf eine schlechte oder mäßige Übereinstimmung hin. Bemerkenswert ist, dass in beiden Datensätzen der Grad der Übereinstimmung bei ApoE- ϵ 4-Nicht-Trägern höher war als bei Trägern, außer bei p-Tau/t-Tau nach Trichotomisierung in der TUM-Kohorte. Diese Unterschiede sind nicht auf die verwendeten Kategorisierungsstrategien zurückzuführen, da sie mit den Ergebnissen der DCA übereinstimmen, die auf einen höheren Grad der Abhängigkeit bei ApoE- ϵ 4-Nicht-Trägern als bei Trägern hinweisen, mit Ausnahme von p-Tau/t-Tau in der TUM-Stichprobe.

Data set	Monocentric (TUM)	Multicentric (ADNI)
Dichotomization of biomarker values		
CSF A β 42 values positive/negative for AD (%)	76.9/23.1	92.7/7.3
CSF p-Tau values positive/negative for AD (%)	(N = 102) 71.2/28.8	91.0/9.0
CSF t-Tau values positive/negative for AD (%)	91.3/8.7	66.9/33.1
PML Scale		
Class 0 (no positive biomarkers) (%)	1.9	2.8
Class 1 (one positive biomarker) (%)	13.5	7.9
Class 2 (two positive biomarkers) (%)	27.9	24.7
Class 3 (three positive biomarkers) (%)	56.7	64.6
Fleiss kappa	0.145	0.197
Cohen's kappa		
A β 42/p-Tau	0.103	0.287
A β 42/t-Tau	- 0.005	0.116
p-Tau/t-Tau	0.379	0.332
Trichotomization of biomarker values		
CSF A β 42 values positive/borderline/negative for AD (%)	61.5/22.1/16.3	89.9/3.4/6.7
CSF p-Tau values positive/borderline/negative for AD (%)	(N = 102) 56.7/23.1/20.2	86.5/8.4/5.1
CSF t-Tau values positive/borderline/negative for AD (%)	81.7/16.3/1.9	59.6/14.0/26.4
PML Scale		
Class 0 (no positive biomarkers) (%)	8.7	3.9
Class 1 (one positive biomarker) (%)	20.2	11.8
Class 2 (two positive biomarkers) (%)	33.7	28.7
Class 3 (three positive biomarkers) (%)	37.5	55.6
Fleiss kappa	0.104	0.152
Cohen's kappa		
A β 42/p-Tau	0.084	0.272
A β 42/t-Tau	0.076	0.111
p-Tau/t-Tau	0.203	0.218

Tabelle 6: Grad der Übereinstimmung der Biomarker nach Dichotomisierung und Trichotomisierung der Biomarkerwerte

In der zweiten Publikation bestanden signifikante Unterschiede in Alters- und Geschlechtsverteilung in der MUC-Kohorte. Die Krankheitskontrollen waren signifikant jünger als die Kohorte der AD-Patienten ($p=0,03$), während Frauen in der Gruppe der gesunden Kontrollen signifikant seltener waren als in der Gruppe der AD ($p<0,01$). Wie erwartet war in beiden Datensätzen das Vorhandensein des ApoE- ϵ 4-Allels bei Patienten mit AD signifikant häufiger als bei Gesunden Kontrollpersonen. Eine graphische Darstellung der A β 42-, t-Tau und p-Tau-Konzentrationen im Liquor der Teilnehmer unter Verwendung von NMF zeigt die Diskordanz zwischen Liquorprofilen und Diagnosestatus. Sie verdeutlicht, dass in beiden Datensätzen trotz des eindeutig unterschiedlichen diagnostischen Status der Teilnehmer ihre Biomarkerprofile über ein kontinuierliches Spektrum zwischen beiden entgegengesetzten

Rändern verteilt sind, wobei Kontrollen mit normalen Biomarkern (unterer rechter Quadrant der Grafiken) und Patienten mit AD und positiven Biomarkern (oberer linker Quadrant der Grafiken) die extremen Enden darstellen.

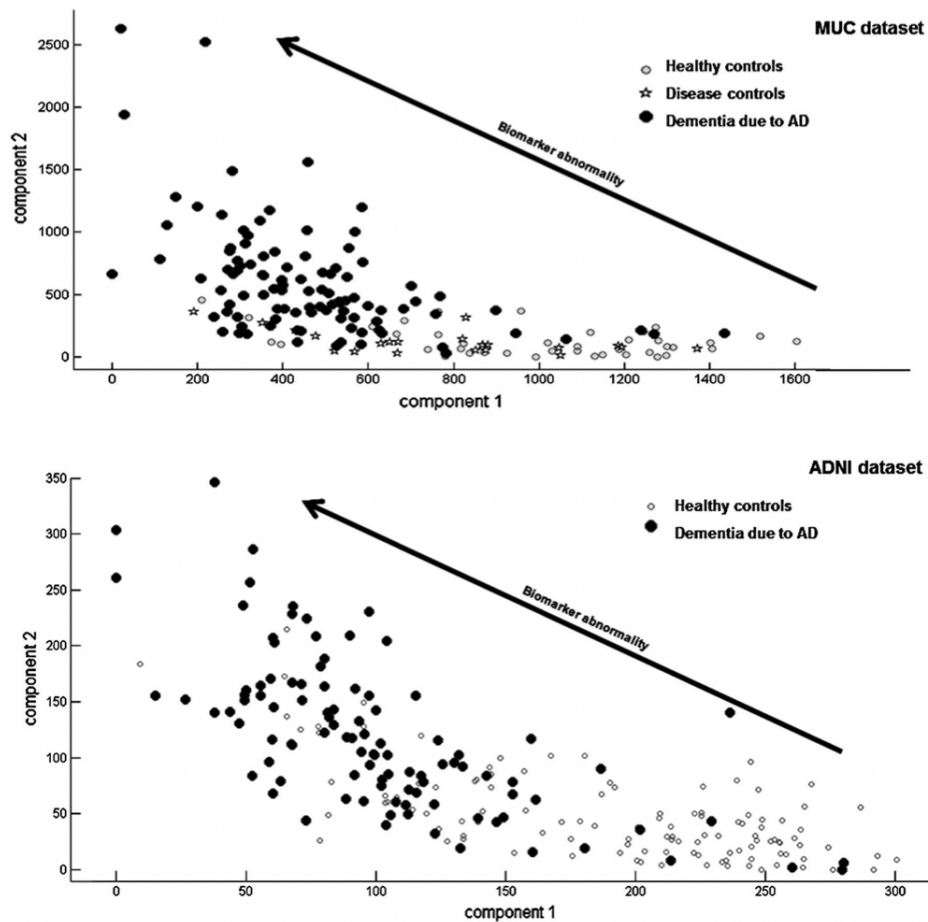


Abbildung 3: Verdichtete Darstellung in Form eines 2D-Streudiagramms des monozentrischen (MUC) und multizentrischen (ADNI) Datensatzes (oberes bzw. unteres Feld). Das Ensemble der trivarianten Messungen von β -Amyloid 1-42 im Liquor, hyperphosphoryliertem Tau an Threonin 181 und Gesamt-Tau für alle Teilnehmer wurde mittels nicht-negativer Matrixfaktorisierung (NNMF) analysiert und durch einen bivariaten Datenschwarm approximiert, der die Gesamtvariation in den Originaldaten bequem darstellt. In der abgeleiteten Karte zeigen die Beschriftungen die verschiedenen Gruppen an.

Im MUC-Datensatz wiesen nur 22,5% der gesunden Kontrollen und 13,6% der Krankheitskontrollen ein eindeutig normales neurochemisches Profil auf, während bei ADNI der Anteil der Kontrollen mit eindeutig normalem Liquorprofil signifikant höher ausfiel (35,4%; $p=0,06$). Die jeweiligen Anteile der gesunden

Kontrollen bei denen alle Biomarkern abnorm ausfielen (typisches neurochemisches AD-Profil) betrugten 2,5% in MUC und 8,6% in ADNI. Bei keiner der Krankheitskontrollen waren alle Liquorbiomarker positiv für AD. Die Verteilung der Kontrollen, bei denen alle Biomarker abnormal waren unterschied sich nicht zwischen den Datensätzen ($p=0,16$). Interessanterweise hatten 19,5% der MUC und 18,9% der ADNI-Gesundheitskontrollen, sowie 4,5% der MUC-Krankheitskontrollen positive p-Tau- und/oder t-Tau-Werte in Verbindung mit negativen oder grenzwertigen A β 42-Werten.

In den Kohorten der klinisch diagnostizierten AD wiesen 40,3% in MUC und 52,9% in ADNI ein für AD typisches Biomarkerprofil auf. Eine gänzliche Biomarker-Negativität bei Patienten mit AD kam nur in 0,4% der MUC- und in 2,9% der ADNI-Kohorte vor ($p=0,34$). Bei 30,3% der MUC- und 6,9% der ADNI-Patienten mit AD wurden positive p-Tau- und/oder t-Tau-Werte mit negativen oder grenzwertigen A β 42-Konzentrationen beobachtet.

Der Versuch, den NIA-AA-Algorithmus für präklinische AD auf gesunde und erkrankte Kontrollen anzuwenden ergab, dass nur sieben von achtzehn beobachteten Biomarkerkonstellationen nach dem NIA-AA-Algorithmus kategorisiert werden konnten. Darüber hinaus erfüllten 4,9% der MUC- und 15,5% der ADNI-Gesundheitskontrollen und 4,5% der MUC-Krankheitskontrollen die Kriterien für das präklinische Stadium 2 (mindestens ein Amyloid- und ein Neurodegenerationsmarker positiv), während 4,8% der MUC-Gesundheitskontrollen und 6,4% der ADNI- und 22,7% der MUC-Krankheitskontrollen die Kriterien für das präklinische Stadium 1 (nur A β -Positivität) erfüllten. 68,3% der gesunden Kontrollen des MUC-Datensatzes und 32,8% der ADNI-Kontrollen wiesen Kombinationen auf, die in den NIA-AA-Richtlinien nicht aufgeführt sind. Bei den MUC-Kontrollen lag der entsprechende Anteil bei 59,1%. Nur vier der achtzehn potenziellen Biomarkerkonstellationen lassen sich nach dem NIA-AA-Algorithmus für AD in Kategorien unterschiedlicher

Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer AD einordnen. In MUC wurden 40,3% und 13,4% der Patienten mit AD in die Gruppe hoher (alle Biomarker positiv) bzw. mittlerer (positives A β 42 und sowohl p-Tau, als auch t-Tau grenzwertig oder umgekehrt) Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer AD eingeteilt. Mit Ausnahme eines einzigen Patienten mit der geringsten Wahrscheinlichkeit für eine AD (alle verfügbaren Biomarker negativ) wurden alle anderen Biomarkerkombinationen der MUC-Patienten, also 45,4% von den NIA-AA-Richtlinien entweder als uninformativ eingestuft oder gar nicht spezifiziert. Bei ADNI konnten 52,9%, 2% und 3% der Patienten mit hoher, mittlerer bzw. geringer Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer AD eingestuft werden. Alle anderen ADNI-Patienten, also 42,1% wiesen Kombinationen von Biomarkerbefunden auf, die entweder nicht aussagekräftig waren oder von den NIA-AA-Kriterien nicht definiert werden.

5.2 Diskussion mit Bezug zur aktuellen Literatur

Die erste Studie ergab wider Erwarten eine geringe Übereinstimmung und Wechselbeziehung der verschiedenen Liquorbiomarker bei Probanden mit fortgeschrittener Alzheimer Demenz. Dies lässt vermuten, dass die Annahme von einer allumfassenden Positivität der Biomarker im Demenzstadium vereinfacht ist. Die derzeitigen Konzepte über die temporale Evolution der Alzheimerbiomarker, die sich aus Querschnittsstudien ergeben, entsprechen dieser Vorstellung (Jack *et al.* 2013; Bertens *et al.* 2015; McDade and Bateman 2017). Auch wenn die Kappa-Werte auf eine schlechte Übereinstimmung in beiden Stichproben hinweisen, war der Grad der Übereinstimmung in der ADNI-Stichprobe höher als in der TUM-Stichprobe, mit Ausnahme von p-Tau/t-Tau. Dieser Unterschied könnte auf die Tatsache zurückzuführen sein, dass die TUM-Patienten im natürlichen klinischen Umfeld einer universitären Gedächtnisambulanz rekrutiert wurden, was weniger

anfällig für Überselektion und Rekrutierungsverzerrungen ist als der hochselektive Rahmen einer multizentrischen Forschungsstudie wie ADNI (Alexopoulos *et al.* 2016). Trotzdem zeigen die DCA in der TUM-Stichprobe eine höhere Abhängigkeit zwischen p-Tau/t-Tau, sowie zwischen A β 42/t-Tau im Vergleich zu ADNI. Die Unterschiede in den Übereinstimmungsgraden zwischen den beiden Stichproben sollten daher kritisch betrachtet werden, insbesondere im Hinblick auf die künstliche Definition der Grenzwertbereiche und die unterschiedlichen Eigenschaften der verwendeten Laborversuche.

Der relativ hohe Grad der Wechselbeziehung zwischen den beiden Biomarkern, die mit der Tau-Pathologie in Verbindung gebracht werden (p-Tau und t-Tau) beruht möglicherweise auf dem direkten Zusammenhang zwischen der Tau-Hyperphosphorylierung, der Ablösung von Tau von den Mikrotubuli, dem neuronalen Tod und dem Anstieg von Tau im Liquor bei der Alzheimer Krankheit (Gendron and Petrucelli 2009).

Das Vorhandensein des ApoE- ϵ 4-Allels war in beiden Datensätzen mit geringeren Übereinstimmungsgraden und Zusammenhängen im Vergleich zu Nicht-Trägern verbunden. Erwähnenswert ist, dass in beiden Datensätzen keine Unterschiede zwischen Leistung in MMSE und Alter bei Trägern des ApoE- ϵ 4-Allels und Nicht-Trägern bestanden (Daten in Publikation nicht gezeigt). ApoE- ϵ 4 ist der stärkste genetische Risikofaktor für die sporadische AK und beeinflusst die Entwicklung der zentralen pathologischen Merkmale A β und Tau (Yamazaki *et al.* 2016; Zhao *et al.* 2018). Der festgestellte Unterschied im Grad der Übereinstimmung und der Wechselbeziehung rechtfertigt eine Replikation der Ergebnisse und weitere Untersuchungen. Die bei ϵ 4-Trägern beobachtete größere Heterogenität könnte durch die Tatsache erklärt sein, dass der Beitrag von ApoE- ϵ 4 zur AD-Pathogenese nicht auf die Erleichterung der A β -Ablagerung und Tangle-Bildung beschränkt ist. Es modifiziert durch sein korrespondierendes Protein Apolipoprotein E mehrere biologische Prozesse. Es gibt

zunehmende Hinweise darauf, dass es an der Modulation der synaptischen Plastizität, des Lipidtransports, des Glucosestoffwechsels, der mitochondrialen Funktion, der vaskulären Integrität, der Neuroinflammation und der Apoptose beteiligt ist (Persson *et al.* 2017; Zhao *et al.* 2018). All diese pathologischen Prozesse können additiv zum kognitiven Verfall beitragen (Boyle *et al.* 2013; Brenowitz *et al.* 2017), was zu schwereren klinischen Symptomen führt, als die, die der A β - und Tau-Pathologie im Gehirn entsprechen. Alternativ kann die Hypothese aufgestellt werden, dass das Vorhandensein des ApoE- ϵ 4 -Allels bei symptomatischer Alzheimer Krankheit im Vergleich zu Nicht-Trägern zu größeren Veränderungen der Liquorbiomarker im Laufe der Zeit führen kann. Nichtsdestotrotz sind und bleiben diese Interpretationen eher spekulativ, solange keine tieferen Einblicke im Sinne von Längsschnittstudien der Liquorbiomarkerwerte und die Auswirkungen von ApoE- ϵ 4 auf diese gewonnen werden.

Unsere Beobachtungen stehen in Einklang mit weiteren Studien, unter anderem unsere zweite Publikation, die darauf hinweisen, dass weniger als 70% der Patienten mit AD ein AD-typisches Liquorbiomarkerprofil aufweisen (Alexopoulos *et al.* 2014; Skillback *et al.* 2015; Alexopoulos *et al.* 2016).

Unsere Ergebnisse sind mit der Vorstellung vereinbar, dass der klinische Phänotyp, der die klinische Diagnose AD stützt nicht einhergeht mit dem typischen AD-Biomarkerprofil. Sie lassen vermuten, dass das klinische Bild keine direkte Folge des Vorhandenseins der pathologischen Veränderungen ist, wenn wir davon ausgehen, dass die etablierten Liquorbiomarker diese pathologischen Veränderungen genau und spezifisch widerspiegeln (Rosenmann 2012). Möglicherweise ist der klinische Phänotyp das Ergebnis eines komplexen Zusammenspiels zwischen interagierenden Co-Pathologien (z.B. zerebrovaskuläre Veränderungen, Lewy-Körperchen, mitochondriale Anomalien) und

sowohl schädlicher als auch schützender Umweltfaktoren (z.B. Ernährungs- und Lebensstilparameter, geistige Aktivität, kognitive Reserve) (Boyle *et al.* 2013; Guo *et al.* 2013b; Korczyn 2013; Brenowitz *et al.* 2017; Iturria-Medina *et al.* 2017). Die genannten Faktoren könnten die klinische Ausprägung von AD-assozierten pathologischen Merkmalen verstärken oder abmildern und das Fortschreiten der klinischen Symptome beschleunigen oder verlangsamen (Boyle *et al.* 2013; Weiner *et al.* 2017). Unter der Annahme, dass die pathologischen Veränderungen die klinische Ausprägung der AD widerspiegeln ist zu vermuten, dass bei Individuen mit inhomogenem Liquorprofil ein Co-Faktor die klinische Ausprägung der Symptome potenziert, da das Liquorbiomarkerprofil keine so weit fortgeschrittene Pathologie impliziert, wie das klinische Bild anzeigt. Alternativ kann behauptet werden, dass die festgestellte geringe Übereinstimmung und Wechselbeziehung zwischen den Liquorbiomarkern bei AD auf Veränderungen der Biomarker zurückzuführen ist, die während der symptomatischen Phasen der Krankheit auftreten. Leider können auch diese Erklärungsversuche nicht durch Längsschnittstudien gestützt werden.

Die beobachtete Inhomogenität der Liquorbiomarker bei Patienten mit AD könnte Auswirkung auf deren Behandlungsstrategie haben. Unsere Beobachtungen unterstreichen die Notwendigkeit, biomarkerbasierte Diagnosen in klinische Studien einzubeziehen, damit diese nicht durch den Einbezug von Probanden mit atypischen Biomarkerkonstellationen verzerrt werden, deren Prävalenz bei über 30% zu liegen scheint. Der Einschluss von Patienten mit klinischer Diagnose einer AD, aber mit variablen (typischen und atypischen) Biomarkerprofilen in klinische Studien könnte zu deren Scheitern geführt haben und noch laufende Studien verzerren (Weiner *et al.* 2017). Daher könnte der gezielte Einschluss von Patienten mit einem für die AD typische Biomarkerprofil die Aussagekraft klinischer Studien verbessern. Darüber hinaus könnte die festgestellte Heterogenität der

Biomarkerkonstellationen die Frage nach möglichen Unterschieden in der therapeutischen Wirksamkeit der derzeit verfügbaren Medikamente gegen Demenzsymptome aufwerfen. Diese Fragen sollten in zukünftigen Studien näher beleuchtet werden, auch um in Zukunft personalisierte Therapiestrategien zu formulieren (Reitz 2016).

Die Ergebnisse beider Studien deuten auf ein Kontinuum neurochemischer Biomarkerprofile ausgehend vom kognitiv gesunden Altern bis zum Demenzstadium hin. Obwohl die Studienteilnehmer einen unterschiedlichen Diagnosestatus aufwiesen, waren Spektren abnormer und normaler Biomarkerbefunde nachzuweisen. Dies steht im Einklang mit Berichten aus großen klinischen Studien für krankheitsmodifizierende Medikamente, die zeigten, dass 10-35% der Patienten mit klinisch diagnostizierter AD negative A β -Positronenemissionstomographie-Scans, also keine messbare A β -Pathologie aufwiesen (Salloway *et al.* 2014). Auch sind die derzeitigen klinischen Diagnosemethoden und die Biomarkerdaten im Zusammenhang mit der histopathologischen Diagnose unzureichend validiert (Sensitivität 71-88%, Spezifität 44-71%) (Beach *et al.* 2012).

Abnorme Biomarkerbefunde im Liquor konnten sowohl in der multizentrischen, als auch in der monozentrischen Kontrollgruppe festgestellt werden. Unsere Beobachtungen stehen im Einklang mit früheren Berichten, die zeigten, dass mehr als 50% der kognitiv gesunden älteren Menschen mindestens einen positiven bildgebenden Alzheimerbiomarker haben (Jack *et al.* 2012; Jack *et al.* 2014).

Nachweisliche Biomarker-Anomalien ohne klinische Symptome sind mit dem Konzept der präklinischen Alzheimer Krankheit vereinbar (Sperling *et al.* 2011). Demnach beginnen sich die pathologischen Merkmale der Alzheimer-Krankheit viele Jahre vor dem Auftreten klinischer Symptome zu entwickeln. Infolgedessen

werden AD-ähnliche Gehirnveränderungen häufig bei Personen ohne kognitive Symptome gefunden. Das Konzept der Hirn- und kognitiven Reserve liefert eine Erklärung dafür, wie pathologische Veränderungen über einen längeren Zeitraum akkumulieren können, ohne dass es zu klinischen Anzeichen einer Demenz kommt (Pernecky *et al.* 2011; Guo *et al.* 2013b). Das Gehirn ist somit in der Lage funktionelle und strukturelle Veränderungen zu tolerieren, zu maskieren oder sogar durch reparative Prozesse darauf zu reagieren (Solomon *et al.* 2014). Die Diskrepanz zwischen Biomarkerprofilen und klinischen Symptomen sollte gründlich untersucht werden, da sie einen entscheidenden Parameter nicht nur für klinische Studien und die Definition von Surrogatendpunkten in deren Rahmen darstellt, sondern auch für die Entwicklung wirksamer Präventionsstrategien, die nicht mit dem Pathomechanismus der Alzheimer Krankheit in Zusammenhang stehen.

Die Beobachtungen der vorliegenden Studie in Bezug auf Kombinationen von abnormalen p-Tau- und/oder t-Tau-Werten mit negativen oder grenzwertigen A β 42-Konzentrationen untermauern das Vorhandensein von Personen mit fehlenden Anzeichen für eine Amyloid-Akkumulation, aber abnormen Biomarkern für neuronale Schädigung, die in der Literatur als „non-suspected AD-pathophysiology (SNAP)“ Erwähnung finden. Die (zweite) Studie stimmt mit den vorherigen Studien insofern überein, dass der Anteil der Personen mit SNAP in jeder Diagnosegruppe nicht über 30% liegt (Jack *et al.* 2012; Lowe *et al.* 2013; Alexopoulos *et al.* 2014). Interessanterweise wies der monozentrische Datensatz der Personen mit wahrscheinlicher AD deutlich mehr Patienten mit SNAP auf als die ADNI-Stichprobe (30,3% vs. 6,9%). Dieser Unterschied kommt möglicherweise durch die unterschiedliche Selektion der Kohorten zustande. Die ADNI-Kohorte wurde zu Forschungszwecken an spezialisierten Forschungszentren rekrutiert, mit der Absicht für zukünftige Therapiestudien zu rekrutieren, während die MUC-Stichprobe in einem natürlichen

klinischen Umfeld und nicht ausschließlich im Rahmen von Forschungszwecken rekrutiert wurden. Letztere ist somit möglicherweise weniger anfällig für Verzerrungen oder Überselektion.

Die Ergebnisse der zweiten Studie unterstreichen, dass die NIA-AA-Algorithmen nicht alle möglichen Biomarker-Konstellationen berücksichtigen. Etwa 40% der beobachteten Biomarker-Konstellationen konnten nach den NIA-AA-Algorithmen nicht klassifiziert werden. Widersprüchliche Biomarker-Kombinationen innerhalb einer Kategorie (z.B. neuronale Schädigung) oder zwischen den verschiedenen Biomarker-Kategorien, wie z.B. die auf SNAP hindeuten, werden nicht berücksichtigt oder als uninformativ eingestuft. Im Zeitalter der personalisierten Medizin ist es jedoch wichtig, dass alle möglichen Biomarkerkonstellationen berücksichtigt und in den Algorithmus zur Bestimmung von Gruppen mit unterschiedlicher Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer AD einbezogen werden (Escudero *et al.* 2013; Souslova *et al.* 2013).

In dem in der Publikation vorgestellten modifizierten Schema wird eine Zuordnung der Gruppen mit unterschiedlichen Biomarkerkonstellationen auf ihren Bezug zur gleichen Pathologie bzw. Biomarker-Klassifizierung und unabhängig von der klinischen Symptomatik vorgeschlagen (McKhann *et al.* 2011; Sperling *et al.* 2011). Diese Zuordnung sagt nichts über ein bestimmtes Muster der klinischen Prognose oder Symptomatik aus, da beides nicht ausschließlich von der AD-Pathologie abhängig ist (Pernecky *et al.* 2014). In dem modifizierten Schema werden Amyloidmarker im Vergleich zu Markern der Neurodegeneration in Bezug auf die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer AD priorisiert, da A β 42 spezifischer für Alzheimer ist als Tau. Auch ist mit einer früheren Abweichung des A β 42-Spiegels im Vergleich zu t-Tau und p-Tau zu rechnen, wenn man das Modell der zeitlichen Dynamik berücksichtigt (Jack *et al.* 2013). Der NIA-AA Algorithmus für präklinische AD und zuvor vorgeschlagene Verfeinerungen des

NIA-AA-Algorithmus priorisieren ebenfalls Amyloidbiomarker (Sperling *et al.* 2011; Lowe *et al.* 2013). Nichtsdestotrotz muss das vorgeschlagene modifizierte Zuordnungsschema durch empirische Beweise, z.B. durch pathologische Diagnosestellung validiert werden. Wünschenswert wäre hier auch ein naher zeitlicher Zusammenhang zur Liquorgewinnung.

5.3 Limitationen der Studien

Bei der ersten Studie war die Definition des Grenzwertbereiches künstlich gewählt. Nichtsdestotrotz zeigt sich nicht nur bei der Trichotomisierung, sondern auch bei der Dichotomisierung eine schlechte Übereinstimmung zwischen den unterschiedlichen Liquorbiomarkern. Zusätzlich deuten die DCA auf geringe Zusammenhänge hin. Außerdem wurden die Konzentrationen der einzelnen Biomarker in den beiden Studienproben nicht mit demselben Labortest gemessen. Dennoch basierten die Analysen in beiden Laboren (TUM und ADNI-Biomarker-Kernlabor an der Universität von Pennsylvania) auf hochpräzisen und gut etablierten Assays (Shaw *et al.* 2009).

Eine weitere Einschränkung der Studie ist die fehlende histopathologische Verifizierung der klinischen Diagnosen. Ausserdem ist die Verallgemeinbarkeit der Studienergebnisse auf die interessierende Population relativ begrenzt, da beide Kohorten an spezialisierten Zentren rekrutiert worden sind. Daher sind weitere Studien, die sich auf die Übereinstimmung der Biomarker im Liquor und den Grad der Wechselbeziehung konzentrieren, sowie Grenzwerte für Biomarker berücksichtigen gerechtfertigt.

In der zweiten Studie umfasst die diagnostische Abklärung der Kontrollgruppe keine neuropsychologische Testung. Daher kann nicht ausgeschlossen werden, dass ein Teil der Kontrollgruppe an sehr leichten kognitiven Defiziten litt, die jedoch keine subjektiven Gedächtnisbeschwerden oder Beeinträchtigungen bei den Aktivitäten des täglichen Lebens verursachten. Darüber hinaus ist

die Größe der Krankheits-Kontrollgruppe relativ klein. Außerdem beschränkte sich die neuropsychologische Beurteilung der gesunden Kontrollen auf etablierte kognitive Messungen, die subtile kognitive Beeinträchtigungen nicht erkennen können (Sperling *et al.* 2011). Folglich kann nicht ausgeschlossen werden, dass einige der kognitiv Gesunden mit einem typischen neurochemischen Alzheimer-Profil dem Stadium 3 der präklinischen AD hätten zugeordnet werden können, wenn sie auf subtile kognitive Defizite getestet worden wären. Es sollte jedoch betont werden, dass die Kombination von bildgebenden Verfahren mit neurochemischen Biomarkerdaten zwar für die Forschung relevant sein kann, aber aufgrund von Einschränkungen in Bezug auf die Scanner-Verfügbarkeit und das Fachwissen im Bereich der Bildanalyse nur selten im klinischen Alltag anwendbar ist. Darüber hinaus fordern die NIA-AA-Richtlinien nicht die Verfügbarkeit von bildgebenden Biomarkerdaten (McKhann *et al.* 2011; Sperling *et al.* 2011). Trotz der früher berichteten Einflüsse von Alter und Geschlecht auf die Entwicklung der AD-Pathologie scheint es unwahrscheinlich, dass die festgestellten signifikanten Unterschiede in der Alters- und Geschlechterverteilung zwischen den Diagnosegruppen der MUC-Kohorte unsere Beobachtungen verzerrt haben, da unsere Studie darauf abzielte, die Biomarkerprofile von Kontrollen und Patienten mit AD naturalistisch zu beschreiben und die NIA-AA-Kriterien anzuwenden. Entsprechend dieser Annahme war der Anteil der Kontrollen mit normalen Biomarkern bei ADNI im Vergleich zu MUC deutlich höher, obwohl die ADNI-Kontrollen älter waren als die MUC-Kontrollen. Darüber hinaus unterschied sich die Verteilung der Kontrollen mit abnormalen Biomarkern nicht zwischen den Datensätzen. Es kann davon ausgegangen werden, dass der beobachtete hohe Anteil von Teilnehmern, die von den NIA-AA-Algorithmen nicht klassifiziert werden konnten auf den definierten Bereich der Grenzwerte zurückzuführen ist. Angesichts des Mangels an empirischen Daten zur Definition des

Grenzwertbereichs sind unsere Ergebnisse mit Vorsicht zu genießen. Die NIA-AA-Richtlinien spezifizieren eindeutig das Vorhandensein von grenzwertigen Biomarkerwerten und lassen etwa 40% der potenziellen Biomarkerkonstellationen unberücksichtigt. Folglich sind weitere Studien, die grenzwertige Biomarkerwerte berücksichtigen, gerechtfertigt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse beider vorliegenden Studien die Polymorphie der neurochemischen Profile von Patienten mit AD und älteren kognitiven gesunden Menschen verdeutlichen. Sie weisen auf eine Diskordanz zwischen dem Liquorbiomarkerprofil und dem Diagnosestatus hin. Diese Diskrepanz ist eine Folge der Komplexität der Entstehung der klinischen Symptome bei Alzheimer und möglicherweise der Veränderungen der Biomarker im Laufe der Zeit. Diese Polymorphie und Komplexität sollten berücksichtigt werden, um unsere diagnostischen und therapeutischen Strategien zu verbessern und zu optimieren. Diese Beobachtungen bereichern die Diskussion über die NIA-AA-Richtlinien und tragen möglicherweise dazu bei, den Weg für eine Verfeinerung der Leitlinien zu ebnen, damit sie alle potenziellen Biomarkerkonstellationen berücksichtigen.

6. Originalveröffentlichung

6.1. Fluid biomarker agreement and interrelation in dementia due to Alzheimer's disease

Journal of Neural Transmission (2018) 125:193–201
https://doi.org/10.1007/s00702-017-1810-z

PSYCHIATRY AND PRECLINICAL PSYCHIATRIC STUDIES - ORIGINAL ARTICLE



Fluid biomarker agreement and interrelation in dementia due to Alzheimer's disease

Panagiotis Alexopoulos^{1,2} · Jennifer Roesler² · Lukas Werle^{2,3} · Nathalie Thierjung² · Iliana Lentzari¹ · Marion Ortner² · Timo Grimmer² · Nikolaos Laskaris⁴ · Antonios Politis^{5,6} · Philippos Gourzis¹ · Alexander Kurz² · Robert Perneczky^{7,8,9,10} · For the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative

Received: 5 August 2017 / Accepted: 7 November 2017 / Published online: 15 November 2017
© Springer-Verlag GmbH Austria, part of Springer Nature 2017

Abstract

The cerebrospinal fluid (CSF) levels of β -amyloid 42, total tau, and phosphorylated tau 181 are supposed to be all continuously abnormal in dementia due to Alzheimer's disease (AD), being the most advanced disease stage. The aim of the present study, which included a monocentric and a multicentric sample ($N = 119$ and 178 , respectively), was to investigate the degree of CSF biomarker agreement and interrelation in AD dementia. Based on previously published cut-off values, biomarker values were categorized as positive or negative for AD (dichotomization strategy) and as either positive, negative, or borderline (trichotomization strategy). The statistical analyses relied on distance correlation analysis and kappa (k) statistics. Poor agreement ($k < 0.4$) and low interrelations between the studied biomarkers were detected in all cases with the exception of the interrelation between the markers total tau and phosphorylated tau 181, especially in the monocentric sample. Interestingly, lower interrelation and agreement degrees were observed in carriers of the Apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele compared to non-carriers. The clinical phenotype currently referred to as "AD dementia" is characterized by an inhomogeneous CSF biomarker profile, possibly mirroring the complex genesis of AD-typical dementia symptoms and pointing to the necessity of shedding more light on the hypothesis of biomarker stability over time in symptomatic AD.

Keywords β -Amyloid 1-42 · Total tau · Phosphorylated tau 181

Introduction

Mirroring the increasing significance of biomarkers in the diagnostic workup of Alzheimer's disease (AD) (Bocchetta et al. 2015; Bier et al. 2015), recently published sets of diagnostic guidelines advocate the incorporation of biomarkers

into diagnosing AD in clinical research settings, both in preclinical and symptomatic disease stages [National Institute on Aging-Alzheimer Association, NIA-AA (McKhann et al. 2011), International Working Group, IWG (Dubois et al. 2014)]. Interestingly, the NIA-AA criteria suggest that there is a fairly significant gray zone within which it is impossible to tell whether the individual patient is positive or negative for a certain biomarker (Molinuevo et al. 2014). In line with the assumption that biomarker alterations in AD occur years (or perhaps decades) prior the onset of clinical symptoms and remain stable during the symptomatic disease stages (Jack Jr et al. 2013; Villemagne et al. 2013; Aisen et al. 2017; McDade and Bateman 2017), both NIA-AA and IWG criteria imply that biomarkers are in general positive for AD in the dementia stage, being the most advanced stage of symptomatic AD. Therefore, a high degree of agreement between the different types of markers should be expected.

The previous studies have investigated the degree of agreement between biomarkers in AD dementia. A series of studies reported good but still imperfect agreement between

Data used in preparation of this article were obtained from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) database (<http://adni.loni.usc.edu>). As such, the investigators within the ADNI contributed to the design and implementation of ADNI and/or provided data but did not participate in analysis or writing of this report. A complete listing of ADNI investigators can be found at: http://adni.loni.usc.edu/wp-content/uploads/how_to_apply/ADNI_Acknowledgement_List.pdf.

Panagiotis Alexopoulos and Jennifer Roesler have contributed equally.

✉ Panagiotis Alexopoulos
panos.alexopoulos@upatras.gr

Extended author information available on the last page of the article

amyloid- β ($A\beta$) positron emission tomography (PET) findings and $A\beta_{42}$ levels in the cerebrospinal fluid (CSF), whilst the degrees of agreement between other established biomarkers of AD were found to be poor (Leuzy et al. 2015, 2016; Alexopoulos et al. 2014; Yakushev et al. 2012; Jagust et al. 2009; Fagan et al. 2006; Landau et al. 2010; Skillback et al. 2015). Most of the previous research included combinations of imaging and CSF studies, and there is limited evidence on comparisons among CSF biomarkers. Nonetheless, CSF analysis has been recommended for the routine clinical workup of symptomatic AD to increase diagnostic efficacy, since CSF markers reflect AD neuropathological changes with relatively high, albeit not perfect, accuracy (Bocchetta et al. 2015; Molinuevo et al. 2014; Herukka et al. 2017; Simonsen et al. 2017; Schjonning Nielsen et al. 2016; Shaw et al. 2009; Wallin et al. 2006; Schoonenboom et al. 2012). Moreover, most of the previous studies implemented a dichotomization strategy for classifying biomarker values neglecting the fact that borderline values cannot be unambiguously categorized as positive or negative in clinical practice.

The aim of the present study was to investigate the degree of agreement and interrelation between the established CSF AD biomarkers $A\beta_{42}$, being a marker of amyloid plaques, total tau (t-Tau), which is a marker of axonal damage, and phosphorylated tau 181 (p-Tau), being a marker of neurofibrillary tangles, in dementia due to AD in two independent cohorts. It is noteworthy that despite the reported utility of further molecules in improving diagnostic and prognostic efficiency [for instance $A\beta_{40}$ and neurofilament light chain protein (Dumurgier et al. 2015; Lista et al. 2017)], only the aforementioned three CSF markers were included in the recently published diagnostic guidelines for AD. A dichotomization as well as a trichotomization strategy were implemented for categorizing biomarker values.

Methods

Participants

The study included patients with AD dementia recruited between 2005 and 2012 at the Centre for Cognitive Disorders (outpatient memory clinic) of the hospital of the Technical University of Munich (TUM, monocentric cohort, $N = 119$) within the framework of the diagnostic workup of their cognitive complaints, and patients of the phases 1 and 2 of the AD Neuroimaging Initiative (ADNI 1 and 2, multicentric sample, $N = 178$). ADNI is a collaborative project of academic institutions and private corporations across the USA and Canada which began in October 2004. The primary goal of ADNI has been to test whether serial magnetic resonance imaging, PET, other biological markers, and clinical

and neuropsychological assessment can be combined to measure the progression of mild cognitive impairment and early AD. The study is coordinated by the Alzheimer's Disease Cooperative Study at the University of California, San Diego. The study is registered at <http://www.ClinicalTrials.gov> (identifier, NCT00106899). ADNI data are disseminated by the Laboratory for Neuro Imaging at the University of Southern California. For up-to-date information, see <http://www.adni-info.org>. ADNI data used in this study were obtained from the ADNI database at <http://www.adni-info.org> on July 6th, 2015.

All study participants fulfilled the NIA-AA criteria and the diagnostic guidelines of the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-AD and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) for AD dementia and probable AD, respectively (McKhann et al. 1984, 2011). The study procedures were approved by the institutional review boards of all participating centres and written informed consent was obtained from all participants or authorized representatives.

CSF analysis

The CSF peptide concentrations were measured in ADNI with the multiplex xMAP Luminex platform with Innogenetics immunoassay kit-based reagents at the ADNI biomarker core laboratory at University of Pennsylvania according to published methods (INNO-BIA AlzBio 3; Ghent, Belgium) (Kim et al. 2011; Shaw et al. 2009). At TUM, biomarker levels were determined with commercially available enzyme-linked immunosorbent assays (Innogenetics, Ghent, Belgium) as previously described (Alexopoulos et al. 2013; Vandermeeren et al. 1993; Vanderstichele et al. 2000).

APOE genotyping

Apolipoprotein ϵ (*APOE*) genotypes were determined through analysis of blood samples using standard polymerase chain reaction and restriction enzyme digestion as previously described (Zivelin et al. 1997; Saykin et al. 2010; Wenham et al. 1991). Participants were classified as carriers or non-carriers of the *APOE* $\epsilon 4$ allele.

Classification of neurochemical biomarker values

Each patient's biomarker value was categorized as positive or negative for AD (dichotomization strategy) and as either positive for AD, negative for AD or borderline (trichotomization strategy). The dichotomization strategy was based on previously published biomarker cutoffs, being specific for each employed measurement method (Landau et al. 2013; Shaw et al. 2009; Jagust et al. 2009; Hulstaert et al. 1999). It is of note that different cutoffs were applied in the two data

sets, since the methods employed for peptide measurements in the two cohorts were different. Within the framework of the dichotomization strategy, A β 42 concentrations lower than 642 ng/l in the TUM sample or 192 ng/l in ADNI, t-Tau levels higher than 252 or 94 ng/l in the TUM and ADNI data set, respectively, and p-Tau concentrations higher than 61 or 24 ng/l in the TUM sample and ADNI data set, respectively, were classified as positive for AD. All other biomarker values were considered negative.

The trichotomization strategy relied on previously published ranges of borderline values (Alexopoulos et al. 2016), which were defined with the aim to achieve a reasonable compromise between minimizing the chance of an artificial categorization of borderline values as positive or negative and at the same time of classifying an overwhelmingly large part of measured values of each biomarker as borderline (Alexopoulos et al. 2016). In the TUM sample, biomarker abnormality was indicated by A β 42 levels lower than 579.72 ng/l; t-Tau and p-Tau concentrations higher than 331.11 and 68.68 ng/l, respectively. A β 42 levels higher than 704.28 and t-Tau and p-Tau concentrations lower than 172.89 and 53.32 ng/l, respectively, were regarded as negative for AD. AD positivity in the ADNI sample was defined as A β 42 levels lower than 177.62 ng/l, t-Tau concentrations higher than 104.15 ng/l and p-Tau levels higher than 27.41 ng/l. A β 42 concentrations higher than 206.38 ng/l, and t-Tau and p-Tau levels lower than 83.85 and 20.59 ng/l, respectively, indicated AD biomarker negativity in the ADNI sample. All other biomarker values were classified as borderline.

Based on the number of positive biomarkers after dichotomization and trichotomization, patients were classified into the four classes of the Paris-North, Lille, Montpellier (PML) scale (Lehmann et al. 2014), so that an in-depth characterization of the study groups is presented. The PML scale is composed of four classes, corresponding to one (class 1), two (class 2), three (class 3), or no (class 0) pathologic markers.

Statistical analysis

The statistical analyses were performed in SPSS v19.0 for Windows (IBM Corp., Somers, NY, USA) and in MATLAB R2012a (MathWorks, Natick, MA, USA); and encompassed distance correlation analysis (DCA) and kappa (k) statistics. DCA was carried out to study the interrelation between individual CSF biomarkers. DCA is a non-linear measure of statistical dependence that ranges between 0 and 1, with values near 0 indicating independence (Székely et al. 2007). It is sensitive to non-linear interrelations that may be missed by standard correlation measures like Pearson's coefficient and Spearman's coefficient and is not contingent on biomarker value classification. The chance-corrected agreement was calculated using Cohen's and Fleiss' kappa (k)

statistics, where $k \leq 0.40$ indicates poor, 0.41–0.60 moderate, 0.61–0.80 good, and $k \geq 0.81$ very good agreement. In contrast to Cohen's kappa which is used to compare two ratings on a variable, Fleiss' kappa is a statistical measure for assessing the reliability of agreement between more than two ratings (Fleiss et al. 2003).

Results

Characteristics of the study samples are presented in Table 1. Frequencies of positive, negative, and borderline values, as well as of the four classes of the PML scale in each data set are presented in Table 2. After biomarker value dichotomization, 56.7% of patients in the TUM sample and 64.6% of participants in the ADNI sample were classified into PML scale class 3. Cohen's kappa values varied between -0.005 and 0.379 , whilst the Fleiss kappa value was 0.145 and 0.197 in the TUM and ADNI samples, respectively (Table 2). After biomarker value trichotomization, 37.5 and 55.6% of patients in the TUM and ADNI sample, respectively, were categorized into PML scale class 3. Cohen's kappa values varied between 0.076 and 0.272 (Table 2). The Fleiss kappa value was 0.104 in the TUM sample and 0.152 in the ADNI sample (Table 2). Both Fleiss and Cohen's kappa values point to poor agreement between the CSF biomarkers, not only after trichotomization, but also after dichotomization of the values. Of note, kappa values were higher in the ADNI cohort except for t-Tau/p-Tau after dichotomization. The

Table 1 Description of the study sample and degrees of biomarker interrelation

Data set	Monocentric (TUM)	Multicentric (ADNI)
<i>N</i>	104	178
Age, years ^a	69.06 (9.10)	75.20 (7.56)
Gender (female%)	52.9	42.1
APOE $\epsilon 4$ carriers (%) (<i>N</i> = 86)	68.6	67.5
MMSE ^a	22.21 (4.04)	23.34 (1.98)
CSF A β 42, ng/l ^a	554.19 (210.70)	139.05 (39.43)
CSF p-Tau, ng/l ^a	81.46 (42.02)	48.01 (26.45)
CSF t-Tau, ng/l ^a	649.09 (423.44)	127.01 (60.80)
Distance correlation		
A β 42/p-Tau	0.203	0.273
A β 42/t-Tau	0.215	0.178
p-Tau/t-Tau	0.905	0.652

TUM patients with Alzheimer's disease recruited at the Hospital of Technical University of Munich, ADNI patients with Alzheimer's disease recruited within the framework of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, APOE Apolipoprotein E, MMSE mini-mental state examination, CSF cerebrospinal fluid, A β 42 β -amyloid 1-42, p-Tau tau phosphorylated at threonine 181, t-Tau total tau

^aData presented as mean (SD)

Table 2 Degrees of biomarker agreement after dichotomization and trichotomization of biomarker values

Data set	Monocentric (TUM)	Multicentric (ADNI)
Dichotomization of biomarker values		
CSF A β 42 values positive/negative for AD (%)	76.9/23.1	92.7/7.3
CSF p-Tau values positive/negative for AD (%)	(N = 102) 71.2/28.8	91.0/9.0
CSF t-Tau values positive/negative for AD (%)	91.3/8.7	66.9/33.1
PML Scale		
Class 0 (no positive biomarkers) (%)	1.9	2.8
Class 1 (one positive biomarkers) (%)	13.5	7.9
Class 2 (two positive biomarkers) (%)	27.9	24.7
Class 3 (three positive biomarkers) (%)	56.7	64.6
Fleiss kappa	0.145	0.197
Cohen's kappa		
A β 42/p-Tau	0.103	0.287
A β 42/t-Tau	- 0.005	0.116
p-Tau/t-Tau	0.379	0.332
Trichotomization of biomarker values		
CSF A β 42 values positive/borderline/negative for AD (%)	61.5/22.1/16.3	89.9/3.4/6.7
CSF p-Tau values positive/borderline/negative for AD (%)	(N = 102) 56.7/23.1/20.2	86.5/8.4/5.1
CSF t-Tau values positive/borderline/negative for AD (%)	81.7/16.3/1.9	59.6/14.0/26.4
PML Scale		
Class 0 (no positive biomarkers) (%)	8.7	3.9
Class 1 (one positive biomarker) (%)	20.2	11.8
Class 2 (two positive biomarkers) (%)	33.7	28.7
Class 3 (three positive biomarkers) (%)	37.5	55.6
Fleiss kappa	0.104	0.152
Cohen's kappa		
A β 42/p-Tau	0.084	0.272
A β 42/t-Tau	0.076	0.111
p-Tau/t-Tau	0.203	0.218

TUM patients with Alzheimer's disease recruited at the Hospital of Technical University of Munich, ADNI patients with Alzheimer's disease recruited within the framework of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, PML Scale The Paris, Lille and Montpellier Scale

Trichotomization of biomarker values: values categorized as positive, negative, or borderline; CSF A β 42 positive/negative for AD: β -amyloid 1-42 levels in cerebrospinal fluid (CSF) < 579.72 ng/l or 177.62 ng/l > 704.28 ng/l or 206.38 ng/l for the TUM and ADNI data set, respectively; CSF p-Tau values positive/negative for AD: tau phosphorylated at threonine 181 levels in CSF > 68.68 ng/l or 27.41 ng/l < 53.32 ng/l or 20.59 ng/l for the TUM and ADNI data set, respectively; CSF t-Tau values positive/negative for AD: total tau levels in CSF > 331.11 ng/l or 104.15 ng/l < 172.89 ng/l or 83.85 ng/l for the TUM and ADNI data set, respectively

Dichotomization of biomarker values: values categorized as positive or negative; CSF A β 42 positive for AD: β -amyloid 1-42 levels in cerebrospinal fluid (CSF) < 642 ng/l or 192 ng/l for the TUM and ADNI data set, respectively; CSF p-Tau values positive for AD: tau phosphorylated at threonine 181 levels in CSF > 61 ng/l or 24 ng/l for the TUM and ADNI data set, respectively; CSF t-Tau values positive for AD: total tau levels in CSF > 252 ng/l or 94 ng/l for the TUM and ADNI data set, respectively

detected poor agreement between the different biomarkers was not driven by the categorization strategies, since DCA values of lower than 0.273 indicate low degrees of dependency, too (apart from the pair t-Tau/p-Tau, especially in the TUM sample, Table 1).

The results of the agreement and interrelation analyses in APOE ϵ 4 carriers and non-carriers separately are presented in Table 3. In the former, poor agreement between the biomarkers was detected in both data sets with the exception of t-Tau/p-Tau in the TUM cohort

after dichotomization of biomarker values. In non-carriers, kappa values point to poor agreement or moderate agreement. Of note, in both data sets, agreement degree was higher in APOE ϵ 4 non-carriers compared to carriers except for p-Tau/t-Tau after trichotomization in the TUM cohort. These differences are not attributable to the employed categorization strategies, since they are in line with the results of the DCA, indicating higher degrees of dependency in APOE ϵ 4 non-carriers than carriers apart from p-Tau/t-Tau in the TUM sample (Table 3).

Table 3 Degrees of biomarker interrelation and agreement after dichotomization and trichotomization of biomarker values in APOE $\epsilon 4$ carriers and non-carriers

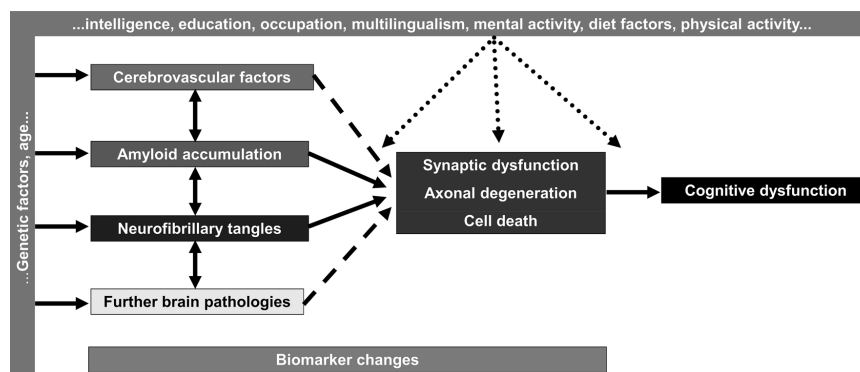
Data set	Monocentric (TUM)		Multicentric (ADNI)	
	Yes	No	Yes	No
APOE $\epsilon 4$ Carriers				
<i>N</i>	59	27	126	52
Distance correlation				
A β 42/p-Tau	0.188	0.470	0.230	0.438
A β 42/t-Tau	0.169	0.451	0.194	0.336
p-Tau/t-Tau	0.917	0.914	0.643	0.718
Dichotomization of biomarker values				
Fleiss kappa	0.032	0.357	0.052	0.338
Cohen's kappa				
A β 42/p-Tau	-0.122	0.408	-0.026	0.424
A β 42/t-Tau	-0.139	0.216	-0.031	0.282
p-Tau/t-Tau	0.427	0.456	0.280	0.397
Trichotomization of biomarker values				
Fleiss kappa	0.094	0.190	0.004	0.301
Cohen's kappa				
A β 42/p-Tau	-0.003	0.230	0.152	0.346
A β 42/t-Tau	0.031	0.246	0.015	0.252
p-Tau/t-Tau	0.288	0.152	0.136	0.368

TUM patients with Alzheimer's disease recruited at the Hospital of Technical University of Munich, ADNI patients with Alzheimer's disease recruited within the framework of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, Trichotomization of biomarker values values categorized as positive, negative or borderline, Dichotomization of biomarker values values categorized as positive or negative

Discussion

Despite the expected high agreement and interrelation between different CSF biomarkers in advanced AD, our

findings argue against the simplistic assumption of overall biomarker positivity in the dementia stage, which is suggested by current concepts about the temporal evolution of AD biomarkers, mainly based on the findings of cross-sectional studies (Bertens et al. 2015; Jack Jr et al. 2013; McDade and Bateman 2017). The observations of the present study are not in line with the proposed homogeneity of biomarker findings in the stage of AD dementia. The detected biomarker inhomogeneity is in accordance with the previous reports pointing out that less than 70% of patients with AD dementia have an AD-typical CSF biomarker profile (Skillback et al. 2015; Alexopoulos et al. 2016). Our findings are, in fact, compatible with the notion that the presence of the clinical phenotype currently referred to as "AD dementia" does not suffice for the presence of the typical AD CSF biomarker profile and that it may not be a straight-forward consequence of the presence of AD pathological changes, if we assume that the established CSF markers accurately and specifically mirror these pathological changes (Rosenmann 2012). The clinical phenotype of AD dementia is the result of a dynamic, complex interplay between interacting co-pathologies (e.g., AD, cerebrovascular alterations, Lewy-bodies, and mitochondrial abnormalities), and harmful and protective environmental factors (e.g., diet and lifestyle parameters, mental activity, brain, and cognitive reserve) (Brenowitz et al. 2017; Korczyn 2013; Iturria-Medina et al. 2017; Boyle et al. 2013; Guo et al. 2013) (Fig. 1). The interacting factors involved in this interplay could potentiate or ameliorate the clinical expression of AD-associated pathological hallmarks and accelerate or decelerate the progression of clinical symptoms (Boyle et al. 2013; Weiner et al. 2017). Thus, it can be reckoned that under the assumption that biomarkers accurately reflect AD-associated brain changes, the clinical expression of AD-associated brain

**Fig. 1** Complex interplay of interacting factors influencing the clinical expression of the pathological hallmarks of Alzheimer's disease

alterations in patients with AD dementia and an inhomogeneous CSF biomarker profile may be somehow potentiated, since these alterations are only partially sufficiently advanced to become clinically recognizable, as indicated by biomarker values. Alternatively, it can be claimed that the detected low agreement and interrelation between CSF markers in AD dementia may be attributable to changes in biomarker levels occurring during the symptomatic phases of the disease. Unfortunately, these explanatory endeavours cannot be empirically supported by biomarker data of studies with longitudinal design.

The detected CSF biomarker inhomogeneity in patients with AD dementia may have implications for AD treatment strategies. Our observations highlight the necessity of incorporating biomarker-based diagnoses in clinical trials, so that they are not biased by inclusion of participants with atypical AD biomarker constellations, the prevalence of which seems to exceed 30% among patients with AD dementia. The inclusion of patients suffering from AD dementia but with variable (typical and atypical) AD biomarker profiles into clinical trials could have led to their failure or could bias still ongoing studies (Weiner et al. 2017). Hence, a more targeted inclusion of patients with a typical AD biomarker profile could improve the power of clinical trials. Moreover, the detected biomarker heterogeneity could raise questions regarding possible differences in the therapeutic efficacy of currently available anti-dementia symptomatic drugs in patients with AD dementia and different biomarker constellations. Such questions merit in-depth investigation, so that our therapeutic strategies become more personalized or even enriched with additional therapeutic tools, if necessary (Reitz 2016).

Even though kappa values point to poor agreement in both study samples, the degrees of agreement were higher in the ADNI sample compared to the TUM sample with the exception of p-Tau/t-Tau. This difference may stem from the fact that TUM patients were recruited in the naturalistic clinical setting of a university outpatient memory clinic, being less prone to over-selection and enrolment biases as opposed to the highly selective framework of a multicentre research study such as ADNI (Alexopoulos et al. 2016). Nonetheless, DSAs indicate higher dependency in the TUM sample between p-Tau/t-Tau, as well as between A β 42/t-Tau in comparison to ADNI. Thus, the differences in agreement degrees between the two samples should be approached cautiously, especially in the light of the artificial definition of the range of borderline values and the different properties of the applied laboratory essays. The relatively high degree of interrelation between the two biomarkers linked to tau pathology (p-Tau and t-Tau) possibly relies on the straightforward relationship between tau hyperphosphorylation, tau detachment from microtubules, neuronal death, and tau increase in CSF in AD (Gendron and Petrucelli 2009).

The presence of the *APOE* ϵ 4 allele was related to lower degrees of agreement and interrelation in comparison to non-carriers in both data sets (the higher agreement degree between p-Tau/t-Tau after trichotomization of biomarker values in *APOE* ϵ 4 carriers than in non-carriers in the TUM cohort is probably a spurious finding). *APOE* ϵ 4 is the strongest genetic risk factor for sporadic AD and affects the development of the core pathologic hallmarks of AD, A β , and tau pathology (Yamazaki et al. 2016; Zhao et al. 2017). It should be underlined that in both data sets, performance on MMSE and age did not vary between *APOE* ϵ 4 carriers and non-carriers (data not shown). The detected difference in agreement and interrelation degrees warrants replication and further investigation. The higher heterogeneity observed in ϵ 4 carriers could be explained by the fact that the contribution of *APOE* ϵ 4 to AD pathogenesis is not restricted to facilitating A β deposition and tangle formation. *APOE* modulates multiple biological processes through its corresponding protein apolipoprotein E. Mounting evidence suggests that it is involved in the modulation of synaptic plasticity, lipid transport, glucose metabolism, mitochondrial function, vascular integrity, neuroinflammation, and apoptosis (Zhao et al. 2017; Persson et al. 2017). All these pathological processes may additively contribute to cognitive decline (Brenowitz et al. 2017; Boyle et al. 2013), resulting in more severe clinical symptoms than that corresponding to brain A β and tau pathology. Alternatively, it can be hypothesized that the presence of the *APOE* ϵ 4 allele may pertain to larger changes in CSF biomarkers over time in symptomatic AD in comparison to non-carriers. Nonetheless, these interpretations are and will remain rather speculative until in-depth insights into longitudinal CSF biomarker value variations and the effects of *APOE* ϵ 4 on them are gained.

The present study should be viewed in the light of some limitations. As already mentioned, the definition of the range of borderline values was artificial. In the light of lacking empirical data with regard to borderline value range definitions, our findings should be treated with caution. Nonetheless, not only the trichotomization but also the dichotomization strategy revealed poor agreement between the studied CSF biomarkers. In addition, the DCAs point to low interrelations apart from p-Tau/t-Tau, especially in the TUM sample. Furthermore, the concentrations of each biomarker were not measured with the same laboratory assay in the two study samples. Nevertheless, the analyses in both laboratories (TUM and ADNI biomarker core laboratory at University of Pennsylvania) were based on high precision and well-established assays (Shaw et al. 2009). An additional limitation of the study is the lack of histopathological verifications of clinical diagnoses. Moreover, the generalizability of the study findings is relatively limited to the population of interest, due to the fact that both cohorts were recruited at specialized centres. Thus, further studies focused on CSF

biomarker agreement and interrelation degrees and considering borderline biomarker values are warranted.

In conclusion, the findings of the present study illustrate the polymorphy of the neurochemical profiles of patients with AD dementia and point to the complexity of the genesis of AD-typical dementia symptoms and possibly of biomarker changes over time in the stage of AD dementia. This polymorphy and complexity should be taken into account, to improve and optimize our diagnostic and therapeutic strategies.

Acknowledgements Data collection and sharing for this project were funded by the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) (National Institutes of Health Grant U01 AG024904) and DOD ADNI (Department of Defense award number W81XWH-12-2-0012). ADNI is funded by the National Institute on Aging, the National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering, and through generous contributions from the following: AbbVie, Alzheimer's Association; Alzheimer's Drug Discovery Foundation; Araclon Biotech; BioClinica, Inc.; Biogen; Bristol-Myers Squibb Company; CereSpir, Inc.; Cogstate; Eisai Inc.; Elan Pharmaceuticals, Inc.; Eli Lilly and Company; EuroImmun; F. Hoffmann-La Roche Ltd and its affiliated company Genentech, Inc.; Fujirebio; GE Healthcare; IXICO Ltd.; Janssen Alzheimer Immunotherapy Research & Development, LLC.; Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development LLC.; Lumosity; Lundbeck; Merck & Co., Inc.; Meso Scale Diagnostics, LLC.; NeuroRx Research; Neurotrack Technologies; Novartis Pharmaceuticals Corporation; Pfizer Inc.; Piramal Imaging; Servier; Takeda Pharmaceutical Company; and Transition Therapeutics. The Canadian Institutes of Health Research is providing funds to support ADNI clinical sites in Canada. Private sector contributions are facilitated by the Foundation for the National Institutes of Health (<http://www.fnih.org>). The grantee organization is the Northern California Institute for Research and Education, and the study is coordinated by the Alzheimer's Therapeutic Research Institute at the University of Southern California. ADNI data are disseminated by the Laboratory for Neuro Imaging at the University of Southern California.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare no competing financial interest.

Ethical approval All procedures performed in the study were in accordance with the ethical standards of the institutional research committees and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.


References

- Aisen PS, Cummings J, Jack CR Jr, Morris JC, Sperling R, Frolich L, Jones RW, Dowsett SA, Matthews BR, Raskin J, Scheltens P, Dubois B (2017) On the path to 2025. Understanding the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimer's Res Ther* 9(1):60
- Alexopoulos P, Guo L-H, Jiang M, Bujo H, Grimmer T, Forster S, Drzezga A, Kurz A, Pernecky R (2013) Amyloid cascade and tau pathology cerebrospinal fluid markers in mild cognitive impairment with regards to Alzheimer's disease cerebral metabolic signature. *J Alzheimer's Dis* 36(2):401–408
- Alexopoulos P, Kriett L, Haller B, Klupp E, Gray K, Grimmer T, Laskaris N, Forster S, Pernecky R, Kurz A, Drzezga A, Fellgiebel A, Yakushev I (2014) Limited agreement between biomarkers of neuronal injury at different stages of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 10(6):684–689
- Alexopoulos P, Roesler J, Thierjung N, Werle L, Buck D, Yakushev I, Gleixner L, Kagerbauer S, Ortner M, Grimmer T, Kubler H, Martin J, Laskaris N, Kurz A, Pernecky R (2016) Mapping CSF biomarker profiles onto NIA-AA guidelines for Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 266(7):587–597
- Bertens D, Knol DL, Scheltens P, Visser PJ (2015) Temporal evolution of biomarkers and cognitive markers in the asymptomatic, MCI, and dementia stage of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 11(5):511–522
- Bier J-C, Verschraegen J, Vandenbergher R, Guillaume B, Picard G, Otte G, Mormont E, Gilles C, Segers K, Sieben A, Thiery E, Ventura M, de Deyn P, Deryck O, Versijpt J, Salmon E, Engelborghs S, Ivanou A (2015) Clinical utility and applicability of biomarker-based diagnostic criteria for Alzheimer's disease. A BeDeCo survey. *Acta Neurol Belg* 115(4):547–555
- Bocchetta M, Galluzzi S, Kehoe PG, Aguera E, Bernabei R, Bullock R, Ceccaldi M, Dartigues J-F, de Mendonca A, Didic M, Eriksson M, Felician O, Frolich L, Gertz H-J, Hallikainen M, Hasselbalch SG, Hausner L, Heuser I, Jessen F, Jones RW, Kurz A, Lawlor B, Lleo A, Martinez-Lage P, Mecocci P, Mehrabian S, Monsch A, Nobili F, Nordberg A, Rikkert MO, Orgogozo J-M, Pasquier F, Peters O, Salmon E, Sanchez-Castellano C, Santana I, Sarazin M, Traykov L, Tsolaki M, Visser PJ, Wallin AK, Wilcock G, Wilkinson D, Wolf H, Yener G, Zekry D, Frisoni GB (2015) The use of biomarkers for the etiologic diagnosis of MCI in Europe. An EADC survey. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 11(2):195.e1–206.e1
- Boyle PA, Wilson RS, Yu L, Barr AM, Honer WG, Schneider JA, Bennett DA (2013) Much of late life cognitive decline is not due to common neurodegenerative pathologies. *Ann Neurol* 74(3):478–489
- Brenowitz WD, Hubbard RA, Keene CD, Hawes SE, Longstreth WT Jr, Wolter RL, Kukull WA (2017) Mixed neuropathologies and estimated rates of clinical progression in a large autopsy sample. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 13(6):654–662
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, DeKosky ST, Gauthier S, Selkoe D, Bateman R, Cappa S, Crutch S, Engelborghs S, Frisoni GB, Fox NC, Galasko D, Habert M-O, Jicha GA, Nordberg A, Pasquier F, Rabinovici G, Robert P, Rowe C, Salloway S, Sarazin M, Epelbaum S, de Souza LC, Vellas B, Visser PJ, Schneider L, Stern Y, Scheltens P, Cummings JL (2014) Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease. The IWG-2 criteria. *Lancet Neurol* 13(6):614–629
- Dumurgier J, Schraen S, Gabelle A, Vercurysse O, Bombois S, Laplanche J-L, Peoc'h K, Sablonniere B, Kastanenka KV, Delaby C, Pasquier F, Touchon J, Hugon J, Paquet C, Lehmann S (2015) Cerebrospinal fluid amyloid-beta 42/40 ratio in clinical setting of memory centers. A multicentric study. *Alzheimer's Res Ther* 7(1):30
- Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, Lee S-Y, Dence CS, Shah AR, LaRossa GN, Spinner ML, Klunk WE, Mathis CA, DeKosky ST, Morris JC, Holtzman DM (2006) Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta42 in humans. *Ann Neurol* 59(3):512–519
- Fleiss JL, Levin BA, Paik MC (2003) Statistical methods for rates and proportions. In: Fleiss JL, Levin B, Paik MC (eds) *Wiley series in probability and statistics*, 3rd edn. Wiley, Hoboken
- Gendron TF, Petrucelli L (2009) The role of tau in neurodegeneration. *Mol Neurodegener* 4:13

- Guo L-H, Alexopoulos P, Wagenpfeil S, Kurz A, Perneczky R (2013) Brain size and the compensation of Alzheimer's disease symptoms. A longitudinal cohort study. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 9(5):580–586
- Herukka S-K, Simonsen AH, Andreassen N, Baldeiras I, Bjerke M, Blennow K, Engelborghs S, Frisoni GB, Gabryelewicz T, Galluzzi S, Handels R, Kramberger MG, Kulczynska A, Molinuevo JL, Mroczko B, Nordberg A, Oliveira CR, Otto M, Rinne JO, Rot U, Saka E, Soininen H, Struyfs H, Suardi S, Visser PJ, Winblad B, Zetterberg H, Waldemar G (2017) Recommendations for cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarkers in the diagnostic evaluation of mild cognitive impairment. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 13(3):285–295
- Hulstaert F, Blennow K, Ivanoiu A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, de Deyn PP, Bancher C, Cras P, Wiltfang J, Mehta PD, Iqbal K, Pottel H, Vanmechelen E, Vanderstichele H (1999) Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1–42) and tau levels in CSF. *Neurology* 52(8):1555–1562
- Iturria-Medina Y, Carbonell FM, Sotero RC, Chouinard-Decorte F, Evans AC (2017) Multifactorial causal model of brain (dis)organization and therapeutic intervention. Application to Alzheimer's disease. *NeuroImage* 152:60–77
- Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, Shaw LM, Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Lesnick TG, Pankratz VS, Donohue MC, Trojanowski JQ (2013) Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease. An updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol* 12(2):207–216
- Jagust WJ, Landau SM, Shaw LM, Trojanowski JQ, Koeppe RA, Reiman EM, Foster NL, Petersen RC, Weiner MW, Price JC, Mathis CA (2009) Relationships between biomarkers in aging and dementia. *Neurology* 73(15):1193–1199
- Kim S, Swaminathan S, Shen L, Risacher SL, Nho K, Foroud T, Shaw LM, Trojanowski JQ, Potkin SG, Huentelman MJ, Craig DW, DeChairo BM, Aisen PS, Petersen RC, Weiner MW, Saykin AJ (2011) Genome-wide association study of CSF biomarkers Abeta1–42, t-tau, and p-tau181p in the ADNI cohort. *Neurology* 76(1):69–79
- Korczyn AD (2013) Is Alzheimer's disease a homogeneous disease entity? *J Neural Transm (Vienna Austria)* 120(10):1475–1477
- Landau SM, Harvey D, Madison CM, Reiman EM, Foster NL, Aisen PS, Petersen RC, Shaw LM, Trojanowski JQ, Jack CR Jr, Weiner MW, Jagust WJ (2010) Comparing predictors of conversion and decline in mild cognitive impairment. *Neurology* 75(3):230–238
- Landau SM, Lu M, Joshi AD, Pontecorvo M, Mintun MA, Trojanowski JQ, Shaw LM, Jagust WJ (2013) Comparing positron emission tomography imaging and cerebrospinal fluid measurements of beta-amyloid. *Ann Neurol* 74(6):826–836
- Lehmann S, Dumurgier J, Schraen S, Wallon D, Blanc F, Magnin E, Bombois S, Bousiges O, Campion D, Cretin B, Delaby C, Hannequin D, Jung B, Hugon J, Laplanche J-L, Miguet-Alfonsi C, Peoc'h K, Philippin N, Quillard-Muraine M, Sablonniere B, Touchon J, Vercurysse O, Paquet C, Pasquier F, Gabelle A (2014) A diagnostic scale for Alzheimer's disease based on cerebrospinal fluid biomarker profiles. *Alzheimer's Res Ther* 6(3):38
- Leuzy A, Carter SF, Chiotis K, Almkvist O, Wall A, Nordberg A (2015) Concordance and diagnostic accuracy of 11CPIB PET and cerebrospinal fluid biomarkers in a sample of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* 45(4):1077–1088
- Leuzy A, Chiotis K, Hasselbalch SG, Rinne JO, de Mendonca A, Otto M, Lleo A, Castelo-Branco M, Santana I, Johansson J, Anderl-Straub S, von Arnim CAF, Beer A, Blesa R, Fortea J, Herukka S-K, Portelius E, Pannee J, Zetterberg H, Blennow K, Nordberg A (2016) Pittsburgh compound B imaging and cerebrospinal fluid amyloid-beta in a multicentre European memory clinic study. *Brain J Neurol* 139(Pt 9):2540–2553
- Lista S, Toschi N, Baldacci F, Zetterberg H, Blennow K, Kilimann I, Teipel SJ, Cavado E, Dos Santos AM, Epelbaum S, Lamari F, Dubois B, Floris R, Garaci F, Hampel H (2017) Diagnostic accuracy of CSF neurofilament light chain protein in the biomarker-guided classification system for Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 108:355–360
- McDade E, Bateman RJ (2017) Stop Alzheimer's before it starts. *Nature* 547(7662):153–155
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM (1984) Clinical diagnosis of Alzheimer's disease. Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 34(7):939–944
- McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH (2011) The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease. Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 7(3):263–269
- Molinuevo JL, Blennow K, Dubois B, Engelborghs S, Lewczuk P, Perret-Liaudet A, Teunissen CE, Parnetti L (2014) 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 Dement J Alzheimer's Assoc* 10(6):808–817
- Persson T, Lattanzio F, Calvo-Garrido J, Rimondini R, Rubio-Rodrigo M, Sundstrom E, Maioli S, Sandebring-Matton A, Cedazo-Minguez A (2017) Apolipoprotein E4 elicits lysosomal cathepsin D release, decreased thioredoxin-1 levels, and apoptosis. *J Alzheimer's Dis* 56(2):601–617
- Reitz C (2016) Toward precision medicine in Alzheimer's disease. *Annals of translational medicine* 4(6):107
- Rosenmann H (2012) CSF biomarkers for amyloid and tau pathology in Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci* 47(1):1–14
- Saykin AJ, Shen L, Foroud TM, Potkin SG, Swaminathan S, Kim S, Risacher SL, Nho K, Huentelman MJ, Craig DW, Thompson PM, Stein JL, Moore JH, Farrer LA, Green RC, Bertram L, Jack CR, Weiner MW (2010) Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative biomarkers as quantitative phenotypes. Genetics core aims, progress, and plans. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 6(3):265–273
- Schjonning Nielsen M, Simonsen AH, Siersma V, Hasselbalch SG, Hogh P (2016) Are CSF biomarkers useful as prognostic indicators in diagnostically unresolved cognitively impaired patients in a normal clinical setting. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra* 6(3):465–476
- Schoonenboom NSM, Reesink FE, Verwey NA, Kester MI, Teunissen CE, van de Ven PM, Pijnenburg YAL, Blankenstein MA, Roze-muller AJ, Scheltens P, van der Flier WM (2012) Cerebrospinal fluid markers for differential dementia diagnosis in a large memory clinic cohort. *Neurology* 78(1):47–54
- Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, Soares H, Simon A, Lewczuk P, Dean R, Siemers E, Potter W, Lee VM-Y, Trojanowski JQ (2009) Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol* 65(4):403–413
- Simonsen AH, Herukka S-K, Andreassen N, Baldeiras I, Bjerke M, Blennow K, Engelborghs S, Frisoni GB, Gabryelewicz T, Galluzzi S, Handels R, Kramberger MG, Kulczynska A, Molinuevo JL, Mroczko B, Nordberg A, Oliveira CR, Otto M, Rinne JO, Rot U, Saka E, Soininen H, Struyfs H, Suardi S, Visser PJ, Winblad B, Zetterberg H, Waldemar G (2017) Recommendations for CSF AD

- biomarkers in the diagnostic evaluation of dementia. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 13(3):274–284
- Skillback T, Farahmand BY, Rosen C, Mattsson N, Nagga K, Kilander L, Religa D, Wimo A, Winblad B, Schott JM, Blennow K, Eriksdotter M, Zetterberg H (2015) Cerebrospinal fluid tau and amyloid-beta1-42 in patients with dementia. *Brain J Neurol* 138(Pt 9):2716–2731
- Székely GJ, Rizzo ML, Bakirov NK (2007) Measuring and testing dependence by correlation of distances. *Ann Stat* 35(6):2769–2794
- Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, van de Voorde A, Martin JJ, Cras P (1993) Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem* 61(5):1828–1834
- Vanderschichele H, van Kerschaver E, Hesse C, Davidsson P, Buyse MA, Andreasen N, Minthon L, Wallin A, Blennow K, Vanmechelen E (2000) Standardization of measurement of beta-amyloid(1-42) in cerebrospinal fluid and plasma. *Amyloid Int J Exp Clin Investig* 7(4):245–258
- Villemagne VL, Burnham S, Bourgeat P, Brown B, Ellis KA, Salvado O, Szoeke C, Macaulay SL, Martins R, Maruff P, Ames D, Rowe CC, Masters CL (2013) Amyloid beta deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease. A prospective cohort study. *Lancet Neurol* 12(4):357–367
- Wallin AK, Blennow K, Andreasen N, Minthon L (2006) CSF biomarkers for Alzheimer's Disease. Levels of beta-amyloid, tau, phosphorylated tau relate to clinical symptoms and survival. *Dement Geriatr Cogn Disord* 21(3):131–138
- Weiner MW, Veitch DP, Aisen PS, Beckett LA, Cairns NJ, Green RC, Harvey D, Jack CR Jr, Jagust W, Morris JC, Petersen RC, Saykin AJ, Shaw LM, Toga AW, Trojanowski JQ (2017) Recent publications from the Alzheimer's disease neuroimaging initiative. Reviewing progress toward improved AD clinical trials. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 13(4):e1–e85
- Wenham PR, Price WH, Blandell G (1991) Apolipoprotein E genotyping by one-stage PCR. *Lancet (Lond, Engl)* 337(8750):1158–1159
- Yakushev I, Muller MJ, Buchholz H-G, Lang U, Rossmann H, Hampel H, Schreckenberger M, Fellgiebel A (2012) Stage-dependent agreement between cerebrospinal fluid proteins and FDG-PET findings in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 9(2):241–247
- Yamazaki Y, Painter MM, Bu G, Kanekiyo T (2016) Apolipoprotein E as a therapeutic target in Alzheimer's disease. A review of basic research and clinical evidence. *CNS Drugs* 30(9):773–789
- Zhao N, Liu C-C, Qiao W, Bu G (2017) Apolipoprotein E, receptors, and modulation of Alzheimer's disease. *Neuron* 96(1):115–129. e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.003>
- Zivelin A, Rosenberg N, Peretz H, Amit Y, Kornbrot N, Seligsohn U (1997) Improved method for genotyping apolipoprotein E polymorphisms by a PCR-based assay simultaneously utilizing two distinct restriction enzymes. *Clin Chem* 43(9):1657–1659

Affiliations

Panagiotis Alexopoulos^{1,2}  · Jennifer Roesler² · Lukas Werle^{2,3} · Nathalie Thierjung² · Iliana Lentzari¹ · Marion Ortner² · Timo Grimmer² · Nikolaos Laskaris⁴ · Antonios Politis^{5,6} · Philippos Gourzis¹ · Alexander Kurz² · Robert Perneczky^{7,8,9,10} · For the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative

¹ Department of Psychiatry, University of Patras, 26500 Rion Patras, Greece

² Department of Psychiatry and Psychotherapy, Technical University of Munich, Ismaninger Str. 22, 81675 Munich, Germany

³ Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany

⁴ Department of Informatics, Aristotle University of Thessaloniki, 54124 Thessaloniki, Greece

⁵ First Department of Psychiatry, Eginition Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Vassilissis Sofias Ave 72-74, 11528 Athens, Greece

⁶ Division of Geriatric Psychiatry and Neuropsychiatry, Department of Psychiatry, John's Hopkins Medical School, Baltimore, USA

⁷ Department of Psychiatry and Psychotherapy, Ludwig-Maximilians-Universität München, Nussbaumstraße 7, 80336 Munich, Germany

⁸ Neuroepidemiology and Ageing Research Unit, School of Public Health, Faculty of Medicine, The Imperial College of Science, Technology and Medicine, London, UK

⁹ West London Mental Health NHS Trust, London, UK

¹⁰ German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE) Munich, Munich, Germany

6.2 Mapping CSF biomarker profiles onto NIA-AA guidelines for Alzheimer's disease

Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci
DOI 10.1007/s00406-015-0628-7



ORIGINAL PAPER

Mapping CSF biomarker profiles onto NIA-AA guidelines for Alzheimer's disease

Panagiotis Alexopoulos^{1,2} · Jennifer Roesler¹ · Nathalie Thierjung¹ · Lukas Werle^{1,3} · Dorothea Buck⁴ · Igor Yakushev⁵ · Lena Gleixner¹ · Simone Kagerbauer⁶ · Marion Ortner¹ · Timo Grimmer¹ · Hubert Kübler⁷ · Jan Martin⁶ · Nikolaos Laskaris⁸ · Alexander Kurz¹ · Robert Perneczky^{1,9,10}

Received: 25 March 2015 / Accepted: 26 July 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract The National Institute on Aging–Alzheimer's Association (NIA–AA) guidelines for Alzheimer's disease (AD) propose the categorization of individuals according to their biomarker constellation. Though the NIA–AA criteria for preclinical AD and AD dementia have already been applied in conjunction with imaging AD biomarkers, the application of the criteria using comprehensive cerebrospinal fluid (CSF) biomarker information has not been thoroughly studied yet. The study included a monocentric cohort with healthy ($N = 41$) and disease ($N = 22$)

controls and patients with AD dementia ($N = 119$), and a multicentric sample with healthy controls ($N = 116$) and patients with AD dementia ($N = 102$). The CSF biomarkers β -amyloid 1–42, total tau, and phosphorylated tau at threonine 181 were measured with commercially available assays. Biomarker values were trichotomized into positive for AD, negative, or borderline. In controls the presence of normal CSF profiles varied between 13.6 and 25.4 % across the studied groups, while up to 8.6 % of them had abnormal CSF biomarkers. In 40.3–52.9 % of patients with AD dementia, a typical CSF profile for AD was detected. Approximately 40 % of the potential biomarker constellations are not considered in the NIA–AA guidelines, and more than 40 % of participants could not be classified into the NIA–AA categories with distinct biomarker constellations. Here, a refined scheme covering all potential biomarker constellations is proposed. These results enrich the discussion on the NIA–AA guidelines and point to a discordance between clinical symptomatology and CSF biomarkers even in patients with full-blown AD dementia,

For the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Data used in preparation of this article were obtained from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) database (adni.loni.usc.edu). As such, the investigators within the ADNI contributed to the design and implementation of ADNI and/or provided data but did not participate in analysis or writing of this report. A complete listing of ADNI investigators can be found at: http://adni.loni.usc.edu/wp-content/uploads/how_to_apply/ADNI_Acknowledgement_List.pdf.

Panagiotis Alexopoulos and Jennifer Roesler have contributed equally to the manuscript.

✉ Panagiotis Alexopoulos
panos.alexopoulos@lrz.tum.de; panos.alexopoulos@upatras.gr

- 1 Department of Psychiatry and Psychotherapy, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany
- 2 Department of Psychiatry, University Hospital of Rion, University of Patras, 26500 Rion, Patras, Greece
- 3 Max Planck Institute of Psychiatry, 80804 Munich, Germany
- 4 Department of Neurology, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany
- 5 Department of Nuclear Medicine, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany

- 6 Department of Anaesthesiology, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany
- 7 Department of Urology, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Munich, Germany
- 8 Department of Informatics, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece
- 9 Neuroepidemiology and Ageing Research Unit, Faculty of Medicine, School of Public Health, The Imperial College of Science, Technology and Medicine, London, UK
- 10 West London Cognitive Disorders Treatment and Research Unit, West London Mental Health Trust, London, UK

Published online: 08 August 2015

Springer

who are supposed to have a clearly positive for AD neurochemical profile.

Keywords Dementia · Cognitive aging · Biomarkers · Diagnostic criteria

Introduction

Reflecting the tremendous progress done in the field of biomarkers of Alzheimer's disease (AD) in the last decades, the National Institute on Aging and Alzheimer's Association (NIA-AA) diagnostic guidelines for AD [1–3] propose algorithms for categorizing cognitively healthy individuals and patients with AD dementia into groups with distinct constellations of biomarkers [4]. AD biomarkers predict with high accuracy the presence of the core brain pathological alterations observed in the disease, mainly β -amyloid ($A\beta$) accumulation [e.g., decreased levels of cerebrospinal fluid (CSF) $A\beta_{42}$] and neuronal injury [e.g., CSF total tau (t-Tau) and phosphorylated tau at threonine 181 (p-Tau)] [5].

The NIA-AA criteria do not use a uniform nomenclature for the groups with distinct biomarker constellations into which individuals without cognitive deficits and patients with dementia are categorized [2, 3]. According to the NIA-AA algorithm, each biomarker value can be classified as positive for AD, negative or borderline. Abnormality of biomarkers in cognitively healthy individuals justifies the presence preclinical AD. Preclinical AD is further divided into three stages. Preclinical stage 1 is characterized by asymptomatic $A\beta$ accumulation, while preclinical stage 2 is characterized by asymptomatic $A\beta$ accumulation in conjunction with evidence of neuronal injury. At preclinical stage 3, subtle cognitive deficits are present in addition to positive $A\beta$ - and neuronal injury markers. On the other hand, the criteria for AD dementia establish how probable it is that the AD pathology is present and causes the dementia syndrome. The highest probability is indicated by a combination of both abnormal $A\beta$ - and neural injury biomarkers, and the lowest probability by normality of both $A\beta$ - and neural injury markers [2, 3]. If neuronal injury biomarkers are unavailable or indeterminate and $A\beta$ biomarkers are positive, or vice versa, the patient is assigned an intermediate probability to suffer from AD [2]. In the NIA-AA guidelines for both preclinical AD and AD dementia, information yielded by conflicting biomarkers are classified as uninformative (e.g., positive p-Tau in combination with negative t-Tau) or are not considered at all (e.g., positive p-Tau in conjunction with negative $A\beta$).

Recently, efforts were undertaken to apply the NIA-AA criteria to actual patient populations with preclinical AD and full-blown AD dementia. However, most of those

studies were exclusively focused on imaging biomarkers [6, 7], or combined imaging biomarkers with only a single neurochemical biomarker [8]. A recently published multicentric study which considers all established CSF biomarkers is exclusively focused on patients with mild cognitive impairment, being a prodementia clinical syndrome [9], and not on preclinical AD or dementia due to AD [10]. Another report focused on CSF biomarkers, and cognitively healthy controls was based on dichotomization of biomarker values (i.e., negative vs. positive), neglecting the fact that the NIA-AA guidelines also consider borderline biomarker values, and that in many cases biomarker values are in fact neither clearly positive nor negative [2, 11]. As a consequence, there is a critical gap regarding the application of the NIA-AA algorithms for preclinical AD and AD dementia in conjunction with comprehensive fluid biomarker information.

The main aims of the present study were (1) to unravel the neurochemical profile of patients with AD dementia and of cognitively healthy elderly individuals and (2) to apply the NIA-AA recommendations for preclinical AD and AD dementia, using CSF biomarker information, in order to investigate whether the NIA-AA algorithms consider all biomarker constellations observed in controls and patients with AD dementia.

Methods

Study design and sample

The study procedures were approved by the institutional review boards of all participating centers, and written informed consent was obtained from all participants or authorized representatives. The analyses included a monocentric dataset (MUC), comprising individuals recruited at the hospital of Technische Universität München (TUM), and a multicentric dataset, encompassing participants of the first phase of AD Neuroimaging Initiative (ADNI), with available CSF concentrations of $A\beta_{42}$, t-Tau, and p-Tau. ADNI is a collaborative project of academic institutions and private corporations across the USA and Canada. The ADNI data used in this study were obtained from the ADNI database at www.adni-info.org on July 31, 2013. ADNI general eligibility criteria are described at www.adni-info.org/Scientists/ADNIGrant/ProtocolSummary.aspx. The datasets consisted of patients with AD dementia and controls. Patients with AD dementia fulfilled the NIA-AA and the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke/AD and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) criteria for AD dementia and probable AD [2, 12, 13]. Healthy controls in both datasets were elderly individuals without neuropsychiatric disorders or subjective memory complaints

and with normal neurocognitive test results. They were independent in their activities of daily living [12, 14]. CSF samples of MUC healthy controls were obtained as part of scheduled urological or orthopedic surgery procedures under spinal anesthesia at the hospital of TUM [14]. The MUC dataset included also a convenience sample of disease controls, who were not diagnosed with a central nervous system disorder. They had no subjective memory complaints and were independent in their activities of daily living. Lumbar punctures and structural brain imaging did not reveal any abnormalities. It should be underscored that AD biomarker findings were not used for establishing clinical diagnoses.

CSF acquisition and analysis

The CSF peptide concentrations were measured in ADNI with a multiplex platform [15] and in MUC with commercially available enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) as previously described in detail [16–18].

APOE genotyping

APOE genotypes were determined using standard polymerase chain reaction methods [19]. No *APOE* genotype data were available for disease controls since no written informed consent for genotyping has been obtained from them.

Classification of neurochemical biomarker values

Each patient's biomarker values were categorized as either positive for AD, negative for AD or borderline. The definition of the range of borderline values was based on previously published biomarker cutoffs, being specific for each employed measurement method [9, 19–22], and the standard deviations (SD) which were calculated in the whole monocentric and multicentric dataset separately, since the methods employed for peptide measurements in the two datasets were different. The range of borderline values was specified with the aim to reach a reasonable compromise between minimizing the chance of an artificial categorization as positive or negative and at the same time classifying <25 % of the measured values of each biomarker as borderline. Values within 20 % of the SD from the respective cutoff were classified as borderline. A β 42 concentrations lower than the defined range of A β 42 borderline values and t-Tau and p-Tau levels higher than the respective borderline ranges were assumed to be AD positive. All other biomarker values were considered negative. In the MUC sample the following concentrations were regarded as positive for AD: A β 42 < 579.72 ng/l, t-Tau > 331.11 ng/l and p-Tau > 68.68 ng/l. The following concentrations were regarded as negative for AD: A β 42 > 704.28 ng/l, t-Tau < 172.89 ng/l and p-Tau < 53.32 ng/l. AD positivity in the ADNI dataset was defined as A β 42 < 177.62 ng/l,

t-Tau > 104.15 ng/l and p-Tau > 27.41 ng/l. AD negativity was defined as A β 42 > 206.38 ng/l, t-Tau < 83.85 ng/l and p-Tau < 20.59 ng/l.

NIA-AA categorization of participants

According to the NIA-AA algorithms and their CSF biomarker values, controls were categorized into the preclinical AD stages 1 or 2 or as not harboring AD pathology, while patients with dementia due to AD were classified into groups with high, intermediate, or lowest probability for AD pathology, or as having biomarker combinations being uninformative with regards to the presence of AD. Participants with biomarker constellations being not considered by the NIA-AA guidelines could not be classified into the NIA-AA categories. Modifications of the NIA-AA algorithms are here proposed, so that all potential fluid biomarker constellations are integrated and specified in the refined schemata, and the nomenclature used for subjects with preclinical AD and patients with AD dementia is harmonized. In the modified algorithm, the relative importance of A β 42 is greater compared to t-Tau and p-Tau. Individuals with positive A β 42 values are classified at least as high AD likelihood, whereas subjects with negative A β 42 values are categorized as having AD likelihood not higher than low. Individuals with negative A β 42 and neurodegeneration markers negative or borderline are classified into the lowest likelihood category. Individuals with borderline A β 42 in conjunction with at least one positive neuronal injury marker are classified as having intermediate AD likelihood, while in the absence of positive neurodegeneration markers individuals are categorized as having low AD likelihood.

In a number of participants ($N = 18$), only one neurochemical neuronal injury biomarker was available. Due to the previously reported high degree of correlation between p-Tau/t-Tau [23], it was hypothesized that the unavailable biomarker stood in agreement with the available neurodegeneration biomarker. This strategy embodies a compromise solution. It does not indicate that p-Tau and t-Tau yield exactly the same information and are interchangeable.

Statistical analysis

The statistical analyses were performed in SPSS v19.0 for Windows (IBM corp., Somers, NY, USA) and in MATLAB R2012a version (MathWorks, Natick, MA). Normality of data distribution was checked using the Kolmogorov–Smirnov test. Differences between diagnostic groups with regards to demographic and biomarker data and *APOE* ϵ 4 allele distribution were assessed with analysis of variance, Bonferroni post hoc analysis, Kruskal–Wallis test, Mann–Whitney test and Chi-square test as appropriate and in each dataset separately. The raw biomarker data of both datasets

Table 1 Description of the study sample

Group	Monocentric dataset (MUC)			P value	Multicentric dataset (ADNI)		P value
	HC	DC	AD		HC	AD	
N	41	22	119		116	102	
Age (years)*	67.44 (10.62)	62.82 (9.65)	68.50 (8.90)	0.04	75.61 (5.16)	75.13 (7.87)	0.60
Gender (female %)	29.3	40.9	55.5	0.01	50.0	42.2	0.28
APOE ε4 carriers (%)	(N = 40), 36.6	NA	(N = 87), 49.6	<0.01	24.1	69.6	<0.01
MMSE*	29.20 (1.01)	NA	21.81 (4.90)	<0.01	28.09 (1.02)	23.56 (1.90)	<0.01
CSF Aβ42 (ng/l)*	998.46 (325.20)	772.82 (282.31)	565.61 (220.76)	<0.01	206.36 (54.68)	142.98 (40.79)	<0.01
CSF Aβ42 values positive/borderline/negative for AD (%)	9.8/7.3/82.9	27.3/22.7/50.0	62.2/19.3/18.5	<0.01	21.9/11.2/56.9	87.3/4.9/7.8	<0.01
CSF p-Tau (ng/l)*	49.95 (16.77)	43.68 (13.82)	(N = 102) 81.46 (42.40)	<0.01	25.85 (16.51)	41.60 (19.74)	<0.01
CSF p-Tau values positive/borderline/negative for AD (%)	19.5/14.6/65.9	4.5/13.6/81.8	(N = 102) 55.9/23.5/20.6	<0.01	13.8/12.1/74.1	57.8/12.7/29.4	<0.01
CSF t-Tau (ng/l)*	259.20 (106.62)	(N = 21) 219.90 (77.83)	654.94 (419.31)	<0.01	70.13 (30.29)	120.27 (57.80)	<0.01
CSF t-Tau values positive/borderline/negative for AD (%)	26.8/46.3/26.8	(N = 21) 9.5/61.9/28.6	83.2/15.1/1.7	<0.01	13.8/4.5/74.1	52.0/12.7/29.4	<0.01

MUC: sample recruited at the Hospital of Technische Universität München; ADNI: sample recruited with the framework of the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative; HC: Healthy controls; DC: Disease controls; AD: Dementia due to Alzheimer's disease; APOE: Apolipoprotein E; MMSE: Mini mental state examination; CSF Aβ42 positive/negative for AD: β-amyloid 1–42 levels in cerebrospinal fluid (CSF) < 579.72 or 177.62 ng/l/>704.28 or 206.38 ng/l for the monocentric and multicentric dataset, respectively; CSF p-Tau values positive/negative for AD: tau phosphorylated at threonine 181 levels in CSF > 68.68 or 27.41 ng/l/<53.32 or 20.59 ng/l for the monocentric and multicentric dataset, respectively; CSF t-Tau values positive/negative for AD: total tau levels in CSF > 331.11 or 104.15 ng/l/<172.89 or 83.85 ng/l for the monocentric and multicentric dataset, respectively

* Data presented as mean (SD)

were graphically presented by means of nonnegative matrix factorization (NNMF) [24], a data-learning technique that is particularly suited for analyzing positive valued data, in order to condense the available information in a low-dimensional (2D) space. The overall set of measurements $X_i = \{A\beta42, t\text{-Tau}, p\text{-Tau}\}$ unlikely $i, i = 1, 2, \dots, N$, where N is the total number of participants, was approximated as $X_{[N \times 3]} \approx W_{[N \times 2]} B_{[2 \times 3]}$ so as to minimize the reconstruction error induced by the Frobenius norm: $\|X - WB\|^2$. In this way, the vector of measurements X_i associated with the i th participant took the form of $X_i = w_{i1} B_1 + w_{i2} B_2$, where B_1, B_2 were the unit length vectors for a parsimonious 2D representation and w_{i1}, w_{i2} were the corresponding components. A two-sided level of significance of 0.05 was used.

Results

Sample characteristics

The characteristics of the datasets are presented in Table 1. Age and gender distribution significantly differed across the MUC groups; disease controls were

significantly younger in comparison with patients with AD dementia ($P = 0.03$), while women in the healthy control group were significantly less frequent than in the AD dementia group ($P < 0.01$). As expected, in both datasets the presence of *APOE* ε4 was significantly higher in patients with AD dementia compared with healthy controls. In the MUC dataset, CSF levels of Aβ42, t-Tau, and p-Tau were [mean (SD)] 688.17 (311.38), 514.82 (395.56), and 68.59 (28.39) ng/l, respectively. In the ADNI dataset, Aβ42, t-Tau, and p-Tau concentrations were 176.70 (57.99), 93.59 (51.67), and 33.22 (19.72) ng/l, respectively. Figure 1, being a graphical presentation of participants' Aβ42, t-Tau, and p-Tau CSF levels using NNMF points to discordance between CSF profiles and diagnostic status. It highlights that in both datasets despite the clearly distinct diagnostic status of the participants (controls vs. patients with AD dementia), their biomarker profiles are distributed over a continuous spectrum between the two opposite edges, in which controls with normal biomarkers (lower right quadrant of the graphs) and patients with AD dementia and positive neurochemical biomarkers (upper left quadrant of the graphs) represent the extreme ends.

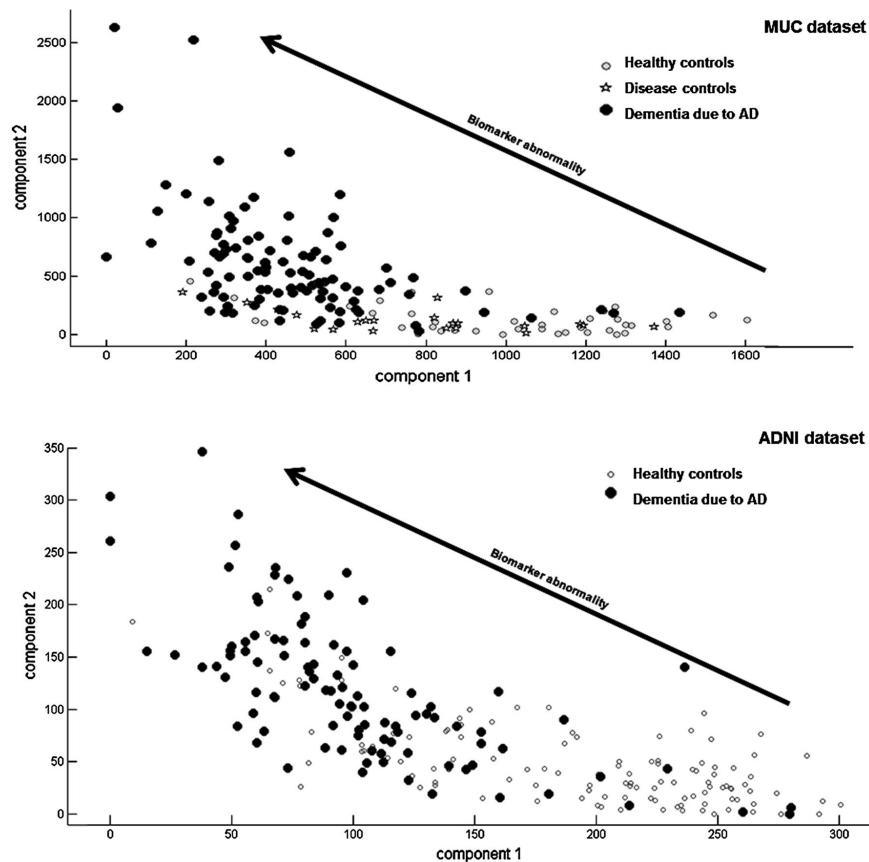


Fig. 1 Condensed representation, in the form of a 2D scatterplot, of the monocentric (MUC) and multicentric (ADNI) dataset (*upper and lower panel*, respectively). The ensemble of trivariate measurements of CSF β -amyloid 1–42, hyperphosphorylated tau at threonine 181, and total tau for all participants has been analyzed via nonnega-

tive matrix factorization (NNMF) and approximated by means of a bivariate data swarm that conveniently represents the total variation in the original data. In the derived map, the *labels* indicate the different groups and lend semantics to the plot

Neurochemical profiles

In the MUC dataset, only 22 % of healthy controls and 13.6 % of disease controls had a clearly normal neurochemical profile, while in ADNI the proportion of controls with a clearly normal CSF profile tended to be significantly higher (35.4 %) ($P = 0.06$) (Fig. 2) The respective proportions of healthy controls with all biomarkers abnormal (typical AD neurochemical profile) were 2.5 % in MUC and 8.6 % in ADNI. No disease controls had all CSF biomarkers positive for AD. The distribution of controls in whom all biomarkers were abnormal did not differ across

the datasets ($P = 0.16$). Interestingly, 19.5 % of MUC and 18.9 % of ADNI healthy controls and 4.5 % of MUC disease controls had positive p-Tau and/or t-Tau values in conjunction with negative or borderline A β 42 values.

Regarding the neurochemical profile of patients with clinically diagnosed AD dementia, 40.3 % in MUC and 52.9 % in ADNI had a typical fluid biomarker profile for AD. The distribution of the typical AD neurochemical profile did not differ between patients with AD dementia in MUC and ADNI ($P = 0.08$) (Fig. 3). All available CSF markers were negative in only 0.8 % of patients with AD dementia in MUC and 2.9 % in ADNI ($P = 0.34$).

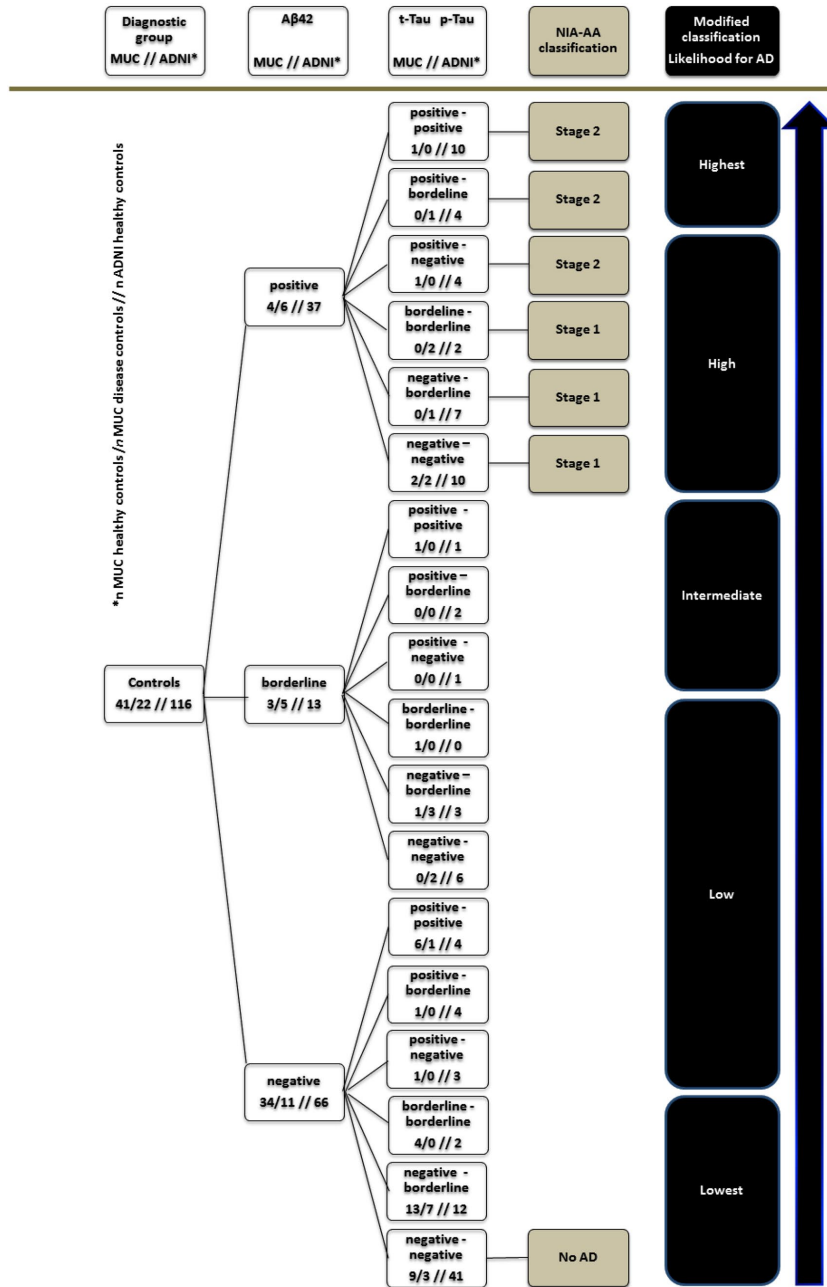


Fig. 2 Biomarker profiles of healthy and disease controls of the monocentric (MUC) and multicentric (ADNI) dataset, National Institute on Aging–Alzheimer’s Association (NIA–AA) assignments and a refined classification scheme based on CSF β -amyloid 1–42 (A β 42), hyperphosphorylated tau at threonine 181 (p-Tau) and total tau (t-Tau)

In 30.3 % of MUC and 6.9 % of ADNI patients with AD dementia, positive p-Tau and/or t-Tau values with negative or borderline A β 42 concentrations were observed.

NIA–AA categorization

The attempt to apply the NIA–AA algorithm for preclinical AD to healthy and disease controls revealed that only seven of 18 observed biomarker constellations could be categorized according to the NIA–AA algorithm (Fig. 2). Moreover, 4.9 % of MUC and 15.5 % of ADNI healthy controls and 4.5 % of MUC disease controls met the criteria for preclinical stage 2 (at least one amyloid and one neural injury marker positive), while 4.8 % of healthy controls in MUC and 6.4 % in ADNI and 22.7 % of MUC disease controls fulfilled the criteria for preclinical stage 1 (A β positivity only). 68.3 % of healthy controls of the MUC dataset and 32.8 % of ADNI had combinations that are not specified in the NIA–AA guidelines. The respective proportion in MUC disease controls was 59.1 %.

Only four of the 18 potential biomarker constellations can be classified into categories with different probability for the presence of AD according to the NIA–AA algorithm for AD dementia. In MUC 40.3 and 13.4 % of patients with AD dementia were categorized into the groups with high (all biomarkers positive) and intermediate (positive A β 42 and both pTau and tTau borderline or vice versa) AD probability, respectively. With the exception of a single patient with the lowest probability of AD (all available biomarkers negative), all other MUC patients’ biomarker combinations (45.4 %) either would be classified as uninformative by the NIA–AA guidelines or will not be specified by them at all. In ADNI 52.9, 2 and 3 % of patients could be classified as having high, intermediate, and lowest probability of AD, respectively. All other ADNI patients (42.1 %) had combinations of biomarker findings that are either uninformative or are left undefined by the NIA–AA criteria (Fig. 3).

The application of the refined NIA–AA algorithm is presented in Fig. 2 for controls and in Fig. 3 for patients with AD dementia. The refined algorithm considers all potential CSF biomarker constellations.

Discussion

The findings of the present study indicate a continuum of neurochemical biomarker profiles from cognitively healthy

aging to AD dementia despite the clearly distinct diagnostic status of the study participants. They are in line with reports from large clinical trials of disease-modifying drug candidates which showed that 10–35 % of patients with clinically diagnosed AD dementia have negative A β positron emission tomography scans, i.e., no measurable A β pathology [25]. The detected atypical for AD biomarker profiles in patients suffering from AD dementia can be attributed to the relatively low, in the absence of biomarker data, accuracy of current clinical AD diagnostic methods in predicting histopathologic diagnoses (sensitivity 71–88 %, specificity 44–71 %) validated by the standard pathologic diagnosis at autopsy [26]. Clinical symptoms in AD dementia are not a straightforward consequence of the presence of AD pathology, being reflected in biomarker abnormality. As autopsy reports underscore, a plethora of pathologies accompany AD pathological alterations in the aging brain (for instance, cerebrovascular alterations or Lewy body pathology) [27, 28]. Such concurrent pathologies can synergistically lower the threshold for the development of clinical symptoms, making it more likely that an individual will develop cognitive deficits, which will then justify the diagnosis of AD dementia. Such co-pathologies potentiate the clinical expression of AD-associated brain alterations which would have remained clinically silent in the absence of co-pathologies, because they are still not sufficiently advanced to become clinically recognizable [29, 30]. Thus, clinical symptoms in AD dementia are not a straightforward consequence of AD pathology, but the consequence of a complex interplay [30].

CSF biomarker abnormalities were detected in both the multicentric and monocentric groups of controls. Our observations are in line with previous reports which showed that more than approximately 50 % of cognitively healthy elderly individuals have at least one positive imaging AD biomarker [6, 7]. As already underscored, the presence of positive biomarkers does not straightforwardly lead to clinical symptoms. Biomarker abnormality in the absence of clinical symptoms is compatible with the recently defined concept of preclinical AD [3]. According to it, AD pathological hallmarks begin to develop many years prior to the onset of clinical symptoms. As a consequence, AD-type brain changes are often found in individuals without any cognitive symptoms. The brain is in fact able to tolerate, mask, or even respond to structural changes [29]. For instance, the concept of neural or cognitive reserve provides an explanation why pathological alterations can accumulate for a long time without any clinical signs or symptoms [31, 32]. The discordance between biomarker profiles and clinical symptoms warrants thorough investigation, since it embodies a crucial parameter not only for clinical trials and for defining surrogate endpoints within

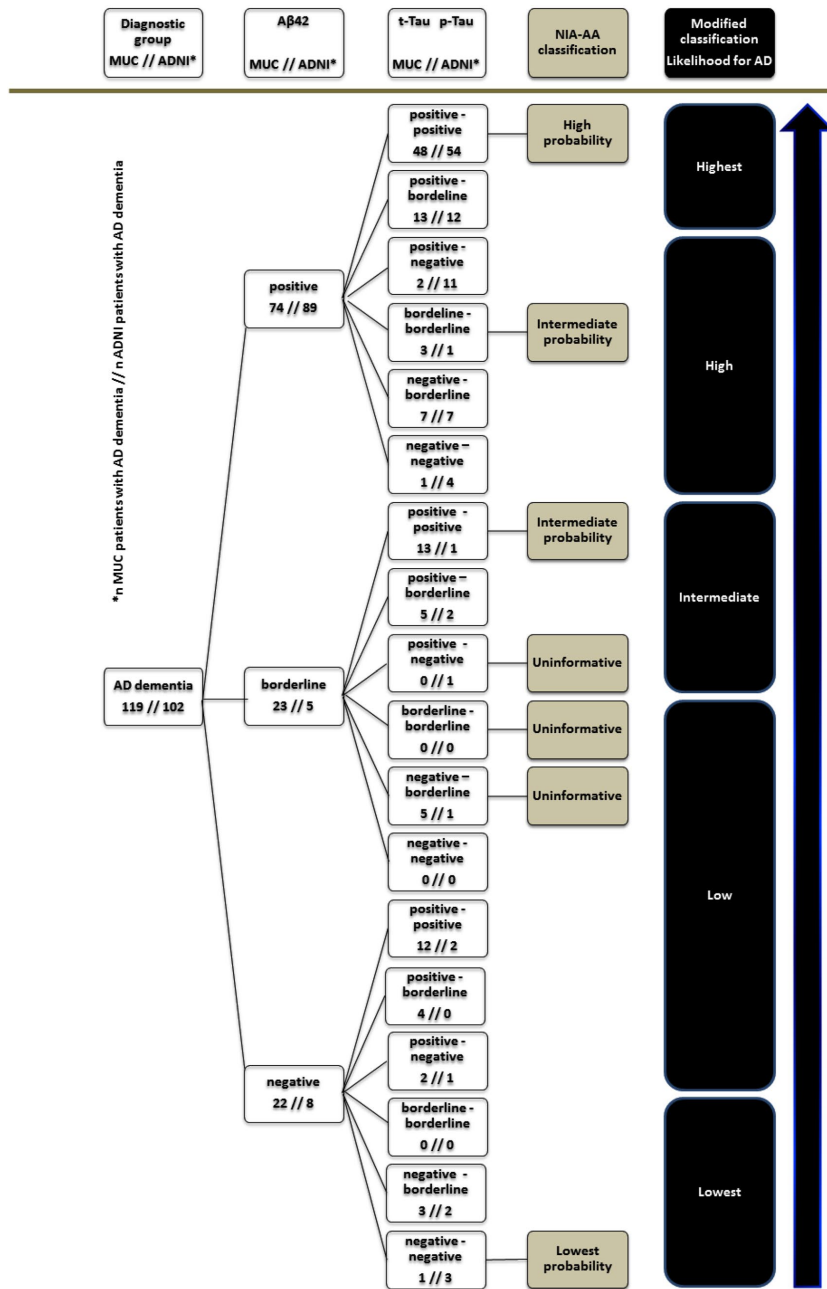


Fig. 3 Biomarker profiles of patients with dementia due to Alzheimer's disease (AD) of the monocentric (MUC) and multicentric (ADNI) dataset, National Institute on Aging–Alzheimer's Association (NIA–AA) assignments and a refined classification scheme based on CSF β -amyloid 1–42 (A β 42), hyperphosphorylated tau at threonine 181 (p-Tau) and total tau (t-Tau)

their framework, but also for developing effective prevention strategies not pertaining to AD pathomechanism.

The observations of the present study with regard to combinations of abnormal p-Tau and/or t-Tau values with negative or borderline A β 42 concentrations further support the presence of individuals with normal or borderline amyloid biomarkers and abnormal biomarkers of neuronal injury. The term “suspected non-AD pathophysiology (SNAP)” has been recently proposed to designate subjects without evidence of amyloid accumulation but with abnormal biomarkers of neuronal injury [6, 8, 33]. In accordance with prior reports, proportions of individuals with SNAP in our study did not exceed 30 % in each diagnostic group [6, 8, 33]. Interestingly, the monocentric AD dataset encompassed clearly more patients with SNAP than the ADNI AD sample (30.3 vs. 6.9 %). This difference could be explained by the different characteristics of the two samples. The ADNI cohort was mainly recruited for research purposes at specialized research centers, while the MUC samples were recruited in a more naturalistic clinical setting and not exclusively within the framework of research activity. As a consequence, the latter are less contingent on over-selection and research center enrollment biases.

Our results underscore that the NIA–AA algorithms do not consider all possible biomarker constellations. Approximately 40 % of biomarker combinations observed could not be classified according to the NIA–AA algorithms. Conflicting biomarker results within the same biomarker category (e.g., neuronal injury) or between different biomarker categories as well as biomarker constellations indicating SNAP are not considered or are classified as uninformative. However, in the era of personalized medicine [34, 35], it is important that all potential biomarker combinations are considered and incorporated into the algorithm for defining groups with different AD likelihoods. In the modified assignment scheme, which is here presented, a harmonization of the nomenclature used for the groups with distinct biomarker constellations regardless clinical symptoms is proposed, since the classification into groups is based on the same biomarkers and refers to the same pathological changes [2, 3]. Group assignment does not indicate a specific pattern of clinical prognosis or symptomatology, since prognosis and clinical symptoms are in fact not exclusively contingent on AD pathology [30]. In the proposed modified algorithm, amyloid biomarkers are prioritized compared with biomarkers of neuronal injury, since A β 42 is more specific to AD than t-Tau, and A β 42 levels

become abnormal earlier than p-Tau and t-Tau according to the model of temporal evolution of AD biomarkers [36]. The NIA–AA algorithm for preclinical AD also prioritizes amyloid information [3]. Previously proposed refinements of the NIA–AA algorithm for AD dementia, which were based on different biomarker modalities, prioritized amyloid biomarker information too [8]. Nonetheless, the proposed modified assignment schema has to be justified through empirical evidence, for instance through pathological diagnoses established in close temporal relation to the acquisition of CSF.

The present study should be viewed in the light of some limitations. The diagnostic workup of the disease control group did not include a neuropsychological assessment. As a result, it cannot be excluded that some of the disease controls suffered from very mild cognitive deficits, which, however, did not cause any subjective memory complaints or impairment of their activities of daily living. In addition, the size of the disease control group is relatively small. Moreover, the healthy controls' neuropsychological assessment was restricted to established cognitive measures that cannot detect very subtle cognitive impairment [3]. As a consequence, it cannot be ruled out that some of the cognitively healthy individuals with a typical neurochemical AD profile could have been assigned to stage 3 of preclinical AD, if they had been tested for subtle cognitive deficits. Furthermore, no histopathologic (definite) diagnoses were available, and we did not consider imaging biomarker data. However, it should be underscored that while combining imaging with neurochemical biomarker data may be relevant for research settings, it is rarely applicable to clinical settings because of limitations related to scanner equipment and sophisticated image analyses expertise. Moreover, the NIA–AA guidelines do not necessitate the availability of imaging biomarker data [2, 3]. Despite the previously reported significant influences of age and sex on the development of AD pathology [37, 38], it seems unlikely that the detected significant differences in age and sex distribution between the diagnostic groups of the MUC cohort have biased our observations, since our study aimed to describe naturalistically the biomarker profiles of controls and patients with AD dementia and to apply the NIA–AA criteria. In line with such an assumption, the proportion of controls with normal biomarkers was significantly higher in ADNI compared with MUC, though ADNI controls were older than MUC controls. In addition the distribution of controls with abnormal biomarkers did not differ across the datasets. Furthermore, it can be reckoned that the observed high proportion of participants who could not be classified by the NIA–AA algorithms is attributable to the defined range of borderline values. In the light of the lack of empirical data with regard to definitions of the range of borderline values, our findings should be treated

with caution. Nonetheless, the NIA-AA guidelines clearly specify the presence of borderline biomarker values and do not take into account approximately 40 % of the potential biomarker constellations. As a result, further studies considering borderline biomarker values are warranted.

To conclude, the findings of the present study illustrate the polymorphy of the neurochemical profiles of patients with AD dementia and elderly cognitively healthy individuals. They point to discordance between CSF biomarker profile and diagnostic status. This discordance is a consequence of the complexity of the genesis of clinical symptoms in AD. Our observations enrich the discussion on the NIA-AA guidelines and possibly contribute to paving the way toward refining the guidelines, so that they address all potential biomarker constellations.

Acknowledgments The authors wish to express their gratitude to Ms. Tamara Eisele (Department of Psychiatry and Psychotherapy, Klinikum rechts der Isar) for her excellent technical assistance.

Study funding Data collection and sharing for this project was funded by the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) (National Institutes of Health Grant U01 AG024904) and DOD ADNI (Department of Defense Award Number W81XWH-12-2-0012). ADNI is funded by the National Institute on Aging, the National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering, and through generous contributions from the following: Alzheimer's Association; Alzheimer's Drug Discovery Foundation; Araclon Biotech; BioClinica, Inc.; Biogen Idec Inc.; Bristol-Myers Squibb Company; Eisai Inc.; Elan Pharmaceuticals, Inc.; Eli Lilly and Company; EuroImmun; F. Hoffmann-La Roche Ltd and its affiliated company Genentech, Inc.; Fujirebio; GE Healthcare; IXICO Ltd.; Janssen Alzheimer Immunotherapy Research & Development, LLC.; Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development LLC.; Medpace, Inc.; Merck & Co., Inc.; Meso Scale Diagnostics, LLC.; NeuroRx Research; Neurotrack Technologies; Novartis Pharmaceuticals Corporation; Pfizer Inc.; Piramal Imaging; Servier; Synarc Inc.; and Takeda Pharmaceutical Company. The Canadian Institutes of Health Research is providing funds to support ADNI clinical sites in Canada. Private sector contributions are facilitated by the Foundation for the National Institutes of Health (www.fnih.org). The grantee organization is the Northern California Institute for Research and Education.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest Dr. Alexopoulos serves on the editorial board of the Journal of Alzheimer's Disease and has received speaker honoraria from IBL International. Dr. Buck has received compensation for activities with Bayer HealthCare, BiogenIdec, MerckSerono, and Novartis. She was supported by the Commission for Clinical Research of the Faculty of Medicine, Technische Universität München, Abirisk and the PML Consortium. All other authors report no disclosures.

References

- McKhann GM (2011) Changing concepts of Alzheimer disease. *JAMA* 305(23):2458–2459. doi:10.1001/jama.2011.810
- McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH (2011) The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging–Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 7(3):263–269. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.005
- Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, Iwatsubo T, Jack CR Jr, Kaye J, Montine TJ, Park DC, Reiman EM, Rowe CC, Siemers E, Stern Y, Yaffe K, Carrillo MC, Thies B, Morrison-Bogorad M, Wagster MV, Phelps CH (2011) Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging–Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 7(3):280–292. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.003
- Martins-de-Souza D (2010) Is the word 'biomarker' being properly used by proteomics research in neuroscience? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 260(7):561–562. doi:10.1007/s00406-010-0105-2
- Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK, Parkkinen L, Hartikainen P, Soininen H, Pirttilä T (2009) Cerebrospinal fluid β -amyloid 42 and tau proteins as biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the brain. *Arch Neurol* 66(3):382–389. doi:10.1001/archneurol.2008.596
- Jack CR Jr, Knopman DS, Weigand SD, Wiste HJ, Vemuri P, Lowe V, Kantarci K, Gunter JL, Senjem ML, Ivnik RJ, Roberts RO, Rocca WA, Boeve BF, Petersen RC (2012) An operational approach to National Institute on Aging–Alzheimer's Association criteria for preclinical Alzheimer disease. *Ann Neurol* 71(6):765–775. doi:10.1002/ana.22628
- Jack CR Jr, Wiste HJ, Weigand SD, Rocca WA, Knopman DS, Mielke MM, Lowe VJ, Senjem ML, Gunter JL, Preboske GM, Pankratz VS, Vemuri P, Petersen RC (2014) Age-specific population frequencies of cerebral beta-amyloidosis and neurodegeneration among people with normal cognitive function aged 50–89 years: a cross-sectional study. *Lancet Neurol* 13(10):997–1005. doi:10.1016/S1474-4422(14)70194-2
- Lowe VJ, Peller PJ, Weigand SD, Montoya Quintero C, Tosakulwong N, Vemuri P, Senjem ML, Jordan L, Jack CR Jr, Knopman D, Petersen RC (2013) Application of the National Institute on Aging–Alzheimer's Association AD criteria to ADNI. *Neurology* 80(23):2130–2137. doi:10.1212/WNL.0b013e318295d6cf
- Guo LH, Alexopoulos P, Eisele T, Wagenpfeil S, Kurz A, Perneczky R (2013) The National Institute on Aging–Alzheimer's Association research criteria for mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: predicting the outcome. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 263(4):325–333. doi:10.1007/s00406-012-0349-0
- Vos SJ, Verhey F, Frolich L, Kornhuber J, Wiltfang J, Maier W, Peters O, Ruther E, Nobili F, Morbelli S, Frisoni GB, Drzezga A, Didic M, van Berckel BN, Simmons A, Soininen H, Kloszewska I, Mecocci P, Tsolaki M, Vellas B, Lovestone S, Muscio C, Herukka SK, Salmon E, Bastin C, Wallin A, Nordlund A, de Mendonca A, Silva D, Santana I, Lemos R, Engelborghs S, Van der Mussele S, Freund-Levi Y, Wallin AK, Hampel H, van der Flier W, Scheltens P, Visser PJ (2015) Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain*. doi:10.1093/brain/awv029
- Vos SJ, Xiong C, Visser PJ, Jasielc MS, Hassenstab J, Grant EA, Cairns NJ, Morris JC, Holtzman DM, Fagan AM (2013) Preclinical Alzheimer's disease and its outcome: a longitudinal cohort study. *Lancet Neurol* 12(10):957–965. doi:10.1016/S1474-4422(13)70194-7
- Petersen RC, Aisen PS, Beckett LA, Donohue MC, Gamst AC, Harvey DJ, Jack CR Jr, Jagust WJ, Shaw LM, Toga AW, Trojanowski JQ, Weiner MW (2010) Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI): clinical characterization. *Neurology* 74(3):201–209. doi:10.1212/WNL.0b013e3181cb3e25

13. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM (1984) Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 34(7):939–944
14. Perneczky R, Guo LH, Kagerbauer SM, Werle L, Kurz A, Martin J, Alexopoulos P (2013) Soluble amyloid precursor protein beta as blood-based biomarker of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry* 3:e227. doi:10.1038/tp.2013.11
15. Kim S, Swaminathan S, Shen L, Risacher SL, Ngo K, Foroud T, Shaw LM, Trojanowski JQ, Potkin SG, Huentelman MJ, Craig DW, DeChairo BM, Aisen PS, Petersen RC, Weiner MW, Saykin AJ (2011) Genome-wide association study of CSF biomarkers A β 1–42, t-tau, and p-tau181p in the ADNI cohort. *Neurology* 76(1):69–79. doi:10.1212/WNL.0b013e318204a397
16. Alexopoulos P, Guo LH, Jiang M, Bujo H, Grimmer T, Forster S, Drzezga A, Kurz A, Perneczky R (2013) Amyloid cascade and tau pathology cerebrospinal fluid markers in mild cognitive impairment with regards to Alzheimer's disease cerebral metabolic signature. *J Alzheimers Dis* 36(2):401–408. doi:10.3233/JAD-122329
17. Vanderveeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, van de Voorde A, Martin JJ, Cras P (1993) Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem* 61(5):1828–1834
18. Vanderstichele H, Van Kerschaver E, Hesse C, Davidsson P, Buysse MA, Andreasen N, Minthon L, Wallin A, Blennow K, Vanmechelen E (2000) Standardization of measurement of beta-amyloid(1–42) in cerebrospinal fluid and plasma. *Amyloid* 7(4):245–258
19. Jagust WJ, Landau SM, Shaw LM, Trojanowski JQ, Koeppe RA, Reiman EM, Foster NL, Petersen RC, Weiner MW, Price JC, Mathis CA (2009) Relationships between biomarkers in aging and dementia. *Neurology* 73(15):1193–1199. doi:10.1212/WNL.0b013e3181bc010c
20. Landau SM, Harvey D, Madison CM, Reiman EM, Foster NL, Aisen PS, Petersen RC, Shaw LM, Trojanowski JQ, Jack CR Jr, Weiner MW, Jagust WJ (2010) Comparing predictors of conversion and decline in mild cognitive impairment. *Neurology* 75(3):230–238. doi:10.1212/WNL.0b013e3181e8e8b8
21. Shaw LM, Vanderstichele H, Knapiak-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, Blennow K, Soares H, Simon A, Lewczuk P, Dean R, Siemers E, Potter W, Lee VM, Trojanowski JQ (2009) Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol* 65(4):403–413. doi:10.1002/ana.21610
22. Hulstaert F, Blennow K, Ivanou A, Schoonderwaldt HC, Riemenschneider M, De Deyn PP, Bancher C, Cras P, Wiltfang J, Mehta PD, Iqbal K, Pottel H, Vanmechelen E, Vanderstichele H (1999) Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1–42) and tau levels in CSF. *Neurology* 52(8):1555–1562
23. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, Herukka SK, van der Flier WM, Blankenstein MA, Ewers M, Rich K, Kaiser E, Verbeek M, Tsolaki M, Mulugeta E, Rosen E, Aarsland D, Visser PJ, Schroder J, Marcusson J, de Leon M, Hampel H, Scheltens P, Pirtila T, Wallin A, Jonhagen ME, Minthon L, Winblad B, Blennow K (2009) CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 302(4):385–393. doi:10.1001/jama.2009.1064
24. Lee DD, Seung HS (1999) Learning the parts of objects by non-negative matrix factorization. *Nature* 401(6755):788–791. doi:10.1038/44565
25. Salloway S, Sperling R, Fox NC, Blennow K, Klunk W, Raskind M, Sabbagh M, Honig LS, Porsteinsson AP, Ferris S, Reichert M, Ketter N, Nejadnik B, Guenzler V, Miloslavsky M, Wang D, Lu Y, Lull J, Tudor IC, Liu E, Grundman M, Yuen E, Black R, Brashear HR (2014) Two phase 3 trials of bapineuzumab in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 370(4):322–333. doi:10.1056/NEJMoa1304839
26. Beach TG, Monsell SE, Phillips LE, Kukull W (2012) Accuracy of the clinical diagnosis of Alzheimer disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005–2010. *J Neuropathol Exp Neurol* 71(4):266–273. doi:10.1097/NEN.0b013e31824b211b
27. Kovacs GG, Milenkovic I, Wohrer A, Hoftberger R, Gelpi E, Haberler C, Honigschnabl S, Reiner-Concin A, Heinzl H, Jungwirth S, Krampla W, Fischer P, Budka H (2013) Non-Alzheimer neurodegenerative pathologies and their combinations are more frequent than commonly believed in the elderly brain: a community-based autopsy series. *Acta Neuropathol* 126(3):365–384. doi:10.1007/s00401-013-1157-y
28. Rahimi J, Kovacs GG (2014) Prevalence of mixed pathologies in the aging brain. *Alzheimers Res Ther* 6(9):82. doi:10.1186/s13195-014-0082-1
29. Solomon A, Mangialasche F, Richard E, Andrieu S, Bennett DA, Breteler M, Fratiglioni L, Hooshmand B, Khachaturian AS, Schneider LS, Skoog I, Kivipelto M (2014) Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia. *J Intern Med* 275(3):229–250. doi:10.1111/joim.12178
30. Perneczky R, Alexopoulos P, Kurz A (2014) Soluble amyloid precursor proteins and secretases as Alzheimer's disease biomarkers. *Trends Mol Med* 20(1):8–15
31. Guo LH, Alexopoulos P, Wagenpfeil S, Kurz A, Perneczky R (2013) Brain size and the compensation of Alzheimer's disease symptoms: a longitudinal cohort study. *Alzheimers Dement* 9(5):580–586. doi:10.1016/j.jalz.2012.10.002
32. Perneczky R, Alexopoulos P, Schmid G, Sorg C, Forstl H, Diehl-Schmid J, Kurz A (2011) Cognitive reserve and its relevance for the prevention and diagnosis of dementia. *Nervenarzt* 82(3):325–330, 332–335. doi:10.1007/s00115-010-3165-7
33. Alexopoulos P, Kriett L, Haller B, Klupp E, Gray K, Grimmer T, Laskaris N, Forster S, Perneczky R, Kurz A, Drzezga A, Fellgiebel A, Yakushev I (2014) Limited agreement between biomarkers of neuronal injury at different stages of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. doi:10.1016/j.jalz.2014.03.006
34. Souslova T, Marple TC, Spiekerman AM, Mohammad AA (2013) Personalized medicine in Alzheimer's disease and depression. *Contemp Clin Trials* 36(2):616–623. doi:10.1016/j.cct.2013.06.012
35. Escudero J, Ifeachor E, Zajicek JP, Green C, Shearer J, Pearson S (2013) Machine learning-based method for personalized and cost-effective detection of Alzheimer's disease. *IEEE Trans Biomed Eng* 60(1):164–168. doi:10.1109/TBME.2012.2212278
36. Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, Shaw LM, Vemuri P, Wiste HJ, Weigand SD, Lesnick TG, Pankratz VS, Donohue MC, Trojanowski JQ (2013) Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol* 12(2):207–216. doi:10.1016/S1474-4422(12)70291-0
37. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E (2011) Alzheimer's disease. *Lancet* 377(9770):1019–1031. doi:10.1016/S0140-6736(10)61349-9
38. Alexopoulos P, Tsolakidou A, Roselli F, Arnold A, Grimmer T, Westerteicher C, Leante MR, Forstl H, Livrea P, Kurz A, Perneczky R (2012) Clinical and neurobiological correlates of soluble amyloid precursor proteins in the cerebrospinal fluid. *Alzheimers Dement* 8(4):304–311. doi:10.1016/j.jalz.2011.04.009

7. Literaturverzeichnis

Aisen, P.S., Cummings, J., Jack, C.R., Jr., Morris, J.C., Sperling, R., Frolich, L., Jones, R.W., Dowsett, S.A., Matthews, B.R., Raskin, J., Scheltens, P. and Dubois, B. (2017) 'On the path to 2025: understanding the Alzheimer's disease continuum', *Alzheimers Res Ther*, 9(1), 60, available: <http://dx.doi.org/10.1186/s13195-017-0283-5>.

Albert, M.S., DeKosky, S.T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H.H., Fox, N.C., Gamst, A., Holtzman, D.M., Jagust, W.J., Petersen, R.C., Snyder, P.J., Carrillo, M.C., Thies, B. and Phelps, C.H. (2011) 'The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 7(3), 270-9, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.008>.

Alexopoulos, P., Guo, L.H., Jiang, M., Bujo, H., Grimmer, T., Forster, S., Drzezga, A., Kurz, A. and Perneczky, R. (2013) 'Amyloid cascade and tau pathology cerebrospinal fluid markers in mild cognitive impairment with regards to Alzheimer's disease cerebral metabolic signature', *J Alzheimers Dis*, 36(2), 401-8, available: <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-122329>.

Alexopoulos, P., Kriett, L., Haller, B., Klupp, E., Gray, K., Grimmer, T., Laskaris, N., Forster, S., Perneczky, R., Kurz, A., Drzezga, A., Fellgiebel, A., Yakushev, I. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2014) 'Limited agreement between biomarkers of neuronal injury at different stages of Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 10(6), 684-9, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2014.03.006>.

Alexopoulos, P., Roesler, J., Thierjung, N., Werle, L., Buck, D., Yakushev, I., Gleixner, L., Kagerbauer, S., Ortner, M., Grimmer, T., Kubler, H., Martin, J., Laskaris, N., Kurz, A. and Perneczky, R. (2016) 'Mapping CSF biomarker profiles onto NIA-AA guidelines for Alzheimer's disease', *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 266(7), 587-97, available: <http://dx.doi.org/10.1007/s00406-015-0628-7>.

Avgerinos, K.I., Ferrucci, L. and Kapogiannis, D. (2021) 'Effects of monoclonal antibodies against amyloid-beta on clinical and biomarker outcomes and adverse event risks: A systematic review and meta-analysis of phase III RCTs in Alzheimer's disease', *Ageing Res Rev*, 68, 101339, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2021.101339>.

Beach, T.G., Monsell, S.E., Phillips, L.E. and Kukull, W. (2012) 'Accuracy of the clinical diagnosis of Alzheimer disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005-2010', *J Neuropathol Exp Neurol*, 71(4), 266-73, available: <http://dx.doi.org/10.1097/NEN.0b013e31824b211b>.

Bertens, D., Knol, D.L., Scheltens, P., Visser, P.J. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2015) 'Temporal evolution of biomarkers and cognitive markers in the asymptomatic, MCI, and dementia stage of Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 11(5), 511-22, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2014.05.1754>.

Blennow, K., de Leon, M.J. and Zetterberg, H. (2006) 'Alzheimer's disease', *Lancet*, 368(9533), 387-403, available: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69113-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69113-7).

Bocchetta, M., Galluzzi, S., Kehoe, P.G., Aguera, E., Bernabei, R., Bullock, R., Ceccaldi, M., Dartigues, J.F., de Mendonca, A., Didic, M., Eriksdotter, M., Felician, O., Frolich, L., Gertz, H.J., Hallikainen, M., Hasselbalch, S.G., Hausner, L., Heuser, I., Jessen, F., Jones, R.W., Kurz, A., Lawlor, B., Lleo, A., Martinez-Lage, P., Mecocci, P., Mehrabian, S., Monsch, A., Nobili, F., Nordberg, A., Rikkert, M.O., Orgogozo, J.M., Pasquier, F., Peters, O., Salmon, E., Sanchez-Castellano, C., Santana, I., Sarazin, M., Traykov, L., Tsolaki, M., Visser, P.J., Wallin, A.K., Wilcock, G., Wilkinson, D., Wolf, H., Yener, G., Zekry, D. and Frisoni, G.B. (2015) 'The use of biomarkers for the etiologic diagnosis of MCI in Europe: an EADC survey', *Alzheimers Dement*, 11(2), 195-206 e1, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2014.06.006>.

Boyle, P.A., Wilson, R.S., Yu, L., Barr, A.M., Honer, W.G., Schneider, J.A. and Bennett, D.A. (2013) 'Much of late life cognitive decline is not due to common neurodegenerative pathologies', *Ann Neurol*, 74(3), 478-89, available: <http://dx.doi.org/10.1002/ana.23964>.

Brenowitz, W.D., Hubbard, R.A., Keene, C.D., Hawes, S.E., Longstreth, W.T., Jr., Woltjer, R.L. and Kukull, W.A. (2017) 'Mixed neuropathologies and estimated rates of clinical progression in a large autopsy sample', *Alzheimers Dement*, 13(6), 654-662, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2016.09.015>.

Cahill, S. (2020) 'WHO's global action plan on the public health response to dementia: some challenges and opportunities', *Aging Ment Health*, 24(2), 197-199, available: <http://dx.doi.org/10.1080/13607863.2018.1544213>.

Cook, S.E., Miyahara, S., Bacanu, S.A., Perez-Madrinan, G., Lopez, O.L., Kaufer, D.I., Nimgaonkar, V.L., Wisniewski, S.R., DeKosky, S.T. and Sweet, R.A. (2003) 'Psychotic symptoms in Alzheimer disease: evidence for subtypes', *Am J Geriatr Psychiatry*, 11(4), 406-13.

de la Torre, J.C. (2010) 'Basics of Alzheimer's disease prevention', *J Alzheimers Dis*, 20(3), 687-8, available: <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2010-091580>.

Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie und Psychotherapie, P.u.N. (2016) *S3-Leitlinie Demenzen*, available: https://www.dgppn.de/_Resources/Persistent/ade50e44afc7eb8024e7f65ed3f44e995583c3a0/S3-LL-Demenzen-240116.pdf [accessed

Drechsel, D.N., Hyman, A.A., Cobb, M.H. and Kirschner, M.W. (1992) 'Modulation of the dynamic instability of tubulin assembly by the microtubule-associated protein tau', *Mol Biol Cell*, 3(10), 1141-54, available: <http://dx.doi.org/10.1091/mbc.3.10.1141>.

Dubois, B., Feldman, H.H., Jacova, C., Hampel, H., Molinuevo, J.L., Blennow, K., DeKosky, S.T., Gauthier, S., Selkoe, D., Bateman, R., Cappa, S., Crutch, S., Engelborghs, S., Frisoni, G.B., Fox, N.C., Galasko, D., Habert, M.O., Jicha, G.A., Nordberg, A., Pasquier,

F., Rabinovici, G., Robert, P., Rowe, C., Salloway, S., Sarazin, M., Epelbaum, S., de Souza, L.C., Vellas, B., Visser, P.J., Schneider, L., Stern, Y., Scheltens, P. and Cummings, J.L. (2014) 'Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria', *Lancet Neurol*, 13(6), 614-29, available: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70090-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70090-0).

e.V., A.F.I. *Neuer Alzheimer-Wirkstoff Aducanumab: Der aktuelle Stand*, available: <https://www.alzheimer-forschung.de/forschung/aktuell/aducanumab/> [accessed

Escudero, J., Ifeachor, E., Zajicek, J.P., Green, C., Shearer, J., Pearson, S. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2013) 'Machine learning-based method for personalized and cost-effective detection of Alzheimer's disease', *IEEE Trans Biomed Eng*, 60(1), 164-8, available: <http://dx.doi.org/10.1109/TBME.2012.2212278>.

Fagan, T., Kagan, B., Corbin, D., Hwang, W., Glabe, C., Nault, L., Lal, R., Teplow, D., Albeni, B. and Sokolov, Y. (2006) 'Alzheimer Research Forum Live Discussion: Now you see them, now you don't: The amyloid channel hypothesis', *J Alzheimers Dis*, 9(2), 219-24, available: <http://dx.doi.org/10.3233/jad-2006-9213>.

Fleiss JL, L.B., Paik MC (2003) *Statistical methods for rates and proportions*, 3rd edition ed., Hoboken.

Förstl, Hans (2017) *Demenzen*.3.Auflage, Stuttgart:Thieme.

Gendreau, K.L. and Hall, G.F. (2013) 'Tangles, Toxicity, and Tau Secretion in AD - New Approaches to a Vexing Problem', *Front Neurol*, 4, 160, available: <http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2013.00160>.

Gendron, T.F. and Petrucelli, L. (2009) 'The role of tau in neurodegeneration', *Mol Neurodegener*, 4, 13, available: <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1326-4-13>.

Deutsche Alzheimer Gesellschaft (2023), URL: <https://www.deutsche-alzheimer.de/demenz-wissen/die-alzheimer-krankheit>.

Golde, T.E., Schneider, L.S. and Koo, E.H. (2011) 'Anti- β therapeutics in Alzheimer's disease: the need for a paradigm shift', *Neuron*, 69(2), 203-13, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2011.01.002>.

Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Tung, Y.C., Quinlan, M., Wisniewski, H.M. and Binder, L.I. (1986) 'Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (τ) in Alzheimer cytoskeletal pathology', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83(13), 4913-7, available: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.83.13.4913>.

Guo, L.H., Alexopoulos, P., Eisele, T., Wagenpfeil, S., Kurz, A. and Perneczky, R. (2013a) 'The National Institute on Aging-Alzheimer's Association research criteria for mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: predicting the outcome', *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 263(4), 325-33, available: <http://dx.doi.org/10.1007/s00406-012-0349-0>.

Guo, L.H., Alexopoulos, P., Wagenpfeil, S., Kurz, A., Perneczky, R. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2013b) 'Brain size and the compensation of Alzheimer's disease symptoms: a longitudinal cohort study', *Alzheimers Dement*, 9(5), 580-6, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2012.10.002>.

Hall, B., Mak, E., Cervenka, S., Aigbirhio, F.I., Rowe, J.B. and O'Brien, J.T. (2017) 'In vivo tau PET imaging in dementia: Pathophysiology, radiotracer quantification, and a systematic review of clinical findings', *Ageing Res Rev*, 36, 50-63, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2017.03.002>.

Hardy, J. and Selkoe, D.J. (2002) 'The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics', *Science*, 297(5580), 353-6, available: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1072994>.

Herukka, S.K., Simonsen, A.H., Andreasen, N., Baldeiras, I., Bjerke, M., Blennow, K., Engelborghs, S., Frisoni, G.B., Gabryelewicz, T., Galluzzi, S., Handels, R., Kramberger, M.G., Kulczynska, A., Molinuevo, J.L., Mroczko, B., Nordberg, A., Oliveira, C.R., Otto, M., Rinne, J.O., Rot, U., Saka, E., Soininen, H., Struyfs, H., Suardi, S., Visser, P.J., Winblad, B., Zetterberg, H. and Waldemar, G. (2017) 'Recommendations for cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarkers in the diagnostic evaluation of mild cognitive impairment', *Alzheimers Dement*, 13(3), 285-295, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2016.09.009>.

Hughes, D., Judge, C., Murphy, R., Loughlin, E., Costello, M., Whiteley, W., Bosch, J., O'Donnell, M.J. and Canavan, M. (2020) 'Association of Blood Pressure Lowering With Incident Dementia or Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-analysis', *JAMA*, 323(19), 1934-1944, available: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2020.4249>.

Hulstaert, F., Blennow, K., Ivanoiu, A., Schoonderwaldt, H.C., Riemenschneider, M., De Deyn, P.P., Bancher, C., Cras, P., Wiltfang, J., Mehta, P.D., Iqbal, K., Pottel, H., Vanmechelen, E. and Vanderstichele, H. (1999) 'Improved discrimination of AD patients using beta-amyloid(1-42) and tau levels in CSF', *Neurology*, 52(8), 1555-62, available: <http://dx.doi.org/10.1212/wnl.52.8.1555>.

Iturria-Medina, Y., Carbonell, F.M., Sotero, R.C., Chouinard-Decorte, F., Evans, A.C. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2017) 'Multifactorial causal model of brain (dis)organization and therapeutic intervention: Application to Alzheimer's disease', *Neuroimage*, 152, 60-77, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.02.058>.

Jack, C.R., Jr., Knopman, D.S., Jagust, W.J., Petersen, R.C., Weiner, M.W., Aisen, P.S., Shaw, L.M., Vemuri, P., Wiste, H.J., Weigand, S.D., Lesnick, T.G., Pankratz, V.S., Donohue, M.C. and Trojanowski, J.Q. (2013) 'Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers', *Lancet Neurol*, 12(2), 207-16, available: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70291-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70291-0).

Jack, C.R., Jr., Knopman, D.S., Weigand, S.D., Wiste, H.J., Vemuri, P., Lowe, V., Kantarci, K., Gunter, J.L., Senjem, M.L., Ivnik, R.J., Roberts, R.O., Rocca, W.A., Boeve, B.F. and Petersen, R.C. (2012) 'An operational approach to National Institute on Aging-Alzheimer's Association criteria for preclinical Alzheimer disease', *Ann Neurol*, 71(6), 765-75, available: <http://dx.doi.org/10.1002/ana.22628>.

Jack, C.R., Jr., Wiste, H.J., Weigand, S.D., Rocca, W.A., Knopman, D.S., Mielke, M.M., Lowe, V.J., Senjem, M.L., Gunter, J.L., Preboske, G.M., Pankratz, V.S., Vemuri, P. and Petersen, R.C. (2014) 'Age-specific population frequencies of cerebral beta-amyloidosis and neurodegeneration among people with normal cognitive function aged 50-89 years: a cross-sectional study', *Lancet Neurol*, 13(10), 997-1005, available: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70194-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70194-2).

Jagust, W.J., Landau, S.M., Shaw, L.M., Trojanowski, J.Q., Koeppe, R.A., Reiman, E.M., Foster, N.L., Petersen, R.C., Weiner, M.W., Price, J.C., Mathis, C.A. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2009a) 'Relationships between biomarkers in aging and dementia', *Neurology*, 73(15), 1193-9, available: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181bc010c>.

Jagust, W.J., Landau, S.M., Shaw, L.M., Trojanowski, J.Q., Koeppe, R.A., Reiman, E.M., Foster, N.L., Petersen, R.C., Weiner, M.W., Price, J.C., Mathis, C.A. and Initiative, F.t.A.s.D.N. (2009b) 'Relationships between biomarkers in aging and dementia', *Neurology*, 73(15), 1193-1199, available: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181bc010c>.

Kim, S., Swaminathan, S., Shen, L., Risacher, S.L., Nho, K., Foroud, T., Shaw, L.M., Trojanowski, J.Q., Potkin, S.G., Huentelman, M.J., Craig, D.W., DeChairo, B.M., Aisen, P.S., Petersen, R.C., Weiner, M.W. and Saykin, A.J. (2011) 'Genome-wide association study of CSF biomarkers $A\beta_{1-42}$, t-tau, and p-tau_{181p} in the ADNI cohort', *Neurology*, 76(1), 69-79, available: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e318204a397>.

Korczyn, A.D. (2013) 'Is Alzheimer's disease a homogeneous disease entity?', *J Neural Transm (Vienna)*, 120(10), 1475-7, available: <http://dx.doi.org/10.1007/s00702-013-1060-7>.

Kueper, J.K., Speechley, M. and Montero-Odasso, M. (2018) 'The Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive Subscale (ADAS-Cog): Modifications and Responsiveness in Pre-Dementia Populations. A Narrative Review', *J Alzheimers Dis*, 63(2), 423-444, available: <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-170991>.

Kukull, W.A., Brenner, D.E., Speck, C.E., Nochlin, D., Bowen, J., McCormick, W., Teri, L., Pfanschmidt, M.L. and Larson, E.B. (1994) 'Causes of death associated with Alzheimer disease: variation by level of cognitive impairment before death', *J Am Geriatr Soc*, 42(7), 723-6, available: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-5415.1994.tb06531.x>.

Landau, S.M., Harvey, D., Madison, C.M., Reiman, E.M., Foster, N.L., Aisen, P.S., Petersen, R.C., Shaw, L.M., Trojanowski, J.Q., Jack, C.R., Weiner, M.W., Jagust, W.J. and

Initiative, O.b.o.t.A.s.D.N. (2010) 'Comparing predictors of conversion and decline in mild cognitive impairment', *Neurology*, 75(3), 230-238, available: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181e8e8b8>.

Landau, S.M., Lu, M., Joshi, A.D., Pontecorvo, M., Mintun, M.A., Trojanowski, J.Q., Shaw, L.M., Jagust, W.J. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2013) 'Comparing positron emission tomography imaging and cerebrospinal fluid measurements of beta-amyloid', *Ann Neurol*, 74(6), 826-36, available: <http://dx.doi.org/10.1002/ana.23908>.

Lehmann, S., Dumurgier, J., Schraen, S., Wallon, D., Blanc, F., Magnin, E., Bombois, S., Bousiges, O., Campion, D., Cretin, B., Delaby, C., Hannequin, D., Jung, B., Hugon, J., Laplanche, J.L., Miguët-Alfonsi, C., Peoc'h, K., Philippi, N., Quillard-Muraine, M., Sablonniere, B., Touchon, J., Vercurysse, O., Paquet, C., Pasquier, F. and Gabelle, A. (2014) 'A diagnostic scale for Alzheimer's disease based on cerebrospinal fluid biomarker profiles', *Alzheimers Res Ther*, 6(3), 38, available: <http://dx.doi.org/10.1186/alzrt267>.

Leuzy, A., Carter, S.F., Chiotis, K., Almkvist, O., Wall, A. and Nordberg, A. (2015) 'Concordance and Diagnostic Accuracy of [11C]PIB PET and Cerebrospinal Fluid Biomarkers in a Sample of Patients with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease', *J Alzheimers Dis*, 45(4), 1077-88, available: <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-142952>.

Lowe, V.J., Peller, P.J., Weigand, S.D., Montoya Quintero, C., Tosakulwong, N., Vemuri, P., Senjem, M.L., Jordan, L., Jack, C.R., Jr., Knopman, D. and Petersen, R.C. (2013) 'Application of the National Institute on Aging-Alzheimer's Association AD criteria to ADNI', *Neurology*, 80(23), 2130-7, available: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e318295d6cf>.

Mattsson, N., Zetterberg, H., Hansson, O., Andreasen, N., Parnetti, L., Jonsson, M., Herukka, S.-K., van der Flier, W.M., Blankenstein, M.A., Ewers, M., Rich, K., Kaiser, E., Verbeek, M., Tsolaki, M., Mulugeta, E., Rosén, E., Aarsland, D., Visser, P.J., Schröder, J., Marcusson, J., de Leon, M., Hampel, H., Scheltens, P., Pirttilä, T., Wallin, A., Jönhagen, M.E., Minthon, L., Winblad, B. and Blennow, K. (2009) 'CSF Biomarkers and Incipient Alzheimer Disease in Patients With Mild Cognitive Impairment', *JAMA*, 302(4), 385-393, available: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.1064>.

McDade, E. and Bateman, R.J. (2017) 'Stop Alzheimer's before it starts', *Nature*, 547(7662), 153-155, available: <http://dx.doi.org/10.1038/547153a>.

McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D. and Stadlan, E.M. (1984) 'Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease', *Neurology*, 34(7), 939-44, available: <http://dx.doi.org/10.1212/wnl.34.7.939>.

McKhann, G.M. (2011) 'Changing concepts of Alzheimer disease', *JAMA*, 305(23), 2458-9, available: <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2011.810>.

McKhann, G.M., Knopman, D.S., Chertkow, H., Hyman, B.T., Jack, C.R., Jr., Kawas, C.H., Klunk, W.E., Koroshetz, W.J., Manly, J.J., Mayeux, R., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rossor, M.N., Scheltens, P., Carrillo, M.C., Thies, B., Weintraub, S. and Phelps, C.H. (2011) 'The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 7(3), 263-9, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>.

Molinuevo, J.L., Blennow, K., Dubois, B., Engelborghs, S., Lewczuk, P., Perret-Liaudet, A., Teunissen, C.E. and Parnetti, L. (2014) 'The clinical use of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative', *Alzheimers Dement*, 10(6), 808-17, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2014.03.003>.

Morris, J.C. (1993) 'The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules', *Neurology*, 43(11), 2412-4, available: <http://dx.doi.org/10.1212/wnl.43.11.2412-a>.

Perneckzy, R., Alexopoulos, P. and Kurz, A. (2014) 'Soluble amyloid precursor proteins and secretases as Alzheimer's disease biomarkers', *Trends Mol Med*, 20(1), 8-15, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2013.10.001>.

Perneckzy, R., Alexopoulos, P., Schmid, G., Sorg, C., Forstl, H., Diehl-Schmid, J. and Kurz, A. (2011) '[Cognitive reserve and its relevance for the prevention and diagnosis of dementia]', *Nervenarzt*, 82(3), 325-30, 332-35, available: <http://dx.doi.org/10.1007/s00115-010-3165-7>.

Perneckzy, R., Guo, L.H., Kagerbauer, S.M., Werle, L., Kurz, A., Martin, J. and Alexopoulos, P. (2013) 'Soluble amyloid precursor protein beta as blood-based biomarker of Alzheimer's disease', *Transl Psychiatry*, 3, e227, available: <http://dx.doi.org/10.1038/tp.2013.11>.

Persson, T., Lattanzio, F., Calvo-Garrido, J., Rimondini, R., Rubio-Rodrigo, M., Sundstrom, E., Maioli, S., Sandebring-Matton, A. and Cedazo-Minguez, A. (2017) 'Apolipoprotein E4 Elicits Lysosomal Cathepsin D Release, Decreased Thioredoxin-1 Levels, and Apoptosis', *J Alzheimers Dis*, 56(2), 601-617, available: <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-150738>.

Petersen, R.C., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Donohue, M.C., Gamst, A.C., Harvey, D.J., Jack, C.R., Jagust, W.J., Shaw, L.M., Toga, A.W., Trojanowski, J.Q. and Weiner, M.W. (2010) 'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)', *Clinical characterization*, 74(3), 201-209, available: <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181cb3e25>.

Reitz, C. (2016) 'Toward precision medicine in Alzheimer's disease', *Ann Transl Med*, 4(6), 107, available: <http://dx.doi.org/10.21037/atm.2016.03.05>.

Rosenmann, H. (2012) 'CSF biomarkers for amyloid and tau pathology in Alzheimer's disease', *J Mol Neurosci*, 47(1), 1-14, available: <http://dx.doi.org/10.1007/s12031-011-9665-5>.

Ruan, D. and Sun, L. (2023) 'Amyloid-beta PET in Alzheimer's disease: A systematic review and Bayesian meta-analysis', *Brain Behav*, 13(1), e2850, available: <http://dx.doi.org/10.1002/brb3.2850>.

Rubin, E.H., Morris, J.C., Grant, E.A. and Vendegna, T. (1989) 'Very mild senile dementia of the Alzheimer type. I. Clinical assessment', *Arch Neurol*, 46(4), 379-82, available: <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.1989.00520400033016>.

Salloway, S., Sperling, R., Fox, N.C., Blennow, K., Klunk, W., Raskind, M., Sabbagh, M., Honig, L.S., Porsteinsson, A.P., Ferris, S., Reichert, M., Ketter, N., Nejadnik, B., Guenzler, V., Miloslavsky, M., Wang, D., Lu, Y., Lull, J., Tudor, I.C., Liu, E., Grundman, M., Yuen, E., Black, R., Brashear, H.R., Bapineuzumab and Clinical Trial, I. (2014) 'Two phase 3 trials of bapineuzumab in mild-to-moderate Alzheimer's disease', *N Engl J Med*, 370(4), 322-33, available: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1304839>.

Saykin, A.J., Shen, L., Foroud, T.M., Potkin, S.G., Swaminathan, S., Kim, S., Risacher, S.L., Nho, K., Huentelman, M.J., Craig, D.W., Thompson, P.M., Stein, J.L., Moore, J.H., Farrer, L.A., Green, R.C., Bertram, L., Jack, C.R., Jr., Weiner, M.W. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2010) 'Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative biomarkers as quantitative phenotypes: Genetics core aims, progress, and plans', *Alzheimers Dement*, 6(3), 265-73, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2010.03.013>.

Scheltens, N.M.E., Kuyper, I.S., Boellaard, R., Barkhof, F., Teunissen, C.E., Broersen, L.M., Lansbergen, M.M., van der Flier, W.M., van Berckel, B.N.M. and Scheltens, P. (2016) 'Design of the NL-ENIGMA study: Exploring the effect of Souvenaid on cerebral glucose metabolism in early Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement (N Y)*, 2(4), 233-240, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trci.2016.07.004>.

Schjonning Nielsen, M., Simonsen, A.H., Siersma, V., Hasselbalch, S.G. and Høgh, P. (2016) 'Are CSF Biomarkers Useful as Prognostic Indicators in Diagnostically Unresolved Cognitively Impaired Patients in a Normal Clinical Setting', *Dement Geriatr Cogn Dis Extra*, 6(3), 465-476, available: <http://dx.doi.org/10.1159/000449410>.

Shaw, L.M., Vanderstichele, H., Knapik-Czajka, M., Clark, C.M., Aisen, P.S., Petersen, R.C., Blennow, K., Soares, H., Simon, A., Lewczuk, P., Dean, R., Siemers, E., Potter, W., Lee, V.M., Trojanowski, J.Q. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2009) 'Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects', *Ann Neurol*, 65(4), 403-13, available: <http://dx.doi.org/10.1002/ana.21610>.

Simonsen, A.H., Herukka, S.K., Andreasen, N., Baldeiras, I., Bjerke, M., Blennow, K., Engelborghs, S., Frisoni, G.B., Gabryelewicz, T., Galluzzi, S., Handels, R., Kramberger, M.G., Kulczynska, A., Molinuevo, J.L., Mroczko, B., Nordberg, A., Oliveira, C.R., Otto, M., Rinne, J.O., Rot, U., Saka, E., Soininen, H., Struyfs, H., Suardi, S., Visser, P.J., Winblad, B., Zetterberg, H. and Waldemar, G. (2017) 'Recommendations for CSF AD

biomarkers in the diagnostic evaluation of dementia', *Alzheimers Dement*, 13(3), 274-284, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2016.09.008>.

Skillback, T., Farahmand, B.Y., Rosen, C., Mattsson, N., Nagga, K., Kilander, L., Religa, D., Wimo, A., Winblad, B., Schott, J.M., Blennow, K., Eriksdotter, M. and Zetterberg, H. (2015) 'Cerebrospinal fluid tau and amyloid-beta1-42 in patients with dementia', *Brain*, 138(Pt 9), 2716-31, available: <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awv181>.

Solomon, A., Mangialasche, F., Richard, E., Andrieu, S., Bennett, D.A., Breteler, M., Fratiglioni, L., Hooshmand, B., Khachaturian, A.S., Schneider, L.S., Skoog, I. and Kivipelto, M. (2014) 'Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia', *J Intern Med*, 275(3), 229-50, available: <http://dx.doi.org/10.1111/joim.12178>.

Souslova, T., Marple, T.C., Spiekerman, A.M. and Mohammad, A.A. (2013) 'Personalized medicine in Alzheimer's disease and depression', *Contemp Clin Trials*, 36(2), 616-23, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cct.2013.06.012>.

Sperling, R.A., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Bennett, D.A., Craft, S., Fagan, A.M., Iwatsubo, T., Jack, C.R., Jr., Kaye, J., Montine, T.J., Park, D.C., Reiman, E.M., Rowe, C.C., Siemers, E., Stern, Y., Yaffe, K., Carrillo, M.C., Thies, B., Morrison-Bogorad, M., Wagster, M.V. and Phelps, C.H. (2011) 'Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 7(3), 280-92, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.003>.

Székely, G.J., Rizzo, M.L. and Bakirov, N.K. (2007) 'Measuring and testing dependence by correlation of distances', *The Annals of Statistics*, 35(6), 2769-2794, 26.

Thijssen, E.H., La Joie, R., Strom, A., Fonseca, C., Iaccarino, L., Wolf, A., Spina, S., Allen, I.E., Cobigo, Y., Heuer, H., VandeVrede, L., Proctor, N.K., Lago, A.L., Baker, S., Sivasankaran, R., Kieloch, A., Kinhikar, A., Yu, L., Valentin, M.A., Jeromin, A., Zetterberg, H., Hansson, O., Mattsson-Carlsson, N., Graham, D., Blennow, K., Kramer, J.H., Grinberg, L.T., Seeley, W.W., Rosen, H., Boeve, B.F., Miller, B.L., Teunissen, C.E., Rabinovici, G.D., Rojas, J.C., Dage, J.L., Boxer, A.L., Advancing, R. and Treatment for Frontotemporal Lobar Degeneration, i. (2021) 'Plasma phosphorylated tau 217 and phosphorylated tau 181 as biomarkers in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration: a retrospective diagnostic performance study', *Lancet Neurol*, 20(9), 739-752, available: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00214-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00214-3).

van Dyck, C.H., Swanson, C.J., Aisen, P., Bateman, R.J., Chen, C., Gee, M., Kanekiyo, M., Li, D., Reyderman, L., Cohen, S., Froelich, L., Katayama, S., Sabbagh, M., Vellas, B., Watson, D., Dhadda, S., Irizarry, M., Kramer, L.D. and Iwatsubo, T. (2023) 'Lecanemab in Early Alzheimer's Disease', *N Engl J Med*, 388(1), 9-21, available: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2212948>.

Vandermeeren, M., Mercken, M., Vanmechelen, E., Six, J., van de Voorde, A., Martin, J.J. and Cras, P. (1993) 'Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay', *J*

Neurochem, 61(5), 1828-34, available: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb09823.x>.

Vanderstichele, H., Van Kerschaver, E., Hesse, C., Davidsson, P., Buyse, M.A., Andreasen, N., Minthon, L., Wallin, A., Blennow, K. and Vanmechelen, E. (2000) 'Standardization of measurement of beta-amyloid(1-42) in cerebrospinal fluid and plasma', *Amyloid*, 7(4), 245-58, available: <http://dx.doi.org/10.3109/13506120009146438>.

Villemagne, V.L., Burnham, S., Bourgeat, P., Brown, B., Ellis, K.A., Salvado, O., Szoek, C., Macaulay, S.L., Martins, R., Maruff, P., Ames, D., Rowe, C.C., Masters, C.L., Australian Imaging, B. and Lifestyle Research, G. (2013) 'Amyloid beta deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study', *Lancet Neurol*, 12(4), 357-67, available: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70044-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70044-9).

Vos, S.J., Verhey, F., Frolich, L., Kornhuber, J., Wiltfang, J., Maier, W., Peters, O., Ruther, E., Nobili, F., Morbelli, S., Frisoni, G.B., Drzezga, A., Didic, M., van Berckel, B.N., Simmons, A., Soininen, H., Kloszewska, I., Mecocci, P., Tsolaki, M., Vellas, B., Lovestone, S., Muscio, C., Herukka, S.K., Salmon, E., Bastin, C., Wallin, A., Nordlund, A., de Mendonca, A., Silva, D., Santana, I., Lemos, R., Engelborghs, S., Van der Mussele, S., Alzheimer's Disease Neuroimaging, I., Freund-Levi, Y., Wallin, A.K., Hampel, H., van der Flier, W., Scheltens, P. and Visser, P.J. (2015) 'Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage', *Brain*, 138(Pt 5), 1327-38, available: <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awv029>.

Wallin, A.K., Blennow, K., Andreasen, N. and Minthon, L. (2006) 'CSF biomarkers for Alzheimer's Disease: levels of beta-amyloid, tau, phosphorylated tau relate to clinical symptoms and survival', *Dement Geriatr Cogn Disord*, 21(3), 131-8, available: <http://dx.doi.org/10.1159/000090631>.

Weiner, M.W., Veitch, D.P., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Cairns, N.J., Green, R.C., Harvey, D., Jack, C.R., Jr., Jagust, W., Morris, J.C., Petersen, R.C., Saykin, A.J., Shaw, L.M., Toga, A.W., Trojanowski, J.Q. and Alzheimer's Disease Neuroimaging, I. (2017) 'Recent publications from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: Reviewing progress toward improved AD clinical trials', *Alzheimers Dement*, 13(4), e1-e85, available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2016.11.007>.

Wenham, P.R., Price, W.H. and Blandell, G. (1991) 'Apolipoprotein E genotyping by one-stage PCR', *Lancet*, 337(8750), 1158-9, available: [http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)92823-k](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(91)92823-k).

WHO (2022) *Dementia*, available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia> [accessed

Wimo, A., Guerchet, M., Ali, G.C., Wu, Y.T., Prina, A.M., Winblad, B., Jonsson, L., Liu, Z. and Prince, M. (2017) 'The worldwide costs of dementia 2015 and comparisons with

2010', *Alzheimers Dement*, 13(1), 1-7, available:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2016.07.150>.

Woloshin, S. and Kesselheim, A.S. (2022) 'What to Know About the Alzheimer Drug Aducanumab (Aduhelm)', *JAMA Intern Med*, 182(8), 892, available:
<http://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2022.1039>.

Yakushev, I., Muller, M.J., Buchholz, H.G., Lang, U., Rossmann, H., Hampel, H., Schreckenberger, M. and Fellgiebel, A. (2012) 'Stage-dependent agreement between cerebrospinal fluid proteins and FDG-PET findings in Alzheimer's disease', *Curr Alzheimer Res*, 9(2), 241-7, available:
<http://dx.doi.org/10.2174/156720512799361592>.

Yamazaki, Y., Painter, M.M., Bu, G. and Kanekiyo, T. (2016) 'Apolipoprotein E as a Therapeutic Target in Alzheimer's Disease: A Review of Basic Research and Clinical Evidence', *CNS Drugs*, 30(9), 773-89, available: <http://dx.doi.org/10.1007/s40263-016-0361-4>.

Zhao, N., Liu, C.C., Qiao, W. and Bu, G. (2018) 'Apolipoprotein E, Receptors, and Modulation of Alzheimer's Disease', *Biol Psychiatry*, 83(4), 347-357, available:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.03.003>.

Zivelin, A., Rosenberg, N., Peretz, H., Amit, Y., Kornbrot, N. and Seligsohn, U. (1997) 'Improved method for genotyping apolipoprotein E polymorphisms by a PCR-based assay simultaneously utilizing two distinct restriction enzymes', *Clin Chem*, 43(9), 1657-9.

8. Verzeichnis der Abkürzungen

18F-FDG-PET	18Fluor-Fluordesoxyglucose-Positronenemmissionstomographie
99mTc HMPAO-SPECT	Technetium-99m hexamethyl propylenamine oxime – single photon emission computed tomography
ACE-III	Addenbrooke's Cognitive Examination
AD	Alzheimer Demenz
ADAS cog	Alzheimer's Disease Assessment Scale – Cognitive subscale
ADNI	Alzheimer Dementia Neuroimaging Initiative
AK	Alzheimer Krankheit
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid Precursor Protein
A β	Amyloid-Beta
A β 42	Amyloid-Beta42
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimers Disease
CSF	Cerebrospinalflüssigkeit
CT	Computertomographie

DCA	Distanzkorrelationsanalyse
DemTect	Demenz-Detektions-Test
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMA	European Medicines Agency
ICD-10	International Classification of Diseases 10th Revision
IWG	International Working Group
LKB	Leichte kognitive Beeinträchtigung
MCI	Mild Cognitive Impairment
MMST	Mini Mental Status Test
MoCA	Montreal Cognitive Assessment Test
MRT	Magnetresonanztomographie
MUC	Kohorte TU München
NIA-AA	National Institute of Aging and Alzheimer's Disease
NINCDS-ADRDA	National Institute of Neurological and Communicative Disorders Association und Stroke/Alzheimer Dementia and Related Disorders Association
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NNMF	nichtnegativer Matrixfaktorisierung
PET	Positronenemissionstomographie
PML	Skala Paris-Nord, Lille, Montpellier
pTau bzw. pTau-181	phosphoryliertes Tau
SD	Standardabweichung
SNAP	non-suspected AD-pathophysiology
TUM	Technische Universität München
ZNS	Zentrales Nervensystem

9. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildung 1: links extrazelluläre Amyloidplaques, rechts intrazelluläre Neurofibrillen

Abbildung 2: Schematische Abbildung der physiologischen und der pathologischen Spaltung von APP

Abbildung 3: Verdichtete Darstellung in Form eines 2D-Streudiagramms des monozentrischen (MUC) und multizentrischen (ADNI) Datensatzes (oberes bzw. unteres Feld).

Tabelle 1: Demenzkriterien der AD mit Berücksichtigung von Biomarkern

Tabelle 2: Positiv-Grenzwerte der beiden Kohorten TUM und ADNI in ng/l. Alle anderen Biomarkerwerte wurden als negativ angesehen.

Tabelle 3: Grenzwerte der Trichotomisierungsstrategie in der TUM-Kohorte in ng/l.

Tabelle 4: Grenzwerte der Trichotomisierungsstrategie in der ADNI-Kohorte in ng/l.

Tabelle 5: Studienstichprobe und Grad der Zusammenhang der Biomarker

Tabelle 6: Grad der Übereinstimmung der Biomarker nach Dichotomisierung und Trichotomisierung der Biomarkerwerte

10. Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater PD Dr. med. Panos Alexopoulos für die Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung und Hilfsbereitschaft bei aufkommenden Fragen über Landesgrenzen hinaus.

Danken möchte ich auch Prof. Förstl für die Möglichkeit der wissenschaftlichen Tätigkeit am Institut für Psychiatrie und Psychotherapie, sowie dem verstorbenen Herrn Prof. Alexander Kurz für die Unterstützung bei der Patientenrekrutierung in der Gedächtnisambulanz der TU München.

Frau Tamara Eisele gehört ein großer Dank für die geduldige und freundliche Einarbeitung im Labor für neurochemische Demenzdiagnostik, die Hilfe bei den Analysen und die angenehme Arbeitsatmosphäre.

Meinen Freunden und insbesondere Kilian Eisele möchte ich danken. Die vielen Gespräche und unablässige Unterstützung waren mir ein großer Ansporn.

Ein herzlicher Dank geht auch an meine Schwester Stefanie Rösler, die mit ihrer Erfahrung stets ein wichtiger Ansprechpartner war.

Vor allem möchte ich meinen Eltern danken, die mich so sehr unterstützt haben. Mein Vater Joachim Rösler vor allem bei dieser Arbeit, als auch meine Mutter Ana-Marie Rösler, die mich bei jedem Schritt in jeder Lebensphase vor ihrem Tod unterstützt hat, sodass Ihnen beiden der größte Dank gebührt.