

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

UAB

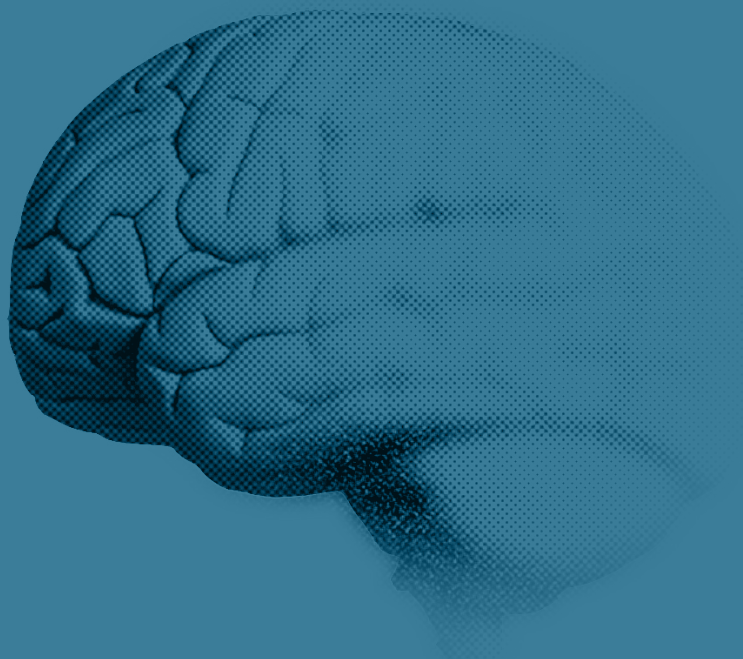
Universitat Autònoma
de Barcelona

Programa de Doctorat en Medicina
Departament de Medicina

TESI DOCTORAL

Aplicabilitat clínica de nous biomarcadors de la malaltia d'Alzheimer i de biomarcadors vasculars en fluids en el deteriorament cognitiu

Millora del diagnòstic i de la determinació del pronòstic:
cap a una medicina personalitzada



Autor

Albert Puig Pijoan

Directors

Rafael de la Torre Fornell
Ángel Javier Ois Santiago

Tutor

Joan Martí Fàbregas

TESI DOCTORAL

**Aplicabilitat clínica de nous biomarcadors de la malaltia d'Alzheimer i de
biomarcadors vasculars en fluids en el deteriorament cognitiu**

Millora del diagnòstic i de la determinació del pronòstic:
cap a una medicina personalitzada

Autor

Albert Puig Pijoan

Directors

Rafael de la Torre Fornell

Ángel Javier Ois Santiago

Tutor

Joan Martí Fàbregas

Programa de Doctorat en Medicina

Departament de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2024

Agraïments

Vull dedicar aquesta tesi a tots els qui heu estat presents i m'heu acompanyat en aquest procés.

Als directors, el Rafa i l'Àngel. Rafa, gràcies pel teu mestratge i "*savoir-faire*", per convidar-me ja fa anys a la cuina de grans projectes i apropar-me a una visió a una altre esfera. Àngel, gràcies per tots aquests anys de guia, des de la clínica, el treball en equip, la recerca... i sobretot pel bon humor i l'optimisme impertorbable! És un privilegi treballar amb vosaltres!

Al Jaume Roquer, per donar-me la confiança, les eines i la guia en un camí apassionant. La teva visió privilegiada, el teu exemple en la direcció, la gestió i en el tracte m'acompanyaran sempre.

Als meus companys del servei de neurologia, amb qui és un plaer treballar cada dia. Gràcies Ana, Eva, Elvira, Elisa, Elena, Jordi, Mich, Bernat, Mireia, Joan, Isabel, Jose, Noe, Dani, Luisa, Laura, Ale, Carmen, Rodrigo, Isa, Adri, Toni, Ion, Alba, Aurelio.. i per descomptat a tots els resis d'ara i els últims anys!

Al Jordi Peña, que em va obrir les portes al món del deteriorament cognitiu i la recerca, ahora que la confiança per "seguir fent via". Un privilegi haver-me iniciat amb un dels mestres de la neuropsicologia. També gràcies a tu Neus!

Al Joan Martí, pel cop de mà en la selva burocràtica.

Als companys de la Unitat, amb qui hem iniciat un gran viatge. Gràcies Aida, Irene, Greta, Víctor, Rosa Maria, José, Isabel, Gemma, Leidy, Oriol i Marc. En especial gràcies als que hi van ser des de els principis del "nou tinglado" (Víctor,

Greta, Núria, RMaria) i a l'Aida, sense qui tot això no hagués estat possible (hem passat de la canoa inicial a un bon veler!). Al Marc, per donar un gran impuls i energia a tot el projecte pensant en gran i al Pablo per creure-hi i estimular-nos!

A la meva coerre Alejandra, que sempre hi és.

A la gent de l'IMIM i en especial a l'equip del PENSA (Natàlia, Laura, Iris, Anna, Aida, Maria, Thais, Neus, Eva... gràcies a tots!).

A l'Elena, la Ire (again), l'Antia, la Laura, l'Ana, el Pablo, la Núria, la Carla i la Maria, els Migueles i el Lluís, perquè la residència hagués estat molt diferent sense vosaltres. També al grupet d'impresentables que em vaig trobar per l'hospital i ja no m'han deixat en pau (gràcies David, Mar, Dani, Dani, Nacho, Pablo, Guille). Andrea, gràcies a tu també.

Al Quim, la Berta, el Pep, la Núria, el Cesc, la Marta, l'Albert, l'Anna, la Diana, l'Agnès, el David, el Lluís, la Mar, el Mati, el Santi i el Luís. I clar, també als amics no metges, que em traieu de la bombolla (gràcies Sergi, Marcos, Eli...).

A la Laura per acompanyar-me en aquesta travessa.

A la meva mare, al meu germà, la Núria, l'Aran i el Gael. A la família Pijoan, a la família Puig.

A la Laura i al papa.

Gràcies a tots!!

Abreviatures

AAC	Angiopatia amiloidea cerebral
AD	<i>Alzheimer's disease</i>
AIREN	<i>Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences</i>
AP	Afàsia progressiva
APP	Afàsia progressiva primària
AUC	<i>Area under de curve</i>
BDtau	Proteïna tau derivada del cervell (en anglès " <i>Brain-derived tau</i> ")
BHE	Barrera hematoencefàlica
CD	<i>Cognitive decline</i>
CDR	<i>Clinical Dementia Rating</i>
CNF	Cabdells neurofibril·lars
CS	Cognitivament sa
CVD	Cerebrovascular disease
CyPA	Ciclofilina A (en anglès " <i>cyclophilin A</i> ")
DC	Deteriorament cognitiu
DCE-MRI	Estudi de pas de contrast dinàmic en ressonància magnètica
DCL	Deteriorament cognitiu lleu
DCL-MA	Deteriorament cognitiu lleu degut a la malaltia d'Alzheimer
DCLew	Demència per cossos de Lewy
DCS	Declivi cognitiu subjectiu
DCV	Deteriorament cognitiu vascular
DFTvc	Demència frontotemporal variant conductual
DLFT	Degeneració lobar frontotemporal
DM	Dominància manual
ECL	Electroquimioluminescència
Es	Especificitat

FDG	18F-2fluoro-deoxy-D-glucosa
FRV	Factors de risc vascular
GDS	<i>Global deterioration scale</i>
GFAP	Proteïna fibril·lar glial àcida
HTA	Hipertensió arterial
IP-EM	Immunoprecipitació acoblada a espectrometria de masses
IWG	<i>International Working Group</i>
IMC	Índex de massa corporal
MA	Malaltia d'Alzheimer
MAdm	Demència en la malaltia d'Alzheimer
MCV	Malaltia cerebrovascular
MMSE	Mini mental State exam
MPD	Malaltia de Parkinson amb demència
NfL	Proteïna del neurofil·lament de cadena lleugera
NINDS	<i>National Institute of Neurological Disorders and Stroke</i>
NTA-tau	Fragment N-terminal de proteïna tau
OMS	Organització Mundial de la Salut
pBHE	Permeabilitat de la barrera hematoencefàlica
PET	Tomografia per emissió de positrons
PET-FDG	Tomografia per emissió de positrons amb traçador de 18F-2fluoro-deoxy-D-glucosa
PIGF	Factor de creixement placentari
PSP	Paràlisi supranuclear progressiva
p-tau	Proteïna tau fosforilada
Qalb	Quocient entre albúmines en LCR i sèrum
Se	Sensibilitat
SCB	Síndrome corticobasal
sICAM-1	Molècula d'adhesió intercel·lular soluble
SIMOA	<i>Single Molecule Array</i>

ABREVIATURES

sPDGFRβ	Receptor soluble del factor de creixement derivat de plaquetes β
sVCAM-1	Molècula d'adhesió cel·lular vascular soluble
t-tau	Proteïna tau total
VASCOG	<i>International Society for Vascular Behavioral and Cognitive Disorders</i>
VEGF	Factor de creixement endotelial
VICCCS	<i>Vascular Impairment of Cognition Classification Consensus Study</i>

Taula de continguts

RESUM	1
SUMMARY	5
1. INTRODUCCIÓ	7
1.1 Deteriorament cognitiu	9
1.1.1 Definició i epidemiologia	9
1.2 Malaltia d'Alzheimer	10
1.2.1 Definició, patologia i fisiopatologia	10
1.2.2 Síndrome clínica i contínuum de la Malaltia d'Alzheimer	12
1.3 Deteriorament cognitiu vascular	13
1.3.1 Característiques clíniques i criteris diagnòstics del deteriorament cognitiu vascular	13
1.3.2 Subtipus de deteriorament cognitiu vascular	14
1.4 Malaltia d'Alzheimer i la malaltia cerebrovascular	15
1.4.1 Copatologia en la síndrome del deteriorament cognitiu	15
1.4.2 Factors de risc de la malaltia d'Alzheimer i la malaltia cerebrovascular	16
1.4.3 Mecanismes vasculars en la malaltia d'Alzheimer	18
1.5 Diagnòstic del deteriorament cognitiu	20
1.6 Variabilitat pronòstica en el deteriorament cognitiu	22
1.7 Biomarcadors, definició i tipologia	23
1.7.1 Biomarcadors de la malaltia d'Alzheimer en la pràctica assistencial..	24
1.7.2 Nous biomarcadors en fluid en el deteriorament cognitiu	25
1.7.2.1 Biomarcadors de la malaltia d'Alzheimer en sang	26
1.7.2.2 Biomarcadors de malaltia cerebrovascular en fluid.....	30
1.7.3 Biomarcadors de malaltia d'Alzheimer en sang i pronòstic del deteriorament cognitiu	33
2. JUSTIFICACIÓ	35
3. HIPÒTESI	39

4. OBJECTIUS.....	43
3.1. Objectiu principal	45
3.2. Objectius secundaris	45
5. COMPENDI DE PUBLICACIONS.....	47
5.1 Cohort BIODEGMAR.....	49
5.1.1 Descripció de la cohort BIODEGMAR.....	50
5.2 Article 1	55
5.2.1 Material suplementari de l'article 1.....	67
5.3 Article 2	90
6. RESUM GLOBAL DELS RESULTATS.....	102
7. DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS	108
8. CONCLUSIONS.....	125
9. LÍNIES DE FUTUR	129
10. BIBLIOGRAFIA.....	133
11. ANNEXES	169
11.1 Protocol d'estudi de la cohort BIODEGMAR.....	171
11.2 Material suplementari de l'article 1. Material i mètodes, mesures de p-tau en LCR i en sang.....	178

RESUM

Les malalties neurodegeneratives, especialment la malaltia d'Alzheimer (MA), així com la malaltia cerebrovascular (MCV), són les principals causes del deteriorament cognitiu (DC) i demència. Els mecanismes vasculars són presents en la majoria de casos de DC, i podrien implicar diferències en el pronòstic.

Tot i que els biomarcadors *in vivo* de MA d'ús actual permeten un diagnòstic clínic-biològic, la seva disponibilitat és limitada, sigui per la necessitat de realitzar tècniques invasives o per costos elevats. És crucial desenvolupar noves tècniques de fàcil accés per al diagnòstic biològic de la MA i altres malalties neurodegeneratives, així com biomarcadors que permetin una caracterització dels diferents mecanismes fisiopatològics i informació pronòstica per a una medicina més precisa i personalitzada. Així mateix, és de gran interès avaluar la capacitat diagnòstica i/o pronòstica dels nous biomarcadors en cohorts clíniques, amb una elevada heterogeneïtat en quant a característiques clíniques i de comorbiditats, que impliquen una major validesa externa.

L'objectiu d'aquesta tesi doctoral és estudiar el paper de nous biomarcadors de la MA i de biomarcadors vasculars en fluids biològics en una cohort clínica amb DC, avaluant la seva capacitat d'aportar informació diagnòstica i pronòstica respectivament, en un context assistencial. Els objectius proposats s'han realitzat mitjançant la generació d'una cohort clínica de pacients amb DC (cohort BIODEGMAR) i la realització de dos treballs publicats que constitueixen el compendi d'articles exposat.

Pel que fa al primer treball, es realitzà una comparació de la capacitat diagnòstica d'un total de 9 assajos de proteïna tau fosforilada (p-tau) en sang i

en líquid cefal·lorraquidi (LCR) en pacients de la cohort BLODEGMAR, mitjançant un disseny “head-to-head” i prenent com a referència el perfil de biomarcadors propis de MA en el LCR. S’observà que tots els els pacients amb un perfil de LCR indicatiu de MA tenien nivells plasmàtics més alts de p-tau en sang i que tots els biomarcadors de p-tau en plasma discriminaven els pacients amb un perfil de LCR d’Alzheimer del grup amb perfil de LCR no Alzheimer de forma significativa. D’entre els assajos inclosos, p-tau217 de Janssen, p-tau181 d’ADx i p-tau217 de Lilly en sang mostraven la capacitat de discriminació més alta per detectar la MA definida biològicament. Finalment, p-tau217 de Janssen, p-tau181 d’ADx, p-tau217 de Lilly, p-tau181 de Lilly i p-tau231 de la Universitat de Goteborg mostraven un rendiment comparable als seus homòlegs en LCR.

En quant al segon treball, s’explorà l’associació de l’augment de permeabilitat de la barrera hematoencefàlica (pBHE) mesurada amb Qalb (quocient entre albúmina en LCR i sèrum sanguini) i el pronòstic del DC en pacients de la cohort BLODEGMAR, observant-se una associació independent i significativa. Els resultat suggereix un paper rellevant d’aquest mecanisme vascular en l’evolució de la síndrome de DC, tant en el contínuum de la MA com en altres etiologies, alhora que orienta a possibles dianes terapèutiques. A més, obre la porta a l’ús d’aquest biomarcador vascular en fluid com una eina per valorar el pronòstic dels pacients de forma més precisa.

En conjunt, els resultats d’aquesta tesi proporcionen una base sòlida per a la millora del diagnòstic i la predicció del pronòstic del DC mitjançant nous biomarcadors de la MA i biomarcadors vasculars en fluids en un context assistencial.

SUMMARY

Neurodegenerative diseases, particularly Alzheimer's disease (AD), and cerebrovascular disease (CVD) are the leading causes of cognitive decline (CD) and dementia. Vascular mechanisms are present in the majority of CD cases and may influence prognosis. Although current *in vivo* AD biomarkers allow for clinico-biological diagnosis, their availability is limited due to the need for invasive techniques or high costs. Developing accessible techniques for the biological diagnosis of AD and other neurodegenerative diseases, as well as biomarkers that characterize different pathophysiological mechanisms and provide prognostic information, is crucial for more precise and personalized medicine. Additionally, it is of great interest to evaluate the diagnostic and/or prognostic capability of new biomarkers in clinical cohorts with high heterogeneity in clinical characteristics and comorbidities, which implies better external validity.

This doctoral thesis aims to investigate the role of new AD and vascular biomarkers in biological fluids in a clinical cohort with CD, evaluating their diagnostic and prognostic potential in a healthcare setting. The proposed objectives were accomplished through the creation of a clinical cohort of CD patients (BIODEGMAR cohort) and the completion of two published studies comprising the compendium of articles presented.

The first study involved a head-to-head comparison of the diagnostic accuracy of nine phosphorylated tau (p-tau) blood and cerebrospinal fluid assays in patients from the BIODEGMAR cohort, using the AD biomarker profile in cerebrospinal fluid (CSF) as a reference. It was observed that all patients with an AD-indicative CSF profile had higher plasma p-tau levels, and all plasma p-tau

biomarkers significantly distinguished patients with an AD CSF profile from those without. Among the assays, Janssen p-tau217, ADx p-tau181, and Lilly p-tau217 in blood showed the highest accuracy in detecting biologically defined AD. Additionally, Janssen p-tau217, ADx p-tau181, Lilly p-tau217, Lilly p-tau181, and UGot p-tau231 demonstrated performances comparable to their CSF counterparts.

The second study explored the association between increased blood-brain barrier (BBB) permeability, measured by Qalb (the albumin quotient between CSF and blood), and the prognosis of CD in patients from the BIODEGMAR cohort, revealing a significant and independent association. The findings suggest a relevant role of this vascular mechanism in the progression of CD, both in the continuum of AD and other etiologies, and point to a potential therapeutic target. Moreover, it opens the door to the use of this vascular biomarker as a tool for more precise prognostic assessment of patients.

Overall, the results of this thesis provide a solid foundation for improving the diagnosis and prognosis of CD through new AD biomarkers and vascular biomarkers in fluids in a healthcare setting.

1. INTRODUCCIÓ

1.1 Deteriorament cognitiu

1.1.1 Definició i epidemiologia

El deteriorament cognitiu (DC) és una síndrome caracteritzada per la pèrdua de capacitats cognitives més enllà de l'esperada per l'edat i que implica un impacte en la capacitat funcional de l'individu.

El DC es pot classificar en diversos estadis en funció del grau de pèrdua de capacitats i de la repercussió funcional que implica. El deteriorament cognitiu lleu (DCL) és un estadi en el qual es pateixen símptomes indicatius de pèrdua cognitiva els quals s'objectiven en una avaluació neuropsicològica i que impliquen canvis discrets en la capacitat funcional de l'individu. La demència fa referència als estadis de DC en els quals l'individu requereix suport per a activitats instrumentals i bàsiques de la vida diària.

El DC i la demència són conseqüència d'una o diverses malalties o lesions que afecten al cervell. Les malalties neurodegeneratives com la malaltia d'Alzheimer (MA), la demència per cossos de Lewy (DCLew) o diverses patologies que provoquen la degeneració lobar frontotemporal (DLFT), així com la MCV (MCV) en són les principals causes. Altres formes de dany cerebral com els traumatismes, infeccions cròniques (HIV, sífilis), estats carencials i/o l'abús de substàncies tòxiques també poden provocar DC. Freqüentment l'etiologia del DC és mixta, coexistent més d'una patologia cerebral en els individus que el pateixen.

Segons un informe recent de l'Organització Mundial de la Salut (OMS), actualment hi ha 55 milions de persones amb demència al món i es detecten 10

milions de nous casos anualment. Es calcula que, degut principalment a l'envelliment de la població, la prevalença de la demència arribarà als 82 milions de persones al 2030 i a 152 milions al 2050. La demència és la setena causa de mortalitat i una de les principals causes de morbiditat i dependència en la població anciana. El 2019, el cost econòmic global de la demència ascendia a 1.3 trilions de dòlars dels Estats Units, sent aproximadament el 50% d'aquests costos atribuïbles a les cures per part de cuidadors no professionals (familiars en la major part dels casos) (1).

El DC té impactes físics, psicològics, socials i econòmics, no només per a als malalts sinó també pels seus cuidadors, les famílies i la societat en general, pel que suposa un dels principals reptes sanitaris i socials actualment (1,2).

1.2 Malaltia d'Alzheimer

1.2.1 Definició, patologia i fisiopatologia

La MA és una malaltia neurodegenerativa caracteritzada pel dipòsit de plaques de proteïna A β -amiloide a l'espai extracel·lular i cabdells neurofibril·lars (CNF) intraneuronals formats per proteïna Tau, que s'acompanya progressivament de pèrdua sinàptica i neurodegeneració, provocant consegüentment un DC progressiu i irreversible.

La MA és la principal causa de demència, representant aproximadament el 60-80% de tots els casos. La prevalença de la MA experimenta un augment significatiu amb l'edat. S'estima que la prevalença es duplica cada cinc anys després dels 65 anys. Aproximadament, el 5% de les persones entre els 65 i els 75 anys poden patir MA, xifra que augmenta a més del 30% en els majors de 85 anys(2).

Respecte la patologia i la seva topografia, les plaques neurítiques es troben distribuïdes de manera generalitzada a tot el cortex cerebral. En canvi, els CNF s'acumulen inicialment al còrtex transentorrinal, còrtex entorrinal i àries adjacents de l'hipocamp, seguidament estructures del sistema límbic i posteriorment àries neocorticals a nivell temporal, prefrontal, parietal i occipital, on associen neurodegeneració i DC amb un correlat topogràfic entre símptomes i les regions cerebrals afectades. S'observen a més a més filaments del neuròpil, neurites distròfiques, astrogliosi, microglia activada així com dipòsit d' A β -amiloide a nivell de la paret dels vasos (angiopatia amiloidea cerebral, AAC). La patologia mixta és molt freqüent, particularment en individus més ancians, sent la MCV, la patologia Lewy (α -sinucleïna) i la patologia per dipòsit de proteïna d'unió al DNA TAR43 (TDP-43) les més freqüents (3).

El procés fisiopatològic de la MA s'inicia més de 15-20 anys abans de l'inici del DC que provoca(4). És una malaltia complexa que implica múltiples mecanismes fisiopatològics que poden tenir més o menys pes en la cadena d'esdeveniments que condueixen a la seva expressió clínica.

S'ha descrit que el paper de les proteïnes A β -amiloide i Tau en la MA són diferents. Tot i que les plaques neurítiques d'A β -amiloide són un dels dos elements principals de la patologia de la MA, formes oligomèriques solubles d'A β -amiloide són les que tenen més impacte tòxic, provocant disfunció i pèrdua sinàptica(3,5,6). En canvi, els CNF bloquegen el transport de nutrients i altres substàncies essencials per a la fisiologia i supervivència cel·lular neuronal. Durant la fase preclínica de la MA, alteracions a nivell neuronal, microglial i astrogliial provoquen un avenç insidiós de la malaltia. La presència de les formes anòmales de proteïna A β -amiloide i Tau tenen un efecte tòxic que activa la

resposta immunitària via la microglia, que intenta eliminar tant les proteïnes tòxiques com els detritus produïts per la mort cel·lular. Així mateix, la resposta inflamatòria crònica pot implicar una desregulació del metabolisme energètic, afavorint l'oxidació i generant un entorn homeostàtic desfavorable que contribueix a la destrucció i mort cel·lular. La disfunció del sistema glimfàtic(7), mecanismes vasculars i l'envelliment contribueixen a l'acumulació progressiva d'A β -amiloide(7,8) Així mateix, mecanismes vasculars que seran tractats en un posterior apartat també contribueixen al procés fisiopatològic de la MA.

Tot i els importants avenços en el coneixement de l'etiopatogènia i la fisiopatologia de la MA durant els darrers 20-30 anys, encara s'està lluny d'una comprensió holística i completa dels diversos mecanismes, el seu pes específic i la interrelació entre ells en el curs de la malaltia.

1.2.2 Síndrome clínica i contínuum de la Malaltia d'Alzheimer

De forma resumida, la forma de presentació més freqüent de la MA consisteix en un DC d'inici insidiós i curs lentament progressiu amb afectació principalment de la memòria episòdica (síndrome amnèsica progressiva), la qual posteriorment evoluciona amb afectació d'altres dominis cognitius així com un augment de la dependència funcional. Diverses formes de presentació atípica són també reconegudes (afàsia progressiva logopènica; presentació amb afectació de funcions visuoespacials que sol correspondre amb una atròfia cortical posterior i presentació amb afectació de les funcions executives i/o conducta o variant frontal de la MA) (3,9). La MA es conceptualitza actualment com un contínuum que inclou la fase preclínica, el DCL degut a la MA (DCL-MA), i la demència deguda a la MA (MAdm)(4,9–11). La fase preclínica es caracteritza per canvis cerebrals en relació a la malaltia que són detectables mitjançant

biomarcadors d'A β -amiloide i/o Tau, sense anar acompanyats de símptomes. No tots els individus amb canvis relacionables amb MA acaben desenvolupant la síndrome clínica(8,12,13). El DCL-MA es caracteritza per un DCL i evidència de procés fisiopatològic de MA (10) . Dins d'aquest grup, fins al 60% desenvolupa MAdm durant els següents tres anys després del diagnòstic(14). No obstant això, alguns individus amb DCL no experimenten una disminució cognitiva addicional o retrocedeixen a la cognició normal(15). La MAdm es caracteritza per un DC progressiu amb afectació de la memòria episòdica i posteriorment altres dominis cognitius amb un impacte conseqüent en l'autonomia del pacient.

1.3 Deteriorament cognitiu vascular

El deteriorament cognitiu vascular (DCV) és aquell degut principalment a lesions o dany al parènquima cerebral per mecanismes relacionats amb la disfunció del sistema circulatori i que resulten en múltiples manifestacions clínico-radiològiques com l'ictus, l'aterosclerosi cerebral o la malaltia de petit vas cerebral entre d'altres.

El DCV es considera generalment el segon subtipus més comú de demència, amb una prevalença estimada d'entre el 15 i el 20% dels casos a Europa i Amèrica del nord i de fins el 30% a l'Àsia i països en vies de desenvolupament (8,16–20).

1.3.1 Característiques clíniques i criteris diagnòstics del deteriorament cognitiu vascular

La DCV mostra una gran variabilitat a nivell simptomàtic. El perfil d'evolució temporal clàssic es descriu com d'inici brusc en relació a ictus i evolució esglaonada en relació a l'aparició de noves lesions. Tot i això, també

pot observar-se una evolució progressiva, especialment en el DCV secundari a MCV subcortical. A nivell clínic, les característiques dependran principalment de la localització de les lesions vasculars cerebrals. En els casos de lesions corticals, la seva manifestació es relacionarà amb les funcions de les àries afectades. En canvi, la MCV subcortical sol implicar principalment una afectació de les funcions executives. També poden observar-se símptomes motors, com lentificació de la marxa, problemes d'equilibri i parkinsonisme.

L'ampli espectre del DCV, que inclou diversos tipus de mecanismes i presentacions clíniques variables, així com la freqüent presència de copatologia neurodegenerativa en major o menor grau, ha dificultat que s'estableixin uns criteris diagnòstics àmpliament acceptats. Els criteris proposats el 1993 pel 'National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS) and the International Workshop with support from the Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences (AIREN)' que no incloïen les formes de DCL, van ser d'ús comú per finalitats de recerca tot i l'escàs consens clínic. Durant la darrera dècada, s'han realitzat esforços per establir uns criteris amb suficient consens internacional, com els proposats per la "International Society for Vascular Behavioral and Cognitive Disorders (VASCOG)" el 2014 o els proposats pel grup d'experts que van impulsar el "Vascular Impairment of Cognition Classification Consensus Study (VICCCS)" el 2017 i que actualment són d'ús més freqüent en la recerca en el camp del DC (21–23).

1.3.2 Subtipus de deteriorament cognitiu vascular

Seguint els criteris VICCCS, es pot classificar el DCV en DCL vascular 'mild vascular cognitive impairment' el qual fa referència a deteriorament en com a mínim un domini cognitiu i absència d'afectació en capacitats funcionals

instrumentals, i el DC “major” o demència vascular . Alhora, la demència vascular es pot classificar en: (i) demència post ictus, que s’observa aproximadament en un 10% dels pacients després d’un ictus, sent els infarts aterotrombòtics i els ictus hemorràgics els que associen un risc més elevat; (ii) demència vascular per isquèmia subcortical, la qual és secundària a MCV de petit vas amb afectació de la substància blanca i/o ganglis basals; (iii) demència per infart estratègic, causades per lesions talàmiques, al cap del nucli caudat, lòbul temporal medial o àries associatives per a les funcions cognitives poden implicar un DC secundari, (iv) la demència multi infart que és secundària a diverses lesions i l’expressió clínica serà variable en funció dels territoris afectats i (v) la demència mixta (16,23).

1.4 Malaltia d’Alzheimer i la malaltia cerebrovascular

1.4.1 Copatologia en la síndrome del deteriorament cognitiu

Estudis anatomopatològics indiquen que la majoria de les persones amb demència presenten més d’una patologia cerebral, especialment en les formes d’inici tardà on segons alguns estudis la copatologia es descriu en fins al 75% dels casos (24,25).

Diversos estudis han observat que la majoria dels casos de MA presenten canvis patològics propis d’altres malalties neurodegeneratives, especialment cossos de Lewy formats per dipòsits d’ α -sinucleïna, així com MCV. Un estudi que analitzava 447 persones ancianes amb MA, només un 3% presentava patologia Alzheimer aïllada, un 15% presentava una altra patologia neurodegenerativa no Alzheimer únicament i fins el 82% presentava patologia Alzheimer i com a mínim una altra patologia(26). En un estudi que analitzava 184 individus que

compleixien amb els criteris neuropatològics d'Alzheimer, el 31% presentava patologia d'Alzheimer aïllada, el 22% tenia patologia d'Alzheimer més patologia Lewy, el 29,5% tenia patologia d'Alzheimer més patologia per dipòsit de TDP-43 i el 17,5% tenia patologia d'Alzheimer més patologia Lewy i TDP-43. En cadascun d'aquests grups definits patològicament, entre un 29% i un 52% dels individus presentaven com a mínim una infart(7).

La presència de MCV és molt freqüent en la síndrome de DC, especialment en la MAdm, on està present en fins al 80% dels casos (27,28). Alhora, s'ha descrit que tan sols el 5-10% dels pacients amb DC presenten MCV aïllada, ja que en la majoria s'observa la presència de MCV acompanyada de patologia neurodegenerativa (2,24,29–31). En un estudi de cohort que inclogué dades *post mortem* de 1767 participants, la freqüència de participants amb MVC sense un grau de patologies neurodegeneratives significatives fou del 20,9%. En aquest mateix estudi, els macroinfarts, i no la MA o altres patologies neurodegeneratives, van ser la principal alteració associada amb el DC (32).

1.4.2 Factors de risc de la malaltia d'Alzheimer i la malaltia cerebrovascular

Els principals factors de risc no modificables de la MA són l'edat, factors genètics entre els quals destaca l'al·lel APOE-ε4 i la història familiar de demència(2). Alhora, s'ha estimat que fins el 40% dels casos de DC són atribuïbles a factors de risc modificables(33). Els factors de risc modificables principals són el baix nivell educatiu, la hipoacúcia, els dèficits visuals, la depressió, el consum excessiu d'alcohol, el traumatisme cranial, l'aïllament social, la pol·lució i factors de risc vasculars (FRV) com el tabaquisme, el sedentarisme, la HTA, la diabetis mellitus tipus 2 (DMT2) i la dislipèmia(34). D'entre aquests factors de risc, la major part són ho són tant per la MA com per

la MCV(35), suggerint mecanismes fisiopatològics comuns que podrien actuar de forma independent o bé sinèrgica. L'augment de risc de demència associat a la presència de FRV és diferent segons l'edat a la qual apareixen, amb major impacte dels mateixos en edats medianes de la vida(36,37).

- **HTA** : el risc de demència associat a HTA en la mitjana edat oscil·la entre 1,2 i 2,0 depenent de l'estudi (38–40). En un assaig clínic es va demostrar que un control estricte de la TA amb xifres objectiu de TA sistòlica <120mmHg disminuïa el risc de demència en adults majors (41). Alhora, s'ha descrit que l'ús d'antihipertensius en la vellesa pot disminuir el risc de demència(39,42) al reduir el risc de malalties de grans i petits vasos (43). Tot i això, cal tenir en compte que la hipotensió en la vellesa augmenta el risc de DC (41,42), pel que un adequat control de la TA evitant tant la HTA com la hipotensió sembla l'estratègia més adequada per a la prevenció del DC.
- **Diabetis**: la diabetis és el predictor vascular més fort de la demència incident a 10 anys en la mitjana edat (44–46). Les metanàlisis de l'associació entre la diabetis i la demència informen de raons de risc entre 1,43 i 1,62 (47–50). A més, la hemoglobina A1c glucosilada (HbA1c), s'ha associat negativament amb el rendiment cognitiu i amb un declivi cognitiu més ràpid (51,52). La diabetis també està associada amb un rendiment cognitiu més deficient (53–56).
- **Dislipèmia**: s'ha observat de manera consistent que un alt nivell de colesterol total en la mitjana edat està associat amb la demència de totes les causes i especialment amb la demència per MA (57,58). S'ha identificat que un LDL-c elevat és un factor de risc per a la MA(59) . Tot i que el

colesterol podria augmentar el risc de demència a través de la via vascular, també s'acumula en les plaques de A β madures dels pacients amb Alzheimer(60) i els nivells de colesterol al cervell correlacionen positivament amb la gravetat de la demència en la MA (61). A més, dietes riques en colesterol en conills o ratolins s'associen amb un augment de l'acumulació cerebral d' A β i p-tau (62–65).

- **Síndrome metabòlica:** la síndrome metabòlica és un conjunt de factors de risc cardiometabòlics, incloent la HTA, la diabetis, la dislipèmia i l'obesitat visceral. Les persones amb síndrome metabòlica tenen un risc augmentat de DC(36,66,67), a més de mostrar un rendiment cognitiu pitjor i una reducció de la integritat de la matèria blanca (68).
- **Sedentarisme:** la inactivitat física s'ha associat amb un augment del 40% (IC95% 20-70%) del risc de demència(33). Alhora, també està relacionada amb altres malalties com la diabetis, cardiopaties o els trastorns de salut mental(69). Nivells més alts d'activitat física també s'han associat amb un millor rendiment cognitiu a la mitjana edat(70,71). A més, assaigs clínics controlats aleatoritzats han donat suport a la relació causal entre l'activitat física i el rendiment cognitiu en edats avançades(72).

1.4.3 Mecanismes vasculars en la malaltia d'Alzheimer

Durant els darrers anys s'ha aprofundit en el coneixement dels mecanismes fisiopatològics vasculars en el contínuum de la MA. S'han descrit alteracions morfològiques de l'arbre vascular (aterosclerosi intra i extracranial, reducció de capil·lars, AAC entre altres); disfunció cerebrovascular, augment de la resistència dels vasos de gran calibre, estat pro coagulant, així com disfunció i dany de la barrera hematoencefàlica (BHE) (26).

A nivell intracranial, s'ha descrit un augment d'aterosclerosi del polígon de Willis i artèries leptomeníngies en la MA respecte controls, correlació de la severitat d'aterosclerosi amb el grau de patologia Alzheimer, així com augment de risc de DC i MA per aterosclerosi de petit i de gran vas(73–76). A nivell extracranial, l'aterosclerosi carotídia s'associa a dipòsit de CNF i augmenta el risc de demència per MA(76,77). S'ha hipotetitzat que la A β -amiloide promou la formació de més plaques ateroscleròtiques així com la seva ruptura induïnt una reacció inflamatòria sostinguda, la qual alhora conduiria a una hipoperfusió i hipòxia que al seu torn promouen un augment de producció de A β -amiloide i de plaques d'aterosclerosi (78–81).

Pel que fa a l'AAC, és present entre el 82- 95% dels pacients amb MA(81,82). S'hipotetitza que l'eliminació insuficient d'A β -amiloide acaba provocant el dipòsit a la paret vascular, afeblint-la i reduint el flux cerebral en repòs així com la capacitat de regulació(16,81,83,84). Alhora, els microinfarts i els microsagnats contribueixen al DC dels pacients.

La disfunció vascular és un mecanisme primerenc en el contínuum de la MA(85,86). S'ha descrit una disminució del flux cerebral en regions cerebrals típicament afectades per la patologia Alzheimer en estadis preclínics de la malaltia, la qual cosa s'ha especulat podria ser deguda a efectes vasoactius de la A β -amiloide que impediria una adequada autoregulació per mecanismes encara no prou coneguts(87–89).

Factors de risc per a la MA i la MVC com l'edat i la HTA associen un augment de la rigidesa arterial. L'alteració de la pulsatilitat consegüent pot dificultar l'eliminació d'A β -amiloide via la BHE, així com via els espais

perivasculars del sistema glimfàtic. Alhora, el dipòsit d'A β -amiloide, pot augmentar la rigidesa arterial. S'ha descrit que en estadis inicials de la MA, la rigidesa precedeix la hipoperfusió cerebral i associa un major risc d'atròfia en regions típicament relacionades amb la MA de forma independent a l'amiloïdosi, amb la qual s'ha suggerit un efecte sinèrgic(90). Per altra banda, s'ha descrit una associació entre la rigidesa de l'aorta i la incidència del DCL, així com amb dany en substància blanca i gris i amb el dipòsit d'A β -amiloide cerebral(81,91–93).

En quant a alteracions de la coagulació, la proteïna A β -amiloide interactua amb factors de la coagulació promovent un estat pro trombòtic. Així mateix, A β -amiloide⁴² s'uneix al fibrinogen i a la fibrina, modificant mecanismes de trombosi i fibrinòlisi(94–97).

La BHE és una estructura altament especialitzada composta per diversos tipus de cèl·lules, incloent-hi cèl·lules endotelials, astròcits i perícits. Té un paper fonamental en el manteniment de l'homeòstasi i la salut del cervell, regulant l'intercanvi de molècules entre el parènquima cerebral i la circulació sanguínia. La disfunció i la ruptura de la BHE poden contribuir al desenvolupament i a la progressió del DC(98). Els FRV, així com mecanismes relacionats amb l'APOE- ϵ 4 poden comprometre la integritat de la BHE(99–102).

1.5 Diagnòstic del deteriorament cognitiu

El diagnòstic del DC ha experimentat notables avenços durant els darrers 15 anys, fonamentalment gràcies a l'accés cada vegada més ampli a l'ús de biomarcadors de MA que permeten avaluar la presència de patologia Alzheimer *in vivo*. En aquest context, s'ha evolucionat des de el diagnòstic clínic a un

constructe clínic-biològic de la MA que inclou estadis previs a la demència i que serveix actualment de model per a altres malalties neurodegeneratives.

Tot i els notables avenços esmentats, l'ús d'aquests biomarcadors no és encara universal, principalment degut a la necessitat d'infraestructures adients, al caràcter relativament invasiu de la punció lumbar així com als costos globals.

Així, el diagnòstic del DC continua sent un procés eminentment clínic. El diagnòstic etiològic de certesa tansols és possible mitjançant l'estudi anatomopatològic *post mortem* o bé in vivo en casos de portadors de mutacions causals de malalties neurodegeneratives concretes amb estudi compatible. En els casos esporàdics es realitza un diagnòstic etiològic amb un grau variable de certesa.

S'estima que fins i tot seguint els protocols més adequats en unitats especialitzades amb alta expertesa clínic, la taxa d'error del diagnòstic clínic respecte la patologia subjacent pot ser del 30%(103) En el cas de la MA, un estudi sobre la correlació del diagnòstic clínic seguint els criteris de la NIA-AA de 1984 amb l'estudi anatomopatològic *post mortem* va reportar una sensibilitat (Se) i especificitat (Es) d'entre el 71-88% i el 44-71% respectivament en funció dels diferents criteris usats (104). Aquest error del diagnòstic clínic podria ser més alt per a patologia no Alzheimer i també en població no caucàsica(105,106).

El sistema AT(N)(107) proposa, per a un context de recerca, un sistema de classificació biològica segons els biomarcadors de MA on A fa referència a patologia Amiloide, T a patologia Tau i N a neurodegeneració. Juntament amb l'avaluació neuropsicològica la qual situa a l'individu en el contínuum clínic (CS, DCL o demència en els diferent estadis), permet una caracterització dels

individus amb MA incloent la fase preclínica. Respecte l'estadi preclínic de la MA, cal tenir en compte que l'ús dels biomarcadors en individus asimptomàtics en la pràctica clínica és objecte d'intens debat. Per part de la International Working Group (IWG), es recomana realitzar el diagnòstic de MA tan sols en casos amb biomarcadors de MA positius i presència d'un fenotip clínic compatible, caracteritzant individus cognitivament sans (CS) amb biomarcadors positius com a individus amb risc (108). Per altra banda, el sistema ATN podria ajudar a caracteritzar els individus amb DC més enllà de la patologia pròpia de la MA incorporant nous biomarcadors referents a altres patologies (ATN(X))(109).

1.6 Variabilitat pronòstica en el deteriorament cognitiu

Tot i que el pronòstic del DC en el context de malalties neurodegeneratives és en general desfavorable per la història natural de les mateixes, la variabilitat pronòstica entre individus és notable. Factors com l'edat, la genètica, comorbiditats així com determinants ambientals impacten directament en l'evolució de la malaltia. Entre els individus diagnosticats amb DCL, aproximadament el 15% desenvolupen demència en un període de dos anys, i un terç ho fa dins dels cinc anys(15,110). No obstant això, no tots els pacients amb DCL segueixen aquesta trajectòria, alguns no experimenten cap declivi cognitiu addicional o fins i tot poden revertir a un estat de cognició normal, amb una taxa de reversió del 26%(8). Predir quins pacients amb DCL progressaran a demència continua sent un desafiament important per a la recerca. En aquest sentit, l'accés a biomarcadors de MA que permeten un diagnòstic biològic (DCL-MA), millora notablement la capacitat pronòstica (fins al 60% progressaran a MAdm durant els primers tres anys)(14). Alhora, la variabilitat en el ritme de

progressió entre els diferents estadis de DC en fase de demència és també notable. En pacients amb MA que amb evidència de dipòsit d'amiloide (A+), les probabilitats anuals de transició a estadis més severos de demència varien significativament: un 40,8% dels individus asimptomàtics progressen a DCL degut a la MA, un 21,8% dels pacients amb DCL degut a la MA progressen a MAdm lleu o pitjor, un 35,9% dels pacients amb demència lleu progressen a demència moderada o pitjor, i un 28,6% dels pacients amb demència moderada progressen a demència severa(111). Determinants específics de la MA que s'han associat amb un pitjor pronòstic inclouen l'edat, un rendiment cognitiu basal més baix, factors genètics com l'APOE-ε4, comorbiditats així com majors nivells de de p-tau en LCR i plasma, t-tau en LCR i neurofil·lament de caden alleugera (NfL) en plasma(111–120).

1.7 Biomarcadors, definició i tipologia

Els biomarcadors són per definició indicadors objectius i mesurables de processos biològic normals, patològics o de resposta a una exposició o intervenció(121). Podem classificar els biomarcadors en relació a la seva naturalesa (moleculares, histològics, fisiològics, radiològics) així com al tipus d'informació que aporten. En quant a la seva aplicació, podem distingir-ne els següents(121):

- **Diagnòstic:** són aquells que detecten o confirmen la presència d'una malaltia o condició d'interès.
- **Predictius:** indiquen la probabilitat que s'experimentin un efecte favorable o desfavorable arran de l'exposició a una intervenció.
- **Pronòstics:** identifiquen la probabilitat d'un esdeveniment clínic, de recurrència de la malaltia o la seva progressió.

- **Monitorització:** són aquells que es poden mesurar de manera seriada per avaluar l'estat d'una malaltia o condició per obtenir evidència d'exposició a una intervenció o per detectar-ne l'efecte.
- **Farmacodinàmics/resposta** són aquells que canvien en resposta a l'exposició a una intervenció farmacològica.
- **de seguretat:** indiquen la probabilitat, presència o extensió d'un efecte advers mesurat abans o després d'una exposició a una intervenció.
- **de susceptibilitat o risc:** indiquen el potencial de desenvolupar una malaltia o condició mèdica en un individu.

1.7.1 Biomarcadors de la malaltia d'Alzheimer en la pràctica assistencial

Els biomarcadors de MA d'ús en la pràctica assistencial actualment són indicadors de dipòsit de proteïna A β -amiloide i de proteïna Tau a nivell cerebral, així com indicadors de neurodegeneració, els quals no són específics però en funció del perfil poden ser altament suggestius de MA.

- **Biomarcadors de patologia Amiloide:** les mesures d'A β en LCR (isoformes A β 42, A β 40, les quals es troben a concentracions menors respecte els controls sans i sent el rati A β 42/40 altament indicatiu d'amiloidosi cerebral per MA), així com la tomografia per emissió de positrons (PET), amb radiotracadors d'amiloide.
- **Biomarcadors de Taupatia en la MA:** mesures de p-tau a LCR (principalment proteïna Tau fosforilada al residu 181, p-tau181).
- **Biomarcadors de neurodegeneració:** mesures de proteïna Tau total (t-tau) en LCR, indicador inespecífic de procés neurodegeneratiu,. L'estudi de metabolisme cerebral amb PET 18F-2fluoro-deoxy-D-glucosa (PET-

FDG) i la neuroimatge estructural amb ressonància magnètica, el resultat de les quals pot ser suggestiu de MA com a patologia subjacent segons la topografia de l'afectació.

La necessitat de biomarcadors de més fàcil accés així com de biomarcadors específics per a altres patologies neurodegeneratives han seguit impulsat una intensa recerca en el camp dels biomarcadors en el DC. L'ús de nous biomarcadors, més enllà d'una adequada caracterització diagnòstica a nivell individual, pot aprofundir en l'estadiatge biològic, el pronòstic i eventualment la monitorització de resposta a intervencions i tractaments modificadors, així com aportar informació predictiva respecte a la resposta als mateixos.

D'entre les novetats dels darrers anys, destaca la disponibilitat actual de biomarcadors en sang, així com el desenvolupament de diferents radiotraqadors de proteïna Tau que permeten, gràcies a la correlació topogràfica, un estadiatge biològic *in vivo* de la MA, el qual pot tenir un impacte rellevant en el desenvolupament i avaluació de diferents estratègies terapèutiques.

1.7.2 Nous biomarcadors en fluid en el deteriorament cognitiu

El desenvolupament de nous biomarcadors diagnòstics es divideix en cinc fases diferents. En les fases inicials (1 i 2), es realitzen estudis exploratoris, es desenvolupen i validen clínicament. Posteriorment, en la 3a fase s'analitzen els biomarcadors en cohorts retrospectives i longitudinals per definir criteris de positivitat i negativitat i establir punts de tall. Les darreres fases (4 i 5) permeten validar prospectivament els biomarcadors en el context de la pràctica clínica

habitual (4) i analitzar la seva implementació clínica i impacte en la presa de decisions (Suárez-Calvet, M, et al; en revisió a Neurología)(122,123).

1.7.2.1 Biomarcadors de la malaltia d'Alzheimer en sang

Recents avenços en el desenvolupament de noves tècniques d'alta sensibilitat han millorat significativament la detecció i quantificació de biomarcadors de la MA en sang. Diversos estudis han demostrat una correlació adequada entre les mesures de proteïnes pròpies de la MA, de biomarcadors inespecífics de neurodegeneració (NfL, i t-tau) o d'activació glial (com la proteïna fibril·lar glial àcida, GFAP) en comparació amb els estàndards de referència (124).

Tècniques d'anàlisi ultrasensible com la immunoprecipitació acoblada a l'espectrometria de masses (IP-EM) o nous mètodes com el bioxip de molècula única, en anglès 'single molecule array, (SIMOA) o assajos basats en electroquimioluminescència (EQL) els quals permeten la quantificació de proteïnes a concentracions femto molars, han possibilitat el desenvolupament d'assajos de diferents proteïnes i la seva validació en cohorts de recerca i clíniques. Tot i així, la detecció de proteïnes cerebrals a nivell sanguini comporta algunes limitacions com la seva coexpressió a nivell perifèric, la seva ràpida degradació i aclariment plasmàtic, la seva interacció amb altres proteïnes o la influència de les comorbiditats com la insuficiència renal, més enllà de factors preanalítics (125). En aquest sentit, estudis recents han evidenciat que l'aclariment renal i altres comorbiditats influeixen en els nivells d'A β 42, A β 40, p-Tau181, NfL i GFAP en sang total, sense modificar la seva capacitat de preveure la presència d'amiloïdosi cerebral (126,127).

Pèptids d' A β -amiloide

Actualment és possible determinar nivells d'A β en sang amb diferents tècniques (assajos d'ELISA, SIMOA, EQL, IP-EM). Tot i així, les mesures d' A β són més sensibles a variacions a les condicions preanalítiques i mostren menor robustesa respecte altres biomarcadors sanguinis, així com una menor diferència entre pacients amb MA i controls respecte les mesures en LCR (10-15% y 40-50% respectivament)(125,128). Diferents mesures en sang de pèptids A β -amiloide (proteïna precursora d'amiloide, A β 42 i A β 40) mitjançant tècniques d'IP-EM van demostrar una adequada capacitat de predicció d'un resultat d'amiloïdosi positiu o negatiu respecte l'estàndard de referència (PET cerebral amiloide i mesures d'amiloide en LCR) el 2018(129). El quocient A β 42/A β 40 mitjançant IP-EM ha demostrat una millor correlació amb PET cerebral amiloide que A β 42 aïllat(128). Així mateix, el quocient A β 42/A β 40 va demostrar una àrea sota la corba (en anglès 'AUC') elevada respecte a l'amiloïdosi mesurada segons PET-cerebral-amiloide i A β 42/A β 40 en LCR en un estudi que va agrupar 3 cohorts de recerca (n = 465; ASC 0,84, 95% CI 0,80-0,87 i 0,85, IC 95% 0,78-0,91 respectivament), la qual millorava en incloure la variable portador d'APOE- ϵ 4(130). Un estudi comparatiu entre 8 diferents assaigs de A β 42/40 en sang respecte a l'estat d'amiloïdosi segons LCR i PET cerebral amiloide en 408 individus va indicar que les mesures mitjançant algunes tècniques d'IP-EM aconseguien AUCs superiors a les de diferents immunoassaigs(131). D'altra banda, s'ha descrit la interacció entre l'augment de pBHE i la correlació entre les mesures en sang i LCR de pèptids A β -amiloide(132). Un prova que mesura la proporció A β 42/A β 40 i un pèptid específic de l'apolipoproteïna E en plasma, ha

demostrat bona precisió en comparar-la amb la PET-amiloide en pacients amb DCL o demència lleu (ASC 0,88, IC del 95% 0,85-0,91)(125).

p-tau:

Els nivells de proteïna p-tau en sang representen una fracció reduïda (fins al 5%) respecte als nivells en LCR. La proteïna Tau es fragmenta en diferents posicions, originant fragments C-terminal, N-terminal i de regions mitjanes. Els fragments C-terminal es retenen en els CNF característics de la MA. En canvi, els fragments de regions mitjanes i de la porció N-terminal constitueixen la major part de la fracció soluble en LCR, predominant les formes N-terminal en sang(133). Assaigs mitjançant IP-EM i posteriorment immunoassaigs de diferents isoformes de p-tau en sang han demostrat una elevada capacitat de detecció de MA en diferents estadis de la malaltia incloent fases preclíniques(134,135), així com per diferenciar MA respecte d'altres malalties neurodegeneratives(136–142). En estadis preclínics, mesures de diferents fosforilacions de p-tau en sang (p-tau181, p-tau217, p-tau231) mostren trajectòries diferents(135). Aquestes diferències indiquen que les mesures de formes de p-tau podrien permetre una caracterització biològica de diferents fases dins de l'estadi preclínic de la MA. Per altra banda, s'ha observat que els nivells de p-tau231, p-tau181 i p-tau217 s'incrementen abans que s'observi dipòsit en PET-tau, per la qual cosa són considerats indicadors de canvis en formes de tau soluble en resposta a patologia amiloide. Nous marcadors com NTA-tau, p-tau205 o p-tau212 augmenten més tard en el contínuum de la malaltia indicant el dipòsit de tau insoluble(143–145) .

p-tau181:

S'ha descrit una correlació positiva de mesures de p-tau181 en sang respecte a l'augment de càrrega amiloide quantificada amb PET i diferències

significatives entre grups A β + i A β - en individus CS(134). En un estudi en el qual es comparava p-tau181 i t-tau en sang incloent individus CS, casos de DCL i MAdm, p-tau181 va mostrar una associació més forta respecte a PET-amiloide i PET-Tau(136). En un ampli estudi que va agrupar 4 cohorts (n = 1131), incloent casos de MAdm, DCL, altres malalties neurodegeneratives i CS, es va observar un augment progressiu de p-tau181 en el contínuum de la MA, així com de la capacitat per diferenciar casos de MA respecte d'altres malalties neurodegeneratives i una elevada AUC respecte a l'estàndard de referència (ASC 0,83-0,93 respecte PET-Tau i 0,76-0,88 respecte amiloïdosi segons LCR i/o PET-amiloide)(137). En un altre ampli estudi (n=589) es van observar resultats similars pel que fa a l'augment progressiu de p-tau181 en sang en el continu de la MA, predicció d'estat Tau positiu segons PET-Tau (AUC 0,87-0,91), i una capacitat de distinció entre MA i altres malalties neurodegeneratives similar a les de PET-Tau i p-tau181 en LCR (AUC 0,94-0,98), detecció de patologia MA en estudi *post mortem*, i associació amb el desenvolupament de demència en els subjectes amb DCL i CS(138).

p-tau217

En un ampli estudi (n=1402) que va agrupar tres cohorts, una d'elles amb estudi anatomopatològic *post mortem*, p-tau217 en sang va superar la capacitat de discriminació entre MA respecte a altres malalties neurodegeneratives respecte a p-tau181 (AUC 0,89 vs 0,72 en la cohort amb estudi anatomopatològic i 0,96 vs 0,81 en la cohort clínica)(146). Un recent estudi multicohort (n=786) que va incloure individus amb i sense DC agrupats segons la presència de patologia Alzheimer, va mostrar que les mesures de p-tau217 en sang mitjançant un assaig comercialitzat van assolir una capacitat de discriminació per a la detecció

d'amiloïdosi comparable a la dels biomarcadors en LCR (ASC 0,92-0,96 i 0,93-0,97). A més, es va observar un augment anual de les mesures de p-Tau217 en sang en els individus amiloide positius (A+), més accentuat en els amiloide i Tau positius (A+T+), la qual cosa suggereix la possibilitat del seu ús com a marcador evolutiu i/o de resposta a tractaments modificador de la malaltia en el futur(147).

Altres marcadors

NfL: els nivells de NfL s'incrementen en sang en una àmplia varietat de malalties i processos neurològics (dany cerebral agut, malalties neurodegeneratives, inflamatòries entre altres). Les mesures de NfL en sang mitjançant SIMOA mostren robustesa i una adequada correlació amb les mesures de NfL en LCR, a diferència de les mesures de t-tau, menys robustes i subjectes a factors confusors com l'expressió perifèrica de la mateixa. Per aquest motiu, NfL s'utilitza avui en dia com el principal biomarcador perifèric indicatiu de neurodegeneració(142,148,149).

GFAP: biomarcador indicatiu de resposta glial astrocitària. Les mesures de GFAP en LCR augmenten en diverses malalties neurodegeneratives, incloent la MA(150–153). De forma sorprenent, les determinacions de GFAP en sang semblen més específiques per a MA que les mesures en LCR(154), s'ha observat que correlacionen de forma positiva amb mesures de biomarcadors d'amiloide i Tau en LCR i PET, incloent individus CS en risc per a la MA(155–158).

1.7.2.2 Biomarcadors de malaltia cerebrovascular en fluid

Tot i els avenços en el coneixement del rol de la MCV en el DC, a la pràctica clínica no es disposa de biomarcadors en fluids biològics d'ús habitual, mantenint la caracterització de la MCV en l'àmbit de la neuroimatge. Tot i això,

l'ús de biomarcadors vasculars en el DC poden servir per a una millor caracterització dels pacients així com per aprofundir en el coneixement de mecanismes fisiopatològics vasculars concrets, ajudant a identificar dianes terapèutiques així com un possible rol com a marcadors pronòstics i/o predictius.

S'han proposat i estudiat nombrosos biomarcadors vasculars en fluids, incloent els relacionats amb la integritat de la BHE com per exemple indicadors de permeabilitat com el quocient d'albúmines entre el LCR i el sèrum (Qalb), mesures de proteïnes pròpies de la sang en LCR com fibrinogen o plasminogen, així com indicadors de dany de la unitat neurovascular com la citoquina proinflamatòria ciclofilina A (CyPA), proteïnes d'unió estreta (en anglès 'tight junctions'), metallo proteases o marcadors de dany del pericit com el receptor soluble del factor de creixement derivat de plaquetes β (sPDGFR β) entre altres. Alhora, es disposa de marcadors inflamatoris i de disfunció endotelial com la molècula d'adhesió intercel·lular soluble (sICAM-1) i la molècula d'adhesió cel·lular vascular soluble (sVCAM-1); indicadors de microangiogènesi com el factor de creixement endotelial (VEGF) o el factor de creixement placentari (PIGF) així com indicadors d'AAC.

A β -amiloide: l'AAC pot determinar-se mitjançant biomarcadors d' A β -amiloide en LCR, on s'observa una davallada dels pèptids A β 42 i A β 40 respecte els controls sans i amb menors nivells d'A β 40 en els casos d'AAC respecte MA(159,160).

sICAM-1, sVCAM-1: s'han descrit nivells elevats de sICAM-1 i sVCAM-1 en LCR en pacients amb AD respecte controls sans(161), així com en sang en MA i DCLeu respecte controls sans(162–164).

Qalb: indicador de la pBHE a mol·lècules grans, que augmenta en relació a la pèrdua d'integritat de la BHE observada en malalties neurodegeneratives(99,165). Tot i que en estudis previs s'havia relacionat un augment de Qalb amb la MA desde estadis preclínics fins a estadis avançats (166), estudis més recents indiquen que no hi ha diferències significatives entre l'augment de permeabilitat mesurat per Qalb entre la MA i altres malalties neurològiques, suggerint que la relació entre l'increment de Qalb observat en la MA pot ser degut a mecanismes vasculars(167–172).

sPDGFR β : en el context de dany al perícit, un dels tipus cel·lulars que conformen la unitat neurovascular de la BHE, s'observa un augment dels nivells de sPDGFR β al LCR. Estudis en models murins indiquen que la pèrdua de perícits i d'integritat de la BHE contribueixen al DC i a la patologia Alzheimer(173). S'ha descrit que nivells elevats de sPDGFR β al LCR s'associen amb evidència d'augment de pBHE a l'hipocamp a l'envelliment normal, el DCL i la MAdm(99,174). Per altra banda, s'ha descrit l'associació entre l'increment de sPDGFR β en LCR i el declivi cognitiu, així com amb augment de pBHE a estructures típiques de la MA de forma independent a l'increment de biomarcadors d'amiloide i Tau en estadis predemència, el que suggereix un mecanisme independent de l'amiloïdosi i la taupatia(100). En estudis longitudinals, s'ha descrit l'associació entre nivells de sPDGFR β en LCR i la progressió del DC en individus amb DCL(175). De forma interessant, s'ha descrit que els nivells de sPDGFR β en portadors de l'haplotip APOE- ϵ 4 correlacionen amb Qalb i associen major risc de progressió del DC independentment dels nivells d'A β -amiloide i Tau, indicant un possible mecanisme de dany de BHE via

dany del pericit relacionat amb APOE- ϵ 4 i independent de la patologia Alzheimer(101).

1.7.3 Biomarcadors de malaltia d'Alzheimer en sang i pronòstic del deteriorament cognitiu

Uns nivells més elevats de p-tau217, p-tau181 i GFAP en plasma en pacients amb DCL estan associats amb una posterior progressió cap a la demència d'Alzheimer(138,176–180). La combinació dels valors continus de p-tau217 (o p-tau181) en plasma amb el rendiment en proves cognitives breus supera les prediccions fetes per experts en demència i ofereix resultats similars als models pronòstics basats en LCR quan es prediu el desenvolupament de la MAdm dins d'un període de 2 a 6 anys en pacients amb DCL(176,179). Per últim, models pronòstics basats en p-tau i NfL en sang poden predir canvis en la cognició global en pacients amb DCL de forma similar als models basats en biomarcadors del LCR(176,178).

2. JUSTIFICACIÓ

Les malalties neurodegeneratives, especialment la MA, així com la MCV, són les principals causes del DC i la demència. Els individus amb DC acostumen a experimentar diversos processos fisiopatològics simultàniament (dipòsit de proteïnes de conformació anòmla, neuroinflamació, pèrdua sinàptica o neurodegeneració entre altres). Alhora, els mecanismes vasculars són presents en la majoria de casos provocant MCV la qual pot constituir la causa principal o bé contribuir al DC en el context de les malalties neurodegeneratives, en especial de la MA amb la qual comparteix factors de risc. Un aspecte menys estudiat és si aquests mecanismes vasculars podrien implicar diferències en el pronòstic individual dels pacients.

Tot i que els biomarcadors *in vivo* de MA d'ús actual (biomarcadors propis de la MA en líquid cefalorraquidi –LCR– i PET-cerebral amiloide) permeten un diagnòstic clínic-biològic de la mateixa, la seva disponibilitat és limitada, tant per la utilització de tècniques invasives per la seva obtenció, com pels costos.

És fonamental desenvolupar nous biomarcadors de fàcil accés per al diagnòstic biològic de la MA i altres malalties neurodegeneratives, així com biomarcadors que permetin una caracterització dels diferents mecanismes fisiopatològics i informació pronòstica per a una medicina més precisa i personalitzada. Disposar de proves diagnòstiques de fàcil accés i amb menors costos globals és d'especial rellevància en el context de l'arribada de tractaments modificadors de la MA.

Durant els darrers anys s'han desenvolupant noves tècniques de laboratori que permeten mesures de biomarcadors de MA en sang. Alhora, és possible que biomarcadors relatius a mecanismes vasculars, puguin aportar informació amb

caràcter pronòstic. Així mateix, és de gran interès avaluar la capacitat diagnòstica i/o pronòstica dels biomarcadors en cohorts clíniques, amb una elevada heterogeneïtat en quant a característiques clíniques i de comorbiditats, que impliquen una major validesa externa en el context assistencial.

3. HIPÒTESI

- L'estudi de nous biomarcadors de la MA, així com la determinació de biomarcadors vasculars en fluids biològics, proporcionarà informació per a la millora del diagnòstic i la determinació del pronòstic de pacients amb DC en un context assistencial.

4. OBJECTIUS

3.1. Objectiu principal

Estudiar el paper de nous biomarcadors de la MA i de biomarcadors vasculars en fluids biològics en una cohort clínica de DC, avaluant la seva capacitat d'aportar informació diagnòstica i pronòstica respectivament, en un context assistencial.

3.2. Objectius secundaris

1. Creació d'una cohort clínica de pacients amb DC (cohort BIODGEGMAR).
La cohort inclourà un adequat fenotipat, banc de mostres biològiques així com dades clíniques longitudinals.
2. Comparació de la capacitat diagnòstica de nous biomarcadors de MA en sang en la població de la cohort BIODGEGMAR. S'avaluarà la capacitat de diagnòstic biològic de la MA comparant diferents assajos de p-tau en sang, utilitzant els biomarcadors de MA en líquid cefal·lorraquidi (LCR) com a criteri de referència.
3. Avaluar l'associació entre un biomarcador vascular en fluid indicador de pBHE, el quocient entre albúmina en LCR i sang (Qalb) i el pronòstic del DC dels pacients de la cohort BIODGEGMAR.

5. COMPENDI DE PUBLICACIONS

5.1 Cohort BIODEGMAR

El doctorant va iniciar, durant l'any 2016, el disseny del registre DEGMAR i de la cohort BIODEGMAR, que foren aprovades i s'iniciaren el 2017.

El registre DEGMAR, observacional i prospectiu amb dades sociodemogràfiques, clíniques, neuropsicològiques i de neuroimatge, inclou pacients visitats a la unitat de Cognició i Conducta i de Trastorns del Moviment de l'Hospital del Mar a Barcelona, hospital universitari de referència per a una població de 350.000 habitants de la ciutat de Barcelona (ària integral de salut Barcelona Litoral Mar).

La cohort BIODEGMAR és un estudi observacional longitudinal que inclou pacients del registre DEGMAR. Els procediments de l'estudi inclouen una avaluació clínica per part de neuròleg especialitzat, una avaluació neuropsicològica, neuroimatge mitjanant ressonància magnètica (excepte en casos contraindicats) i obtenció de mostres biològiques (mostres de LCR excepte en casos on la punció lumbar està contraindicada o no és possible i mostra de sang). El protocol inclou seguiment clínic i nova avaluació neuropsicològica anualment durant 3 anys (pot extendre's en funció de l'estat clínic del pacient). Una descripció més extensa sobre el protocol de l'estudi, incloent els criteris d'inclusió i exclusió, els criteris de diagnòstic clínic, els procediments i mesures dels biomarcadors de MA en LCR i els seus punts de tall s'inclouen a l'Annex 1.

5.1.1 Descripció de la cohort BLODEGMAR

Entre el 27 d'abril de 2017 i el 29 d'abril de 2024, s'han inclòs un total de 611 participants, el 57.8% són dones. En un total de 584 casos (95.6%) es va realitzar punció lumbar per a realitzar mesures de biomarcadors propis de MA en LCR. La majoria dels pacients participants compleixen criteris de DCL amb puntuació global a l'escala 'clinical dementia rating' (CDR)=0.5 (n=207, 34%) i DC moderat o demència lleu (CDR=1, n=157, 25.7%)(181). En quant al diagnòstic clínic, la gran majoria s'inclouen en el grup de DCL (30.8%) i MAdm (36.3%). Les principals característiques sociodemogràfiques i clíniques es mostren a la taula 1.

En quant al perfil de biomarcadors de MA en LCR, els resultats mostren que el 61.6% del total de la cohort mostra un perfil de biomarcadors compatible amb MA. Prenent com a referència el punt de tall d'A β 42/p-tau181 <10.25, d'ús habitual en la pràctica clínica al nostre centre, s'observa que el 55.7% dels casos amb diagnòstic clínic de DCL, mostren un perfil indicatiu de MA, proporció que augmenta en els casos amb diagnòstic clínic de MAdm (89.7%). Les taules 2 i 3 mostren informació sobre les mesures de biomarcadors propis de MA en LCR, APOE- ϵ 4, càrrega de MCV a la neuroimatge i classificació del perfil de biomarcadors de MA seguint el sistema ATN.

COMPENDI DE PUBLICACIONS | COHORT BIODEGMAR

	Total (611)	CS (13)	DCS (36)	DCL (188)	MAdm (222)	DCV (26)	DFTvc (20)	DCLew (17)	AP (20)	PSP/SCB (16)	Altres (53)
Sociodemogràfic											
Edat, anys (%)	72.5 (6.0)	72 (6.0)	69.2 (6.4)	73.0 (5.6)	73.6 (4.9)	72.6 (7.1)	66.9 (7.9)	75.2 (5.1)	71.1 (6.7)	71.4 (5.3)	70.7 (8.0)
Sexe (Dona), n (%)	353 (57.8)	6 (46.2)	17 (47.2)	99 (52.7)	146 (65.8)	13 (50)	9 (45)	8 (47.1)	14 (70)	11 (68.8)	30 (56.6)
DM dreta, n (%)	592 (96.9)	13 (100.0)	34 (94.4)	181 (96.3)	217 (97.7)	25 (96.2)	19 (95.0)	17 (100.0)	18 (90.0)	16 (100.0)	52 (98.1)
Escolaritat, anys mitjana (DE)	8.3 (4.2)	10.3 (4.7)	10.6 (4.0)	8.5 (4.2)	7.8 (4.30)	7.5 (3.7)	8.5 (3.7)	7.9 (5.1)	11.2 (3.8)	7.9 (4.8)	7.6 (2.92)
FRV											
Tabaquisme, n (%)	72 (11.8)	0 (0)	2(5.6)	22 (11.7)	24 (10.8)	2 (7.7)	5 (25)	2 (11.8)	3(15)	1 (6.3)	11 (20.8)
HTA, n (%)	332 (54.3)	2 (15.4)	15 (41.7)	102 (54.3)	129 (58.1)	18 (69.2)	10 (50)	8 (47.1)	9 (45)	9 (56.3)	30 (56.6)
DLP, n (%)	319 (52.2)	5 (38.5)	14 (38.9)	108 (57.4)	121 (54.5)	18 (69.2)	6 (30)	10 (58.8)	6 (30)	4 (25)	27 (50.9)
DM2, n (%)	132 (21.6)	2 (15.4)	2 (5.6)	44 (23.4)	48 (21.6)	12 (46.2)	4 (20)	3 (17.6)	2 (10)	3 (18.8)	12 (22.6)
Cognició global											
MMSE, mitjana (DE)	21.5 (5.4)	28.1(1.5)	27.9 (1.9)	23.8 (3.4)	19.1 (4.6)	20.1 (5.7)	23.3 (5.4)	15.9 (8.5)	17.5 (6.9)	20.1 (5.5)	21.3 (5.3)
GDS, mediana (Q1-Q3)	4 (3-4)	1 (1-1)	2 (2-2)	0.5 (.5-.5)	4 (4-4)	4 (3.75-5)	4.5 (3-5)	5 (4-6)	4 (3-4)	4 (4-6)	4 (3-5)
CDR, mediana (Q1,Q3)	1 (.5-2)	0 (0-0)	0 (0-0)	3 (3-3)	2 (1-2)	1 (1-2)	1.5(.5-2.75)	2 (1.5-3)	1 (.5-2)	2 (1-3)	1 (.5-3)

Taula 1. Característiques sociodemogràfiques, FRV i cognició global dels participants en la cohort BIODEGMAR. AP: afàsia progressiva; DFTvc: demència frontotemporal variant conductual; DM: dominància manual; DE: desviació estàndard; FRV: factors de risc vascular, GDS: global deterioration scale (241);MMSE: mini-mental state exam; PSP: paràlisi supranuclear progressiva; Q1: quartil 1; Q3: quartil 3; SCB: síndrome corticobasal.

COMPENDI DE PUBLICACIONS | COHORT BIODEGMAR

	Total (584)	CS (13)	DCS (35)	DCL (183)	MAdm (214)	DCV (24)	DFTvc (19)	DCLew (16)	AP (19)	PSP/SCB (14)	Altres (47)
Biomarcadors MA en LCR											
Aβ42/Aβ40	0.052	0.088	0.079	0.053	0.046	0.058	0.093	0.064	0.054	0.063	0.081
mediana (Q1-Q3)	(0.042-0.084)	(0.050-0.11)	(0.052-0.097)	(0.042-0.088)	(0.038-0.052)	(0.043-0.094)	(0.086-0.10)	(0.52-0.73)	(0.46-0.96)	(0.043-0.95)	(0.048-0.10)
p-tau181 (pg/ml)	76.5	53.8	42.9	69.5	107.2	56.4	38.1	48.15	68.9	53.20	48.5
mediana (Q1-Q3)	(45.7-118.7)	(38.25-61.2)	(35.5-63.6)	(43.3-112.9)	(77.2-134.2)	(39.7-88)	(28-44.4)	(30.3-67.0)	(50.4-110.5)	(40.1-90.4)	(34.1-82.4)
t-tau (pg/ml)	515	390	323	457	687	381	283	357	476	341	370
mediana (Q1-Q3)	(332-740)	(286.5-434.5)	(256-479)	(298-717)	(510-863.5)	(254-976.5)	(222-372)	(268.8-506.3)	(375-679)	(279.3-595)	(218-669)
APOE-ε4, n (%)	193 (41.6)	3 (25)	8 (27.6)	46 (37.1)	106 (57.9)	6 (28.6)	3 (17.6)	4 (30.8)	4 (23.5)	3 (25)	10 (27.8)
MCV+, n (%)	202 (40.8)	1 (33.3)	3 (13.6)	55 (35.3)	79 (41.4)	23 (100)	10 (55.6)	6 (42.9)	3 (20)	5 (41.7)	18 (43.9)
Qalb, mg/g	4.95	5.11	4.24	5.26	4.60	7.71	5.51	5.85	4.08	4.74	5.53
mediana (Q1-Q3)	(3.73-6.72)	(3.88-7.53)	(3.23-6.71)	(3.72-6.93)	(3.71-5.97)	(5.11-9.93)	(4.26-7.41)	(4.49-8.90)	(3.36-5.95)	(3.09-5.99)	(3.89-7.16)

Taula 2. Nivells de biomarcadors propis de la MA en LCR; APOE-ε4; càrrega de MCV i pBHE en participants de la cohort BIODEGMAR amb mostres de LCR. MCV+: leucoaraiosi >1 punt a escala Fazekas i/o lesions llacunars/gran vas/microhemorràgies a la ressonància magnètica). Informació sobre MCV disponible per a 495 participants. Informació sobre APOE-ε disponible per a 464 participants.

	BIOMARCADORS propis de MA en LCR							Total
	Perfil MA (A β 42/p-tau181)		ATN					
	MA-	MA+	A-T-N-	A-T-+N-+	A+T-N-	A+T-N+	A+T+N+-	
CS, n (%)	10 (76.9)	3 (23.1)	9 (69.2)	0 (0)	2 (15.4)	0 (0)	2 (15.4)	13
DCS, n (%)	27 (77.1)	8 (22.9)	20 (57.1)	2 (5.7)	7 (20)	1 (2.9)	5 (14.3)	35
DCL, n (%)	81 (44.3)	102 (55.7)	67 (36)	5 (2.7)	25 (13.7)	1 (0.5)	85 (46.4)	183
MAdm, n (%)	22 (10.3)	192(89.7)	13 (6.1)	7 (3.3)	23 (10.7)	1 (0.5)	170 (79.4)	214
DCV, n (%)	12 (50)	12 (50)	8 (33.3)	3 (12.5)	3 (12.5)	1 (4.2)	9 (37.5)	24
DFTvc, n (%)	17 (89.5)	2 (10.5)	14 (73.7)	4 (21.1)	1 (5.3)	0 (0)	0 (0)	19
DCLw, n (%)	11 (68.8)	5 (31.3)	8 (50)	2 (12.5)	3 (18.8)	1 (6.3)	2 (12.5)	16
AP, n (%)	8 (42.1)	11 (57.9)	7 (36.8)	0 (0)	3 (15.8)	0 (0)	9 (47.4)	19
PSP/SCB, n (%)	7 (50)	7 (50)	6 (42.9)	1 (7.1)	3 (21.4)	1 (7.1)	4 (28.6)	14
Altres, n (%)	29 (61.7)	18 (38.3)	24 (51.1)	7 (14.9)	0 (0)	1 (2.1)	10 (21.3)	47
TOTAL, n (%)	224 (38.4)	360 (61.6)	176 (30.1)	31 (5.3)	75 (12.8)	6 (1)	296 (50.7)	584

Taula 3. Classificació dels participant segons el perfil de biomarcadors de MA en LCR. Perfil MA+ (MA+) = LCR A β 42/p-tau181<10.25. A+=A β 42/A β 40<0.062; T+=p-tau181>69.9pg/ml; N+= t-tau >522pg/ml. % respecte la n total de cada diagnòstic, no sobre els grups de la classificació.

Dades longitudinals: a data de 29 d'abril de 2024, es disposa de dades de seguiment d'un total de 504 participants (82.5%), amb una mediana de seguiment de 25.4 mesos (18.3-29.6), i un màxim de 67.8 mesos.

5.2 Article 1

Plasma and CSF biomarkers in a memory clinic: Head-to-head comparison of phosphorylated tau immunoassays.

Ashton NJ*, **Puig-Pijoan A***, Milà-Alomà M*, Fernández-Lebrero A, García-Escobar G, González-Ortiz F, Kac PR, Brum WS, Benedet AL, Lantero-Rodriguez J, Day TA, Vanbrabant J, Stoops E, Vanmechelen E, Triana-Baltzer G, Moughadam S, Kolb H, Ortiz-Romero P, Karikari TK, Minguillon C, Hernández Sánchez JJ, Navalpotro-Gómez I, Grau-Rivera O, María Manero R, Puente-Periz V, de la Torre R, Roquer J, Dage JL, Zetterberg H, Blennow K", Suárez-Calvet M".

* primers autors

" autors de correspondència

Alzheimers Dement. 2023 May;19(5):1913-1924. doi: 10.1002/alz.12841. Epub 2022 Nov 12. PMID: 36370462; PMCID: PMC10762642.

RESEARCH ARTICLE

Plasma and CSF biomarkers in a memory clinic: Head-to-head comparison of phosphorylated tau immunoassays

Nicholas J. Ashton^{1,2,3,4} | Albert Puig-Pijoan^{5,6,7} | Marta Milà-Alomà^{6,8,9,10} |
 Aida Fernández-Lebrero^{5,6,8} | Greta García-Escobar⁵ | Fernando González-Ortiz^{1,8} |
 Przemysław R. Kac¹ | Wagner S. Brum^{1,11} | Andréa L. Benedet¹ |
 Juan Lantero-Rodríguez¹ | Theresa A. Day¹² | Jeroen Vanbrabant¹³ | Erik Stoops¹³ |
 Eugene Vanmechelen¹³ | Gallen Triana-Baltzer¹⁴ | Setareh Moughadam¹⁴ |
 Hartmuth Kolb¹⁴ | Paula Ortiz-Romero^{6,8} | Thomas K. Karikari^{1,15} |
 Carolina Minguiñon^{6,8,10} | Juan José Hernández Sánchez¹⁶ |
 Irene Navalpotro-Gómez^{5,6,8} | Oriol Grau-Rivera^{5,6,8,10} | Rosa María Manero^{5,6} |
 Víctor Puente-Periz^{5,6} | Rafael de la Torre^{6,17,18} | Jaume Roquer^{5,6,7} | Jeff L. Dage¹⁹ |
 Henrik Zetterberg^{1,20,21,22,23} | Kaj Blennow^{1,20} | Marc Suárez-Calvet^{5,6,8,10}

¹Department of Psychiatry and Neurochemistry, Institute of Neuroscience and Physiology, The Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Sweden

²Wallenberg Centre for Molecular and Translational Medicine, Department of Psychiatry and Neurochemistry, Institute of Neuroscience and Physiology, The Sahlgrenska Academy at the University of Gothenburg, Sweden

³King's College London, Institute of Psychiatry, Psychology & Neuroscience, Maurice Wohl Clinical Neuroscience Institute, London, UK

⁴NIHR Biomedical Research Centre for Mental Health & Biomedical Research Unit for Dementia at South London & Maudsley NHS Foundation, London, UK

⁵Cognitive Decline and Movement Disorders Unit, Neurology Department, Hospital del Mar, Barcelona, Spain

⁶IMIM (Hospital del Mar Medical Research Institute), Barcelona, Spain

⁷Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

⁸Barcelonaβeta Brain Research Center (BBRC), Pasqual Maragall Foundation, Barcelona, Spain

⁹Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain

¹⁰Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES), Madrid, Spain

¹¹Graduate Program in Biological Sciences: Biochemistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brazil

¹²Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Indianapolis, Indiana, USA

¹³ADx NeuroSciences, Technologiepark 94, Ghent, Belgium

¹⁴Neuroscience Biomarkers Janssen Research & Development La Jolla California, USA

¹⁵Department of Psychiatry, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA

¹⁶Laboratori de Referència de Catalunya, Barcelona, Spain

¹⁷Department of Experimental and Health Sciences, Universitat Pompeu Fabra (CEXS-UPF), Barcelona, Spain

¹⁸Centro de Investigación Biomédica en Red Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Madrid, Spain

¹⁹Stark Neurosciences Research Institute, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana, USA

²⁰Clinical Neurochemistry Laboratory, Sahlgrenska University Hospital, Mölndal, Sweden

Nicholas J. Ashton, Albert Puig-Pijoan, and Marta Milà-Alomà contributed equally to this work.

Kaj Blennow and Marc Suárez-Calvet are equal senior co-authors on this work.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

© 2022 The Authors. *Alzheimer's & Dementia* published by Wiley Periodicals LLC on behalf of Alzheimer's Association.

²¹Department of Neurodegenerative Disease, UCL Institute of Neurology, London, UK

²²UK Dementia Research Institute at UCL, London, UK

²³Hong Kong Center for Neurodegenerative Diseases, Hong Kong, China

Correspondence

Kaj Blennow, Clinical Neurochemistry Laboratory, Sahlgrenska University Hospital, Mölndal, Sweden, and the Department of Psychiatry and Neurochemistry, Institute of Neuroscience and Physiology, The Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, SE 43180, Gothenburg, Sweden.
Email: kaj.blennow@neuro.gu.se

Marc Suárez-Calvet, Fluid Biomarkers and Translational Neurology Research Group, Alzheimer Prevention Program – Barcelonaβeta Brain Research Center, Wellington 30, 08005, Barcelona, Spain.
Email: msuarez@barcelonabeta.org

Abstract

Introduction: Direct comparisons of the main blood phosphorylated tau immunoassays in memory clinic populations are needed to understand possible differences.

Methods: In the BIODGMAR study, 197 participants presenting with cognitive complaints were classified into an Alzheimer's disease (AD) or a non-AD cerebrospinal fluid (CSF) profile group, according to their amyloid beta 42/ phosphorylated tau (Aβ42/p-tau) ratio. We performed a head-to-head comparison of nine plasma and nine CSF tau immunoassays and determined their accuracy to discriminate abnormal CSF Aβ42/p-tau ratio.

Results: All studied plasma tau biomarkers were significantly higher in the AD CSF profile group compared to the non-AD CSF profile group and significantly discriminated abnormal CSF Aβ42/p-tau ratio. For plasma p-tau biomarkers, the higher discrimination accuracy was shown by Janssen p-tau217 ($r = 0.76$; area under the curve [AUC] = 0.96), ADx p-tau181 ($r = 0.73$; AUC = 0.94), and Lilly p-tau217 ($r = 0.73$; AUC = 0.94).

Discussion: Several plasma p-tau biomarkers can be used in a specialized memory clinic as a stand-alone biomarker to detect biologically-defined AD.

KEYWORDS

biomarker, dementia, disease, phosphorylated tau, plasma, tau

Highlights

- Patients with an Alzheimer's disease cerebrospinal fluid (AD CSF) profile have higher plasma phosphorylated tau (p-tau) levels than the non-AD CSF profile group.
- All plasma p-tau biomarkers significantly discriminate patients with an AD CSF profile from the non-AD CSF profile group.
- Janssen p-tau217, ADx p-tau181, and Lilly p-tau217 in plasma show the highest accuracy to detect biologically defined AD.
- Janssen p-tau217, ADx p-tau181, Lilly p-tau217, Lilly p-tau181, and UGot p-tau231 in plasma show performances that are comparable to their CSF counterparts.

1 | BACKGROUND

Recent efforts have focused on developing blood biomarkers for neurodegenerative diseases, which have resulted in important advances.¹ We can now assert that—at least for research purposes—several blood biomarkers accurately detect Alzheimer's disease (AD) pathology. Cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers and amyloid β (Aβ) positron emission tomography (PET) continue to be the established tests to support an in vivo diagnosis of AD,² which should always be interpreted in the context of a comprehensive neurological and neuropsychological assessment. Blood biomarkers offer major advantages over both of these tests as they are less invasive, cheaper, and have the potential of

a higher scalability for widespread application. Due to this, the future implementation of blood biomarkers, as either screening or diagnostic tools, will naturally increase the diversity of the examined population, in both demographic composition and clinical presentations.

The most promising AD blood biomarkers include the measurement of Aβ species (by mass spectrometry or immunodetection methods),^{3–8} tau (either phosphorylated tau [p-tau] or total tau [t-tau]),^{9–14} the reactive astrogliosis marker glial fibrillary acidic protein (GFAP)¹⁵ and, although not specific for AD, the neurodegeneration marker neurofilament light chain (NfL).¹⁶ Several assays targeting p-tau in blood have been developed, with the best success achieved by assays measuring tau phosphorylated at threonine 181 (T181),^{9,10,17} 217 (T217),^{12,18,19}

or 231(T231).^{14,20} Blood p-tau assays have demonstrated a high accuracy to discriminate asymptomatic and symptomatic AD from other neurological diseases and healthy controls.^{9,10,12,14,17,18} The emergence of blood p-tau assays has occurred in parallel with the discovery of new CSF p-tau assays that quantify N-terminal tau species, thereby improving the diagnostic performance of the more widely used CSF assays targeting the mid-region tau and phosphorylation at T181.¹³ It is important to note that commercial blood and CSF p-tau assays have also been recently developed and, hence, a number assays targeting tau will be soon widely available.

These promising and consistent results prompt the implementation of p-tau biomarkers in clinical settings and in clinical trials. Nonetheless, a comparison of the performances of a wide range of p-tau assays in a single study is lacking. Most available data have been published in different research cohorts, which may differ in the characteristics of the participants and pre-analytical and analytical procedures. In addition, biomarker measurements in the same cohort have occurred at different times, according to the evolution of biomarker development, which may add further variability. Therefore, a direct comparison of the discrimination accuracy of each of the p-tau biomarkers cannot be inferred based on these currently available results. Moreover, from the biochemical point of view, it remains unanswered whether a certain p-tau epitope (T181, T217, T231), assay composition, and/or platform has a superior accuracy. In addition, studies in patients routinely assessed at memory clinics are lacking. Many studies have been performed in highly specialized research cohorts, and it needs to be determined whether blood p-tau biomarkers also have a good performance in a real-world population of a memory clinic, which has a higher heterogeneity in patient demographics, co-morbidities, and disease presentations.

To this end, the main aim of this study was to perform a head-to-head and blinded comparison of plasma and CSF tau immunoassays and determine their accuracy to discriminate between biologically defined AD (prodromal or dementia stage) from non-AD in symptomatic individuals in a clinical setting.

2 | METHODS

2.1 | Participants

This is a cross-sectional study that included participants of the BIODEGMAR cohort, an observational longitudinal study that enrolls individuals with cognitive decline and/or neurodegenerative diseases visiting the Cognitive Decline and Movement Disorders Unit of Hospital del Mar (Barcelona, Spain).²¹ Participants from the BIODEGMAR cohort donated a blood sample and underwent a detailed neurological and neuropsychological evaluation, a brain magnetic resonance imaging (MRI) study, and a lumbar puncture. All participants included in the present study had a Global Deterioration Score (GDS) >1.²² Core AD CSF biomarkers (A β 42/40, p-tau, and t-tau) were measured with Lumipulse immunoassays (Fujirebio, Belgium). Participants were classified as AD CSF profile if the CSF A β 42/p-tau ratio was <10.²⁵²¹

RESEARCH IN CONTEXT

- 1. Systematic review:** The authors reviewed the literature using traditional sources (e.g., PubMed). Several publications investigating blood phosphorylated tau (p-tau) biomarkers have been published in recent years. Yet, few studies have performed head-to-head comparisons at memory clinics. These publications are properly cited throughout the manuscript.
- 2. Interpretation:** In this cross-sectional observational study in a memory clinic population, several plasma p-tau biomarkers, with differing epitope targets and analytical platforms, showed very high accuracy to discriminate patients with biologically defined Alzheimer's disease (AD) from non-AD. Several of these assays demonstrated comparable performance to cerebrospinal fluid (CSF) p-tau assays.
- 3. Future directions:** Our findings support the utility of plasma p-tau biomarkers as diagnostic tools in a heterogeneous memory clinic population. Further studies are needed to precisely determine the role of plasma biomarkers and their implementation for the assessment of cognitive decline complaints in clinical settings.

A comprehensive description of the BIODEGMAR cohort, the inclusion and exclusion criteria, the core AD CSF biomarkers measurements, and cutoffs determination can be found in the Methods section in the supporting information.

2.2 | Plasma and CSF tau biomarkers measurements

A total of nine immunoassays measuring plasma tau (8 \times p-tau and 1 \times t-tau) and corresponding CSF counterparts were investigated (Figure 1A). The design of p-tau Lumipulse immunoassay employed as the core AD CSF biomarker is displayed in Figure 1B. A detailed description of the immunoassays can be found in the Methods section and in Table S1 in the supporting information, and their analytical precision and sensitivity for this study are described in Table S2 in the supporting information. All plasma and CSF samples collected were treated identically. Polypropylene tubes of 1.8 mL of plasma or CSF collected in Barcelona were shipped to the University of Gothenburg with dry ice. In Gothenburg, the blinded samples were aliquoted into smaller volumes in polypropylene tubes and frozen at -80°C . Subsequently, one aliquot was shipped to each of the collaborators with dry ice (i.e., ADx, Janssen, Lilly), whereas two aliquots remained at the University of Gothenburg, where the Quanterix p-tau181 and the University of Gothenburg in-house immunoassays (p-tau181 and p-tau231) were performed. Each participating center sent their results

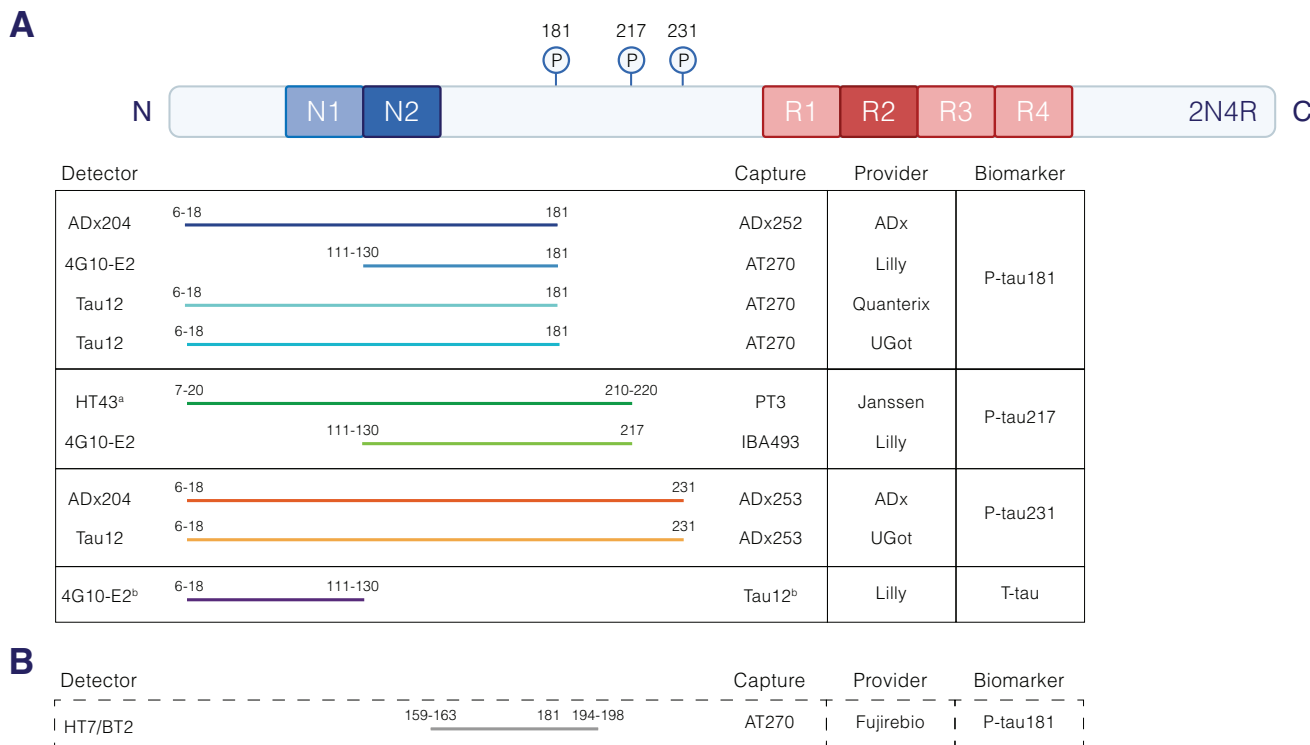


FIGURE 1 Diagram of tau depicting the antibodies and the epitopes recognized in each plasma immunoassay. Schematic diagram of the tau isoform (2N4R) of 441 amino acids, which comprises two N-terminal domains (N) and the four microtubule-binding domains (R). The phosphorylation sites T181, T217, and T231 are also shown. (A) The tau protein fragments recognized by the combination of antibodies of the immunoassays tested in this study. (B) The combination of antibodies employed in Lumipulse cerebrospinal fluid (CSF) phosphorylated tau (p-tau) assay, which was used to determine the Alzheimer's disease (AD) CSF profile (amyloid beta ($A\beta$)42/p-tau ratio). The epitopes recognized by each antibody are shown. ^aCSF Janssen p-tau217 used PT82 as detector antibody, which targets aa119-126 (Janssen R&D, Springhouse, PA). ^bPlasma Lilly t-tau assay, the capture antibody is Tau12, and detector antibody is 4G10-E2.

directly to the study coordinators at Barcelona β Brain Research Center (BBRC), who independently performed the data unblinding and the analysis. In addition, the same immunoassays in plasma were analyzed in paired CSF samples, to deduce the concordance when using the same antibody pairs in different matrices.

2.3 | Statistical analyses

Demographical and clinical data of the AD CSF profile group and the non-AD CSF profile group were compared with a *t*-test for continuous variables and a Pearson's chi-square test for categorical variables. We used a non-parametric test because most of the plasma and CSF tau biomarkers did not meet the assumption that the underlying residuals are normally distributed. Comparisons between the AD CSF profile group and non-AD CSF profile group were tested with a Mann-Whitney *U* test. Plasma and CSF tau biomarkers levels are presented as medians and interquartile ranges. The effect sizes of the comparisons (*r*) were calculated by dividing the absolute (positive) standardized test statistic *Z* by the square root of the total number of individuals.²³ We tested the accuracy of plasma and CSF tau biomarkers to discriminate between AD CSF profile and non-AD CSF profile with receiver-operating characteristic (ROC) analyses. We computed areas under the curve (AUCs)

and their 95% confidence intervals (CIs). The AUCs of two ROC curves were compared using the DeLong test, and we applied a false discovery rate (FDR) multiple comparison correction.²⁴ Optimal cutoffs for each tau biomarker were calculated at the highest Youden's index (sensitivity + specificity - 1). We used a Spearman rank-order correlation to test the correlations between biomarkers. The analyses in the main text were performed in the whole cohort study and using CSF $A\beta$ 42/p-tau as a reference method for the biological diagnosis of AD.²¹ Sensitivity analyses were performed in those patients with a syndromic diagnosis of subjective cognitive decline (SCD), mild cognitive impairment (MCI), and dementia, or only predementia stages (SCD and MCI). Additional analyses were performed using CSF $A\beta$ 42/40 as a reference method.

3 | RESULTS

3.1 | Patient characteristics

From April 27, 2017 to July 24, 2020, a total of 233 participants were included in the BIODEGMAR cohort at the Cognitive Decline and Movement Disorders Unit of Hospital del Mar (Barcelona, Spain). In the present study, we excluded 13 participants with normal cognition and

TABLE 1 Participants' characteristics in the BIODEGMAR cohort

	Non-AD CSF profile (n = 70, 35.5%)	AD CSF profile (n = 127, 64.5%)	Total (n = 197)	P-value
Age, years	70.7 (6.47)	73.2 (5.28)	72.3 (5.83)	0.008
Female, n (%)	34 (48.6)	75 (59.1)	109 (55.3)	0.16
Education, years	8.39 (4.46)	8.29 (4.23)	8.33 (4.30)	0.879
APOE ε4 carriers, n (%)	10 (15.9)	75 (63.6)	85 (47)	<0.001
Age at symptom onset, years	67 (7.15)	69.4 (5.8)	68.5 (6.40)	0.17
Symptom duration, years	3.37 (2.94)	3.33 (2.9)	3.35 (2.91)	0.925
MMSE	25 (22–28)	21 (18–24)	23 (19–26)	<0.001
AD CSF core biomarkers (Lumipulse)				
Aβ42/40	0.092 (0.071–0.10)	0.043 (0.037–0.050)	0.050 (0.040–0.078)	<0.001
p-tau181 (pg/ml)	40.4 (28.3–55.8)	109.6 (79.9–140)	81.8 (48.6–126.3)	<0.001
t-tau (pg/ml)	298 (209–425)	649 (484–879)	515 (322–753)	<0.001

Note: Data are expressed as mean (M) and standard deviation (SD) [age, education, age at symptom onset, symptom duration], median (M) and interquartile range (IQR) [MMSE, AD CSF core biomarkers] or number of participants (n) and percentage (%) [sex, APOE ε4 carrier AD]. AD CSF profile was defined by a CSF Aβ42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse G600II, Fujirebio). MMSE was not available in 23 (11.8%) individuals. APOE ε4 genotype was not available in 16 (8.1%) individuals. P-values tested the difference between AD CSF core biomarkers profile groups and were computed with a t-test (age, education, age at symptom onset, symptom duration), a Mann-Whitney U test (MMSE, AD CSF core biomarkers), or a chi-square (sex, APOE ε4 carrier status). Clinical diagnoses of the non-AD CSF group (n = 70): 14 SCD, 33 MCI, 6 AD dementia, 3 LBD, 1 VCID, 2 PSP/CBS, 5 bvFTD, 5 PA, 1 CAA. Clinical diagnoses of the AD CSF group (n = 127): 4 SCD, 49 MCI, 54 AD dementia, 1 LBD, 3 VCID, 5 PSP/CBS, 7 PA, 2 CAA, 2 unclassifiable dementia. Clinical Dementia Rating (CDR) of the non-AD CSF group (n = 70): 16 CDR = 0, 34 CDR = 0.5, 12 CDR = 1, 7 CDR = 2, 1 CDR = 3. CDR of the AD CSF group (n = 127): 4 CDR = 0, 43 CDR = 0.5, 43 CDR = 1, 32 CDR = 2, 5 CDR = 3.

Abbreviations: Aβ, amyloid beta; AD, Alzheimer's disease; bvFTD, behavioral variant of Frontotemporal dementia; CBS, corticobasal syndrome; CCA, cerebral amyloid angiopathy; CDR, Clinical Dementia Rating; CSF, cerebrospinal fluid; LBD, Lewy body dementia; MCI, mild cognitive impairment; MMSE, Mini-Mental State Examination; PA, progressive aphasia; PSP, progressive supranuclear palsy; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; SCD, subjective cognitive decline; t-tau, total tau; VCID, vascular cognitive impairment and dementia.

no subjective cognitive decline (GDS = 1), 1 participant with a normal pressure hydrocephalus, and 22 participants with either no CSF and/or plasma sample remaining for one or more tested immunoassay. Thus, a total of 197 individuals were included herein. Participants had the following syndromic diagnosis: 18 subjective cognitive decline (SCD), 82 mild cognitive impairment (MCI), 60 Alzheimer's disease (AD) dementia, 4 Lewy body dementia (LBD), 4 vascular cognitive impairment and dementia (VCID) with predominant small vessel disease, 3 with radiological evidence of cerebral amyloid angiopathy (CAA) 7 progressive supranuclear palsy or corticobasal syndrome (PSP, CBS), 5 behavioral variant of frontotemporal dementia (bvFTD), 12 progressive aphasia (PA), and 2 unclassified dementia syndromes. Regardless of the syndromic diagnosis, all patients were classified based on their AD CSF core biomarker profile (i.e., CSF Aβ42/p-tau ratio), and their characteristics are summarized in Table 1. Participants with an AD CSF profile (n = 127) were significantly older and had a lower Mini-Mental Status Examination (MMSE) score compared with the non-AD CSF profile (n = 70). There was a significantly higher percentage of apolipoprotein E (APOE) ε4 carriers in the AD CSF profile group.

3.2 | Levels of tau plasma and CSF biomarkers

Table 2 shows the levels of the plasma and CSF tau biomarkers. Mann-Whitney U tests indicated that all plasma and CSF tau biomarkers

were significantly greater in the AD CSF profile group than in the non-AD CSF profile group, but with varying effect sizes (Figure 2, Table 2; Figure S1 in supporting information). A large effect size was found for plasma ADx p-tau181 ($r = 0.73$; $P < 0.001$), Janssen p-tau217 ($r = 0.76$; $P < 0.001$), Lilly p-tau181 ($r = 0.68$; $P < 0.001$), Lilly p-tau217 ($r = 0.73$; $P < 0.001$), and UGot p-tau231 ($r = 0.63$; $P < 0.001$). A medium effect size was found in plasma UGot p-tau181 ($r = 0.50$; $P < 0.001$), Quanterix p-tau181 ($r = 0.49$; $P < 0.001$), and Lilly t-tau ($r = 0.38$; $P < 0.001$), and a small effect was found in plasma ADx p-tau231 ($r = 0.26$; $P < 0.001$). All effect sizes of the CSF tau biomarkers were large ($r > 0.50$). The magnitude of the difference, as measured by the percentage increase of the median in the AD CSF profile group compared to the non-AD CSF profile group, is also shown in Figure 2, Figure S1 in supporting information, and Table 2. The results remained similar when the comparisons were adjusted by the effect of age (Table S3 in supporting information).

3.3 | Discrimination of AD CSF biomarker profile status

We next investigated how plasma and CSF tau biomarkers discriminate between patients with an AD CSF profile group from those with a non-AD CSF profile, regardless of the clinical diagnosis, in an ROC curve analysis (Figure 3, Table 3; Figure S2 in supporting information).

TABLE 2 Plasma and CSF tau biomarkers

Tau biomarkers (pg/ml)	Non-AD CSF profile (n = 70, 35.5%)	AD CSF profile (n = 127, 64.5%)	Total (n = 197)	P-value	r	%Inc.
ADx						
Plasma p-tau181	7.78 (4.84–12.68)	27.1 (20.0–37.1)	20.05 (9.12–30.4)	<0.001	0.73	248.3
CSF p-tau181	229.5 (163.6–360.8)	1095.1 (721–1406.6)	692.3 (303.5–225.1)	<0.001	0.75	377.2
Plasma p-tau231	3.70 (2.50–5.22)	5.13 (3.49–7.46)	4.63 (2.94–6.60)	<0.001	0.26	38.6
CSF p-tau231	48.3 (35.2–74.2)	173.4 (125–227.5)	123.4 (62.8–196.7)	<0.001	0.70	259
Janssen						
Plasma p-tau217	0.023 (0.014–0.039)	0.120 (0.070–0.201)	0.070 (0.029–0.146)	<0.001	0.76	421.7
CSF p-tau217	2.13 (0.80–3.41)	18.17 (11.3–30.1)	14.4 (5.37–24.8)	<0.001	0.72	753.1
Lilly						
Plasma p-tau181	0.61 (0.52–0.86)	1.58 (1.15–2.13)	1.18 (0.72–1.85)	<0.001	0.68	159
CSF p-tau181	20.3 (14.5–31.6)	66.8 (46.5–89.0)	47.8 (27.3–76.4)	<0.001	0.74	229.1
Plasma p-tau217	0.15 (0.12–0.20)	0.49 (0.36–0.74)	0.36 (0.18–0.59)	<0.001	0.73	226.7
CSF p-tau217	4.50 (2.85–7.34)	32.3 (20.3–44.9)	20.07 (6.26–38.4)	<0.001	0.79	618
Plasma t-tau	26.7 (22.9–35.0)	36.4 (29.4–49.6)	32.5 (25.8–44.1)	<0.001	0.38	36.3
CSF t-tau	1022.2 (763–1495)	2012.2 (1401.6–2496.1)	1568.8 (1147.6–2260.4)	<0.001	0.57	96.8
Quanterix						
Plasma p-tau181	2.65 (1.71–3.53)	4.40 (3.35–5.54)	3.67 (2.70–5.05)	<0.001	0.49	66
CSF p-tau181	33.6 (25.3–55.1)	168.8 (120.9–224.5)	120.7 (45.4–192.4)	<0.001	0.76	402.4
UGot (in house)						
Plasma p-tau181	11.2 (10.1–14.2)	15.5 (13.5–18.2)	14.7 (12.2–17.7)	<0.001	0.50	38.4
CSF p-tau181	381.4 (325.5–455.8)	801.3 (642.9–950.6)	652.3 (411.7–855.9)	<0.001	0.73	110.1
Plasma p-tau231	6.46 (4.82–8.79)	12.6 (9.48–15.9)	10.7 (7.37–14.4)	<0.001	0.63	95

P-values were computed with a Mann-Whitney *U* test for all plasma or CSF biomarkers. The effect sizes of the comparisons were shown as *r* (which is calculated by dividing the absolute standardized test statistic *Z* by the square root of the total number of individuals) and with the percentage (%) increase of the tau biomarker median in the AD CSF group compared to the non-AD group.

Note: Data are expressed as median (M) and interquartile range (IQR). AD CSF profile was defined by a CSF A β 42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse G600II, Fujirebio).

Abbreviations: AD, Alzheimer's disease; CSF, cerebrospinal fluid; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; p-tau217, tau phosphorylated at threonine 217; p-tau231, tau phosphorylated at threonine 231; t-tau, total tau.

In plasma, the calculated AUCs were the following (from highest to lowest): Janssen p-tau217 (0.96, 95% CI 0.93–0.99), ADx p-tau181 (0.94, 95% CI 0.91–0.97), and Lilly p-tau217 (0.94, 95% CI 0.90–0.98), Lilly p-tau181 (0.91, 95% CI 0.86–0.96), UGot p-tau231 (0.88, 95% CI 0.83–0.93), Quanterix p-tau181 (0.80, 95% CI 0.73–0.87), and UGot p-tau181 (0.80, 95% CI 0.73–0.87), Lilly t-tau (0.73, 95% CI 0.65–0.81), and ADx p-tau231 (0.66, 95% CI 0.58–0.74). DeLong tests between AUCs showed that Janssen p-tau217, ADx p-tau181, Lilly p-tau217, Lilly p-tau181, and UGot p-tau231 had significantly better discriminative accuracy than Quanterix p-tau181, UGot p-tau181, Lilly t-tau, or ADx p-tau231. All of the AUC comparisons using the DeLong test within plasma tau biomarkers or within CSF tau biomarkers are shown in Table 3.

In addition, we tested whether the AUC of a plasma biomarker differed from its CSF counterpart. The discriminative accuracy of ADx p-tau231, Lilly t-tau, Quanterix p-tau181, and UGot p-tau181 immunoassays in plasma were significantly lower than those in CSF. The rest of the tau immunoassays (ADx p-tau181, Janssen p-tau217,

Lilly p-tau181, Lilly p-tau217, and UGot p-tau231) did not have a different discriminative accuracy when performed in plasma or in CSF (Table 3). The tau biomarkers cutoff points using Youden's index and the resulting values of sensitivity and specificity are shown in Table S4.

Considering that this is a diverse cohort that includes syndromic diagnoses, not typically caused by AD, we performed additional analyses by only including patients with a clinical syndrome of SCD, MCI, and AD dementia ($n = 160$; Figure S3 and Table S5) or only including the pre-dementia (i.e., SCD and MCI) clinical syndromes ($n = 100$; Figure S4 and Table S6). The AUCs calculated in these subsets of patients were very similar to those calculated in the entire sample (Tables S7 and S8).

Finally, we also repeated the ROC analyses but using the CSF A β 42/40 ratio as a reference standard (AD CSF profile if CSF A β 42/40 < 0.062; Table S9 for the participants' characteristics). The results were similar, but most plasma and CSF tau immunoassays had a slightly lower AUC than when using the CSF A β 42/p-tau ratio (Tables S10 and S11).

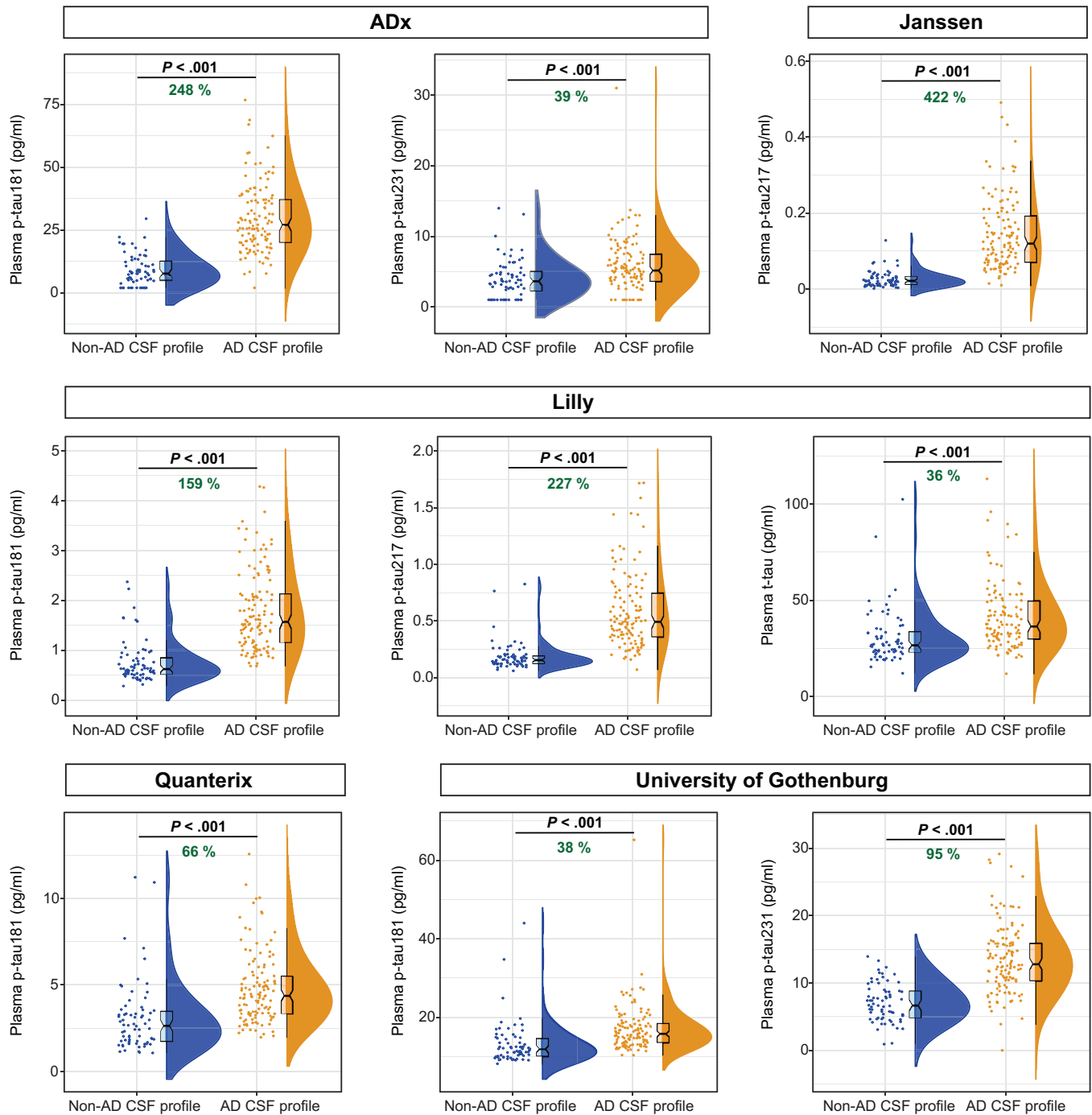


FIGURE 2 Levels of the plasma tau biomarkers in the non-AD versus the AD cerebrospinal fluid (CSF) profile groups, visualized as raincloud plots. Each point indicates a tau measurement of an individual. The box plot indicates the median (horizontal line), interquartile range (box), and 1.5 \times interquartile range (whiskers). The width of the shaded area (violin plot) represents the proportion of the data located there. AD CSF profile was defined by a CSF amyloid beta ($A\beta$)₄₂/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). *P*-values were computed with a Mann-Whitney *U* test for all plasma biomarkers. The percentage increase of the tau biomarkers in the AD CSF profile from the non-AD profile is shown in green.

3.4 | Correlations between tau biomarkers

We tested the correlation between plasma and CSF for each immunoassay (Figure S5). There was a strong correlation between plasma and CSF for ADx p-tau181 ($r = 0.67$; $P < 0.001$), Janssen

p-tau217 ($r = 0.69$; $P < 0.001$), Lilly p-tau181 ($r = 0.64$; $P < 0.001$), and Lilly p-tau217 ($r = 0.72$; $P < 0.001$). There was a moderate correlation for Quanterix p-tau181 ($r = 0.52$; $P < 0.001$), UGot p-tau181 ($r = 0.44$; $P < 0.001$), and UGot p-tau231 ($r = 0.54$; $P < 0.001$), and a weak correlation for ADx p-tau231 ($r = 0.22$; $P = 0.003$) and

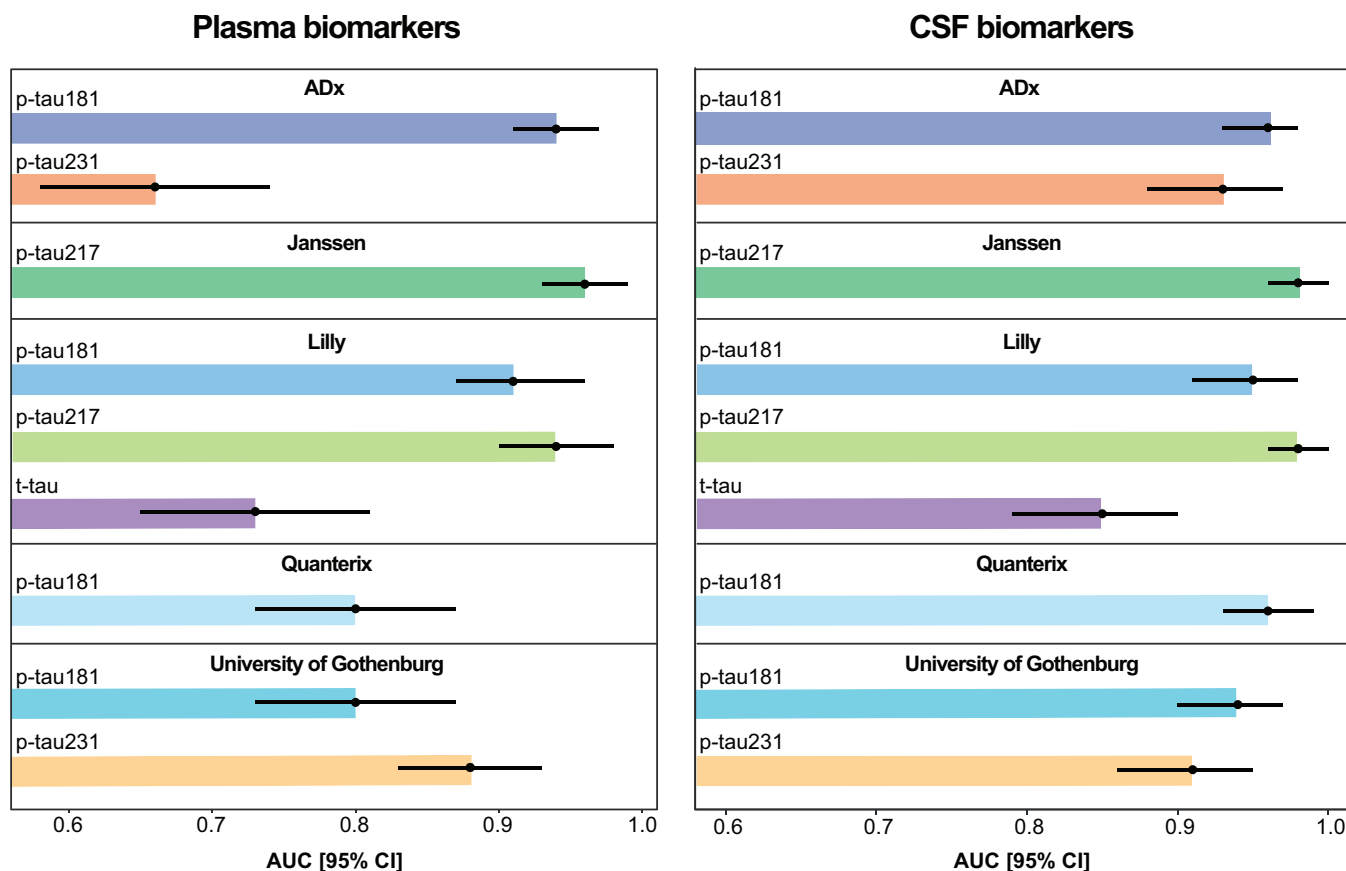


FIGURE 3 Discrimination accuracy (receiver-operating characteristic [ROC] analyses) of plasma and cerebrospinal fluid (CSF) tau immunoassays. Forest plot depicting the area under the curve (AUC) and the 95% confidence interval (CI) of each tau biomarker to discriminate between the Alzheimer's disease (AD) CSF profile group from the non-AD CSF profile groups. AD CSF profile was defined by a CSF amyloid beta (A β)42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse G600II, Fujirebio). CI, confidence interval.

Lilly t-tau ($r = 0.23$; $P = 0.002$). Correlations stratified by AD CSF status are shown in Figure S6. In addition, we tested the correlations between all tau biomarkers and the results are summarized in Figures S7, S8, and S9.

4 | DISCUSSION

Plasma biomarkers, in particular p-tau, have the potential to transform the process in which the pathology that underlies AD can be identified in primary and secondary care.^{1,25,26} This will be of significant importance given the emergence of disease-modifying treatments for AD. Despite the numerous recent publications on blood biomarkers for AD, it is still to be determined if high accuracies of p-tau plasma biomarkers translate to a heterogeneous memory clinic setting. In addition, it is to be determined whether a superiority of a specific p-tau epitope is due to immunoassay design, or platform. To answer this, a tightly controlled head-to-head study of tau biomarkers in a memory clinic population was needed.

In the present study, we performed such a head-to-head comparison and found that the majority of p-tau biomarkers demonstrated a high accuracy to identify biologically defined AD in a clinical popula-

tion of patients with diverse clinical presentations. Yet, it was observed that some plasma p-tau biomarkers (ADx p-tau181; Janssen p-tau217; Lilly p-tau181; and Lilly p-tau217) performed exceptionally well and demonstrated AUCs > 0.9, which did not differ significantly from those of the same biomarker in the CSF. Plasma p-tau231 from UGot (AUC = 0.88) also showed no significant difference from the same biomarker in the CSF. Other p-tau181 immunoassays, that is, UGot p-tau181 and Quanterix p-tau181, performed well (AUCs = 0.80), but these results were significantly lower than the equivalent immunoassay in CSF.

Different immunoassays targeting distinct phosphorylation sites (T181, T217, and T231) had high AUCs. Both of the two p-tau217 immunoassays investigated herein (Janssen p-tau217 and Lilly p-tau217) had exceedingly high AUCs (≥ 0.94). The p-tau181 with the highest AUC was ADx p-tau181 (0.94), followed by Lilly p-tau181 (0.91) and, with a statistically significantly lower AUC, the Quanterix p-tau181 and UGot p-tau181 immunoassays (0.80). Although the UGot p-tau231 immunoassay had an AUC of 0.88, the ADx p-tau231 was significantly lower in performance and had an AUC of 0.66. Of note, ADx p-tau231 immunoassay in CSF performed particularly well (AUC = 0.93), which may suggest that the modest performance of the plasma immunoassay is related with the matrix (plasma) but not

TABLE 3 Discrimination accuracy (ROC analyses) of plasma and CSF tau immunoassays in the BIODEGMAR cohort

Tau biomarkers AUC (95% CI)	Plasma	CSF	P-value ^a
ADx			
p-tau181	0.94 (0.91–0.97) ^{a,b,c,d,e}	0.96 (0.93–0.98) ^{o,p,q,r}	0.50
p-tau231	0.66 (0.58–0.74) ^{d,f,g,h,i,j}	0.93 (0.88–0.97) ^{o,s,t}	<0.001
Janssen			
p-tau217	0.96 (0.93–0.99) ^{c,d,e,j,k}	0.98 (0.96–1.00) ^{q,u,v,w,x}	0.23
Lilly			
p-tau181	0.91 (0.86–0.96) ^{c,e,l}	0.95 (0.91–0.98) ^{q,s,v}	0.23
p-tau217	0.94 (0.90–0.98) ^{c,d,e}	0.98 (0.96–1.00) ^{q,w,x,y}	0.14
t-tau	0.73 (0.65–0.81) ^j	0.85 (0.79–0.90) ^{r,w,z}	0.041
Quanterix			
p-tau181	0.80 (0.73–0.87) ^m	0.96 (0.93–0.99) ^r	<0.001
UGot (in house)			
p-tau181	0.80 (0.73–0.87) ⁿ	0.94 (0.90–0.97)	<0.001
p-tau231	0.88 (0.83–0.93)	0.91 (0.87–0.95)	0.33
Significant differences between plasma tau immunoassays:		Significant differences between CSF tau immunoassays:	
^a P < 0.001 vs. Plasma p-tau231 (ADx)		^o P < 0.05 vs CSF p-tau217 (Janssen)	
^b P < 0.05 vs. plasma p-tau217 (Jansen)		^p P < 0.05 vs CSF p-tau217 (Lilly)	
^c P < 0.001 vs. plasma t-tau (Lilly)		^q P < 0.001 vs CSF t-tau (Lilly)	
^d P < 0.001 vs. plasma p-tau181 (Quanterix)		^r P < 0.05 vs CSF p-tau231 (UGot)	
^e P < 0.001 vs. plasma p-tau181 (UGot)		^s P < 0.01 vs CSF p-tau217 (Lilly)	
^f P < 0.001 vs. plasma p-tau217 (Jansen)		^t P < 0.01 vs CSF t-tau (Lilly)	
^g P < 0.001 vs. plasma p-tau181 (Lilly)		^u P < 0.01 vs CSF p-tau181 (Lilly)	
^h P < 0.001 vs. plasma p-tau 217 (Lilly)		^v P < 0.05 vs CSF p-tau181 (Quanterix)	
ⁱ P < 0.01 vs. plasma p-tau181 (UGot)		^w P < 0.001 vs CSF p-tau181 (UGot)	
^j P < 0.001 vs. plasma p-tau231 (UGot)		^x P < 0.001 vs CSF p-tau231 (UGot)	
^k P < 0.05 vs. plasma p-tau181 (Lilly)		^y P < 0.01 vs CSF p-tau181 (UGot)	
^l P < .01 vs. plasma p-tau181 (Quanterix)		^z P < 0.001 vs CSF p-tau181 (Quanterix)	
^m P < 0.01 vs. plasma p-tau231 (UGot)			
ⁿ P < .005 vs. plasma p-tau231 (UGot)			

^aP-value of the comparison between the AUC of plasma and CSF of the same immunoassay (DeLong test).

We also assessed the AUCs differences (DeLong test) between the plasma tau immunoassays or CSF tau immunoassays.

with the epitope itself. Yet, it must be noted that most plasma p-tau biomarkers had only modest correlations with the same immunoassay in CSF. This observation is particularly important for the use and interpretation of these biomarkers in clinical trials. Although plasma p-tau biomarkers have a high accuracy for detecting biologically defined AD (and hence enriching clinical trials with AD patients), it remains to be determined whether they are useful as pharmacodynamic biomarkers to monitor the effects of an intervention, since there is a modest—or weak, in some cases—linear relationship between plasma and CSF.

We also included a t-tau immunoassay that had the lowest AUC in CSF (0.85) and did not reach the high performance of most p-tau immunoassays when measured in plasma (AUC = 0.73). Given that this t-tau immunoassay has a configuration similar to that of Lilly p-tau

immunoassays, it demonstrates the importance of p-tau-specific antibodies for greater disease specificity and diagnostic accuracy. Although more immunoassays targeting each of these post-translational modifications should be assessed, our results indicate that phosphorylations at T181, T217, or T231 can all be excellent biomarkers in plasma. All analytical platforms provided at least one immunoassay with satisfactory accuracies. Altogether, our results suggest that there is not a sole phosphorylation site and/or immunoassay platform or immunoassay design that is clearly superior to the other.

An important aspect of our study is that it was performed in patients visited in a specialized memory clinic setting, and not in a research cohort. The BIODEGMAR cohort reflects the diversity of patients who come to a specialized unit consulting for cognitive complaints after being referred by their primary care physician, with whom they

consulted due to cognitive complaints. This study demonstrates that, in this setting, plasma p-tau biomarkers can accurately discriminate biologically defined AD from other neurological or medical conditions presenting with cognitive symptoms. Hence, we show that the accuracy of these novel plasma biomarkers is not restricted only to research cohorts but is also extended to a diverse population of a specialized memory clinic. Given the clinical heterogeneity, we performed further analyses after excluding patients who already have a clinical diagnosis of a non-AD neurodegenerative disease. We first restricted the analyses to those clinical syndromes that could fall into the continuum of AD (SCD, MCI, and dementia) and, second, in pre-dementia patients (SCD and MCI), and the results remained similar.

While we were preparing this article, a study focusing on the analytical comparisons of six Simoa p-tau immunoassays was published.²⁷ In line with our results, ADx p-tau181, Lilly p-tau181, Lilly p-tau217, Quanterix p-tau181, and UGot p-tau231 had a high diagnostic accuracy for AD dementia (AUC > 0.93), whereas ADx p-tau231 had a more modest AUC (0.72). The main differences of these reported results with our study involve the sample size, availability of underlying biological confirmation, and type of participants included. Although Bayoumy et al. selected 40 AD dementia patients and 40 age- and sex-matched controls from a different cohort, we studied patients prospectively presenting with cognitive complaints in a specialized memory clinic, all of them with CSF core biomarkers. Furthermore, we included three additional biomarkers: Janssen p-tau217, Lilly t-tau, and UGot p-tau181.

Our study is not free of limitations. First, neither neuropathological confirmation nor amyloid PET was available; yet it is important to remark that the AD CSF core biomarkers are widely accepted as biomarkers for routine clinical diagnosis of AD, and are the biomarkers routinely used in Hospital del Mar. Second, the number of non-AD neurodegenerative diseases was limited. Finally, these results need to be confirmed in other clinical cohorts to assess whether they are generalizable.

Our study has several strengths. First, BIODEGMAR is a well-characterized clinical cohort, and all patients had CSF biomarkers. Second, we included a remarkable number of plasma tau immunoassays and, also, their CSF counterparts. Third, all measurements were performed not only in the same patients but also in the exact same original aliquot of plasma or CSF, which were re-aliquoted and stored until the immunoassays were performed; thus, all samples were treated identically and the comparability between immunoassays were more reliable. Fourth, all measurements were performed blinded, and the statistical analyses were independently conducted at BBRC.

In conclusion, we demonstrate that there are several plasma p-tau biomarkers that can be used as accurate stand-alone diagnostic tests to detect biologically defined AD in a specialized memory clinic. In our opinion, precisely determining the role of plasma biomarkers in the assessment of cognitive complaints in specialized centers is the vital next step and in accordance with the recent appropriate use recommendations.²⁸ Our data suggest that some of these immunoassays can be a sole biological test, coupled with neurological assessment,

to support the diagnosis of AD. However, a more conservative alternative could be using them as pre-screening tools to select those patients who will undergo a biomarker assessment by CSF or amyloid PET. It also remains to be answered whether this pre-screening can be done in primary care and how plasma biomarkers can be applied in population-based studies. These promising results urge the medical, scientific community and all related stakeholders to consider and discuss a possible implementation of AD blood biomarkers at the earliest clinical setting.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Nicholas J. Ashton, Albert Puig-Pijoan, and Marta Milà-Alomà are co-first authors. Kaj Blennow and Marc Suárez-Calvet are co-senior authors. Kaj Blennow and Marc Suárez-Calvet had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. Concept and design: Nicholas J. Ashton, Kaj Blennow, and Marc Suárez-Calvet. Acquisition, analysis, or interpretation of data: Nicholas J. Ashton, Albert Puig-Pijoan, Marta Milà-Alomà, Aida Fernández-Lebrero, Greta García-Escobar, Fernando González-Ortiz, Przemysław R. Kac, Wagner S. Brum, Andréa L. Benedet, Juan Lantero-Rodríguez, Theresa A. Day, Jeroen Vanbrabant, Erik Stoops, Eugeen Vanmechelen, Gallen Triana-Baltzer, Setareh Moughadam, Hartmuth Kolb, Paula Ortiz-Romero, Thomas Karikari, Carolina Minguillon, Juan José Hernández Sánchez, Irene Navalpotro-Gómez, Oriol Grau-Rivera, Rosa María Manero, Víctor Puente-Periz, Rafael de la Torre, Jaume Roquer, Jeff L. Dage, Henrik Zetterberg, Kaj Blennow, and Marc Suárez-Calvet. Drafting of the manuscript: Nicholas J. Ashton, Albert Puig-Pijoan, Kaj Blennow, and Marc Suárez-Calvet. Statistical analysis: Albert Puig-Pijoan, Marta Milà-Alomà, Aida Fernández-Lebrero, Greta García-Escobar, and Marc Suárez-Calvet. Obtained funding: Irene Navalpotro-Gómez, Carolina Minguillón, Jaume Roquer, Henrik Zetterberg, Kaj Blennow, and Marc Suárez-Calvet. Administrative, technical, or material support: Aida Fernández-Lebrero, Greta García-Escobar, Fernando González-Ortiz, Przemysław R. Kac, Wagner S. Brum, Juan Lantero-Rodríguez, Paula Ortiz-Romero, and Carolina Minguillon. Supervision: Nicholas J. Ashton, Kaj Blennow, and Marc Suárez-Calvet. All authors critically reviewed and approved the final manuscript.

ADDITIONAL INFORMATION

All requests for raw and analyzed data and materials will be reviewed promptly by the senior authors to verify whether the request is subject to any intellectual property or confidentiality obligations. Bulk anonymized data can be shared by request from any qualified investigator for the sole purpose of replicating procedures and the results presented in the article, providing data transfer agrees with EU legislation and decisions by the institutional review board (IRB) of each participating center.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to express their most sincere gratitude to the BIODEGMAR participants and relatives without whom this research would have not been possible. The authors thank Anna Boronat Rigol,

Rachael Burchfield, and Nicholas Kyle Proctor for technical support. They also thank all the staff at University of Gothenburg, Department of Neurology at Hospital del Mar, and Barcelonaβeta Brain Research Center, who supported this project. Thomas K. Karikari was funded by the Swedish Research Council (Vetenskåpradet), the Alzheimer's Association Research Fellowship (#AARF-21-850325), the BrightFocus Foundation (#A2020812F), the International Society for Neurochemistry's Career Development Grant, the Swedish Alzheimer Foundation (Alzheimerfonden; #AF-930627), the Swedish Brain Foundation (Hjärnfonden; #FO2020-0240), the Swedish Dementia Foundation (Demensförbundet), the Swedish Parkinson Foundation (Parkinsonfonden), Gamla Tjänarinnor Foundation, the Aina (Ann) Wallströms and Mary-Ann Sjöbloms Foundation, the Agneta Prytz-Folkes & Gösta Folkes Foundation (#2020-00124), the Gun and Bertil Stohnes Foundation, and the Anna Lisa and Brother Björnsson's Foundation. Oriol Grau-Rivera is supported by the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (IJC2020-043417-I), and receives funding from the Alzheimer's Association Research Fellowship Program (2019-AARF-644568) and the Instituto de Salud Carlos III (PI19/00117). Irene Navalpotro-Gómez receives funding from the Spanish Instituto de Salud Carlos III (ISCIII-FEDER, PI21/00194). Jaume Roquer receives funding from the Spanish Instituto de Salud Carlos III (ISCIII-FEDER, PI21/00194). Jeff L. Dage is supported by the National Institutes of Health (U24AG021886, P30AG072976, and U01AG057195), Roche Diagnostics (RD005665), as well as the Stark Neurosciences Research Institute at Indiana University School of Medicine. Henrik Zetterberg is a Wallenberg Scholar supported by grants from the Swedish Research Council (#2018-02532), the European Research Council (#681712), Swedish State Support for Clinical Research (#ALFGBG-720931), the Alzheimer's Drug Discovery Foundation (ADDF), USA (#201809-2016862), the AD Strategic Fund and the Alzheimer's Association (#ADSF-21-831376-C, #ADSF-21-831381-C and #ADSF-21-831377-C), the Olav Thon Foundation, the Erling-Persson Family Foundation, Stiftelsen för Gamla Tjänarinnor, Hjärnfonden, Sweden (#FO2019-0228), the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 860197 (MIRIADE), European Union Joint Program for Neurodegenerative Disorders (JPND2021-00694), and the UK Dementia Research Institute at UCL. Kaj Blennow is supported by the Swedish Research Council (#2017-00915), ADDF, USA (#RDAPB-201809-2016615), the Swedish Alzheimer Foundation (#AF-742881), Hjärnfonden, Sweden (#FO2017-0243), the Swedish state under the agreement between the Swedish government and the County Councils, the ALF-agreement (#ALFGBG-715986), the European Union Joint Program for Neurodegenerative Disorders (JPND2019-466-236), and the NIH, USA (grant #1R01AG068398-01). Marc Suárez-Calvet receives funding from the European Research Council (ERC) under the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme (Grant agreement No. 948677), Project "PI19/00155", funded by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) and co-funded by the European Union, and from a fellowship from "la Caixa" Foundation (ID 100010434) and from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement No 847648 (LCF/BQ/PR21/11840004).

CONFLICTS OF INTEREST

Theresa A. Day is an employee and shareholder of Eli Lilly and Company. Jeroen Vanbrabant and Erik Stoops are employees of ADx NeuroSciences. Eugeen Vanmechelen is co-founder of ADx NeuroSciences. Gallen Triana-Baltzer, Setareh Moughadam, and Hartmuth Kolb are employees of Janssen Research and Development. Jeff L. Dage is an inventor on patents associated with reagents used in the Lilly assays, is a minor shareholder of Eli Lilly and Company stock and receives support from Eli Lilly and Company and Roche Diagnostics. Henrik Zetterberg has served on scientific advisory boards for Abbvie, Alektor, Annexon, Artery Therapeutics, AZTherapies, CogRx, Denali, Eisai, Nervgen, Pinteon Therapeutics, Red Abbey Labs, Passage Bio, Roche, Samumed, Siemens Healthineers, Triplet Therapeutics, and Wave; has given lectures in symposia sponsored by Celectricon, Fujirebio, Alzecure, Biogen, and Roche; and is a co-founder of Brain Biomarker Solutions in Gothenburg AB (BBS), which is a part of the GU Ventures Incubator Program. Kaj Blennow has served as a consultant, on advisory boards, or on data monitoring committees for Abcam, Axon, Biogen, JOMDD/Shimadzu, Julius Clinical, Lilly, MagQu, Novartis, Roche Diagnostics, and Siemens Healthineers, and is a co-founder of Brain Biomarker Solutions in Gothenburg. Marc Suárez-Calvet has served as a consultant and on advisory boards for Roche Diagnostics International Ltd and has given lectures in symposia sponsored by Roche Diagnostics, S.L.U and Roche Farma, S.A. Author disclosures are available in the supporting information.

REFERENCES

1. Blennow K. Phenotyping Alzheimer's disease with blood tests. *Science*. 2021;373(6555):626-628. doi:10.1126/SCIENCE.ABI5208
2. Shaw LM, Arias J, Blennow K, et al. Appropriate use criteria for lumbar puncture and cerebrospinal fluid testing in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018;14(11):1505-1521. doi:10.1016/j.jalz.2018.07.220
3. Janelidze S, Stomrud E, Palmqvist S, et al. Plasma β -amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci Rep*. 2016;6(1):26801. doi:10.1038/srep26801
4. Verberk IMW, Slot RE, Verfaillie SCJ, et al. Plasma amyloid as prescreener for the earliest Alzheimer pathological changes. *Ann Neurol*. 2018;84(5):648-658. doi:10.1002/ana.25334
5. Simrén J, Leuzy A, Karikari TK, et al. The diagnostic and prognostic capabilities of plasma biomarkers in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2021;17(7):1145-1156. doi:10.1002/alz.12283
6. Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, et al. High performance plasma amyloid- β biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature*. 2018;554(7691):249-254. doi:10.1038/nature25456
7. Schindler SE, Bollinger JG, Ovod V, et al. High-precision plasma β -amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis. *Neurology*. 2019;93(17):e1647-e1659. doi:10.1212/WNL.0000000000008081
8. Keshavan A, Pannee J, Karikari TK, et al. Population-based blood screening for preclinical Alzheimer's disease in a British birth cohort at age 70. *Brain*. 2021;144(2):434-449. doi:10.1093/brain/awaa403
9. Janelidze S, Mattsson N, Palmqvist S, et al. Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia. *Nat Med*. 2020;26(3):379-386. doi:10.1038/s41591-020-0755-1

10. Karikari TK, Pascoal TA, Ashton NJ, et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts. *Lancet Neurol.* 2020;19(5):422-433. doi:10.1016/S1474-4422(20)30071-5
11. Barthélemy NR, Horie K, Sato C, Bateman RJ. Blood plasma phosphorylated-tau isoforms track CNS change in Alzheimer's disease. *J Exp Med.* 2020;217(11):e1647-e1659. doi:10.1084/jem.20200861
12. Palmqvist S, Janelidze S, Quiroz YT, et al. Discriminative accuracy of plasma phospho-tau217 for Alzheimer disease vs other neurodegenerative disorders. *JAMA.* 2020;324(8):772. doi:10.1001/jama.2020.12134
13. Suárez-Calvet M, Karikari TK, Ashton NJ, et al. Novel tau biomarkers phosphorylated at T181, T217 or T231 rise in the initial stages of the preclinical Alzheimer's continuum when only subtle changes in A β pathology are detected. *EMBO Mol Med.* 2020;12(12). doi:10.15252/emmm.202012921
14. Milà-Alomà M, Ashton NJ, Shekari M, et al. Plasma p-tau231 and p-tau217 as state markers of amyloid- β pathology in preclinical Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2022;28(9):1797-1801. doi:10.1038/s41591-022-01925-w
15. Benedet AL, Milà-Alomà M, Vrillon A, et al. Differences between plasma and cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein levels across the Alzheimer disease continuum. *JAMA Neurol.* 2021;78(12):1471. doi:10.1001/jamaneurol.2021.3671
16. Ashton NJ, Janelidze S, Al Khleifat A, et al. A multicentre validation study of the diagnostic value of plasma neurofilament light. *Nat Commun.* 2021;12(1):3400. doi:10.1038/s41467-021-23620-z
17. Thijssen EH, La Joie R, Wolf A, et al. Diagnostic value of plasma phosphorylated tau181 in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Nat Med.* 2020;26(3):387-397. doi:10.1038/s41591-020-0762-2
18. Thijssen EH, La Joie R, Strom A, et al. 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.* 2021;20(9):739-752. doi:10.1016/S1474-4422(21)00214-3
19. Triana-Baltzer G, Moughadam S, Slemmon R, et al. Development and validation of a high-sensitivity assay for measuring p217+tau in plasma. 2021;13(1)e12204. doi:10.1002/dad2.12204
20. Ashton NJ, Pascoal TA, Karikari TK, et al. Plasma p-tau231: a new biomarker for incipient Alzheimer's disease pathology. *Acta Neuropathol.* 2021;0123456789. doi:10.1007/s00401-021-02275-6
21. Puig-Pijoan A, García-Escobar G, Fernández-Lebrero A, et al. The CORCOBIA study: cut-off points of Alzheimer's disease CSF biomarkers in a clinical cohort. *Neurol (English Ed).* Published online August 9, 2022;101890. doi:10.1016/j.nrleng.2022.05.002
22. Reisberg B, Ferris SH, De Leon MJ, Crook T. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychiatry.* 1982;139(9):1136-1139. doi:10.1176/AJP.139.9.1136
23. Rosenthal R, Rosnow RLR. *Essentials of Behavioral Research: Methods and Data Analysis.* 2nd ed. McGraw Hill; 1991.
24. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc Ser B.* 1995;57(1):289-300. doi:10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x
25. Teunissen CE, Verberk IMW, Thijssen EH, et al. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: towards clinical implementation. *Lancet Neurol.* 2022;21(1):66-77. doi:10.1016/S1474-4422(21)00361-6
26. Zetterberg H, Blennow K. Blood biomarkers: democratizing Alzheimer's diagnostics. *Neuron.* 2020;106(6):881-883. doi:10.1016/j.neuron.2020.06.004
27. Bayoumy S, Verberk IMW, den Dulk B, et al. Clinical and analytical comparison of six Simoa assays for plasma P-tau isoforms P-tau181, P-tau217, and P-tau231. *Alzheimers Res Ther.* 2021;13(1):198. doi:10.1186/s13195-021-00939-9
28. Hansson O, Edelmayer RM, Boxer AL, et al. The Alzheimer's Association appropriate use recommendations for blood biomarkers in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2022;18(12):2669-2686. doi:10.1002/alz.12756

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Ashton NJ, Puig-Pijoan A, Milà-Alomà M, et al. Plasma and CSF biomarkers in a memory clinic: Head-to-head comparison of phosphorylated tau immunoassays. *Alzheimer's Dement.* 2023;19:1913–1924. <https://doi.org/10.1002/alz.12841>

5.2.1 Material suplementari de l'article 1

A continuació es faciliten les taules i figures del primer article incloses en el material suplementari del mateix. En quant a la informació suplementària relativa al material i mètodes, pot consultar-se als annexes 1 i 2.

Supplementary Figures

Figure S1. CSF tau biomarkers levels by CSF profile

Levels of the CSF tau biomarkers in the non-AD CSF vs the AD profile groups, visualised as raincloud plots. Each point indicates a tau measurement of an individual. The box plot indicates the median (horizontal line), interquartile range (box) and 1.5x interquartile range (whiskers). The width of the shaded area (violin plot) represents the proportion of the data located there.

AD CSF profile was defined by a CSF A β 42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). *P* values were computed with an Mann-Whitney *U* test for all CSF biomarkers. The % increase of the tau biomarkers in the AD CSF profile from the non-AD profile is shown in green.

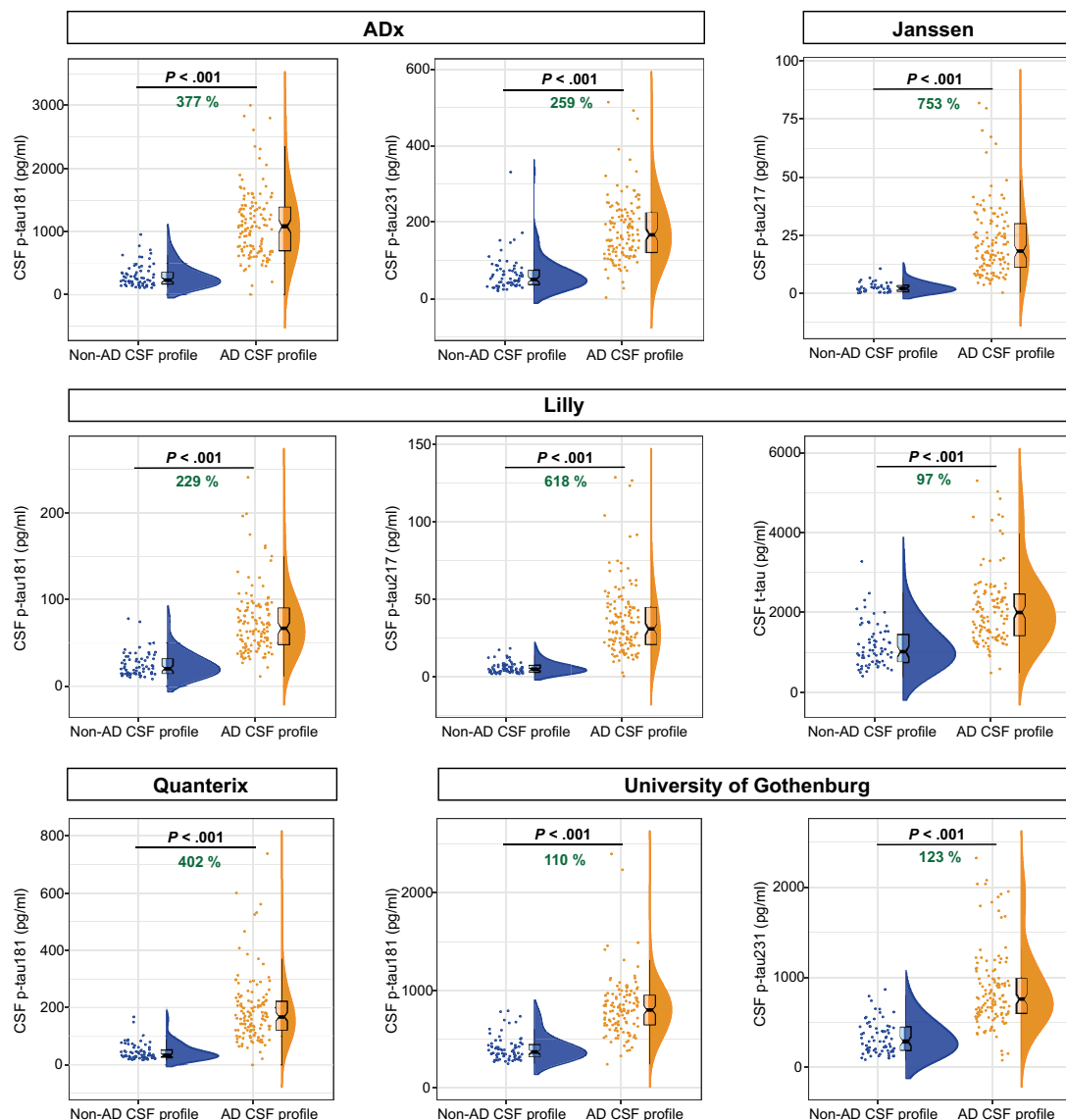


Figure S2. Discrimination accuracy (ROC analyses) of plasma and CSF tau immunoassays

A, ROC analyses for the plasma tau biomarkers. B, ROC analyses for the CSF tau biomarkers. For comparison purposes, we also depict the AUC of the combination of age + sex + *APOE* $\epsilon 4$ (AUC: 0.787; 95% CI, 0.717-0.856) and age + sex (AUC: 0.624; 95% CI, 0.542-0.706). AUC indicates area under the curve; CI, confidence interval; ROC, receiver operating characteristic.

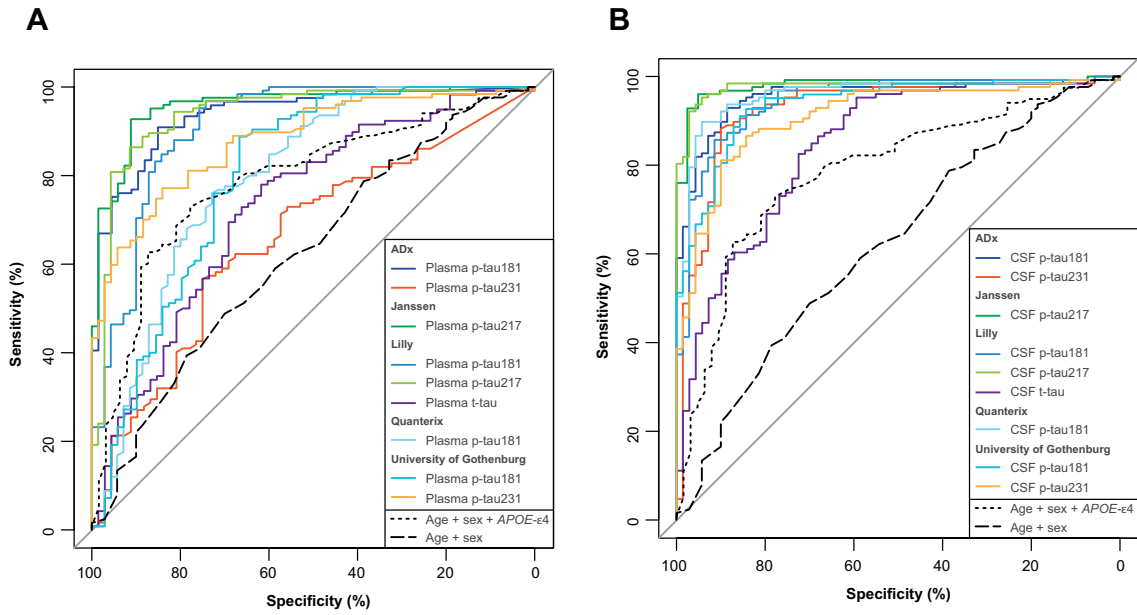


Figure S3. Discrimination accuracy (ROC analyses) of plasma and CSF tau immunoassays in the SCD, MCI and dementia subset

A, Forest plot depicting the AUC and the 95% CI of each tau biomarker to discriminate between the AD CSF profile group from the non-AD CSF profile groups in the subset of participants including the clinical diagnosis of SCD, MCI and dementia. AD CSF profile was defined by a CSF A β 42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). B, ROC analyses for the plasma tau biomarkers. C, ROC analyses for the CSF tau biomarkers. For comparison purposes, we also depict the AUC of the combination of age + sex + APOE ϵ 4 (AUC: 0.784; 95% CI, 0.706-0.861) and age + sex (AUC: 0.591; 95% CI, 0.494-0.686). AUC indicates area under the curve; CI, confidence interval; MCI, mild cognitive impairment; ROC, receiver operating characteristic; SCD, subjective cognitive decline.

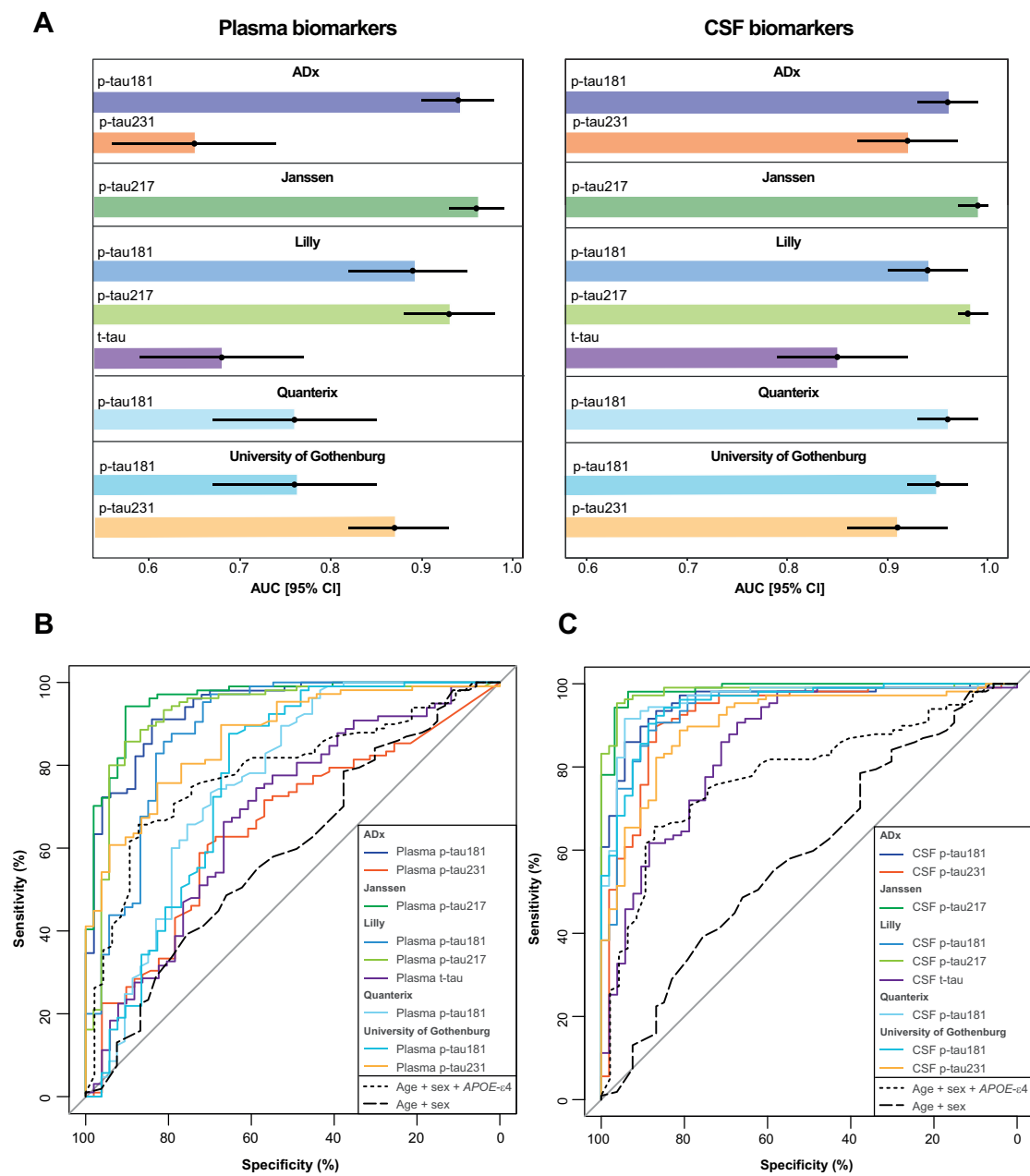


Figure S4. Discrimination accuracy (ROC analyses) of plasma and CSF tau immunoassays in the SCD and MCI subset

A, Forest plot depicting the AUC and the 95% CI of each tau biomarker to discriminate between the AD CSF profile group from the non-AD CSF profile groups in the subset of participants including the clinical diagnosis of SCD and MCI. AD CSF profile was defined by a CSF A β 42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). B, ROC analyses for the plasma tau biomarkers. C, ROC analyses for the CSF tau biomarkers. For comparison purposes, we also depict the AUC of the combination of age + sex + APOE ϵ 4 (AUC: 0.791; 95% CI, 0.695-0.886) and age + sex (AUC: 0.606; 95% CI, 0.494-0.718). AUC indicates area under the curve; CI, confidence interval; MCI, mild cognitive impairment; ROC, receiver operating characteristic; SCD, subjective cognitive decline.

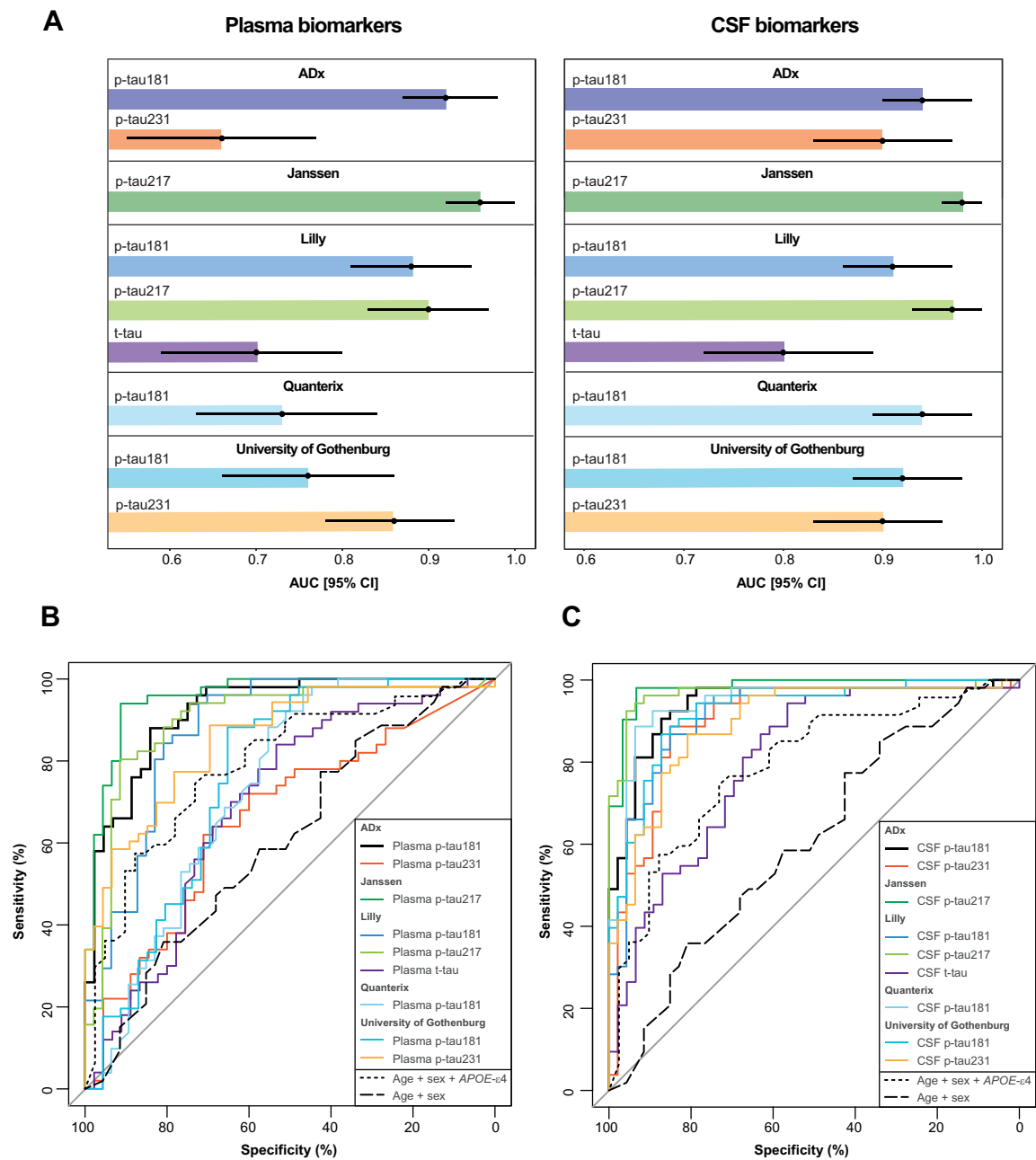


Figure S5. Correlations between plasma and CSF for each tau immunoassay

Scatter plots depicting the correlations between the plasma and CSF measurements for each tau immunoassay. We computed the Spearman's correlation coefficient (r) and the P value. The solid lines indicate the regression line and the 95% confidence intervals.

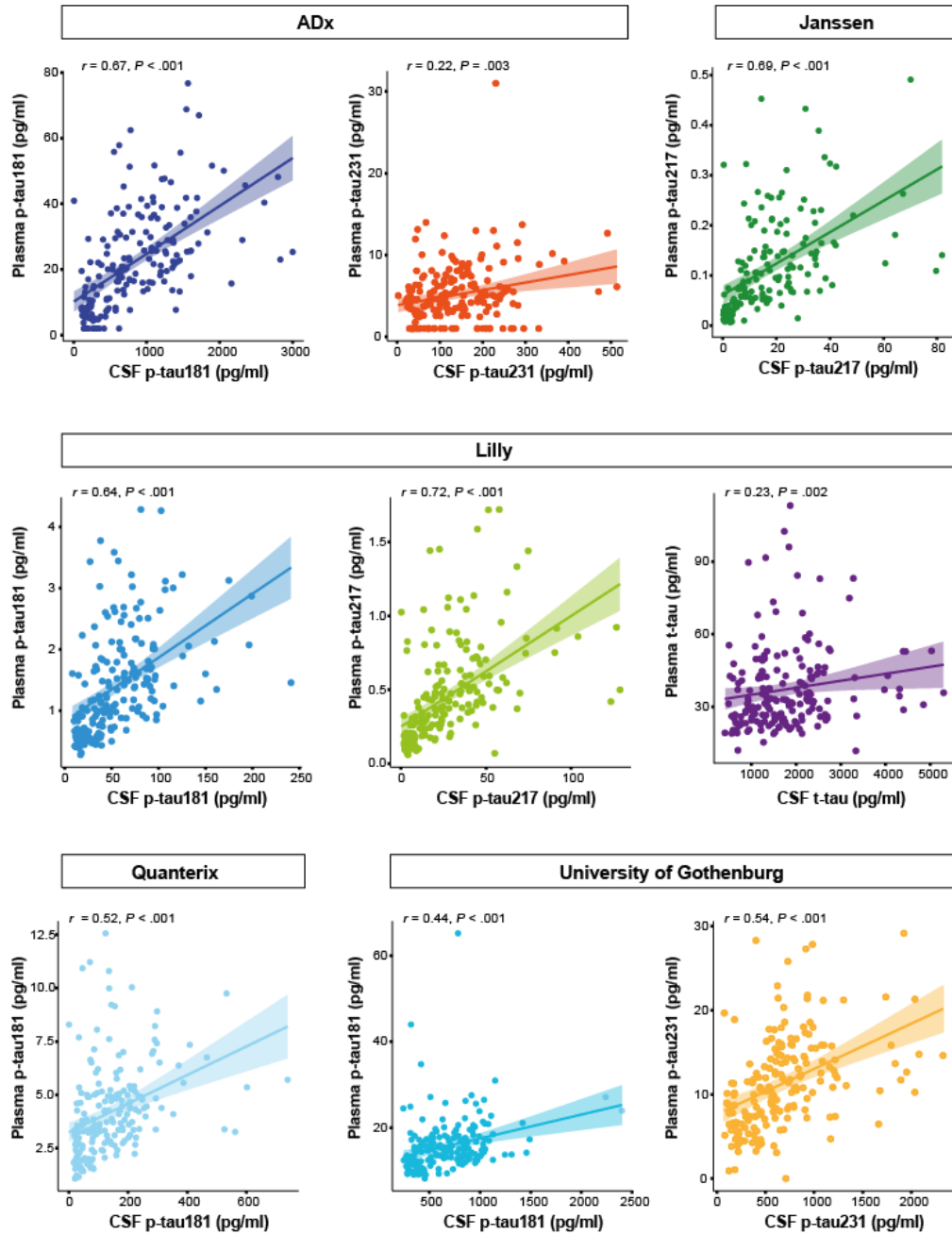


Figure S6. Correlations between plasma and CSF for each tau immunoassay (stratified by AD CSF status)

Scatter plots depicting the correlations between the plasma and CSF measurements for each tau immunoassay, stratified by AD CSF status. AD CSF profile was defined by a CSF A β 42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). We computed the Spearman's correlation coefficient (r) and the P value. The solid lines indicate the regression line and the 95% confidence intervals.

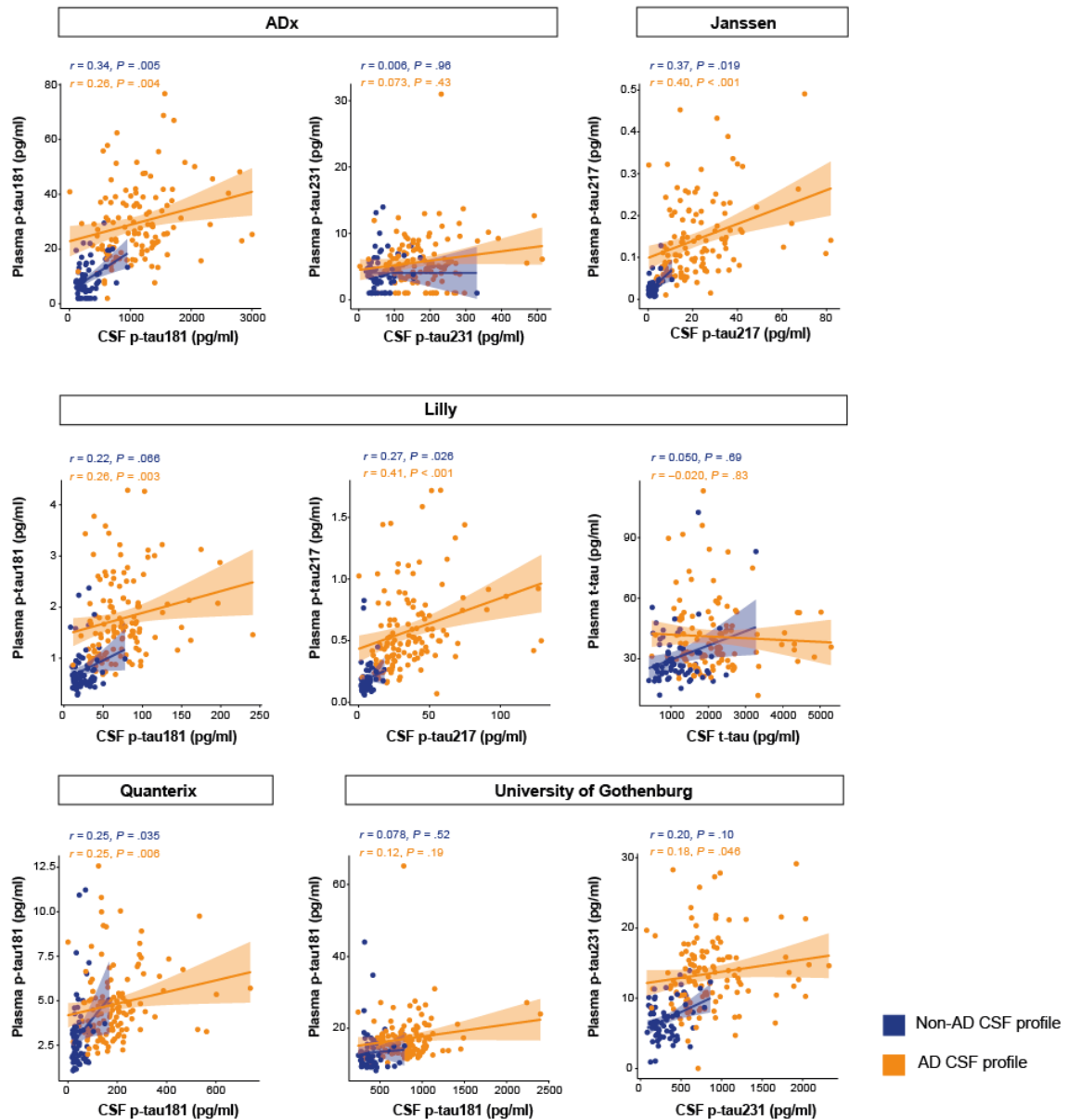


Figure S7. Correlations between all tau biomarkers

Correlation matrix depicting the correlations between all tau biomarkers studied, stratified by AD CSF status. AD CSF profile was defined by a CSF A β 42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). The Spearman's correlation coefficient (r) is shown. All correlations were statistically significant.

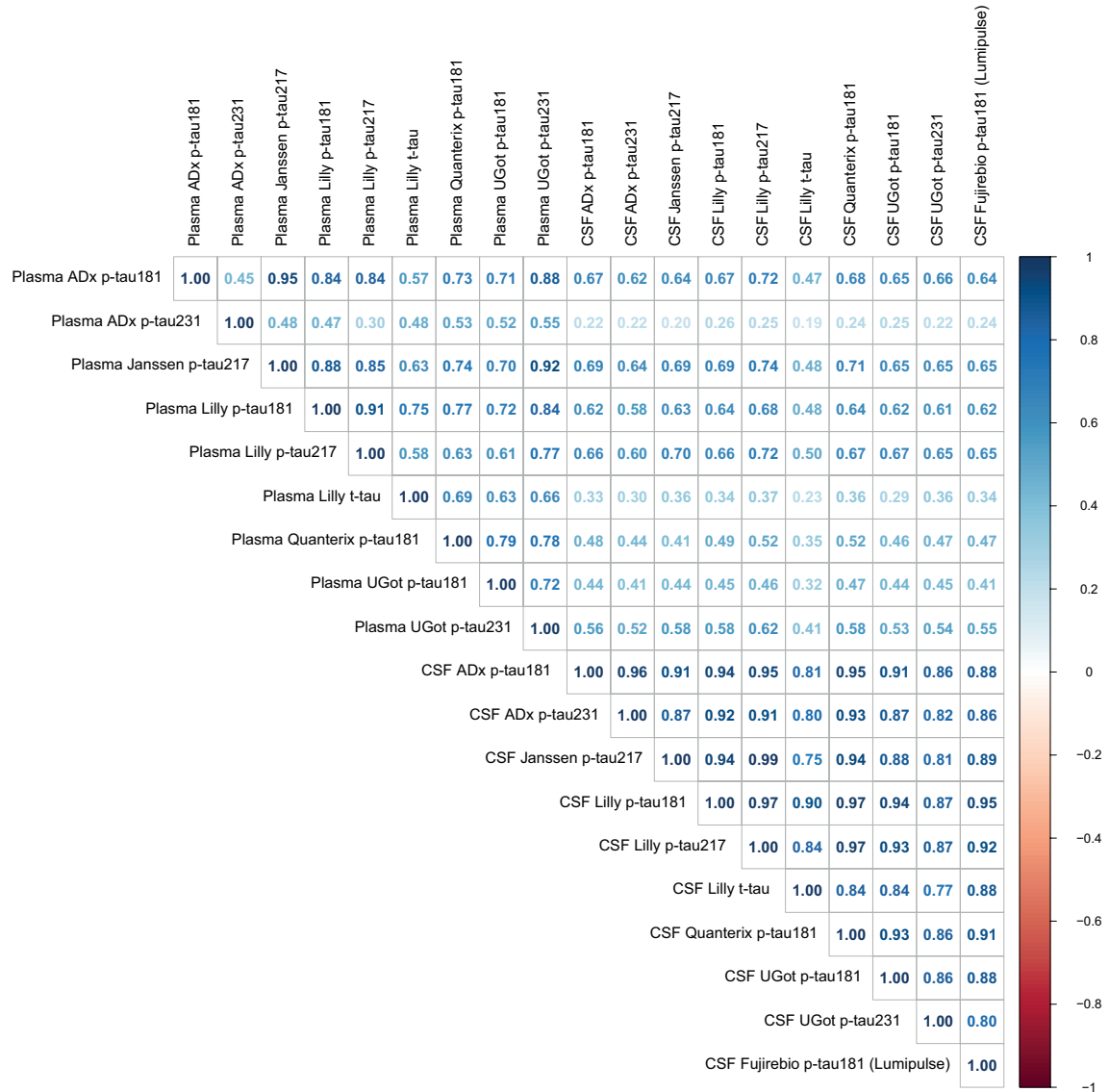


Figure S8. Correlations between all tau biomarkers (in the AD CSF group)

Correlation matrix depicting the correlations between all tau biomarkers studied. The Spearman's correlation coefficient (r) is shown. Non-significant correlations are indicated by a cross.

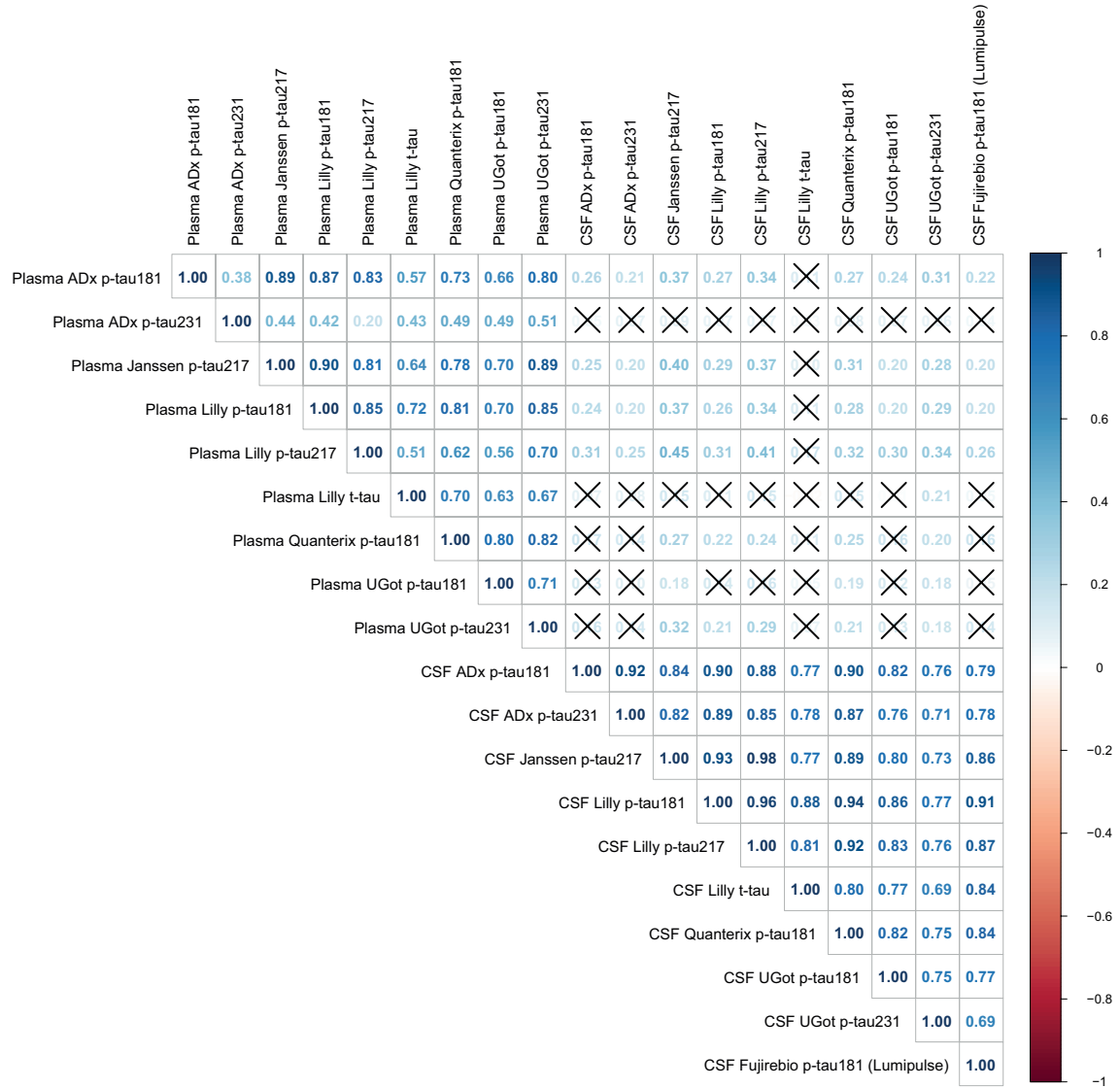
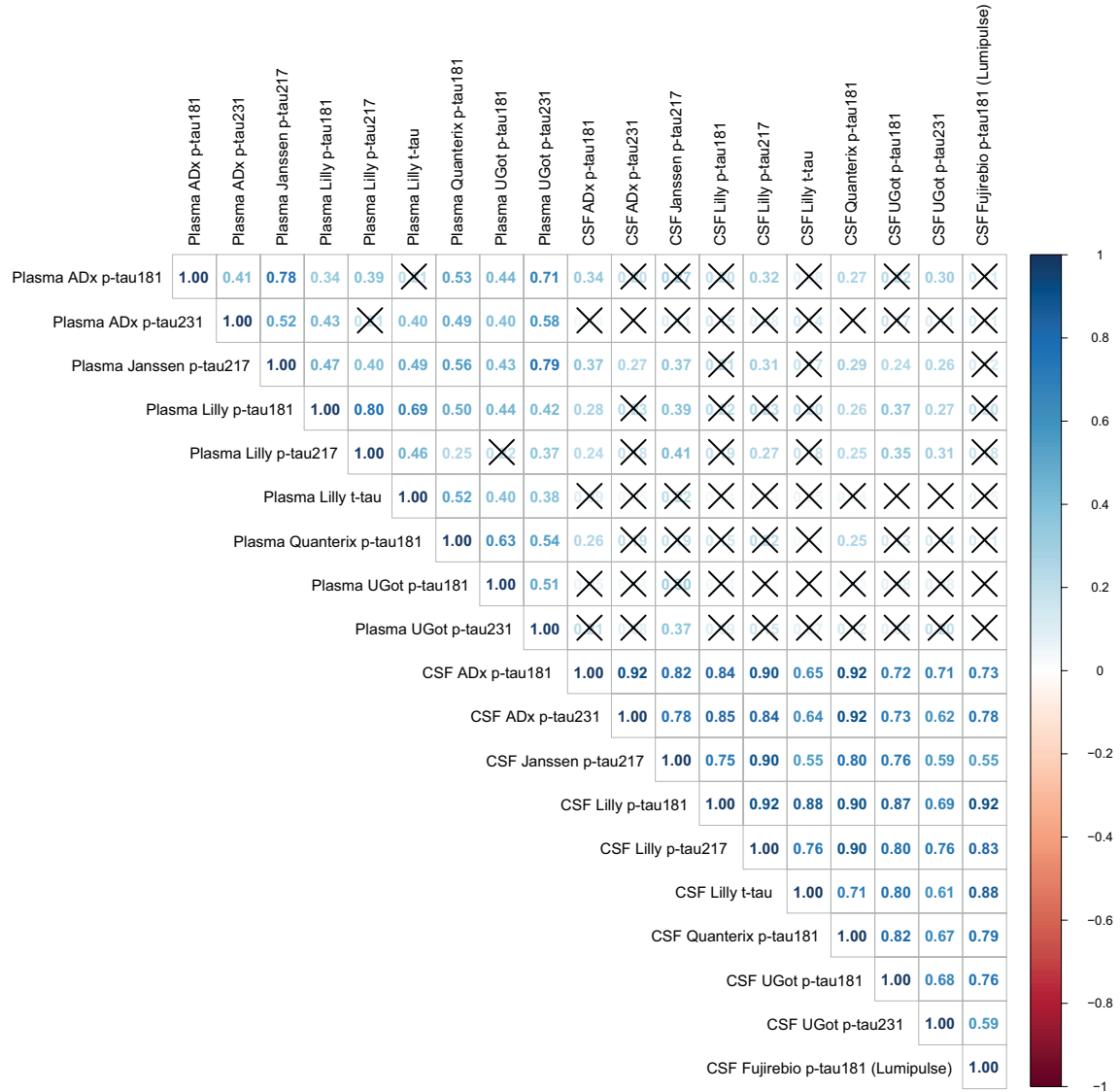


Figure S9. Correlations between all tau biomarkers (in the non-AD CSF group)

Correlation matrix depicting the correlations between all tau biomarkers studied. The Spearman's correlation coefficient (r) is shown. Non-significant correlations are indicated by a cross.



Supplementary Tables

Table S1. Plasma tau immunoassays characteristics

	ADx p-tau181	ADx p-tau231	Janssen p-tau217	Lilly p-tau181	Lilly p-tau217	Lilly t-tau	Quanterix p-tau181	UGot p-tau181	UGot p-tau231
Platform	Simoa	Simoa	Simoa	MSD	MSD	MSD	Simoa	Simoa	Simoa
Antibodies									
Capture	ADx252	ADx253	PT3	Biotinylated-AT270	Biotinylated-IBA493	Biotinylated-Tau 12	AT270	AT270	ADx253
Epitope recognized	phospho-Thr181 and no cross-reactivity with phospho-Thr175	Epitope K224KVAVVR(pT)PKSPSSAK240C phosphorylated at T231 ³²	Epitope 210-SRT(p)PSLPT(p)PPT-212 phosphorylated at T217, with enhanced binding at T212 ³³	Approximate epitope region comprising phosphorylation at T181	Approximate epitope region comprising phosphorylation at T217	Approximate epitope region comprising residues 9-18	Epitope 176-PPAPKT(p)P-182 phosphorylated at T181 ^{29,30}	Epitope 176-PPAPKT(p)P-182 phosphorylated at T181 ^{29,30}	Epitope K224KVAVVR(pT)PKSPSSAK240C phosphorylated at T231 ³²
Detection	Biotinylated-ADx204	Biotinylated-ADx204	Biotinylated-HT43	SULFO-TAG-Ru-4G10-E2	SULFO-TAG-Ru-4G10-E2	SULFO-TAG-Ru-4G10-E2	Biotinylated-Tau 12	Biotinylated-Tau 12	Biotinylated-Tau 12
Epitope recognized	N-terminal, that recognizes all forms of tau except those phosphorylated at Tyr 18	N-terminal, that recognizes all forms of tau except those phosphorylated at Tyr 18	N-terminal epitope 7-EFEVDMEDHAGTYG L-20	Approximate epitope region comprising Q124 and A 125	Approximate epitope region comprising Q124 and A 125	Approximate epitope region comprising Q124 and A 125	N-terminal epitope 6-QEFEVDMEDHAGT-18 ²⁸	N-terminal epitope 6-QEFEVDMEDHAGT-18 ²⁸	N-terminal epitope 6-QEFEVDMEDHAGT-18 ²⁸
Calibrator									
Peptide/protein	Synthetic peptide covering epitopes of ADx204; ADx252 and ADx253 (Mw: 6116,78 Da)	Synthetic peptide covering epitopes of ADx204; ADx252 and ADx253 (Mw: 6116,78 Da)	Synthetic peptide comprising pT3 and hT43 epitope, separated by PEG4 linker	Synthetic tau dipeptide phosphorylated specifically at T181 (CPC Scientific)	Synthetic tau dipeptide phosphorylated specifically at T217 (CPC Scientific)	Full-length recombinant tau 441 (Lilly)	Full-length recombinant tau 441 phosphorylated in vitro by GSK3 β was used as the calibrator (#TO8-50FN, SignalChem)	Full-length recombinant tau 441 phosphorylated in vitro by GSK3 β was used as the calibrator (#TO8-50FN, SignalChem)	Full-length recombinant tau 441 phosphorylated in vitro by GSK3 β was used as the calibrator (#TO8-50FN, SignalChem)
Range, pg/ml	0.78-50	0.39-50	0.002-10	0.041-100	0.041-100	0.41-1000	0.177-86	0-64	0-64
Curve fit	1/y ² -weighted 5 parameter logistic	1/y ² -weighted 5 parameter logistic	4 parameter logistic	4 parameter logistic with 1/y ² weighting	4 parameter logistic with 1/y ² weighting	4 parameter logistic with 1/y ² weighting	4 parameter logistic	4 parameter logistic	4 parameter logistic
Dilution									
Sample dilution	1/5 plasma, 1/15 CSF	1/5 plasma, 1/15 CSF	1/2.4 plasma, 1/8 CSF	1/2 plasma, 1/8 CSF	1/2 plasma, 1/8 CSF	1/2 plasma, 1/8 CSF	1/4 plasma, 1/10 CSF	1/2 plasma, 1/30 CSF	1/2 plasma, 1/30 CSF
Dilution buffer	<i>In-house</i> PBS/BSA based	<i>In-house</i> PBS/BSA based	Tris Base (50mM), NaCl (100mM), EDTA (5mM), BSA (2%), TritonX100 (0.5%), HBR9 (0.45 mg/ml), pH 7.4	Low salt buffer + 200ug/ml HBR1	Low salt buffer + 200ug/ml HBR1	Low salt buffer + 200ug/ml HBR1	Advantage V2: Quanterix	Tau 2.0 buffer: #101556, Quanterix	Tau 2.0 buffer: #101556, Quanterix
Automated/Manual	Manual	Manual	Automated	Automated	Automated	Automated	Automated	Automated	Automated
Immunoassay Protocol									
Capture antibody concentration	10000 beads/ μ L	10000 beads/ μ L	160,000 beads/ μ L	0.5 μ g/ml	0.5 μ g/ml	0.5 μ g/ml	unknown	20000 beads/ μ L	20000 beads/ μ L
Detection antibody concentration	1 μ g/ml	0.8 μ g/ml	0.9 μ g/ml	0.02 μ g/ml	0.02 μ g/ml	0.02 μ g/ml	unknown	2 μ g/ml	2 μ g/ml
Simoa Protocol									
Steps and incubation times (cadences)	2-step 80-14	2-step 80-7	3-step 40-7-7	NA	NA	NA	2-step 35-5	3-step 40-7-7	3-step 40-7-7

Sample/Calibration volume, μl (replicates, incl. dead vol)	230 μL (Calibrator) 230 μL (prediluted sample)	230 μL (Calibrator) 230 μL (prediluted sample)	250 μl per well (172 for reaction + 78 for dead volume) for singlate. Duplicate wells to yield duplicate measures.	NA	NA	NA	230 μl (Calibrator) 55 μl (Samples)	230 μl (Calibrator) 130 μl (Samples)	230 μl (Calibrator) 130 μl (Samples)
Beads volume, μl	25 μL	25 μL	25 μl	NA	NA	NA	25 μl	25 μl	25 μl
Detector volume, μl	20 μL	20 μL	100 μl	NA	NA	NA	20 μl	100 μl	100 μl
SBG volume, μl	100 μL	100 μL	100 μl	NA	NA	NA	100 μl	100 μl	100 μl
SBG concentration, pM	50 pM	25 pM	100 pM	NA	NA	NA	150pM	450pM	300pM
Helper beads, % of beads	50	50	75	NA	NA	NA	60	0	0

Abbreviations: SBG, streptavidin covalently coupled to β -D-galactosidase; NA Not applicable; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181 (T181); p-tau217, tau phosphorylated at threonine 217 (T217); p-tau231, tau phosphorylated at threonine 231 (T231); t-tau, total tau; UGot, University of Gothenburg.

In Simoa immunoassays, capture antibody concentration is expressed in beads/ μL , and detection antibody as $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. In MSD immunoassays, both capture and detection antibodies are expressed as $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ per well and the volume per well is also shown.

Table S2. Plasma tau immunoassays precision and sensitivity

	ADx p-tau181	ADx p-tau231	Janssen p-tau217	Lilly p-tau181	Lilly p-tau217	Lilly t-tau	Quanterix p-tau181	UGot p-tau181	UGot p-tau231
Precision									
Intra-assay, %CV	7.0	4.3	0-61 (mean = 10.1)	7.87	6.83	4.88 (plasma), 6.84 (CSF)	7.7	4.5	3.7
Inter-assay, %CV	8.1	3.6	4-15 (mean = 8.7)	8.23	10.13	5.85 (plasma), 6.89 (CSF)	19.5	11.0	5.1
Sensitivity									
Analytical LLOQ, pg/ml	1.12	0.32	0.010	0.01	0.01	0.22 (plasma), 0.19 (CSF)	0.24	0.5	0.5
Functional LLOQ, pg/ml	1.58	0.39	0.024	0.18	0.04	0.43 (plasma), 0.71 (CSF)	0.96	1	1

Abbreviations: p-tau181, tau phosphorylated at Threonine 181 (T181); p-tau217, tau phosphorylated at Threonine 217 (T217); p-tau231, tau phosphorylated at Threonine 231 (T231); t-tau, total tau; UGot, University of Gothenburg; LLOQ Lower limit of quantification; CV Coefficient of variation.

Table S3. Plasma and CSF p-tau biomarkers by CSF profile (age-adjusted)

Tau biomarkers (pg/ml)	Non-AD CSF profile (n = 70, 35.5%)	AD CSF profile (n = 127, 64.5%)	Total (n = 197)	<i>P</i> value	η^2	%Inc.
<i>ADx</i>						
Plasma p-tau181	9.00 (6.20)	29.59 (13.64)	22.25 (15.19)	<.001	0.50	228.8
CSF p-tau181	293.1 (177.3)	1120.7 (539.3)	826.62 (596.43)	<.001	0.50	282.4
Plasma p-tau231	4.04 (2.75)	5.75 (3.84)	5.13 (3.58)	0.003	0.05	42.3
CSF p-tau231	64.14 (46.21)	180.0 (84.81)	138.86 (92.02)	<.001	0.44	180.6
<i>Janssen</i>						
Plasma p-tau217	0.026 (0.021)	0.143 (0.094)	0.102 (0.095)	<.001	0.57	450.0
CSF p-tau217	0.003 (0.002)	0.022 (0.015)	0.017 (0.016)	<.001	0.61	633.3
<i>Lilly</i>						
Plasma p-tau181	0.765 (0.424)	1.788 (0.804)	1.42 (0.85)	<.001	0.46	133.7
CSF p-tau181	24.56 (13.63)	73.83 (37.25)	56.23 (38.93)	<.001	0.54	221.0
Plasma p-tau217	0.186 (0.125)	0.585 (0.335)	0.44 (0.34)	<.001	0.50	214.5
CSF p-tau217	5.62 (3.60)	36.50 (23.33)	25.52 (23.95)	<.001	0.60	549.5
Plasma t-tau	30.74 (14.34)	41.12 (17.41)	37.33 (17.07)	<.001	0.11	33.8
CSF t-tau	1164.6 (545.4)	2107.8 (918.5)	1774.1 (923.2)	<.001	0.30	81.0
<i>Quanterix</i>						
Plasma p-tau181	3.05 (1.98)	4.80 (2.01)	4.17 (2.17)	<.001	0.23	57.4
CSF p-tau181	44.86 (28.70)	189.9 (115.2)	138.4 (116.9)	<.001	0.45	323.3
<i>U Got (in house)</i>						
Plasma p-tau181	13.26 (5.57)	17.07 (5.97)	15.7 (6.10)	<.001	0.16	28.7
CSF p-tau181	406.6 (126.0)	823.1 (298.4)	672.0 (320.3)	<.001	0.52	102.4
Plasma p-tau231	7.10 (2.83)	13.51 (5.09)	11.3 (5.38)	<.001	0.37	90.3
CSF p-tau231	328.7 (180.5)	854.6 (428.6)	667.7 (439.6)	<.001	0.42	160.0

Abbreviations: p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; p-tau217, tau phosphorylated at threonine 217; p-tau231, tau phosphorylated at threonine 231; t-tau, total tau.

Data are expressed as mean (M) and standard deviation (SD). AD CSF profile was defined by a CSF A β 42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse G600II, Fujirebio). *P* values were computed with an ANCOVA corrected by age for all log₁₀-transformed plasma or CSF biomarkers. The effect sizes of the comparisons were shown as the partial eta-squared (η^2) and with the percentage (%) increase of the tau biomarker mean in the AD CSF group compared to the non-AD group.

Table S4. Sensitivity and specificity of the tau biomarkers

Tau biomarkers	Cut-off (pg/ml)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Youden's index
<i>ADx</i>				
Plasma p-tau181	15.4	90.9	85.1	0.76
CSF p-tau181	511.9	92.9	88.6	0.81
Plasma p-tau231	4.91	56.6	75	0.32
CSF p-tau231	100.4	88.2	90	0.78
<i>Janssen</i>				
Plasma p-tau217	0.048	92.7	91.2	0.84
CSF p-tau217	6.15	96	95.1	0.91
<i>Lilly</i>				
Plasma p-tau181	0.85	96.8	74.3	0.71
CSF p-tau181	40.1	85.7	91.4	0.77
Plasma p-tau217	0.27	88.8	88.6	0.77
CSF p-tau217	12.4	95.3	94.3	0.90
Plasma t-tau	28.9	78	61.8	0.40
CSF t-tau	1333.4	82.5	72.5	0.55
<i>Quanterix</i>				
Plasma p-tau181	3.35	76	72.9	0.49
CSF p-tau181	85.5	89.8	94.3	0.84
<i>UGot (in house)</i>				
Plasma p-tau181	12.6	88.8	66.7	0.56
CSF p-tau181	507.8	92.7	84.3	0.77
Plasma p-tau231	10.2	77.2	84.1	0.61
CSF p-tau231	562.1	81.1	90	0.71

Abbreviations: CSF, Cerebrospinal Fluid; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; p-tau217, tau phosphorylated at threonine 217; p-tau231, tau phosphorylated at threonine 231; t-tau, total tau; UGot, University of Gothenburg.

Sensitivity and specificity were computed using the cutoff value with the highest Youden's index (sensitivity + specificity – 1) as provided by the ROC analysis for discriminating AD CSF profile (n = 127) vs non-AD CSF profile groups (n = 70).

Table S5. Characteristics of SCD, MCI and AD dementia participants

	Non-AD CSF profile (n = 53, 33.1%)	AD CSF profile (n = 107, 66.9%)	Total (n = 160)	P value
Age, years	71.5 (5.96)	73.2 (4.92)	72.6 (5.32)	.08
Female, n (%)	26 (49.1)	61 (57)	87 (54.4)	.34
Education, years	8.42 (4.50)	8.14 (4.23)	8.23 (4.31)	.71
APOE ε4 carriers, n (%)	8 (17)	66 (66.7)	74 (50.7)	<.001
Age at symptom onset, years	67.6 (7.03)	69.4 (5.67)	68.8 (6.19)	.08
Symptom duration, years	3.43 (3.13)	3.30 (2.86)	3.34 (2.94)	.80
MMSE	26 (23-28)	21 (19-24)	23 (20-27)	<.001
CDR	0.5 (0-0.5)	1 (0.5-1.00)	0.5 (0.5-1.00)	<.001
AD CSF core biomarkers (Lumipulse)				
Aβ42/40	0.090 (0.071-0.10)	0.042 (0.035-0.050)	0.050 (0.040-0.074)	<.001
p-tau181 (pg/ml)	41.1 (29.1-57.7)	112.4 (83-151.4)	85.4 (52.8-130.3)	<.001
t-tau (pg/ml)	298 (210-434)	667 (501-890)	536 (362.8-786.8)	.002

Abbreviations: Aβ, amyloid-β; CDR, Clinical Dementia Rating; CSF, Cerebrospinal Fluid; MCI, Mild Cognitive Impairment; MMSE, Mini Mental State Examination; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; SCD, Subjective Cognitive Decline; t-tau, total tau.

Data are expressed as Mean (*M*) and Standard Deviation (*SD*) [age, education, age at symptom onset, symptom duration], Median (*M*) and interquartile range (*IQR*) [MMSE, AD CSF core biomarkers] or number of participants (*n*) and percentage (%) [sex, *APOE* ε4 carrier status]. AD CSF profile was defined by a CSF Aβ42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). MMSE was not available in 10 (6.3%) individuals. *APOE* ε4 genotype was not available in 14 (8.8%) individuals.

P values tested the difference between AD CSF core biomarkers profile groups and were computed with a *t* test (age, education, age at symptom onset, symptom duration), a Mann-Whitney *U* test (MMSE, AD CSF core biomarkers) or a Chi square (sex, *APOE* ε4 carrier status).

Clinical diagnosis non-AD CSF group (n = 53): 14 SCD, 33 MCI, 6 AD dementia.

Clinical diagnosis AD CSF group (n = 107): 4 SCD, 49 MCI, 54 AD dementia.

Table S6. Characteristics of SCD and MCI participants

	Non-AD CSF profile (n = 47, 47%)	AD CSF profile (n = 53, 53%)	Total (n = 100)	P value
Age, years	71.7 (6.28)	73.5 (4.85)	72.6 (5.62)	.11
Female, n (%)	20 (42.6)	29 (54.7)	49 (49)	.23
Education, years	8.79 (4.31)	8.65 (4.93)	8.72 (4.62)	.89
APOE ε4 carriers, n (%)	7 (17.1)	28 (59.6)	35 (39.8)	<.001
Age at symptom onset, years	67.6 (7.42)	69.9 (5.85)	68.8 (6.70)	.088
Symptom duration, years	3.60 (3.27)	3.17 (3.06)	3.37 (3.15)	.50
MMSE	27 (23.5-29)	23 (20-27)	25 (21-28)	.001
AD CSF core biomarkers (Lumipulse)				
Aβ42/40	0.089 (0.068-0.10)	0.041 (0.037-0.050)	0.054 (0.041-0.087)	<.001
p-tau181 (pg/ml)	42.9 (29.8-58.6)	103.9 (71.7-151.9)	69.2 (43.0-109.3)	<.001
t-tau (pg/ml)	299 (207.5-445.5)	603 (474-870)	475.5 (296.5-632.3)	.001

Abbreviations: Aβ, amyloid-β; CSF, Cerebrospinal Fluid; MCI, Mild Cognitive Impairment; MMSE, Mini Mental State Examination; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; SCD, Subjective Cognitive Decline; t-tau, total tau.

Data are expressed as Mean (*M*) and Standard Deviation (*SD*) [age, education, age at symptom onset, symptom duration], Median (*M*) and interquartile range (*IQR*) [MMSE, AD CSF core biomarkers] or number of participants (*n*) and percentage (%) [sex, *APOE* ε4 carrier status]. AD CSF profile was defined by a CSF Aβ42/p-tau181 ratio < 10.25 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). MMSE was not available in 4 (4%) individuals. *APOE* ε4 genotype was not available in 12 (12%) individuals.

P values tested the difference between AD CSF core biomarkers profile groups and were computed with a *t* test (age, education, age at symptom onset, symptom duration), a Mann-Whitney *U* test (MMSE, AD CSF core biomarkers) or a Chi square (sex, *APOE* ε4 carrier status).

Clinical diagnosis non-AD CSF group (n = 47): 14 SCD, 33 MCI.

Clinical diagnosis AD CSF group (n = 53): 4 SCD, 49 MCI.

Table S7. Discrimination accuracy (ROC analyses) of plasma and CSF tau immunoassays in the SCD, MCI and dementia subset

Tau biomarkers AUC (95% CI)	Plasma	CSF	P value[#]
ADx			
p-tau181	0.94 (0.90-0.98) ^{a,b,c,d}	0.96 (0.93-0.99) ^{n,o,p}	.42
p-tau231	0.65 (0.56-0.74) ^{d, e,f,g,h,i}	0.92 (0.87-0.97) ^{n,q}	< .001
Janssen			
p-tau217	0.96 (0.93-0.99) ^{j,b,c,d,i}	0.99 (0.97-1.00) ^{r,s,t,u,v}	.19
Lilly			
p-tau181	0.89 (0.82-0.95) ^{b,k,l}	0.94 (0.90-0.98) ^{n,s,t}	.13
p-tau217	0.93 (0.88-0.98) ^{b,k,l}	0.98 (0.97-1.00) ^{s,t,v,w}	.054
t-tau	0.68 (0.59-0.77) ⁱ	0.85 (0.79-0.92) ^{x,y}	.005
Quanterix			
p-tau181	0.76 (0.67-0.85) ^m	0.96 (0.93-0.99) ^p	< .001
UGot (in house)			
p-tau181	0.76 (0.67-0.85) ^m	0.95 (0.92-0.98) ^p	< .001
p-tau231	0.87 (0.82-0.93)	0.91 (0.86-0.96)	.32

Abbreviations: AUC, Area Under Curve; CI, Confidence Interval; CSF, Cerebrospinal Fluid; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; p-tau217, tau phosphorylated at threonine 217; p-tau231, tau phosphorylated at threonine 231; t-tau, total tau; UGot, University of Gothenburg.

[#]P value of the comparison between the AUC of plasma and CSF of the same immunoassay (DeLong test). We also assessed the AUCs differences (DeLong test) between the plasma or CSF tau immunoassays.

Significant differences between plasma tau immunoassays:

- a $P < .001$ vs Plasma p-tau231 (ADx)
- b $P < .001$ vs plasma t-tau (Lilly)
- c $P < .001$ vs plasma p-tau181 (Quanterix)
- d $P < .001$ vs plasma p-tau181 (UGot)
- e $P < .001$ vs plasma p-tau217 (Janssen)
- f $P < .001$ vs plasma p-tau181 (Lilly)
- g $P < .001$ vs plasma p-tau 217 (Lilly)
- h $P < .05$ vs plasma p-tau 181 (Quanterix)
- i $P < .001$ vs plasma p-tau231 (UGot)
- j $P < .05$ vs plasma p-tau181 (Lilly)
- k $P < .01$ vs plasma p-tau181 (Quanterix)
- l $P < .01$ vs plasma p-tau181 (UGot)
- m $P < .01$ vs plasma p-tau231 (UGot)

Significant differences between CSF tau immunoassays:

- n $P < .05$ vs CSF p-tau217 (Lilly)
- o $P < .01$ vs CSF t-tau (Lilly)
- p $P < .05$ vs CSF p-tau231 (UGot)
- q $P < .05$ vs CSF p-tau217 (Janssen)
- r $P < .05$ vs CSF p-tau181 (Lilly)
- s $P < .001$ vs CSF t-tau (Lilly)
- t $P < .05$ vs CSF p-tau181 (Quanterix)
- u $P < .05$ vs CSF p-tau181 (UGot)
- v $P < .01$ vs CSF p-tau231 (UGot)
- w $P < .01$ vs CSF p-tau181 (UGot)
- x $P < .001$ vs CSF p-tau181 (Quanterix)
- y $P < .001$ vs CSF p-tau181 (UGot)

Table S8. Discrimination accuracy (ROC analyses) of plasma and CSF tau immunoassays in the SCD and MCI subset

Tau biomarkers AUC (95% CI)	Plasma	CSF	<i>P</i> value [#]
<i>ADx</i>			
p-tau181	0.92 (0.87-0.98) ^{a,b,c,d,e}	0.94 (0.90-0.99) ^{r,s,t}	.61
p-tau231	0.66 (0.55-0.77) ^{f,g,h,i}	0.90 (0.83-0.97) ^{r,u,v}	.001
<i>Janssen</i>			
p-tau217	0.96 (0.92-1.00) ^{c,d,j,k,l}	0.98 (0.96-1.00) ^{t,w,x,y,z}	.38
<i>Lilly</i>			
p-tau181	0.88 (0.81-0.95) ^{c,m,n}	0.91 (0.86-0.97) ^{r,t,x}	.38
p-tau217	0.90 (0.83-0.97) ^{m,o}	0.97 (0.93-1.00) ^{t,x,y,z}	.15
t-tau	0.70 (0.59-0.80) ^l	0.80 (0.72-0.89) ^{z,α,β}	.23
<i>Quanterix</i>			
p-tau181	0.73 (0.63-0.84) ^l	0.94 (0.89-0.99) ^{z,β}	<.001
<i>UGot (in house)</i>			
p-tau181	0.76 (0.66-0.86) ^p	0.92 (0.87-0.98) ^z	.004
p-tau231	0.86 (0.78-0.93)	0.90 (0.83-0.96)	.38

Abbreviations: AUC, Area Under Curve; CI, Confidence Interval; CSF, Cerebrospinal Fluid; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; p-tau217, tau phosphorylated at threonine 217; p-tau231, tau phosphorylated at threonine 231; t-tau, total tau; UGot, University of Gothenburg.

[#]*P* value of the comparison between the AUC of plasma and CSF of the same immunoassay (DeLong test). We also assessed the AUCs differences (DeLong test) between the plasma tau immunoassays or CSF tau immunoassays.

Significant differences between plasma tau immunoassays:

- a *P* < .001 vs Plasma p-tau231 (ADx)
- b *P* < .05 vs plasma p-tau217 (Janssen)
- c *P* < .001 vs plasma t-tau (Lilly)
- d *P* < .001 vs plasma p-tau181 (Quanterix)
- e *P* < .01 vs plasma p-tau181 (UGot)
- f *P* < .001 vs plasma p-tau217 (Janssen)
- g *P* < .001 vs plasma p-tau181 (Lilly)
- h *P* < .01 vs plasma p-tau 217 (Lilly)
- i *P* < .001 vs plasma p-tau231 (UGot)
- j *P* < .05 vs plasma p-tau181 (Lilly)
- k *P* < .001 vs plasma p-tau181 (UGot)
- l *P* < .01 vs plasma p-tau231 (UGot)
- m *P* < .05 vs plasma p-tau181 (Quanterix)
- n *P* < .05 vs plasma p-tau181 (UGot)
- o *P* < .01 vs plasma t-tau (Lilly)
- p *P* < .05 vs plasma p-tau231 (UGot)

Significant differences between CSF tau immunoassays:

- r *P* < .05 vs CSF p-tau217 (Lilly)
- s *P* < .01 vs CSF t-tau (Lilly)
- t *P* < .05 vs CSF p-tau181 (Quanterix)
- u *P* < .05 vs CSF p-tau217 (Janssen)
- v *P* < .05 vs CSF t-tau (Lilly)
- w *P* < .05 vs CSF p-tau181 (Lilly)
- x *P* < .001 vs CSF t-tau (Lilly)
- y *P* < .05 vs CSF p-tau181 (UGot)
- z *P* < .05 vs CSF p-tau231 (UGot)
- α *P* < .001 vs CSF p-tau181 (Quanterix)
- β *P* < .01 vs CSF p-tau181 (UGot)

Table S9. Participants' characteristics of the BIODEGMAR cohort classified by the CSF A β 42/40 ratio

	CSF A– (n = 65, 33%)	CSF A+ (n = 132, 67%)	Total (n = 197)	<i>P</i> value
Age, years	69.8 (6.72)	73.5 (4.92)	72.3 (5.83)	<.001
Female, n (%)	30 (46.2)	79 (59.8)	109 (55.3)	.069
Education, years	8.65 (4.65)	8.17 (4.13)	8.33 (4.30)	.47
APOE ϵ4 carriers, n (%)	9 (15)	76 (62.8)	85 (47)	<.001
Age at symptom onset, years	66.3 (7.01)	69.7 (5.79)	68.5 (6.40)	.001
Symptom duration, years	3.23 (2.97)	3.40 (2.88)	3.35 (2.91)	.70
MMSE	25 (22-28)	21 (18-24)	23 (19-26)	<.001
AD CSF core biomarkers (Lumipulse)				
Aβ42/40	0.094 (0.079-0.10)	0.043 (0.037-0.05)	0.05 (0.04-0.078)	<.001
p-tau181 (pg/ml)	40.3 (27.7-59.1)	103 (71.4-139.1)	81.8 (48.6-126.3)	<.001
t-tau (pg/ml)	295.5 (202.3-427.3)	638 (474.5-869.5)	515 (321.5-753)	<.001

Abbreviations: A β , amyloid- β ; A–, amyloid- β negative; A+, amyloid- β positive; CDR, Clinical Dementia Rating; CSF, Cerebrospinal Fluid; MMSE, Mini Mental State Examination; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; t-tau, total tau.

Data are expressed as Mean (*M*) and Standard Deviation (*SD*) [age, education, age at symptom onset, symptom duration], Median (*M*) and interquartile range (*IQR*) [MMSE, AD CSF core biomarkers] or number of participants (*n*) and percentage (%) [sex, *APOE* ϵ 4 carrier status]. CSF (A+) profile was defined by a CSF A β 42/A β 40 ratio <0.062 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). MMSE was not available in 23 (11.7%) individuals. *APOE* ϵ 4 genotype was not available in 16 (8.1%) individuals.

P values tested the difference between AD CSF core biomarkers profile groups and were computed with a *t* test (age, education, age at symptom onset, symptom duration), a Mann-Whitney *U* test (MMSE, AD CSF core biomarkers) or a Chi square (sex, *APOE* ϵ 4 carrier status).

Clinical diagnosis CSF A– profile group (*n* = 65): 10 SCD, 32 MCI, 6 AD dementia, 3 LBD, 2 PSP/CBS, 5 bvFTD, 5 PPA, 1 CAA, 1 unclassifiable dementia.

Clinical diagnosis CSF A+ profile group (*n* = 132): 8 SCD, 50 MCI, 54 AD dementia, 1 LBD, 4 VCID, 5 PSP/CBS, 7 PA, 2 CAA, 1 unclassifiable dementia.

CDR of the CSF (A–) profile group (*n* = 65): 12 CDR = 0, 32 CDR = 0.5, 11 CDR = 1, 7 CDR = 2, 3 CDR = 3.

CDR of the CSF (A+) profile (*n* = 132): 8 CDR = 0, 45 CDR = 0.5, 44 CDR = 1, 32 CDR = 2, 3 CDR = 3.

Table S10. Plasma and CSF p-tau biomarkers (classified by the CSF A β 42/40 ratio)

Tau biomarkers (pg/ml)	CSF A– (n =65, 33%)	CSF A+ (n = 132, 67%)	Total (n = 197)	P value	r	%Inc.
<i>ADx</i>						
Plasma p-tau181	7.78 (4.59-13.2)	25.7 (18.1-36.3)	20.05 (9.12-30.4)	<.001	0.63	230.3
CSF p-tau181	214 (158.9-394.7)	1069.1 (680.6-1373.7)	692.3 (303.5-1225.1)	<.001	0.69	399.6
Plasma p-tau231	3.94 (2.76-5.58)	5.05 (3.31-7.45)	4.63 (2.94-6.60)	.004	0.21	28.2
CSF p-tau231	47.1 (34.4-77.5)	164.8 (118-224.4)	123.4 (62.8-196.7)	<.001	0.67	249.9
<i>Janssen</i>						
Plasma p-tau217	0.024 (0.014-0.050)	0.110 (0.065-0.182)	0.070 (0.029-0.146)	<.001	0.62	358.3
CSF p-tau217	2.33 (0.72-4.78)	17.5 (10-29)	14.4 (5.37-24.8)	<.001	0.59	651.1
<i>Lilly</i>						
Plasma p-tau181	0.64 (0.52-0.95)	1.52 (1.04-2.08)	1.18 (0.72-1.85)	<.001	0.54	137.5
CSF p-tau181	20.0 (14.4-33.1)	63.6 (43.5-88.3)	47.8 (27.3-76.4)	<.001	0.68	218
Plasma p-tau217	0.16 (0.12-0.21)	0.48 (0.31-0.70)	0.36 (0.18-0.59)	<.001	0.60	200
CSF p-tau217	4.12 (2.82-7.91)	29.2 (19.8-44.6)	20.1 (6.26-38.4)	<.001	0.72	608.7
Plasma t-tau	27.2 (23.1-39.8)	35.1 (28.4-46)	32.5 (25.8-44.1)	<.001	0.28	29
CSF t-tau	1022.2 (705.4-1528.1)	1903 (1377.6-2447.3)	1568.8 (1147.6-2260.4)	<.001	0.53	86.2
<i>Quanterix</i>						
Plasma p-tau181	2.67 (1.74-3.54)	4.36 (3.28-5.44)	3.67 (2.70-5.05)	<.001	0.43	63.3
CSF p-tau181	33.0 (24.8-57)	162 (103.3-222.5)	120.7 (45.4-192.4)	<.001	0.69	390.9
<i>UGot (in house)</i>						
Plasma p-tau181	11.8 (10.4-15.1)	15.2 (13.1-18)	14.7 (12.2-17.7)	<.001	0.40	28.8
CSF p-tau181	371.1 (327.0-516.8)	791.2 (605.2-936.7)	652.3 (411.7-855.9)	<.001	0.66	113.2
Plasma p-tau231	6.68 (5.07-10.1)	12.4 (8.75-15.5)	10.7(7.37-14.4)	<.001	0.53	85.6
CSF p-tau231	305.4 (189.6-470.0)	791.2 (605.2-936.7)	600.1 (372.5-875.1)	<.001	0.63	159.1

Abbreviations: A−, amyloid-β negative; A+, amyloid-β positive; CSF, Cerebrospinal Fluid; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; p-tau217, tau phosphorylated at threonine 217; p-tau231, tau phosphorylated at threonine 231; t-tau, total tau; UGot, University of Gothenburg.

Data are expressed as median (M) and interquartile range (IQR). AD CSF profile was defined by a CSF Aβ42/Aβ40 ratio <0.062 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). *P* values were computed with a Mann-Whitney *U* test for all plasma or CSF biomarkers. The effect sizes of the comparisons were shown as *r* (which is calculated by dividing the absolute standardised test statistic *Z* by the square root of the total number of individuals) and with the percentage (%) increase of the tau biomarker median in the A+ group compared to the A− group.

Table S11. Discrimination accuracy (ROC analyses) of plasma and CSF tau immunoassays (classified by the CSF A β 42/40 ratio)

Tau biomarkers AUC (95% CI)	All sample (n = 197, 67% CSF A+)	SCD, MCI, AD dementia (n = 160, 70% CSF A+)	SCD and MCI (n = 100, 58% CSF A+)
<i>ADx</i>			
Plasma p-tau181	0.89 (0.83-0.95)	0.91 (0.85-0.96)	0.90 (0.84-0.96)
CSF p-tau181	0.92 (0.88-0.97)	0.92 (0.87-0.97)	0.91 (0.85-0.97)
Plasma p-tau231	0.63 (0.55-0.71)	0.63 (0.54-0.73)	0.63 (0.51-0.74)
CSF p-tau231	0.92 (0.87-0.96)	0.91 (0.85-0.96)	0.91 (0.85-0.97)
<i>Janssen</i>			
Plasma p-tau217	0.88 (0.83-0.94)	0.90 (0.85-0.96)	0.90 (0.84-0.96)
CSF p-tau217	0.91 (0.86-0.97)	0.92 (0.85-0.99)	0.91 (0.85-0.98)
<i>Lilly</i>			
Plasma p-tau181	0.84 (0.77-0.91)	0.83 (0.75-0.91)	0.82 (0.74-0.91)
CSF p-tau181	0.92 (0.87-0.96)	0.91 (0.85-0.96)	0.89 (0.82-0.95)
Plasma p-tau217	0.87 (0.80-0.93)	0.88 (0.81-0.95)	0.85 (0.77-0.94)
CSF p-tau217	0.95 (0.91-0.98)	0.95 (0.91-0.99)	0.94 (0.90-0.99)
Plasma t-tau	0.67 (0.59-0.76)	0.63 (0.53-0.73)	0.63 (0.52-0.75)
CSF t-tau	0.83 (0.76-0.89)	0.81 (0.73-0.89)	0.76 (0.67-0.86)
<i>Quanterix</i>			
Plasma p-tau181	0.77 (0.69-0.84)	0.75 (0.66-0.84)	0.72 (0.61-0.83)
CSF p-tau181	0.93 (0.89-0.97)	0.93 (0.88-0.98)	0.92 (0.86-0.98)
<i>UGot (in house)</i>			
Plasma p-tau181	0.74 (0.66-0.82)	0.72 (0.63-0.82)	0.71 (0.60-0.82)
CSF p-tau181	0.90 (0.86-0.95)	0.91 (0.86-0.96)	0.89 (0.83-0.96)
Plasma p-tau231	0.83 (0.76-0.89)	0.84 (0.77-0.91)	0.82 (0.74-0.90)
CSF p-tau231	0.89 (0.84-0.94)	0.88 (0.82-0.94)	0.89 (0.83-0.96)

Abbreviations: A–, amyloid- β negative; A+, amyloid- β positive; AUC, Area Under the Curve; CSF, Cerebrospinal Fluid; p-tau181, tau phosphorylated at threonine 181; p-tau217, tau phosphorylated at threonine 217; p-tau231, tau phosphorylated at threonine 231; t-tau, total tau; UGot, University of Gothenburg.

ROC curve analyses to test whether each of the plasma or CSF tau biomarkers individuals discriminates between individuals with a CSF A+ profile from a CSF A– profile, which was defined by a CSF A β 42/A β 40 ratio <0.062 (as measured by Lumipulse, Fujirebio). ROC analyses were performed in the whole BIODEGMAR sample (CSF A+ profile: n = 132, CSF A– profile: n = 65); in a subset including the syndromes of the Alzheimer’s continuum, namely, SCD, MCI and AD dementia (CSF A+ profile: n = 112, CSF A– profile: n = 48); and in a subset including SCD and MCI syndrome (CSF A+ profile: n = 58, CSF A– profile: n = 42).

5.3 Article 2

Risk of cognitive decline progression is associated to increased blood-brain-barrier permeability: A longitudinal study in a memory unit clinical cohort.

Puig-Pijoan A*, Jimenez-Balado J*, Fernández-Lebrero A, García-Escobar G, Navalpotro-Gómez I, Contador J, Manero-Borràs RM, Puente-Periz V, Suárez A, Muñoz FJ, Grau-Rivera O, Suárez-Calvet M, de la Torre R, Roquer J, Ois A".



* primers autors

"autors de correspondència

Alzheimers Dementia. 2024 Jan;20(1):538-548. doi: 10.1002/alz.13433. Epub 2023 Sep 19. PMID: 37727082; PMCID: PMC10916969.

RESEARCH ARTICLE

Risk of cognitive decline progression is associated to increased blood-brain-barrier permeability: A longitudinal study in a memory unit clinical cohort

Albert Puig-Pijoan^{1,2,3,4}  | Joan Jimenez-Balado^{2,4,5} | Aida Fernández-Lebrero^{1,2,4,6,7} | Greta García-Escobar^{2,4} | Irene Navalpotro-Gómez^{1,2,4,6} | Jose Contador^{1,2,6} | Rosa-María Manero-Borràs¹ | Victor Puente-Periz^{1,2} | Antoni Suárez² | Francisco J. Muñoz^{4,7} | Oriol Grau-Rivera^{1,2,6,8} | Marc Suárez-Calvet^{1,2,6,8} | Rafael de la Torre^{2,7,9} | Jaume Roquer^{1,2} | Angel Ois^{1,2,4,5,7} 

¹Department of Neurology, Hospital Del Mar, Barcelona, Spain

²Hospital del Mar Medical Research Institute (IMIM), Barcelona, Spain

³Medicine Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

⁴ERA-Net on Cardiovascular Diseases (ERA-CVD) consortium, Barcelona, Spain

⁵RICORS-ICTUS, Enfermedades Vasculares Cerebrales, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

⁶Barcelonaβeta Brain Research Center (BBRC), Pasqual Maragall Foundation, Barcelona, Spain

⁷Department of Medicine and Life Sciences, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain

⁸Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES), Madrid, Spain

⁹CIBER Fisiopatología Obesidad y Nutrición (CIBEROBn), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

Correspondence

Albert Puig-Pijoan, Department of Neurology, Hospital Del Mar, Passeig Marítim 25-29, 08003, Barcelona, Spain.
Email: apuig@psmar.cat

Angel Ois, Department of Neurology, Hospital del Mar, Passeig Marítim 25-29, 08003, Barcelona, Spain.
Email: aois@psmar.cat

Joan Jiménez-Balado and Albert Puig-Pijoan are first authors.

Albert Puig-Pijoan will be handling the correspondence: apuig@psmar.cat

Funding information

Spanish Institute of Health Carlos III, Grant/Award Numbers: AC20/00001, PI PI21/00194; European Research Area Net, Grant/Award Number: ERA-CVD_JTC2020-015

Abstract

INTRODUCTION: This study examined the relationship between blood-brain-barrier permeability (BBBp), measured by cerebrospinal fluid/serum albumin ratio (QAlb), and cognitive decline progression in a clinical cohort.

METHODS: This prospective observational study included 334 participants from the BIODEGMAR cohort. Cognitive decline progression was defined as an increase in Global Deterioration Scale and/or Clinical Dementia Rating scores. Associations between BBBp, demographics, and clinical factors were explored.

RESULTS: Male sex, diabetes mellitus, and cerebrovascular burden were associated with increased log-QAlb. Vascular cognitive impairment patients had the highest log-QAlb levels. Among the 273 participants with valid follow-up data, 154 (56.4%) showed cognitive decline progression. An 8% increase in the hazard of clinical worsening was observed for each 10% increase in log-QAlb.

DISCUSSION: These results suggest that increased BBBp in individuals with cognitive decline may contribute to clinical worsening, pointing to potential targeted therapies. QAlb could be a useful biomarker for identifying patients with a worse prognosis.

KEYWORDS

blood-brain barrier, cerebrovascular disease, cognition, dementia, vascular dementia

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2023 The Authors. *Alzheimer's & Dementia* published by Wiley Periodicals LLC on behalf of Alzheimer's Association.

1 | BACKGROUND

Cognitive impairment (CI) and dementia, including Alzheimer's disease (AD), are major causes of disability and dependency worldwide, affecting millions of people and their families.¹ The impact of these conditions on quality of life is substantial and represents a significant public health challenge. The blood-brain barrier (BBB) plays a crucial role in maintaining brain homeostasis and health by regulating the exchange of molecules into and out of the brain parenchyma.² Disruption of the BBB may contribute to the development and progression of CI and dementia.³ Vascular risk factors and cerebrovascular pathology are common in all stages of CI and dementia and have been shown to affect BBB integrity.^{4–6} Previous studies reported an increase in BBB permeability (BBBp) in individuals with CI.^{3,7–9} Moreover, cerebrovascular pathology and BBB dysfunction have been linked to AD pathophysiology.^{10,11} The cerebrospinal fluid (CSF)/serum albumin ratio (QAlb) is a widely used parameter for measuring BBBp with respect to large molecules.^{12–14} Due to its reproducibility and relative ease of determination in clinical laboratories, it may be useful in studies of cognitive decline and other neurological diseases.^{12,15–20} However, its clinical utility has not been well established.

The primary objective of this study was to assess the association between BBBp (as measured by QAlb) and the risk of progression of cognitive decline in a clinical cohort of individuals with cognitive decline at different stages, from subjective cognitive decline to severe dementia. Our secondary objective was to explore the independent relationship between BBBp and demographic, clinical, vascular, etiologic, and radiological factors.

By investigating the relationship between BBBp and cognitive decline progression in a real-world clinical cohort, this study aimed to increase knowledge on the underlying mechanisms of CI and dementia and to identify potential biomarkers that may be useful in patient management.

2 | METHODS

2.1 | Participants and study design

We conducted a prospective observational study of patients consecutively included in the BIODEGMAR cohort²¹ between September 2017 and September 2021. The BIODEGMAR is an observational longitudinal study that enrolls individuals with memory complaints or cognitive decline admitted at the Cognitive Decline and Movement Disorders Unit, Department of Neurology, Hospital del Mar (Barcelona, Spain). As a clinical cohort of a memory unit, the BIODEGMAR cohort includes participants with a high heterogeneity in demographics, comorbidities, and disease presentations, reflecting a real-world scenario. *Inclusion criteria:* (i) subjects evaluated in the Cognitive Decline and Movement Disorders Unit at Hospital del Mar included in DEGMAR register (see eMethods in Supplement 1); (ii) signed informed consent; (iii) meet diagnostic criteria for the following syndromes and conditions (see 'clinical diagnostic'). *Exclusion criteria:* (i) ≥ 80 years old; (ii) any

RESEARCH IN CONTEXT

- 1. Systematic review:** The authors conducted a comprehensive literature review using traditional sources (eg, PubMed) to explore blood-brain-barrier permeability (BBBp) and albumin quotient (QAlb) in cognitive decline. Despite numerous publications on this topic, few have investigated their significance in real-world memory clinic populations. Relevant publications are cited throughout the manuscript.
- 2. Interpretation:** In this longitudinal observational study in a memory clinic population, we found that increased BBBp was associated with cognitive decline progression. This suggests that QAlb could serve as a potential biomarker for identifying individuals at higher risk of cognitive decline progression and that increased BBBp may be linked to clinical worsening.
- 3. Future directions:** Additional research should focus on understanding the underlying mechanisms of increased BBBp and developing effective therapeutic strategies targeting BBB dysfunction in patients with cognitive decline. Future studies should investigate the potential role of QAlb as a prognostic biomarker in clinical settings, which could lead to improved patient assessment and management.

contraindication for lumbar puncture; (iii) do not agree with study procedures. The procedures of the BIODEGMAR study include a clinical visit, an extensive neuropsychological evaluation, magnetic resonance imaging (MRI), APOE genotyping, a lumbar puncture for CSF collection, and blood sampling.²² A comprehensive description of the BIODEGMAR cohort, the inclusion and exclusion criteria, study procedures, the core AD CSF biomarkers measurements, and cutoffs determination can be found in the eMethods in the Supplement 1.

2.2 | Sociodemographic and clinical data

The sociodemographic and clinical information was collected using an extensive structured questionnaire.²¹ Briefly, we collected sociodemographic information including sex, age, years of education, and vascular risk factors such as hypertension, diabetes mellitus type 2 (DM), hyperlipidemia, and active smoking habit.

2.3 | Clinical diagnosis

Participants in the BIODEGMAR cohort with a Global Deterioration Scale (GDS) > 1 ²² and the following clinical diagnosis were included in the current study: subjective cognitive complaints ($n = 21$)²³; mild

cognitive impairment syndrome (MCI; $n = 110$)²⁴; AD-type dementia (possible, probable, and atypical presentation; $n = 120$)²⁵; behavioral variant Frontotemporal Dementia ($n = 12$)²⁶; primary progressive or progressive aphasia (logopenic, progressive non fluent, and semantic variants; $n = 17$)²⁷; Lewy body dementia (LBD; $n = 9$)²⁸; corticobasal syndrome (CBS)²⁹ and progressive supranuclear palsy (PSP) ($n = 8$)³⁰; vascular cognitive impairment and dementia (VCID; $n = 12$)³¹; and cerebral amyloid angiopathy (CAA; $n = 11$)³². Individuals with other causes of dementia or with an unspecified clinical diagnosis were included as "other" ($n = 9$).

2.4 | Core AD CSF biomarkers

Core AD CSF biomarkers ($A\beta_{42}/40$, p-tau181 and t-tau) were measured at the Laboratori de Referència de Catalunya with Lumipulse, Fujirebio.²¹ AD was biologically defined (b-AD) according to CSF amyloid beta ($A\beta$) 42/p-tau181 ratio < 10.25 ,³³ regardless of clinical diagnostic. Extensive information about core CSF AD biomarkers and cutoffs are included in eMethods Supplement 1.

2.5 | QAlb (CSF/serum albumin)

Serum albumin was measured by colorimetric method using bromocresol green. CSF albumin was measured by the immunoturbidimetry method. Both serum and CSF albumin measurements were performed with Cobas-Hitachi automated reagents and systems (Roche Diagnostics GmbH). Higher levels of QAlb point to increased BBBp.¹³

2.6 | Neuroimaging and cerebrovascular burden (CVB)

Brain MRI was performed in all participants, except in cases with contraindication (eg, pacemaker, MRI-incompatible aneurysm clips, and claustrophobia). In case of contraindication for MRI, head CT scan was performed as part of the clinical diagnostic process. Structural MRI scans were acquired on 1.5 T (General Electric Signa Explorer) or 3T (Philips Achieva). The imaging protocol included T1- and T2-weighted sequences, high-resolution T1 3D, diffusion-weighted images, FLAIR imaging, gradient echo, and/or ven-Bold sequences. CVB was defined as the presence of extensive white matter hyperintensities as a subcortical and/or periventricular Fazekas' score³⁴ higher than 1 and/or presence of any brain vascular infarct or hemorrhagic lesion including microbleeds.³⁵

2.7 | Follow-up and neuropsychological controls

A clinical visit after lumbar puncture was performed (2 to 8 weeks). Follow-up visits, including clinical and neuropsychological evaluations, were conducted yearly (12 ± 2 months). According to clinical and neuropsychological evaluations, Global Deterioration Scale (GDS) and

Clinical Dementia Rating (CDR; global score)³⁶ were assessed to determine the cognitive decline stage. The endpoint for longitudinal analyses was progression of cognitive decline, which was defined as a binary variable, with patients undergoing any increase in GDS and/or CDR scales during the follow-up being considered as progressors and those without increase in these scales as nonprogressors. Other clinical visits were performed at a neurologist's discretion depending on clinical necessities. Clinical records were reviewed to check on the possible progression of cognitive decline before annual visits. The present study followed up patients until September 2022. We only included those subjects with GDS and CDR scores lower than 6 and 3, respectively, where a GDS score of 6 indicates a severe dementia stage and a CDR of 3 is the highest possible. We defined a minimum time of follow-up of 12 months. All cases were reviewed at the conclusion of follow-up to confirm cognitive decline progression and rule out fluctuations of symptoms ($n = 5$).

2.8 | Standard protocol approvals, registrations, and patient consent

The DEGMAR register and the BIODEGMAR study were approved by the Drug Research Ethics Committee (CEIm), Barcelona (CEIm PSMAR, project code 2018/78051). All participants (and/or a representative when appropriate), provided written informed consent approved by our local ethics committee (CEIm PSMAR).

2.9 | Statistical analysis

2.9.1 | Sample characteristics

In the descriptive analyses, we present data as medians (interquartile range) for continuous variables and as frequencies (percentage) for categorical variables. As we show in Figure 1, QAlb levels had a left-skewed distribution, and we applied the \log_e transform, which is used henceforth as the variable of interest (\log -QAlb).

2.9.2 | Cross-sectional association between BBBp and main clinical factors

We first conducted a series of univariate analyses to assess which clinical factors or diagnoses were associated with QAlb at the baseline visit (cross-sectional analysis, $N = 334$). To that end, we used Spearman's correlation, t , or ANOVA tests, as appropriate.

2.9.3 | Longitudinal effect of BBBp on risk of cognitive decline progression

In the second part of the analysis, we focused on a subset of patients with valid follow-up data (longitudinal analysis, $N = 273$). These patients were followed up until September 2022, and we registered

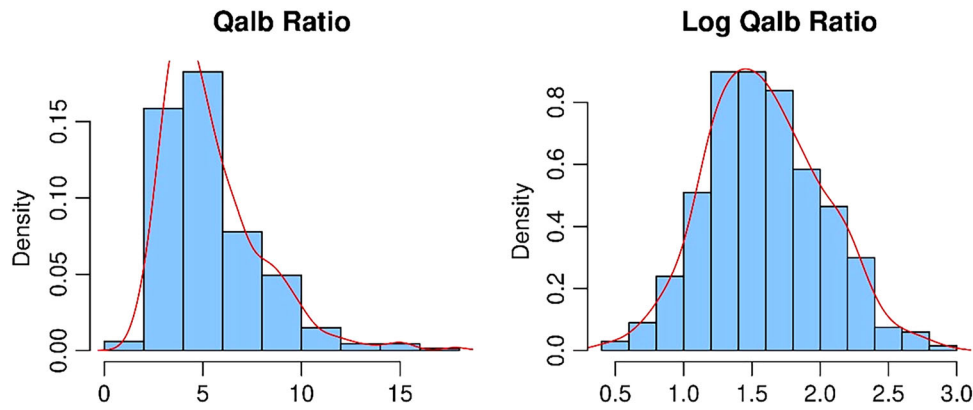


FIGURE 1 Distribution of Qalb levels before (left) and after (right) \log_e transformation.

the incidence of cognitive decline progression. Longitudinal data were right censored at the third year of follow-up to avoid an excessive number of censored patients. We first used Kaplan-Meier curves to observe which clinical variables were associated with the progression of cognitive decline within the follow-up, and significance levels were estimated using the log-rank test. The cognitive decline progression rate is presented as 1 (survival function) and 95% confidence intervals (CIs). For the univariate analysis, continuous variables were split into tertiles (post hoc comparisons were corrected for family-wise error with Bonferroni adjustment). We subsequently built multivariate Cox regression models to estimate the effect of QAlb on clinical progression after adjusting for potential confounders that were selected according to the univariate analysis ($p \leq .1$) or previous literature. Therefore, the scope model was fully adjusted for age, sex, education, hypertension, diabetes, hyperlipidemia, b-AD, CDR scale, cerebrovascular burden, and log-QAlb. Variables were selected via a forward stepwise algorithm, and the metric of interest was the Akaike information criterion. We chose to adjust this multivariate model only for the baseline CDR instead of both the CDR and GDS scores to avoid having to deal with collinearity. For the last model, we checked Schoenfeld and deviance residuals to detect potential violations, discard outliers, and confirm the proportional hazard assumption. We set the α value at 0.05. A team of two biostatisticians reviewed all statistical analyses (JJ-B, A.O.). All the statistical analyses were done with R software (R version 4.2.1; Copyright (c) 2022 The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3 | RESULTS

3.1 | Participant characteristics

From September 22, 2017 to September 29, 2021, a total of 360 individuals were included in the BIODEGMAR cohort, 350 with GDS > 1. For this study, we excluded 11 participants with undetermined plasma or CSF albumin levels, three cases of rapidly progressive dementia caused by Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), one case with a disseminated neoplastic disease, and one case with an active systemic inflammatory disease.

TABLE 1 Main characteristics of sample (N = 334).

Age	74.0 [69.0; 77.0]
Sex, Female	195 (58.4%)
Education, years	8.00 [6.00; 10.0]
Hypertension	186 (55.7%)
Diabetes mellitus	72 (21.6%)
Hyperlipidemia	167 (50.0%)
Active smoker	28 (9.36%)
Cerebrovascular burden	121 (38.2%)
b-AD	217 (65.0%)
ApoE-ε4 carrier	114 (45.8%)
GDS score	
2	27 (8.08%)
3	128 (38.3%)
4	125 (37.4%)
5	41 (12.3%)
6	13 (3.89%)
CDR score	
0	26 (7.78%)
0.5	127 (38.0%)
1	86 (25.7%)
2	78 (23.4%)
3	17 (5.09%)

Note: Values represent medians (interquartile range) or numbers (percentage) according to type of each variable. Missing data: education, five cases; smoking, 35 cases; cerebrovascular burden, 17 cases; ApoE polymorphism: 85 cases.

Abbreviations: b-AD, biologically defined AD (according to abnormal CSF Aβ42/p-Tau181 ratio); CDR, clinical dementia rating scale; GDS, global deterioration scale.

3.2 | Sample characteristics

Table 1 shows the main demographic, clinical, and radiological characteristics of the sample (N = 334); the median age was 74 years (Q₁-Q₃:

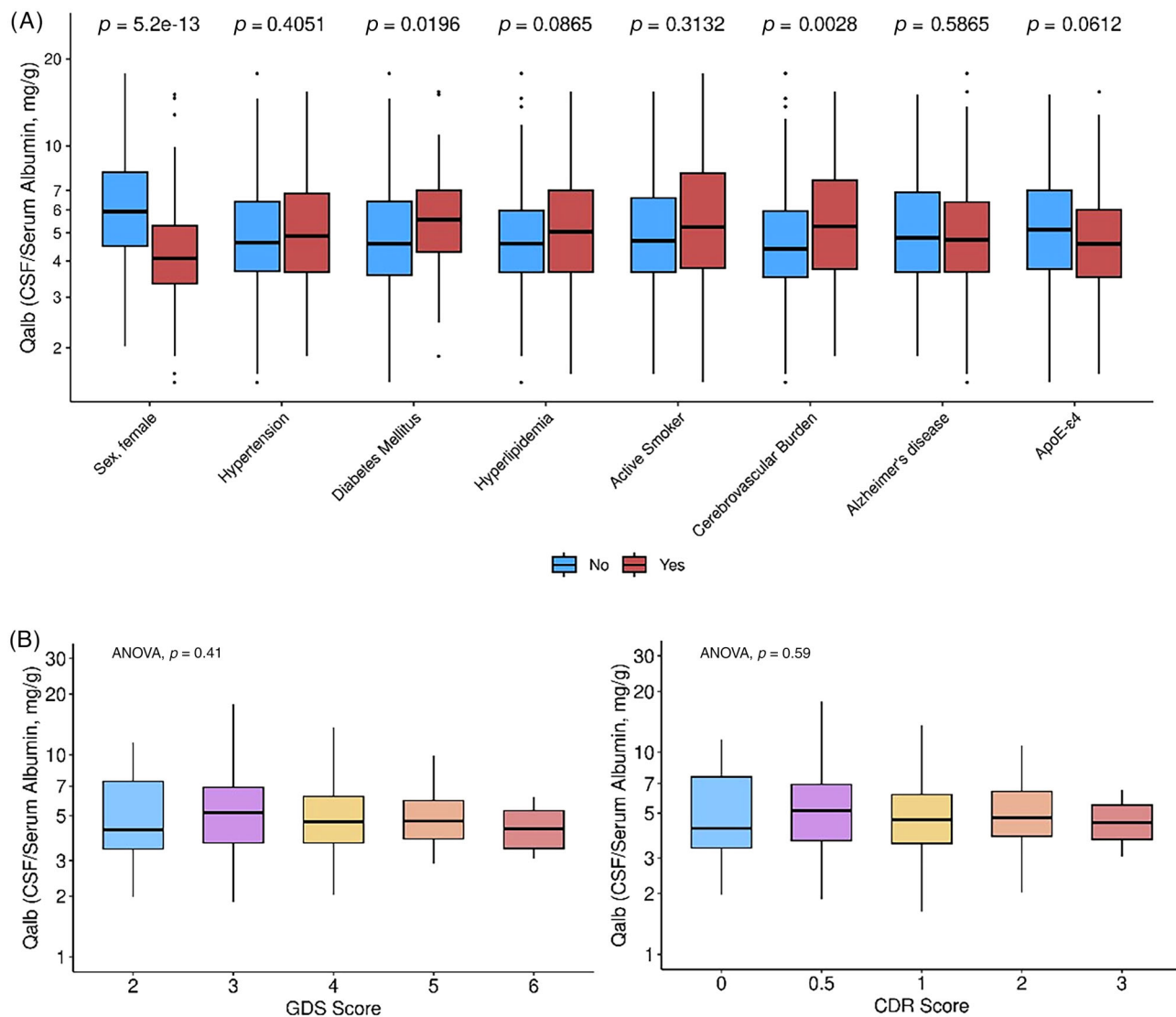


FIGURE 2 Cross-sectional differences in levels of Qalb for main clinical variables. (A) Differences in Qalb levels for main vascular and cognitive impairment risk factors (p values represent pairwise t test contrasts). (B) Illustration of how Qalb differs according to clinical stage both for GDS and CDR scales; p values were obtained with ANOVA tests. In both panels, the y axis (Qalb levels) were log-scaled.

69 to 77), and 195 (58.4%) were females. Median QAlb was 4.75 mg/g (Q_1 - Q_3 : 3.66 to 6.58).

3.3 | Cross-sectional association between BBBp and main clinical factors

We first analyzed which of the clinical variables included in Table 1 were associated with log-QAlb levels and found that males presented higher permeability levels than females (Figure 2A). Similarly, the presence of DM and CVB was associated with increased log-QAlb (Figure 2A). On the other hand, clinical staging according to GDS or CDR did not affect log-QAlb levels (Figure 2B). Neither age ($r = 0.02$, $p = 0.655$) nor years of education ($r = 0.06$, $p = 0.250$) were significantly correlated with BBBp as measured by log-QAlb. We finally compared how log-QAlb levels differed between subjects according to their clin-

ical diagnosis, finding global significant differences across groups ($F(9324) = 2.89$, $p = 0.003$). Post hoc comparisons revealed that VCID patients had the highest levels of log-QAlb and were significantly different compared to the AD-type dementia group, which presented the lowest levels of log-QAlb together with the progressive aphasia group (Figure 3).

3.4 | Longitudinal effect of BBBp on risk of cognitive decline progression

Among 334 cases, we followed up with 273 (81.7%) patients within 3 years (median follow-up [Q_1 to Q_3]: 17 months [12.5 to 29]), representing 5675 patient-months. A total of 61 participants were excluded from this analysis, 48 participants because they did not have a minimum follow-up of 12 months and 13 participants due to advanced dementia

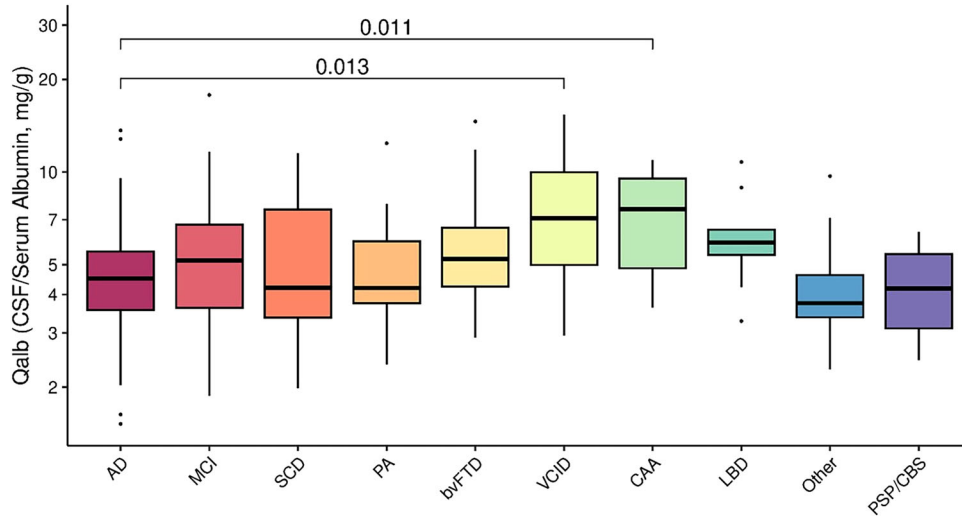
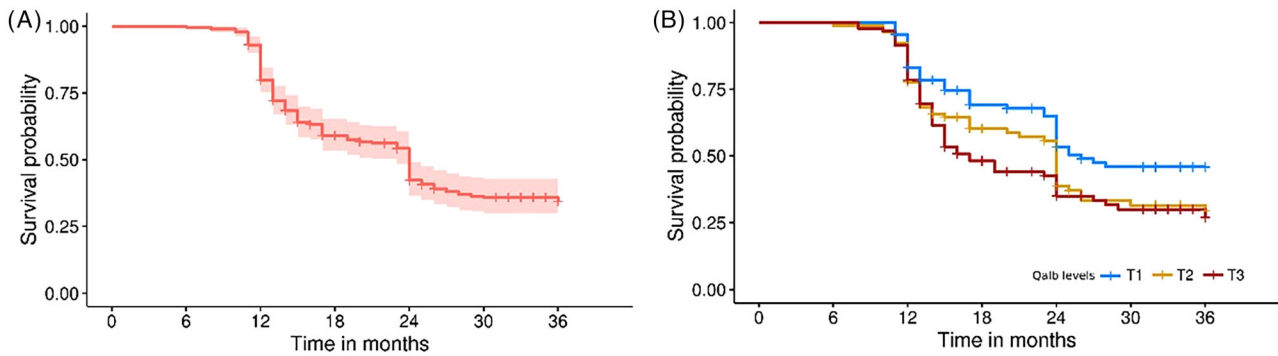


FIGURE 3 Qalb levels by clinical diagnosis. Groups were compared with pairwise *t* tests; square brackets indicate which groups are significantly different at *p* < 0.05. AD, Alzheimer's disease; bvFTD, behavioral variant frontotemporal dementia; LBD, Lewy body dementia; MCI, mild cognitive impairment; PA, progressive aphasia; PSP/CBS, progressive supranuclear palsy and/or corticobasal syndrome; SCD, subjective cognitive complaints; VCID, vascular cognitive impairment and dementia.



Time in months	0	6	12	18	24	30	36
Number at Risk	273	273	253	127	109	66	47
Cumulative Events	0	1	55	106	140	152	154

FIGURE 4 Survival curve of sample. Both survival curves show likelihood of cognitive decline progression within follow-up, as an increment in GFS and/or CDR scales. (A) Survival curve of sample, where light red shade represents 95% confidence intervals, and vertical lines are censored patients. (B) Same survival curve by Qalb levels, split into tertiles (T1, blue; T2, yellow; and T3, red). At bottom of both figures are the number of patients at risk of progression at the beginning of each time point and the cumulative number of events at the end of the same time point.

stage at baseline. Twenty-nine participants were censored due to loss of follow-up (*n* = 18) or death (*n* = 11).

We detected 154 (56.4%) patients showing progression of cognitive decline, which represents an event rate of 65.7% in the whole sample at the end of the follow-up (95% CI: 58.6% to 71.7%, Figure 4A). In Table 2 we show the effect of the main clinical variables on the risk of cognitive decline progression. As we visually represent in Figure 4B, patients with higher BBBp presented an increased rate of progression at the end of the follow-up (log-rank *p* value = .020). In post hoc pairwise comparisons, we found that this result was driven by patients with log-QAlb ≤ 3.61 (first tertile: cognitive decline progression rate at 3 years = 54%) as compared to patients with log-QAlb > 6.62 (third tertile: cognitive decline progression rate at 3 years = 73%, log-rank *p* value_{Bonferroni} = .02). An AD core biomarker profile in CSF (b-AD), ApoE-

ε4 carrier status, and higher GDS or CDR score were all associated with progression of cognitive decline as well (Table 2).

After adjusting for variables that were associated with clinical worsening in the univariate analysis or that have been described to increase the risk of cognitive decline (age, sex, years of education, hypertension, diabetes, hyperlipidemia, b-AD, CDR scale, and CVB), we analyzed the independent effect of BBBp on this progression. Variables were selected for inclusion in the final regression model using a forward stepwise algorithm, and only sex, b-AD, CDR, and log-QAlb were found to be significant predictors of cognitive decline progression in our cohort. As we show in Table 3, for each 10% increase in log-QAlb levels we observed an 8% increase in the hazard of clinical worsening (95% CI = 1.04 to 1.13, *p* < 0.001). Similarly, female sex was associated with increased risk of cognitive decline progression such that females

TABLE 2 Effect of main clinical variables and Qalb on risk of clinical decline progression (N = 273).

Variable	CDP rate (95% CI)	P	Variable	CDP rate (95% CI)	P
<i>Age, years</i>			<i>QAlb, mg/g</i>		
Tertile 1 [50, 69]	0.56 (0.45;0.67)	0.1599	Tertile 1 [1.52, 3.61]	0.54 (0.43;0.65)	0.0199
Tertile 2 [70, 77]	0.73 (0.63;0.83)		Tertile 2 [3.61, 6.62]	0.71 (0.6;0.82)	
Tertile 3 [78, 84]	0.69 (0.56;0.82)		Tertile 3 [6.62, 17.80]	0.73 (0.62;0.84)	
<i>Sex, female</i>			<i>GDS score</i>		
Yes	0.65 (0.55;0.75)	0.3338	2	0.19 (0.02;0.36)	<0.0001
No	0.67 (0.59;0.75)		3	0.62 (0.52;0.72)	
<i>Education, years</i>			<i>CDR score</i>		
Tertile 1 [0, 6]	0.64 (0.53;0.75)	0.2833	4	0.77 (0.67;0.87)	
Tertile 2 [7, 10]	0.76 (0.66;0.86)		5	0.84 (0.7;0.98)	
Tertile 3 [11, 20]	0.56 (0.44;0.68)		<i>CDR score</i>		
<i>Hypertension</i>			0	0.2 (0.02;0.38)	0.0001
Yes	0.66 (0.57;0.75)	0.7579	0.5	0.62 (0.52;0.72)	
No	0.65 (0.55;0.75)		1	0.76 (0.65;0.87)	
<i>Diabetes</i>			<i>CVB</i>		
Yes	0.73 (0.6;0.86)	0.2950	Yes	0.76 (0.66;0.86)	0.1217
No	0.63 (0.56;0.7)		No	0.64 (0.55;0.73)	
<i>Hyperlipidemia</i>			<i>b-AD</i>		
Yes	0.71 (0.62;0.8)	0.3878	Yes	0.8 (0.73;0.87)	<0.0001
No	0.6 (0.5;0.7)		No	0.38 (0.27;0.49)	
<i>Active smoker</i>			<i>ApoE-ε4</i>		
Yes	0.7 (0.51;0.89)	0.1535	Yes	0.77 (0.68;0.86)	0.0008
No	0.66 (0.59;0.73)		No	0.51 (0.41;0.61)	

Note: Values represent rate of clinical progression at third year of follow-up according to Kaplan-Meier estimator (1 – survival rate) and 95% confidence intervals for each variable and group. Significance levels were calculated using log-rank test. Continuous variables (Qalb, age, and education) were split into tertiles. Missing data: education, three cases; smoking, 25 cases; cerebrovascular burden, 14 cases; ApoE polymorphism, 61 cases.

Abbreviations: b-AD, biologically defined AD (according to abnormal CSF Aβ42/p-Tau181 ratio); CI, confidence interval; CDP, clinical decline progression; CDR, clinical dementia rating scale; CVB, cerebrovascular burden; CDR, clinical dementia rating scale; log-QAlb, log-scaled CSF/serum albumin ratio.

TABLE 3 Cox regression models showing effect of BBBp on risk of cognitive decline progression (N = 273).

	HR (95% CI)	P
Sex, female	1.63 (1.12;2.36)	0.0099
Log-QAlb, 10% increase in Qalb	1.08 (1.04;1.13)	0.0003
Alzheimer's disease	2.09 (1.39;3.13)	0.0004
CDR Score = 0.5	2.92 (1.05;8.16)	0.0408
CDR Score = 1	3.23 (1.13;9.21)	0.0286
CDR Score = 2	4.67 (1.62;13.47)	0.0043

Note: The dependent variable was the incidence of CDP within 3 years, and values represent hazard ratios, 95% confidence intervals, and p values. Variables were selected via a forward stepwise algorithm, where the metric of interest was the Akaike information criterion and the scope model was fully adjusted for age, sex, education, hypertension, diabetes, hyperlipidemia, Alzheimer's disease, CDR scale, cerebrovascular burden, and log-Qalb. In this table we show the final model at the last iteration.

Abbreviations: BBBp, blood-brain-barrier permeability; CI, confidence interval; CDR, clinical dementia rating scale; HR, hazard ratio; log-QAlb, log-scaled CSF/serum albumin ratio.

showed a 1.63-fold increased hazard of progression at the end of the follow-up as compared to males (Table 3).

4 | DISCUSSION

In our study, we found that QAlb was positively associated with male sex, DM, and CVB. We did not observe any association with AD CSF profile, nor with CI severity. Notably, we found that increased BBBp was independently associated with progression of cognitive decline.

4.1 | Cross-sectional association between BBBp and main clinical factors

Associations between QAlb, male sex,^{20,37,38} and vascular risk factors were previously described.^{18–20,39,40} In our study, although only the association of log-QAlb with DM reached statistical significance, QAlb was positively associated with all vascular risk factors (HTA, DM,

hyperlipidemia, and being active smoker). Moreover, patients with CVB showed higher QAlb levels, in line with previous studies.^{39,40} In addition, we found higher Qalb levels in patients with a clinical diagnosis of VCID, as previously reported in similar studies.^{16,17,39}

On the other hand, clinical staging according to GDS or CDR was not associated with QAlb, neither age nor b-AD. To the best of our knowledge, no recent studies evaluated BBBp and CI syndrome caused by diverse etiologies at several stages, as we did in this study. Although most participants were classified as being between prodromal and mild to moderate dementia stages, observing a lower number of participants with subjective cognitive complaints (SCD) or advanced dementia stages (27 GDS 2, 13 GDS6), we find these numbers sufficiently robust. Our results might suggest that increased BBBp reaches a limit in mild dementia stages. However, it is important to point out that clinical diagnoses at each functional stage are diverse. Thus, we cannot rule out a relationship between QAlb and GDS or CDR scores within each specific group. Previous works showed a positive association of QAlb with aging.^{38,41} In our study, we found no association, probably because of a relative short range of age distribution in our sample, which included patients visiting at a memory unit with a low number of young patients. We found no association between biologically defined AD (as AD CSF profile regardless of clinical diagnosis) and QAlb. Previous studies described altered BBBp in AD patients, from preclinical to dementia stages.⁴¹ These findings were consistent with results obtained in animal models that proposed amyloidosis as a potential factor contributing to increased BBBp.^{8,42} However, recent studies do not support this hypothesis when BBBp is measured through determination of QAlb, which indicates increased BBBp to large molecules. A meta-analysis by Olson et al.¹² suggested that there was no significant change in QAlb levels in AD compared to other neurological diseases.¹⁵ Three additional studies^{16,18,19} reported that this association was more likely related to the well-known coexistence of AD and vascular risk factors rather than being an AD-specific pathophysiology. Our results support these findings, although we cannot rule out an association of increased BBBp and AD pathophysiology within the AD continuum, as our cohort did not include a cognitively unimpaired population.

4.2 | Longitudinal data and associations of BBBp with increased risk of cognitive decline progression

Multiple studies have analyzed possible predictors that identify subjects at higher risk of clinical worsening, most of them in the AD continuum assessing AD pathology-related fluid biomarkers as well as imaging biomarkers such as the dementia conversion-related pattern (ADCRP) on [18F] Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography (FDG PET).⁴³⁻⁴⁷ Our results show factors already described as strongly associated with progression of cognitive decline such as b-AD (abnormal A β 42/p-Tau181 ratio), APOE- ϵ 4 carrier status, and female sex.⁴⁸ Abnormal levels of core AD CSF biomarkers are related to a higher risk of progression to dementia among SCD and MCI patients.⁴⁹⁻⁵⁶ Interestingly, our results show an association between female sex and worse

clinical prognosis, in line with previous evidence,⁵⁷ although this effect might be modulated by sociodemographic aspects, suggesting a role of modifiable risk factors.⁵⁷ Despite the growing interest in sex differences in cognitive decline, particularly in the AD continuum, there is a need for further epidemiological and clinical data to achieve a deeper understanding of this topic. Finally, our data showed a higher risk of cognitive decline progression as CDR increased. In recent years, few studies have compared the risk of clinical progression across different stages of cognitive impairment. A recent study⁵⁸ proposed a model of disease progression in the AD continuum, although it did not include the progression risk within dementia stages. A previous work showed that the risk of institutionalization and death increases with age and severity stage.⁵⁹ In our opinion, a better knowledge of prognostic factors during dementia stages of cognitive decline is needed, as patient management and the need of support change notably.

The results of our study show that increased BBBp, which is associated with vascular risk factors and CVB, is independently associated with a worse prognosis in individuals with cognitive decline. QAlb has been associated with a poorer prognosis in other neurological diseases such as spinal amyotrophic lateral sclerosis or multiple sclerosis.^{60,61} To the best of our knowledge, this is the first time that QAlb has been related to the progression of cognitive decline. Moreover, the association between increased BBBp and clinical progression was observed independently of b-AD. These results highlight the role of vascular pathophysiological mechanisms in neurodegenerative, vascular, and mixed etiologies of cognitive impairment.^{4,10,11} Of note, other fluid and imaging biomarkers of BBB alterations have provided valuable insights into the contributions of vascular dysfunction to cognitive decline and AD in recent years. Dynamic contrast-enhanced MRI (DCE-MRI) provides a method to estimate the index of BBB permeability (K^{trans}) at the voxel level.⁹ Using this technique, previous studies found that BBB disruption started at the early stages of the disease in AD-signature regions of brain such as the hippocampus and the parahippocampal gyrus,^{9,62} finding differences between patients with a CDR of 0 and 0.5 independently of Tau and A β markers. Moreover, the soluble platelet-derived growth factor β (sPDGFR β), which is a marker of pericyte injury,^{9,63-66} is increased during the AD continuum, including early stages,⁶⁴ and correlates with age and BBB breakdown as measured by K^{trans} and Qalb.^{63,67} Interestingly, patients with progressive MCI show higher CSF sPDGFR β levels as compared to non-progressors.⁶³ Moreover, baseline levels of sPDGFR β in APOE- ϵ 4 carriers predicted future cognitive decline after controlling for A β and Tau status.⁶⁸ Altogether, Qalb, K^{trans} , and sPDGFR β might represent different aspects of physiopathological mechanisms involved in BBB disruption, which encourages study of their complementarity as markers of vascular dysfunction in cognitive impairment.

Our results may have important implications for the clinical management of patients with cognitive decline. Given the paradigm shift that the arrival of disease-modifying therapies may entail soon, novel biomarkers for a better characterization of patients are needed. The AT(N) system⁶⁹ might incorporate novel biomarkers of other pathophysiological mechanisms such as synaptic loss, neuroimmune dysregulation, or BBB dysfunction,^{62,70} evolving toward an ATX(N)

system^{69,71} in which vascular dysfunction would be represented as 'V'.^{11,71} Our findings point to the possible use of QAlb as a vascular biomarker of BBB alteration in the ATV(N) system,⁷¹ providing important clinical insight on this regard besides a better characterization.^{62,70} In individuals in the AD continuum, it might identify those individuals at higher risk of a more aggressive disease course. In addition to this, QAlb might serve as a prognostic biomarker among other neurodegenerative, vascular, and mixed etiologies beyond the AD continuum. Identifying AD-negative individuals at high risk of clinical worsening through this marker holds clinical relevance, as there is a lack of prognostic biomarkers in these groups of patients. However, further studies focusing on the potential role of Qalb as a prognostic biomarker in other more homogeneous clinical cohorts with a larger number of patients is needed.

Our study is not free of limitations. First, as an observational study, our results do not establish causality, and the possibility of confounding factors cannot be ruled out. Additionally, as our sample size was relatively small, it would be important to investigate whether our findings are generalizable to other populations. It is also important to note that our sample consisted primarily of individuals with clinical diagnoses within the AD continuum, and the relatively limited number of participants with other diagnoses may limit the generalizability of our results. However, our cohort reflects the characteristics of a real-world clinical memory unit, with a higher heterogeneity of demographic, comorbidities, and clinical presentations compared to research cohorts.

In conclusion, our study highlights the potential clinical utility of QAlb for identifying individuals at higher risk of progression of cognitive decline, suggesting that increased BBBp may contribute to clinical worsening and represent a potential therapeutic target. Further studies are needed to explore the underlying mechanisms of increased BBBp and to develop effective therapeutic strategies targeting BBB dysfunction in patients with CI.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to express their most sincere gratitude to the BIODEGMAR participants and relatives at Hospital del Mar (Barcelona, Spain) without whom this research would not have been possible. The authors also thank all the staff at the Cognitive Decline and Movement Disorders Unit of the Department of Neurology at Hospital del Mar, as well as the entire team of the Neurology Department, the nursing, assistant, and administrative staff in the outpatient and day care units in Hospital del Mar, and the staff at IMIM (Hospital del Mar Research Institute) who supported this project. The authors also wish to extend their appreciation to our knowledgeable and skilled Ñoldor Joan J-B, whose generous contributions and collaborative spirit have been invaluable to our team. Finally, the authors also thank the collaboration of the staff at Laboratori de Referència de Catalunya. This project was funded in part by the Spanish Institute of Health Carlos III (project reference AC20/00001, PI P121/00194) and European Research Area Net (ERANET) ERA-CVD_JTC2020-015.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

A.P.-P. has served on advisory boards for Schwabe Farma Iberica. M.S.-C. has served as a consultant and on advisory boards for Roche Diagnostics International Ltd. and has given lectures at symposia sponsored by Roche Diagnostics, S.L.U. and Roche Farma, S.A. All other coauthors declare no competing interests. Author disclosures are available in the [supporting information](#).

CONSENT STATEMENT

All human subject participants in the study provided informed consent.

ORCID

Albert Puig-Pijoan  <https://orcid.org/0000-0002-9848-3711>

Angel Ois  <https://orcid.org/0000-0002-1375-5950>

REFERENCES

- World Health Organization (WHO). Dementia. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia> 2023.
- Chow BW, Gu C. The molecular constituents of the blood-brain barrier. *Trends Neurosci*. 2015;38:598-608. doi:10.1016/j.tins.2015.08.003
- Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol*. 2018;14:133-150. doi:10.1038/nrneuro.2017.188
- Snyder HM, Corriveau RA, Craft S, et al. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia including Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2015;11:710-717. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.10.008>
- Toledo JB, Arnold SE, Raible K, et al. Contribution of cerebrovascular disease in autopsy confirmed neurodegenerative disease cases in the National Alzheimer's Coordinating Centre. *Brain*. 2013;136:2697-2706. doi:10.1093/brain/awt188
- 2022 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*. 2022;18:700-789. doi:10.1002/alz.12638
- Nehra G, Bauer B, Hartz AMS. Blood-brain barrier leakage in Alzheimer's disease: from discovery to clinical relevance. *Pharmacol Ther*. 2022;234. doi:10.1016/j.pharmthera.2022.108119
- Rosenberg GA. Blood-brain barrier permeability in aging and Alzheimer's disease. *J Prev Alzheimers Dis*. 2014;1:138-139. doi:10.14283/jpad.2014.25
- Nation DA, Sweeney MD, Montagne A, et al. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction. *Nat Med*. 2019;25:270-276. doi:10.1038/S41591-018-0297-Y
- Iturria-Medina Y, Sotero RC, Toussaint PJ, et al. Early role of vascular dysregulation on late-onset Alzheimer's disease based on multifactorial data-driven analysis. *Nat Commun*. 2016;7:11934. doi:10.1038/ncomms11934
- Sweeney MD, Montagne A, Sagare AP, et al. Vascular dysfunction—The disregarded partner of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2019;15:158-167. doi:10.1016/J.JALZ.2018.07.222
- Olsson B, Lautner R, Andreasson U, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2016;15:673-684. doi:10.1016/S1474-4422(16)00070-3
- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci*. 2001;184:101-122. doi:10.1016/S0022-510X(00)00501-3
- Wallin A, Kapaki E, Boban M, et al. Biochemical markers in vascular cognitive impairment associated with subcortical small vessel disease—A consensus report. *BMC Neurol*. 2017;17. doi:10.1186/s12883-017-0877-3

15. Giacobuzzi Grigoli E, Solca F, Milone I, et al. Cerebrospinal fluid/serum albumin quotient (Q-Alb) is not increased in Alzheimer's disease compared to neurological disease controls: a retrospective study on 276 patients. *Neurolog Sci*. 2022. doi:10.1007/s10072-022-06530-w
16. Musaeus CS, Gleerup HS, Høgh P, Waldemar G, Hasselbalch SG, Simonsen AH. Cerebrospinal fluid/plasma albumin ratio as a biomarker for blood-brain barrier impairment across neurodegenerative dementias. *J Alzheimer's Dis*. 2020;75:429-436. doi:10.3233/JAD-200168
17. Skillbäck T, Delsing L, Synnergren J, et al. CSF/serum albumin ratio in dementias: a cross-sectional study on 1861 patients. *Neurobiol Aging*. 2017;59:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.06.028>
18. Lin Z, Sur S, Liu P, et al. Blood-brain barrier breakdown in relationship to Alzheimer and vascular disease. *Ann Neurol*. 2021;90:227-238. doi:10.1002/ANA.26134
19. Janelidze S, Hertze J, Nägga K, et al. Increased blood-brain barrier permeability is associated with dementia and diabetes but not amyloid pathology or APOE genotype. *Neurobiol Aging*. 2017;51:104-112. doi:10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2016.11.017
20. Skillbäck T, Blennow K, Zetterberg H, et al. Sex differences in csf biomarkers for neurodegeneration and blood-brain barrier integrity. *Alzheimers Dement: diagn, Assess Dis Monit* 2021;13. doi:10.1002/dad2.12141
21. Puig-Pijoan A, García-Escobar G, Fernández-Lebrero A, et al. The CORCOBIA study: cut-off points of Alzheimer's disease CSF biomarkers in a clinical cohort. *Neurología (English Edition)*. doi:10.1016/j.nrleng.2022.05.002. n.d..
22. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *American J Psyc*. 1982;139:1136-1139. doi:10.1176/ajp.139.9.1136
23. Jessen F, Amariglio RE, van Boxtel M, et al. A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2014;10:844-852. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.01.001>
24. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, et al. 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*. 2011;7:270-279. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008
25. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, et al. 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*. 2011;7:263-269. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.005
26. Rascovsky K, Hodges JR, Knopman D, et al. Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. *Brain*. 2011;134:2456-2477. doi:10.1093/brain/awr179
27. Gorno-Tempini ML, Hillis AE, Weintraub S, et al. Classification of primary progressive aphasia and its variants. *Neurology*. 2011;76:1006. doi:10.1212/WNL.0b013e31821103e6
28. McKeith IG, Boeve BF, Dickson DW, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2017;89:88. doi:10.1212/WNL.0000000000004058
29. Armstrong MJ, Litvan I, Lang AE, et al. Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology*. 2013;80:496. doi:10.1212/WNL.0b013e31827f0fd1
30. Höglinger GU, Respondek G, Stamelou M, et al. Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: the movement disorder society criteria. *Mov Disord*. 2017;32:853-864. <https://doi.org/10.1002/mds.26987>
31. Skrobot OA, Black SE, Chen C, et al. Progress toward standardized diagnosis of vascular cognitive impairment: guidelines from the Vascular Impairment of Cognition Classification Consensus Study. *Alzheimers Dement*. 2018;14:280-292. doi:10.1016/J.JALZ.2017.09.007
32. Greenberg SM, Charidimou A. Diagnosis of Cerebral Amyloid Angiopathy. *Stroke*. 2018;49:491-497. doi:10.1161/STROKEAHA.117.016990
33. Ashton NJ, Puig-Pijoan A, Milà-Alomà M, et al. Plasma and CSF biomarkers in a memory clinic: head-to-head comparison of phosphorylated tau immunoassays. *Alzheimers Dement*. 2022. doi:10.1002/alz.12841
34. Fazekas F, Chawluk J, Alavi A, Hurtig H, Zimmerman R. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *American J Roentgenol*. 1987;149:351-356. doi:10.2214/ajr.149.2.351
35. Thrippleton MJ, Backes WH, Sourbron S, et al. Quantifying blood-brain barrier leakage in small vessel disease: review and consensus recommendations. *Alzheimers Dement*. 2019;15:840-858. doi:10.1016/j.jalz.2019.01.013
36. Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR). *Neurology*. 1993;43:2412-2413. doi:10.1212/WNL.43.11.2412-a
37. Parrado-Fernández C, Blennow K, Hansson M, Leoni V, Cedazo-Minguez A, Björkhem I. Evidence for sex difference in the CSF/plasma albumin ratio in ~20 000 patients and 335 healthy volunteers. *J Cell Mol Med*. 2018;22:5151-5154. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13767>
38. Castellazzi M, Morotti A, Tamborino C, et al. Increased age and male sex are independently associated with higher frequency of blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction using the albumin quotient. *Fluids Barriers CNS*. 2020;17:14. doi:10.1186/s12987-020-0173-2
39. Kettunen P, Bjerke M, Eckerström C, et al. Blood-brain barrier dysfunction and reduced cerebrospinal fluid levels of soluble amyloid precursor protein- β in patients with subcortical small-vessel disease. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2022;14. doi:10.1002/DAD2.12296
40. Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood-brain barrier: ageing and microvascular disease—systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging*. 2009;30:337-352. doi:10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2007.07.015
41. Davies DC, Hardy JA. Blood brain barrier in ageing and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 1988;9:46-48. doi:10.1016/S0197-4580(88)80017-4
42. Biron KE, Dickstein DL, Gopaul R, Jefferies WA. Amyloid triggers extensive cerebral angiogenesis causing blood brain barrier permeability and hypervascularity in Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2011;6:e23789.
43. Clark C, Lewczuk P, Kornhuber J, et al. Plasma neurofilament light and phosphorylated tau 181 as biomarkers of Alzheimer's disease pathology and clinical disease progression. *Alzheimers Res Ther*. 2021;13. doi:10.1186/S13195-021-00805-8
44. Xiao Z, Wu W, Ma X, et al. Plasma A β 42/A β 40 and p-tau181 predict long-term clinical progression in a cohort with amnesic mild cognitive impairment. *Clin Chem*. 2022;68:1552-1563. doi:10.1093/CLINCHEM/HVAC149
45. Honey MIJ, Verberk IMW, Gouda M, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein, neurofilament light, phosphorylated-tau-181 and amyloid β 42/40 as prognostic biomarkers for clinical progression to dementia in individuals with subjective cognitive decline and mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement*. 2022;18. doi:10.1002/alz.064620
46. Danson HV, Stempfle L, Egilsdóttir H, et al. Predicting progression and cognitive decline in amyloid-positive patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther*. 2021;13. doi:10.1186/S13195-021-00886-5
47. Sörensen A, Blazhenets G, Schiller F, Meyer PT, Frings L. Amyloid biomarkers as predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's dementia: a comparison of methods. *Alzheimers Res Ther*. 2020;12. doi:10.1186/S13195-020-00721-3
48. Mielke MM, Aggarwal NT, Vila-Castelar C, et al. Consideration of sex and gender in Alzheimer's disease and related disorders from a global perspective. *Alzheimers Dement*. 2022;18:2707-2724. doi:10.1002/alz.12662
49. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study.

- Lancet Neurol.* 2006;5:228-234. doi:10.1016/S1474-4422(06)70355-6
50. Visser PJ, Verhey F, Knol DL, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 2009;8:619-627. doi:10.1016/S1474-4422(09)70139-5
 51. Shaw LM, Vanderstichele H, Knopik-Czajka M, et al. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol.* 2009;65:403-413. <https://doi.org/10.1002/ana.21610>
 52. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, et al. CSF biomarkers and incipient alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA.* 2009;302:385-393. doi:10.1001/jama.2009.1064
 53. Hansson O, Seibyl J, Stomrud E, et al. CSF biomarkers of Alzheimer's disease concord with amyloid- β PET and predict clinical progression: a study of fully automated immunoassays in BioFINDER and ADNI cohorts. *Alzheimer's Dement.* 2018;14:1470-1481. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.01.010>
 54. Wallin ÅK, Blennow K, Andreasen N, Minthon L. CSF biomarkers for Alzheimer's disease: levels of β -Amyloid, tau, phosphorylated tau relate to clinical symptoms and survival. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2006;21:131-138. doi:10.1159/000090631
 55. Hertze J, Minthon L, Zetterberg H, Vanmechelen E, Blennow K, Hansson O. Evaluation of CSF biomarkers as predictors of Alzheimer's disease: a clinical follow-up study of 4.7 years. *J Alzheimer's Dis.* 2010;21:1119-1128. doi:10.3233/JAD-2010-100207
 56. Elias-Sonnenschein LS, Viechtbauer W, Ramakers IHGB, Verhey FRJ, Visser PJ. Predictive value of ϵ -APOE4 allele for progression from MCI to AD-type dementia: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011;82:1149. doi:10.1136/jnnp.2010.231555
 57. Levine DA, Gross AL, Briceño EM, et al. Sex differences in cognitive decline among US adults. *JAMA Netw Open.* 2021;4:e210169. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.0169
 58. Kim KW, Woo SY, Kim S, et al. Disease progression modeling of Alzheimer's disease according to education level. *Sci Rep.* 2020;10:16808. doi:10.1038/s41598-020-73911-6
 59. Davis M, O'Connell T, Johnson S, et al. Estimating Alzheimer's disease progression rates from normal cognition through mild cognitive impairment and stages of dementia. *Curr Alzheimer Res.* 2018;15:777-788. doi:10.2174/1567205015666180119092427
 60. Uher T, Horakova D, Tyblova M, et al. Increased albumin quotient (QAlb) in patients after first clinical event suggestive of multiple sclerosis is associated with development of brain atrophy and greater disability 48 months later. *Mult Scler J.* 2015;22:770-781. doi:10.1177/1352458515601903
 61. Assialioui A, Domínguez R, Ferrer I, Andrés-Benito P, Povedano M. Elevated cerebrospinal fluid proteins and albumin determine a poor prognosis for spinal amyotrophic lateral sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2022;23. doi:10.3390/ijms231911063
 62. Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD, et al. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron.* 2015;85:296-302. doi:10.1016/J.NEURON.2014.12.032
 63. Wang J, Fan DY, Li HY, et al. Dynamic changes of CSF sPDGFR β during ageing and AD progression and associations with CSF ATN biomarkers. *Mol Neurodegener.* 2022;17. doi:10.1186/S13024-021-00512-W
 64. Lv X, Zhang M, Cheng Z, et al. Changes in CSF sPDGFR β level and their association with blood-brain barrier breakdown in Alzheimer's disease with or without small cerebrovascular lesions. *Alzheimers Res Ther.* 2023;15:51. doi:10.1186/s13195-023-01199-5
 65. Sweeney MD, Sagare AP, Pachicano M, et al. A novel sensitive assay for detection of a biomarker of pericyte injury in cerebrospinal fluid. *Alzheimers Dement.* 2020;16:821-830. doi:10.1002/ALZ.12061
 66. Sagare AP, Sweeney MD, Makshanoff J, Zlokovic BV. Shedding of soluble platelet-derived growth factor receptor- β from human brain pericytes. *Neurosci Lett.* 2015;607:97-101. doi:10.1016/j.neulet.2015.09.025
 67. Cicognola C, Mattsson-Carlgen N, van Westen D, et al. Associations of CSF PDGFR β with aging, blood-brain barrier damage, neuroinflammation, and Alzheimer disease pathologic changes. *Neurology.* 2023;101:e30-e39. doi:10.1212/WNL.00000000000207358
 68. Montagne A, Nation DA, Sagare AP, et al. APOE4 leads to blood-brain barrier dysfunction predicting cognitive decline. *Nature.* 2020;581:71-76. doi:10.1038/S41586-020-2247-3
 69. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research Framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2018;14:535-562. doi:10.1016/J.JALZ.2018.02.018
 70. Barisano G, Montagne A, Kisler K, Schneider JA, Wardlaw JM, Zlokovic BV. Blood-brain barrier link to human cognitive impairment and Alzheimer's Disease. *Nat Cardiovasc Res.* 2022;1:108-115. doi:10.1038/S44161-021-00014-4
 71. Hampel H, Cummings J, Blennow K, Gao P, Jack CR, Vergallo A. Developing the ATX(N) classification for use across the Alzheimer disease continuum. *Nat Rev Neurol.* 2021;17:580-589. doi:10.1038/s41582-021-00520-w

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Puig-Pijoan A, Jimenez-Balado J, Fernández-Lebrero A, et al. Risk of cognitive decline progression is associated to increased blood-brain-barrier permeability: A longitudinal study in a memory unit clinical cohort. *Alzheimer's Dement.* 2024;20:538-548. <https://doi.org/10.1002/alz.13433>

6. RESUM GLOBAL DELS RESULTATS

Aquesta tesi se centra en l'estudi de nous biomarcadors de la MA i de biomarcadors vasculars en fluid per a la millora del diagnòstic i de la predicció del pronòstic en pacients amb DC en un context assistencial. Els objectius proposats s'han realitzat mitjançant la generació d'una cohort clínica de pacients amb DC (cohort BLODEGMAR) i la realització d'estudis dels quals han derivat els treballs exposats prèviament.

La cohort BLODEGMAR inclou a data de 29 d'abril de 2024 un total de 611 participants, el 57.8% dels quals són dones, amb una mitjana d'edat de 72.5 anys. La majoria dels participants tenen un diagnòstic clínic de DCL o MAdm (67.1%). El protocol de l'estudi comporta un adequat fenotipat dels participants així com l'obtenció de dades clíniques longitudinals en un context assistencial. La cohort BLODEGMAR ha facilitat durant els darrers anys la realització de diversos projectes i estudis en l'àmbit clínic del DC, especialment pel que fa a la recerca de biomarcadors en fluid, alhora que s'han facilitat les dades de la mateixa per a estudis col·laboratius(86,132,182–187).

Pel que fa al primer treball presentat, s'analitza la capacitat diagnòstica de nous biomarcadors de MA en sang prenent com a referència els biomarcadors de MA en líquid cefalorraquidi (LCR) d'ús habitual. Per fer-ho, es realitzà un diagnòstic biològic de MA en 197 casos de la cohort BLODEGMAR, classificant-los com a "perfil LCR indicatiu de MA" o bé "perfil de LCR no indicatiu de MA" segons el seu rati de A β 42/p-tau181 en LCR amb el punt de tall d'ús habitual a la cohort (A β 42/p-tau181 en LCR \leq 10.25 indicatiu de MA). Posteriorment, es mesuraren un total de 9 assajos de p-tau en sang i en LCR i es comparà la seva capacitat de discriminació del perfil biològic de MA en LCR en un disseny "head-to-head" .

Els resultats indiquen que els individus amb un perfil de LCR indicatiu de MA presenten nivells més alts de p-tau en plasma i LCR en comparació amb aquells sense aquest perfil. Tots els biomarcadors p-tau en sang discriminaven els pacients amb un perfil de LCR de MA dels que no tenen aquest perfil d'una forma estadísticament significativa. En particular, Janssen p-tau217, ADx p-tau181 i Lilly p-tau217 en sang mostren la capacitat de discriminació més alta per detectar MA definida biològicament (AUC 0.96; 0.94 i 0.94 respectivament). A més, Janssen p-tau217, ADx p-tau181, Lilly p-tau217, Lilly p-tau181 i U GOT p-tau231 en plasma demostren rendiments comparables als seus equivalents en LCR.

El segon treball explora la relació entre l'augment de pBHE mesurat amb un biomarcador en fluid (QAlb, quocient entre albúmina en LCR i sang) i el pronòstic del DC en 334 pacients no seleccionats de la cohort BIODEGMAR. Es definí la progressió del DC com l'augment en la puntuació en escales CDR i/o GDS. En un primer anàlisi transversal, s'observà que el sexe masculí, la diabetis i la presència de MCV a la neuroimatge s'associava de forma significativa amb augment de pBHE. Els pacients amb diagnòstic clínic de DCV mostraven els nivells més elevats de Qalb, indicant una major pBHE.

En l'anàlisi amb dades longitudinals, que inclogué 273 pacients amb una mediana (Q1-Q3) de seguiment de 17 mesos (12.5-29) i un total de 5675 pacients-mes, 154 (56.4%) van presentar progressió del DC. L'increment de pBHE mesurat per Qalb, un perfil de biomarcadors de MA en LCR patològic, el grau de DC a l'inici del seguiment i l'estatus de portador d'APOE- ϵ 4 s'associaven significativament amb la progressió del DC. Es realitzaren anàlisi multivariats ajustats que mostraren que només el sexe, el diagnòstic biològic de MA, l'escala

RESUM GLOBAL DELS RESULTATS

CDR i Qalb es van associar de forma independent amb la progressió del DC de forma estadísticament significativa. S'observà una associació significativa de log-Qalb amb la progressió del DC, amb un 8% d'augment de risc de progressió per cada 10% d'increment de log-Qalb.

7. DISCUSSIÓ GLOBAL DELS

RESULTATS

DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS

La cohort BIODEGMAR, iniciada el 2017 i que actualment ha inclòs més de 600 pacients amb DC per diferents causes és d'un alt valor en la recerca clínica i translacional en l'àmbit del DC. El protocol de l'estudi és exhaustiu i implica un acurat fenotipat dels participants, conjuntament amb l'obtenció de mostres biològiques en diferents matrius i de material genètic. Alhora, el seguiment dels pacients facilita l'obtenció de dades longitudinals d'alt interès per a estudis sobre factors que poden influir en seu pronòstic.

Tot aquest esforç ha permès durant els darrers anys la realització de diversos estudis propis i col·laboratius prenent com a base les dades i mostres de la cohort BIODEGMAR. Es pot afirmar que avui en dia, la cohort BIODEGMAR és una de les millors caracteritzades amb biomarcadors en sang a nivell internacional.

Les característiques generals de la cohort són esperables atenent als criteris de selecció, que impliquen la inclusió dels participants fonamentalment en el procés de diagnòstic de DC en un marc assistencial. D'aquesta manera, el gruix de la cohort la conformen pacients amb diagnòstic de DCL i DC moderat, la major part amb criteris clínics de MAdm. En els casos amb diagnòstic de DCL, el resultat dels biomarcadors en LCR, fent servir el criteri del rati $A\beta/p\text{-tau}181$, són indicatius de patologia Alzheimer en el 55.7% dels casos, proporció similar a l'esperable segons estudis previs(14,188). Respecte els casos de MAdm, el 89.7% tenien un perfil de biomarcadors en LCR compatible amb MA. Aquest resultat reforça el diagnòstic clínic de la MAdm després d'un protocol diagnòstic adequat. A diferència de les indicacions d'estudi de biomarcadors en LCR estrictament clíniques, a l'Hospital del Mar s'oferia l'estudi als casos amb diagnòstic de MAdm típica en fase lleu com a procediment de recerca, amb

l'objectiu d'assolir una mostra representativa en aquest estadi. Alhora, els pacients que hi accedien es veien beneficiats en el sentit d'una major certesa en el diagnòstic etiològic.

L'àrea hospitalària de referència de l'Hospital del Mar (350.000 persones a la ciutat de Barcelona), inclou zones amb una notable diversitat a nivell socioeconòmic. Alhora, les dades de la cohort BIODEGMAR són obtingudes en un context assistencial del món real el qual implica una gran heterogeneïtat clínica (factors demogràfics, formes de presentació, comorbiditats o evolució entre d'altres). Aquestes característiques comporten una major validesa externa, pròpia de les cohorts clíniques en front a cohorts de recerca que inclouen individus molt més seleccionats. La realització d'estudis de replicació dels resultats obtinguts prèviament en cohorts de recerca en cohorts clíniques és un pas imprescindible en el desenvolupament de nous biomarcadors, previ a l'aplicació dels mateixos en la pràctica assistencial.

El desenvolupament de biomarcadors de MA en sang ha estat un dels grans avenços en l'àmbit del DC durant els darrers anys. La seva imminent aplicació clínica (iniciada ja en algunes unitats de referència), comporta una autèntica revolució en el diagnòstic de la MA. A més, disposar de proves diagnòstiques de fàcil accés i amb menors costos globals és d'especial rellevància en el context de l'arribada de tractaments modificadors de la MA.

El primer treball del present projecte de tesi constituí una aportació important en el procés de desenvolupament dels biomarcadors de MA en sang. Malgrat que diverses publicacions prèvies havien aportat evidència en quant a la capacitat diagnòstica de diversos assajos i plataformes, es desconeixien les potencials diferències entre ells. Per aquest motiu, una comparació directa amb

un disseny 'head-to-head' d'un total de 9 assajos de p-tau en sang i LCR en una cohort amb dades clíniques del món real fou de notable interès. Actualment la publicació del treball ha estat referenciada en 51 publicacions.

Els resultats mostren que tots els assajos de p-tau en sang comparats discriminaven els pacients amb un diagnòstic biològic de MA en LCR, alhora que indicaven que alguns d'ells assolien una capacitat de discriminació més alta (AUC >0.90) i comparable amb els seus assajos homòlegs en LCR. Els assajos dirigits a la fosforilació en la treonina en la posició 217 (p-tau217) van ser els que mostraren una AUC més elevada (AUC 0.96 i 0.94 observades amb els assajos Janssen i Lilly respectivament), amb l'excepció de l'assaig dirigit a p-tau181 d'ADx (AUC 0.94). Aquests resultats s'alineen amb els obtinguts en estudis en altres cohorts, on s'observa una bona capacitat diagnòstica d'assajos dirigits a diferents isoformes de p-tau incloent p-tau 181(137,138,189), p-tau231(135,190), amb un rendiment en general superior de p-tau217 (146,147,191–193).

Pel que fa a la comparació dels biomarcadors en sang amb els de LCR, els nostres resultats indicaven que alguns dels assajos inclosos assolien una capacitat similar o lleugerament inferior als seus homòlegs en LCR per detectar patologia Alzheimer, sense observar-se diferències estadísticament significatives. En línia amb els nostres resultats, estudis posteriors han mostrat una capacitat de detecció de patologia Alzheimer mesurada en Pet-amiloide i/o Pet tau comparable o fins i tot superiora a la dels biomarcadors tradicionals en LCR(194). De forma destacada, un estudi multicèntric amb un assaig de p-tau217 automatitzat i comercialitzat han mostrat una capacitat similar a la dels biomarcadors en LCR per detectar patologia amiloide en Pet.(147)

DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS

L'estudi mostra que l'assaig contra t-tau en sang inclòs mostrava un rendiment notablement més baix respecte el seu homòleg en LCR (AUC 0.73 i 0.85 respectivament). Aquests resultats són explicables pel fet els nivells de t-tau en sang no són un bon indicador de neurodegeneració central davant la producció perifèrica de la mateixa. No obstant això, recentment s'ha desenvolupat un assaig per a la detecció de l'anomenada tau derivada del cervell (en anglès 'Brain-derived-tau', BDTau), la qual és un indicador de neurodegeneració associada a la MA(195). Mesures de BDTau en un estudi multicèntric amb dades de la cohort BLODEGMAR han mostrat que els nivells s'incrementen en relació augment de patologia amiloide i neurodegeneració a LCR(183).

Pel que fa a la determinació de punts de tall, facilitats al material suplementari, es considera que el disseny de l'estudi, de cohort única i amb una mida mostral relativament limitada, en limiten la seva aplicació assistencial, la qual per altra banda no era l'objectiu de l'estudi. En aquest sentit, és recomanable determinar els punts de tall mitjançant estudis que incloguin diverses cohorts per assolir una representativitat més gran, major diversitat i, conseqüentment, una millor validesa externa. Actualment existeix un consens sobre l'aproximació més adequada per a determinar punts de tall dels biomarcadors de MA en sang, utilitzant-ne dos: un amb una alta Es i un altre amb alta Se (90,95 o 97.5%) (176,196), obtenint tres nivells per al diagnòstic biològic de MA (alt, mig, baix). El nivell alt es caracteritza per un alt valor predictiu positiu (escassos falsos positius) i el baix un alt valor predictiu negatiu (minimitzant falsos negatius). El nivell intermig requeriria la determinació de biomarcadors de MA en LCR o estudi Pet(197). (Suárez-Calvet, M, et al, en revisió a Neurología).

Cal tenir en compte que afegir un segon biomarcador de MA en sang podria augmentar la rendibilitat de l'estudi en els casos que cauen en el nivell intermig, com mostren resultats preliminars obtinguts amb dades de la cohort BIODEGMAR (Contador, J, en preparació). Per altra banda, en un estudi internacional multicèntric on s'inclouen dades de la cohort BIODEGMAR, s'han determinat els punts de tall universals per a l'assaig p-tau217 en sang de Lumipulse (Fujirebio), els quals estem aplicant a l'Hospital del Mar (Palmqvist S. et al, en preparació).

El desenvolupament dels biomarcadors de MA en sang es troba actualment en fase d'implementació i el seu ús clínic s'ha iniciat en algunes unitats especialitzades. Tot i això, algunes qüestions rellevants són encara objecte d'estudi. Així, el seu rendiment en poblacions més diverses, la robustesa de mesures realitzades prospectivament o l'impacte de diversos factors (sexe, gènere, factors socioeconòmics, genètics, índex de massa corporal (IMC), comorbiditats o tractaments concomitants entre altres) així com factors preanalítics (variabilitat dels nivells en sang segons els horaris, l'estat de dejú, circuit de la mostra incloent temps fins el processament i les determinacions) requereixen encara més estudis. Així mateix, l'impacte de la seva aplicació en l'ús clínic en diferents contextos està sent objecte d'estudi i de debat actualment(126,197–200). En aquest sentit, s'està realitzant un estudi d'implementació dels nous biomarcadors en sang a l'Hospital del Mar (estudi PLASMAR). Estudis d'aquest tipus facilitaran un major coneixement sobre els aspectes esmentats, obrint la porta a la integració de l'ús dels biomarcadors en el circuit assistencial incloent altres àmbits com la neurologia general o l'atenció primària a mig termini.

DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS

Posteriorment a la publicació del primer treball, s'ha donat continuïtat a l'estudi amb la inclusió a l'anàlisi d'altres assajos de p-tau i d'A β amiloide en sang. Actualment s'han analitzat fins a 18 assajos diferents de p-tau en sang a la cohort BLODEGMAR. Es preveu la comunicació dels resultats d'aquest treball properament (Anastasi F, Fernández-Lebrero A. et al, en preparació).

En el context del desenvolupament dels nous biomarcadors plasmàtics per al diagnòstic de la MA, l'estudi presentat va contribuir notablement a la fase de validació clínica dels mateixos. Davant els notables avenços en els darrers anys, els biomarcadors de MA en sang han estat inclosos en les noves guies diagnòstiques de la MA (NIA-AA 2024)(201), alhora, les societats científiques comencen a acordar posicionaments comuns de cara la seva aplicació (Suárez-Calvet M, et al, en revisió a Neurología).

Respecte l'aplicació dels biomarcadors plasmàtics de MA en entorns no especialitzats, un estudi recent mostra que el seu ús en l'àmbit de l'atenció primària i secundària augmenta la capacitat de diagnòstic de forma notable(202). Tot i així cal tenir en compte la necessitat d'ampliar el coneixement en quant als factors confusors esmentats anteriorment. Així mateix, la interpretació del seu resultat ha d'anar acompanyada d'un procés diagnòstic que inclogui una adequada caracterització clínica, incloent la valoració neuropsicològica i neuroimatge. Alhora, la interpretació dels resultats dels biomarcadors pot ser complexa, especialment en casos amb més d'un diagnòstic diferencial, comorbiditats o altres factors confusors, i requereix una corba d'aprenentatge. Així, en casos conflictius la discussió per part d'un grup d'experts arribant a un diagnòstic de consens pot ser el més adequat.

Pel que fa a l'ús dels biomarcadors de MA en programes de cribatge poblacional, aquest hauria de ser contemplat tal vegada es disposi d'intervencions preventives i/o terapèutiques adequades a les quals es pugui garantir l'accés. En canvi, en individus simptomàtics, es podria integrar el seu ús a l'àmbit de l'atenció primària si s'acompanya de mesures de cribatge neuropsicològic i de forma coordinada amb les unitats especialitzades, podent optimitzar els circuits de derivació per a completar l'estudi posteriorment. Un resultat normal en un biomarcador en sang de MA en un pacient simptomàtic, en cap cas no hauria de limitar l'accés a un estudi diagnòstic adequat. Tot i així, en l'escenari previst a curt-mig plaç, en el qual es disposa de tractaments biològics per a la MA, el cribatge a atenció primària incloent els biomarcadors de MA en sang podria ser útil a l'hora d'organitzar un circuit específic dirigit al ràpid accés als mateixos.

El segon treball del present projecte de tesi explora l'associació entre un biomarcador de pBHE (Qalb, quocient d'albúmines entre sang i LCR) i el pronòstic del DC en pacients de la cohort BLODEGMAR. Els resultats, obtinguts en una cohort heterogènia, reforcen el rol dels mecanismes fisiopatològics vasculars en diferents causes de DC i assenyalen l'augment de pBHE com un mecanisme de particular interès pel seu possible impacte en l'evolució del mateix, suggerint una possible diana terapèutica. Alhora, indiquen que Qalb podria usar-se com un biomarcador pronòstic, tant en el contínuum de la MA com en altres causes de DC.

Respecte el resultat de les anàlisi transversals, l'associació de Qalb amb el sexe masculí podria explicar-se per un augment de la prevalença de FRV en la població masculina(203–205). Les dades de l'estudi mostren una associació

DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS

entre Qalb i tots els FRV analitzats (HTA, diabetis, dislipèmia i hàbit tabàquic), encara que aquestes diferències només van assolir significació estadística per a la diabetis. Així mateix, Qalb es va associar amb la càrrega de MCV a la neuroimatge. Aquest resultat s'alinea amb evidència prèvia sobre una relació entre l'augment de pBHE i signes radiològics de MCV (206,207).

Alhora i de forma congruent amb els resultats d'estudis previs, es va observar que el grup de pacients amb diagnòstic clínic de DCV mostraven els nivells més alts de Qalb(206,208,209). Aquest resultat és esperable davant la relació entre l'augment de pBHE i la càrrega de MCV a la neuroimatge, la qual forma part dels criteris diagnòstics del DCV.

En quant a la relació entre la pBHE i l'estadi del DC, no es van observar associació significativa. Tot i que la majoria dels participants a l'estudi es trobaven en un estadi de DCL o demència lleu al moment de la inclusió, s'hi van incloure 27 casos de declivi cognitiu subjectiu (DCS) i 13 pacients en estadis de DC avançat (GDS 6), pel que es va considerar el rang prou ampli. Tot i això, davant la diversitat etiològica en els diferents estadis i l'escassa representació d'algunes formes de DC, no es pot descartar una associació entre la pBHE i l'estadi del DC en la història natural de les diferents malalties. Alhora, els resultats podrien suggerir que l'augment de pBHE arriba a un límit en estadis inicials de demència, produint-se doncs un efecte promotor del DC en estadis preclínic i prodròmic conforme el dany sobre la BHE per diferents factors es va produint i mantenint-se posteriorment els efectes nocius de la pèrdua de funció de la mateixa durant les fases simptomàtiques més avançades. A diferència dels resultats en estudis previs(207,210), no es va observar associació entre Qalb i

l'edat, tot i que aquest resultat podria explicar-se davant el relativament estret rang d'edat de la població inclosa.

Pel que fa a l'associació entre la pBHE i la MA, a l'estudi no es va observar una associació significativa entre Qalb i la MA definida biològicament (casos amb perfil de biomarcadors en LCR indicatius de MA). Estudis previs han descrit aquesta associació tant en estadis preclínics com en fase de demència per MA(211), de forma consistent amb estudis que indiquen que mecanismes propis de la patofisiologia de la MA com el dipòsit d'amiloide i tau, la neuroinflammació, mecanismes relacionats amb APOE-ε4 o amb l'envelliment contribueixen a la disfunció de la BHE (102,212,213). Tot i això, un metaanàlisi conclou que no hi ha diferències entre la pBHE mesurada amb Qalb entre la MA i altres malalties neurodegeneratives(214). Alhora, altres estudis indiquen que l'associació podria deure's a la coexistència de FRCV més que per una relació intrínseca entre la patofisiologia Alzheimer i l'augment de pBHE (215–217). Els nostres resultats s'alineen amb aquests estudis, observant-se a més que els pacients amb DCV mostraven una major pBHE. Tot i això, davant la no inclusió de subjectes CS amb risc de MA no podem descartar una associació entre l'augment de pBHE mesurat amb Qalb i la patofisiologia Alzheimer en el seu contínuum. Alhora, no es disposa d'un grup control per valorar l'associació entre l'augment de pBHE i el DC globalment.

En quant als resultats referents a les dades longitudinals, molts estudis han aportat evidència sobre factors predictors de l'evolució del DC, la majoria dels quals en el contínuum de la MA i fent ús de biomarcadors relacionats amb la mateixa(158,218–221). En aquest sentit, els nostres resultats, que mostren un pitjor pronòstic dels participants amb perfil de biomarcadors de MA en LCR

patològic, s'alineen amb l'evidència prèvia (222–229). Respecte el risc associat a APOE- ϵ 4, un estudi recent evidencia que l'haplotip APOE- ϵ 4 homozigot es pot considerar una forma genèticament determinada de MA davant la pràcticament completa penetrància i expressió clínica(230). Alhora, també s'observa un pitjor pronòstic relacionat amb el sexe femení, en línia amb estudis previs(231). Aquesta darrera associació entre el sexe femení i un pitjor pronòstic del DC en la MA podria ser modulada per factors socioeconòmics. Malgrat el creixent interès i evidència en factors relatius al sexe, encara es necessiten més dades i estudis per aprofundir en aquests aspectes(232,233). Els resultats mostraren un augment de risc de progressió del DC en relació a la CDR basal. En línia amb aquests resultats, un estudi longitudinal en pacients amb DCL-MA i MAdm lleu mostrà un increment anual de la puntuació en l'escala CDR suma de caixes superior per als individus en estadi de de demència lleu inicial (CDR global 1) respecte els individus amb MA prodròmica (CDR 0.5)(234)

El resultat principal de l'estudi fou que l'increment de pBHE mesurat per Qalb s'associa de manera independent a un pitjor pronòstic en pacients amb DC en una cohort clínica amb dades del món real. Aquest estudi és, fins on sabem, el primer a relacionar el QAlb amb la progressió del DC. Aquests resultats reforcen la importància dels mecanismes fisiopatològics vasculars en diferents etiologies del DC (MA, altres malalties neurodegeneratives, DCV i formes mixtes).

Durant els darrers anys s'ha pogut aprofundir en la relació entre la disfunció de la BHE i el DC, en especial en el contínuum de la MA. El desenvolupament de diferents tècniques i biomarcadors nous com com la seqüència amb contrast dinàmic a la ressonància magnètica (DCE-MRI, ktrans),

la qual permet estimar la pBHE amb alta precisió topogràfica o les mesures sPDGFR β , indicador de dany del pericit esmentat prèviament, han contribuït a un millor coneixement de la relació entre la disfunció de la BHE i el DC i en major mesura del DC en el contínuum de la MA en estudis *in vivo* en humans. Alguns estudis han demostrat que la disrupció de la BHE s'observa en fases tempranes i en regions cerebrals afectades en estadis inicials de la MA, com l'hipocamp i el gir parahipocampal, observant-se diferències entre individus CS i DCL, independentment de l'increment de marcadors de MA(99,100). Així mateix, s'ha observat que sPDGFR β , augmenta durant la progressió de l'Alzheimer, incloent les etapes primerenques i es correlaciona amb l'edat i la ruptura de la BHE mesurada per DCE-MRI i Qalb (175,235). També s'ha vist que els pacients amb DCL que progressen a demència tenen nivells més alts de sPDGFR β en el LCR en comparació amb aquells que no progressen(235). Cal tenir en compte que Qalb és un indicador de pBHE a molècules grans. Alhora, el seu caràcter inespecífic no permet inferir aspectes que recolzin mecanismes fisiopatològics concrets de dany de la BHE. Altres marcadors de disfunció de BHE com els citats (ktrans i sPDGFR β) aporten informació sobre altres aspectes pel que poden ser complementaris en estudis relacionats amb la disfunció de la BHE en el DC.

Com s'ha comentat prèviament, la variabilitat pronòstica dels pacients amb DC és notable, incloent l'evolució dels pacients amb un mateix diagnòstic etiològic. Factors socioeconòmics, clínics com la presència de comorbiditats i tractaments, genètics i/o la coexistència de diferents patologies a nivell del SNC entre altres poden contribuir a aquestes diferències(236)(29). Resultats d'estudis posteriors realitzats a la cohort BIODEGMAR mostren que Qalb s'associa de forma independent amb el risc de progressió a demència a curt plaç (12 +- 3

mesos) en individus amb DCL, tant en els que tenen diagnòstic de DCL-MA com els DCL d'etiologia no Alzheimer (Puig-Pijoan, A, Fernández-Lebrero A, et al. en preparació).

Tot i que la recerca en factors pronòstics se centra sovint en el risc de progressió a demència en individus amb DCL així com en risc d'inici de símptomes en persones asimptomàtiques, un millor coneixement de l'evolució esperada de la malaltia incloent fases simptomàtiques en estadi de demència és rellevant, atenent a la variabilitat comentada prèviament. Tenint en compte la notable diferència entre els estadis lleus i avançats del DC en fase de demència en quant a capacitat cognitiva i funcional dels pacients, la seva qualitat de vida i els recursos necessaris per a la seva atenció, un model predictiu més precís és de gran interès. Un estudi recent mostra dades sobre el risc de progressió entre els diferents estadis en el contínuum de la MA en individus A+ (111). Tot i així, davant l'impacte dels diferents determinants esmentats, la variabilitat interindividual i entre grups poblacionals amb característiques diverses implica la necessitat de models predictius més precisos. En aquest sentit, actualment s'estan centrant esforços en el desenvolupament de models estadístics predictors de l'evolució de la malaltia integrant diferents paràmetres, els quals podrien contribuir notablement al disseny d'assajos clínics i altres intervencions i potencialment a la determinació pronòstica de forma personalitzada(237,238). Alhora, per a una millor avaluació de l'impacte de mesures terapèutiques incloent els nous tractaments biològics de la MA, aquesta és molt necessària.

Els resultats indiquen que QAlb podria servir com a biomarcador per identificar individus amb un risc més alt de progressió del DC, obrint la porta a l'ús d'aquest com biomarcador pronòstic. En l'escenari de la propera arribada de

tractaments modificadors de la MA, disposar de nous biomarcadors que permetin una millor caracterització dels pacients, tant pel que fa al diagnòstic biològic com en altres aspectes relatius al pronòstic o potencial resposta als tractaments entre d'altres és essencial. En pacients dins del contínuum de la MA, aquest marcador podria identificar aquells amb major risc de patir una evolució més agressiva de la malaltia. Alhora, cal tenir en compte que un augment de la pBHE podria influir en l'eficàcia de tractaments farmacològics atenent a una major penetrància en el SNC. Així, la determinació de Qalb pot ser d'interès de cara a l'avaluació d'aquesta possible relació entre la pBHE i l'eficàcia de tractaments biològics de la MA. En cas de confirmar-se aquesta hipòtesi, es podria avaluar el potencial ús de Qalb com a marcador predictor de resposta dels mateixos. Per altra banda, en els casos sense diagnòstic biològic de MA, tant en demències per altres malalties neurodegeneratives, en el DCV així com en casos de DCL sense diagnòstic etiològic concret, aquest biomarcador pronòstic pot ajudar a un adequat seguiment i reforç de mesures terapèutiques adequades. Tot i això, de cara determinar la capacitat de Qalb com a marcador pronòstic en diferents etiologies del DC, són necessaris estudis amb una major grandària mostral així com la replicació en altres cohorts. Alhora, i en contraposició amb els biomarcadors de MA en sang, la necessitat de realitzar una punció lumbar podria limitar l'aplicabilitat de Qalb en la pràctica assistencial.

Per altra banda, el sistema AT(N)(107) podria integrar nous biomarcadors d'altres mecanismes fisiopatològics com la pèrdua sinàptica, la resposta glial o la disrupció de la BHE, evolucionant cap a un sistema ATX(N) on la disfunció vascular estaria representada com 'V'(99,109,239,240). Els nostres resultats apunten a la utilitat potencial del QAlb com a biomarcador vascular d'alteració de

la BBB en un sistema 'ATV(N)', oferint una informació clínica rellevant de caràcter pronòstic i per tant una millor caracterització.

El present projecte de tesis presenta diferents limitacions. Pel que fa a les característiques de la cohort, tenint en compte que aquesta es nodreix principalment de pacients en els quals es realitza l'estudi de biomarcadors en LCR amb una intenció diagnòstica seguint les recomanacions habituals, la major part dels participants es troben en estadis prodròmics o lleus de demència al moment de la seva inclusió, alhora que formen part del contínuum clínic de la MA, amb un nombre limitat de pacients amb algunes de les síndromes clíniques incloses. Alhora, no es disposa d'un grup control ni d'un nombre suficient de pacients per a assolir un rang d'edat més ampli. No es contempla la realització d'estudi anatomopatològic amb l'excepció de casos molt seleccionats. Així mateix, tot i que la caracterització dels participants és àmplia, l'obtenció de dades respecte aspectes relatius a l'estil de vida dels participants així com d'aspectes socioeconòmics i demogràfics augmentaria la qualitat de la cohort. Així mateix, tot i que la població de referència de l'hospital és diversa, la major part dels pacients atesos i inclosos són caucàsics, pel que l'aprofundiment en aspectes relatius a diferències per grup ètnic són limitades. A més, no es disposa encara de mostres longitudinals. Pel que fa a les limitacions específiques dels treballs presentats, en quant al primer treball hagués estat d'interès disposar d'estudi Pet amiloide com a prova de referència. Tot i això, cal tenir en compte que els biomarcadors de MA en LCR és l'estudi habitual en la major part dels pacients al nostre entorn. Alhora, el nombre de pacients inclosos en els dos estudis és relativament limitat, pel que la generalització dels resultats requereix d'ampliació i replicació dels mateixos en altres cohorts. En quant al seguiment longitudinal

del segon estudi, tot i que les dades de la cohort ofereixen una perspectiva valuosa, el temps de seguiment pot ser insuficient per a extreure conclusions més robustes. Alhora, cal tenir en compte que el protocol de l'estudi BIODEGMAR s'executa en un context principalment assistencial amb les limitacions que això implica.

Els resultats d'aquesta tesi tenen implicacions importants en l'àmbit assistencial del DC. Els estudis realitzats a la cohort BIODEGMAR aporten evidència amb dades obtingudes en un context assistencial del món real, pròpia de les cohorts clíniques. El primer treball ha contribuït de forma notable a l'evidència necessària en el procés de desenvolupament dels nous biomarcadors de MA en sang, aportant informació rellevant sobre la seva capacitat diagnòstica. Per altra banda, l'associació entre l'augment de la pBHE i el pitjor pronòstic del DC reforça el pes dels mecanismes vasculars en la síndrome de DC, recolzant la recerca en aquesta línia i suggerint possibles implicacions terapèutiques. Alhora, el potencial ús de Qalb com a marcador pronòstic pot ajudar a personalitzar les estratègies terapèutiques i a ajustar les intervencions en funció de les característiques específiques dels pacients i per tant realitzant una medicina més personalitzada.

En conjunt, els resultats dels treballs realitzats proporcionen una base sòlida per a la millora del diagnòstic i de la predicció del pronòstic del DC mitjançant l'ús de nous biomarcadors de la MA i de biomarcadors vasculars en fluids en l'atenció als pacients amb DC.

8. CONCLUSIONS

1. La generació d'una cohort clínica de pacients amb DC amb un adequat fenotipat, incloent mostres biològiques i dades longitudinals és un requisit fonamental per a la investigació translacional i constitueix la base per a la realització d'estudis de recerca clínica amb un elevat impacte científic.
2. Els nous biomarcadors de MA en sang tenen una alta precisió per al seu diagnòstic biològic en un context clínic especialitzat, recolzant el seu potencial i propera implementació en la pràctica clínica.
3. L'associació entre l'augment de la pBHE i la progressió del DC en una cohort clínica heterogènia és indicativa del pes dels mecanismes vasculars en el pronòstic dels pacients.
4. L'associació entre l'augment de la pBHE i la progressió del DC indica un potencial ús de Qalb com a biomarcador de caràcter pronòstic en la pràctica clínica.

9. LÍNIES DE FUTUR

Els resultats del present projecte de tesi obren la porta a l'aprofundiment en la recerca clínica i traslacional en el DC amb dades de la cohort BLODEGMAR. Pel que fa a la mateixa i de cara augmentar-ne la qualitat, es preveu incorporar un grup control ampli per a comparacions més robustes així com augmentar el nombre de pacients dels grups diagnòstics menys representats, especialment tenint en compte els avenços en la caracterització que permeten els nous biomarcadors en sang. Alhora, es preveu ampliar la informació sociodemogràfica així com la relativa a aspectes sobre l'estil de vida (dieta, activitat física, socialització), obrint la porta a estudis en els quals es puguin aprofundir al respecte. Així mateix, de cara augmentar la representativitat, es preveu la inclusió de participants amb una major diversitat ètnica i socioeconòmica gràcies a projectes col·laboratius amb àries d'atenció primària amb major diversitat. L'estudi de biomarcadors d'altres malalties neurodegeneratives, així com la inclusió de probes de medicina nuclear de forma sistemàtica en alguns grups diagnòstic seleccionats per a una millor caracterització dels pacients i dotar de major potencial de recerca a la cohort són altres de les mesures previstes. Per altra banda, la cohort BLODEGMAR es realitza en un context de pràctica clínica assistencial, en el qual l'estudi de biomarcadors es realitza en casos amb DC. Així, en el marc d'un nou paradigma en l'atenció al DC on la prevenció i la determinació del risc en persones asimptomàtiques aniran prenent un major protagonisme, generant noves estructures com centres de salut cerebral, l'harmonització de la cohort BLODEGMAR amb cohorts centrades en persones asimptomàtiques augmentarà notablement el seu potencial de recerca.

En quant a la línia dels biomarcadors de MA en sang, com s'ha comentat prèviament actualment s'està desenvolupant un estudi d'implementació dels

biomarcadors de MA en sang en la pràctica clínica de la Unitat de Cognició i Conducta, que proporcionarà informació rellevant sobre diferents aspectes com són la validesa de realitzar mesures de forma prospectiva, la robustesa de mesures longitudinals, la influència de diferents factors potencialment confusors, el seu impacte en el circuit diagnòstic, els pros i cons de cara al pacient així com l'impacte en la confiança diagnòstica per part dels clínics. A més, es preveuen futurs projectes per a la implementació coordinada d'aquests biomarcadors en l'àmbit de l'Atenció Primària (AP).

Finalment, pel que fa a la pBHE i el DC, les futures línies de recerca haurien d'aprofundir en els resultats obtinguts mitjançant l'ampliació del nombre de pacients, la validació dels resultats en altres cohorts i la generació de punts de tall per a l'estratificació del risc. Actualment a la cohort BLODEGMAR s'estan realitzant mesures d'altres biomarcadors vasculars en fluid així com caracterització i quantificació del dany vascular en neuroimatge, les quals permetran aprofundir en la relació dels mecanismes vasculars en el DC.

Finalment i seguint l'esmentat prèviament, es preveuen estudis on s'integri la informació aportada per diferents biomarcadors en fluid així com d'imatge, estil de vida, factors de risc, variables clíniques i neuropsicològiques de cara a optimitzar la caracterització dels pacients i de persones asimptomàtiques. Això ens porta a mig termini a una medicina de precisió i personalitzada on la intel·ligència artificial hi jugarà de ben segur un paper important.

10. BIBLIOGRAFIA

1. Dementia [Internet]. [cited 2024 Jan 20]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
2. 2024 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia*. 2024 May 1;20(5):3708–821.
3. Lane CA, Hardy J, Schott JM. Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2018 Jan 1;25(1):59–70.
4. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. 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* [Internet]. 2011 [cited 2024 Jan 21];7(3):280. Available from: </pmc/articles/PMC3220946/>
5. Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, et al. Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* [Internet]. 2008 Aug [cited 2024 Jan 23];14(8):837–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18568035/>
6. Forloni G, Artuso V, La Vitola P, Balducci C. Oligomeropathies and pathogenesis of Alzheimer and Parkinson's diseases. *Mov Disord* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2024 Jan 23];31(6):771–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27030592/>
7. Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, Chételat G, Holtzman DM, Hyman BT, et al. Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Primers* [Internet]. 2021 May 5 [cited 2024 Jan 20];7(1):33. Available from: </pmc/articles/PMC8574196/>
8. 2023 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2024 Jan 14];19(4):1598–695. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36918389/>
9. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. 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* [Internet]. 2011 [cited 2021 Dec 28];7(3):263–9. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21514250/>
10. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, et al. 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* [Internet]. 2011 [cited 2021 Dec 28];7(3):270–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21514249/>
 11. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2021 Dec 28];14(4):535–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29653606/>
 12. Bennett DA, Schneider JA, Arvanitakis Z, Kelly JF, Aggarwal NT, Shah RC, et al. Neuropathology of older persons without cognitive impairment from two community-based studies. *Neurology* [Internet]. 2006 Jun [cited 2024 Jan 24];66(12):1837–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16801647/>
 13. Grøntvedt GR, Schröder TN, Sando SB, White L, Bråthen G, Doeller CF. Alzheimer's disease. *Current Biology*. 2018 Jun 4;28(11):R645–9.
 14. Vos SJB, Verhey F, Frölich L, Kornhuber J, Wiltfang J, Maier W, et al. Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain* [Internet]. 2015 May 1 [cited 2024 Aug 19];138(Pt 5):1327–38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25693589/>
 15. Petersen RC, Lopez O, Armstrong MJ, Getchius TSD, Ganguli M, Gloss D, et al. Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* [Internet]. 2018 Jan 1 [cited 2024 Aug 19];90(3):126–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29282327/>
 16. Iadecola C, Duering M, Hachinski V, Joutel A, Pendlebury ST, Schneider JA, et al. Vascular Cognitive Impairment and Dementia: JACC Scientific Expert Panel. *J Am Coll Cardiol* [Internet].

- 2019 Jul 7 [cited 2024 Jan 25];73(25):3326. Available from: [/pmc/articles/PMC6719789/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3326/)
17. Jhoo J, Kim K, Huh Y, Lee S, ... JPD and geriatric, 2008 undefined. Prevalence of dementia and its subtypes in an elderly urban Korean population: results from the Korean Longitudinal Study on Health and Aging (KLoSHA). *karger.com* JH Jhoo, KW Kim, Y Huh, SB Lee, JH Park, JJ Lee, EA Choi, C Han, IH Choo, JC Youn Dementia and geriatric cognitive disorders, 2008•*karger.com* [Internet]. 2008 [cited 2024 Jan 25];26:270–6. Available from: <https://karger.com/dem/article-abstract/26/3/270/98526>
 18. Chan K, Wang W, Wu J, Liu L, Theodoratou E, Lancet JCT, et al. Epidemiology of Alzheimer's disease and other forms of dementia in China, 1990–2010: a systematic review and analysis. *thelancet.com* KY Chan, W Wang, JJ Wu, L Liu, E Theodoratou, J Car, L Middleton, TC Russ, IJ Deary The Lancet, 2013•*thelancet.com* [Internet]. [cited 2024 Jan 25]; Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(13\)60221-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(13)60221-4/fulltext)
 19. Kalaria R, Maestre G, ... RATL, 2008 undefined. Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors. *thelancet.com* RN Kalaria, GE Maestre, R Arizaga, RP Friedland, D Galasko, K Hall, JA Luchsinger The Lancet Neurology, 2008•*thelancet.com* [Internet]. [cited 2024 Jan 25]; Available from: <https://www.thelancet.com/journals/laneur/article/PIIS147444-2208701698/fulltext>
 20. Wolters FJ, Arfan Ikram M. Epidemiology of Vascular Dementia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2024 Aug 21];39(8):1542–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31294622/>
 21. Román GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T, Cummings JL, Masdeu JC, Garcia JH, et al. Vascular dementia: diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology* [Internet]. 1993 [cited 2024 Jan 25];43(2):250–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8094895/>
 22. Sachdev P, Kalaria R, O'Brien J, Skoog I, Alladi S, Black SE, et al. Diagnostic Criteria for Vascular Cognitive Disorders.

- Alzheimer Dis Assoc Disord. 2014 Jul;28(3):206–18.
23. Skrobot OA, Love S, Kehoe PG, O'Brien J, Black S, Chen C, et al. The Vascular Impairment of Cognition Classification Consensus Study. *Alzheimer's & Dementia* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2024 Jan 25];13(6):624–33. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/j.jalz.2016.10.007>
 24. Schneider JA, Arvanitakis Z, Bang W, Bennett DA. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology* [Internet]. 2007 [cited 2024 Jan 28];69(24):2197–204. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17568013/>
 25. Kawas CH, Kim RC, Sonnen JA, Bullain SS, Trieu T, Corrada MM. Multiple pathologies are common and related to dementia in the oldest-old: The 90+ Study. *Neurology* [Internet]. 2015 Aug 11 [cited 2024 Jan 28];85(6):535–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26180144/>
 26. Kapasi A, DeCarli C, Schneider JA. Impact of Multiple Pathologies on the Threshold for Clinically Overt Dementia. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2024 Jan 28];134(2):171. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27111111/>
 27. Snyder HM, Corriveau RA, Craft S, Faber JE, Greenberg SM, Knopman D, et al. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia including Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*. 2015 Jun 1;11(6):710–7.
 28. Toledo JB, Arnold SE, Raible K, Brettschneider J, Xie SX, Grossman M, et al. Contribution of cerebrovascular disease in autopsy confirmed neurodegenerative disease cases in the National Alzheimer's Coordinating Centre. *Brain* [Internet]. 2013 [cited 2024 Jan 21];136(Pt 9):2697–706. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23842566/>
 29. Brenowitz WD, Hubbard RA, Dirk Keene C, Hawes SE, Longstreth Jr W, Woltjer RL, et al. Mixed neuropathologies and estimated rates of clinical progression in a large autopsy sample HHS Public Access Author manuscript. *Alzheimers Dement*. 2017;13(6):654–62.
 30. Kapasi A, Schneider JA. Vascular contributions to cognitive impairment, clinical Alzheimer's disease, and

- dementia in older persons. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2016 May 1 [cited 2023 Feb 1];1862(5):878–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26769363/>
31. Snyder HM, Corriveau RA, Craft S, Faber JE, Greenberg SM, Knopman D, et al. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia including Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2024 Feb 17];11(6):710–7. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/j.jalz.2014.10.008>
 32. Oveisgharan S, Dawe RJ, Yu L, Kapasi A, Arfanakis K, Hachinski V, et al. Frequency and Underlying Pathology of Pure Vascular Cognitive Impairment. *JAMA Neurol* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Jan 21];79(12):1277–86. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamaneurology/fullarticle/2797275>
 33. Livingston G, Huntley J, Sommerlad A, Ames D, Ballard C, Banerjee S, et al. The Lancet Commissions Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission The Lancet Commissions. thelancet.com [Internet]. 2020 [cited 2024 Mar 29];396:413–59. Available from: <https://doi.org/10.1016/>
 34. Livingston G, Huntley J, Liu KY, Costafreda SG, Selbæk G, Alladi S, et al. Dementia prevention, intervention, and care: 2024 report of the Lancet standing Commission. *Lancet* [Internet]. 2024 Aug 10 [cited 2024 Aug 19];404(10452):572–628. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39096926/>
 35. Samieri C, Perier MC, Gaye B, Proust-Lima C, Helmer C, Dartigues JF, et al. Association of Cardiovascular Health Level in Older Age With Cognitive Decline and Incident Dementia. *JAMA* [Internet]. 2018 Aug 8 [cited 2024 Mar 3];320(7):657. Available from: [/pmc/articles/PMC6142948/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/306142948/)
 36. Whitmer RA, Sidney S, Selby J, Claiborne Johnston S, Yaffe K. Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. *Neurology*. 2005 Jan 25;64(2):277–81.
 37. Gong J, Harris K, Peters SAE, Woodward M. Sex differences in the association between major cardiovascular risk factors in midlife and dementia: a cohort study using data from the UK Biobank. *BMC Med* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Mar 29];19(1). Available

- from:
/pmc/articles/PMC8132382/
38. McGrath ER, Beiser AS, DeCarli C, Plourde KL, Vasan RS, Greenberg SM, et al. Blood pressure from mid- to late life and risk of incident dementia. *Neurology* [Internet]. 2017 Dec 12 [cited 2024 Mar 3];89(24):2447. Available from: /pmc/articles/PMC5729797/
 39. McGrath ER, Beiser AS, O'Donnell A, Himali JJ, Pase MP, Satizabal CL, et al. Determining Vascular Risk Factors for Dementia and Dementia Risk Prediction Across Mid- to Later Life: The Framingham Heart Study. *Neurology* [Internet]. 2022 Jul 7 [cited 2024 Mar 3];99(2):e142. Available from: /pmc/articles/PMC9280997/
 40. Abell JG, Kivimäki M, Dugravot A, Tabak AG, Fayosse A, Shipley M, et al. Association between systolic blood pressure and dementia in the Whitehall II cohort study: role of age, duration, and threshold used to define hypertension. *Eur Heart J* [Internet]. 2018 Sep 9 [cited 2024 Mar 3];39(33):3119. Available from: /pmc/articles/PMC6122131/
 41. Williamson JD, Pajewski NM, Auchus AP, Bryan RN, Chelune G, Cheung AK, et al. Effect of Intensive vs Standard Blood Pressure Control on Probable Dementia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* [Internet]. 2019 Feb 2 [cited 2024 Mar 3];321(6):553. Available from: /pmc/articles/PMC6439590/
 42. Hughes D, Judge C, Murphy R, Loughlin E, Costello M, Whiteley W, et al. Association of Blood Pressure Lowering With Incident Dementia or Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA* [Internet]. 2020 May 19 [cited 2024 Mar 3];323(19):1934–44. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2766163>
 43. White WB, Wakefield DB, Moscufo N, Guttmann CRG, Kaplan RF, Bohannon RW, et al. Effects of Intensive versus Standard Ambulatory Blood Pressure Control on Cerebrovascular Outcomes. *Circulation* [Internet]. 2019 Nov 11 [cited 2024 Mar 29];140(20):1626. Available from: /pmc/articles/PMC6848792/
 44. McGrath ER, Beiser AS, O'Donnell A, Himali JJ, Pase MP, Satizabal CL, et al. Determining Vascular Risk Factors for Dementia and Dementia Risk Prediction Across Mid- to Later Life: The Framingham Heart Study. *Neurology* [Internet]. 2022 Jul 7 [cited 2024 Mar

- 29];99(2):e142. Available from: [/pmc/articles/PMC9280997/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36577740/)
45. Barbiellini Amidei C, Fayosse A, Dumurgier J, MacHado-Fragua MD, Tabak AG, Van Sloten T, et al. Association Between Age at Diabetes Onset and Subsequent Risk of Dementia. *JAMA* [Internet]. 2021 Apr 4 [cited 2024 Mar 29];325(16):1640. Available from: [/pmc/articles/PMC8080220/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36577740/)
 46. Dove A, Guo J, Marseglia A, Fastbom J, Vetrano DL, Fratiglioni L, et al. Cardiometabolic multimorbidity and incident dementia: the Swedish twin registry. *Eur Heart J* [Internet]. 2023 Feb 14 [cited 2024 Mar 3];44(7):573–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36577740/>
 47. Chatterjee S, Peters SAE, Woodward M, Arango SM, Batty GD, Beckett N, et al. Type 2 diabetes as a risk factor for dementia in women compared with men: A pooled analysis of 2.3 million people comprising more than 100,000 cases of dementia. *Diabetes Care* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2024 Mar 3];39(2):300–7. Available from: [/pmc/articles/PMC4722942/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36577740/)
 48. Zhang J, Chen C, Hua S, Liao H, Wang M, Xiong Y, et al. An updated meta-analysis of cohort studies: Diabetes and risk of Alzheimer's disease. *Diabetes Res Clin Pract* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2024 Mar 3];124:41–7. Available from: <http://www.diabetesresearchclinicalpractice.com/article/S0168822716315376/fulltext>
 49. Nishimura A, Harashima SI, Hosoda K, Arai H, Inagaki N. Sex-related differences in frailty factors in older persons with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *Ther Adv Endocrinol Metab* [Internet]. 2019 [cited 2024 Mar 3];10. Available from: [/pmc/articles/PMC6402070/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36577740/)
 50. Xue M, Xu W, Ou YN, Cao XP, Tan MS, Tan L, et al. Diabetes mellitus and risks of cognitive impairment and dementia: A systematic review and meta-analysis of 144 prospective studies. *Ageing Res Rev*. 2019 Nov 1;55:100944.
 51. Fiocco AJ, Krieger L, D'Amico D, Parrott MD, Laurin D, Gaudreau P, et al. A systematic review of existing peripheral biomarkers of cognitive aging: Is there enough evidence for biomarker proxies in behavioral modification interventions?: An initiative in association with the nutrition, exercise and lifestyle team of the Canadian Consortium on Neurodegeneration in Aging. *Ageing Res Rev*. 2019 Jul 1;52:72–119.

52. Ganguli M, Beer JC, Zmuda JM, Ryan CM, Sullivan KJ, Chang CCH, et al. AGING, DIABETES, OBESITY, AND COGNITIVE DECLINE: A POPULATION-BASED STUDY. *J Am Geriatr Soc* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2024 Mar 29];68(5):991. Available from: [/pmc/articles/PMC8597580/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18848880/)
53. Arntzen KA, Schirmer H, Wilsgaard T, Mathiesen EB. Impact of cardiovascular risk factors on cognitive function: The Tromsø study. *Eur J Neurol* [Internet]. 2011 May 1 [cited 2024 Mar 29];18(5):737–43. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1468-1331.2010.03263.x>
54. Weinstein G, Maillard P, Himali JJ, Beiser AS, Au R, Wolf PA, et al. Glucose indices are associated with cognitive and structural brain measures in young adults. *Neurology* [Internet]. 2015 Jun 6 [cited 2024 Mar 29];84(23):2329. Available from: [/pmc/articles/PMC4464744/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26144644/)
55. van den Berg E, Kloppenborg RP, Kessels RPC, Kappelle LJ, Biessels GJ. Type 2 diabetes mellitus, hypertension, dyslipidemia and obesity: A systematic comparison of their impact on cognition. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2009 May [cited 2024 Mar 29];1792(5):470–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18848880/>
56. Srikanth V, Sinclair AJ, Hill-Briggs F, Moran C, Biessels GJ. Type 2 diabetes and cognitive dysfunction—towards effective management of both comorbidities. *Lancet Diabetes Endocrinol* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 Mar 29];8(6):535–45. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S2213858720301182/fulltext>
57. Solomon A, Kivipelto M, Wolozin B, Zhou J, Whitmer RA. Midlife Serum Cholesterol and Increased Risk of Alzheimer’s and Vascular Dementia Three Decades Later. *Dement Geriatr Cogn Disord* [Internet]. 2009 Aug [cited 2024 Mar 3];28(1):75. Available from: [/pmc/articles/PMC2814023/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18848880/)
58. Anstey KJ, Ashby-Mitchell K, Peters R. Updating the Evidence on the Association between Serum Cholesterol and Risk of Late-Life Dementia: Review and Meta-Analysis. *Journal of Alzheimer’s Disease* [Internet]. 2017 [cited 2024 Mar 3];56(1):215. Available from: [/pmc/articles/PMC5240556/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26144644/)
59. Sáiz-Vazquez O, Puente-Martínez A, Ubillos-Landa S, Pacheco-Bonrostro J, Santabárbara J. Cholesterol

- and Alzheimer's Disease Risk: A Meta-Meta-Analysis. *Brain Sci* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2024 Mar 3];10(6):1–13. Available from: [/pmc/articles/PMC7349210/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/349210/)
60. Mori T, Paris D, Town T, Rojiani AM, Sparks DL, Delledonne A, et al. Cholesterol Accumulates in Senile plaques of Alzheimer Disease patients and in Transgenic APPsw Mice. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2001 Aug 1 [cited 2024 Mar 3];60(8):778–85. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/jnen/60.8.778>
 61. Cutler RG, Kelly J, Storie K, Pedersen WA, Tammara A, Hatanpaa K, et al. Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2004 Feb 2 [cited 2024 Mar 3];101(7):2070. Available from: [/pmc/articles/PMC357053/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1357053/)
 62. Refolo LM, Pappolla MA, Malester B, LaFrancois J, Bryant-Thomas T, Wang R, et al. Hypercholesterolemia Accelerates the Alzheimer's Amyloid Pathology in a Transgenic Mouse Model. *Neurobiol Dis*. 2000 Aug 1;7(4):321–31.
 63. Jin P, Pan Y, Pan Z, Xu J, Lin M, Sun Z, et al. Alzheimer-like brain metabolic and structural features in cholesterol-fed rabbit detected by magnetic resonance imaging. *Lipids Health Dis* [Internet]. 2018 Mar 27 [cited 2024 Mar 3];17(1). Available from: [/pmc/articles/PMC5870103/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/310103/)
 64. Rahman A, Akterin S, Flores-Morales A, Crisby M, Kivipelto M, Schultzberg M, et al. High cholesterol diet induces tau hyperphosphorylation in apolipoprotein E deficient mice. *FEBS Lett* [Internet]. 2005 Nov 21 [cited 2024 Mar 3];579(28):6411–6. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/j.febslet.2005.10.024>
 65. Glöckner F, Meske V, Lütjohann D, Ohm TG. Dietary Cholesterol and Its Effect on Tau Protein: A Study in Apolipoprotein E-Deficient and P301L Human Tau Mice. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2011 Apr 1 [cited 2024 Mar 3];70(4):292–301. Available from: <https://dx.doi.org/10.1097/NE.N.0b013e318212f185>
 66. Yaffe K, Weston AL, Blackwell T, Krueger KA. The Metabolic Syndrome and Development of Cognitive Impairment Among Older Women. *Arch Neurol* [Internet]. 2009 Mar 1 [cited 2024 Mar 3];66(3):324–8. Available from: <https://jamanetwork.com/journ>

- als/jamaneurology/fullarticle/1033005
67. Zuin M, Roncon L, Passaro A, Cervellati C, Zuliani G. Metabolic syndrome and the risk of late onset Alzheimer's disease: An updated review and meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* [Internet]. 2021 Jul 22 [cited 2024 Mar 3];31(8):2244–52. Available from: <http://www.nmcd-journal.com/article/S0939475321001423/fulltext>
 68. Dintica CS, Hoang T, Allen N, Sidney S, Yaffe K. The Metabolic Syndrome Is Associated With Lower Cognitive Performance and Reduced White Matter Integrity in Midlife: The CARDIA Study. *Front Neurosci* [Internet]. 2022 Jul 18 [cited 2024 Mar 3];16:942743. Available from: </pmc/articles/PMC9339689/>
 69. Bull FC, Al-Ansari SS, Biddle S, Borodulin K, Buman MP, Cardon G, et al. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *Br J Sports Med* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Aug 19];54(24):1451–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33239350/>
 70. Chang M, Jonsson P V., Snaedal J, Bjornsson S, Saczynski JS, Aspelund T, et al. The effect of midlife physical activity on cognitive function among older adults: AGES--Reykjavik Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* [Internet]. 2010 Dec [cited 2024 Aug 19];65(12):1369–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20805238/>
 71. Hamer M, Tettera GM, Demakakos P. Physical activity and trajectories in cognitive function: English Longitudinal Study of Ageing. *J Epidemiol Community Health* (1978) [Internet]. 2018 [cited 2024 Aug 19];72(6):477–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29434025/>
 72. Erickson KI, Hillman C, Stillman CM, Ballard RM, Bloodgood B, Conroy DE, et al. Physical Activity, Cognition, and Brain Outcomes: A Review of the 2018 Physical Activity Guidelines. *Med Sci Sports Exerc* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2024 Aug 19];51(6):1242–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31095081/>
 73. Roher AE, Esh C, Kokjohn TA, Kalback W, Luehrs DC, Seward JD, et al. Circle of willis atherosclerosis is a risk factor for sporadic Alzheimer's

- disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2003 Nov [cited 2024 Jan 28];23(11):2055–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14512367/>
74. Yarchoan M, Xie SX, Kling MA, Toledo JB, Wolk DA, Lee EB, et al. Cerebrovascular atherosclerosis correlates with Alzheimer pathology in neurodegenerative dementias. *Brain* [Internet]. 2012 [cited 2024 Jan 28];135(Pt 12):3749–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23204143/>
 75. van den Beukel TC, Wolters FJ, Siebert U, Spiering W, Ikram MA, Vernooij MW, et al. Intracranial arteriosclerosis and the risk of dementia: A population-based cohort study. *Alzheimer's and Dementia*. 2024 Feb 1;20(2):869–79.
 76. Bos D, Vernooij MW, De Bruijn RFAG, Koudstaal PJ, Hofman A, Franco OH, et al. Atherosclerotic calcification is related to a higher risk of dementia and cognitive decline. *Alzheimer's & Dementia*. 2015 Jun 1;11(6):639-647.e1.
 77. Arias JC, Edwards M, Vitali F, Beach TG, Serrano GE, Weinkauf CC. Extracranial carotid atherosclerosis is associated with increased neurofibrillary tangle accumulation. *J Vasc Surg* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2024 Aug 21];75(1):223–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34478810/>
 78. Gupta A, Iadecola C. Impaired A β clearance: a potential link between atherosclerosis and Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* [Internet]. 2015 [cited 2024 Feb 1];7(MAY). Available from: </pmc/articles/PMC4468824/>
 79. Bucerius J, Barthel H, Tiepolt S, Werner P, Sluimer JC, Wildberger JE, et al. Feasibility of in vivo 18F-florbetaben PET/MR imaging of human carotid amyloid- β . *Eur J Nucl Med Mol Imaging* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2024 Jan 28];44(7):1119–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28321471/>
 80. Fredman G. Resolving atherosclerosis and Alzheimer disease. *Nat Rev Cardiol* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Jan 28];16(5):259–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30903022/>
 81. Cortes-Canteli M. Alzheimer's Disease and Vascular Aging: JACC Focus Seminar. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(8):942–51.
 82. Jellinger KA. Alzheimer disease and cerebrovascular

- pathology: An update. *J Neural Transm* [Internet]. 2002 [cited 2024 Mar 2];109(5–6):813–36. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s007020200068>
83. Charidimou A, Boulouis G, Gurol ME, Ayata C, Bacskai BJ, Frosch MP, et al. Emerging concepts in sporadic cerebral amyloid angiopathy. *Brain* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2024 Jan 28];140(7):1829–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28334869/>
84. Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia. *Neuron* [Internet]. 2013 Nov 20 [cited 2024 Jan 28];80(4):844–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24267647/>
85. Iturria-Medina Y, Sotero RC, Toussaint PJ, Mateos-Pérez JM, Evans AC, Weiner MW, et al. Early role of vascular dysregulation on late-onset Alzheimer's disease based on multifactorial data-driven analysis. *Nat Commun* [Internet]. 2016 Jun 21 [cited 2024 Jan 28];7. Available from: </pmc/articles/PMC4919512/>
86. Falcon C, Montesinos P, Václavů L, Kassinos M, Minguillon C, Fauria K, et al. Time-encoded ASL reveals lower cerebral blood flow in the early AD continuum. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2024 [cited 2024 Aug 5]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38958557/>
87. Hays CC, Zlatar ZZ, Wierenga CE. The Utility of Cerebral Blood Flow as a Biomarker of Preclinical Alzheimer's Disease. *Cell Mol Neurobiol* [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2024 Feb 1];36(2):167–79. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10571-015-0261-z>
88. Thomas T, Thomas G, McLendon C, Sutton T, Mullan M. beta-Amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature* [Internet]. 1996 Mar 14 [cited 2024 Jan 28];380(6570):168–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8600393/>
89. Iadecola C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2004 [cited 2024 Jan 28];5(5):347–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15100718/>
90. Yew B, Nation DA. Cerebrovascular resistance: effects on cognitive decline, cortical atrophy, and progression to dementia. *Brain* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2024 Jan 28];140(7):1987–2001. Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28575149/>
91. Pase MP, Beiser A, Himali JJ, Tsao C, Satizabal CL, Vasani RS, et al. Aortic Stiffness and the Risk of Incident Mild Cognitive Impairment and Dementia. *Stroke* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2024 Jan 28];47(9):2256–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27491735/>
 92. Maillard P, Mitchell GF, Himali JJ, Beiser A, Tsao CW, Pase MP, et al. Effects Of Arterial Stiffness On Brain Integrity In Young Adults From The Framingham Heart Study. *Stroke; a journal of cerebral circulation* [Internet]. 2016 [cited 2024 Jan 28];47(4):1030. Available from: </pmc/articles/PMC4811686/>
 93. Hughes TM, Kuller LH, Barinas-Mitchell EJM, McDade EM, Klunk WE, Cohen AD, et al. Arterial stiffness and β -amyloid progression in nondemented elderly adults. *JAMA Neurol* [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 28];71(5):562–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24687165/>
 94. Strickland S. Blood will out: Vascular contributions to Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Investigation*. 2018 Feb 1;128(2):556–63.
 95. Cortes-Canteli M, Zamolodchikov D, Ahn HJ, Strickland S, Norris EH. Fibrinogen and altered hemostasis in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* [Internet]. 2012 [cited 2024 Jan 28];32(3):599–608. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22869464/>
 96. Zamolodchikov D, Strickland S. $A\beta$ delays fibrin clot lysis by altering fibrin structure and attenuating plasminogen binding to fibrin. *Blood* [Internet]. 2012 Apr 5 [cited 2024 Jan 28];119(14):3342–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22238323/>
 97. Zamolodchikov D, Berk-Rauch HE, Oren DA, Stor DS, Singh PK, Kawasaki M, et al. Biochemical and structural analysis of the interaction between β -amyloid and fibrinogen. *Blood* [Internet]. 2016 Aug 25 [cited 2024 Jan 28];128(8):1144–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27389717/>
 98. Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic B V. Blood–brain barrier breakdown in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2022 Jun 29];14(3):133. Available from: </pmc/articles/PMC5829048/>

99. Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD, Halliday MR, Sagare AP, Zhao Z, et al. Blood-Brain Barrier Breakdown in the Aging Human Hippocampus. *Neuron* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2024 Apr 1];85(2):296. Available from: </pmc/articles/PMC4350773/>
100. Nation DA, Sweeney MD, #1 AM, Sagare AP, D'orazio LM, Pachicano M, et al. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction HHS Public Access. *Nat Med* [Internet]. 2019 [cited 2024 Apr 1];25(2):270–6. Available from: http://www.nature.com/authors/editorial_policies/license.html#terms
101. Montagne A, Nation DA, Sagare AP, Barisano G, Sweeney MD, Chakhoyan A, et al. APOE4 leads to blood–brain barrier dysfunction predicting cognitive decline. *Nature* 2020 581:7806 [Internet]. 2020 Apr 29 [cited 2024 Aug 8];581(7806):71–6. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2247-3>
102. Chen Y, He Y, Han J, Wei W, Chen F. Blood-brain barrier dysfunction and Alzheimer's disease: associations, pathogenic mechanisms, and therapeutic potential. *Front Aging Neurosci*. 2023 Nov 13;15:1258640.
103. Selvackadunco S, Langford K, Shah Z, Hurley S, Bodi I, King A, et al. Comparison of clinical and neuropathological diagnoses of neurodegenerative diseases in two centres from the Brains for Dementia Research (BDR) cohort. *J Neural Transm* [Internet]. 2019 Mar 14 [cited 2024 Mar 30];126(3):327. Available from: </pmc/articles/PMC6449484/>
104. Beach TG, Monsell SE, Phillips LE, Kukull W. Accuracy of the Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease at National Institute on Aging Alzheimer's Disease Centers, 2005–2010. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 2012 Apr [cited 2024 Mar 30];71(4):266. Available from: </pmc/articles/PMC3331862/>
105. Gianattasio KZ, Prather C, Glymour MM, Ciarleglio A, Power MC. Racial disparities and temporal trends in dementia misdiagnosis risk in the United States. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2024 Mar 30];5:891. Available from: </pmc/articles/PMC6926355/>
106. Soria JA, Huisa BN, Edland SD, Litvan I, Peavy GM, Salmon DP, et al. Clinical-Neuropathological Correlations of Alzheimer's Disease and Related

- Dementias in Latino Volunteers. *J Alzheimers Dis* [Internet]. 2018 [cited 2024 Mar 30];66(4):1539–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30412501/>
107. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeblerlein SB, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2018 Apr 1;14(4):535–62.
 108. Dubois B, Villain N, Frisoni GB, Rabinovici GD, Sabbagh M, Cappa S, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: recommendations of the International Working Group. *Lancet Neurol* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Mar 31];20(6):484–96. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S1474442221000661/fulltext>
 109. Hampel H, Cummings J, Blennow K, Gao P, Jack CR, Vergallo A. Developing the ATX(N) classification for use across the Alzheimer disease continuum. *Nature Reviews Neurology* 2021 17:9 [Internet]. 2021 Jul 8 [cited 2024 Aug 19];17(9):580–9. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41582-021-00520-w>
 110. Ward A, Tardiff S, Dye C, Arrighi HM. Rate of conversion from prodromal Alzheimer's disease to Alzheimer's dementia: a systematic review of the literature. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra* [Internet]. 2013 Sep 28 [cited 2024 Jan 24];3(1):320–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24174927/>
 111. Potashman M, Buessing M, Levitchi Benea M, Cummings J, Borson S, Pemberton-Ross P, et al. Estimating Progression Rates Across the Spectrum of Alzheimer's Disease for Amyloid-Positive Individuals Using National Alzheimer's Coordinating Center Data. *Neurol Ther* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Aug 19];10(2):941. Available from: </pmc/articles/PMC8571434/>
 112. Williams MM, Storandt M, Roe CM, Morris JC, Knight Alzheimer J, St Louis in. Progression of Alzheimer disease as measured by Clinical Dementia Rating sum of boxes scores. 2012;
 113. Wattmo C, Blennow K, Hansson O. Cerebro-spinal fluid biomarker levels: phosphorylated tau (T) and total tau (N) as markers for rate of progression in Alzheimer's disease. *BMC Neurol* [Internet]. 2020 Jan 9 [cited 2024 Aug 20];20(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31918679/>

114. Kester MI, Van Der Vlies AE, Blankenstein MA, Pijnenburg YAL, Van Elk EJ, Scheltens P, et al. CSF biomarkers predict rate of cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurology*. 2009;73(17):1353–8.
115. Sämgård K, Zetterberg H, Blennow K, Hansson O, Minthon L, Londos E. Cerebrospinal fluid total tau as a marker of Alzheimer's disease intensity. *Int J Geriatr Psychiatry* [Internet]. 2010 Apr 1 [cited 2024 Aug 20];25(4):403–10. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/gps.2353>
116. Ravaglia S, Bini P, Sinforiani E, Franciotta D, Zardini E, Tosca P, et al. Cerebrospinal fluid levels of tau phosphorylated at threonine 181 in patients with Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurological Sciences* [Internet]. 2008 Nov 14 [cited 2024 Aug 20];29(6):417–23. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10072-008-1023-1>
117. López-Cuevas R, Baquero-Toledo M, Cuevas-Jiménez A, Martín-Ibáñez N, Pascual-Costa R, Moreno-Monedero MJ, et al. Prognostic value of cerebrospinal fluid biomarkers in mild cognitive impairment due to Alzheimer disease. *Neurologia* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2024 Aug 20];38(4):262–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33143865/>
118. Stern Y. Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2024 Aug 20];11(11):1006–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23079557/>
119. Mayeux R, Stern Y. Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2012 [cited 2024 Aug 20];2(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22908189/>
120. Garcia MJ, Leadley R, Ross J, Bozeat S, Redhead G, Hansson O, et al. Prognostic and Predictive Factors in Early Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *J Alzheimers Dis Rep* [Internet]. 2024 Feb 16 [cited 2024 Aug 20];8(1):203–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38405341/>
121. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US); Bethesda (MD): National Institutes of Health (US). BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource. BEST (Biomarkers , EndpointS , and other Tools) Resource [Internet]. 2016 [cited 2024

- Aug 27]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>
122. Teunissen CE, Verberk IMW, Thijssen EH, Vermunt L, Hansson O, Zetterberg H, et al. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: towards clinical implementation. *Lancet Neurol* [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2024 Aug 5];21(1):66–77. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S1474442221003616/fulltext>
 123. Ashton NJ, Leuzy A, Karikari TK, Mattsson-Carlsson N, Dodich A, Boccardi M, et al. The validation status of blood biomarkers of amyloid and phospho-tau assessed with the 5-phase development framework for AD biomarkers. [cited 2024 Aug 5]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s00259-021-05253-y>
 124. Teunissen CE, Verberk IMW, Thijssen EH, Vermunt L, Hansson O, Zetterberg H, et al. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: towards clinical implementation. *Lancet Neurol*. 2022 Jan 1;21(1):66–77.
 125. Alcolea D, Beeri MS, Rojas JC, Gardner RC, Lleó A. Blood Biomarkers in Neurodegenerative Diseases: Implications for the Clinical Neurologist. *Neurology* [Internet]. 2023 Jul 25 [cited 2024 Feb 12];101(4):172–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36878698/>
 126. Sarto J, Esteller-Gauxax D, Tort-Merino A, Guillén N, Pérez-Millan A, Falgàs N, et al. Impact of demographics and comorbid conditions on plasma biomarkers concentrations and their diagnostic accuracy in a memory clinic cohort. *J Neurol* [Internet]. 2023 [cited 2024 Feb 13]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38151575/>
 127. Martínez-Dubarbie F, Guerra-Ruiz A, López-García S, Irure-Ventura J, Lage C, Fernández-Matarrubia M, et al. Influence of Physiological Variables and Comorbidities on Plasma A β 40, A β 42, and p-tau181 Levels in Cognitively Unimpaired Individuals. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2024 Feb 1 [cited 2024 Feb 22];25(3):1481. Available from: </pmc/articles/PMC10855058/>
 128. Schindler SE, Bollinger JG, Ovod V, Mawuenyega KG, Li Y, Gordon BA, et al. High-precision plasma β -amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis. *Neurology* [Internet]. 2019 Oct 10 [cited 2024 Feb 12];93(17):e1647. Available from: </pmc/articles/PMC6946467/>

129. Nakamura A, Kaneko N, Villemagne VL, Kato T, Doecker J, Doré V, et al. High performance plasma amyloid- β biomarkers for Alzheimer's disease. *Nature* [Internet]. 2018 Feb 8 [cited 2024 Jan 14];554(7691):249–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29420472/>
130. Li Y, Schindler SE, Bollinger JG, Ovod V, Mawuenyega KG, Weiner MW, et al. Validation of Plasma Amyloid- β 42/40 for Detecting Alzheimer Disease Amyloid Plaques. *Neurology* [Internet]. 2022 Feb 15 [cited 2024 Aug 20];98(7):E688–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34906975/>
131. Janelidze S, Teunissen CE, Zetterberg H, Allué JA, Sarasa L, Eichenlaub U, et al. Head-to-Head Comparison of 8 Plasma Amyloid- β 42/40 Assays in Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Feb 22];78(11):1. Available from: </pmc/articles/PMC8453354/>
132. Bellaver B, Puig-Pijoan A, Ferrari-Souza JP, Leffa DT, Lussier FZ, Ferreira PCL, et al. Blood-brain barrier integrity impacts the use of plasma amyloid- β as a proxy of brain amyloid- β pathology. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2023 Sep 1 [cited 2024 Jan 13];19(9):3815–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36919582/>
133. Karikari TK, Ashton NJ, Brinkmalm G, Brum WS, Benedet AL, Montoliu-Gaya L, et al. Blood phospho-tau in Alzheimer disease: analysis, interpretation, and clinical utility. *Nature Reviews Neurology* 2022 18:7 [Internet]. 2022 May 18 [cited 2024 Feb 22];18(7):400–18. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41582-022-00665-2>
134. Suárez-Calvet M, Karikari TK, Ashton NJ, Lantero Rodríguez J, Milà-Alomà M, Gispert JD, et al. Novel tau biomarkers phosphorylated at T181, T217 or T231 rise in the initial stages of the preclinical Alzheimer's continuum when only subtle changes in A β pathology are detected. *EMBO Mol Med*. 2020 Dec;12(12).
135. Milà-Alomà M, Ashton NJ, Shekari M, Salvadó G, Ortiz-Romero P, Montoliu-Gaya L, et al. Plasma p-tau231 and p-tau217 as state markers of amyloid- β pathology in preclinical Alzheimer's disease. *Nat Med* [Internet]. 2022 Sep 1 [cited 2024 Feb 22];28(9):1797. Available from: </pmc/articles/PMC9499867/>
136. Mielke MM, Hagen CE, Xu J, Chai X, Vemuri P, Lowe VJ, et al. Plasma phospho-tau181

- increases with Alzheimer's disease clinical severity and is associated with tau-PET and amyloid-PET. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2024 Feb 12];14(8):989. Available from: [/pmc/articles/PMC6097897/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31233127/)
137. Karikari TK, Pascoal TA, Ashton NJ, Janelidze S, Benedet AL, Rodriguez JL, et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts. *Lancet Neurol*. 2020 May 1;19(5):422–33.
138. Janelidze S, Mattsson N, Palmqvist S, Smith R, Beach TG, Serrano GE, et al. Plasma P-tau181 in Alzheimer's disease: relationship to other biomarkers, differential diagnosis, neuropathology and longitudinal progression to Alzheimer's dementia. *Nat Med* [Internet]. [cited 2024 Jul 31]; Available from: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0755-1>
139. Palmqvist S, Janelidze S, Stomrud E, Zetterberg H, Karl J, Zink K, et al. Performance of Fully Automated Plasma Assays as Screening Tests for Alzheimer Disease-Related β -Amyloid Status. *JAMA Neurol* [Internet]. 2019 Sep 1 [cited 2024 Jan 14];76(9):1060–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31233127/>
140. O'Connor A, Karikari TK, Poole T, Ashton NJ, Lantero Rodriguez J, Khatun A, et al. Plasma phospho-tau181 in presymptomatic and symptomatic familial Alzheimer's disease: a longitudinal cohort study. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2021 Oct 10 [cited 2024 Feb 22];26(10):5967. Available from: [/pmc/articles/PMC7612227/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31233127/)
141. Lleó A, Zetterberg H, Pegueroles J, Karikari TK, Carmona-Iragui M, Ashton NJ, et al. Phosphorylated tau181 in plasma as a potential biomarker for Alzheimer's disease in adults with Down syndrome. *Nat Commun* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Feb 22];12(1). Available from: [/pmc/articles/PMC8280160/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31233127/)
142. Alcolea D, Delaby C, Muñoz L, Torres S, Estellés T, Zhu N, et al. Use of plasma biomarkers for AT(N) classification of neurodegenerative dementias. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Feb 22];92(11):1206–14. Available from: <https://hal.umontpellier.fr/hal-03653194>
143. Lantero-Rodriguez J, Tissot C, Snellman A, Servaes S,

- Benedet AL, Rahmouni N, et al. Plasma and CSF concentrations of N-terminal tau fragments associate with in vivo neurofibrillary tangle burden. *Alzheimer's & Dementia* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2024 Jul 31];19(12):5343–54. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/alz.13119>
144. Kac PR, González-Ortiz F, Emeršič A, Dulewicz M, Koutarapu S, Turton M, et al. Plasma p-tau₂₁₂ antemortem diagnostic performance and prediction of autopsy verification of Alzheimer's disease neuropathology. *Nature Communications* 2024 15:1 [Internet]. 2024 Mar 23 [cited 2024 Jul 31];15(1):1–16. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-46876-7>
145. Montoliu-Gaya L, Benedet AL, Tissot C, Vrillon A, Ashton NJ, Brum WS, et al. nature aging Mass spectrometric simultaneous quantification of tau species in plasma shows differential associations with amyloid and tau pathologies. *19 & Kaj Blennow* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jul 31];3:19. Available from: <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00405-1>
146. Palmqvist S, Janelidze S, Quiroz YT, Zetterberg H, Lopera F, Stomrud E, et al. Discriminative Accuracy of Plasma Phospho-tau₂₁₇ for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders. *JAMA*. 2020 Jul;324(8):772–81.
147. Ashton NJ, Brum WS, Di Molfetta G, Benedet AL, Arslan B, Jonaitis E, et al. Diagnostic Accuracy of a Plasma Phosphorylated Tau 217 Immunoassay for Alzheimer Disease Pathology. *JAMA Neurol* [Internet]. 2024 Jan 22 [cited 2024 Feb 22]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38252443/>
148. Palermo G, Mazzucchi S, Della Vecchia A, Siciliano G, Bonuccelli U, Azuar C, et al. Different Clinical Contexts of Use of Blood Neurofilament Light Chain Protein in the Spectrum of Neurodegenerative Diseases. *Molecular Neurobiology* 2020 57:11 [Internet]. 2020 Aug 9 [cited 2024 Feb 22];57(11):4667–91. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12035-020-02035-9>
149. Ashton NJ, Janelidze S, Al Khleifat A, Leuzy A, van der Ende EL, Karikari TK, et al. A multicentre validation study of the diagnostic value of plasma neurofilament light. *Nat Commun*. 2021 Aug;12(1):3400.

150. Abu-Rumeileh S, Steinacker P, Polischi B, Mammana A, Bartoletti-Stella A, Oeckl P, et al. CSF biomarkers of neuroinflammation in distinct forms and subtypes of neurodegenerative dementia. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2020 Dec 31 [cited 2024 Feb 22];12(1). Available from: [/pmc/articles/PMC6937795/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33431793/)
151. Fukuyama R, Izumoto T, Fushiki S. The Cerebrospinal Fluid Level of Glial Fibrillary Acidic Protein Is Increased in Cerebrospinal Fluid from Alzheimer's Disease Patients and Correlates with Severity of Dementia. *Eur Neurol* [Internet]. 2001 Jul 1 [cited 2024 Feb 22];46(1):35–8. Available from: <https://dx.doi.org/10.1159/000050753>
152. Ishiki A, Kamada M, Kawamura Y, Terao C, Shimoda F, Tomita N, et al. Glial fibrillar acidic protein in the cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies, and frontotemporal lobar degeneration. *J Neurochem*. 2016 Jan 1;136(2):258–61.
153. Jesse S, Steinacker P, Cepek L, Arnim C V., Tuman H, Lehnert S, et al. Glial Fibrillary Acidic Protein and Protein S-100B: Different Concentration Pattern of Glial Proteins in Cerebrospinal Fluid of Patients with Alzheimer's Disease and Creutzfeldt-Jakob Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009 Jan 1;17(3):541–51.
154. Oeckl P, Halbgebauer S, Anderl-Straub S, Steinacker P, Hussa AM, Neugebauer H, et al. Glial Fibrillary Acidic Protein in Serum is Increased in Alzheimer's Disease and Correlates with Cognitive Impairment. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2019 Jan 1;67(2):481–8.
155. Benedet AL, Milà-Alomà M, Vrillon A, Ashton NJ, Pascoal TA, Lussier F, et al. Differences Between Plasma and Cerebrospinal Fluid Glial Fibrillary Acidic Protein Levels Across the Alzheimer Disease Continuum. *JAMA Neurol* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2022 Jun 29];78(12):1. Available from: [/pmc/articles/PMC8524356/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33431793/)
156. Chatterjee P, Pedrini S, Stoops E, Goozee K, Villemagne VL, Asih PR, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein is elevated in cognitively normal older adults at risk of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Feb 22];11(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33431793/>
157. Pereira JB, Janelidze S, Smith R, Mattsson-Carlgren N,

- Palmqvist S, Teunissen CE, et al. Plasma GFAP is an early marker of amyloid- β but not tau pathology in Alzheimer's disease. *Brain* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2024 Feb 22];144(11):3505. Available from: [/pmc/articles/PMC8677538/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32988409/)
158. Verberk IMW, Thijssen E, Koelewijn J, Mauroo K, Vanbrabant J, De Wilde A, et al. Combination of plasma amyloid beta(1-42/1-40) and glial fibrillary acidic protein strongly associates with cerebral amyloid pathology. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2020 Sep 28 [cited 2024 Aug 8];12(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32988409/>
159. Charidimou A, Friedrich JO, Greenberg SM, Viswanathan A. Core cerebrospinal fluid biomarker profile in cerebral amyloid angiopathy: A meta-analysis. *Neurology* [Internet]. 2018 Feb 2 [cited 2024 Aug 21];90(9):e754. Available from: [/pmc/articles/PMC5837868/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32988409/)
160. Verbeek MM, Kremer BPH, Rikkert MO, Van Domburg PHMF, Skehan ME, Greenberg SM, et al. Cerebrospinal Fluid Amyloid β 40 Is Decreased in Cerebral Amyloid Angiopathy NIH Public Access Author Manuscript. *Ann Neurol*. 2009;66(2):245–9.
161. Janelidze S, Mattsson N, Stomrud E, Lindberg O, Palmqvist S, Zetterberg H, et al. CSF biomarkers of neuroinflammation and cerebrovascular dysfunction in early Alzheimer disease. *Neurology* [Internet]. 2018 Aug 8 [cited 2024 Mar 31];91(9):e867. Available from: [/pmc/articles/PMC6133624/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32988409/)
162. Zuliani G, Cavalieri M, Galvani M, Passaro A, Munari MR, Bosi C, et al. Markers of endothelial dysfunction in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. *J Neurol Sci* [Internet]. 2008 Sep 15 [cited 2024 Mar 31];272(1–2):164–70. Available from: <http://www.jns-journal.com/article/S0022510X08002591/fulltext>
163. Ewers M, Mielke MM, Hampel H. Blood-based Biomarkers of Microvascular Pathology in Alzheimer's disease. *Exp Gerontol* [Internet]. 2010 Jan [cited 2024 Mar 31];45(1):75. Available from: [/pmc/articles/PMC2815204/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32988409/)
164. Rentzos M, Michalopoulou M, Nikolaou C, Cambouri C, Rombos A, Dimitrakopoulos A, et al. Serum Levels of Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 and Soluble Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule-1 in Alzheimer's Disease. <http://dx.doi.org/10.1177/0891988704269822> [Internet]. 2004

- Dec 1 [cited 2024 Mar 31];17(4):225–31. Available from: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0891988704269822?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acr_ossref.org&rfr_dat=cr_pub+++pubmed
165. Nation DA, Sweeney MD, #1 AM, Sagare AP, D'orazio LM, Pachicano M, et al. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction HHS Public Access. *Nat Med* [Internet]. 2019 [cited 2024 Apr 1];25(2):270–6. Available from: http://www.nature.com/authors/editorial_policies/license.html#terms
166. Davies DC, Hardy JA. Blood brain barrier in ageing and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 1988 Jan 1;9(C):46–8.
167. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2024 Apr 1];15(7):673–84. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S1474442216000703/fulltext>
168. Giacobuzzi Grigoli E, Solca F, Milone I, Aiello EN, Dubini A, Ratti A, et al. Cerebrospinal fluid/serum albumin quotient (Q-Alb) is not increased in Alzheimer's disease compared to neurological disease controls: a retrospective study on 276 patients. *Neurological Sciences* [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2024 Apr 1];44(2):709–13. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10072-022-06530-w>
169. Musaeus CS, Gleeup HS, Høgh P, Waldemar G, Hasselbalch SG, Simonsen AH. Cerebrospinal Fluid/Plasma Albumin Ratio as a Biomarker for Blood-Brain Barrier Impairment Across Neurodegenerative Dementias. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2020 Jan 1;75(2):429–36.
170. Lin Z, Sur S, Liu P, Li Y, Jiang D, Hou X, et al. Blood–Brain Barrier Breakdown in Relationship to Alzheimer and Vascular Disease. *Ann Neurol*. 2021 Aug 1;90(2):227–38.
171. Skillbäck T, Delsing L, Synnergren J, Mattsson N, Janelidze S, Nägga K, et al. CSF/serum albumin ratio in dementias: a cross-sectional study on 1861 patients. *Neurobiol Aging*. 2017 Nov 1;59:1–9.
172. Janelidze S, Hertze J, Nägga K, Nilsson K, Nilsson C, Wennström M, et al. Increased blood-brain barrier

- permeability is associated with dementia and diabetes but not amyloid pathology or APOE genotype. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2024 Apr 1];51:104. Available from: [/pmc/articles/PMC5754327/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35754327/)
173. Sagare AP, Bell RD, Zlokovic B V. Neurovascular defects and faulty amyloid- β vascular clearance in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* [Internet]. 2013 [cited 2023 Jan 31];33 Suppl 1(0 1):S87-100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22751174>
174. Miners JS, Kehoe PG, Love S, Zetterberg H, Blennow K. CSF evidence of pericyte damage in Alzheimer's disease is associated with markers of blood-brain barrier dysfunction and disease pathology. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2019 Sep 14 [cited 2024 Apr 1];11(1):1–6. Available from: <https://alzres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13195-019-0534-8>
175. Lv X, Zhang M, Cheng Z, Wang Q, Wang P, Xie Q, et al. Changes in CSF sPDGFR β level and their association with blood–brain barrier breakdown in Alzheimer's disease with or without small cerebrovascular lesions. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2024 Apr 1];15(1). Available from: [/pmc/articles/PMC10012584/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/43587023/)
176. Hansson O, Blennow K, Zetterberg H, Dage J. Blood biomarkers for Alzheimer's disease in clinical practice and trials. *Nature Aging* 2023 3:5 [Internet]. 2023 May 18 [cited 2024 Aug 20];3(5):506–19. Available from: <https://www.nature.com/articles/s43587-023-00403-3>
177. Karikari TK, Benedet AL, Ashton NJ, Lantero Rodriguez J, Snellman A, Suárez-Calvet M, et al. Diagnostic performance and prediction of clinical progression of plasma phospho-tau181 in the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2024 Aug 20];26(2):429–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33106600/>
178. Cullen NC, Leuzy A, Palmqvist S, Janelidze S, Stomrud E, Pesini P, et al. Individualized prognosis of cognitive decline and dementia in mild cognitive impairment based on plasma biomarker combinations. *Nat Aging* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Aug 20];1(1):114–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37117993/>
179. Palmqvist S, Tideman P, Cullen N, Zetterberg H,

- Blennow K, Dage JL, et al. Prediction of future Alzheimer's disease dementia using plasma phospho-tau combined with other accessible measures. *Nat Med* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2024 Aug 20];27(6):1034–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34031605/>
180. Honey MIJ, Verberk IMW, Gouda M, Hussainali Z, Kroeze LA, van Leeuwenstijn M, et al. Plasma glial fibrillary acidic protein, neurofilament light, phosphorylated-tau-181 and amyloid β 42/40 as prognostic biomarkers for clinical progression to dementia in individuals with subjective cognitive decline and mild cognitive impairment. *Alzheimer's & Dementia*. 2022 Dec;18(S6).
181. Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology* [Internet]. 1993 [cited 2024 Sep 13];43(11):2412–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8232972/>
182. Lantero-Rodriguez J, Vrillon A, Fernández-Lebrero A, Ortiz-Romero P, Snellman A, Montoliu-Gaya L, et al. Clinical performance and head-to-head comparison of CSF p-tau235 with p-tau181, p-tau217 and p-tau231 in two memory clinic cohorts. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2024 Jan 14];15(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36899441/>
183. Gonzalez-Ortiz F, Kirsebom BE, Contador J, Tanley JE, Selnes P, Gísladóttir B, et al. Plasma brain-derived tau is an amyloid-associated neurodegeneration biomarker in Alzheimer's disease. *Nat Commun* [Internet]. 2024 Dec 1 [cited 2024 Jul 31];15(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38575616/>
184. Puig-Pijoan A, García-Escobar G, Fernández-Lebrero A, Manero-Borrás R, Sánchez-Benavides G, Navalpotro-Gómez I, et al. The CORCOBIA Study: cut-off points of Alzheimer's Disease CSF biomarkers in a clinical cohort. *Neurología*.
185. Jiang Y, Uhm H, Ip FC, Ouyang L, Lo RMN, Cheng EYL, et al. A blood-based multi-pathway biomarker assay for early detection and staging of Alzheimer's disease across ethnic groups. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2024 Mar 1 [cited 2024 Aug 25];20(3):2000–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38183344/>

186. Guillén N, Contador J, Buongiorno M, Álvarez I, Culell N, Alcolea D, et al. Agreement of cerebrospinal fluid biomarkers and amyloid-PET in a multicenter study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* [Internet]. 2023 [cited 2024 Aug 25]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37898567/>
187. Zeylan ME, Senyuz S, Picón-Pagès P, García-Elías A, Tajés M, Muñoz FJ, et al. Shared Proteins and Pathways of Cardiovascular and Cognitive Diseases: Relation to Vascular Cognitive Impairment. *J Proteome Res* [Internet]. 2024 Feb 2 [cited 2024 Aug 25];23(2):560–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38252700/>
188. Gustavsson A, Norton N, Fast T, Frölich L, Georges J, Holzappel D, et al. Global estimates on the number of persons across the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimer's and Dementia*. 2023 Feb 1;19(2):658–70.
189. Thijssen EH, La Joie R, Strom A, Fonseca C, Iaccarino L, Wolf A, et al. 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*. 2021 Sep;20(9):739–52.
190. Ashton NJ, Tharick ·, Pascoal A, Karikari TK, Benedet AL, Lantero-Rodriguez J, et al. Plasma p-tau231: a new biomarker for incipient Alzheimer's disease pathology. *Acta Neuropathol* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jul 31];141:709–24. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00401-021-02275-6>
191. Thijssen EH, La Joie R, Strom A, Fonseca C, Iaccarino L, Wolf A, et al. 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* [Internet]. 2021 Sep 1 [cited 2024 Jan 14];20(9):739–52. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34418401/>
192. Mendes AJ, Ribaldi F, Lathuiliere · Aurelien, Nicholas ·, Hansson O, Frisoni GB. Head-to-head study of diagnostic accuracy of plasma and cerebrospinal fluid p-tau217 versus p-tau181 and p-tau231 in a memory clinic cohort. *J Neurol* [Internet]. 123AD [cited 2024 Jul 31];271:2053–66. Available from:

- <https://doi.org/10.1007/s00415-023-12148-5>
193. Hansson O, Blennow K, Zetterberg H, Dage J. Blood biomarkers for Alzheimer's disease in clinical practice and trials. *Nature Aging* 2023 3:5 [Internet]. 2023 May 18 [cited 2024 Aug 18];3(5):506–19. Available from: <https://www.nature.com/articles/s43587-023-00403-3>
194. Barthélemy NR, Salvadó G, Schindler SE, He Y, Janelidze S, Collij LE, et al. Highly accurate blood test for Alzheimer's disease is similar or superior to clinical cerebrospinal fluid tests. [cited 2024 Jul 31]; Available from: <https://doi.org/10.1038/s41591-024-02869-z>
195. Gonzalez-Ortiz F, Turton M, Kac PR, Smirnov D, Premi E, Ghidoni R, et al. Brain-derived tau: a novel blood-based biomarker for Alzheimer's disease-type neurodegeneration. [cited 2024 Jul 31]; Available from: <https://doi.org/10.1093/brain/awac407>
196. Brum WS, Cullen NC, Janelidze S, Ashton NJ, Zimmer ER, Therriault J, et al. nature aging A two-step workflow based on plasma p-tau₂₁₇ to screen for amyloid β positivity with further confirmatory testing only in uncertain cases. [cited 2024 Aug 5]; Available from: <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00471-5>
197. Hansson O, Blennow K, Zetterberg H, Dage J. Blood biomarkers for Alzheimer's disease in clinical practice and trials HHS Public Access. [cited 2024 Aug 8]; Available from: www.nature.com/reprints.
198. Pichet Binette A, Janelidze S, Cullen N, Dage JL, Bateman RJ, Zetterberg H, et al. Confounding factors of Alzheimer's disease plasma biomarkers and their impact on clinical performance. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2024 Aug 8];19(4):1403–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36152307/>
199. Mielke MM, Dage JL, Frank RD, Algeciras-Schimnich A, Knopman DS, Lowe VJ, et al. Performance of plasma phosphorylated tau 181 and 217 in the community. *Nature Medicine* 2022 28:7 [Internet]. 2022 May 26 [cited 2024 Aug 8];28(7):1398–405. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-022-01822-2>
200. Syrjanen JA, Campbell MR, Algeciras-Schimnich A, Vemuri P, Graff-Radford J, Machulda MM, et al. Associations of amyloid and

- neurodegeneration plasma biomarkers with comorbidities. *Alzheimer's & Dementia* [Internet]. 2022 Jun 1 [cited 2024 Aug 8];18(6):1128–40. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/alz.12466>
201. Jack CR, Andrews JS, Beach TG, Buracchio T, Dunn B, Graf A, et al. Revised criteria for diagnosis and staging of Alzheimer's disease: Alzheimer's Association Workgroup. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2024 Jun 27 [cited 2024 Jul 31]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/38934362>
202. Palmqvist S, Tideman P, Mattsson-Carlsson N, Schindler SE, Smith R, Ossenkopp R, et al. Blood Biomarkers to Detect Alzheimer Disease in Primary Care and Secondary Care. *JAMA* [Internet]. 2024 Jul 28 [cited 2024 Aug 8]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39068545/>
203. Skillbäck T, Blennow K, Zetterberg H, Shams S, Machado A, Pereira J, et al. Sex differences in CSF biomarkers for neurodegeneration and blood-brain barrier integrity. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring* [Internet]. 2021 [cited 2024 Aug 22];13(1). Available from: [/pmc/articles/PMC7968119/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30054982/)
204. Parrado-Fernández C, Blennow K, Hansson M, Leoni V, Cedazo-Minguez A, Björkhem I. Evidence for sex difference in the CSF/plasma albumin ratio in ~20 000 patients and 335 healthy volunteers. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 Aug 22];22(10):5151–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30054982/>
205. Castellazzi M, Morotti A, Tamborino C, Alessi F, Pilotto S, Baldi E, et al. Increased age and male sex are independently associated with higher frequency of blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction using the albumin quotient. *Fluids Barriers CNS* [Internet]. 2020 Feb 5 [cited 2024 Aug 22];17(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32024544/>
206. Kettunen P, Bjerke M, Eckerström C, Jonsson M, Zetterberg H, Blennow K, et al. Blood-brain barrier dysfunction and reduced cerebrospinal fluid levels of soluble amyloid precursor protein- β in patients with subcortical small-vessel disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment and Disease Monitoring*. 2022;14(1).

207. Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood–brain barrier: Ageing and microvascular disease – systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging*. 2009 Mar 1;30(3):337–52.
208. Musaeus CS, Gleeup HS, Høgh P, Waldemar G, Hasselbalch SG, Simonsen AH. Cerebrospinal Fluid/Plasma Albumin Ratio as a Biomarker for Blood-Brain Barrier Impairment Across Neurodegenerative Dementias. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2020 Jan 1;75(2):429–36.
209. Skillbäck T, Delsing L, Synnergren J, Mattsson N, Janelidze S, Nägga K, et al. CSF/serum albumin ratio in dementias: a cross-sectional study on 1861 patients. *Neurobiol Aging*. 2017 Nov 1;59:1–9.
210. Castellazzi M, Morotti A, Tamborino C, Alessi F, Pilotto S, Baldi E, et al. Increased age and male sex are independently associated with higher frequency of blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction using the albumin quotient. *Fluids Barriers CNS* [Internet]. 2020 [cited 2024 Aug 8];17:14. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12987-020-0173-2>
211. Davies DC, Hardy JA. Blood brain barrier in ageing and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* [Internet]. 1988 [cited 2024 Aug 22];9(1):46–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3380253/>
212. Rosenberg GA. Blood-Brain Barrier Permeability in Aging and Alzheimer's Disease. *J Prev Alzheimers Dis* [Internet]. 2014 [cited 2024 Aug 8];1(3):138. Available from: </pmc/articles/PMC4543304/>
213. Biron KE, Dickstein DL, Gopaul R, Jefferies WA. Amyloid triggers extensive cerebral angiogenesis causing blood brain barrier permeability and hypervascularity in Alzheimer's disease. *PLoS One* [Internet]. 2011 Aug 31 [cited 2024 Aug 8];6(8):e23789–e23789. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC21909359/?tool=EBI>
214. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke M, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2024 Aug 8];15(7):673–84. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S1474442216000703/fulltext>
215. Janelidze S, Hertze J, Nägga K, Nilsson K, Nilsson C, Wennström M, et al. Increased

- blood-brain barrier permeability is associated with dementia and diabetes but not amyloid pathology or APOE genotype. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2024 Aug 8];51:104–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28061383/>
216. Lin Z, Sur S, Liu P, Li Y, Jiang D, Hou X, et al. Blood–Brain Barrier Breakdown in Relationship to Alzheimer and Vascular Disease. *Ann Neurol* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2024 Aug 8];90(2):227–38. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ana.26134>
217. Musaeus CS, Glerup HS, Høgh P, Waldemar G, Hasselbalch SG, Simonsen AH. Cerebrospinal Fluid/Plasma Albumin Ratio as a Biomarker for Blood-Brain Barrier Impairment Across Neurodegenerative Dementias. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2020 Jan 1;75(2):429–36.
218. Clark C, Lewczuk P, Kornhuber J, Richiardi J, Maréchal B, Karikari TK, et al. Plasma neurofilament light and phosphorylated tau 181 as biomarkers of Alzheimer's disease pathology and clinical disease progression. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Aug 8];13(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34488882/>
219. Xiao Z, Wu W, Ma X, Liang X, Lu J, Zheng L, et al. Plasma A β 42/A β 40 and p-tau181 Predict Long-Term Clinical Progression in a Cohort with Amnesic Mild Cognitive Impairment. *Clin Chem* [Internet]. 2022 Dec 6 [cited 2024 Aug 8];68(12):1552–63. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/clinchem/hvac149>
220. Dansson HV, Stempfle L, Egilsdóttir H, Schliep A, Portelius E, Blennow K, et al. Predicting progression and cognitive decline in amyloid-positive patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2024 Aug 8];13(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33213489/>
221. Sørensen A, Blazhenets G, Schiller F, Meyer PT, Frings L. Amyloid biomarkers as predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's dementia: a comparison of methods. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Aug 8];12(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33213489/>

222. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: A follow-up study. *Lancet Neurology* [Internet]. 2006 Mar 1 [cited 2024 Aug 8];5(3):228–34. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S1474442206703556/fulltext>
223. Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund LO, Freund-Levi Y, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol* [Internet]. 2009 Jul 1 [cited 2024 Aug 8];8(7):619–27. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S1474442209701395/fulltext>
224. Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, Clark CM, Aisen PS, Petersen RC, et al. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Ann Neurol* [Internet]. 2009 Apr [cited 2024 Aug 8];65(4):403–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19296504/>
225. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* [Internet]. 2009 Jul 22 [cited 2024 Aug 8];302(4):385–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19622817/>
226. Hansson O, Seibyl J, Stomrud E, Zetterberg H, Trojanowski JQ, Bittner T, et al. CSF biomarkers of Alzheimer's disease concord with amyloid- β PET and predict clinical progression: A study of fully automated immunoassays in BioFINDER and ADNI cohorts. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2024 Aug 8];14(11):1470–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29499171/>
227. Wallin ÅK, Blennow K, Andreasen N, Minthon L. CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease: Levels of β -Amyloid, Tau, Phosphorylated Tau Relate to Clinical Symptoms and Survival. *Dement Geriatr Cogn Disord* [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2024 Aug 8];21(3):131–8. Available from: <https://dx.doi.org/10.1159/000090631>
228. Hertze J, Minthon L, Zetterberg H, Vanmechelen E, Blennow K, Hansson O. Evaluation of CSF biomarkers as predictors

- of Alzheimer's disease: a clinical follow-up study of 4.7 years. *J Alzheimers Dis* [Internet]. 2010 [cited 2024 Aug 8];21(4):1119–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21504133/>
229. Elias-Sonnenschein LS, Viechtbauer W, Ramakers IHGB, Verhey FRJ, Visser PJ. Predictive value of APOE- ϵ 4 allele for progression from MCI to AD-type dementia: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2024 Aug 8];82(10):1149–56. Available from: <https://jnnp.bmj.com/content/82/10/1149>
230. Fortea J, Pegueroles J, Alcolea D, Belbin O, Dols-Icardo O, Vaqué-Alcázar L, et al. APOE4 homozygosity represents a distinct genetic form of Alzheimer's disease. *Nat Med* [Internet]. 2024 May 1 [cited 2024 Aug 8];30(5):1284–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38710950/>
231. Levine DA, Gross AL, Briceño EM, Tilton N, Giordani BJ, Sussman JB, et al. Sex Differences in Cognitive Decline Among US Adults Key Points + Supplemental content. *JAMA Netw Open*. 2021;4(2):210169.
232. Levine DA, Gross AL, Briceño EM, Tilton N, Giordani BJ, Sussman JB, et al. Sex Differences in Cognitive Decline Among US Adults. *JAMA Netw Open* [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2024 Aug 8];4(2):e210169–e210169. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2776902>
233. Mielke MM, Aggarwal NT, Vila-Castelar C, Agarwal P, Arenaza-Urquijo EM, Brett B, et al. Consideration of sex and gender in Alzheimer's disease and related disorders from a global perspective. *Alzheimer's & Dementia* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Aug 8];18(12):2707–24. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/alz.12662>
234. Williams MM, Storandt M, Roe CM, Morris JC, Knight Alzheimer J, St Louis in. Progression of Alzheimer disease as measured by Clinical Dementia Rating sum of boxes scores. 2012;
235. Wang J, Fan DY, Li HY, He CY, Shen YY, Zeng GH, et al. Dynamic changes of CSF sPDGFR β during ageing and AD progression and associations with CSF ATN biomarkers. *Mol Neurodegener* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Aug 22];17(1). Available from:

- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35033164/>
236. Duara R, Barker W. Heterogeneity in Alzheimer's Disease Diagnosis and Progression Rates: Implications for Therapeutic Trials. *Neurotherapeutics* [Internet]. [cited 2024 Aug 8]; Available from: <https://doi.org/10.1007/s13311-022-01185-z>
237. Nicolás Bossa M, Sahli H. A multidimensional ODE-based model of Alzheimer's disease progression. *123AD* [cited 2024 Aug 8]; Available from: www.nature.com/scientificreports
238. Koval I, Bône A, Louis M, Lartigue T, Bottani S, Marcoux A, et al. AD Course Map charts Alzheimer's disease progression. *Scientific Reports* | [Internet]. *123AD* [cited 2024 Aug 8];11:8020. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87434-1>
239. Barisano G, Montagne A, Kisler K, Schneider JA, Wardlaw JM, Zlokovic B V. Blood-brain barrier link to human cognitive impairment and Alzheimer's Disease. *Nature cardiovascular research* [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2024 Aug 22];1(2):108–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35450117/>
240. Sweeney MD, Montagne A, Sagare AP, Nation DA, Schneider LS, Chui HC, et al. Vascular dysfunction – the disregarded partner of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2024 Aug 22];15(1):158. Available from: [/pmc/articles/PMC6338083/](https://pmc/articles/PMC6338083/)
241. Reisberg B, Ferris SH, De Leon MJ, Crook T. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychiatry* [Internet]. 1982 [cited 2024 Sep 13];139(9):1136–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7114305/>

11. ANNEXES

11.1 Protocol d'estudi de la cohort BIODEGMAR

11.1.1 El registre Degmar i la cohort BIODEGMAR:

El docorand va iniciar, durant l'any 2016, el disseny del registre DEGMAR i de la cohort BIODEGMAR, que foren aprovades i s'iniciaren el 2017.

El registre DEGMAR, observacional i prospectiu amb dades sociodemogràfiques, clíniques, neuropsicològiques i de neuroimatge, inclou pacients visitats a la unitat de Cognició i Conducta (prèviament unitat de deteriorament cognitiu i trastorns del moviment), de l'Hospital del Mar a Barcelona, hospital universitari de referència per a una població de 350.000 habitants de la ciutat de Barcelona (ària integral de salut Barcelona Litoral Mar). La cohort BIODEGMAR és un estudi observacional longitudinal que inclou pacients del registre DEGMAR amb mostres biològiques.

11.1.2 Criteris d'inclusió i d'exclusió:

Criteris d'inclusió: (i) individus visitats a la Unitat de Cognició i Conducta i/o de Trastorns del Moviment (prèviament unitat de deteriorament cognitiu i trastorns del moviment); (ii) signatura del consentiment informat; (iii) compleixen criteris diagnòstics de les següents síndromes i condicions clíniques (veure següent apartat); (iii) obtenció de mostra de sang i/o LCR.

Criteris d'exclusió: (i) negativa a cedir les dades o mostres biològiques; (ii) ≥ 80 anys d'edat al moment de la inclusió; (iii) pacients que no puguin comprendre les implicacions de la seva participació, en absència de familiar referent o tutor legal.

11.1.3 Diagnòstic clínic:

S'inclouen individus que compleixen els següents criteris de diagnòstic clínic: declivi cognitiu subjectiu (DCS)(1); DCL(2); MAdm (possible, probable i de presentació atípica*)(3); demència frontotemporal variant conductual (DFTvc)(4); afàsia progressiva primària o afàsia progressiva (variant logopènica, semàntica o progressiva no fluent)(5); demència amb cossos de Lewy (6); malaltia de Parkinson amb demència (MPD)(7); SCB (8); PSP (9); DCV (10); demència secundària (incloent etiologia tòxica metabòlica, postraumàtica entre altres); hidrocefàlia normotensiva crònica de l'adult (HNCA)(11) i demència d'etiologia no especificada. La cohort inclou un grup de participants sense DC ni DCS, que es consideren CS.

11.1.4 Procediments de l'estudi

Avaluació clínic: és realitzada per un neuròleg expert en trastorns cognitius i demències i/o trastorns del moviment. Inclou la revisió d'antecedents personals i familiars, tractaments habituals, anamnesi del procés cognitiu, exploració física neurològica i finalment, tenint en compte els criteris esmentats prèviament, el diagnòstic clínic i/o clínic-biològic.

Avaluació neuropsicològica: realitzada per un neuropsicòleg expert en DC. El protocol inclou les següents proves cognitives i escales funcionals: Mini Mental State Examination (12), Memory Impairment Screen (13), Sèries inverses (subtest de la bateria cognitiva Test Barcelona)(14), tasca de fluència semàntica (subtest de la bateria cognitiva Test Barcelona)(14), Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT)(15), Boston Naming Test(16), Trail Making Test(17),

Blessed Dementia Rating Scale 143143 i Alzheimer's Disease Functional Assessment and Change Scale (ADFACS)(19).

Neuroimatge: es realitza una ressonància magnètica cerebral a tots els participants, excepte en casos en els que hi hagi alguna contraindicació o negativa per part del pacient (p. ex., marcapassos, clips d'aneurisma incompatibles amb ressonància magnètica, claustrofòbia severa). En cas que no es realitzi ressonància magnètica, es realitza una tomografia computeritzada cerebral (TAC cerebral) com a part del procés diagnòstic clínic. Les dades estructurals de la ressonància magnètica s'adquireixen amb un aparell de 1,5 T (General Electric Signa Explorer) o de 3 T (Philips Achieva). El protocol d'imatges inclou: seqüències ponderades en T1 i T2, T1 3D d'alta resolució, imatges ponderades per difusió, imatges FLAIR, gradient eco i/o seqüències ven-Bold.

Punció lumbar per a extracció de LCR i presa de mostres de sang: la punció lumbar es realitza a l'espai intervertebral L3/L4, L4/L5 o L5/S1 utilitzant una agulla estàndard, entre les 8 i les 11 del matí. Els participants havien dejunat durant almenys 8 hores. El LCR es recull en un tub estèril de polipropilè de 10 ml (Starstedt, Nümbrecht, Alemanya; cat. no. 62.610.201). Els tubs es capgiren suaument de 5 a 10 vegades i es centrifuguen a 2000g durant 10 minuts a (4°C) i es divideixen en volums de 1,8 ml en tubs de polipropilè estèrils (1,8ml cryotube Thermo scientificTM NuncTM; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA; cat. no. 377267), i s'emmagatzemen immediatament a -80°C.

Les mostres de sang es prenen el mateix dia de la punció lumbar i, per tant, en condicions de dejuni. La sang total es recull amb una agulla de calibre 20 o 21 en tubs de 10 ml d'àcid etilendiaminotetraacètic (EDTA) (BD Vacutainer 10ml; K2EDTA; cat. no. 367525). Els tubs es capgiren suaument de 5 a 10

vegades i es centrifuguen a 2000g durant 10 minuts a (4°C). El sobrenedant es divideix en volums de 1,8 ml en tubs de polipropilè estèrils (1,8ml cryotube Thermo scientific™ Nunc™; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA; cat. no. 377267), i s'emmagatzemen immediatament a -80°C.

Mesures de biomarcadors principals de LCR per AD i punts de tall en la cohort BODEGMAR :

Els biomarcadors principals de LCR per AD (A β 42, A β 40, p-tau181 i t-tau) en la cohort BODEGMAR es van mesurar al laboratori de referència de l'hospital (Laboratori de Referència de Catalunya, LRC) amb Lumipulse, Fujirebio. El protocol de processament de mostres de LCR per aquestes mesures al LRC és el següent: el LCR es recull en un tub estèril de polipropilè de 10 ml (Starstedt, Nümbrecht, Alemanya; cat. no. 62.610.201). Els tubs es capgiren suaument de 5 a 10 vegades i es centrifuguen a 2000g durant 10 minuts a RT i es divideixen en volums de 0,5 ml en tubs de polipropilè estèrils (Starstedt, Nümbrecht, Alemanya; cat. no. 72.730.006) al laboratori de l'Hospital del Mar i s'envien immediatament amb gel sec al LRC, on s'emmagatzemen a -80°C fins que es realitzen les mesures.

Els valors de tall per als biomarcadors i les ràtios (A β 42, A β 42/A β 40, p-tau181, t-tau, A β 42/pTau181) es van definir prèviament després de comparar les mesures d'un grup d'individus sense DC (n = 42) amb un grup de pacients amb MAdm (n = 48). Els valors de tall escollits van ser aquells amb un índex de Youden més alt (S+E-1). Els punts de tall i les seves AUC van ser els següents: A β 42 750 pg/ml (AUC 0.81); A β 42/A β 40 0.062 (AUC 0.78); p-tau181 69.85 pg/ml (AUC 0.81); t-tau 522.0 pg/ml (AUC 0.79); A β 42/t-tau 1.76 (AUC 0.86); A β 42/p-tau181 10.25 (AUC 0.86). El rati A β 42/pTau181 mostra l'AUC més alta i millor

equilibri entre Se i Es. Una descripció més detallada de la cohort i les mesures de biomarcadors i límit es pot trobar a Puig-Pijoan, A, et al(20).

Genotipat del gen de l'apolipoproteïna E (APOE): es realitza al LRC analitzant l'ADN genòmic del pacient mitjançant assaigs de PCR de discriminació al·lèlica utilitzant reactius "APOE Real Type", de Progenie Molecular (València, Espanya), estudiant dos polimorfismes: rs7412 (g8041C>T) i rs429358 (g7903 T>C) per definir els diplotips d'APOE per als al·lels ε2, ε3 i ε4, que al seu torn codifiquen les isoformes d'APOE més comunes en la població: APOE-ε2, APOE-ε3 i APOE-ε4 respectivament.

11.1.5 Aprovacions de protocols, registres i consentiment dels participants

El Registre DEGMAR i la cohort BIODEGMAR van ser aprovats pel comitè d'ètica local (CEIC PSMAR, codi de projecte 2018/7805I). Els participants en la cohort BIODEGMAR poden sotmetre's a punció lumbar per a finalitats clíniques seguint les guies clíniques i les recomanacions al nostre entorn(21,22) o per a finalitats estrictament de recerca.

Es proporciona un formulari de consentiment informat específic per a cada cas. Tots els participants (i/o un representant quan sigui adequat), van proporcionar un consentiment informat per escrit aprovat pel nostre comitè d'ètica local (CEIC PSMAR).

Referències:

1. Jessen F, Amariglio RE, Boxtel M, Breteler M, Ceccaldi M, Chételat G, et al. A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2014 Nov;10(6):844–52.

2. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, et al. 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* [Internet]. 2011 [cited 2021 Dec 28];7(3):270–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21514249/>
3. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. 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* [Internet]. 2011 [cited 2021 Dec 28];7(3):263–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21514250/>
4. Rascovsky K, Hodges JR, Knopman D, Mendez MF, Kramer JH, Neuhaus J, et al. Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. *Brain* [Internet]. 2011 Sep 1 [cited 2024 Apr 21];134(9):2456–77. Available from: <https://dx.doi.org/10.1093/brain/awr179>
5. Gorno-Tempini ML, Hillis AE, Weintraub S, Kertesz A, Mendez M, Cappa SF, et al. Classification of primary progressive aphasia and its variants. *Neurology*. 2011 Mar 15;76(11):1006–14.
6. McKeith IG, Boeve BF, Dickson DW, Halliday G, Taylor JP, Weintraub D, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2017 Jul 4;89(1):88–100.
7. Emre M, Aarsland D, Brown R, Burn DJ, Duyckaerts C, Mizuno Y, et al. Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2007 Sep 15;22(12):1689–707.
8. Armstrong MJ, Litvan I, Lang AE, Bak TH, Bhatia KP, Borroni B, et al. Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology*. 2013 Jan 29;80(5):496–503.
9. Höglinger GU, Respondek G, Stamelou M, Kurz C, Josephs KA, Lang AE, et al. Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: The movement disorder society criteria. *Mov Disord* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2021 Dec 9];32(6):853–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28467028/>
10. Skrobot OA, Black SE, Chen C, DeCarli C, Erkinjuntti T, Ford GA, et al. Progress toward standardized diagnosis of vascular cognitive impairment: Guidelines from the Vascular Impairment of Cognition Classification Consensus Study. *Alzheimer's & Dementia* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2024 Apr 21];14(3):280–92. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1016/j.jalz.2017.09.007>
11. Williams MA, Relkin NR. Diagnosis and management of idiopathic normal-pressure hydrocephalus. *Neurol Clin Pract*. 2013 Oct;3(5):375–85.
12. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state." *J Psychiatr Res*. 1975 Nov;12(3):189–98.
13. Buschke H, Kuslansky G, Katz M, Stewart WF, Sliwinski MJ, Eckholdt HM, et al. Screening for dementia with the memory impairment screen. *Neurology*. 1999 Jan 15;52(2):231–8.
14. Peña-Casanova J. *Test Barcelona Revisado: programa integrado de exploración neuropsicológica*: TBR. Masson; 2005.
15. Buschke H. Cued recall in Amnesia. *J Clin Neuropsychol*. 1984 Nov;6(4):433–40.
16. Kaplan E, Goodglass H, Weintraub S. *Boston naming test*. 2nd ed. Austin: Pro-Ed; 2001.

17. Reitan RM, Wolfson D. The Halstead-Reitan neuropsychology battery: Theory and clinical interpretation. Hardcover: Neuropsychology. 1993;
18. Blessed G, Tomlinson BE, Roth M. The association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral grey matter of elderly subjects. *Br J Psychiatry*. 1968;114(512):797–811.
19. Galasko D, Bennett D, Sano M, Ernesto C, Thomas R, Grundman M, et al. An Inventory to Assess Activities of Daily Living for Clinical Trials in Alzheimer's Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1997;11:33–9.
20. Puig-Pijoan A, García-Escobar G, Fernández-Lebrero A, Manero-Borrás R, Sánchez-Benavides G, Navalpotro-Gómez I, et al. The CORCOBIA Study: cut-off points of Alzheimer's Disease CSF biomarkers in a clinical cohort. *Neurología*.
21. Amer G, Manzano MS, Fortea J, Villarejo A, Sánchez-Valle R. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer. In: Luzán, editor. *Guías diagnósticas y terapéuticas de la Sociedad Española de Neurología 2018 Guía oficial de práctica clínica en demencias*. 5th ed. Madrid: Ediciones SEN; 2018. p. 35–41.
22. Balasa M, Piñol Ripoll G, Molinuevo Guix JL, Lleó Bisa A, Lladó Plarrumaní A. *Guies clíniques d'ús de biomarcadors de malaltia d'Alzheimer en líquid cefalorraquidi en l'avaluació de pacients amb deteriorament cognitiu*. Barcelona; 2015.

11.2 Material suplementari de l'article 1. Material i mètodes, mesures de p-tau en LCR i en sang

Plasma and CSF tau biomarkers measurements

Each plasma or CSF tau biomarker measurement was performed in the laboratory where each immunoassay was developed (ADx, Janssen, Lilly or University of Gothenburg), except for the Quanterix immunoassay that was performed at the Department of Psychiatry & Neurochemistry, University of Gothenburg. The antibodies used in each immunoassay are depicted in **Figure 1** in the main text. **Table S1** summarizes the main characteristics of the plasma immunoassays and **Table S2** their precision and the sensitivity for this study (see below).

ADx immunoassays

Description of the immunoassays

The phospho-specific antibodies, ADx252 (p-tau181) and ADx253 (p-tau231) were coupled to paramagnetic beads and used as capture antibodies. A N-terminal specific tau antibody, ADx204, was used as detector. Optimal linker and biotinylation degree for high analytical sensitivity was developed based on Cohen and Walt (1). After washing the beads, 100 μ L of 50 pM streptavidineconjugated β -galactosidase (Quanterix, #103397) was added and incubated 10 minutes (14 cadenses) for the p-tau181 immunoassay and 25 pM streptavidine-conjugated β -galactosidase (Quanterix, #103397) was added and incubated 5 minutes (7 cadenses) for the p-tau231 immunoassay. After washing, 50 μ L resorufin β -D-galactopyranoside (Quanterix, #101736) was added and resuspended beads were transferred into a multi-well disc array for imaging. Fluorescent signals were converted to average enzyme per bead (AEB) numbers as described (2), and specimen

concentrations extrapolated from a five-parametric curve fit, $1/y^2$ generated with known peptide calibrator concentrations ranging from 50 pg/ml to 0.78 pg/ml for p-tau181 and from 50 pg/ml to 0.39 pg/ml for p-tau231.

Description of the experiment for this study

Plasma EDTA samples were thawed prior to testing, vortexed and centrifuged at 10,000g for 8 minutes, and diluted 1/5 in a homebrew tau dilution buffer, optimized for Simoa plasma measurements. For both tau immunoassays 100 μ L of pre-diluted sample was incubated for 60minutes (80 cadenses) with 25 μ L capture beads (50% helper beads) and 20 μ L of 800 ng/ml detector antibody for p-tau231 and 1 μ g/ml detector for p-tau181.

Janssen immunoassays

Description of the immunoassays

Janssen provided the measurements of the previously published *in-house* immunoassays for plasma p217+tau “long form” (Janssen plasma p-tau217) (3) and CSF p217+tau “short form” (Janssen CSF p-tau217) (4). The plasma p-tau217 immunoassay is a Simoa-based 3-step immunoassay which uses as capture antibody the mid-region (aa 210-220) targeted mouse monoclonal antibody pT3 that requires phosphorylation at aa217, but has enhanced binding with additional surrounding phosphorylation, and as detector antibody the N-terminal mouse monoclonal antibody hT43, which recognizes aa 7-20 on full-length human tau (Janssen R&D). A synthetic peptide comprised of the pT3 epitope and the hT43 epitope separated by a PEG4 linker was used as calibrator material (New England Peptide, Gardner, MA). Calibrators and specimens were diluted with custom assay diluent [Tris Base (50mM), NaCl (100mM), EDTA (5mM), BSA (2%), TritonX100 (0.5%), HBR9 (0.45 mg/ml), pH 7.4]. The functional LLOQ of the immunoassay is defined as 0.052 pg/ml.

The CSF p-tau217 immunoassay is a Simoa-based 2-step immunoassay, using the same reagents as the plasma p-tau217 except that the detection antibody is PT82, which targets the mid-region (119-126aa). Calibrators and specimens were diluted with Simoa homebrew assay diluent (Quanterix, Billerica, MA). The functional LLOQ of the immunoassay is defined as <0.32 pg/ml.

Description of the experiment for this study

CSF and plasma samples were thawed and vortexed, followed by centrifugation for 5 minutes at 10,000g, before diluting the supernatant with assay diluent. Signal variations between analytical runs were assessed using seven internal quality control (iQC) samples [half being endogenous samples (e.g. plasma or CSF), and half being peptide-spiked diluent] analyzed in duplicate at the end of each run.

All Janssen CSF and plasma p217+tau immunoassays were performed on the Simoa HD-X platform (Quanterix, Billerica, MA, USA) at the Janssen Research and Development site, San Diego, CA, USA.

Lilly immunoassays

Description of the immunoassays

Eli Lilly and Company provided the measurements of the previously published *in-house* immunoassays for p-tau181 (5) and p-tau217 (5), as well as the *in-house* immunoassay for t-tau, using the Meso Scale Discovery platform (MSD, Rockville, MD, USA). All three tau immunoassays use a streptavidin small spot plate (MSD, L45SA) and a sulfo-tagged amino-terminal tau antibody as the detector (Lilly, SULFO-TAG-Ru-4G10-E2). For the Lilly p-tau181 immunoassay, a ptau181- specific biotinylated monoclonal antibody was used as the capture antibody (Lilly, biotinylated-AT270) and the LLOQ of

the immunoassay is defined as 0.18 pg/ml. For the Lilly p-tau217 immunoassay, a p-tau217-specific biotinylated monoclonal was used as the capture antibody (Lilly, biotinylated-IBA493) and the LLOQ of the immunoassay is defined as 0.04 pg/ml. For the Lilly t-tau immunoassay, a biotinylated N-terminal mouse monoclonal Tau12 antibody was used as the capture antibody and the LLOQ of the immunoassay is defined as 0.71 pg/ml for CSF and 0.43 pg/ml for plasma. Custom synthetic tau dipeptide standards phosphorylated specifically at either T181 or T217 (synthesized by CPC Scientific) were used as the calibrator for the p-tau181 and p-tau217 immunoassays, respectively, while an *in-house* fulllength recombinant tau 441 (2N4R) standard was used for the t-tau immunoassay. The dipeptide standards contain the epitope of the capture antibody, a polyethylene glycol polymer linker, and the epitope of the detector antibody. Each peptide was verified to be >95% pure by HPLC and identity was confirmed by mass spectrometry.

Description of the experiment for this study

Standards were thawed at 4 °C, vortexed, centrifuged at 2,000g briefly, and diluted with a low salt buffer (5 mM EDTA, 5 mM EGTA, 60 mM NaCl, 50 mM HEPES, 2% PEG, 1% MSD Blocker A, and 1% Triton X-100). CSF and plasma samples were thawed at 4 °C, vortexed, centrifuged at 2,000g for 5 minutes, and diluted with a low salt buffer containing 200 µg/ml heterophilic blocking reagent 1 (HBR1, Scantibodies Inc., cat. #3KC533). Samples were processed in batches with a standard curve, buffer quality control samples, and pooled CSF or plasma control samples, in duplicate, on every plate. Plates were blocked with 200 µL 1x PBS containing 3% BSA and 2% PEG and washed 3x with 200 µL PBST (1x PBS and 0.05% Tween20). 50 µL capture antibody was added using 1x PBS containing 0.1% BSA, 0.05% Tween20 and 2% PEG and incubated at RT

with shaking (650 rpm) for 1 hour. After another 3x wash with 200 μ L PBST, 50 μ L standards, controls, and samples were added and incubated at RT with shaking (650 rpm) for 2 hours. Following a third 3x wash with 200 μ L PBST, 25 μ L detection antibody was added using the low salt buffer above and incubated at RT with shaking (650 rpm) for 1 hour. A final 3x wash with 200 μ L PBST was followed by the addition of 150 μ L 2x MSD Read Buffer T with surfactant (MSD, R92TC) and the plates were read on an MSD SQ120 instrument within 10 minutes. Results were calculated by the MSD software using a 4-parameter logistic with 1/y² weighting of the standard curve for interpolation.

Quanterix immunoassays

Description of the immunoassays

The Quanterix p-tau181 immunoassay is commercially available (#103714, Simoa® P-tau-181 V2 Advantage Kit), and is a modification of the *in-house* UGot p-tau181 immunoassay(6). It uses the N-terminal mouse monoclonal antibody Tau12 (7) as a detector antibody and the p-tau181- specific monoclonal antibody AT270 was used as capture antibody (8,9). Full-length recombinant tau 441 phosphorylated *in vitro* by glycogen synthase kinase 3 β was used as the calibrator (#TO8- 50FN, SignalChem) and calibrators and specimens were diluted with assay diluent (Advantage V2). The LLOQ of the immunoassay is defined as 0.338 pg/ml.

Description of the experiment for this study

CSF samples were thawed and vortexed, whereas plasma samples were additionally centrifuged at 2000g for 10 minutes before diluting with assay diluent. Signal variations within and between analytical runs were assessed using two internal quality control (iQC) samples analyzed in duplicate at the beginning and the end of each run. Quanterix p-

tau181 was measured on Simoa HD-X (Quanterix, Billerica, MA, USA) at the Department of Psychiatry and Neurochemistry, University of Gothenburg, Mölndal, Sweden.

University of Gothenburg immunoassays

Description of the immunoassays

University of Gothenburg provided the measurements of the previously published *in-house* immunoassays p-tau181 (UGot p-tau181) (6), and p-tau231 (UGot p-tau231)(10). Both UGot ptau181 and UGot p-tau231 immunoassays are Simoa-based 3-step immunoassays. They both use as a detector antibody the N-terminal mouse monoclonal antibody Tau12, which recognizes the N-terminal epitope 6-QEFEVMEDHAGT-18 on full-length human tau (7). Full-length recombinant tau 441 phosphorylated *in vitro* by glycogen synthase kinase 3 β was used as the calibrator (#TO8-50FN, SignalChem) and calibrators and specimens were diluted with assay diluent (Tau 2.0 buffer: #101556, Quanterix). The LLOQ of the immunoassay is defined as 1 pg/ml. For the UGot p-tau181 immunoassay, the p-tau181-specific monoclonal antibody AT270 was used as capture antibody(8,9). The LLOQ of the immunoassay is defined as 1 pg/ml. For the UGot p-tau231 immunoassay, monoclonal mouse antibodies were generated using a synthetic peptide (K224KVAVVR(pT)PPKSPSSAK240C) as a KLH-coupled antigen, numbered according to full-length tau-441 phosphorylated at threonine 231. Candidate hybridomas were selected on brain extracts of AD and control brain tissue. The final cloned and purified monoclonal antibody, ADx253, was characterized on synthetic peptides spanning amino acids threonine 217 till serine 241 of full-length tau for its affinity, its phospho-specificity using both phosphorylated and non-phosphorylated peptides and its

preferred selectivity in which position 232 was replaced by a Pip, to simulate cis-selectivity of ADx253 (11).

Description of the experiment for this study

CSF samples were thawed and vortexed, whereas plasma samples were additionally centrifuged at 2000g for 10 minutes before diluting with assay diluent. Signal variations within and between analytical runs were assessed using two internal quality control (iQC) samples analyzed in duplicate at the beginning and the end of each run. Both UGot p-tau181 and UGot p-tau231 were measured on Simoa HD-X (Quanterix, Billerica, MA, USA) at the Department of Psychiatry and Neurochemistry, University of Gothenburg, Mölndal, Sweden.

References:

1. Cohen L, Walt DR. Evaluation of Antibody Biotinylation Approaches for Enhanced
2. Sensitivity of Single Molecule Array (Simoa) Immunoassays. *Bioconjug Chem.* 2018;29(10):3452-3458. doi:10.1021/ACS.BIOCONJCHEM.8B00601
3. Rissin DM, Kan CW, Campbell TG, et al. Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. *Nat Biotechnol.* 2010;28(6):595-599. doi:10.1038/nbt.1641
4. Triana-Baltzer G, Moughadam S, Slemmon R, et al. Development and validation of a high-sensitivity assay for measuring p217+tau in plasma. *Alzheimer's Dement (Amsterdam, Netherlands).* 2021;13(1):e12204. doi:10.1002/dad2.12204
5. Triana-Baltzer G, Van Kolen K, Theunis C, et al. Development and Validation of a High Sensitivity Assay for Measuring p217 + tau in Cerebrospinal Fluid. *J Alzheimer's Dis.* 2020;77(4):1417-1430. doi:10.3233/JAD-200463
6. Thijssen EH, La Joie R, Strom A, et al. 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.* 2021;20(9):739-752. doi:10.1016/S1474-4422(21)00214-3
7. Karikari TK, Pascoal TA, Ashton NJ, et al. Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts. *Lancet Neurol.* 2020;19(5):422-433. doi:10.1016/S1474-4422(20)30071-5

8. Horowitz PM, Patterson KR, Guillozet-Bongaarts AL, et al. Early N-terminal changes and caspase-6 cleavage of tau in Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2004;24(36):7895-7902. doi:10.1523/JNEUROSCI.1988-04.2004
9. Goedert M, Jakes R, Crowther RA, et al. Epitope mapping of monoclonal antibodies to the paired helical filaments of Alzheimer's disease: Identification of phosphorylation sites in tau protein. *Biochem J.* 1994;301(3):871-877. doi:10.1042/bj3010871
10. Vanmechelen E, Vanderstichele H, Davidsson P, et al. Quantification of tau phosphorylated at threonine 181 in human cerebrospinal fluid: a sandwich ELISA with a synthetic phosphopeptide for standardization. *Neurosci Lett.* 2000;285(1):49-52. doi:10.1016/S0304-3940(00)01036-3
11. Ashton NJ, Pascoal TA, Karikari TK, et al. Plasma p-tau231: a new biomarker for incipient Alzheimer's disease pathology. *Acta Neuropathol.* 2021;(0123456789). doi:10.1007/s00401-021-02275-6
12. De Vos A, Jacobs D, Van den Abbeele L, et al. A novel conformational, phospho- Threonine 231 specific assay for CSF protein tau. *J Prev Alzheimer's Dis.* 2016;1(Supplement 1):319.

