Likvorski biomarkeri YKL-40 i p-tau181 u ranoj dijagnostici Alzheimerove bolesti

Smilović, Dinko

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:025484

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Dinko Smilović

Likvorski biomarkeri YKL-40 i p-tau$_{181}$ u ranoj dijagnostici Alzheimerove bolesti

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016

Ovaj diplomski rad izrađen je u Laboratoriju za razvojnu neuropatologiju Hrvatskog instituta za istraživanje mozga Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Gorana Šimića, dr. med., te je predan na ocjenu u akademskoj godini 2015./2016.

POPIS KRATICA

AB	Alzheimerova bolest
ACE	Angiotenzin – konvertirajući enzim
AChE	Acetil – kolinesteraza
APOE	Apolipoprotein E gen
APP	Prekursorni protein amiloida, *Amyloid Precursor Protein*
Aβ	Amiloid β
AUC	Područje ispod krivine, odnosi se na ROC krivulju, *Area under curve*
CDR	Klinička skala za rangiranje demencije, *Clinical Dementia Rating Scale*
CSF	Cerebrospinalna tekućina, *Cerebrospinal Fluid*
CT	Kompjuterizirana tomografija, *Computerized Tomography*
DLB	Demencija zbog Lewyjevih tjelešaca, *Dementia with Lewy bodies*
DMN	Mreža stalne aktivnosti, *Default-Mode Network*
DSM V	Dijagnostički i statistički priručnik za duševne poremećaje, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*
ELISA	Enzimski povezana imunoapsorpcijska analiza, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
FDG-PET	Pozitronska emisijska tomografija koja koristi ^{18}F-fluorodeoksiglukozu kao radioizotop
fMRI	Funkcionalna magnetska rezonancija, *Functional Magnetic Resonance Imaging*
FTD	Frontotemporalna demencija
HDL	Lipoproteini visoke gustoće, *high-density lipoproteins*

ICD-10	Internacionalna klasifikacija bolesti, *International Classification of Diseases*
MCI	Blagi spoznajni poremećaj, *Mild Cognitive Impairment*
MMSE	Kratko ispitivanje mentalnog statusa, *Mini Mental Status Examination*
MRI	Magnetska rezonancija, *Magnetic Resonance Imaging*
NFT	Neurofibrilarni snopići, *Neurofibrillary Tangles*
NIA-AA	Nacionalni institut o starijima – Alzheimerova udruga, *National Institute on Aging – Alzheimer's Association*
NINCDS-ADRDA	Nacionalni institut za neurološke i komunikacijske poremećaje i moždani udar - Udruga za Alzheimerovu bolest i srodne poremećaje, *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke – the Alzheimer's disease and Related Disorders Association*
NMDA	*N*-metil-D-aspartat
NP	Neuritički plakovi, *Neuritic Plaques*
p – tau_{181}	Tau protein fosforiliran na poziciji treonina 181
p – tau	Hiperfosforilirani tau protein
PET	Pozitronska emisijska tomografija, *Positron Emission Tomography*
PSEN	Presenilin gen
ROC krivulja	*Receiver Operating Characteristic,* grafički prikaz specifičnosti i osjetljivosti nekog dijagnostičkog testa
sMRI	Strukturalna magnetska rezonancija, *Structural Magnetic Resonance Imaging*
SP	Senilni plakovi
SPECT	Jednofotonska emisijska kompjuterizirana tomografija, *Single Photon Emission Computerized Tomography*

t – tau	Ukupni tau proteini, *Total tau protein*
VaD	Vaskularna demencija
YKL – 40	Poput – Hitinaze – 3 protein 1 (CHI3L1), *Chitinase – 3 – like protein 1*

SADRŽAJ RADA

1. SAŽETAK....VI
2. SUMMARY....VIII
3. UVOD....1
3.1. ALZHEIMEROVA BOLEST....1
3.1.1. Općenito o bolesti....1
3.1.2. Genski uzroci bolesti....2
3.1.3. Patogeneza....4
3.1.4. Dijagnoza bolesti....9
3.1.5. Liječenje bolesti....14
3.2. BLAGI SPOZNAJNI POREMEĆAJ....16
3.2.1. Klinička slika....16
3.2.2. Dijagnostički kriteriji....17
3.2.3. Pogoršanje u demenciju....18
3.3. BIOMARKERI ALZHEIMEROVE BOLESTI....21
3.3.1. Radiološki biomarkeri....21
3.3.2. Zlatni standard za biomarke u likvoru....25
3.3.3. YKL – 40 u likvoru....27
4. HIPOTEZA....30
5. CILJ ISTRAŽIVANJA....31
6. MATERIJALI I METODE....32
6.1. Materijali....32
6.2. Metode....33
6.3. Statistička obrada....34
7. REZULTATI....35
7.1. Demografska obilježja i analiza ispitanika....35
7.2. Vrijednosti p-tau$_{181}$ biomarkera....35
7.3. Vrijednosti YKL-40 biomarkera....37
7.4. Korelacija p-tau$_{181}$ i YKL-40....38
7.5. Osjetljivost i specifičnost analiziranih biomarkera, analiza ROC krivulje....41
8. RASPRAVA....44
9. ZAKLJUČAK....45
10. ZAHVALE....X
11. POPIS LITERATURE....XI
12. ŽIVOTOPIS....XIX

1. SAŽETAK

Likvorski biomarkeri YKL-40 i p-tau$_{181}$ u ranoj dijagnostici Alzheimerove bolesti

Dinko Smilović

Alzheimerova bolest (AB) je najčešći uzrok demencije. U 2015. godini je u svijetu od AB bolovalo 44 milijuna ljudi. Zbog starenja populacije očekuje se izrazit porast incidencije bolesti kroz sljedećih nekoliko desetljeća. Bolest je teška i neizlječiva, te može nastati zbog mutacija nekih gena (*APP*, *PSEN1* i *PSEN2*), no najčešće nastaje sporadično. Procjenjuje se da razvitak patološkog procesa u sporadičnoj AB (naziva se i AB s kasnim početkom) u prosjeku traje oko dvadesetak godina prije ispoljavanja, te je nakon dijagnosticiranja teško utjecati na tijek bolesti jer je oštećenje živčanih stanica u mozgu već uznapredovalo. U cilju pospješenja učinkovitosti dostupnih terapijskih postupaka, nužno je bolest dijagnosticirati što ranije. U tu svrhu, nakon otklanjanja mogućih reverzibilnih uzroka sindroma demencije (pseudodemencija zbog depresije, hipotireoza, nedostatak vitamina B_{12}, itd.), pored neuropsihološkog testiranja rabimo i neuroradiološku dijagnostiku pomoću MRI, CT i PET snimanja te likvorske biomarkere.

U ovom istraživanju pokušali smo procijeniti vrijednost određivanja razine YKL-40 proteina u cerebrospinalnoj tekućini (CSF, likvoru) kao potencijalnog novog biomarkera za ranu dijagnostiku AB. Razina YKL-40 proteina u likvoru pokazala je umjerenu pozitivnu korelaciju s dobi ispitanika, te je statistički značajno povišena u bolesnika s AB naspram bolesnika s blagim spoznajnim poremećajem (*mild cognitive impairment*, MCI). P-tau$_{181}$ kao jedan od biomarkera koji trenutno čine „zlatni standard“ korišten je u istraživanju za validaciju rezultata te za usporedbu pouzdanosti YKL-40 u dijagnostici onih MCI bolesnika koji će progredirati AB.

Istraživanje je provedeno na 79 izuzetih uzoraka CSF, a ispitanici su podijeljeni u tri skupine: kontrolna skupina (zdravih ispitanika), skupina ispitanika s MCI te skupina bolesnika s kliničkom dijagnozom AB prema kriterijima Nacionalnog instituta za neurološke i komunikacijske poremećaje i moždani udar - Udruga za Alzheimerovu bolest i srodne poremećaje (NINCDS-ADRDA) iz 2011. godine. Rezultati su pokazali da koncentracije YKL-40 i p-tau$_{181}$ međusobno pozitivno koreliraju. Koncentracije YKL-40 su korelirale s dobi ispitanika svih skupina. Osjetljivost YKL-40 je bila 71.4%, a specifičnost 66.7% dok je osjetljivost p-tau$_{181}$

bila 44.6%, a specifičnost 88.9%. Prema tim podacima YKL-40 i p-tau$_{181}$ nisu zadovoljavali kriterije idealnog biomarkera, koji određuju da osjetljivost i specifičnost moraju biti iznad 85%.

Ključne riječi: Alzheimerova bolest, blagi spoznajni poremećaj, YKL-40, p-tau$_{181}$, ukupni tau, Aβ, CSF biomarkeri

2. SUMMARY

Cerebrospinal fluid YKL-40 and p-tau$_{181}$ as biomarkers for early diagnosis of Alzheimer's disease

Dinko Smilović

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia. In 2015. it was estimated that 44 million people suffered from AD worldwide. Because of the aging population, a vast increase of disease incidence is expected throughout the next few decades. The disease is severe and incurable, and it can occur due to mutations in some genes (*APP*, *PSEN1* and *PSEN2*), but most commonly occurs sporadically. It is estimated that the development of pathological processes in sporadic AD (also called AD with late onset) lasts in average around twenty years before the manifestation of the first clinical symptoms, and after the diagnosis it is difficult to influence the progression of the disease since there is already considerable damage to nerve cells throughout the brain. For the purpose of improving the efficiency of the available therapeutic procedures, it is necessary to diagnose the disease as early as possible. For this purpose, after eliminating possible reversible causes of dementia syndrome (pseudo dementia due to depression, hypothyroidism, vitamin B_{12} deficiency, etc.) in addition to neuropsychological testing we use neuroradiological diagnostics by MRI, CT and PET imaging and cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers.

In this study we tried to evaluate the validity of determining the level of YKL-40 protein CSF as a potential new biomarker for early diagnosis of AD. The level of YKL-40 protein in the cerebrospinal fluid showed a moderate positive correlation with age and is significantly elevated in patients with AD compared to patients with mild cognitive impairment (MCI). P-tau$_{181}$ as one of the biomarkers that make up the „gold standard“ is used in the research to validate the results and to compare the reliability of YKL-40 in the diagnosis of those MCI patients who will progress to AD.

The study was conducted on 79 collected samples of CSF, and the subjects were divided into three groups: a control group (healthy subjects), a group of subjects with MCI and a group of patients with a clinical diagnosis of AD according to the criteria of the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke – the Alzheimer's disease and Related

Disorders Association (NINCDS-ADRDA) from 2011. The results showed that the concentrations of YKL-40 and p-tau$_{181}$ positively correlated with each other. The concentrations of YKL-40 correlated with the age of subjects of all groups. The sensitivity of YKL-40 was 71.4%, and specificity was 66.7% while the sensitivity of p-tau$_{181}$ was 44.6%, and specificity was 88.9%. According to these data YKL-40 and p-tau$_{181}$ did not meet the criteria for the ideal biomarker, which determines that the sensitivity and specificity needs to be above 85%.

Keywords: Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, YKL-40, P-tau$_{181}$, total tau, Aβ, CSF biomarkers

3. UVOD

3.1. ALZHEIMEROVA BOLEST

3.1.1. OPĆENITO O BOLESTI

Prema međunarodnoj klasifikaciji MKB-10 (1) demencija je stanje u kojem se pacijentu smanjuje mogućnost razmišljanja, sjećanja, donošenja odluka te rješavanja problema.

Prema Alzheimer's Association (2) Alzheimerova bolest (AB) je najčešći uzrok demencije (približno 60 do 80% demencija u starijoj populaciji je zbog AB). Ostali važni, iako manje učestali, uzroci demencije mogu biti vaskularna demencija (VaD), frontotemporalna demencija (FTD), demencija zbog Lewyjevih tjelešaca (DLB), demencija u Parkinsonovoj bolesti, te različiti sekundarni uzroci poput deficijencije vitamina B_{12} te hipotiroidizma.

Blennow i sur. (3) navode kako od AB boluje oko 6% populacije iznad 65 godina, s tim da se incidencija povećava sa starenjem do otprilike 85 godina starosti. U razvijenim zemljama zapadnog svijeta prevalencija AB je između 24% i 33% u starijih od 85. godina, ali praktično nema novooboljelih (tj. nakon 85 godina starosti incidencija se asimptotski približava nuli). Prema World Alzheimer Report (4) procjenjuje se da je 2012. godine bilo 46.8 milijuna ljudi koji boluju od demencije u svijetu, te se predviđa da će se broj oboljelih skoro udvostručavati svakih 20 godina, te doseći 74,7 milijuna do 2030. te 131,5 milijuna do 2050. godine. AB je izrazito skupa bolest za liječiti, prema analizi je ekonomski trošak za 2015. godinu bio 818 milijardi američkih dolara. Bolest također traži ogromno zalaganje zajednice, u obliku domova za starije, medicinskih sestara posvećenih bolesti i dnevnih boravaka za oboljele. Njegovatelji oboljelih od AB su najčešće supružnici ili uža obitelj, što od njih podrazumijeva velika odricanja, jer kako bolest napreduje oni moraju paziti i njegovati oboljeloga 24 sata u danu.

Prema Alzheimer's Association (2) glavni simptomi AB su gubitak pamćenja koji remeti svakodnevni život, poteškoće u planiranju i rješavanju problema, problemi s orijentacijom u vremenu i prostoru, poteškoće u razumijevanju prostornih odnosa, novi problemi s govorom ili pisanjem, nemogućnost rekonstrukcije prošlih događaja, zagubljivanje stvari, smanjena ili loša prosudba situacija i promjene u raspoloženju i osobnosti, uključujući apatiju i depresiju.

Blennow i sur. (3) navode kako je glavni čimbenik koji povećava mogućnost obolijevanja od AB starost, a osim starije dobi čimbenici rizika su pozitivna obiteljska anamneza, niži

formalni stupanj obrazovanja, smanjena veličina mozga, snižena mentalna i fizička aktivnost kasnije u životu kao i čimbenici povezani s bolestima krvožilnog sustava poput hiperkolesterolemije, hipertenzije, ateroskleroze, koronarne bolesti srca, pušenja, pretilosti i šećerne bolesti.

3.1.2. GENSKI UZROCI BOLESTI

AB može nastati sporadično (tj. kada se ne može ustanoviti genski uzrok bolesti) ili se može javiti zbog mutacija u genomu (obiteljski oblik AB). Tako se AB dijeli na oblik bolesti s ranim početkom (od 30. godine do 65. godine) te oblik bolesti s kasnim početkom (iznad 65. godina), prema National Institute on Aging (5). Svega 1-6% pacijenata oboli prije 65. godine, te je u toj skupini najveći broj bolesnika koji su oboljeli zbog genskih mutacija. Postoje tri gena koji uzrokuju genski autosomno dominantni oblik AB i to u prekursorskom proteinu amiloida (*APP*), presenilinu-1 (*PSEN1*) i presenilinu-2 (*PSEN2*). U cjelokupnoj incidenciji mutacije tih gena odgovorne su za manje od 1% sveukupno oboljelih osoba od AB. Svaka od tih mutacija igra neku ulogu u cijepanju (razgradnji) prekursorskog proteina amiloida, čija se funkcija još uvijek potpuno ne razumije, prema National Institute on Aging (6).

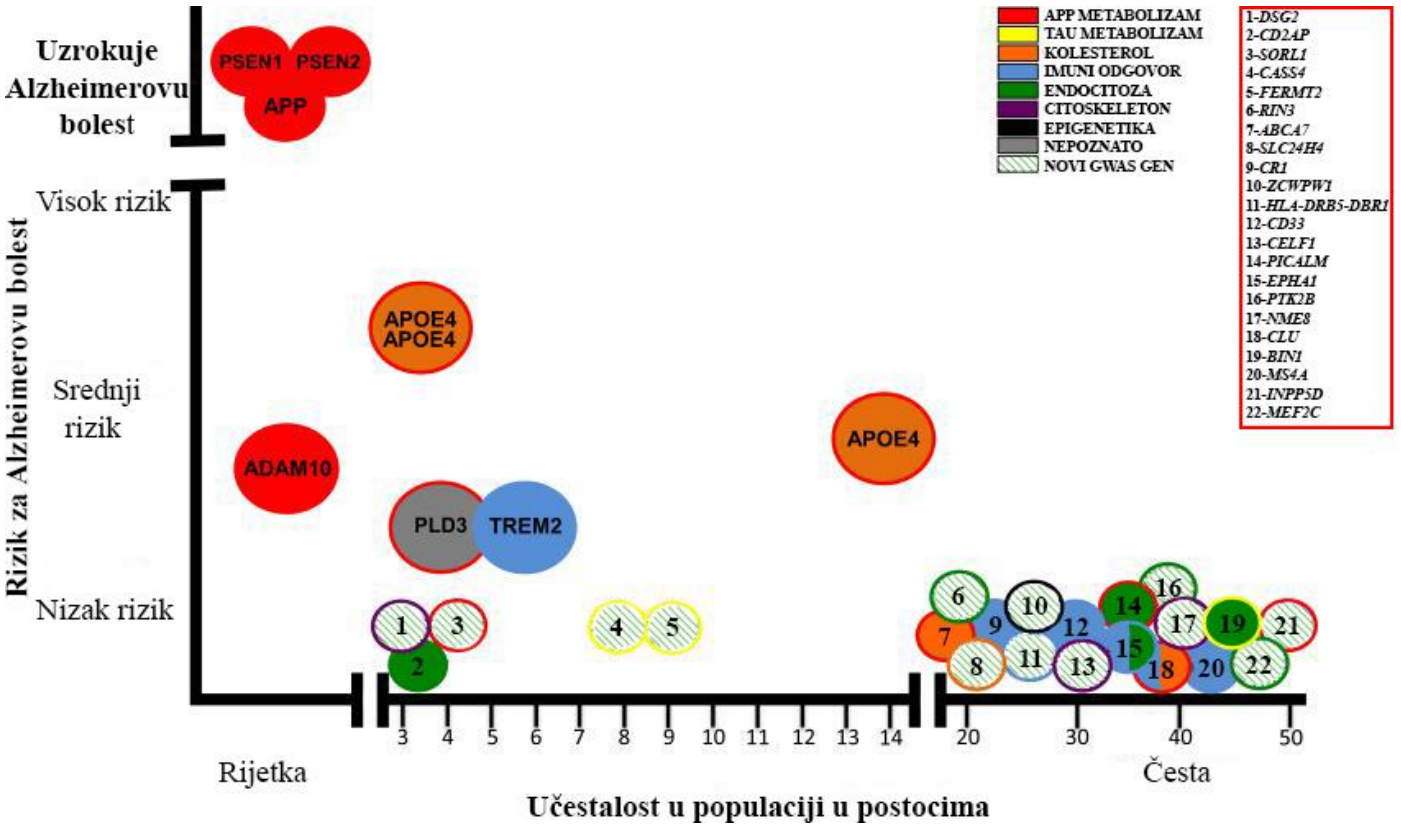
Mutacija u *APP* je odgovorna za 10-15% bolesnika s obiteljskim oblikom AB te je također zaslužna za nastanak AB kod osoba s Downovim sindromom (zbog lokacije tog gena na 21-om kromosomu) koji najčešće obole od AB u kasnim 20-tim ili ranim 30-tim godinama života. Mutirani gen proizvodi abnormalni APP koji putem još uvijek nedovoljno razjašnjenih patofizioloških mehanizama dovodi do pojave bolesti. Također, funkcija tog proteina još nije poznata, no prema Bekrisu i sur. (7) postoje naznake da sudjeluje u neuralnoj plastičnosti i kao regulator oblikovanja sinapsi.

Prema Bekris i sur. (7) mutacije *PSEN1* gena uzrokuju najveći udio obiteljskog oblika AB, s incidencijom od 18-50%. Bolesnici s mutacijom u tom genu također imaju najteži oblik AB, s potpunom penetracijom i kliničkim početkom bolesti koji je moguć čak i u 30-tim godinama života. Uz demenciju, bolesnici također imaju simptome parkinsonizma i epileptične napadaje. Gen se nalazi na 14-om kromosomu i protein kojeg proizvodi je membranski protein koji čini katalitičku jezgru kompleksa γ-sekretaze. Kompleks γ-sekretaze je odgovoran za cijepanje amiloida β (Aβ).

Prema Bekris i sur. (7) mutacije *PSEN2* gena rijetko uzrokuju AB s ranim početkom, te se bolest pojavljuje kasnije (u prosjeku s 45 do 88 godina starosti za razliku od mutacija *PSEN1* gena gdje se bolest pojavljuje s 25 do 65 godina starosti). Također, gen nema potpunu penetraciju, i ako bolesnik ima neku od mutacija tog gena, izgledi za obolijevanje od AB su oko 95%, prema Alzheimer's Association (2). Gen se nalazi na 1-om kromosomu (*PSEN1*) *i* protein kojeg proizvodi je također dio kompleksa γ-sekretaze.

Glavni potvrđeni gen koji je čimbenik rizika za razvoj sporadične AB je apolipoprotein E (*APOE*). Postoje 3 alela *APOE*: ε2, ε3 i ε4. Meta-analiza je pokazala da heterozigoti ε4 imaju 3 puta veći rizik za razvoj bolesti a homozigoti 15 puta, prema Farreru i sur. (8). Najveći broj ljudi ima ε3 oblik (oko 60%), ε4 ima 20-30% ljudi a ε2 10-20% ljudi. Gen se nalazi na 19-om kromosomu. Prema Mahley (9), pošto krvno-moždana barijera sprječava protok lipida iz krvi u moždano tkivo, apoE je iznimno važan u procesu raspodjele kolesterola i lipida neuronima i ostalim stanicama u moždanom tkivu jer sudjeluje u procesu stvaranju *de novo* apoE-obogaćenih lipoproteina. Ti lipoproteini su lipoproteini visoke gustoće (HDL, *high-density lipoprotein*), no drukčije su građe od HDL u plazmi. Pretpostavlja se da apoE na dva načina utječe na neurodegeneraciju: direktno preko *APOE* ε4 ekspresije u neuronima što vodi prema stvaranju štetnih fragmenata i indirektno zbog smanjenih razina apoE i smanjenog prijenosa lipida u moždanom tkivu. Xu i sur. (10) su pronašli da neuroni u miševima proizvode apoE u višim koncentracijama kao odgovor na ozljedu. Prema Bekrisu i sur. (7) osobe s ε4 alelom imaju povišeni ukupni i LDL kolesterol u plazmi.

Prema Kauwe JSK i sur. (11) osim *APOE* gena, istražuju se i polimorfizmi drugih gena koji povećavaju ili smanjuju rizik za nastanak AB. Neki od gena kandidata za to su angiotenzin-konvertirajući enzim (*ACE*), monocitni kemotaktični protein 1, makrofagni upalni protein 1β, interleukin-6 receptor i matriks metaloproteinaza-3. Tako ljudi koji imaju povišene razine ACE i matriks metaloproteinaze-3 imaju smanjeni rizik za nastanak AB, dok se za ostale nije našla statistički značajna povezanost između polimorfizma i rizika za nastanak AB. Osim njih, Karch i Goate (12) su našli brojne druge gene povezane s povećanim rizikom za nastanak AB poput *ABCA7, ADAM10, BIN1, CASS4, CD33, CD2AP, CELF1, CLU, CR1, DSG2, EPHA1, FERMT2, HLA-DRB5-DBR1, INPP5D, MS4A, MEF2C, NME8, PICALM, PLD3, PTK2B, SLC24H4, RIN3, SORL1, TREM2* i *ZCWPW1*. Odnosi tih gena su prikazani na **Slici 1**.



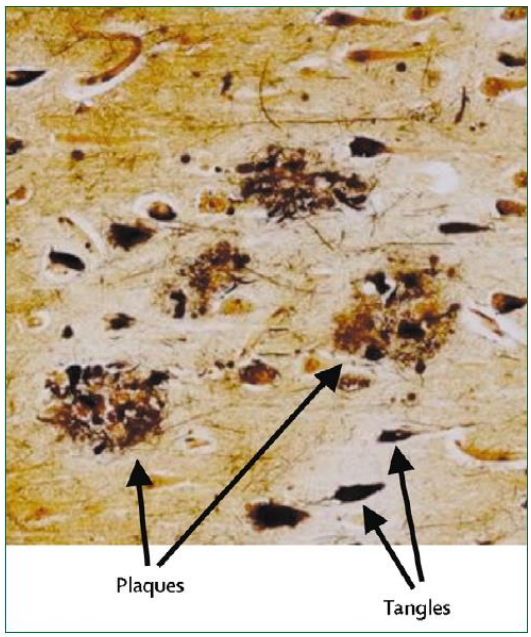
Slika 1. *Rijetke i učestale varijante koje doprinose riziku razvoja Alzheimerove bolesti. Slika preuzeta iz Karch i Goate (12)* .

3.1.3. PATOGENEZA

Karakteristične neuropatološke promjene u AB su neuritički (NP) i senilni plakovi (SP) te neurofibrilarni snopići (NFT) (**Slika 2**). Nakupljanje NP, SP i NFT u mozgu oboljelih započinje 20 – 30 godina prije ispoljavanja simptoma te se gomilaju kako bolest napreduje. Prema McEvoyu i sur. (13) kako se nakupljaju lezije i šire neurofibrilarne promjene tako određeni dijelovi mozga atrofiraju. Područja koja su najviše zahvaćena atrofijom su medijalni i lateralni dio sljepoočnog režnja, istmus cingularnog girusa i orbitočeona područja.

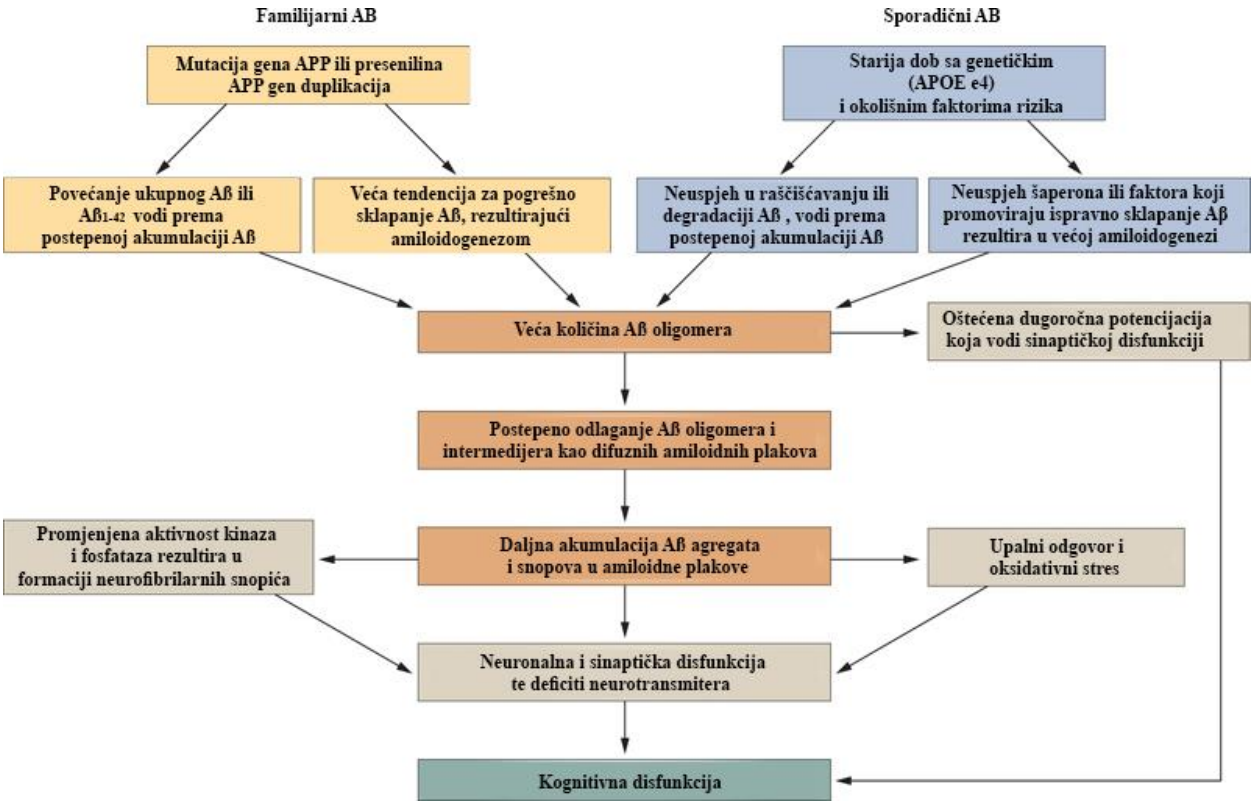
Prema Perl (14) SP su kompleksne strukture definirane prisutnošću akumulacije Aβ bez pridruženih distrofičnih neurita. Osim u AB ti plakovi se mogu naći u moždanom tkivu starijih ljudi kod kojih ne postoji nikakav deficit u spoznajnim područjima, no, prema Woodhouse i sur. (15) već u blagom sindromu demencije zbog AB se može naći puno više SP nego u ljudi bez AB. Prema Dickson i Vickers (16) neuritički plakovi su nakupine distrofičnih neurita i dendrita

uraslih oko Aβ plakova. Prema Tiraboschi i sur. (17) odlaganje NP se javljaju rano u bolesti, prije pojave NFT, no ne postoji pozitivna korelacija broja NP i težine AB te se NP ne mogu koristiti kao pouzdani indikator progresije bolesti. Woodhouse i sur. (15) predlažu da stvaranje amiloidnih plakova uzrokuje fizičku deformaciju i ozljedu aksona što rezultira u citoskeletnim promjenama koje vode prema stvaranju distrofičnih neurita.



***Slika 2**. Neuritički plakovi i neurofibrilarni snopići u AB. Slika preuzeta iz Blennow i sur. (3).*

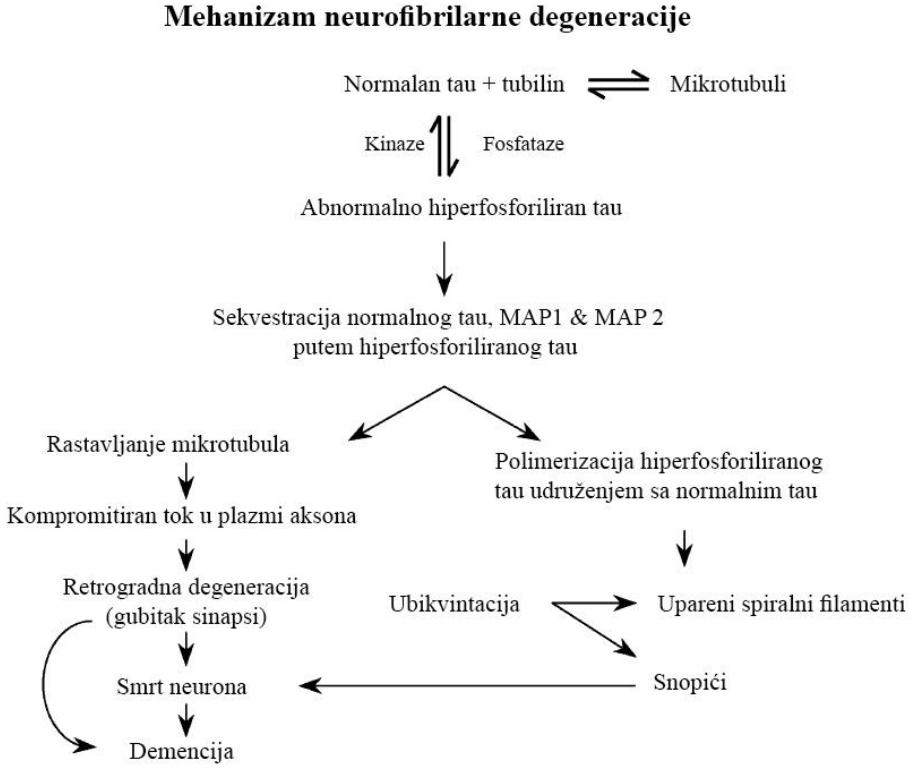
Hipoteza amiloidne kaskade kaže da Aβ nastaje cijepanjem APP-a. Prema Pulawski i sur. (18) APP se može cijepati s tri enzima: α, β i γ-sekretazom. Aβ nastaje cijepanjem β i γ-sekretazom. Prema Sgourakis i sur. (19) varijabilnost u točnom mjestu gdje se APP cijepa vodi nastanku različitih izoformi Aβ proteina, duljine od 39 do 42 ostataka. Smatra se da je $A\beta_{42}$ toksičniji od $A\beta_{40}$, jer lakše fibrilizira i stvara plakove od $A\beta_{40}$, koji je obično obilnije nakupljen i u moždanom tkivu i likvoru bolesnika s AB. Prema Kang i sur. (20) najraniji patološki događaji u AB reflektiraju se sniženjem $A\beta_{42}$ u likvoru. Zbog nemogućnosti razgradnje i tendencije agregiranja Aβ oligomera, stvaraju se SP. Kaskada događaja koji vode tome je prikazana na **Slici 3**.



Slika 3*. Shematski prikaz razvoja Alzheimerove bolesti prema hipotezi amiloidne kaskade. Slika preuzeta iz Blennow i sur. (3).*

Prema Weingarten i sur. (21) tau protein promiče sklapanje mikrotubula te ih stabilizira. Prema Neve i sur. (22) tau proteini su kodirani jednim genom na 17-om kromosomu. Prema Caceres i Kosik (23) tau protein je prisutan većinom u aksonima neurona, te kada je blokiran tau besmislenim (*antisense*) oligonukleotidima stvaranje aksona je blokirano. Prema Ebneth i sur. (24) prekomjerna proizvodnja tau proteina inhibira razmjenu ovisnu o kinazama između vezikula, mitohondrija i endoplazmatske mrežice. Prema Vickers i sur. (25) fosforilacija tau proteina abnormalno djelujućom kinazom je uzrok promjena tih proteina te udruživanju tih proteina u NFT. Hiperfosforilacija tau proteina je jedan od puteva za nastanak neurodegeneracije putem poremećaja mikrotubula i posljedičnog smanjenja neurotransmisije i razmjene tvari u aksonima. Prema Alonso i sur. (26) neuroni s neurofibrilarnim promjenema zbog hiperfosforiliranog tau su pod staničnim stresom te mogu odgovoriti na podražaj putem apoptoze, ponovnog ulaska u stanični ciklus (propali pokušaj postmitotičkih stanica da se podjele), ili ubikvintacije (u svrhu rješavanja hiperfosforiliranog tau). Aktivnost proteasoma nije

dovoljna da uspješno izvrši te puteve, te se čini da je jedini uspješni put spora, progresivna, retrogradna degeneracija (**Slika 4**).



***Slika 4**. Shematski prikaz razvoja patoloških promjena tau proteina u Alzheimerovoj bolesti. Slika preuzeta iz Iqbal K i sur. (27).*

Prema Kidd (28) dominantne komponente NFT su uparene spiralne niti i ravne niti. Prema Wischik i sur. (29) uparene spiralne niti i ravne niti se sastoje većinski od abnormalno hiperfosforiliranih tau proteina. Roberson i sur. (30) predlažu da se redukcijom proizvodnje endogenog tau proteina smanjuje štetno djelovanje Aβ u mišjem modelu, što potvrđuje klinička zapažanja da težina kliničke slike AB pozitivno korelira s povećavajućim brojem NFT u moždanoj kori, prema Bierer i sur. (31). Prema Bierer i sur. (31), kako bolesnici stare, njihova sposobnost u popravljanju konformacijskih promjena proteina, kao i čišćenju i otklanjanju oligomeriziranih i agregiranih tau proteina slabi.

Prema Iqbal i sur. (27) akumulacija abnormalno hiperfosforiliranog tau proteina, osim u AB, postoji i u drugim bolestima poput Downovog sindroma, FTD, kortiko-bazalne degeneracije, progresivne supranuklearne paralize, Gerstmann-Sträussler-Scheinkerove bolesti i mnogih drugih.

Prema Morrison i Hof (32), iako je u AB primarno zahvaćena moždana kora, to ne znači nespecifični gubitak svih neurona u zahvaćenom području. Neuroni najviše izloženi smrti su neuroni II sloja entorinalnog korteksa, te u kasnoj, razvijenoj AB nedostaje čak do 90% neurona u tom sloju, gdje je većina njih degenerirala u NFT. Iz toga se može zaključiti da je kod tih bolesnika perforantni put najvjerojatnije izrazito oštećen.

Prema Buckner i sur. (33) mreža stalne aktivnosti (*default mode network,* DMN) je mreža funkcionalno, a djelomično i anatomski, međusobno povezanih dijelova velikog mozga što ne reagira na vanjske podražaje već je konstantno aktivna. Termin dolazi od Gusnard i sur. (34) i Gusnard i Raichle (35) koji su primijetili da se medijalna prečeona moždana kora dosljedno identificira kao dio osnovnog stanja opuštenosti te je povezana s obradom samorefleksije. To stanje su nazvali „*default mode*“. Prema Greicius i sur. (36) ključni epicentri DMN su stražnja cingularna moždana kora, prednja ventralna cingularna moždana kora, medijalna prečeona moždana kora, orbitočeona moždana kora, lijeva stražnja lateralna prečeona moždana kora, donja tjemena moždana kora, donja lateralna sljepoočna moždana kora i lijeva parahipokampalna vijuga. Prema Buckner i sur. (33) DMN generira spontane misli (koje nisu povezane s osjetnim podražajima) te reflektira trenutne propuste u pažnji i fiziološke procese niske razine koji perzistiraju nepovezane sa svjesnom mentalnom aktivnošću. Predlažu da DMN može imati jednu od dvije funkcije: da direktno podupire razmišljanje neovisno od vanjskog svijeta ili da funkcionira kao podrška eksplorativnom nadzoru vanjskog okruženja kada je usmjerena pažnja opuštena. Aktivnost DMN se može pratiti putem fMRI. Tijekom AB se u epicentrima aktivnosti mreže mogu naći visoke razine Aβ depozita. Prema Greicius i sur. (37) u AB vidimo smanjenje aktivnosti DMN. Također predlažu da DMN igra važnu ulogu u procesuiranju epizodičkog pamćenja. Prema Buckner i sur. (38) pošto su mreže za pamćenje dijelom aktivne u DMN, to daje objašnjenje zašto je pamćenje pogođeno rano u AB. Odlaganje Aβ u moždanom tkivu korelira s redukcijom u metabolizmu stražnjih regija DMN. Visoke razine depozita Aβ u epicentrima DMN mreže možda su posljedica mogućeg „curenja“ Aβ iz vlakana

noradrenergičkih, kolinergičkih i napose serotoninergičkih neurona iz moždanog debla (volumna transmisija). Također, zbog stalne aktivnosti DMN mreže, sami neuroni mreže stvaraju (i otpuštaju u međustanični prostor) više Aβ nego drugdje u mozgu.

Prema Bonneh-Barkay i sur. (39) upala igra važnu ulogu u patofiziologiji AB. To je dokazano histopatološkim pregledima mozgova bolesnika s AB, gdje su se našle visoke razine proupalnih citokina, c-reaktivnog proteina i proteina komplementa u SP i NFT. YKL-40 je protein koji je povišen u upali. Funkcija JKL-40 još uvijek nije poznata, no zna se da je aktivnost *CHI3L1* (gen zaslužan za proizvodnju YKL-40) povišena u astrocitima u AB, amiotrofičnoj lateralnoj sklerozi, multiploj sklerozi i Pickovoj bolesti te se pretpostavlja da je povećana izraženost *CHI3L1* gena uslijed reaktivne glioze u mozgu kao odgovor na upalu.

3.1.4. DIJAGNOZA BOLESTI

Dijagnostika AB još uvijek se temelji na kliničkoj dijagnozi, a prema različitim međunarodno priznatim kriterijima. To su kriteriji Nacionalnog instituta za neurološke i komunikacijske poremećaje te moždani udar – Udruga za Alzheimerovu bolest i srodne poremećaje (NINCDS-ADRDA), kriteriji Nacionalnog instituta o starijima – Alzheimerove udruge (NIA-AA), međunarodna klasifikacija bolesti ICD – 10 i kriteriji Američkog dijagnostičkog i statističkog priručnika za mentalne poremećaje (DSM – 5).

Prema McKhann i sur (40) NINCDS-ADRDA su prvo uspostavljeni kriteriji iz 1984. godine, a razlikuju dijagnozu definitivne, vjerojatne i moguće AB. Definitivna AB se može dijagnosticirati isključivo postmortalnom histopatološkom analizom uzoraka moždanog tkiva dobivenih obdukcijom bolesnika s kliničkom dijagnozom vjerojatne (ili moguće) AB. Kriteriji vjerojatne AB su: demencija ustanovljena Mini-mental state examination (MMSE) ljestvicom ili njezinim ekvivalentom te potvrđena nekim drugim neuropsihološkim testom, deficit u dva ili više spoznajnih područja, progresivno pogoršanje pamćenja, bez pogoršanja svijesti, nastup bolesti u dobi između 40 i 90 godina i odsutnost sistemskih bolesti ili drugih bolesti mozga koje bi opravdale simptome. Kao dodatni kriteriji su navedeni: progresivno slabljenje specifičnih spoznajnih sposobnosti poput jezika (afazija), motornih vještina (apraksija) i percepcije (agnozija), smanjena mogućnost obavljanja svakodnevnih aktivnosti, promijenjeni obrazac ponašanja, obiteljska povijest sličnih poremećaja, normalan standardni nalaz lumbalne punkcije

(odsutnost infektivnih uzroka encefalopatije), normalan EEG nalaz te dokaz atrofije mozga dobiven uzastopnim CT snimanjem. Prema Knopman i sur. (41) dijagnostička točnost tih kriterija za vjerojatnu AB je bila dosta niska, s osjetljivošću oko 81% (raspon 49-100%) i specifičnošću oko 70% (raspon 47-100%), a za moguću je bila nešto bolja, s osjetljivošću oko 93% (raspon 85-96%) no niskom specifičnošću od 48% (raspon 32-61%).

Zbog napretka razumijevanja bolesti i boljih dijagnostičkih alata, ista skupina (McKhann i sur. (42)) je 2011. godine izdala revidirane smjernice temeljene na 27 godina iskustva. Smjernice su proširene tako da deficit mora biti u 2 od navedenih 5 područja (spoznajnih domena): smanjena mogućnost upamćivanja novih informacija, smanjeno rasuđivanje, smanjene vidno-prostorne sposobnosti, smanjene jezične funkcije i promjene u osobnosti i ponašanju. Također se treba dokumentirati propadanje spoznajnih sposobnosti kroz nekoliko mjeseci ili godina (time se smanjuju izgledi da se radi o akutnim promjenama) te su uključene mutacije *APP*, *PSEN1* i *PSEN2* gena kao mogućih uzroka AB. S razvojem osjetljivosti molekularno-biokemijskih metoda (tj. povećanja donjeg praga mjerenja pojedinih biljega) prepoznata je i velika važnost likvorskih i radioloških biomarkera. Tako npr. sniženi $A\beta_{42}$, pozitivan PET na Aβ, povišeni t-tau i p-tau te smanjeni energijski metabolizam u području sljepoočne i tjemene moždane kore prikazan pomoću ^{18}fluorodeoksiglukoze PET snimanjem, značajno povećavaju pouzdanost dijagnoze AB. Prema Gaugler i sur. (43), prema revidiranim NINCDS-ADRDA kriterijima, dijagnostička točnost se poboljšala, s rasponom osjetljivosti od 76-93% i rasponom specifičnosti od 58-74%.

Prema Hyman i sur. (44) kriteriji NIA-AA se odnose na neuropatološku dijagnozu bolesti nakon smrti bolesnika. Kriteriji se fokusiraju na kontinuum neuropatoloških promjena u pozadini AB umjesto kliničkih kriterija i reflektiraju trenutno razumijevanje molekularnih mehanizama bolesti. Kriteriji NIA-AA mjere nakupljanje Aβ plakova (A), količinu NFT (B) i količinu neuritičkih plakova (C), u kojima se svaka stavka rangira od 0 do 3. Tako se dobije rezultat ABC (npr. A2, B3, C3) koji se koristi za klasificiranje težine bolesti u trenutku smrti.

Međunarodni kriteriji ICD-10 (1) za dijagnozu AB prvo postavljaju pravilo da se pacijentu mora dijagnosticirati demencija. Dijagnostički kriteriji za dijagnozu demencije su: dokaz u pogoršanju sposobnosti pamćenja i razmišljanja u dovoljnom obujmu da oteža aktivnosti svakodnevnog života, smanjeno rasuđivanje, slabiji tok ideja, otežano održavanje pažnje i

otežano preusmjeravanje pažnje. Uz te kriterije, za dijagnozu AB je potrebno ispuniti i sljedeće dodatne kriterije: da nastupanje simptoma kreće postepeno, kroz duže vremensko razdoblje, izostanak drugih sistemskih bolesti ili bolesti mozga i nepostojanje iznenadnih simptoma žarišnih deficita poput hemipareze, gubitka funkcije osjetila, deficita u vidnom polju ili slabije koordinacije.

Prema American Psychiatric Association (45) dijagnostički priručnik DSM – 5 uvodi novi termin za demenciju pod nazivom veliki neurokognitivni poremećaj (*Major neurocognitive disorder*). Kriteriji za tu dijagnozu su: dokazi o značajnom propadanju spoznajnih sposobnosti naspram prijašnjeg stanja (putem medicinske dokumentacije ili standardiziranog neuropsihološkog testiranja), deficiti spoznajnih područja koji remete nezavisnost u svakodnevnim aktivnostima te da nisu nastali kao posljedica delirija ili drugih mentalnih poremećaja. Za AB također moraju postojati dokazi o genskim mutacijama specifičnim za obiteljski oblik AB ili jasni dokazi o propadanju sposobnosti pamćenja i učenja te barem još jednog drugog spoznajnog područja, sporo progresivni pad u kogniciji bez dužih platoa s očuvanim funkcioniranjem u svakodnevnom životu i nedostatak dokaza o miješanoj etiologiji bolesti (sva 3 kriterija moraju biti prisutna istovremeno).

U ranije navedenim kriterijima se spominje korištenje MMSE. Prema Folstein i sur (46) to je test od 30 pitanja, nastao 1975. godine za brzi probir pacijenata koji bi mogli imati demenciju. Testom se procjenjuju kognitivne sposobnosti pacijenta u domenama pažnje, orijentacije, pamćenja, registriranja podataka, prisjećanja, računanja, jezika i mogućnosti precrtavanja složenog geometrijskog oblika. Od tog vremena je više puta unaprjeđivan te u svom jednostavnom obliku stoji na raspolaganju kliničarima. Prednosti testa su da ne zahtijeva trening ili opremu za korištenje te u kratkom vremenskom roku može dati pregledno stanje kognicije pacijenta. Test određuje graničnu vrijednost od 23/24 za razlikovanje između pacijenata s demencijom i pacijenata bez demencije. Kako su ti kriteriji bili zadani prije 40 godina, mnoge grupe su ispitivale optimalne granične vrijednosti za svoje populacije. Tako bi u hrvatskoj populaciji prema Boban i sur. (47) bolja granična vrijednost bila 26/27, s osjetljivošću od 93.9% i specifičnošću od 95.1%. Iako je test unaprijeđen, njegova korisnost kao samostalnog jednokratnog testa u današnjem kontekstu je upitna. Prema Arevalo-Rodriguez i sur. (48) njegova osjetljivost i specifičnost se jako smanjuje ako se uzme u razmatranje i dijagnoza MCI.

Osjetljivost testa u predviđanju razvoja demencije iz MCI je 23-76%, specifičnost 40-94%, a u predviđanju razvoja AB iz MCI je 27-89% za osjetljivost i 32-90% za specifičnost. Također, zbog jednostavnosti testa, teško se mogu detektirati suptilne promjene u kogniciji, a napose je izražena činjenica nemogućnost otkrivanja nekognitivnih promjena koje se javljaju u ranim stadijima bolesti.

Sličan test za brzi probir pacijenata koji bi mogli imati demenciju je Montreal Cognitive Assessment (MoCA) test. Prema Nasreddine i sur. (49) cilj ovog testa je pomaganje kliničarima u detekciji MCI. Test u tome uspijeva s puno boljom osjetljivošću od MMSE (90% naspram 18%), no ima nešto nižu specifičnost (87% naspram 100%). Način kojim je postignuta tako visoka osjetljivost je naglasak na testiranje sposobnosti zapamćivanja, kao i duži vremenski rok kod testa prisjećanja riječi u odnosu na MMSE. Također se detaljnije ispituju izvršne funkcije, više jezične funkcije i složena vidna obrada.

Još jedan test koji detaljnije pristupa detekciji demencije je Clinical dementia rating (CDR). Prema Morrisu (50) test ispituje 6 domena, a to su pamćenje, orijentacija, rješavanje problema i rasuđivanje, funkcioniranje u zajednici, samostalnost u kućanskim poslovima i hobijima te briga o sebi (**Slika 5**). Rezultat na ljestvici može biti od 0 do 3 gdje 0 označava normalno stanje, 0,5 moguću demenciju, 1 blagu demenciju, 2 umjerenu demenciju te 3 tešku demenciju. Glavna stavka u ljestvici je pamćenje. Prema Cedarbaum i sur. (51) rezultati CDR-a dobro koreliraju s patološkim stadijima AB i pogodni su za praćenje progresije bolesti, osobito u ranom, te predementnom stadiju AB.

CLINICAL DEMENTIA RATING (CDR) Patient's Initials_____

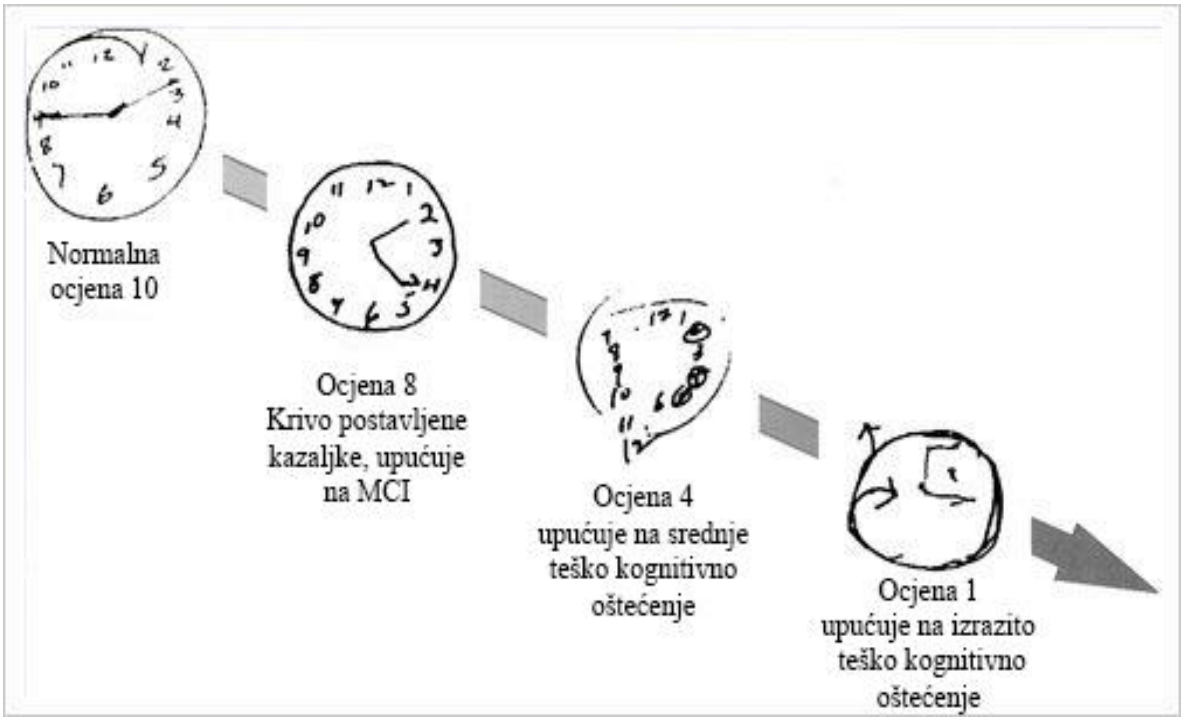
CLINICAL DEMENTIA RATING (CDR)	0	0.5	1	2	3

	Impairment				
	None 0	Questionable 0.5	Mild 1	Moderate 2	Severe 3
Memory	No memory loss or slight inconsistent forgetfulness	Consistent slight forgetfulness; partial recollection of events; "benign" forgetfulness	Moderate memory loss; more marked for recent events; defect interferes with everyday activities	Severe memory loss; only highly learned material retained; new material rapidly lost	Severe memory loss; only fragments remain
Orientation	Fully oriented	Fully oriented except for slight difficulty with time relationships	Moderate difficulty with time relationships; oriented to place of examination; may have geographic disorientation elsewhere	Severe difficulty with time relationships; usually disoriented to time, often to place	Oriented to person only
Judgement & Problem Solving	Solves everyday problems and handles business and financial affairs well; judgement good in relation to past performances	Slight impairment in solving problems, similarities and differences	Moderate difficulty in handling problems, similarities and differences; social judgement usually maintained	Severely impaired in handling problems, similarities and differences; social judgement usually impaired	Unable to make judgements or solve problems
Community Affairs	Independent function at usual level in job, shopping, volunteer and social groups	Slight impairment in these activities	Unable to function independently at these activities although may still be engaged in some; appears normal to casual inspection	No pretence of independent function outside home Appears well enough to be taken to functions outside the family home independent function	Appears too ill to be taken to functions outside the family home
Home & Hobbies	Life at home, hobbies and intellectual interests well maintained	Life at home, hobbies and intellectual interest slightly impaired	Mild but definite impairment of function at home more difficult tasks abandoned; more complicated hobbies and interests abandoned	Only simple tasks preserved; very restricted interests, poorly maintained	No significant function in home
Personal Care	Full capable of self-care		Needs prompting	Requires assistance in dressing, hygiene, keeping of personal effects	Requires much help with personal care; frequent incontinence

Score only as decline from previous usual level due to cognitive loss, not impairment due to other factors.

***Slika 5**. Izvadak iz clinical dementia rating, dio gdje se evaluira pacijent. Slika preuzeta iz http://www.dementia-assessment.com.au/global/cdr_scale.pdf.*

Jedan od brzih testova probira za kognitivno pogoršanje i demencije je test crtanja sata (**Slika 6**). Prema Agrell i Dehunu (52) test mjeri razinu oštećenja prostorne orijentacije i sindroma zanemarivanja. Pacijent mora nacrtati sat te staviti kazaljke na ispravnu poziciju. Kao samostalan test ne može pridonijeti dijagnostici AB ali može pomoći i da se posumnja na demenciju te krene s daljnjom dijagnostikom. Test dobro korelira s MMSE i ostalim testovima kognitivne disfunkcije.



***Slika 6**. Brzi test probira za detekciju demencije, skala ide od 10-1. Slika preuzeta iz intranet.tdmu.edu.te.ua*

Osim ovih kriterija i brzih testova probira, u dijagnostici AB se koriste radiološki biomarkeri i biomarkeri iz cerebrospinalne tekućine (CSF). Oni su opisani dalje u tekstu pod 3.3.

3.1.5. LIJEČENJE BOLESTI

AB je još uvijek neizlječiva bolest. Trenutna terapija koja postoji samo djelomično i prolazno usporava simptomatologiju, ali ne usporava patološke procese koji se događaju u stanicama. Odobrena terapija se dijeli na lijekove koji blokiraju enzim kolinesterazu (AChE) i antagoniste *N*-metil-D-aspartat (NMDA) receptora.

Prema Marum (53) znanstvenici još uvijek traže jasno definirane neurokemijske abnormalnosti u AB koje bi se mogle spriječiti/popraviti davanjem lijekova (možda slično kao kod terapije levodopom za Parkinsonovu bolest). Tako je analizom mozgova pacijenata koji su preminuli od AB nađeno da imaju manje razine kolina, smanjeno otpuštanje acetilkolina i izraziti deficit u količini kolina u presinaptičkim neuronima. Prema Mangialasche i sur. (54) tom logikom su razvijeni lijekovi koji bi inhibirali kolinesterazu. Za sada su odobreni takrin, donepezil, rivastigmin i galantamin. Od njih rivastigmin uz blokadu kolinesteraze blokira i butirilkolinesterazu. Donepezil se koristi u svim stadijima bolesti a rivastigmin i galantamin

preporučuju se samo za rane i umjerene stadije AB. Kako se teorija nastanka AB pomakla s neurokemijskih abnormalnosti na amiloidnu teoriju, tako se vjeruje da bi spojevi koji djeluju na metabolizam amiloida, npr. koji smanjuju proizvodnju, polimerizaciju i fibrilizaciju Aβ, te povećavaju izraženost nikotinskih receptora usporili ili zaustavili ishodišne patofiziološke procese u AB. Prema Alzheimer's Association (2) nuspojave tih lijekova su mučnina, povraćanje, gubitak apetita i povećana učestalost probavnih kretnji.

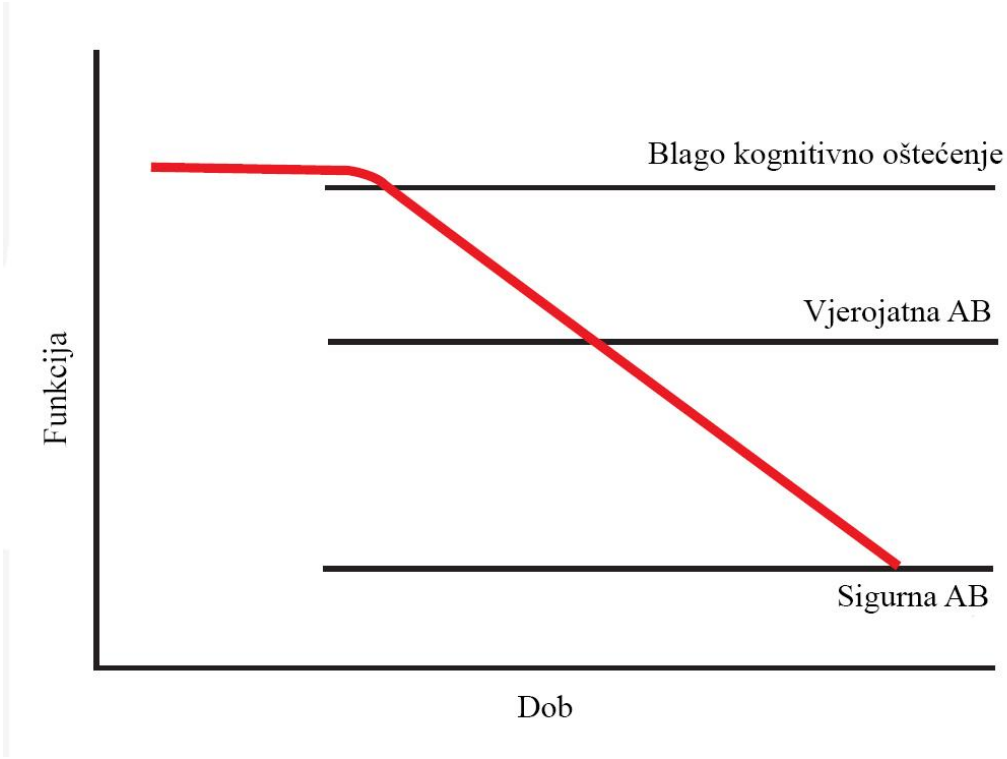
Prema Marum (53) jedini lijek koji je odobren kao antagonist NMDA receptora je memantin. Glutamat je glavni ekscitacijski neurotransmiter koji posreduje brzu ekscitacijsku neurotransmisiju. U AB je pokazano da postoje abnormalno visoke razine glutamata za koje se pretpostavlja da bi mogle biti odgovorne za disfunkciju neurona i kasnije za smrt stanice (ekscitotoksičnost). Memantin je nekompetitivni antagonist NMDA receptora, pa je njegovo djelovanje neuroprotektivno (smanjuje ekscitotoksičnost). Iako djeluje drukčijim mehanizmom od inhibitora AChE, klinička učinkovitost tog lijeka se pokazala manjom od navedenih blokatora kolinesteraza. Prema Mangialasche i sur. (54) osim opisanih učinaka, memantin također možda smanjuje toksičnost Aβ, sprječava hiperfosforilaciju tau proteina, smanjuje upalu povezanu s aktivnošću mikroglije te povećava otpuštanje neurotrofičnih čimbenika iz astroglije. Prema općeprihvaćenim međunarodnim, ali i hrvatskim smjernicama, njegova uporaba se preporučuje za umjerenu do tešku AB, moguće u kombinaciji s inhibitorima kolinesteraza. Zadnja odobrena terapija za AB je kombinacija donepezila i memantina, a registrirana je 2014. godine.

Prema Alzheimer's Association (2) osim lijekova odobrenih za direktno liječenje AB putem mogućeg utjecaja na tijek bolesti, mogu se koristiti i lijekovi za ublažavanje simptoma povezanih s progresijom bolesti: kod poremećaja sna triciklički antidepresivi i benzodiazepini, kod deluzija i halucinacija antipsihotici, protiv tjeskobe anksiolitici te kod iritabilnosti i sniženog raspoloženja antidepresivi. Osim odobrene terapije, postoji mnogo pripravaka koji se koriste za alternativnu terapiju AB, no zbog klasifikacije tih preparata kao dodataka prehrani, oni nisu dovoljno istraženi te se jako često njihova eventualna učinkovitost temelji na osobnom iskustvu i tradiciji, a ne na znanstvenoj metodi. Najčešći pripravci koji se koriste su kokosovo ulje, kaprilna kiselina, koenzim Q_{10}, koralni kalcij, ginkgo biloba, omega-3 masne kiseline, fosfatidilserin i homotaurin.

3.2. BLAGI SPOZNAJNI POREMEĆAJ

3.2.1. KLINIČKA SLIKA

Petersen i sur. (55) su 1999. godine klasificirali umjerene poteškoće u zapamćivanju i prisjećanju, koje nisu dovoljne za dijagnozu demencije, no također nisu ni normalne za dob pacijenta kao blagi spoznajni poremećaj (MCI). To je klinička oznaka za starije ljude s deficitima u kratkoročnom i/ili dugoročnom pamćenju bez značajnih problema u svakodnevnom socijalnom i radnom funkcioniranju. Od tog su vremena definicija MCI, kao i kriteriji za dijagnozu, bili mnogo puta unaprjeđivani (Petersen (56), Petersen i Negash (57), Petersen (58) i Petersen (59)). S vremenom, pacijenti s MCI u većini slučajeva progrediraju u AB (**Slika 7**).



***Slika 7**. Pretpostavljeno smanjenje funkcije kako pacijent razvija AB. Slika preuzeta iz Petersen (56).*

Prema Petersen i Negash (57) postoji četiri podtipova poremećaja: amnestički MCI (a-MCI), neamnestički MCI (na-MCI), amnestički MCI u više domena (a-MCImd, md – *multiple domains*) i neamnestički MCI u više domena (na-MCImd). Amnestički MCI je najčešći oblik tog poremećaja gdje je glavno oštećenje u kognitivnoj domeni pamćenja. Taj podtip u najvećem

postotku progredira u AD. Neamnestički MCI je najrjeđi oblik gdje je glavno oštećenje u nekoj drugoj kognitivnoj domeni poput jezika, izvršnih funkcija ili vidno-prostornih sposobnosti. MCI u više domena znači da postoje poremećaji u barem dvije kognitivne domene; ako je jedna od njih pamćenje onda se klasificira kao a-MCImd (inače samo MCImd).

3.2.2. DIJAGNOSTIČKI KRITERIJI

Prema Winblad i sur. (60) općeniti kriteriji za dijagnosticiranje MCI su subjektivni prigovor pacijenta ili osobe bliske pacijentu o slabljenju sposobnosti pamćenja i ostalih spoznajnih područja, dokazi o progresivnom padu u rezultatima na objektivnim testovima za ispitivanje spoznajnih područja (npr. MMSE ili MoCA), odsutnost sindroma demencije i očuvano funkcioniranje u svakodnevnim aktivnostima. Prema Petersen (59) postoje neke kontroverze što se tiče MCI. Neki istraživači vjeruju da svi pacijenti s MCI zapravo već imaju blagi oblik AB i da zbog toga MCI kao klinički entitet nije koristan; također, u malom postotku pacijenata s MCI njihovi simptomi ne progrediraju već nestanu nakon nekog vremena. Opravdanje dijagnoze dolazi iz stajališta da pomaže kliničarima u postavljanju sumnje na druge uzroke oštećenja pamćenja poput depresije, te da prate bolesnike ako će kasnije razviti sindrom demencije.

Prema Petersen (59) za dijagnosticiranje MCI važno je da svih 5 kriterija bude pozitivno. Subjektivno oštećenje pamćenja se uz pacijentovu procjenu može potvrditi heteroanamnezom osoba bliskih pacijentu. Za smanjene sposobnosti zapamćivanja i prisjećanja, za dijagnozu se kao objektivni testovi mogu koristiti razni ranije opisani testovi poput CDR, MMSE ili MoCA. Ti testovi također mogu poslužiti za isključenje oštećenja u drugim domenama spoznajnih sposobnosti pacijenta. Pacijentova sposobnost izvršavanja svakodnevnih aktivnosti se također može potvrditi neuropsihološkim testovima ili hereoanamnezom osobe koja živi s pacijentom (npr. pacijent više ne može kuhati ručak ili oprati suđe). Za nepostojanje sindroma demencije i drugih poremećaja koji bi objasnili gubitak sposobnosti pamćenja se koriste već ranije opisani kriteriji za dijagnozu sindroma demencije te psihijatrijski i neurološki klinički pregled.

Prema American Psychiatric Association (45) dijagnostički priručnik DSM–5 uvodi novi termin pod nazivom blagi neurokognitivni poremećaj (*mild neurocognitive disorder*). Taj poremećaj dijeli puno sličnosti s MCI. Kriteriji za dijagnosticiranje blagog neurokognitivnog

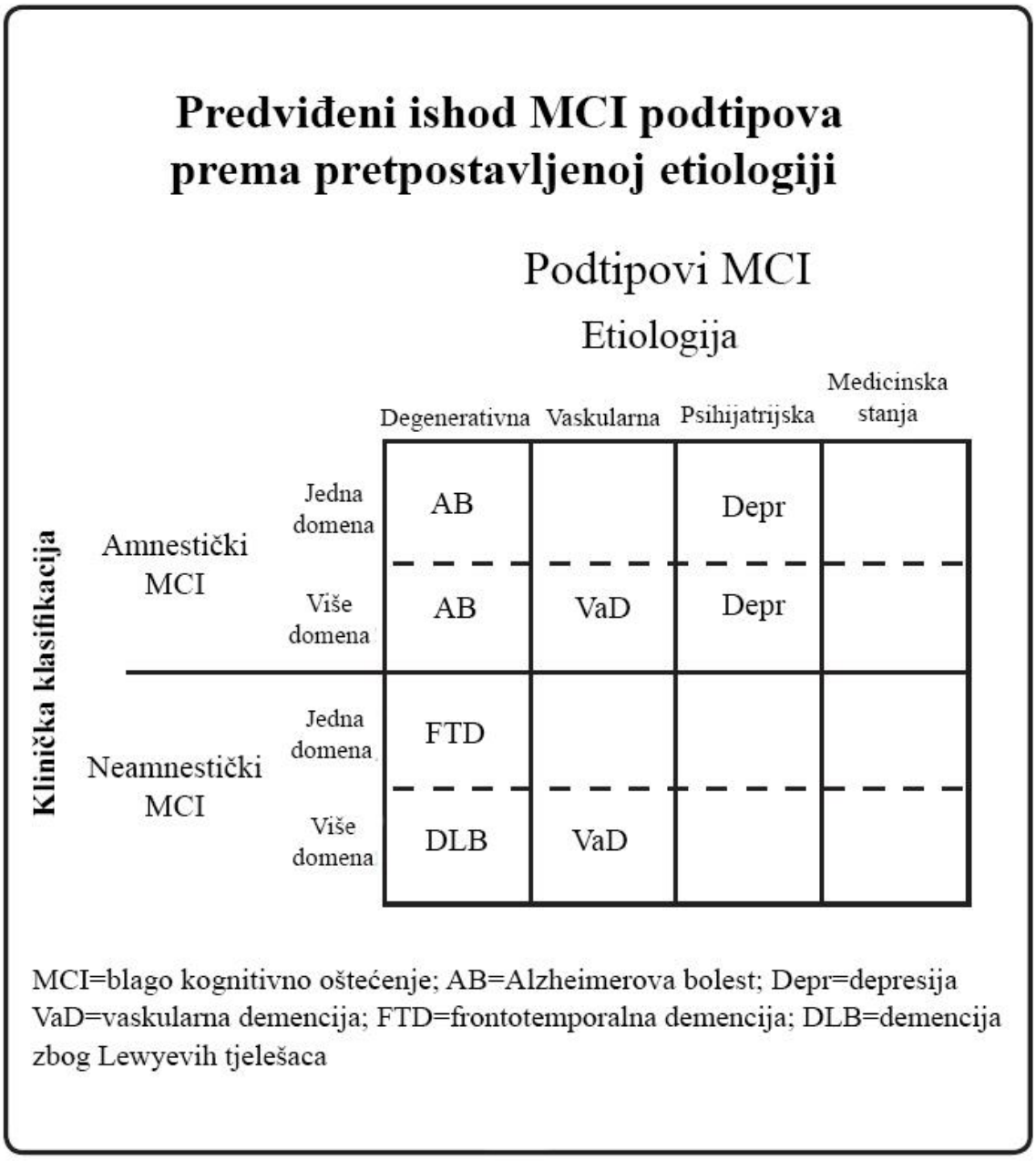
poremećaja su dokazi o blagom deficitu u spoznajnim područjima naspram prijašnjeg stanja (u domeni složene pažnje, izvršne funkcije, učenja i pamćenja, jezika, percepcije, motorike i socijalne inteligencije), a na temelju prigovora pacijenta, osobe bliske pacijentu ili doktora te padu u rezultatima na objektivnim testovima za ispitivanje spoznajnih područja. Također se napominje značaj očuvanog funkcioniranje u svakodnevnim aktivnostima te da deficiti u spoznajnim područjima nisu u kontekstu delirija ili drugog duševnog poremećaja (npr. velika depresivna epizoda ili shizofrenija).

Ward i sur. (61) su napravili meta-analizu literature za prevalenciju i incidenciju MCI iz studija rađenih na populacijama. Pronašli su izrazita odstupanja za incidenciju (21.5-71.3 na 1000 ljudi na godinu dana) i prevalenciju (3-42%). Incidencija MCI raste s povećanom dobi u skupinama ljudi od 65 do 85 godina. Kriteriji za dijagnosticiranje MCI ne određuju koji testovi bi se trebali koristiti za dijagnostiku. Neke istraživačke skupine navode da su promijenile kriterije za dijagnosticiranje MCI u svojim istraživanjima. Također, istraživanja nisu rađena za iste populacije (neki su analizirali starije od 65 godina, neki od 75 godina itd.) Te činjenice objašnjavaju izrazite varijabilnosti u incidenciji i prevalenciji MCI.

Prema Gordon i Martin (62) postoji nekoliko rizičnih čimbenika za razvoj MCI. Veći rizik za razvoj MCI imaju nosioci *APOE* ε4 alela (Risacher i sur. (63)), pacijenti sa šećernom bolešću (Xu i sur. (64)), sa slabijom plućnom funkcijom (Vidal i sur. (65)), s depresijom (Gao i sur. (66)) i pacijenti koji uzimaju antikolinergičke lijekove (Ancelin i sur. (67)). Manji rizik za razvoj MCI imaju ljudi koji se redovito bave tjelovježbom (Geda i sur. (68)) i ljudi koji imaju viši formalni stupanj obrazovanja (Dufauil i sur. (69)).

3.2.3. POGORŠANJE U DEMENCIJU

Najčešći ishod kroz vrijeme za MCI je razvitak izražene AB, te je najviše istraživanja usmjereno na tu mogućnost, no bolesnici s MCI mogu „razviti“ i druge primarne uzroke sindroma demencije (**Slika 8**). Prema Albert i sur. (70) MCI može nastati zbog traumatskih, krvožilnih i drugih etiologija (npr. Parkinsonova bolest i promjene u moždanom tkivu povezane s infekcijom HIV virusom).



Slika 8. *Kratki orijentir za različite mogućnosti etiologije i progresije MCI. Slika preuzeta iz Petersen i Negash (57).*

Prema Petersen i Negash (57), ako se pacijent dovoljno kvalitetno dijagnostički obradi, nakon dijagnoze MCI se može intervenirati za reverzibilne uzroke oštećenja poput depresije (pseudodemencija) ili deficijencije B_{12} vitamina. Također se može pristupiti preventivno da se pacijentu preporuče kognitivno stimulirajuće aktivnosti poput čitanja knjige, učenja novih jezika

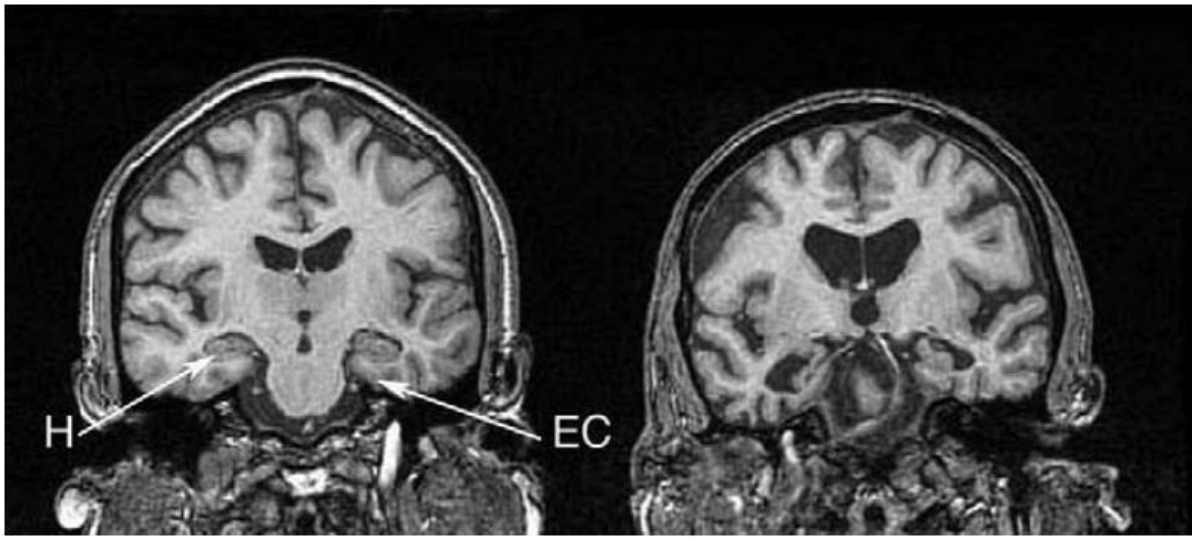
ili sviranja novog instrumenta te umjerena tjelesna aktivnost. Smatra se da ti pristupi povećanjem „sinaptičke rezerve“ mogu odgoditi pojavu izražene AB kroz neko vrijeme.

Prema Petersen (59) mora se imati na umu da neće svi pacijenti s MCI razvit AB. Do sad prikupljeni podatci pokazuju da oko 25% pacijenata s MCI neće razviti demenciju čak ni deset godina nakon nastanka problema s pamćenjem. U tom slučaju najčešće se radi o tzv. „dobroćudnoj staračkoj zaboravljivosti“.

3.3. BIOMARKERI ALZHEIMEROVE BOLESTI

3.3.1. RADIOLOŠKI BIOMARKERI

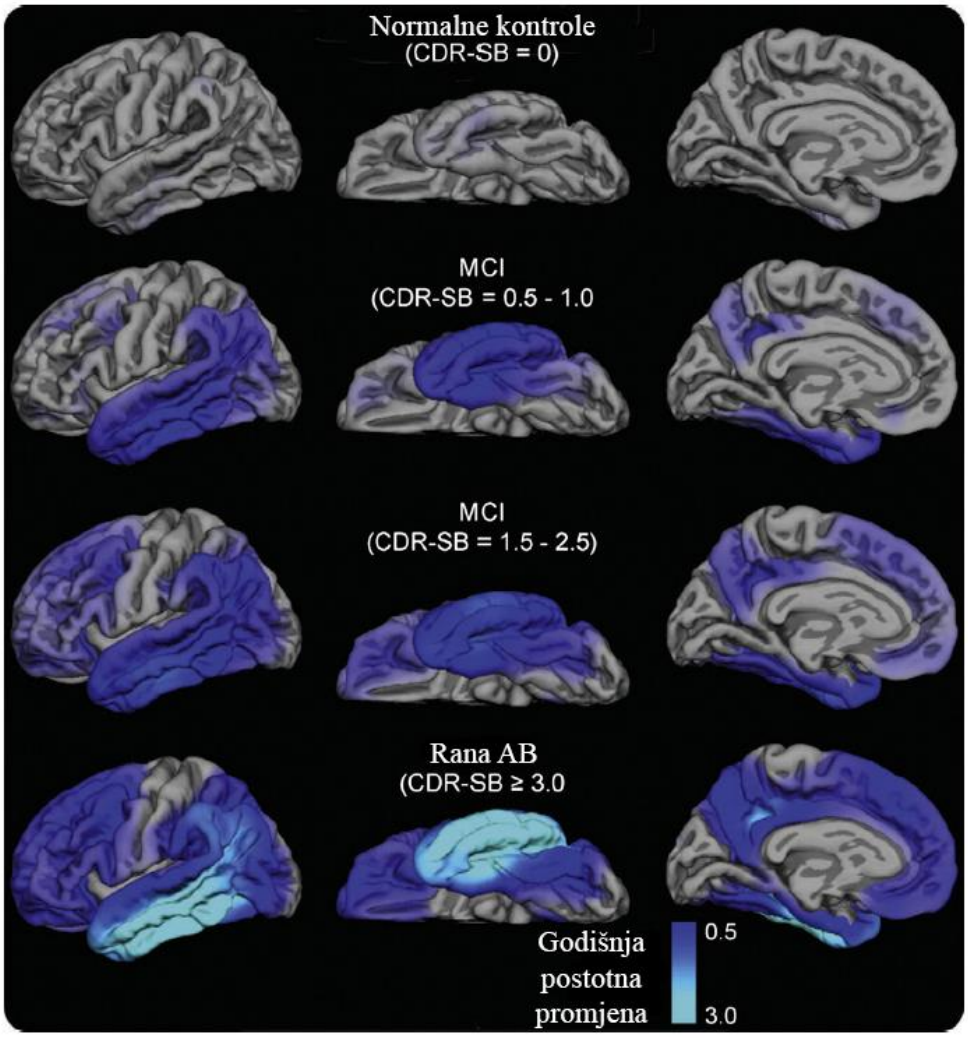
U zadnjih 20 godina svjedočimo ogromnom razvoju radioloških uređaja, te se snimanja pomoću MRI ili PET sve češće koriste u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Prema Weiner i sur. (71) velik nedostatak tih uređaja je relativno visoka cijena korištenja te nedostupnost u svim bolnicama. Radiološki biomarkeri koriste prikaz atrofije specifičnih područja u mozgu za dijagnozu, praćenje progresije bolesti te predviđanje razvoja AB u bolesnika s MCI (**Slika 9**).



***Slika 9**. Koronarni MRI normalnog ispitanika (lijevo) i pacijenta s AB (desno). Hipokampus (H) i entorinalni korteks (EC) su označeni strelicama na slici normalnog ispitanika; u bolesnika s AB vidi se izražena atrofija tih struktura. Slika preuzeta iz Jagust (72).*

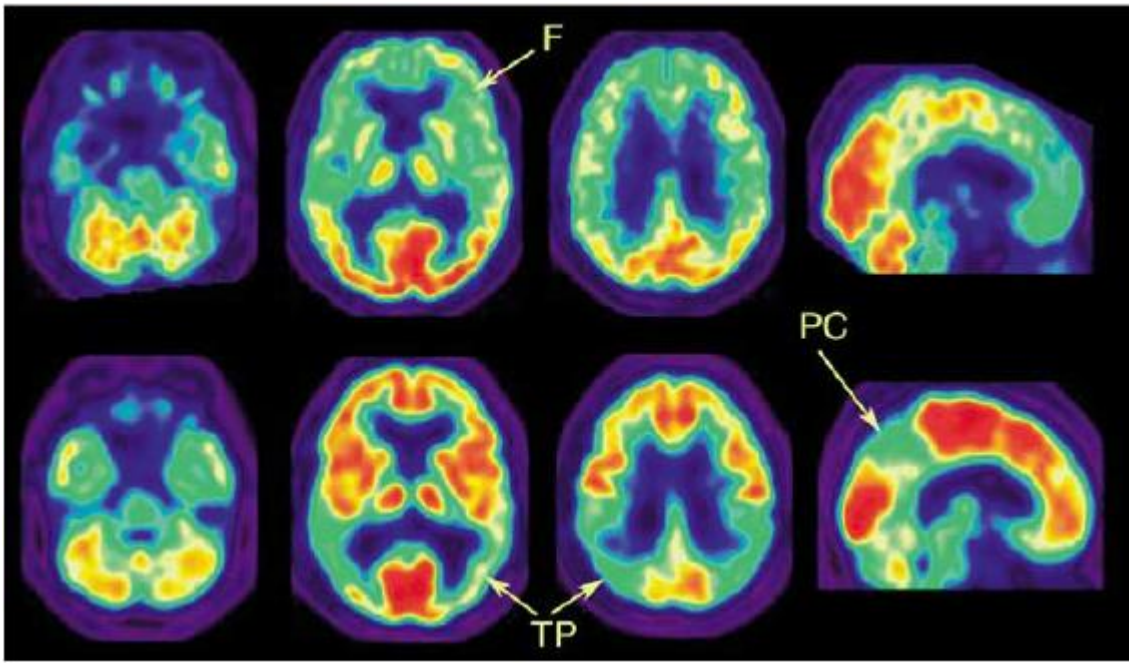
Prema Tarawneh i sur. (73) najčešće korištena metoda za radiološku dijagnostiku AB je strukturalni MRI (sMRI), kojim se mjeri volumen mozga te daje indirektnu aproksimaciju neuralnog, sinaptičkog i aksonalnog gubitka. MRI prikazuje kumulativni ishod različitih (svih) patoloških supstrata u AB, te predstavlja dobar prediktor progresije bolesti. Strukture medijalnog sljepoočnog režnja najčešće su među prvima u kojima dolazi do neurodegeneracije, s procijenjenim gubitkom od 10-25% volumena u blagoj AB ili MCI u usporedbi s kontrolama. Točnije, to su strukture medijalnog sljepoočnog režnja i lateralnog dijela sljepoočnog režnja, posebice u srednjoj i donjoj sljepoočnoj vijuzi. Prema McEvoy i sur. (13) atrofija u gornjoj sljepoočnoj vijuzi se obično vidi tek nakon kliničke dijagnoze AB. Osim tih područja, atrofija se može uočiti u cingularnom suženju i orbitočeonim područjima (**Slika 10**). Taj uzorak regionalne

atrofije se može iskoristiti za razlikovanje osoba s blagom AB od zdravih ispitanika s osjetljivošću od oko 85-90%. Ako pacijent ima takve promjene, unutar godine dana se može predvidjeti pad na MMSE testu za 2 boda, dok će kontrole ostati stabilne. Prema Fennema-Notestine i sur. (74) sMRI je također koristan za razlikovanje aMCI od zdravih pacijenata, a to postiže usporedbom obostranog volumena hipokampusa, entorinalnog korteksa i lijeve amigdale. Kako bolest progredira, pomoću sMRI se može razlikovati i aMCI od MCImd zbog puno veće atrofije u donjem i lateralnom sljepoočnom režnju, te tanjem korteksu u sljepoočnim i tjemenim asocijativnim područjima, retrosplenijalno i u prednjem cingulumu.



***Slika 10**. Stupanj atrofije pojedinih regija mozga prikazan u povezanosti s kliničkom dijagnozom i rezultatu na CDR testu. Stupnjevi atrofije su prikazani kao postotne promjene u neokortikalnom volumenu te prikazane su pogledu s lateralne (lijevo), ventralne (u sredini) i medijalne (desno) strane mozga. Slika preuzeta iz Weiner i sur. (71).*

Druga metoda koja se koristi kao radiološki biomarker je PET analiza fluorodeoksiglukozom ^{18}FDG-PET. Prema Jagust (72) ta metoda se koristi već 20 godina, te je njezina osjetljivost 75-80%, a specifičnost 55-70%. Metoda prikazuje metabolizam glukoze u mozgu, te se u bolesnika s AB primjećuje hipometabolizam u sljepoočnom i tjemenom režnju te stražnjem cingulumu. Najveću specifičnost pokazuje u razlikovanju AB od DLB te AB od FTD (**Slika 11**). FDG-PET također pomaže u praćenju pogoršanja u metabolizmu DMN posljedično slabijem funkcioniranju te mreže. Prema Weiner i sur. (71) nalazimo bolju osjetljivost od 83% te specifičnost od 78% u odnosu na istraživanje Jagust (72). Ta metoda također pokazuje bolju prediktivnu vrijednost u konverziji pacijenata s MCI u AD od kognitivnih tablica, *APOE* genotipa i CSF biomarkera koji se trenutno koriste.



Slika 11. *FDG-PET slike pacijenta s klinički dijagnosticiranom FTD (gornji red) te pacijenta s klinički dijagnosticiranom AB (donji red). Kod bolesnika s FTD vidimo smanjeni metabolizam glukoze u čeonom režnju (F), dok bolesnik s AB pokazuje smanjeni metabolizam u sljepoočnom i tjemenom režnju (TP) i prekuneusu (PC). Slika preuzeta iz Jagust (72).*

^{11}C-PiB PET je PET snimanje koji koristi Pittsburgh spoj-B obilježen ^{11}C (ugljikom) kojim se vizualizira fibrilarni Aβ *in vivo*. Prema Rabinovici i sur. (75) pošto je fibrilarni Aβ najizraženiji u AB, ta metoda je osjetljiva za detekciju AB. Začuđuje pozitivnost te metode u

bolesnika s FTD, gdje patologija fibrilarnog Aβ ne bi trebala biti tako jako izražena. U usporedbi s FDG-PET pokazuje razlike u dijagnozi baš u toj podskupini. Prema Weiner i sur. (71) iako ima svoja ograničenja, metoda za AB pokazuje visoku osjetljivost od 98%, no relativno nisku specifičnost od 63%. Prema Jagust i sur. (76), još jedna prednost metode jest da negativno korelira s količinom $A\beta_{42}$ proteina u likvoru, što može biti dijagnostički korisno.

Prema Okamura i sur. (77) kako postoji relativno koristan PiB PET za vizualiziranje fibrilarnog Aβ, tako se intenzivno traže novi PET radiofarmaci koji bi vizualizirali nakupljanje fibrilarnog tau proteina. Za sada se to postiglo sa spojevima T807, THK-5117 i PBB3. Njihova korisnost je da nakupljanje tau i posljedično stvaranje NFT puno bolje odražava težinu bolesti od fibrilarnog Aβ. Prema James i sur. (78), to se dokazalo sa spojem AV-1451, gdje su bolesnici s različitom težinom i stadijem AB imali različite uzorke nakupljanja radiofarmaka kako u njihovoj gustoći tako i u anatomskoj rasprostranjenosti.

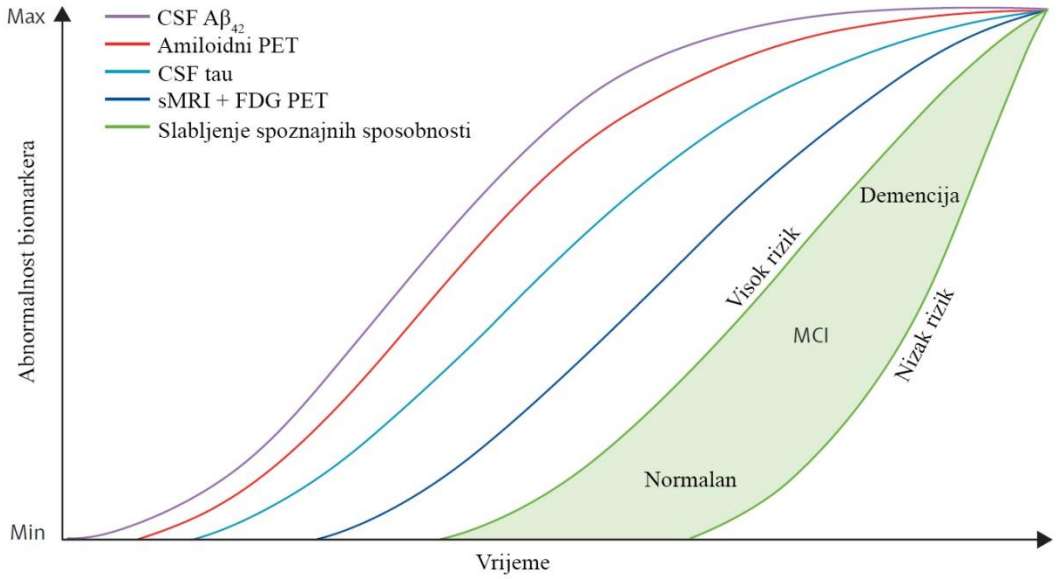
Jednofotonska emisijska kompjuterizirana tomografija (SPECT) je tehnika tomografskog slikanja mozga koja koristi gama zrake. Jednostavnija je i jeftinija od PET snimanja, a njome se dobivaju rezultati usporedivi onima koji se dobiju PET snimanjem. Prema Johnson i sur. (79), metoda uspješno predviđa razvoj AB u pretkliničkom obliku, s osjetljivošću od 80%. Najizraženije promjene se primjećuju u sljepoočnom i tjemenom režnju, gdje vidimo smanjenu perfuziju tih dijelova. Prema Kogure i sur. (80), promjene se također vide u stražnjoj cingularnoj vijuzi i prekuneusu. Kada se pacijenti prate longitudinalno, najveće razlike se pronalaze u lijevom hipokampusu i parahipokampalnoj vijuzi, što odgovara patofiziološkim procesima same bolesti. Prema Jagust i sur. (81) u kontekstu poboljšavanja kliničke dijagnoze AB, SPECT pokazuje najveću korist kod dijagnoze vjerojatne AB, gdje povećava prediktivnu vrijednost dijagnoze sa 67% na 84%.

Funkcionalni MRI (fMRI), iako se još ne koristi u svakodnevnoj kliničkoj praksi, može također prikazati promjene u mozgu povezane s AB. Kako fMRI mjeri aktivnost, tako su razne grupe pokušale prikazati smanjenje aktivnosti pojedinih dijelova mozga naspram zdravih kontrola u AB. Prema Johnson i sur. (82) jedan od načina mjerenja slabije aktivnosti je da pacijentima damo zadatak da ispravno ocjene prikazane parove pojmova kao povezane (npr. piće-mlijeko) naspram nepovezanih (npr. vozilo-mrkva). Time se ispituje semantički zadatak odlučivanja iz kategoričkog znanja. U bolesnicima s AB se našla značajna povezanost atrofije dokazane pomoću sMRI i smanjene aktivacije u lijevoj donjoj čeonoj vijuzi na fMRI no te

povezanosti nije bilo za lijevu gornju sljepoočnu vijugu. Druge grupe poput Rombouts i sur. (83) su mjerile aktivnost DMN u zdravih starijih ljudi te kako se mijenja u bolesnika s AB i MCI. Nađena je značajna promjena funkcioniranja DMN u ranoj fazi deaktivacije mreže, te su te promjene bile najizraženije u prednjim čeonim područjima između promatranih skupina. Budući da se promjena mogla detektirati već u MCI, predlažu da bi se to moglo koristiti kao rani marker AB.

3.3.2. ZLATNI STANDARD ZA BIOMARKERE U LIKVORU

Prema Kang i sur. (20) biomarkeri u CSF su bili uvelike istraživani zadnjih 20 godina u svrhu dijagnostike AB, pogotovo u pretkliničkom obliku, praćenje progresije bolesti, boljem razumijevanju patogenetskih mehanizama te praćenju učinkovitosti lijekova koji bi utjecali na tok bolesti (tzv. teragnostika). Prema Babić i sur. (84) prednosti likvorskih biomarkera su visoka osjetljivost i specifičnost te dobro reflektiranje patoloških procesa u mozgu bolesnika oboljelih od AB. Nedostaci likvorskih biomarkera su relativno invazivno sakupljanje likvora putem lumbalne punkcije, još uvijek skupi ELISA kitovi, varijabilnost u dobivenim vrijednostima biomarkera između različitih laboratorija i između različitih skupina istraživača te poteškoće ponovnog mjerenja zbog invazivne dijagnostike. Prema Teunissen i sur. (85) varijabilnost u mjerenju se pokušava riješiti međunarodnom standardizacijom uzimanja likvora te homogenijim kriterijima i definicijama kontrolnih skupina. Istraživačke skupine se sve više udružuju i provode istraživanja u kojima je uključeno više centara što donosi bolju kontrolu kvalitete, relevantnije rezultate i standardizirane postupke mjerenja. Prema Nazco i sur. (86) iako se korištenje likvorskih biomarkera može činiti skupim, literatura pokazuje da je dijagnostika AB puno jeftinija i učinkovitija korištenjem likvorskih biomarkera. Prema Babić i sur. (84) ishod mnogih istraživanja su 3 biomarkera koji su se službeno uvrstili kao pomoć dijagnostici AB te se u literaturi nazivaju zlatnim standardom likvorskih biomarkera za AB: amiloid β protein ($A\beta_{42}$), ukupni tau protein (t-tau) i fosforilirani tau (p-tau) od kojeg se najčešće mjeri p-tau fosforiliran na treoninu 181 ($p\text{-}tau_{181}$). Jack i sur. (87) su 2010. godine predložili model po kojem se mogu interpretirati promjene u radiološkim i CSF biomarkerima prema kliničkom stadiju težine bolesti. 2013. godine su preradili model te prikazali promjene kao funkciju vremena, a ne težine bolesti. Model je prikazan na **Slici 12**.



Slika 12. *Prerađeni model dinamičkih biomarkera patološke kaskade Alzheimerove bolesti. Neurodegeneracija je mjerena FDG PET i sMRI koji su prikazani zajedno (tamno plavo), također su prikazane promjene u biomarkerima CSF (CSF $A\beta_{42}$ (ljubičasto), CSF tau (svijetlo plavo) i prikazane su promjene u amiloidnom PET prikazu (crveno). Promjene u spoznajnim sposobnostima (zeleno) su prikazane kao površina između ljudi s visokim rizikom (nosioci APOE ε4 alela, prisutnost komorbidnih patoloških promjena u moždanom tkivu) i ljudi s niskim rizikom (nosioci protektivnog genetskog profila, visoke kognitivne rezerve, odsutnost komorbidnih patoloških promjena u moždanom tkivu) za razvoj sindroma demencije. Promjene su prikazane kao funkcija vremena (x-os) i veličine abnormalnosti biomarkera (y-os). FDG=fluorodeoksiglukoza, PET=pozitronska emisijska tomografija, sMRI=strukturalna magnetska rezonancija Aβ=amiloid β, CSF=cerebrospinalni likvor, MCI=blagi spoznajni poremećaj. Slika preuzeta iz Jack i sur. (87).*

Prema Babić i sur. (84) razine $A\beta_{42}$ u likvoru pokazuju visoku osjetljivost (78-100%), ali nisku specifičnost (47-81%) za diferenciranje AB od zdravih kontrola. Kang i sur. (20) navode nižu osjetljivost (78-86%), ali puno višu specifičnost (78-88%) tog biomarkera. Prema pregledu danom u Babić i sur. (84) razine tog proteina se ne mijenjaju u starenju, Parkinsonovoj bolesti, progresivnoj supranuklearnoj paralizi, alkoholnoj demenciji, depresiji i moždanom udaru. Manjak specifičnosti proizlazi iz toga što je $A\beta_{42}$ snižen i u LBD, FTD, VaD, amiotrofičnoj lateralnoj sklerozi, Creutzfeldt-Jakobovoj bolesti i upalnim stanjima središnjeg živčanog sustava. Prema Ewers i sur. (88), nađeno je da je mogućnost razlikovanja AB od LBD i VaD putem mjerenja $A\beta_{42}$ u CSF jako slaba.

Prema Iqbal i sur. (27) t-tau kao i p-tau su povišeni u bolesnika s AB. Prema Babić i sur. (84) razine t-tau rastu s povećanom dobi pacijenata, pa se i rezultati mjerenja moraju podesiti prema dobi. Osjetljivost t-tau je dosta visoka, 84%, a specifičnost još viša, 91%, no ti rezultati se moraju uzeti s oprezom jer je ukupni t-tau povišen u svim tauopatijama, kako je već navedeno. Kang i sur. (20) pokazuju slične rezultate za osjetljivost (82.5%) i nešto niže za specifičnost (86.2%) tog markera.

Prema Tang i sur. (89) p-tau je fosforilirani oblik tau proteina, a zasad najpogodniji oblik tog proteina za mjerenje u likvoru je p-tau$_{181}$. Njegova prednost nad t-tau je veća specifičnost za AB te manji utjecaj dobi bolesnika. Može razlikovati AB od Parkinsonove bolesti, FTD, DLB, VaD i MCI. Prema Ewers i sur. (88), zbog ograničenja drugih biomarkera u razlikovanju FTD od AB, tu uloga p-tau$_{181}$ dolazi najviše do značaja. Prema Babić i sur. (84) specifičnost p-tau$_{181}$ markera je jako visoka, 92%, no osjetljivost je nešto niža, 80%. Kang i sur. (20) pokazuju nižu osjetljivost od 79%, i specifičnost od 79%.

Prema Jack i sur. (87) većina istraživanja na CSF biomarkerima se rade kao presječna istraživanja, a ne longitudinalna istraživanja. Longitudinalna istraživanja tih markera su pokazala da njihove razine dosežu plato u trenutku dok sindrom demencije nije još klinički izražen, te da se njihove razine ne mijenjaju značajno u pretkliničkim stadijima bolesti. Prema Malnar i sur. (90) većina istraživanja i dijagnostike likvorskim biomarkerima se radi u specijaliziranim centrima za AB gdje imaju već razrađene precizne metode mjerenja. Korisnost tih biomarkera prelazi same centre, te je pokazano da su relevantni ako se koriste i u ne-specijaliziranim ustanovama jer povećavaju točnost kliničke dijagnoze AB. Prema Seppälä i sur. (91) korisnost likvorskih biomarkera pomaže i u psihijatrijskim indikacijama, gdje mogu razlikovati psihozu nastalu kao posljedica razvoja AB od psihoze bez organskih promjena.

3.3.3. YKL – 40 U LIKVORU

Patogeneza AB se razvija u prosjeku 20-25 godina prije ispoljavanja prvih simptoma bolesti. To dugo razdoblje pretkliničke AB nam daje priliku liječiti bolest lijekovima koji će modificirati tijek bolesti dok neurodegenerativne promjene nisu još uznapredovale. Međutim, prije nego se takvi lijekovi mogu iznaći, potrebno je razviti precizne alate kojima će se dijagnosticirati i pratiti patofiziološke promjene u osoba s pretkliničkom AB. Prema Perrin i sur.

(92) iako postoji zlatni standard likvorskih biomarkera, stalno se traže novi koji bi ranije i s većom pouzdanošću otkrili te promjene. Jedan od takvih biomarkera je YKL – 40.

Prema Bonneh-Barkay i sur (39) YKL-40 je protein koji je povišen u upalnim bolestima poput ulceroznog kolitisa, Crohnovoj bolesti, reumatoidnom artritisu, osteoartritisu, astmi, kroničnoj opstruktivnoj plućnoj bolesti, cirozi jetre i solidnim tumorima. Funkcija YKL-40 još uvijek nije poznata, no pretpostavlja se da sudjeluje u remodeliranju tkiva tijekom upale. U neurološkim bolestima YKL-40 se izražava u astrocitima, osobito u blizini plakova uslijed reaktivne glioze. Prema Antonell i sur. (93) Neurološke bolesti u kojima je povišen su glioblastomi, moždani udar, multipla skleroza, amiotrofična lateralna skleroza i AB. Misli se da je u AB YKL-40 povišen zbog upalnog odgovora na odlaganje Aβ u obliku SP. Prema Alcolea i sur. (94), taj biomarker nije povišen samo u AB, već i u FTD, no budući da je YKL-40 povišen već u stadiju MCI, možda bi se, u kombinaciji s drugim biljezima mogao koristiti za razlikovanje pacijenata s MCI uzrokovanog različitim neurodegenerativnim bolestima u odnosu na druge etiologije, npr. psihijatrijske bolesti.

Prema Craig-Schapiro i sur. (95) YKL-40 pokazuje izrazitu korisnost kao biomarker za početne promjene u sindromu demencije nastalom zbog AB, te pokazuje statistički značajne razlike u koncentraciji između grupa pacijenata s CDR 0 i 0,5, te 0 i 1. Time bi, u kombinaciji s ostalim biomarkerima za AB, pružio dodatnu dijagnostičku osjetljivost za MCI, te prognostičku vrijednost za razvoj sindroma demencije u zahvaćenih pacijenata. Prema Rosén i sur. (96), taj trend se vidi i kad se uspoređuju pacijenti s MCI sa zdravim kontrolama, te je u onoj skupini gdje su pacijenti s MCI progredirali u AB YKL-40 bio povišen, dalje doprinoseći razlikovanju MCI zbog AB (a u odnosu na druge primarne uzroke demencije). Prema Kester i sur. (97) za razliku od zlatnog standarda koji dosežu plato rano u AB, YKL-40 raste u tijeku pretkliničke AB te nastavlja rasti i tijekom simptomatskog stadija AB. Zbog toga se smatra da bi mogao biti koristan za praćenje progresije bolesti i praćenje utjecaja lijekova na tijek bolesti. Prema Olsson i sur. (98) pridružena korisnost YKL-40 je i u aspektu njegove stabilnosti tijekom praćenog razdoblja od 6 mjeseci. To pruža mogućnost praćenja odgovora pacijenta na terapiju, te praćenja mogućih upalnih stanja moždanog tkiva kod terapija aktivnom ili pasivnom imunizacijom. YKL-40 također dobro korelira s dobi, pa ne možemo koristiti fiksne stope za dijagnostiku već ih moramo prilagoditi dobnim skupinama. Prema Sutphen i sur. (99) korelaciju s dobi potvrđuju i

druge skupine, te je ona osobito izražena u bolesnicima kod bolesnika koji imaju jedan ili oba ε4 *APOE* alela. Prema Alcolea i sur. (100) razine YKL-40 se mogu koristiti i u kombinaciji s radiološkim biomarkerima. Pomoću sMRI je pokazano da pozitivno koreliraju sa stanjenjem korteksa u srednjim i donjim sljepoočnim područjima moždane kore. Razine p-tau i t-tau također koreliraju s razinama YKL-40, što vjerojatno odražava upalne procese povezane s neurodegeneracijom zbog tauopatije.

Prema Janelidze i sur. (101) u kontekstu različitih primarnih uzroka sindroma demencije (AB, VaD, DLB, FTD), YKL-40 ne pokazuje bolju specifičnost za razlikovanje AB od ostalih primarnih uzroka. Prema Wennström i sur. (102), to je najizraženije za razlikovanje FTD od AB, gdje je navedeni protein povišen u obje bolesti. Pokazalo se da YKL-40 protein najbolje razlikuje AB od Parkinsonove bolesti i/ili DLB. Prema Hellwig i sur. (103) samostalna vrijednost YKL-40 kao biomarkera za AB je ograničena, s rezultatom područja ispod krivulje (*area under the curve*, AUC) u ROC krivulji od 0.66, što čini YKL-40 dosta nespecifičnim (površina od 0.50 znači da nema razlikovanja, a 1 potpuno pouzdano razlikovanje). Također, nije nađena relevantna povezanost koncentracija tog proteina s rezultatom na MMSE ljestvici, te zlatnim standardima biomarkera AB.

4. HIPOTEZA

Hipoteza ovog istraživanja je da će potencijalni likvorski biomarker YKL-40 u kombinaciji s p-tau$_{181}$ poboljšati pouzdanost ranog otkrivanja AB u pacijenata s MCI.

5. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja bio je istražiti mogućnost razlikovanja osoba s AB, MCI i zdravih kontrola koristeći biomarkere YKL-40 i p-tau$_{181}$ iz likvora. Uspoređivane su koncentracije tih biomarkera između testiranih skupina te je promatrano postoji li korelacija između razine YKL-40 i dobi ispitanika te YKL-40 i p-tau$_{181}$. Također je određivana osjetljivost i specifičnost biomarkera i, na temelju dobivenih rezultata, pokušano odrediti njihovu graničnu vrijednost.

6. MATERIJALI I METODE

6.1. MATERIJALI

U ispitivanje je bilo uključeno 79 pacijenata, koji su podijeljeni u tri skupine. Svi pacijenti su obrađivani u u Klinici za Neurologiju Kliničkog bolničkog centra „Zagreb“, Kišpatićeva 12, u Zagrebu.

U prvu skupinu je uključeno 56 pacijenata s postavljenom kliničkom dijagnozom AB s kasnim početkom (54 ispitanika) i AB s ranim početkom (2 ispitanika) prema NINCDS-ADRDA (*National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*) kriterijima (opisani u poglavlju 3.1.4.), prema Mckhan i sur. (42).

U drugu skupinu je bilo uključeno 13 ispitanika s MCI, prema kriterijima koje su predložili Petersen i sur. (59) (opisani u poglavlju 3.1.4.).

U treću skupinu je uključeno devet ispitanika, a koji su klasificirani kao zdrave kontrole. Kriteriji za tu skupinu su bili:

- Kognitivno zdravi ispitanici kojima je u toku dijagnostičkog ili terapijskog procesa zbog nekog drugog stanja (npr. operacije urogenitalnog trakta ili ortopedske operacije) bilo indicirano učiniti lumbalnu punkciju;
- Rezultat MMSE testa veći ili jednak 27;
- Nedostatak objektivno potvrđenih smetnji pamćenja ili bilo kojih drugih kognitivnih smetnji;
- Odsutnost neurološke ili psihijatrijske bolesti koje mogu utjecati na kognitivno funkcioniranje;
- Odsutnost sistemske ili maligne bolesti;
- Neuzimanje lijekova za kognitivne probleme i neuzimanje psihotropnih lijekova, prema Schonknecht i sur. (104).

6.2. METODE

Svakom ispitaniku ja napravljen detaljan neurološki pregled te napravljeno neuropsihološko testiranje pomoću MMSE testa. Uzorci likvora su izuzeti lumbalnom punkcijom iz L3/L4 ili L4/L5 intervertebralnog prostora. Količina uzorka od 4-5 mililitara se pohranila u količinama od 50 i 100 µl u polipropilenske epruvete na -80^{o}C do same analize uzoraka.

Korišteni su komercijalno dostupni ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) kitovi za određivanje koncentracija pojedinih biomarkera u likvoru, a prema uputama proizvođača. Za određivanje koncentracije YKL-40 korišten je ELISA kit Human Chitinase 3-like 1 Quantikine ELISA Kit od R&D Systems (Minneapolis, MN, USA), a za određivanje koncentracije p-tau$_{181}$ korišten je ELISA kit Innotest Phospho-Tau(181P) ELISA Kit od Fujirebio (Gent, Belgija). Za provođenje ELISA analize korišten je ELISA čitač (model 680 Series; Biorad Laboratories, Hercules, CA, USA), te automatski aparat za ispiranje (model PW 40; Biorad Laboratories, Hercules, CA, USA).

Kitovi za ELISA postupak utvrđuju koncentracije ispitanih biomarkera u likvoru ispitanika. Kao primjer testa opisujem ELISA test korišten za određivanje koncentracije YKL-40. Monoklonalnim antitijelom specifičnim za YKL-40 su prethodno obložene mikrotitarske jažice. Standardi i uzorci likvora svih triju skupina smo pipetirali u jažice te se YKL-40 vezao za protutijela tijekom inkubacije od 2 sata. Nakon ispiranja, enzimom-povezano poliklonalno antitijelo specifično za YKL-40 je dodano u jažice te smo opet inkubirali 2 sata. Nakon toga su se jažice ponovno ispirale da se ukloni sav nevezani antitijelo-enzim reagens, te se u jažice dodala otopina supstrata. Kada smo dodali otopinu supstrata, u jažicama se počela mijenjati boja u plavu, te je njezin intenzitet bio proporcionalan količini YKL-40 koji je bio vezan u početnom koraku. Nakon 30 minuta inkubacije smo dodali Stop otopinu koja je zaustavila reakciju. Intenzitet boje smo izmjerili ELISA čitačem te iz standardne krivulje odredili vrijednosti koncentracija.

Istraživanje je rađeno u sklopu istraživanja „Hiperfosforilacija, agregacija i transsinaptički prijenos tau proteina u Alzheimerovoj bolesti: analiza likvora i ispitivanje potencijalnih neuroprotektivnih spojeva“ projekta Hrvatske zaklade za znanost br. IP-2014-09-9730. Istraživanje je imalo dozvolu etičkog povjerenstva i svi ispitanici su dali informirani pristanak.

6.3. STATISTIČKA OBRADA

Koristili smo program za statističku obradu *SPSS Statistics Software* 19.0.1 (IBM, Chicago, IL, USA). U analizi podataka je korištena parametrijska (ANOVA (jednosmjerna analiza varijance) i t-test) i neparametrijska statistika (Kruskal-Wallis i Mann-Whitney testove). Analizirali smo i međusobnu korelaciju p-tau$_{181}$ i YKL-40. ANOVA analiza je korištena u analizi statističkih razlika između triju navedenih skupina. T-test je korišten u analizi statističkih razlike između svake od dviju odabranih skupina (AB i MCI, AB i kontrola, MCI i kontrola). U slučajevima kada Kolmogorov-Smirnov test nije potvrdio normalnu raspodjelu podataka, koristili smo neparametrijske testove. Osjetljivost, specifičnost, kao i dijagnostičku točnost predstavljenu kao AUC te granične vrijednosti za analizirane skupine i biomarkere smo odredili pomoću ROC (*Receiver operating characteristic*) krivulje.

7. REZULTATI

7.1. ANALIZA ISPITANIKA

U ispitivanje je bilo uključeno 79 ispitanika podijeljenih u tri skupine: 56 ispitanika s AB (34 ženskih ispitanika i 22 muška ispitanika), 13 ispitanika s MCI (četiri ženska i devet muških) te devet kontrolnih ispitanika (šest ženskih i tri muška). Isključili smo jednog ispitanika iz analize zbog abnormalno visokih razina koncentracija YKL-40 (više od 890000 pg/ml). Podaci o dobi, spolu i rezultatima MMSE testa prikazani su u **Tablici 1**.

Tablica 1. Demografski podaci o ispitanicima.

	AB	MCI	Kontrole
Broj ispitanika	56	13	9
Dob (godina)*	71 (64 – 77)	65 (63 – 74)	52 (44 – 57)
MMSE (bodovi)*	22 (19 – 24)	27 (25 – 27,5)	28 (26 – 28)
Spol M/Ž	22/34	9/4	3/6

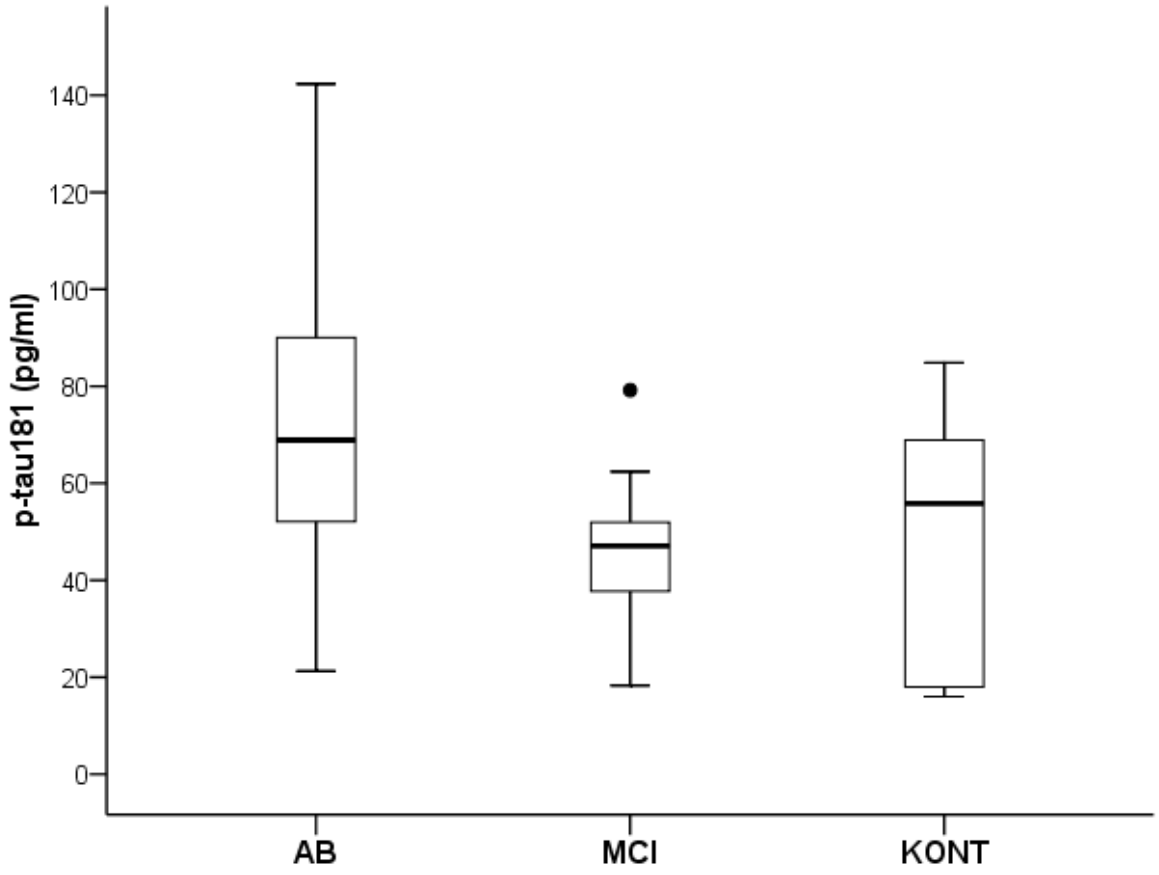
**Vrijednosti su prikazane kao medijan, a u zagradi kao 25.-75. percentila (interkvartilni raspon)*

7.2. VRIJEDNOSTI p-tau$_{181}$ BIOMARKERA

Nađeno je da postoji statistički značajna razlika ($F = 6.317$, $df = 2,75$, $p = 0,003$) u koncentraciji p-tau$_{181}$ proteina između ispitivanih skupina (kada se analiziraju sve odjednom kao cjelina). Nađena je statistički značajna razlika između skupina AB i kontrola ($t = 2.256$, $df = 63$, $p = 0.028$) te između skupina AB i MCI ($t= 2.982$, $df = 67$, $p = 0.004$). Za skupine MCI i kontrole nije dobivena statistički značajna razlika ($t = 0.170$, $df = 20$, $p = 0.867$). Vrijednosti biomarkera p-tau$_{181}$ prikazane su u **Tablici 2** i grafički na **Slici 13**.

Tablica 2. *Vrijednosti p-tau$_{181}$ markera u likvoru (pg/ml) u svih triju ispitivanih skupina*

	AB (n = 56)	MCI (n = 13)	KONT (n = 9)
Srednje vrijednosti ± standardna devijacija (raspon) pg/ml	81,8 ± 85,6 (121,1)	57,8 ± 30,3 (42,8)	50,4 ± 48,7 (68,9)
Medijan, 25.-75. percentile (interkvartilni raspon) pg/ml	69 52 – 89 (37)	47 38 – 52 (14)	56 18 – 69 (51)



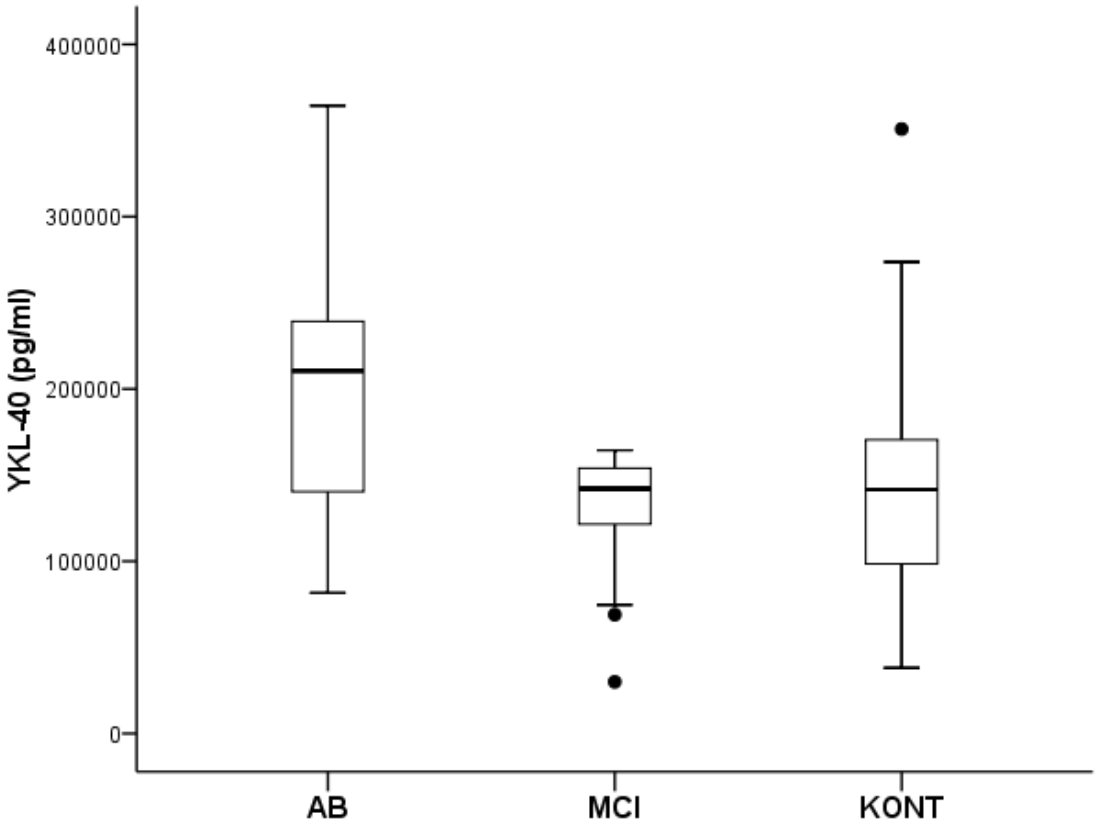
Slika 13*. Vrijednosti p-tau$_{181}$ biomarkera u likvoru prema ispitivanim skupinama. Rezultati prikazuju pravokutnik gdje donji i gornji bridovi predstavljaju 25. i 75. percentile, a vodoravna crta unutar okvira predstavlja medijan. Najviše i najniže vrijednosti su prikazane vodoravnim crtama koje završavaju iznad i ispod pravokutnika.*

7.3. VRIJEDNOSTI YKL-40 BIOMARKERA

Zbog malog broja pacijenata u skupini bolesnika s MCI i kontrolnoj skupini za analizu vrijednosti biomarkera YKL-40 smo koristili neparametrijske testove. Nađeno je da postoji statistički značajna razlika među skupinama bolesnika s AB i MCI ($U = 163.00$; $Z = -3.084$; $p = 0.002$), no takva razlika nije nađena kad su se usporedile skupine AB i kontrola ($U = 150$, $Z = -1.937$, $p = 0.053$) te skupine MCI i kontrola ($U = 54$, $Z = -0.301$, $p = 0.764$). Nađeno je da postoji statistički značajna razlika između svih skupina kad se promatraju istovremeno ($\chi^2 = 11.576$, $df = 2$, $p = 0.003$).Vrijednosti biomarkera YKL-40 prikazane su u **Tablici 3** i grafički na **Slici 14**.

Tablica 3. *Vrijednosti YKL-40 markera u likvoru (pg/ml) u svih triju ispitivanih skupina*

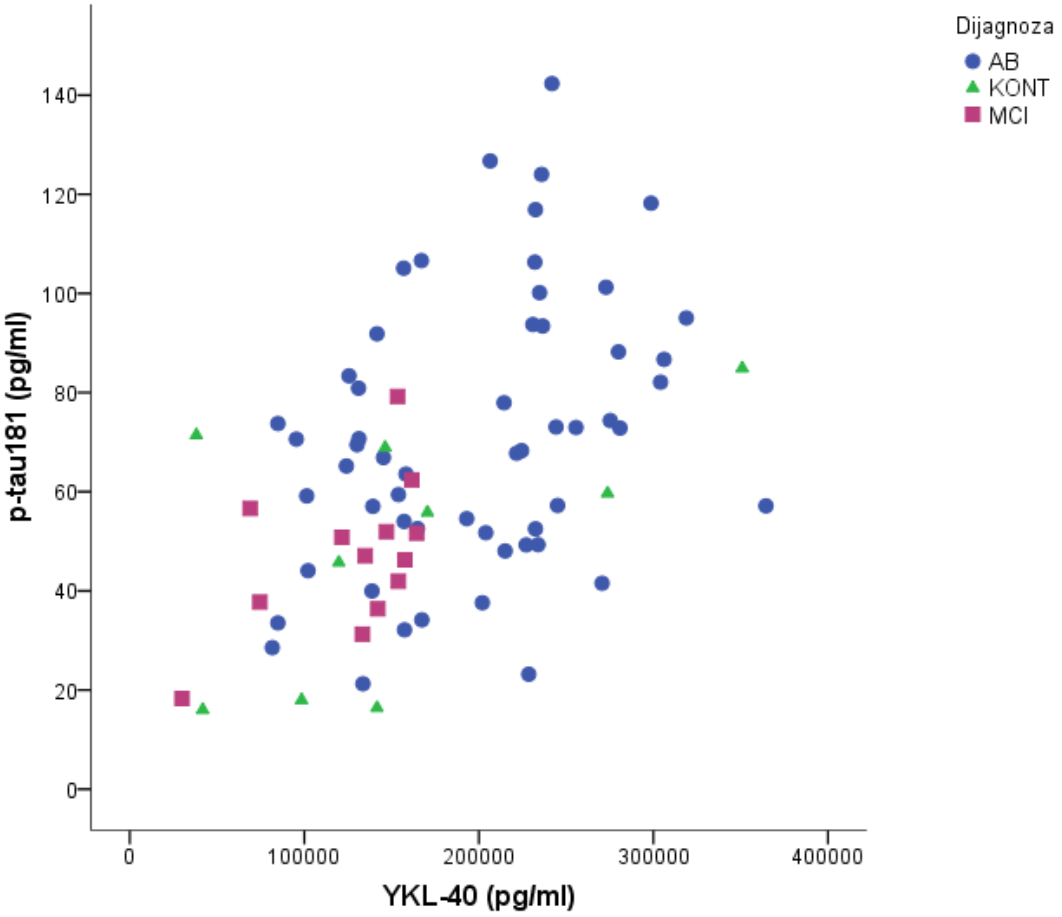
	AB (n = 56)	MCI (n = 13)	KONT (n = 9)
Srednje vrijednosti ± standardna devijacija (raspon) pg/ml	223062 ± 199966 (282795)	97138 ± 95040 (134408)	194510 ± 221138 (312737)
Medijan, 25.-75. percentile (interkvartilni raspon) pg/ml	210449 141040 – 237838 (96798)	142146 121546 – 153960 32414	141625 98424 – 170528 72104



***Slika 14**. Vrijednosti YKL-40 biomarkera u likvoru prema ispitivanim skupinama. Rezultati prikazuju pravokutnik gdje donji i gornji bridovi predstavljaju 25. i 75. percentile, a vodoravna crta unutar okvira predstavlja medijan. Najviše i najniže vrijednosti su prikazane vodoravnim crtama koje završavaju iznad i ispod pravokutnika.*

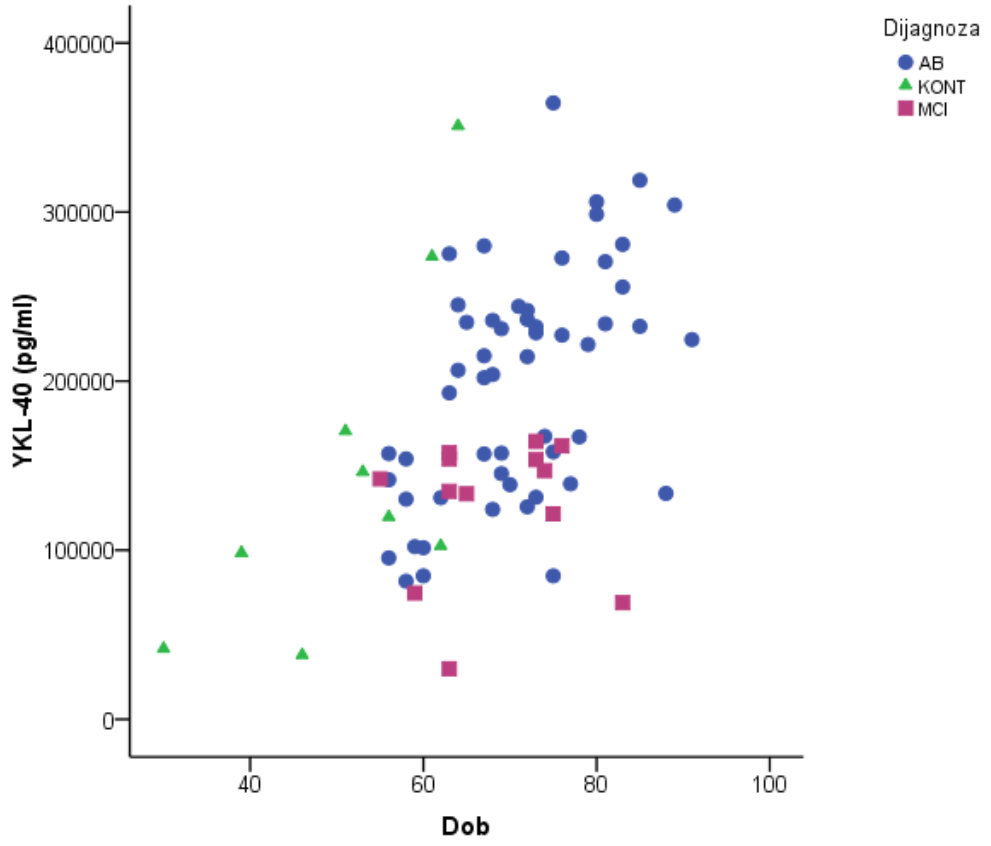
7.4. KORELACIJE p-tau$_{181}$ i YKL-40

U istraživanju je također testirano postoji li korelacija između likvorskih biomarkera p-tau$_{181}$ i YKL-40. Vrijednosti p-tau$_{181}$ i YKL-40 su pozitivno korelirale s visokom statističkom značajnošću (R = 0.469, n = 78, p <0.001). Korelacija p-tau$_{181}$ i YKL-40 je prikazana na **Slici 15**.



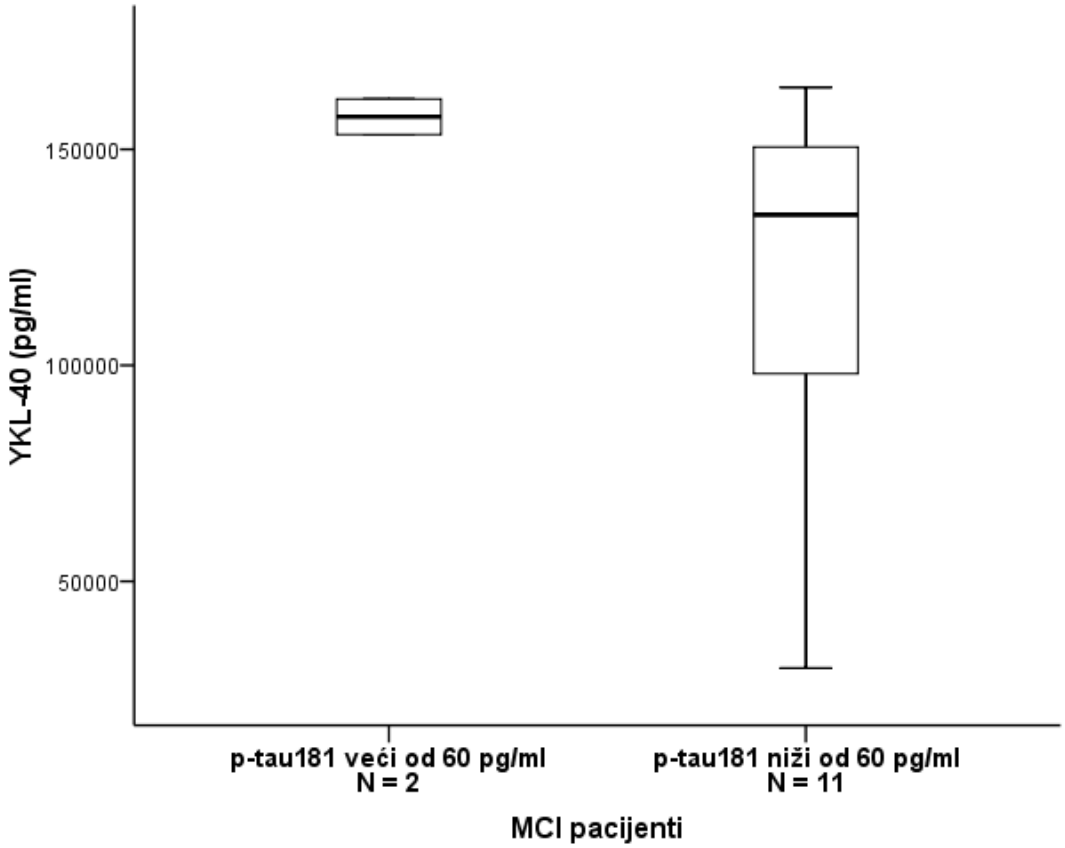
***Slika 15**.Prikaz korelacije likvorskih biomarkera p-tau$_{181}$ i YKL-40.*

Također je ustanovljena korelacija između vrijednosti likvorskog biomarkera YKL-40 i dobi pacijenata. U grupi od 54 AB pacijenata, 13 MCI pacijenata i devet zdravih kontrola vrijednosti su korelirale s visokom statističkom značajnošću ($R = 0.511$, $df = 76$, $p < 0.001$). Korelacija YKL-40 s dobi pacijenata je prikazana na **Slici 16**.



***Slika 16**. Prikaz korelacije vrijednosti biomarkera YKL-40 i dobi pacijenata.*

Usporedbom biomarkera YKL-40 s biomarkerom iz zlatnog standarda (u našem slučaju p-tau$_{181}$), pokušalo se ustanoviti kolike su vrijednosti biomarkera YKL-40 za pacijente kojima je klinički dijagnosticiran MCI a u literaturi bi po vrijednostima p-tau$_{181}$ od 60 pg/ml bili klasificirani kao bolesnici s AB, prema Humpel (105). Podjela pacijenata s MCI na temelju p-tau$_{181}$ nije bila statistički značajna kako parametrijskom analizom ($t = 1.152$, $df = 11$, $p = 0.274$) tako ni neparametrijskom analizom ($U = 4$, $Z = -1.382$, $p = 0.167$). Rezultati su prikazani na **Slici 17**.

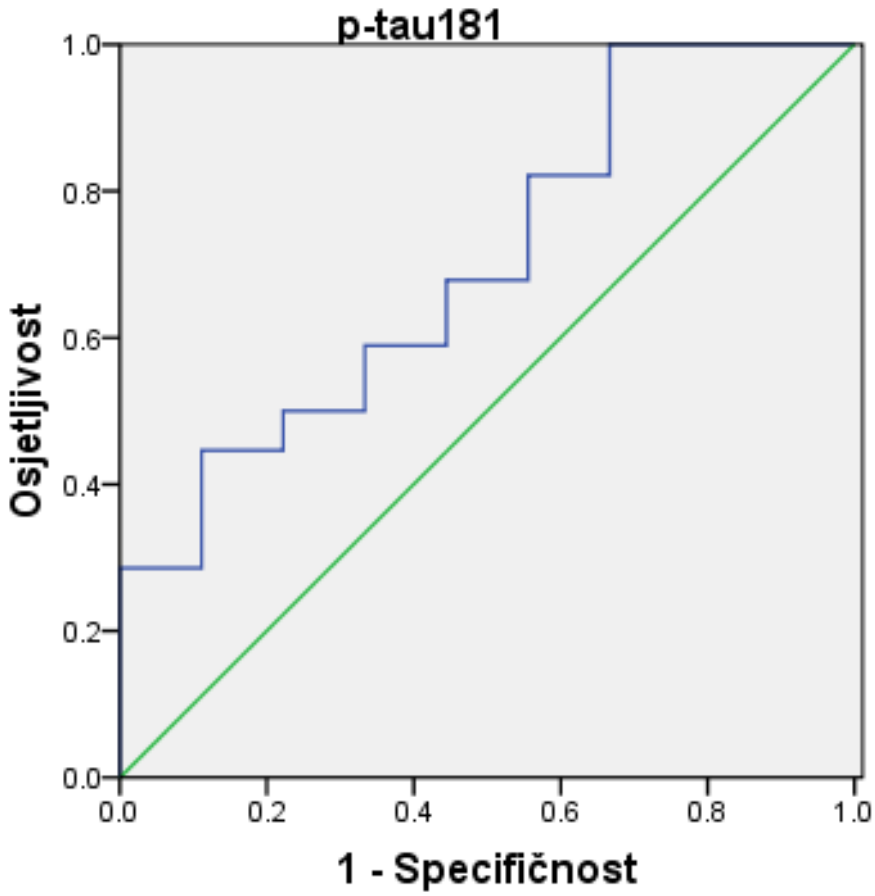


Slika 17. *Podjela pacijenata s klinički dijagnosticiranim MCI na skupinu koja bi bila klasificirana kao AB prema vrijednostima p-tau$_{181}$ (lijevo) i skupinu koja ne bi bila tako klasificirana (desno). Granična vrijednost za klasifikaciju je 60 pg/ml (vrijednost uzeta prema Humpelu (105)).*

7.5. OSJETLJIVOST I SPECIFIČNOST BIOMARKERA, ANALIZA ROC KRIVULJE

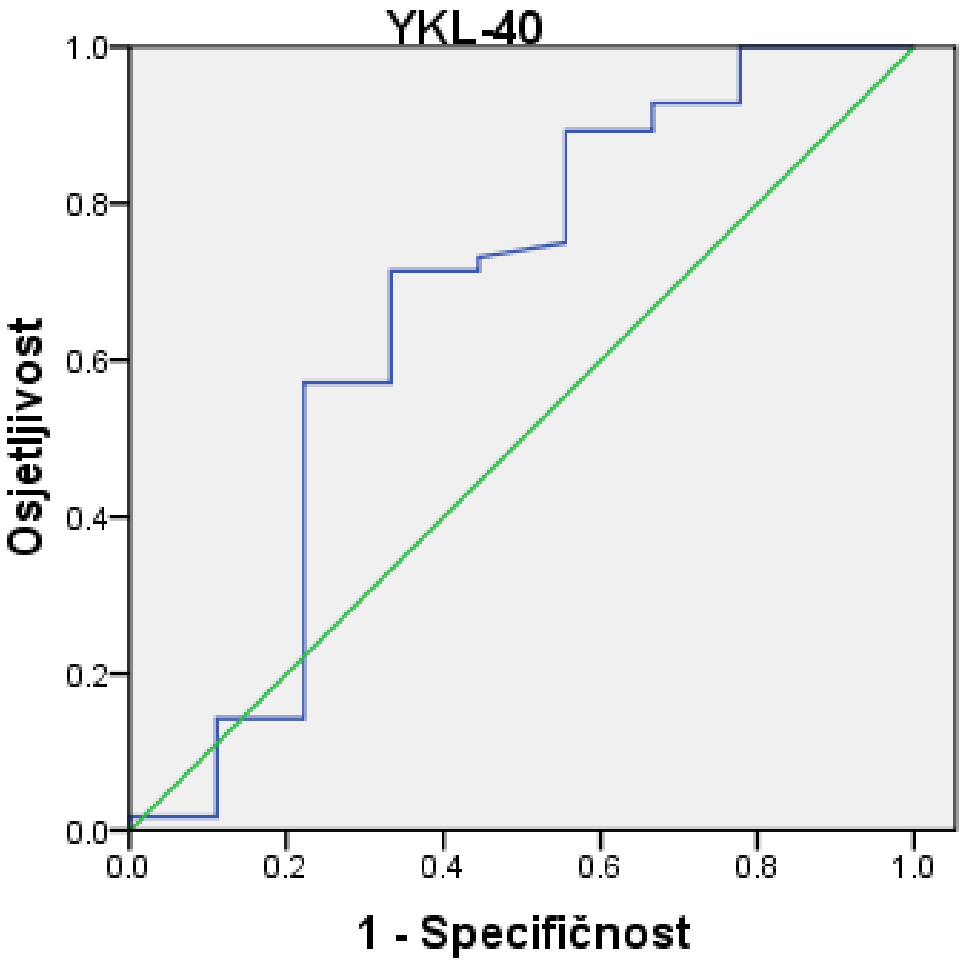
Ispitivali smo osjetljivost i specifičnost svakog ispitivanog biomarkera te njihove granične vrijednosti za najtočnije moguće razlikovanje dijagnoze AB od zdravih kontrola. Također smo mjerili AUC kao pokazatelj dijagnostičke točnosti tih biomarkera. Granične vrijednosti pojedinih biomarkera su izračunate kao vrijednosti na ROC krivulji gdje je umnožak osjetljivosti i specifičnosti dosegao maksimum.

Za biomarker p-tau$_{181}$ smo dobili osjetljivost od 44.6% i specifičnost od 88.9%. Granična vrijednost za razlikovanje AB od zdravih kontrola je bila 72.14 pg/ml. AUC kao parameter dijagnostičke točnosti je iznosio 70.2%. Rezultati su prikazani na **Slici 18**.



***Slika 18**. ROC krivulja za biomarker p-tau$_{181}$ iz likvora pri usporedbi bolesnika s AB i zdravih kontrola. Dijagonalna linija ukazuje na područje u kojem ne postoji razlika u vrijednostima markera a plava linija pokazuje vrijednosti za različito izmjerene osjetljivosti i specifičnosti biomarkera.*

Za biomarker YKL-40 smo dobili osjetljivost od 71.4% i specifičnost od 66.7%. Granična vrijednost za razlikovanje AB od zdravih kontrola bila je 150144 pg/ml. AUC kao parameter dijagnostičke točnosti je bio 66.8%. Rezultati su prikazani na **Slici 19**.



Slika 19. *ROC krivulja za biomarker YKL-40 iz likvora pri usporedbi bolesnika s AB i zdravih kontrola. Dijagonalna linija ukazuje na područje u kojem ne postoji razlika u vrijednostima markera a plava linija pokazuje vrijednosti za različito izmjerene osjetljivosti i specifičnosti biomarkera.*

8. RASPRAVA

Pretpostavlja se da patološke promjene u AB počinju 20 – 25 godina prije pojave prvih simptoma bolesti, a time i mogućnosti kliničke dijagnoze. Prema McEvoy i sur. (13) kada se bolest dijagnosticira, teško ju je zaustaviti ili usporiti lijekovima. Prema Marumu (53) napori znanstvene zajednice se fokusiraju na razvijanje alata kojima bi mogli dijagnosticirati bolest u što ranijoj fazi kako bi terapija mogla djelovati prije nego što dođe do nepovratnog oštećenja mozga. Prema Babić i sur. (84) jedan od takvih alata je mjerenje koncentracije biomarkera u likvoru bolesnika. Tijekom zadnjih 20 godina su se istraživali razni biomarkeri čije bi osjetljivosti i specifičnosti bile dovoljno visoke da opravdaju njihovo korištenje. Do sada su nađena tri takva biomarkera: $A\beta_{42}$, t-tau i p-tau. Njihove prednosti su visoka osjetljivost i specifičnost te činjenica da relativno dobro odražavaju patološke procese u moždanom tkivu oboljelih od AB.

Većinom uslijed poteškoća rane dijagnostike AB, u klinički rad se uveo novi entitet: MCI. Prema Petersen (59) u tu skupinu se mogu svrstati pacijenti koji imaju umjerene poteškoće s pamćenjem koje ne odgovaraju za dob, no istodobno ne ispunjavaju dijagnostičke kriterije za dijagnozu demencije. Većina pacijenata s MCI kroz prosječno sedam godina razviju AB. Prema Petersen (59) problem u postavljanju dijagnoze MCI je činjenica da svi pacijenti s MCI u konačnici ne razviju AB. Prema objavljenim podacima, 25% njih ne razvije demenciju čak ni deset godina nakon postavljanja dijagnoze. Značaj biomarkera tu jako dolazi do izražaja zbog njihove visoke točnosti u predviđanju razvoja AB u skupini bolesnika s MCI.

Razinu biomarkera p-tau_{181} istraživana je zbog direktne povezanosti s patogenezom AB. Prema Iqbal i sur. (27) kako je tau protein u AB abnormalno hiperfosforiliran, razine tog proteina su također povišene, i to puno ranije od njegove akumulacije u neuronima u AB. Prema Vickers i sur. (25) fosforilacija tau proteina uzrokuje udruživanje tih proteina u NFT. Hiperfosforilacija uzrokuje poremećaj mikrotubula i retrogradnu degeneraciju aksona.

Razina biomarkera YKL-40 istraživana je zbog njegove potencijalne vrijednosti kao biomarkera upale u AB. Pretpostavljeno je da bi taj biljeg bio koristan u kombinaciji s ostalim biomarkerima za dijagnozu i praćenje progresije u ranom stadiju AB, tj. u pretkliničkom obliku bolesti, a po uzoru na istraživanje Kester i sur. (97).

U ovom istraživanju su uspoređivane vrijednosti dva biomarkera p-tau$_{181}$ i YKL-40 između triju skupina ispitanika: bolesnika s AB, bolesnika s MCI i ispitanicima kontrolne skupine. Istraživane su osjetljivosti, specifičnosti, granične vrijednosti i dijagnostička točnost navedenih biomarkera te je ustanovljeno postoje li korelacije između njih ili s nekim od drugih promatranih, a nezavisnih parametara. Prema The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group (106), idealni biomarker bi po svojim osobinama trebao imati osjetljivost iznad 85% i specifičnost iznad 85% te bi trebao biti pouzdan, neinvazivan i jeftin.

Prije provođenja analize vrijednosti biomarkera smo isključili jednog ispitanika iz istraživanja zbog vjerojatnog zagađenja uzorka, budući da su njegove vrijednosti bile previsoko iznad drugih uzoraka.

Vrijednosti biomarkera p-tau$_{181}$ su bile statistički značajno povišene u AB naspram MCI, kao i naspram kontrola. Ti rezultati potvrđuju prijašnja istraživanja te ga potvrđuju kao kvalitetan biomarker za dijagnostiku AB (20, 84, 88). U ovom istraživanju je, analizom ROC krivulje, dobivena osjetljivost biomarkera od 44.6% i specifičnost od 88.9% što naravno ne zadovoljava kriterije idealnog biomarkera. Granična vrijednost za razlikovanje AB naspram zdravih kontrola je bila 72.14 pg/ml, što je dosta blizu kriterijima koje je predložio Humpel (105). Rezimirajući, koristeći AUC kao parametar dijagnostičke točnosti ispitivanog biomarkera, dobili smo rezultat točnosti od 70.2%. Taj rezultat stavlja ispitivani biomarker u lošu kategoriju točnosti prema rasponu AUC od 0.7 – 0.8 prema Zhu i sur. (107).

Vrijednosti biomarkera YKL-40 su povišene u AB naspram MCI, no nisu u AB naspram kontrola i u skupini MCI naspram kontrola. Ti rezultati se mogu objasniti time što ako bolesnik ima MCI, velika je vjerojatnost da će razviti AB, i kako razvija AB, tako razine YKL-40 rastu. Prema Craig-Schapiro i sur. (95) taj biomarker potvrđuje svoju korist za praćenje progresije AB, kao i potencijal za mogućnost praćenja odgovora na terapiju. Prema Bonneh-Barkay (39) i prema Antonell i sur. (93) povišene razine YKL-40 u brojnim upalnim i neurološkim bolestima objašnjavaju zašto vrijednost YKL-40 ne korelira s kontrolnom skupinom. U ovom je istraživanju, analizom ROC krivulje, izmjerena osjetljivost tog biomarkera bila 71.4% a specifičnost 66.7% što također ne zadovoljava kriterije idealnog biomarkera. Granična vrijednost za razlikovanje AB naspram zdravih kontrola je bila 150144 pg/ml, što je dosta koristan podatak

jer u literaturi još ne postoji konsenzus za granične vrijednosti tog biomarkera. Koristeći AUC kao parametar dijagnostičke točnosti ispitivanog biomarkera dobiven je rezultat točnosti od 66.8%. Taj rezultat stavlja ispitivani biomarker u jako lošu kategoriju točnosti prema rasponu AUC od 0.6 – 0.7, prema Zhu i sur. (107).

Međusobna povezanost biomarkera YKL-40 i p-tau$_{181}$ dokazana je s visokom statističkom značajnošću. To potvrđuje rezultate prijašnjih istraživanja o povezanosti YKL-40 i p-tau$_{181}$, npr. prema Perrin i sur. (92). Ta činjenica bi se mogla iskoristiti za kombinirano određivanje tih biomarkera, čime bi poboljšali dijagnostičku vrijednost naspram samostalnog mjerenja svakog pojedinog biomarkera. Također je dokazana pozitivna korelacija između vrijednosti YKL-40 i dobi ispitanika, što potvrđuje rezultate prijašnjih istraživanja, poput Antonell i sur. (93). Pozitivna korelacija razina YKL-40 i dobi ispitanika je korisna jer nam omogućuje standardizaciju rezultata razina YKL-40 prema dobi ispitanika, tako da se u budućnosti umjesto jedne granične vrijednosti primjenjuju granične vrijednosti tog biomarkera prema dobi ispitanika.

Iako nismo dobili ohrabrujuće podatke za vrijednosti biomarkera p-tau$_{181}$ i YKL-40, njihova vrijednost je u mogućnosti uporabe u kombinaciji s biomarkerima AB kada povećavaju ukupnu dijagnostičku osjetljivost i specifičnost. Kako vrijednosti YKL-40 i p-tau$_{181}$ odražavaju drugačije patofiziološke procese u mozgu, njihovom implementacijom bi se mogla istovremeno pratiti i razina hiperfosforilacije tau proteina kao i razina upale u mozgu pacijenata oboljelih od AB. S obzirom da smo u istraživanju imali relativno mali broj ispitanika s MCI i kontrola, za potvrdu ovih rezultata potrebno je analizirati veći broj ispitanika, te ih po mogućnosti pratiti i analizirati longitudionalno (u više vremenskih točaka).

9. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata istraživanja zaključeno je:

- Vrijednosti biomarkera p-tau$_{181}$ su statistički značajno povišene u AB naspram MCI i kontrolne skupine, dok između bolesnika s MCI i kontrolne skupine nije nađena statistički značajna razlika. Osjetljivost biomarkera p-tau$_{181}$ je 44.6%, a specifičnost 88.9%, što ne zadovoljava kriterije idealnog biomarkera. Ukupna dijagnostička točnost korištenog biomarkera je 70.2%
- Vrijednosti biomarkera YKL-40 su statistički značajno povišene u AB naspram MCI, dok između bolesnika s AB naspram kontrola i bolesnika s MCI naspram kontrola nije nađena statistički značajna razlika. Osjetljivost biomarkera YKL-40 bila je 71.4%, a specifičnost 66.7%, što ne zadovoljava kriterije idealnog biomarkera. Ukupna dijagnostička točnost korištenog biomarkera je 66.8%.
- Vrijednosti biomarkera YKL-40 i p-tau$_{181}$ bile su statistički značajno povezane.
- Vrijednosti biomarkera YKL-40 statistički značajno korelira s dobi ispitanika.

10. ZAHVALE

Zahvaljujem se svojem mentoru prof. dr. sc. Goranu Šimiću, dr. med. i pomoćnoj voditeljici Mirjani Babić Leko, mag. biol. mol. za njihovu podršku i pomoć tokom pisanja diplomskog rada. Također se zahvaljujem prof. dr. sc. Goranu Šimiću, dr. med. i doc. dr. dc. Goranu Sedmaku, dr. med. za pružanje mogućnosti ulaska u znanstveni svijet i otkrivanja ljepote istraživanja mozga. Prenijeli su mi ogromnu strast za neuroznanost koja je kako sam prolazio studij samo rasla.

Zahvaljujem svojim roditeljima Višnji i Jošku koji su mi omogućili studiranje te me podržavali, savjetovali i bili mi podrška kroz cijeli studij, i mom bratu Marinu koji mi je bio oslonac u svakom trenutku mog života te iskren prijatelj cijelog puta. Također hvala i mojim prijateljima na predivnim trenutcima zabave i opuštanja tokom studija, neću zaboraviti naše avanture.

11. POPIS LITERATURE

1. World Health Organization. The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders, Clinical descriptions and diagnostic guidelines. [Internet]. World Health Organization; 1992 [pristupljeno 03.05.2016.]. Dostupno na: http://www.who.int/classifications/icd/en/bluebook.pdf
2. Alzheimer's Association. 2015 Alzheimer's Disease Facts and Figures [Internet]. Alzheimer Dement [pristupljeno 28.4.2016.]. 11(3):322-410. Dostupno na https://www.alz.org/facts/downloads/facts_figures_2015.pdf
3. Blennow K, Leon M, Zetterberg H. Alzheimer's disease. Lancet 2006;368:387-403. doi: http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69113-7
4. Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali GC, Wu YT, Prina M. World Alzheimer Report 2015 The Global Impact of Dementia: an analysis of prevalence, incidence, cost and trends [Internet]. Alzheimer's Disease International [pristupljeno 3.5.2016.]. Dostupno na: https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2015.pdf
5. National Institute on Aging. 2015 Alzheimer's Disease Fact Sheet [Internet]. Alzheimer's Disease Education and Referral Center [pristupljeno 29.4.2016.]. Dostupno na: https://www.nia.nih.gov/alzheimers/publication/alzheimers-disease-fact-sheet
6. National Institute on Aging. 2015 Alzheimer's Disease Genetics Fact Sheet [Internet]. Alzheimer's Disease Education and Referral Center [pristupljeno 29.4.2016.]. Dostupno na: https://www.nia.nih.gov/alzheimers/publication/alzheimers-disease-genetics-fact-sheet
7. Bekris LM, Yu CE, Bird TD, Tsuang DW. Genetics of Alzheimer Disease. J Geriatr Psychiatry Neurol. 2010;23(4):213-27. doi: 10.1177/0891988710383571
8. Farrer LA, Cupples A, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R i sur. Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association Between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease. JAMA. 1997;278(16):1349-56
9. Mahley RW. Central Nervous System Lipoproteins: ApoE and Regulation of Cholesterol Metabolism. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2016;36:00-00. doi:10.1161/ATVBAHA.116.307023
10. Xu Q, Bernardo A, Walker D, Kanegawa T, Mahley RW, Huang Y. Profile and Regulation of Apolipoprotein E (ApoE) Expression in the CNS in Mice with Targeting of Green Flourescent Protein Gene to ApoE Locus. J Neurosci. 2006:26(19):4985-94
11. Kauwe JSK, Bailey MH, Ridge PG, Perry R, Wadsworth ME, Hoyt KL i sur. Genome-Wide Association Study of CSF Levels of 59 Alzheimer's Disease Candidate Proteins: Significant Associations with Proteins Involved in Amyloid Processing and Inflammation. PLoS Genet. 2014;10(10):e1004758. doi: 10.1371/journal.pgen.1004758
12. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. Biol Psychiatry. 2015;77(1):43-51. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.05.006
13. McEvoy LK, Fennema-Notestine C, Roddey JC, Hagler DJ, Holland D, Karow DS i sur. Alzheimer Disease: Quantitative Structural Neuroimaging for Detection and Prediction of clinical and Structural Changes in Mild Cognitive Impairment. Radiology. 2009;251(1):195-205.doi: 10.1148/radiol.2511080924

14. Perl DP. Neuropathology of Alzheimer's Disease. Mt Sinai J Med. 2010;77:32-42. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005
15. Woodhouse A, West AK, Chuckowree A, Vickers JC, Dickson TC. Does β-Amyloid Plaque Formation Cause Structural Injury to Neuronal Processes? Neurotox Res. 2005;7(1,2):5-15
16. Dickson TC, Vickers JC. The morphological phenotype of β-amyloid plaques and associated neuritic changes in Alzheimer's disease. Neurosci. 2001;105(1):99-107
17. Tiraboschi P, Hansen LA, Thal LJ, Corey-Bloom J. The importance of neuritic plaques and tangles to the development and evolution of AD. Neurology. 2004;62(11):1984-9.
18. Pulawski W, Ghoshdastider U, Andrisano V, Filipek S. Ubiquitous Amyloids. Appl Biochem Biotechnol. 2012;166:1626-43. doi: 10.1007/s12010-012-9549-3
19. Sgourakis NG, Merced-Serrano M, Boutsidis C, Drineas P, Du Z, Wang C i sur. Atomic-level characterization of the ensemble of the Aβ (1-42) monomer in water using unbiased Molecular Dynamics simulations and spectral algorithms. J Mol Biol. 2012;405(2):570-83. doi: 10.1016/j.jmb.2010.10.015
20. Kang JH, Korecka M, Toledo JB, Trojanowski JQ, Shaw LM. Clinical Utility and Analytical Challenges in Measurement of Cerebrospinal Fluid Amyloid-β(1-42) and τ Proteins as Alzheimer Disease Biomarkers. Clin Chem. 2013;59(6):903-16. doi: 10.1373/clinchem.2013.202937
21. Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. Proc Natl Acaf Sci U.S.A. 1975;72:1858-62
22. Neve RL, Harris P, Kosik KS, Kurnit DM, Donlon Ta. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. Brain Res. 1986;387(3):271-80
23. Caceres A, Kosik KS. Inhibition of neurite polarity by tau antisense oligonucleotides in primary cerebellar neurons. Nature 1990;343:461-3
24. Ebneth A, Godemann R, Stamer K, Illenberger S, Trinczek B, Mandelkow E. Overexpression of tau protein inhibits kinesin-dependent trafficking of vesicles, mitochondria, and endoplasmic reticulum: implications for Alzheimer's disease. J Cell Biol. 1998;143:777-94
25. Vickers JC, Delacourte A, Morrison JH. Progressive transformation of the cytoskeleton associated with normal aging and Alzheimer's disease. Brain Res. 1992;594:273-8
26. Alonso AC, Li B, Grundke-Iqbal I, Iqbal K. Mechanism of Tau-Induces Neurodegeneration in Alzheimer Disease and Related Tauopathies. Curr Alzheimer Res. 2008;5:375-84. doi: 10.2174/156720508785132307
27. Iqbal K, Alonso AC, Chen S, Chohan MO, El-Akkad E, Gong CX i sur. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. Biochim Biophys Acta. 2005;1739(2-3):198-210
28. Kidd M. Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. Nature 1963;197:192-4
29. Wischik CM, Novak M, Thogersen HC, Edwards PC, Runswick MJ i sur. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1988;85(12):4506-10

30. Roberson ED, Scearce-Levie K, Palop JJ, Yan F, Cheng IH, Wu T, Gerstein H, Yu GQ, Mucke L. Reducing endogenous tau ameliorates amyloid β-induced deficits in a Alzheimer's disease mouse model. Science. 2007;317:750-4. doi:10.1126/science.1141736
31. Bierer LM, Hof PR, Purohit DP, Carlin L, Schmeidler J, Davis KL, Perl DP. Neocortical neurofibrillary tangles correlate with dementia severity in Alzheimer's disease. Arch Neurol. 1995;52:81-8
32. Morrison JH, Hof PR. Life and Death of Neurons in the Aging Brain. Science. 1997;278:412-9
33. Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL. The Brain's Default Network: Anatomy, Function, and Relevance to Disease. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2008;1124:1-38. doi: 10.1196/annals.1440.011
34. Gusnard DA, Akbudak E, Shulman Gl, Raichle ME. Medial prefrontal cortex and self-referential mental activity: relation to a default mode of brain function. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2001;98:4259-64
35. Gusnard DA, Raichle ME. Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. Nat. Rev. Neurosci. 2001;2:685-94
36. Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V. Functional connectivity in the resting brain: A network analysis of the default mode hypothesis. PNAS. 2003;100(1):253-8. doi: 10.1073/pnas.0135058100
37. Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, Menon V. Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: Evidence from functional MRI. PNAS. 2004;101(13):4637-42. doi:10.1073/pnas.0308627101
38. Buckner Rl, Snyder AZ, Shannon BJ, LaRossa G, Sachs R, Fotenos AF, Sheline YI, Klunk W, Mathis CA, Morris JC, Mintun MA. Molecular, Structural, and Functional Characterization of Alzheimer's Disease: Evidence for a Relationship between Default Activity, Amyloid, and Memory. 2005;25(34):7709-17. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2177-05.2005
39. Bonneh-Barkay D, Wang G, Starkey A, Hamilton RL, Wiley CA. In vivo CHI3L1 (YKL-40) expression in astrocytes in acute and chronic neurological diseases. J Neuroinflammation. 2010;7:34. doi: 10.1186/1742-2094-7-34
40. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. Neurology. 1984.
41. Knopman DS, DeKosky ST, Cummings JL, Chui H, Corey-Bloom J, Relkin N i sur. Practice parameter: Diagnosis of Dementia (an evidence-based review) Report of the Quality Standards Subcommitee of the American Academy of Neurology. Neurology. 2001
42. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Bradley TH, Jack CR, Kawas CH i sur. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on the diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2011;7(3):263-9. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005

43. Gaugler JE. Kane RL, Johnston JA, Sarsour K. Sensitivity and Specificity of Diagnostic Accuracy in Alzheimer's Disease: A Synthesis of Existing Evidence. Am J of Alzheimer's Dis Other Demen. 2013;28(4):337-47. doi: 10.1177/1533317513488910
44. Hyman BT, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Carrilo MC i sur. National Institute on Aging – Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. Alzheimers Dement. 2012;8:1-13. doi: 10.1016/j.jalz.2011.10.007
45. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Schultz SK, Kuhl EA, ur. 5. izd. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, c2013
46. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-Mental State" A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinitian. J. Psychiat. Res. 1975;12:189-98
47. Boban M, Malojčić B, Mimica N, Vuković S, Zrilić I, Hof PR i sur. The Reliability and Validity of the Mini-Mental State Examination in the Elderly Croatian Population. Dement Geriatr Cogn Disord. 2012;33:385-92. doi: 10.1159/000339596
48. Arevalo-Rodriguez I, Smailagic N, Roqué I Figuls M, Ciapponi A, Sanchez-Perez E i sur. Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of Alzheimer's disease and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2015 [pristupljeno 28.4.2016.]. Dostupno na: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD010783.pub2/full
49. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bedirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I i sur. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A Brief Screening Tool for Mild Cognitive Impairment. American Geriatr Soc. 2005;53:695-9.
50. Morris JC. The Clinical Dementia Rationg (CDR): current version and scoring rules. Neurology. 1993;43(11)2412-4.
51. Cedarbaum JM, Jaros M, Hernandez C, Coley N, Andrieu S, Grundman M i sur. Rationale for use of the Clinical Dementia Rating Sum of Boxes as a primary outcome measure for Alzheimer's disease clinical trials. Alzheimers Dement. 2013;9(1):S45-55. doi:10.1016/j.jalz.2011.11.002
52. Agrell B, Dehun O. The clock-drawing test. Age Ageing. 1998;27:399-403. doi:10.1.1.615.6556
53. Marum RJ. Current and future therapy in Alzheimer's disease. Fundam Clin Pharmacol. 2008;22:265-74. doi: 10.1111/j.1472-8206.2008.00578.x
54. Mangialasche F, Solomon A, Winblad B, Mecocci P, Kivipelto M. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. Lancet Neurol. 2010;9:702-16. doi: 10.1016/S1474-4422(10)70119-8
55. Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. Arch Neurol. 1999;56(3):303-8.
56. Petersen R. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. J Intern Med. 2004;256(3):183-94.
57. Petersen RC, Negash S. Mild Cognitive Impairment: An Overview. CNS Spectr. 2008;13(1)45-53.
58. Petersen RC. Mild Cognitive Impairment. N Engl J Med. 2011;364:2227-34. doi: 10.1056/NEJMcp0910237

59. Petersen RC, Caracciolo B, Brayne C, Gauthier S, Jelic V, Fratiglioni L. Mild Cognitive Impairment: a Concept in Evolution. J Intern Med. 2014;275:214-28. doi: 10.1111/joim.12190
60. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund LO i sur. Mild cognitive impairment – beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. J Intern Med. 2004;256:240-6. doi: 10.1111/j.1365-2796.2004.01380.x
61. Ward A, Arrighi HM, Michelss S, Cedarbaum JM. Mild cognitive impairment: Disparity of incidence and prevalence estimates. Alzheimer's Dement. 2012;8:14-21. doi: 10.1016/j.jalz.2011.01.002
62. Gordon C, Martin DJ. Mild cognitive impairment. Expert Rev neurother. 2013;13(11):1247-61. doi: 10.1586/14737175.2013.856265
63. Risacher SL, Kim S, Shen L, Nho K, Foroud T, Green RC i sur. The role of apolipoprotein E (*APOE*) genotype in early mild cognitive impairment (E-MCI). Front Aging Neurosci. 2013;5(11):1-12. doi: 10.3389/fnaqi.2013.00011
64. Xu W, Caracciolo B, Wang HX, Winblad B, Backman L, Qiu C i sur. Accelerated Progression From Mild Cognitive Impairment to Dementia in People With Diabetes. Diabetes. 2010;59(11)-2928-35. doi: 10.2337/db10-0539
65. Vidal JS, Aspelund T, Jonsdottir MK, Jonsson PV, Harris TB, Lopez OL, Gudnason V, Launer LJ. Pulmonary function impairment may be an early risk factor for late-life cognitive impairment. J Am Geriatr Soc. 2013;61(1):79-83. doi: 10.1111/jgs.12069
66. Gao Y, Huang C, Zhao K, Ma L, Qiu X, Zhang L i sur. Depression as a risk factor for dementia and mild cognitive impairment: a meta-analysis of longitudional studies. Int J Geriatr Psychiatry. 2013;28(5):441-9. doi: 10.1002/gps.3845
67. Ancelin ML, Artero S, Portet F, Dupuy AM, Touchon J, Ritchie K. Non-degenerative mild cognitive impairment in elderly people and use of anticholinergic drugs: longitudinal cohort study. BMJ. 2006;332(7539):455-9.
68. Geda YE, Roberts RO, Knopman DS, Christianson Tj, Pankratz VS, Ivnik RJ i sur. Physical exercise, aging, and mild cognitive impairment: a population-based study. Arch Neurol. 2010;67(1):80-6. doi: 10.1001/archneurol.2009.297
69. Dufouil C, Alperovitch A, Tzourio C. Influence of education on the relationship between white matter lesions and cognition. Neurology. 2003;60(5):831-6.
70. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC i sur. 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(3)270-9. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.008
71. Weiner MW, Veitch DP, Aisen PS, Beckett LA, Cairns NJ, Cedarbaum J i sur. Update of the Alzheimer's Disease Neurimaging Initiative: A review of papers published since its inception. Alzheimers Dement. 2014;11(6):e1-120. doi: 10.1016/j.jalz.2014.11.001

72. Tarawneh R, Head D, Allison S, Buckles V, Fagan AM, Ladenson JH i sur. Cerebrospinal Fluid Markers of Neurodegeneration and rates of Brain Atrophy in Early Alzheimer Disease. JAMA Neurol. 2015;72(6):656-65. doi: 10.1001/jamaneurol.2015.0202
73. Fennema-Notestine C, McEvoy LK, Hagler DJ, Jacobson MW, Dale AM. Structural neuroimaging in the detection and prognosis of pre-clinical and early AD. Behav Neurol. 2009;21(1):3-12. doi: 10.3233/BEN-2009-0230
74. Jagust W. Positron emission tomography and magnetic resonance imaging in the diagnosis and prediction of dementia. Alzheimers Dement. 2006;2(1):36-42. doi: 10.1016/j.jalz.2005.11.002
75. Rabinovici GD, Furst AJ, O'Neil JP, Racine CA, Mormino EC, Baker SL i sur. 11C-PIB PET imaging in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. Neurology. 2007;68:1205-12.
76. Jagust WJ, Landau Sm, Shaw LM, Trojanowski JQ, Koeppe RA, Reiman EM i sur. Relationships between biomarkers in aging and dementia. Neurol. 2009;73:1193-9. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181bc010c
77. Okamura N, Harada R, Furumoto S, Arai H, Yanai K, Kudo Y. Tau PET imaging in Alzhimer's disease. Curr Neurol Neurosci Rep. 2014;14(11):500. doi: 10.1007/s11910-014-0500-6
78. James OG, Doraiswamy PM, Borges-Neto S. PET imaging of tau pathology in Alzheimer's disease and tauopathies. Front Neurol. 2015;6:38. doi: 10.3389/fneur.2015.00038
79. Johnson KA, Jones K, Holman BL, Becker JA, Spiers PA, Satlin A i sur. Preclinical prediction of Alzheimer's disease using SPECT. Neurology. 1998;50:1563-71.
80. Kogure D, Matsuda H, Ohnishi T, Asada T, Uno M, Kunihiro T i sur. Longitudional evaluation of early Alzheimer's disease using brain perfusion SPECT. J Nucl Med. 2000;41:1155-62.
81. Jagust W, Thisted R, Devous MD, Heertum RV, Mayberg H, Jobst K i sur. SPECT perfusion imaging in the diagnosis of Alzheimer's disease: a clinical-pathologic study. Neurology. 2001;56(7):950-6.
82. Johnson SC, Sayking AJ, Baxter LC, Flashman LA, Santulli RB, McAllister TW i sur. The Relationship between fMRI Activation and Cerebral Atrophy: Comparison of Normal Aging and Alzheimer Disease. NeuroImage. 2000;11:179-87.
83. Rombouts SA, Barkhof F, Goekoop R, Stam CJ, Scheltens P. Altered Resting State Networks in Mild Cognitive Impairment and Mild Alzheimer's Disease: An fMRI Study. Hum Brain Mapp. 2005;26:231-9.
84. Babić M, Švob Štrac D, Mück-Šeler D, Pivac N, Stanić G, Hof RP i sur. Update on the core and developing cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease. Croat Med J. 2014;55:347-65. doi: 10.3325/cmj.2014.55.347
85. Teunissen CE, Tumani H, Engelborghs S, Mollenhauer B. Biobanking of CSF: International standardization to optimize biomarker development. Clin Biochem. 2013;47(4-5):288-92. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.12.024

86. Nazco CV, Pérez LP, Molinuevo JL, Mar J, Castilla I, Aguilar PS. Cost-Effectiveness of the Use of Biomarkers in Cerebrospinal Fluid for Alzheimer's Disease. J Alzheimers Dis. 2014;42(3):777-88. doi: 10.3233/JAD-132216

87. Jack CR Jr, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. Lancet Neurol. 2013;12:207-16. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70291-0

88. Ewers M, Mattsson N, Minthon L, Molinuevo JL, Antonell A, Popp J i sur. CSF biomarkers for the differential diagnosis of Alzheimer's disease. A large-scale international multicenter study. Alzheimers Dement. 2015;11(11):1306-15. doi: 10.1016/j.jalz.2014.12.006

89. Tang W, Huang Q, Yao YY, Wang Y, Wu YL, Wang ZY. Does CSF p-tau181help to discriminate Alzheimer's disease from other dementias and mild cognitive impairment? A meta-analysis of the literature. J Neural Transm. 2014;121(12):1541-53. doi: 10.1007/s00702-014-1226-y

90. Malnar M, Kosicek M, Bene R, Tarnik IP, Pavelin S, Babić I i sur. Use of cerebrospinal fluid biomarker analysis for improving Alzheimer's disease diagnosis in a non-specialized setting. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2012;72(3):264-71.

91. Seppälä TT, Louhij UM, Appelberg B, Herukka SK, Juva K. Comparison Between Clinical Diagnosis and CSF Biomarkers of Alzheimer Disease in Elderly Patients with Late Onset Psychosis: Helsinki Old Age Psychosis Study (HOPS). Am J Geriatr Psychiatry. 2013;22(9):908-16. doi: 10.1016/j.jagp.2012.08.020

92. Perrin RJ, Craig-Schapiro R, Malone JP, Shah AR, Gilmore P, Davis AE i sur. Identification and Validation of Novel Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Staging Early Alzheimer's Disease. PLoS Genet. 2011;6(1):e16032. doi: 10.1371/journal.pone.0016032

93. Antonell A, Mansilla A, Rami L, Lladó A, Iranzo A, Olives J i sur. Cerebrospinal Fluid Level of YKL-40 Protein in Preclinical and Prodromal .Alzheimer's Disease. J Alzheimers Dis. 2014;42(3):901-8. doi: 10.3233/JAD-140624

94. Alcolea D, Carmona-Iragui M, Suárez-Calvet M, Sánchez-Saudinós MB, Sala I, Antón-Aguirre S i sur. Relationship between β-Secretase, Inflammation and Core Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Alzheimer's Disease. J Alzheimers Dis. 2014;42(1):157-67. doi: 10.3233/JAD-140240

95. Craig-Schapiro R, Perrin RJ, Roe CM, Xiong C, Carter D, Cairns NJ i sur. YKL-40: A Novel Prognostic Fluid Biomarker for Preclinical Alzheimer's Disease. Biol Psychiatry 2010;68(10):903-12. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.08.025

96. Rosén C, Andersson C-H, Andreasson U, Molinuevo JL, Bjerke M, Rami L i sur. Increased Levels of Chitotriosidase and YKL-40 in Cerebrospinal Fluid from Patients with Alzheimer's Disease. Dement Geriatr Cogn Disord Extra 2014;4:297-304. doi: 10.1159/000362164

97. Kester MI, Teunissen CE, Sutphen C, Herries EM, Ladenson JH, Xiong C i sur. Cerebrospinal fluid VILIP-1 and YKL-40, candidate biomarkers to diagnose, predict and monitor Alzheimer's disease in a memory clinic cohort. Alzheimers Res Ther. 2015;7(1):59. doi: 10.1186/s13195-015-0142-1

98. Olsson B, Hertze J, Lautner R, Zetterberg H, Nägga K, Höglund K i sur. Microglial Markers are Elevated in the Prodromal Phase of Alzheimer's Disease and Vascular Dementia. J Alzheimers Dis. 2013;33:45-53. doi: 10.3233/JAD-2012-120787

99. Sutphen CL, Jasielec MS, Shah AR, Macy EM, Xiong C, Vlassenko AG i sur. Longitudinal Cerebrospinal Fluid Biomarker Changes in Preclinical Alzheimer Disease During Middle Age. JAMA Neurol. 2015;72(9):1029-42. doi: 10.1001/jamaneurol.2015.1285

100. Alcolea D, Vilaplana E, Pegueroles J, Montal V, Sánchez-Juan P, González-Suárez A i sur. Relationship between cortical thickness and cerebrospinal fluid YKL-40 in predementia stages of Alzheimer's disease. Neurobiol Aging. 2015;36(6):2018-23. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.03.001

101. Janelidze S, Hertze J, Zetterberg H, Waldö ML, Santillo A, Blennow K i sur. Cerebrospinal fluid neurogranin and YKL-40 as biomarkers of Alzheimer's disease. Ann Clin Transl Neurol. 2016;3(1):12-20. doi: 10.1002/acn3.266

102. Wennström M, Surova Y, Hall S, Nilsson C, Minthon L, Hansson O i sur. The Inflammatory Marker YKL-40 Is Elevated in Cerebrospinal Fluid from Patients with Alzheimer's but Not Parkinson's Disease or Dementia with Lewy Bodies. PLoS One 2015;10(8):e0135458. doi: 10.1371/journal.pone.0135458

103. Hellwig K, Kvartsberg H, Portelius E, Andreasson U, Oberstein TJ, Lewczuk P i sur. Neurogranin and YKL-40: independent markers of synaptic degeneration and neuroinflammation in Alzheimer's disease. Alzheimers Res Ther. 2015;7(1):74. doi: 10.1186/s13195-015-0161-y

104. Schonknecht P., Pantel J., Kaiser E., Thomanna P., Schroder J. Increased tau protein differentiates mild cognitive impairment from geriatric depression and predicts conversion to dementia. Neurosci Lett. 2007;416:39-42. doi:10.1016/j.neulet.2007.01.070

105. Humpel C. Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. Trends Biotechnol. 2011;29(1):26-32. doi: 10.1016/j.tibtech.2010.09.007

106. The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease" in 1998 [Internet]. Neurobiol Aging [pristupljeno 29.4.2016]. Dostupno na: http://www.neurobiologyofaging.org/article/S0197-4580(98)00022-0/fulltext.

107. Zhu W, Zeng N, Wang N. Sensitivity, Specificity, Accuracy, Associated Confidence Interval and ROC Analysis with Practical SAS Implementations [Internet]. NESUG proceedings: health care and life sciences, Baltimore, Maryland 2010 [pristupljeno 02.05.2016.]. Dostupno na: http://www.lexjansen.com/nesug/nesug10/hl/hl07.pdf.

12. ŽIVOTOPIS

Rođen sam u Čakovcu, 17.03.1992. godine. Osnovnoškolsko obrazovanje ostvario sam u III. osnovnoj školi Čakovec, a srednjoškolsko obrazovanje sam ostvario u Gimnaziji Čakovec, prirodoslovno-matematički smjer. Redovio sam pohađao natjecanja iz matematike.

Medicinski fakultet upisujem 2010. godine. Demonstrator sam na Katedri za temelje neuroznanosti od akademske godine 2012./2013. do kraja studija 2015./2016. Uz redovito obavljanje fakultetskih obaveza aktivno sudjelujem u radu studentskih sekcija. Član sam vodstva Studentske sekcije za neuroznanost od 2014. godine. 2016. godine sam preuzeo predsjedništvo sekcije do završetka studija. Također sam pisao članke u studentskom časopisu Gyrus te sam dio uredničkog vijeća. U kolovozu 2012. godine sam sudjelovao u znanstvenoj studentskoj razmjeni International Federation of Medical Student's Associations (IFMSA), u Turskoj, Ankara, na odjelu anatomije. Kao aktivan sudionik sudjelovao sam na 4. hrvatskom kongresu o prevenciji i rehabilitaciji u psihijatriji s temom Post inzultna depresija, te sam bio pasivan sudionik na 4. i 5. hrvatskom kongresu neuroznanosti, na 6. kongresu o Alzheimerovoj bolesti, na kongresu Ars Medica 2014., na studentskom kongresu neuroznanosti u Rijeci NeuRi 2012., 2013., i 2014. godine i na 12. studentskom kongresu CROatian Student Summit, CROSS.

Volontirao sam u Hrvatskoj udruzi za Alzheimerovu bolest od 2012. do 2014. godine. Aktivno se služim engleskim jezikom (C1) i učim njemački jezik (A2). Imam dobro poznavanje i osposobljenost za rad s Adobe Photoshop-om i Ableton Live-om.