

mgr Monika Agata Mandecka

Rozprawa doktorska

Związek markerów biochemicznych choroby Alzheimera
z funkcjonowaniem poznawczym w zespołach
subiektywnych i łagodnych zaburzeń poznawczych
oraz w otępieniu typu alzheimerowskiego.

Promotor: dr hab. Tomasz Gabryelewicz, prof. IMDiK PAN

Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego
Polska Akademia Nauk
Zespół Kliniczno-Badawczy Chorób Zwyrodnieniowych
Centralnego Układu Nerwowego

Warszawa 2017

Składam serdeczne podziękowania dla Promotora Pana Profesora Tomasza Gabryelewicza za wyrozumiałość, cierpliwość oraz pomoc i cenne wskazówki w trakcie pisania tej pracy oraz Pani Profesor Marii Barcikowskiej za inspirację i możliwość realizowania tego projektu.

Współpracownikom z Oddziału Alzheimerowskiego Kliniki Neurologii CSK MSWiA oraz z Zespołu Kliniczno-Badawczego Chorób Zwyrodnieniowych CUN pragnę podziękować za życzliwość oraz miłą atmosferę pracy.

Najbliższym serdecznie dziękuję za cierpliwość i nieustające wsparcie.

[Wyniki uzyskane w niniejszej rozprawie zostały częściowo wykorzystane w publikacji:](#)

Mandecka M, Budziszewska M, Barczak A, Pepłońska B, Chodakowska-Żebrowska M, Filipek-Gliszczyńska A, Nesteruk M, Styczyńska M, Barcikowska M, Gabryelewicz T (2016) Association between Cerebrospinal Fluid Biomarkers for Alzheimer's Disease, APOE Genotypes and Auditory Verbal Learning Task in Subjective Cognitive Decline, Mild Cognitive Impairment, and Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis.* 54, 157–168.

[oraz w opublikowanych abstraktach z recenzowanych konferencji w suplemencie do czasopisma Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association:](#)

Mandecka M, Budziszewska M, Barczak A, Filipek A, Styczynska M, Barcikowska M, Gabryelewicz T (2013) Cognitive functions and CSF biomarkers in MCI: Preliminary findings of follow-up study. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 9, P220–P221.

Mandecka M, Barczak A, Budziszewska M, Styczynska M, Barcikowska M, Gabryelewicz T (2015) The cerebrospinal fluid "alzheimer profile" and episodic memory in SCI, MCI, and Alzheimer's disease sample patients. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 11, P508.

Przedstawione w rozprawie doktorskiej badania zostały sfinansowane ze środków statutowych Zespołu Kliniczno-Badawczego Chorób Zwyrodnieniowych Centralnego Układu Nerwowego Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego Polskiej Akademii Nauk oraz ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu pt.: „Biomarkery dla choroby Alzheimera i Parkinsona”.

Wykaz skrótów używanych w rozprawie

A β ₁₋₄₂	amyloid- β 1-42
A β ₁₋₄₂ /p-tau	wskaźnik A β ₁₋₄₂ /p-tau
A β ₁₋₄₂ /t-tau	wskaźnik A β ₁₋₄₂ /t-tau
AD	(ang. <i>Alzheimer's disease</i>) – choroba Alzheimera
AD-D	(ang. <i>Alzheimer's type of dementia</i>) grupa badanych pacjentów, u których ustalono kliniczne rozpoznanie AD
APOE	(ang. <i>apolipoprotein E</i>) - apolipoproteina E
APOE ϵ 4+	osoby posiadające przynajmniej jedną kopię allelu ϵ 4 genu APOE
APOE ϵ 4-	osoby nie posiadające kopii allelu ϵ 4 genu APOE (posiadające genotyp ϵ 2/ ϵ 2, ϵ 2/ ϵ 3, ϵ 3/ ϵ 3 APOE)
APP	(ang. <i>β-amyloid precursor protein</i> – APP) - gen białka prekursorowego amyloidu- β
Arg	arginina
AVLT	(ang. <i>Auditory Verbal Learning Test</i>) – test uczenia się słuchowego
CDR	(ang. <i>Clinical Dementia Rating</i>) - Skala Klinicznej Oceny Stopnia Ołepienia
CR	(ang. <i>cognitive reserve</i>) – rezerwa poznawcza
CSF	(ang. <i>cerebrospinal fluid</i>) – płyn mózgowo-rdzeniowy
Cys	cysteina
DMN	(ang. <i>default mode network</i>) – sieć wzbudzeń podstawowych
GDS	(ang. <i>Global Deterioration Scale</i>) - Skala Ogólnej Deterioracji
IBM SPSS	(ang. <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>) – oprogramowanie do statystycznej analizy danych firmy IBM
K	kobiety
M	mężczyźni
MCI	(ang. <i>Mild Cognitive Impairment</i>) – łagodne zaburzenia poznawcze
MMSE	(ang. <i>Mini Mental State Examination</i>) – Krótka Skala Oceny Stanu Psychicznego

NIA/AA	(ang. <i>National Institute on Aging–Alzheimer’s Association</i>) – amerykańskie Stowarzyszenie Alzheimerowskie i Narodowy Instytut Starzenia
OUN	ośrodkowy układ nerwowy
PET	(ang. <i>positron emission tomography</i>) – badanie pozytronowej tomografii emisyjnej
PFC	(ang. <i>prefrontal cortex</i>) – kora przedczołowa
PIB	(ang. <i>Pittsburgh compound B</i>) – marker wiążący amyloid
PSEN 1	gen kodujący białko preseniliny 1
PSEN 2	gen kodujący białko preseniliny 2
p-tau	(ang. <i>phosphorylated tau 181</i>) - ufosforylowane białko tau 181
SCD	(ang. <i>Subjective Cognitive Decline</i>) – subiektywne zaburzenia poznawcze
SCI	(ang. <i>Subjective Cognitive Impairment</i>) – subiektywne zaburzenia poznawcze
SMI	(ang. <i>Subjective Memory Impairment</i>) – subiektywne zaburzenia pamięci
TMT	(ang. <i>Trail Making Test</i>) – Test Łączenia Punktów z Baterii Testów Halsteda – Reitana
t-tau	(ang. <i>total tau</i>) - całkowite białko tau
WHO	(ang. <i>World Health Organization</i>) – Światowa Organizacja Zdrowia

Spis tabel i rycin zamieszczonych w rozprawie

Różnice w atrofikacji korowej mózgu związanej z wiekiem i w AD (Harada i wsp., 2013).	str. 21
Progresja zmian w zakresie funkcjonowania poznawczego a progresja zmian patologicznych związanych z AD. Opracowano na podstawie Jessen i wsp. (2014).	str. 24
Schemat wpływu APOE $\epsilon 4$ na patomechanizm AD. Opracowano na podstawie Jack i wsp. (2010).	str. 34
Schemat przeprowadzonych badań i analiz w projekcie badawczym.	str. 41
Poziom amyloidu $A\beta_{1-42}$ w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 53
Poziom całkowitego białka t-tau w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 54
Poziom ufosforylowanego białka p-tau w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 55
Wskaźnik $A\beta_{1-42}/t$ -tau biomarkerów AD w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 57
Wskaźnik $A\beta_{1-42}/p$ -tau biomarkerów AD w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 58
Podsumowanie systemu interpretacji algorytmu Erlangen. Opracowano na podstawie (Lewczuk i wsp., 2015).	str. 32
Średnie i odchylenia standardowe dla wieku, płci, liczby lat nauki oraz poziomu biomarkerów AD w CSF oraz występowanie allelu $\epsilon 4$ genu APOE w badanych grupach.	str. 50

Poziom biomarkerów AD w CSF analizowany za pomocą indeksu Erlangen.	str. 50
Średnie i odchylenia standardowe dla wieku, płci oraz liczby lat nauki w zależności od rozpoznania i występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 51
Średnie i odchylenia standardowe dla poziomów biomarkerów AD w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE u pacjentów w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 52
Średnie i odchylenia standardowe dla poziomów wskaźników $A\beta_{1-42}$ /t-tau oraz $A\beta_{1-42}$ /p-tau biomarkerów AD w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE u pacjentów w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 56
Średnie i odchylenia standardowe dla wyników w teście badającym pamięć epizodyczną w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE u pacjentów w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.	str. 59
Wyniki badań korelacyjnych (R Pearsona) testów badających funkcje poznawcze oraz biomarkerów AD w CSF w trzech badanych grupach jednocześnie.	str. 60

Wstęp:

Choroba Alzheimera (ang. *Alzheimer's disease* – AD) jest najczęstszą przyczyną otępienia w populacji osób w podeszłym wieku. Zmiany neuropatologiczne leżące u podłoża choroby zaczynają się na wiele lat przed wystąpieniem pierwszych objawów klinicznych. Nowe narzędzia diagnostyczne pozwalają na rozpoznanie AD w fazie przedklinicznej. Otwiera to drogę do prób klinicznych z lekami, które mają za zadanie zahamować proces chorobowy. Wczesne rozpoznawanie osób z dużym ryzykiem rozwoju otępienia alzheimerowskiego ma również istotne znaczenie związane z planami życiowymi tych osób i ich bliskich. Pozwala na wczesną interwencję psychologiczną i wdrożenie metod nefarmakologicznych opóźniających rozwój otępienia. Jednymi z najbardziej obiecujących biomarkerów AD, które pozwalają na ocenę *in vivo* leżącej u jej podłoża patologii są: poziomy stężenie całkowitego białka tau (ang. *total tau* – t-tau), ufosforylowanego białka tau (ang. *phosphorylated tau* – p-tau) i amyloidu- β w płynie mózgowo rdzeniowym (ang. *cerebrospinal fluid* – CSF). Kombinacja tych trzech biomarkerów zwiększa trafność diagnostyczną AD – czułość metody 90% - 95 % i specyficzność 80 – 90%. Podwyższony poziom białek tau i obniżony poziom amyloidu- β odzwierciedla charakterystyczne dla AD neuropatologiczne zmiany, i co za tym idzie pozwala na wczesne rozpoznanie procesu alzheimerowskiego z neurochemicznego punktu widzenia. Istnieje również wiele doniesień na temat roli genu apolipoproteiny E (ang. *apolipoprotein E* – APOE) w patomechanizmie AD. Wiadomo, że osoby, u których występuje allel $\epsilon 4$ tego genu mają większe prawdopodobieństwo rozwinięcia objawów klinicznych choroby we wcześniejszym wieku. Obecność APOE $\epsilon 4$ wiąże się również z przyspieszonym odkładaniem amyloidu- β i splątków neurofibrylarnych oraz z nasilonymi zanikami neuronów w obszarach hipokampów. Z neuropsychologicznego punktu widzenia deficyty w zakresie pamięci epizodycznej są najbardziej charakterystyczne dla AD i wiążą się ze zmianami neuropatologicznymi głównie w obszarach przyśrodkowych części płatów skroniowych (hipokampów). Coraz więcej

badania wskazuje na korelacje między poziomami biomarkerów AD w CSF, a wynikami testów neuropsychologicznych u pacjentów z zespołem łagodnych zaburzeń poznawczych (ang. *Mild Cognitive Impairment* – MCI) typu alzheimerowskiego i ze zdiagnozowanym klinicznie otępieniem spowodowanym AD. W ostatnich latach w obszarze zainteresowania specjalistów zajmujących się AD znalazły się osoby, które zgłaszają skargi na gorsze funkcjonowanie poznawcze, jeszcze nieuchwytnie w badaniu neuropsychologicznym. Ten typ zaburzeń określono jako subiektywne pogorszenie funkcjonowania poznawczego (ang. *Subjective Cognitive Decline* – SCD). Wyniki wielu badań pokazują, że około 24 % osób z rozpoznaniem SCD może po upływie średnio czterech lat rozwinąć zespół łagodnych zaburzeń poznawczych, a około 10% otępienie. Badania te potwierdzają trójstopniowy model rozwijania się objawów procesu otępiennego – od SCD, poprzez MCI, do AD.

Cel badania:

Celem badania była ocena poziomów stężenia A β ₁₋₄₂ (amyloid- β 1-42), t-tau i p-tau w CSF oraz obecności allelu ϵ 4 APOE umożliwiających wyłonienie wśród osób z SCD i MCI pacjentów ze zwiększonym ryzykiem rozwinięcia się otępienia typu alzheimerowskiego. Następnie oceniono wpływ wyżej wymienionych czynników na wyniki testów badających sprawność funkcji poznawczych, ze szczególnym uwzględnieniem neuropsychologicznego markera AD, czyli pamięci epizodycznej.

Materiał i metody:

Badaniami objęto 252 pacjentów Oddziału Alzheimerowskiego Kliniki Neurologii CSK MSWiA w Warszawie, spośród których spełniających kryteria rozpoznania SCD było 85 osób, MCI 87 osób, AD-D (ang. *Alzheimer's type of dementia* – grupa badanych pacjentów, u których ustalono kliniczne rozpoznanie AD) 80 osób. Łącznie, do analizy zakwalifikowano 144 kobiety i 108 mężczyzn, w wieku od 50 do 87 lat. Proces diagnostyczny pacjentów odbywał się w trakcie dwudniowej hospitalizacji, podczas której pacjentom pobierano płyn mózgowo – rdzeniowy do oceny stężeń biomarkerów AD oraz krew do analizy obecności APOE ϵ 4. Przeprowadzono badania przesiewowe funkcji poznawczych, badanie neurologiczne, psychiatryczne, badania neuroobrazowe,

badania laboratoryjne oraz badanie neuropsychologiczne. Wyniki obecności allelu APOE $\epsilon 4$ oraz oceny stężeń biomarkerów AD w CSF otrzymywano po około trzech miesiącach od hospitalizacji.

Wyniki:

Wyniki przeprowadzonych analiz wykazały, że poziom stężeń $A\beta_{1-42}$, białka t-tau, p-tau, oraz obu wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ istotnie statystycznie różnicują grupy pacjentów ze względu na rozpoznanie. Pacjenci z bardziej nasilonymi zaburzeniami poznawczymi charakteryzują się niższym poziomem stężenia $A\beta_{1-42}$, niższymi wskaźnikami $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz wyższym poziomem stężenia białek t-tau i p-tau. Analiza obecności allelu $\epsilon 4+$ genu APOE wykazała podobne zależności. Pacjenci, u których stwierdzono obecność APOE $\epsilon 4$ mieli niższy poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau niż pacjenci, u których nie występował allel APOE $\epsilon 4$.

Osoby z grupy AD-D miały wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau oraz niższy poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ niż pacjenci z grup SCD i MCI. Natomiast pacjenci z grupy MCI mieli wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau oraz niższy poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ niż pacjenci z grupy SCD.

Analizując trzy grupy pacjentów oddzielnie wykazano, że pacjenci u których stwierdzono obecność APOE $\epsilon 4$ mieli istotnie statystycznie niższy poziom stężeń $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ niż osoby, u których allel ten nie występował -tylko w grupach AD-D i MCI. Natomiast istotnie statystycznie wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau występował u nosicieli allelu genu APOE $\epsilon 4$ w porównaniu do osób, u których ten allel nie występował - jedynie w grupie MCI.

Analizując wyniki testów neuropsychologicznych wykazano, że obniżony poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ oraz wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ i podwyższony poziom stężeń białek t-tau i p-tau korelują z gorszymi wynikami w zakresie pamięci epizodycznej, fluencji słownej, nazywania, poziomu abstrahowania oraz wolniejszym tempem przetwarzania informacji. Natomiast z większymi trudnościami z uwagą koreluje obniżony poziom stężenia wskaźnika $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$.

Przeprowadzone analizy wykazały, że istotnymi predyktorami wyników w zakresie pamięci epizodycznej i fluencji słownej były: wskaźnik $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$, liczba lat nauki, wiek oraz płeć, ale nie obecność APOE $\epsilon 4$. Dla przewidywania wyników w zakresie nazywania okazały się być istotne statystycznie: liczba lat nauki, wiek oraz poziom stężenia wskaźnika $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$, ale nie płeć czy obecność genu APOE $\epsilon 4$. Natomiast istotnymi predyktorami w zakresie poziomu abstrahowania były: liczba lat nauki, poziom stężenia białka t-tau i $A\beta_{1-42}$ oraz wiek, ale nie płeć i obecność genu APOE $\epsilon 4$. Dla wyników w zakresie tempa przetwarzania informacji predyktorami okazały się poziom stężenia białka t-tau, $A\beta_{1-42}$ oraz obecność APOE $\epsilon 4$, ale nie wiek, płeć czy liczba lat nauki. Natomiast dla procesów uwagowych istotnym predyktorem okazał się jedynie poziom wskaźnika $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$.

Wnioski:

Wyniki badania potwierdzają przydatność oceny poziomów stężeń biomarkerów AD w CSF oraz obecności APOE do identyfikowania osób, które są w grupie zwiększonego ryzyka rozwinięcia się otępienia typu alzheimerowskiego. Pomimo, że obecność APOE $\epsilon 4$ nie wpływała na przewidywanie poziomu funkcjonowania poznawczego pacjentów, to jednak wykazano silne korelacje między biomarkerami AD w CSF a wynikami testów neuropsychologicznych. Wskazuje to na przydatność zarówno neurochemicznych jak i neuropsychologicznych biomarkerów AD we wczesnej diagnostyce osób ze zwiększonym ryzykiem rozwinięcia się otępienia w AD.

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the most common type of dementia in the elderly population. Neuropathological changes underlying the disease begin many years before the onset of clinical symptoms. New diagnostic tools allow to detect AD in the pre-clinical phase, which can open the way to clinical trials with drugs that are designed to stop the disease process. Early identification of patients at high risk for developing Alzheimer's dementia is also important in terms of planning life of these individuals and their loved ones. It enables psychological intervention and implementation of non-pharmacological methods that delay the development of dementia.

One of the most promising biomarkers that allow for the *in vivo* evaluation of AD-related pathology is levels of total tau (t-tau), phosphorylated tau (p-tau), amyloid- β 1-42 ($A\beta_{1-42}$) in cerebrospinal fluid (CSF). The combination of these three CSF biomarkers increases the diagnostic validity for AD which yields a combined sensitivity at a level of 90% - 95% and specificity even as high as 80 - 90%. Elevated levels of tau proteins and reduced amyloid- β levels reflect AD-specific neuropathological changes and thus allow for an early diagnosis of AD from a neurochemical point of view. There are also reports of the role of the apolipoprotein E (APOE) gene in AD pathomechanism. Individuals carrying the $\epsilon 4$ allele of the APOE gene are at increased risk of developing clinical symptoms of AD at an earlier age. The presence of APOE $\epsilon 4$ is also significantly correlated with greater amyloid- β deposition and neurofibrillary tangles and also with increased neuronal atrophy in hippocampal areas.

From a neuropsychological point of view, episodic memory deficits are an early hallmark of AD and are associated with neuropathological changes mainly in the medial areas of the temporal lobe (hippocampus). Multiple studies show correlations between levels of AD biomarkers in CSF and neuropsychological tests scores in patients with Mild Cognitive Impairment (MCI) due to AD and clinically diagnosed dementia caused by AD.

In recent years, there has been a growing interest among researchers in subjects who report complaints of cognitive functions decline, yet not elusive in

neuropsychological assessment. This type of impairment is defined as a Subjective Cognitive Decline (SCD). Based upon meta-analysis data, researchers have estimated that approximately 24 % of patients diagnosed with SCD may develop cognitive disorders consistent with MCI within four years, while about 10% of them will convert to dementia. These studies confirm the three-stage model of developing dementia symptoms - from SCD, through MCI, to the full manifestation of AD.

The aim of the study

The aim of the study was to assess the concentration of $A\beta_{1-42}$ (amyloid- β 1-42), t-tau and p-tau levels in CSF, and the presence of the APOE $\epsilon 4$ allele to identify individuals with SCD and MCI who are at increased risk of Alzheimer's dementia. Then the effects of the above-mentioned factors on cognitive performance tests were assessed, with particular emphasis on episodic memory impairment which constitutes a neuropsychological marker of AD.

Methods and materials

The study involved 252 patients from the Neurodegenerative Department of Neurology Clinic of the MSWiA Hospital in Warsaw, of which 85 were diagnosed with SCD, 87 had MCI, and 80 of them were diagnosed with AD-D (Alzheimer's type of dementia). 144 women and 108 men, aged between 50 and 87 years were enrolled in total. Patient diagnosis was performed during a two-day hospitalization, during which patients underwent the lumbar puncture to collect cerebrospinal fluid for the assessment of AD biomarkers concentration and blood collection for APOE $\epsilon 4$ analysis. Cognitive screening, neurological, psychiatric, neuroimaging, laboratory and neuropsychological studies were also performed. Results of APOE $\epsilon 4$ allele and biomarkers of AD concentration in CSF were obtained approximately three months after hospitalization.

Results

The results of the analyses showed that levels of $A\beta_{1-42}$, t-tau, p-tau, and both $A\beta_{1-42}/t$ -tau and $A\beta_{1-42}/p$ -tau are statistically different due to the patients' diagnosis. Patients

with more severe cognitive impairment are characterized by lower levels of $A\beta_{1-42}$, lower rates of $A\beta_{1-42}/t$ -tau and $A\beta_{1-42}/p$ -tau and higher levels of t-tau and p-tau. Analysis of the presence of the $\epsilon 4$ + allele of the APOE gene showed similar relationships. Patients carrying APOE $\epsilon 4$ had lower levels of $A\beta_{1-42}$ and $A\beta_{1-42}/t$ -tau and $A\beta_{1-42}/p$ -tau and higher levels of t-tau and p-tau proteins than APOE allele $\epsilon 4$ non-carriers.

The patients from AD-D group had higher levels of t-tau and p-tau protein levels and lower levels of $A\beta_{1-42}$ and $A\beta_{1-42}/t$ -tau and $A\beta_{1-42}/p$ -tau than those of SCD and MCI. Patients in the MCI group had higher t-tau and p-tau levels and lower levels of $A\beta_{1-42}$ and $A\beta_{1-42}/t$ -tau and $A\beta_{1-42}/p$ -tau than those from the SCD group.

A separate analysis the three groups of patients revealed that patients with APOE $\epsilon 4$ had significantly lower levels of $A\beta_{1-42}$ and $A\beta_{1-42}/t$ -tau and $A\beta_{1-42}/p$ -tau than non-carriers only in AD-D and MCI groups. On the other hand, statistically significantly higher concentrations of t-tau and p-tau proteins were observed in APOE $\epsilon 4$ allele carriers compared to non-carriers in MCI group.

By analyzing the results of neuropsychological testing, it has been shown that the decreased levels of $A\beta_{1-42}$ and $A\beta_{1-42}/t$ -tau and $A\beta_{1-42}/p$ -tau and the elevated levels of t-tau and p-tau correlate with worse scores in episodic memory, verbal fluency, naming, abstractive thinking, and processing speed. On the other hand, the level of the $A\beta_{1-42}/p$ -tau index is correlated with greater attention impairment.

Performed analyses showed that significant predictors of episodic memory and verbal fluency scores were $A\beta_{1-42}/p$ -tau, number of years of formal education, age and gender but not APOE $\epsilon 4$. For the prediction of naming task scores the most statistically significant results were as follows: number of years of formal education, age and level of $A\beta_{1-42}/t$ -tau, but not sex or presence of APOE gene $\epsilon 4$. Additionally, significant predictors of the level of abstractive thinking task were number of years of formal education, t-tau and $A\beta_{1-42}$ levels and age, but not sex and presence of the APOE gene $\epsilon 4$. The strongest predictors of the processing speed were t-tau protein levels, $A\beta_{1-42}$, and APOE $\epsilon 4$, but not age, sex or number of years of formal education. Furthermore, only the level of the index $A\beta_{1-42}/p$ -tau turned out to be a significant predictor of attention.

Conclusions

Results of this study confirm the usefulness of measuring the levels of AD biomarkers in CSF and the presence of APOE to identify persons, who are at increased risk of developing dementia due to Alzheimer's disease. Although the presence of APOE did not predict the level of functioning of patients, there was a strong correlation between AD biomarkers in CSF and neuropsychological assessment's findings. It indicates the usefulness of both neurochemical and neuropsychological AD biomarkers in the early diagnosis of individuals with increased risk of developing AD dementia.

Spis treści

Wykaz skrótów używanych w rozprawie	4
Spis tabel i rycin zamieszczonych w rozprawie.....	6
Streszczenie	8
Abstract.....	12
Spis treści.....	16
1. Wstęp.....	18
1.1. Fizjologiczne starzenie się	18
1.2. Subiektywne pogorszenie funkcjonowania poznawczego – SCD	22
1.3. Zespół łagodnych zaburzeń poznawczych – MCI.....	25
1.4. Choroba Alzheimera – AD	27
1.5. Biomarkery AD w płynie mózgowo-rdzeniowym – CSF	30
1.6. Gen apolipoproteiny E – APOE.....	33
1.7. Deficyty funkcji poznawczych w badaniu neuropsychologicznym.....	35
2. Założenia i cel pracy.....	39
3. Materiał i metody	40
3.1. Proces diagnostyczny	40
3.2. Kryteria rozpoznania	42
3.2.1. Subiektywne pogorszenie funkcjonowania poznawczego – SCD	42
3.2.2. Łagodne zaburzenia poznawcze –MCI.....	42
3.2.3. Choroba Alzheimera	43
3.3. Markery biochemiczne	46
3.4. Metoda oznaczania genu APOE.....	46
3.5. Osoby badane.....	47
3.6. Opis metod oceny neuropsychologicznej.....	47
3.7. Analiza statystyczna	48
4. Wyniki.....	49
4.1. Statystyki opisowe	49
4.2. Różnice pomiędzy grupami w zakresie charakterystyk opisowych.....	50
4.3. Poziom biomarkerów AD w CSF oraz APOE $\epsilon 4+$ a rozpoznanie	51
4.4. Wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /t-tau i $A\beta_{1-42}$ /p-tau biomarkerów AD w CSF oraz APOE $\epsilon 4+$ a rozpoznanie.....	55

4.5. Pamięć epizodyczna a APOE $\epsilon 4+$	58
4.6. Poziom biomarkerów AD w CSF a funkcjonowanie poznawcze	59
4.7. Pamięć epizodyczna a wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /p-tau biomarkerów AD w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$	60
4.8. Fluencja słowna a wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /p-tau biomarkerów AD w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$	61
4.9. Nazywanie a wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /t-tau biomarkerów AD w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$	61
4.10. Poziom abstrahowania a poziom $A\beta_{1-42}$ oraz t-tau w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$	62
4.11. Tempo przetwarzania informacji a poziom $A\beta_{1-42}$ oraz t-tau w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$	62
4.12. Procesy uwagowe a wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /p-tau biomarkerów AD w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$	63
5. Dyskusja.....	64
5.1. Patologiczne poziomy biomarkerów – analiza pod kątem norm laboratoryjnych.....	64
5.2. Poziom biomarkerów AD w CSF oraz APOE $\epsilon 4+$ a rozpoznanie	68
5.3. Badanie neuropsychologiczne.....	70
5.3.1. Pamięć epizodyczna.....	71
5.3.2. Fluencja słowna.....	74
5.3.3. Nazywanie	75
5.3.4. Poziom abstrahowania	76
5.3.5. Tempo przetwarzania informacji	77
5.3.6. Procesy uwagowe	77
5.4. Dane demograficzne.....	78
5.5. Ograniczenia badania.....	80
5.6. Podsumowanie	81
6. Wnioski	83
7. Piśmiennictwo.....	84

1. Wstęp

1.1. Fizjologiczne starzenie się

Większość badaczy zgadza się co do tego, że wraz z wiekiem zmiany w funkcjonowaniu poznawczym są nieuniknione (Smith i Rush, 2006). Niemniej jednak, istnieją osoby które starzeją się „optymalnie” i nie doświadczają obniżonego poziomu funkcjonowania poznawczego związanego z wiekiem. Niestety większość populacji doświadcza spadku sprawności poznawczej już od piątej dekady życia (Smith i Rush, 2006). Charakterystyczną cechą funkcjonowania poznawczego w fizjologicznym starzeniu się jest zmniejszenie ilości informacji, które można przetwarzać jednocześnie oraz wolniejsze tempo ich przetwarzania. Co ciekawe, spowolnienie to obserwowane jest w wielu obszarach poznawczych, zarówno uwagowych, językowych, procesach pamięci jak i w zakresie funkcji wykonawczych (Smith i Rush, 2006). Osoby starsze w porównaniu do młodszych mają większe trudności w zapamiętywaniu nowych informacji. Proces ten u nich przebiega wolniej, ale nadal możliwe jest trwałe zarejestrowanie nabytych informacji. Z powodu trudności w zakresie funkcji wykonawczych, proces przypominania również może być zaburzony, chociaż procesy pamięciowe nadal pozostają na względnie prawidłowym poziomie, nie powodując istotnych zakłóceń funkcjonowania poznawczego. Opisane wyżej zależności mogą jednak w konsekwencji prowadzić do większych trudności z przypominaniem sobie nauczonego materiału po odroczeniu (Smith i Rush, 2006).

Pogorszenie sprawności poznawczej związanej z wiekiem jest wynikiem zmian neuropatologicznych w mózgu w postaci: utraty synaps, a co za tym idzie również zmniejszenia się liczby neuronów i gęstości sieci neuronalnych. Obserwuje się nieznaczny stopień odkładania złogów amyloidu- β oraz splątków neurofibrylarnych (Fillit i wsp., 2002). Powyższe zmiany skutkują nieznaczną atrofią korową, głównie w

obszarach czołowych mózgu, poszerzeniem układu komorowego i dyskretną atrofią hipokampów.

Zanik neuronów istoty szarej mózgu wzrasta wraz z wiekiem już od 20 roku życia (r.ż.), by w późniejszych okresach życia osiągnąć poziom plateau (Harada i wsp., 2013). Wśród struktur korowych, najwięcej neuronów ulega atrofii w strukturach płatów czołowych, zwłaszcza w korze przedczołowej (PFC - ang. *prefrontal cortex*) w porównaniu do innych rejonów mózgu. Z wiekiem również koreluje negatywnie objętość struktur podkorowych, przede wszystkim ciała prążkowanego (głównie jądra ogoniastego i skorupy) oraz hipokampów. Wraz z upływem czasu największe zmiany obserwuje się kolejno: w korze śródwęczowej, hipokampach, jądrze ogoniastym oraz PFC (Mast i wsp., 2009). Są to struktury, które uczestniczą w procesach uczenia się, a zmiany w tych rejonach mózgu są charakterystyczne dla chorób naczyniowych mózgu (głównie PFC i ciało prążkowane) i choroby Alzheimera (ang. *Alzheimer's disease* - AD) (kora śródwęczowa i hipokampy). Warto jednak podkreślić, że zmiany te w przypadku procesów otępiennych są znacznie większe (por. ryc. 1.1.1.) (Harada i wsp., 2013; Mast i wsp., 2009).

Dynamika zaniku wypustek neuronów istoty białej układu się w formie odwróconej litery U - tzn. liczba neuronów rośnie do około 20 r.ż., przez kolejne lata pozostaje na stabilnym poziomie, by około 60 r. ż. zacząć spadać wraz z upływem lat (Mast i wsp., 2009). Zanik istoty białej mózgu, z wiekiem nasila się bardziej niż istoty szarej. W badaniach autopsyjnych zaobserwowano zmniejszenie objętości istoty białej u osób zdrowych po 70 roku życia o około 20% w porównaniu z młodszymi osobami (Harada i wsp., 2013). Zdaniem Rogalski i wsp. (2012) zanik w okolicach okołohipokampalnych istoty białej może prowadzić do zaburzeń w komunikacji ze strukturami hipokampów, co może wyjaśniać zaburzenia pamięci związane z wiekiem. Inni badacze również zwracają uwagę, że osłabienie integracji między szlakami istoty białej w środkowej części spoidła wielkiego, jak i w obszarach przednich mózgu może przyczyniać się do zaburzeń poznawczych związanych z wiekiem (zwłaszcza funkcji wykonawczych) (Harada i wsp., 2013).

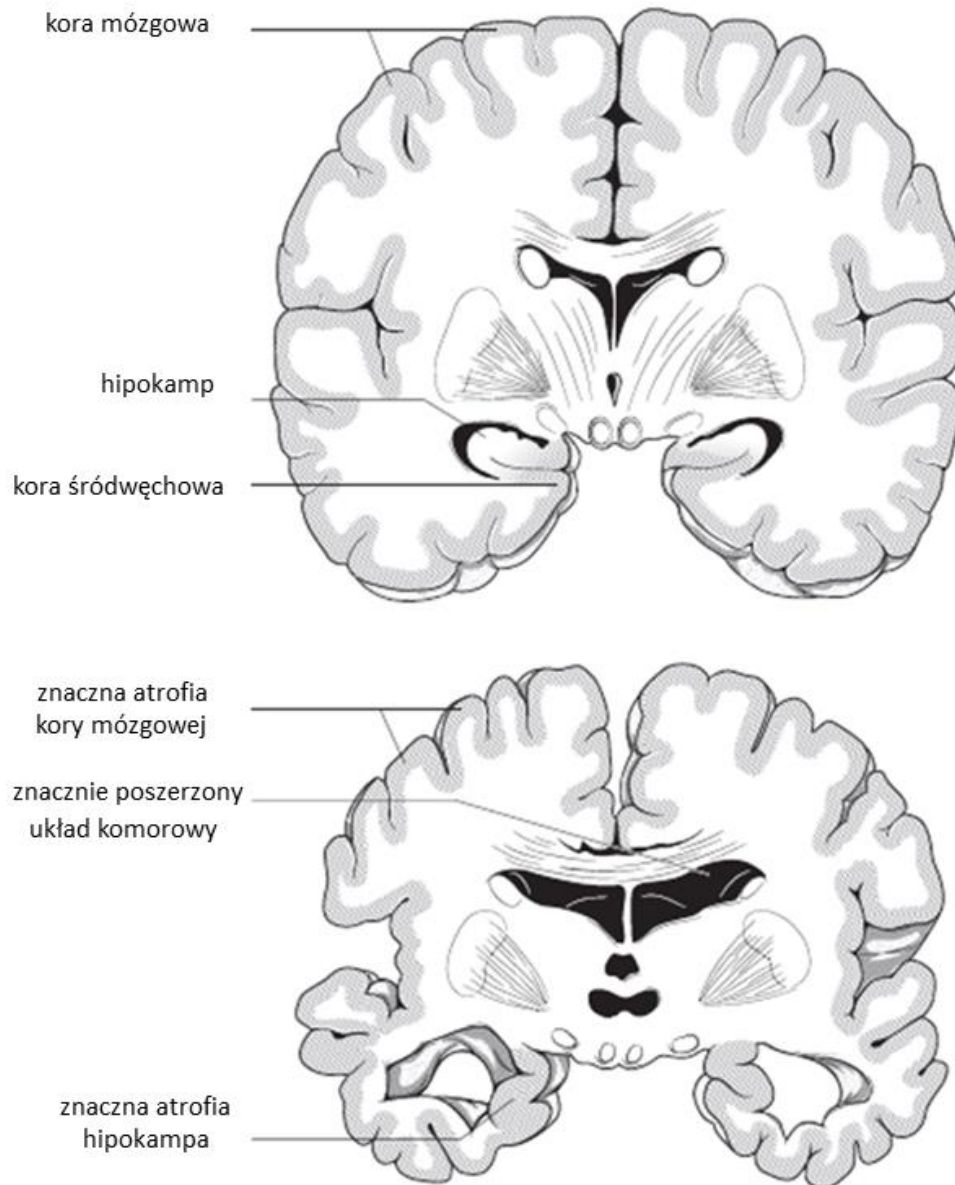
Zmiany związane z wiekiem redukują wydajność i efektywność połączeń neuronalnych, ale nie naruszają w znacznym stopniu integralności strukturalnej układu

nerwowego (Harada i wsp., 2013; Smith i Rush, 2006). Nie dochodzi do śmierci komórek i glejozy, jak to ma miejsce w przypadku procesów otępiennych. Zgodnie z modelem stworzonym przez Terry'ego i Katzmana (2001), osoby starzejące się optymalnie osiągając wiek 130 lat miałyby podobną liczbę połączeń synaptycznych jak osoby chorujące na AD. Nie istnieje uniwersalny wzorzec związanych z wiekiem zmian w mózgu (Mast i wsp., 2009). Raz i Rodrigue (2006) wskazują, że zmiany te dotyczą ogólnie zmniejszenia objętości istoty szarej i białej w różnych rejonach mózgu.

W celu odróżnienia adekwatnych do wieku deficytów poznawczych od zmian wynikających z procesów otępiennych należy wziąć pod uwagę kilka czynników, które mogą wpływać lub wręcz maskować zaburzenia poznawcze o podłożu patologicznym. Do takich czynników zalicza się: wykształcenie, stan zdrowia, poziom rezerwy poznawczej czy zaburzenia nastroju.

U osób z wyższym wykształceniem obserwuje się efektywniejszą kompensację zmian związanych z utratą połączeń neuronalnych wynikających z wieku, ale również zmian patologicznych występujących w mózgu w przebiegu AD (Stern, 2012). Osoby z niższym poziomem wykształcenia są w grupie większego ryzyka rozwoju otępienia typu AD (Alzheimer's Association, 2015). Zgodnie z teorią rezerwy poznawczej, dłuższy okres edukacji mierzony latami nauki koreluje z większą liczbą połączeń między neuronami w mózgu, co w sytuacji wczesnych zmian związanych z wiekiem czy z AD umożliwia wykorzystanie alternatywnych połączeń między neuronami. W praktyce oznacza to, że u osób z wyższym wykształceniem dochodzi do większej utraty połączeń synaptycznych i neuronów, zanim zauważą one u siebie deficyty poznawcze, które mogłyby im przeszkadzać w życiu codziennym.

Naukowcy uważają, że wpływ wykształcenia na ryzyko rozwinięcia otępienia typu AD można również wyjaśnić tym, że osoby lepiej wykształcone wykonują zawody wymagające intelektualnej sprawności i bardziej stymulujące poznawczo (McDowell i wsp., 2007). Niższe wykształcenie może również częściej współwystępować z gorszym statusem socjoekonomicznym, a co za tym idzie z utrudnionym dostępem do opieki medycznej czy gorszym odżywianiem.



Ryc. 1.1.1. Różnice w atrofi korowej mózgu związanej z wiekiem i w AD. W górnej części ryciny widać mózg osoby starzejącej się optymalnie, zaznaczono na nim hipokamp, korę mózgową oraz korę śródwężową. W dolnej części ryciny widać atrofię neuronów u osoby z AD, zaznaczono na nim znaczny zanik kory mózgowej i hipokampa oraz znacznie poszerzony układ komorowy. Opracowano na podstawie (Harada i wsp., 2013).

1.2. Subiektywne pogorszenie funkcjonowania poznawczego – SCD

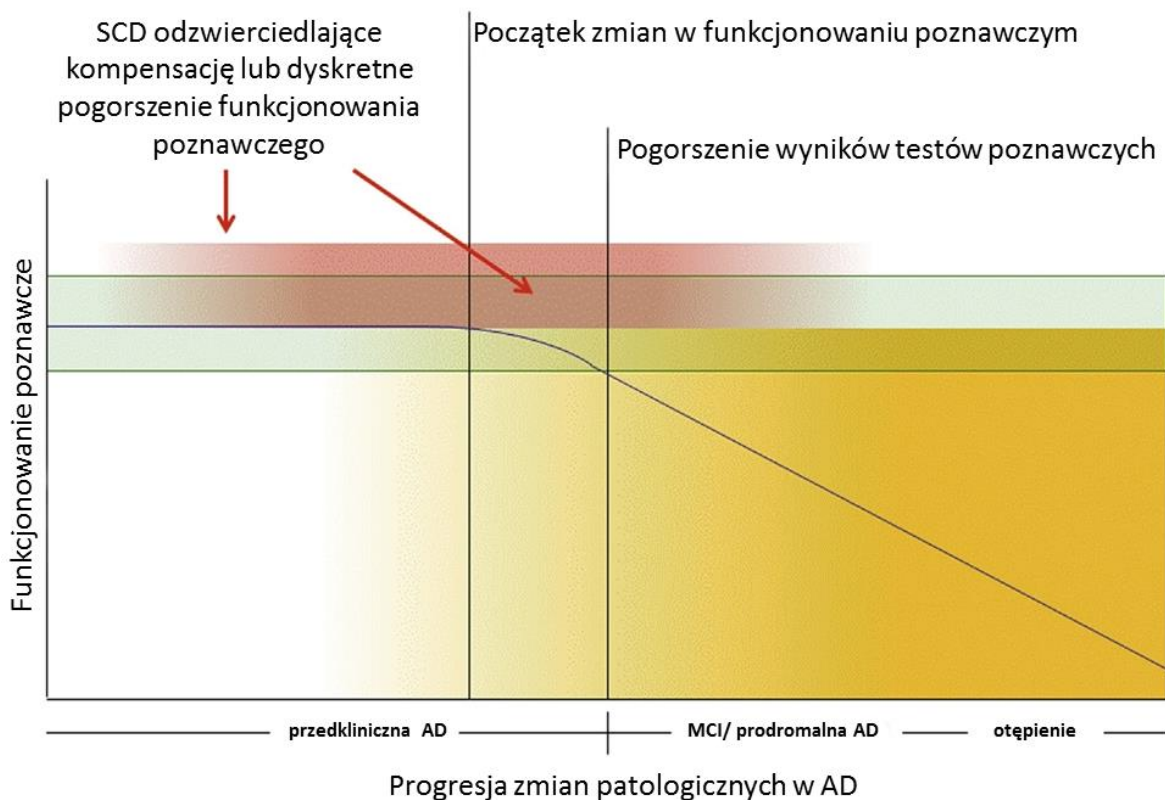
Patologia alzheimerowska w mózgu zaczyna się na wiele lat przed pojawieniem się pierwszych klinicznych objawów choroby (Alzheimer's Association, 2015). Dlatego też badacze zaczęli interesować się osobami, które doświadczają subiektywnego pogorszenia funkcjonowania poznawczego, które jednak nie zaburza ich codziennego funkcjonowania i nie znajduje potwierdzenia w testach neuropsychologicznych. Początkowo zespół ten nazywano subiektywnymi zaburzeniami pamięci (ang. *Subjective Memory Impairment* – SMI). Jednak badacze doszli do wniosku, że subiektywnie doświadczane deficyty mogą również dotyczyć innych niż pamięć funkcji poznawczych i w literaturze można się spotkać z terminem subiektywne zaburzenia poznawcze (ang. *Subjective Cognitive Impairment* – SCI). W 2014 roku Jessen i wsp. opublikowali konsensus diagnostyczny, w którym zawarli kryteria włączenia i wykluczenia (por. rozdział Metody) (Jessen i wsp., 2014). Ustalono nazwę subiektywne pogorszenie funkcjonowania poznawczego (ang. *Subjective Cognitive Decline* – SCD), by podkreślić postępujący charakter tych deficytów. Od wielu lat badacze próbują wykryć sposoby zidentyfikowania osób, u których występuje podwyższone ryzyko rozwinięcia się otępienia typu AD (Jessen i wsp., 2010). Badania pokazały, że u osób z zespołem łagodnych zaburzeń poznawczych (ang. *Mild Cognitive Impairment* – MCI), opisywanym jako stan prodromalny AD, ryzyko konwersji do otępienia wynosi od 10% do 20% rocznie (Winblad i wsp., 2004). W odróżnieniu od MCI, bliscy osób z SCD nie obserwują u nich żadnych zmian w zakresie funkcjonowania poznawczego, a w obiektywnej ocenie procesów kognitywnych pacjenci ci mieszczą się w normie wieku. Zdaniem Caselli i wsp. (2014) to właśnie subiektywnie spostrzegane zmiany w funkcjonowaniu poznawczym są lepszym predyktorem obiektywnych zaburzeń wykrywanych w badaniach neuropsychologicznych niż wywiad od bliskich osób. Prawdopodobnie, w niektórych przypadkach jest to też zasługa rezerwy poznawczej, która pozwala pacjentom na kompensację ewentualnych zmian neuropatologicznych, znacznie większych niż by to wynikało ze zmian związanych z fizjologicznym starzeniem się mózgu. Yoon i wsp. (2012) w swoich badaniach dotyczących funkcjonowania w życiu codziennym wykazali,

że to co najbardziej różni pacjentów z SCD od MCI to brak deficytów w zakresie używania urządzeń domowych, przyjmowaniu leków i korzystania z transportu publicznego u osób z SCD.

Zainteresowanie badaczy budzi również fakt, że u pacjentów tych obserwuje się w badaniach neuroobrazowych zmiany w mózgu charakterystyczne dla AD tj. atrofię przyśrodkowych części płatów skroniowych czy zmniejszenie objętości hipokampów (Jessen i wsp., 2010; Yoon i wsp., 2012). Rodda i wsp. (2010) zaobserwowali również na podstawie wyników badania pozytronowej tomografii emisyjnej (ang. *positron emission tomography* – PET), przy użyciu wiążącego amyloid markera PIB (ang. *Pittsburgh compound B*), że u pacjentów z SCD zwiększa się retencja tego znacznika w charakterystycznych dla AD obszarach mózgu. Podobne obserwacje mieli Perrotin i wsp. (2012), którzy wykazali, że u osób zgłaszających trudności z pamięcią następuje wzrost wychwytu PIB w prawej przyśrodkowej części kory przedczołowej, przedniej i tylnej części kory zakrętu obręczy oraz w prawym przedklinku. Również badania biomarkerów AD w płynie mózgowo-rdzeniowym (ang. *cerebrospinal fluid* – CSF) wykazują korelację z subiektywnie postrzeganym pogarszaniem się procesów poznawczych (Visser i wsp., 2009). Inni badacze zaobserwowali również istotną nadreprezentację występowania kopii allelu $\epsilon 4$ genu APOE (ang. *apolipoprotein E*) w opisywanej grupie pacjentów (Jessen i wsp., 2014).

Obecnie badacze opisują SCD jako stan poprzedzający rozwinięcie się MCI (ang. *pre-MCI stage*) i potencjalny czynnik ryzyka rozwinięcia się otępienia (Jessen i wsp., 2014; Tales i wsp., 2014; Yoon i wsp., 2012). W 2010 roku Jessen wraz z zespołem, po przebadaniu 2415 osób w wieku 75 lat, stwierdzili, że ci pacjenci którzy zgłaszali subiektywne zaburzenia poznawcze częściej rozwijali zespół MCI lub otępienie typu AD (średnio po trzech latach), w porównaniu do osób, które nie skarżyły się na zaburzenia pamięci (Jessen i wsp., 2010). Natomiast Reisberg i wsp. (2010) po siedmioletnim okresie obserwacji odkryli, że z 213 badanych osób z SCD, 71 osób rozwinęło MCI, a 19 otępienie, podczas gdy z grupy osób zdrowych jedynie 5 rozwinęło MCI, a u zaledwie 2 osób rozpoznano otępienie. Badacze ocenili, że średni czas konwersji dla osób bez skarg na funkcjonowanie poznawcze był 3,5 lata dłuższy niż dla pacjentów z SCD. Yoon i wsp. (2012) wykazali, że subiektywnie postrzegane pogorszenie w zakresie umiejętności

obsługi skomplikowanych urządzeń czy umiejętności korzystania z transportu publicznego u pacjentów z SCD jest istotnym predyktorem konwersji do MCI. Powyższe badania potwierdzają linearny, trójstopniowy model rozwijania się objawów procesu otępiennego – od SCD, poprzez MCI do otępienia typu AD (por. ryc. 1.2.1.).



Ryc. 1.2.1. Progresja zmian w zakresie funkcjonowania poznawczego a progresja zmian patologicznych związanych z AD. Opracowano na podstawie Jessen i wsp. (2014).

1.3. Zespół łagodnych zaburzeń poznawczych – MCI

Termin – zespół łagodnych zaburzeń poznawczych (MCI) pierwszy raz został użyty przez Reisberga i wsp. (1982) do opisu trzeciego stopnia Skali Ogólnej Deterioracji (ang. *Global Deterioration Scale – GDS*). Stopień ten, opisuje stan subtelnych deficytów poznawczych, które wpływają na wykonywanie obowiązków związanych z aktywnością zawodową czy funkcjonowaniem społecznym, ale nie spełniający kryteriów rozpoznania otępienia. Pacjenci w tym stadium mogą mieć deficyty poznawcze, które stają się widoczne dla najbliższych osób pacjenta a dotyczą trudności w: zapamiętywaniu tego co zostało przeczytane, przypominaniu sobie nazw przedmiotów lub imion, szukaniu przedmiotów czy dezorientacji w znanych sobie miejscach.

W 1999 roku Petersen i wsp. (1999) zredefiniowali pojęcie MCI jako zespół pogarszających się deficytów poznawczych, nieadekwatnych do wieku i poziomu wykształcenia, które jednak nie wpływają na radzenie sobie z aktywnościami życia codziennego. MCI jest zespołem o heterogennej etiologii, co przekłada się na występowanie wielu obrazów klinicznych, między innymi o stabilnym przebiegu oraz postaci odwracalnej (Gabryelewicz, 2012).

W 2004 roku w Szwecji opublikowano konsensus diagnostyczny, który dzielił zespół MCI na trzy podtypy: MCI z dominującymi zaburzeniami pamięci (ang. *MCI Amnestic*), MCI uogólnione – z nieznacznie zaburzonymi wieloma funkcjami poznawczymi (ang. *MCI Multiple Domains*) oraz MCI wybiórcze – z zaburzoną pojedynczą funkcją poznawczą – ale nie pamięcią (ang. *MCI Single Non-memory Domain*) (Winblad i wsp., 2004). Badania wykazały, że amnestyczna postać MCI dotyczy od 5% - 10% populacji osób starszych, a po zaadaptowaniu rozszerzonych kryteriów o trzy podtypy, występowanie zespołu MCI w populacji osób po 60 roku życia wynosiło od 8% do 25% (Cheng i wsp., 2017). Systematyczny przegląd literatury opublikowany w 2013 roku wykazał, że roczna konwersja zespołu MCI do otępienia w AD wynosi od 7,5% - 16,5% w populacji klinicznej oraz od 5% - 11,5% w populacji ogólnej (Ward i wsp., 2013). Liczne badania podłużne wykazały natomiast, że postać amnestyczna MCI wiązała

się z podwyższonym ryzykiem progresji do otępienia w AD (Busse i wsp., 2006; Tifratene i wsp. 2015; Vos i wsp., 2013).

W 2011 roku opublikowano najnowsze kliniczne kryteria diagnostyczne MCI, które podzielono na osiowe (por. rozdział Metody) oraz kliniczne kryteria badawcze, poszerzone o wyniki z badań neuroobrazowych i pomiarów biomarkerów AD w CSF (Albert i wsp., 2011). W kryteriach badawczych zaproponowano podział na podtypy MCI w zależności od stopnia pewności, z którą można założyć etiologię alzheimerowską w oparciu o poziomy biomarkerów: MCI alzheimerowskie (ang. *MCI likely due to AD*) oraz MCI nie alzheimerowskie (ang. *MCI unlikely due to AD*).

Zgodnie ze strategią oceny ryzyka rozwinięcia zespołu otępiennego u pacjentów z MCI zaproponowaną przez amerykańskie Stowarzyszenie Alzheimerowskie i Narodowy Instytut Starzenia (ang. *National Institute on Aging–Alzheimer's Association - NIA/AA*), kombinacja biomarkerów wskazujących na patologię alzheimerowską i danych z badań neuroobrazowych pozwala na przewidywanie z większą pewnością ryzyka konwersji do otępienia w przebiegu AD (Vos i wsp., 2015). W licznych badaniach zaobserwowano występowanie nieprawidłowego poziomu biomarkerów AD w CSF u pacjentów z MCI, którzy potem rozwinęli zespół otępienny, w porównaniu do pacjentów ze stabilnym MCI (Hansson i wsp., 2006; Mattsson i wsp., 2009). Również obecność amyloidu oznaczonego za pomocą znacznika PIB w PET pozwalała na zidentyfikowanie pacjentów z MCI, którzy potem rozwinęli otępienie typu AD (Forsberg i wsp., 2008; Grimmer i wsp., 2013). Badacze również wykazali, że obecność APOE ε4 u pacjentów z MCI wiąże się z ryzykiem przyspieszonego rozwoju AD (Da i wsp., 2013; Hansson i wsp., 2006). Najnowsze podejście do koncepcji MCI, jako stadium poprzedzającego rozwinięcie się otępienia w przebiegu AD, wymaga nie tylko potwierdzenia w badaniu klinicznym obecności deficytów poznawczych, ale również wykazania, że podłożem zaburzeń jest patologia alzheimerowska.

1.4. Choroba Alzheimera – AD

Choroba Alzheimera (AD) jest pierwotnie zwyrodnieniową chorobą mózgu i stanowi najczęstszą przyczynę otępienia, którego rozpowszechnienie rośnie wraz ze starzejącym się społeczeństwem. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) w 2010 roku 35,6 milionów osób chorowało na różne typy otępienia. Szacuje się, że do 2050 roku liczba ta wzrośnie trzykrotnie (WHO, 2012). Co roku na świecie rozpoznaje się 7,7 milionów nowych przypadków otępienia. Oznacza to, że co cztery sekundy diagnozuje się nowy przypadek otępienia, z czego około 60% – 80% stanowi otępienie w AD (Alzheimer's Association, 2015). Średnie ryzyko zachorowania na AD w populacji wynosi od 10% – 12 %, przy czym ryzyko to rośnie dwukrotnie jeśli w rodzinie chorował krewny pierwszego stopnia (Bertram i Tanzi, 2005; Goldman i wsp., 2011). Wraz z wiekiem ryzyko to wzrasta, i u osób sześćdziesięcioletnich wynosi już 19% (Solomon i wsp., 2014). Natomiast między 65 a 85 rokiem życia zachorowalność na AD podwaja się mniej więcej co pięć lat (Ritchie, 2002). Znane obecnie mutacje sprawcze dla AD, powodujące chorobę, jeśli obarczona nimi osoba dożyje wieku zachorowania to: mutacja genu białka prekursorowego amyloidu- β (ang. *β -amyloid precursor protein – APP*) znajdującego się w chromosomie 21 (21q21) oraz preseniliny 1 (14q24.3) i 2 (1q31-42) (PSEN 1 i PSEN 2). Jednak te przypadki o znanym podłożu genetycznym dotyczą zaledwie od 1% do 5% wszystkich zachorowań na AD (Goldman i wsp., 2011). W wielu badaniach potwierdzono również jako czynnik ryzyka polimorfizm genu APOE, który koreluje z przyspieszonym występowaniem objawów choroby (Saunders i wsp., 1993; Spinney, 2014). Również niższy poziom rezerwy poznawczej (ang. *cognitive reserve – CR*) wiąże się z większym ryzykiem rozwinięcia się AD, co udowodniono w licznych badaniach (Alzheimer's Association, 2015).

Pierwszymi objawami klinicznymi choroby są najczęściej postępujące trudności w zapamiętywaniu nowych informacji, utrudniające funkcjonowanie w życiu codziennym. Dzieje się tak, ponieważ na początku uszkodzeniu ulegają neurony odpowiedzialne za formowanie nowych wspomnień. W miarę trwania choroby zanikają neurony w innych obszarach mózgu i dołączają kolejne objawy choroby takie jak: trudności w planowaniu i

rozwiązywaniu problemów, trudności z realizacją obowiązków domowych czy zadań związanych z aktywnością zawodową i hobby, dezorientacja w czasie i w znanych miejscach, trudności z aktualizacją słów, gubienie przedmiotów, wycofywanie się z kontaktów społecznych i spadek aktywności, pogorszenie zdolności oceny sytuacji, zaburzenia zachowania, obniżony nastrój i podwyższony poziom niepokoju i pobudzenia, apatia czy zaburzenia snu. Opisane symptomy prowadzą do nieprawidłowego funkcjonowania w życiu codziennym i w kolejnych etapach choroby pacjent wymaga pomocy osób trzecich (Alzheimer's Association, 2015). Tempo progresji objawów różni się pomiędzy osobami, co między innymi, wynika z różnic w poziomie CR (Soldan i wsp., 2013). Z tego samego powodu osoby z podobnym poziomem uszkodzeń neuronalnych mogą prezentować odmienny stopień zaawansowania klinicznego objawów choroby (Soldan i wsp., 2013). W licznych badaniach epidemiologicznych udowodniono, że ryzyko szybkiego rozwinięcia się procesu otępiennego jest niższe u osób z wysokim poziomem CR (Alzheimer's Association, 2015; Soldan i wsp., 2013).

Charakterystyczne dla AD zmiany w mózgu mogą pojawić się nawet 20 lat przed wystąpieniem pierwszych klinicznych objawów choroby (Alzheimer's Association, 2015). Kluczową rolę w patofizjologii AD odgrywają procesy odkładania się zewnątrzkomórkowo złogów amyloidowych (blaszki starcze) i wewnątrzkomórkowo fibryli białka tau (splątki neurofibrylarne) (Lewczuk, 2011). Występowanie tych zmian jest toksyczne dla neuronów, a ich nagromadzenie prowadzi do śmierci komórek.

Peptydy amyloidu- β powstają na drodze rozkładu proteolitycznego białka prekursorowego (APP), które jest metabolizowane przez trzy grupy enzymów: α -sekreazy, β -sekreazy i γ -sekreazy. Cięcie przez β -sekreazy, a następnie γ -sekreazy uwalnia białka o długości od trzydziestu do czterdziestu kilku aminokwasów. Peptydy amyloidu- β o sekwencji aminokwasowej: 1-37, 1-38, 1-39, 1-40 oraz 1-42 występują w CSF w najwyższym stężeniu. Najbardziej dominującą w złogach amyloidowych w mózgu izoformą amyloidu okazała się $A\beta_{1-42}$. Obniżenie poziomu stężenia $A\beta_{1-42}$ w CSF o około 50% wskazuje na AD (Lewczuk, 2011). Białka tau należą do grupy białek, których rolą jest stabilizacja mikrotubul aksonów neuronalnych, a fosforylacja białka tau odgrywa kluczową rolę w kontrolowaniu tego procesu (Lewczuk, 2011). Wzrost stężenia białek tau w CSF jest czułym markerem procesów neurodegeneracyjnych.

Kliniczne kryteria rozpoznawania AD zaproponowane w 1984 roku przez Narodowy Instytut Zaburzeń Neurologicznych, Komunikacji i Udarów i Stowarzyszenie Chorych na Chorobę Alzheimera i Choroby Pokrewne (ang. *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association Work Group*) charakteryzowały AD jako typ otępienia, którego kliniczną diagnozę można było potwierdzić jedynie w badaniach *post mortem*. Po około dwudziestu pięciu latach podejście to zmieniła możliwość zastosowania metod przyżyciowej diagnostyki patologii alzheimerowskiej przy użyciu biomarkerów AD w CSF i w badaniach neuroobrazowych (Mar i wsp., 2015). W 2011 roku NIA/AA zaproponowały kryteria, które uwzględniają wyniki badań neuroobrazowych i biomarkerów AD w CSF (por. rozdział Metody).

1.5. Biomarkery AD w płynie mózgowo-rdzeniowym – CSF

W 1998 roku grupa badawcza współpracująca z Instytutem Ronalda i Nancy Reganów Stowarzyszenia Alzheimerowskiego i Instytutu Starzenia (ang. *The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute of Aging Working Group*) opracowała kryteria jakie powinien spełniać idealny biomarker dla AD (The Working Group on Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease, 1998):

- powinien odzwierciedlać podstawowe zjawiska patologiczne dla AD i zostać zweryfikowany neuropatologicznie;
- jego czułość i swoistość powinny przekraczać 80%;
- powinien być wiarygodny i charakteryzować się powtarzalnością wyników;
- powinien być nieinwazyjny, a jego pomiary powinny być tanie i łatwe do wykonania.

Chociaż punkcja łądźwiowa jest uznawana za procedurę inwazyjną, to badacze uznają, że obarczona jest niewielkim ryzykiem powikłań w postaci przejściowych i łagodnych bólów głowy, które w przypadku osób starszych występują jedynie u około 2% - 4% osób (Blennow i wsp., 1993).

Pierwsze doniesienie o tym, że poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ jest obniżony w CSF w AD opublikowano w 1995 roku (Motter i wsp., 1995). Szacuje się, że u pacjentów z AD poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ jest obniżony w CSF średnio o 50% w porównaniu do osób zdrowych w podobnym wieku (Blennow i wsp., 2015). Badacze uważają, że obniżenie poziomu stężenia $A\beta_{1-42}$ w CSF wynika z magazynowania go w blaszkach starczych, ponieważ w badaniach autopsyjnych wykazano istotną korelację pomiędzy wzrostem liczby blaszek starczych w obrębie kory nowej i formacji hipokampów a poziomem stężenia $A\beta_{1-42}$ w CSF (Blennow i Hampel, 2003). Ocena poziomu $A\beta_{1-42}$ pozwala na ustalenie rozpoznania AD, z czułością na poziomie 86% i specyficznością 89% (Blennow i Hampel, 2003). Poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ w CSF jest bardziej czułym markerem w początkowych stadiach AD niż obrazowanie amyloidu przy pomocy znacznika PIB w PET (Blennow i wsp., 2015). Badacze analizowali również poziom stężenia $A\beta_{1-40}$, który występuje w CSF w znacznie większych ilościach niż $A\beta_{1-42}$ (Blennow i wsp., 2015).

Chociaż poziom $A\beta_{1-40}$ okazał się niezmienny u pacjentów z AD w porównaniu do osób zdrowych, to porównując poziom $A\beta_{1-42}$ do $A\beta_{1-40}$ okazało się, że wskaźnik $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ jest niższy niż sam poziom $A\beta_{1-42}$ w AD (Blennow i wsp., 2015).

Analizując poziom białka t-tau w CSF, badacze zaobserwowali, że jest on podwyższony u pacjentów z AD o około 300% w porównaniu do osób zdrowych, co prawdopodobnie wynika z intensywności uszkodzenia i degeneracji neuronów (Blennow i wsp., 2006). Wysokie poziomy białka t-tau stwierdza się również w innych chorobach przebiegających z dużym nasileniem uszkodzeń neuronalnych np. w urazach głowy, otępieniach mieszanych czy w chorobie Creutzfeldta - Jakoba, w której stężenie białka tau jest wyższe nawet 10-50 razy niż w AD (Andreasen i Blennow, 2005). Ocena poziomu białka t-tau pozwala na różnicowanie AD z fizjologicznym starzeniem się z 81% czułością i specyficznością na poziomie 90% (Blennow i Hampel, 2003), natomiast z innymi rodzajami otępień czułość i specyficzność białka t-tau spada do 50% - 60% (Humpel i Hochstrasser, 2011).

Z wielu doniesień wynika, że ocena poziomu stężenia białka p-tau pozwala na lepsze różnicowanie AD z innymi rodzajami otępień niż analiza stężeń białka t-tau i $A\beta_{1-42}$. Czuość metody wynosi 80%, a swoistość 92% (Blennow i Hampel, 2003).

Jednoczesna kombinacja wyżej opisanych trzech biomarkerów zwiększa trafność diagnostyczną AD, z czułością na poziomie 90% - 95 % i specyficznością na poziomie 80 - 90 % (Blennow i Hampel, 2003). Analiza poziomu stosunku białek tau do $A\beta_{1-42}$ osiąga jeszcze większą czułość i specyficzność niż dla każdego z markerów osobno. Wskaźnik $A\beta_{1-42}/t$ -tau charakteryzuje się czułością 89% i specyficznością na poziomie 90%, natomiast dla wskaźnika $A\beta_{1-42}/p$ -tau odpowiednio wynoszą one 86% i 97% (Avila i wsp., 2014). W badaniach podłużnych dowiedziono również przydatność trzech opisywanych biomarkerów do identyfikowania pacjentów z rozpoznaniem MCI, którzy rozwiną AD z czułością na poziomie 95% i specyficznością od 83 % do 87 % dla różnych kombinacji trzech biomarkerów (Blennow i wsp., 2006). Przydatność biomarkerów do oceny progresji choroby u osób z otępieniem typu alzheimerowskiego wydaje się być mniej użyteczna, gdyż zmienność poziomów biomarkerów w trakcie jej trwania jest niska, a badacze tłumaczą to tym, że biomarkery osiągają stosunkowo wcześniej poziom plateau (Blennow i wsp., 2010). Natomiast w badaniach u pacjentów z MCI, którzy po

czteroletnim okresie obserwacji nie rozwinęli AD, zmienność poziomów stężeń biomarkerów u tej samej osoby wynosiła zaledwie 10% (Mattsson i wsp., 2012).

Warto zwrócić uwagę na to, że chociaż czułość i specyficzność biomarkerów AD w CSF jest wysoka i udowodniona w licznych badaniach, to ich użyteczność diagnostyczna w warunkach klinicznych jest ograniczona. Spowodowane jest to różnicami między ośrodkami w opracowanych laboratoryjnie punktach odcięcia poniżej normy dla AD. W 2009 roku badacze z Erlangen (Lewczuk i wsp., 2009) zaproponowali algorytm do interpretacji wyników biomarkerów AD w CSF, by ułatwić współpracę między różnymi ośrodkami badawczymi na świecie (por. tab. 1.5.1.).

Tab. 1.5.1. Podsumowanie systemu interpretacji algorytmu Erlangen. Opracowano na podstawie (Lewczuk i wsp., 2015).

Interpretacja	Punkty	Konfiguracja biomarkerów
Brak dowodów na chorobę neurozwyrodnieniową	0	Wszystkie biomarkery CSF w normie
Nieprawdopodobna AD	1	Jedynie nieznacznie* patologicznie zmienione wyniki albo A β LUB t-tau LUB p-tau, ale nie obu
Możliwa AD	2	Patologicznie zmienione wyniki albo A β LUB t-tau LUB p-tau, ale nie obu
Możliwa AD	2	Nieznacznie patologicznie zmienione wyniki obu, A β ORAZ t-tau LUB p-tau
Możliwa AD	3	Patologicznie zmienione wyniki albo A β ORAZ t-tau LUB p-tau z towarzyszącymi nieznacznymi zmianami biomarkerów z drugiej grupy**
Prawdopodobna AD	4	Patologicznie zmienione wyniki A β ORAZ t-tau ORAZ p-tau

* nieznacznie – na granicznym poziomie (ang. *border zone*)

** np. patologicznie obniżony poziom wskaźnika A β_{1-42} / A β_{1-40} oraz/ lub A β_{1-42} oraz nieznacznie podwyższony poziom stężenia t-tau oraz/lub p-tau.

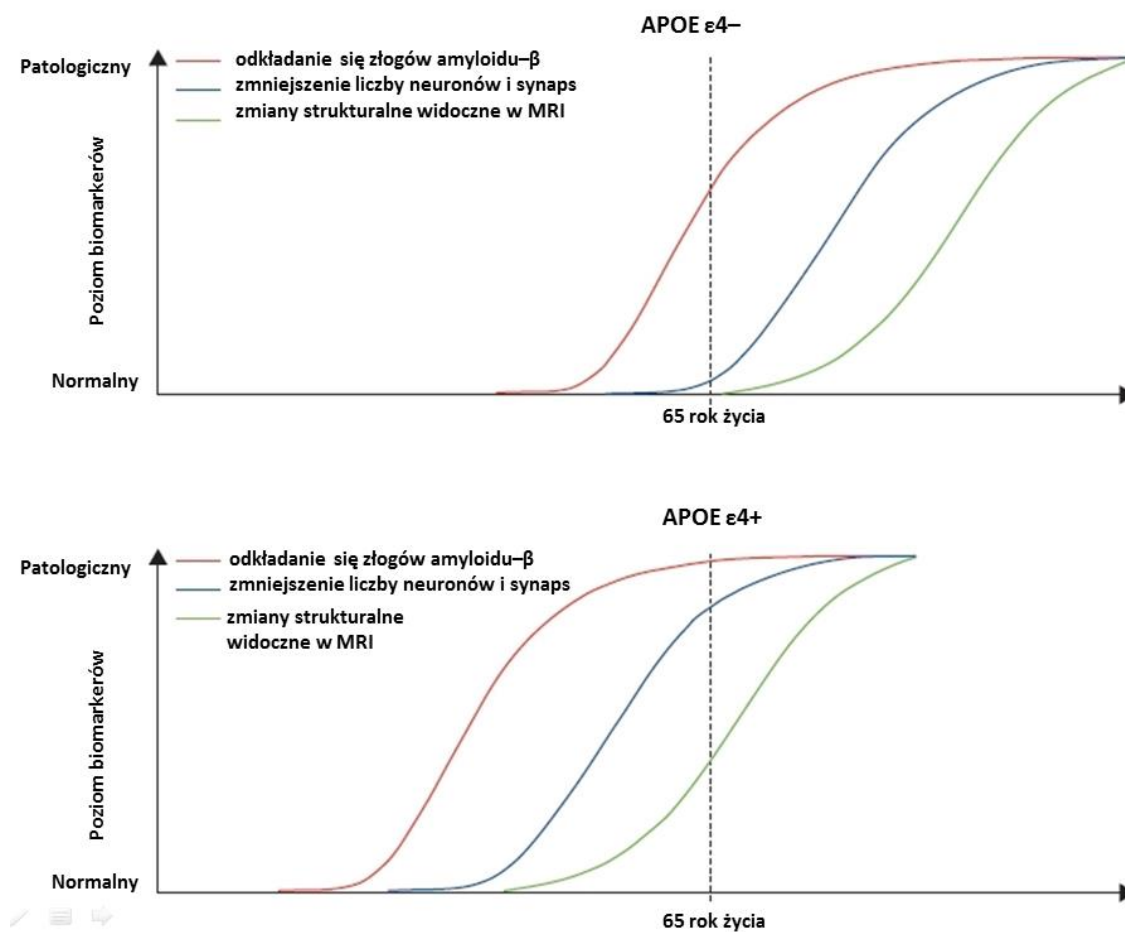
1.6. Gen apolipoproteiny E – APOE

Gen apolipoproteiny E (APOE), znajdujący się w chromosomie 19 (19q13.2), koduje białko, które bierze udział w transporcie cholesterolu w krwiobiegu. Każdy z nas dziedziczy jeden z trzech alleli genu $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ lub $\epsilon 4$ od każdego z rodziców. Allel $\epsilon 3$ jest najczęściej występującym w populacji, natomiast najrzadszy jest allel $\epsilon 2$. Posiadanie allelu $\epsilon 4$ zwiększa ryzyko rozwinięcia AD oraz wpływa na szybsze wystąpienie objawów w porównaniu do allelu $\epsilon 3$, natomiast odziedziczenie kopii allelu $\epsilon 2$ może obniżyć to ryzyko (El Haj i wsp., 2016; Reinvang i wsp., 2013). U osób, które odziedziczą jedną kopię allelu $\epsilon 4$ występuje trzykrotnie większe ryzyko rozwinięcia zespołu otępiennego, niż u osób które go nie posiadają, natomiast u osób z podwójną kopią allelu $\epsilon 4$ ryzyko to wzrasta nawet dwunastokrotnie (Holtzman i wsp., 2012; Loy i wsp., 2014). Dodatkowo, u osób które posiadają kopię allelu $\epsilon 4$ występuje większe prawdopodobieństwo rozwinięcia choroby we wcześniejszym wieku niż u tych, którzy posiadają kopie alleli $\epsilon 3$ lub $\epsilon 2$ (Jack i wsp., 2010; Spinney, 2014) (por. ryc. 1.6.1.).

Szacuje się, że wśród pacjentów ze zdiagnozowaną AD, od 40 do 65 % osób posiada przynajmniej jedną kopie $\epsilon 3$ genu APOE (Saunders i wsp., 1993). Obecność APOE $\epsilon 4$ koreluje z przyspieszonym rozwijaniem się objawów zespołu otępiennego u pacjentów z MCI oraz zwiększonym ryzykiem konwersji do zespołu MCI i otępienia w AD u pacjentów z SCD (Cheng i wsp., 2017).

Chociaż sposób w jaki APOE wpływa na rozwój AD nie jest do końca znany, to istnieje wiele doniesień, wskazujących na znaczą rolę APOE w patomechanizmie choroby (Kester i wsp., 2009). Obecność APOE $\epsilon 4$ wiąże się z przyspieszonym odkładaniem amyloidu- β i splotków neurofibrylarnych (El Haj i wsp., 2016; Kester i wsp., 2009). Obecność APOE $\epsilon 4$ również wiąże się z większymi zanikami w obszarach hipokampów oraz dysfunkcją sieci wzbudzeń podstawowych (ang. *default mode network* – DMN) (Chiang i wsp., 2011; El Haj i wsp., 2016; Risacher i wsp., 2013), a co za tym idzie również z deficytami w zakresie funkcjonowania poznawczego, przede wszystkim pamięci epizodycznej. Badania pokazują również, że APOE ma wpływ na zmiany w

biomarkerach AD w CSF (Kester i wsp., 2009; Risacher i wsp., 2013; Toledo i wsp., 2015).



Ryc.1.6.1. Schemat wpływu APOE ε4 na patomechanizm AD. Opracowano na podstawie Jack i wsp. (2010).

1.7. Deficyty funkcji poznawczych w badaniu neuropsychologicznym

Deficyty pamięci epizodycznej są jednym z pierwszych i najbardziej charakterystycznych objawów fazy klinicznej w przebiegu AD (Bäckman i wsp., 2005; McKhann i wsp., 2011; Vyhnalek i wsp., 2014) i dotyczą zarówno procesu przyswajania nowych informacji, jak i trudności w przypominaniu sobie wydarzeń z przeszłości (Kotapka – Minc, 2004). Z badań neuropatologicznych wynika, że wiąże się to głównie ze zmianami neurozwyrodnieniowymi w przyśrodkowych częściach płatów skroniowych, zwłaszcza w formacjach hipokampów (El Haj i wsp., 2016; Vyhnalek i wsp., 2014), ale w późniejszych etapach choroby również ze zmianami w płatach czołowych i ich połączeń z innymi strukturami mózgu (Vyhnalek i wsp., 2014).

Pamięć epizodyczna (ang. *episodic memory*) to system pamięci zdarzeń doświadczanych w określonym czasie i miejscu. Oryginalny koncept pamięci epizodycznej Tulvinga zakłada, że jest ona silnie związana z przywoływaniem wydarzeń w ich przestrzennym i czasowym kontekście i jest bezpośrednio powiązana ze świadomością tego procesu (Tulving, 2002). Pamięć epizodyczna odnosi się nie tylko do procesów kodowania i odzyskiwania informacji, ale również do przypomina sobie kontekstu, w którym dane wydarzenie pojawiło się oraz do subiektywnego doświadczenia zapamiętywania (Tulving, 2002).

Najczęściej stosowaną miarą pamięci epizodycznej w diagnostyce procesów otępiennych jest test uczenia się słuchowego (ang. *auditory verbal learning test* – AVLT). Jest to zadanie, które polega na prezentowaniu werbalnie osobie badanej słów, a następnie jest ona proszona o ich bezpośrednie odtworzenie w dowolnej kolejności, aż do uzyskania odpowiedniego kryterium (wyuczenia się pełnej listy lub wykonania dziesięciu powtórzeń). W próbie tej ocenia się liczbę słów zapamiętanych przez osobę badaną po odroczeniu czasowym (około trzydziestu minut) bez podawania wskazówek znaczeniowych (ang. *free recall*). Badanie pamięci metodą AVLT, zwłaszcza wyniki w próbie odroczenia po 30 minutach są czułą miarą pogarszającej się pamięci epizodycznej w AD (Vyhnalek i wsp., 2014).

Zaburzenia pamięci semantycznej są obok zaburzeń pamięci epizodycznej drugim charakterystycznym dla AD symptomem, jednak występują zazwyczaj później niż zaburzenia pamięci epizodycznej (Drago i wsp., 2011; Jagodzińska, 2008). Pamięć semantyczna jest systemem pamięci umożliwiającym przyswajanie i przechowywanie informacji o faktach (Jagodzińska, 2008). Dzięki niej możemy myśleć o aspektach rzeczywistości, których aktualnie nie spostrzegamy. Treści w niej zawarte stanowią niezbędny materiał dla operacji poznawczych i tworzenia umysłowych modeli świata. Pamięć semantyczna jest związana ze świadomością noetyczną, która odnosi się do istnienia świata, zdarzeń i reguł, niezależnie od Ja i subiektywnego poczucia czasu. Dlatego, zdaniem Tulvinga pamięć ta występuje również u zwierząt w odróżnieniu od pamięci epizodycznej, która jest unikalna dla ludzi (Tulving, 2002).

Pamięć semantyczna jest rodzajem bazy, która jest zaangażowana w rozumienie języka, formułowanie wypowiedzi, percepcję i rozwiązywanie problemów. Zaburzenia pamięci semantycznej przejawiają się trudnościami w rozumieniu, nazywaniu i definiowaniu pojęć niezależnie od modalności zmysłowych, w jakich są prezentowane, oraz osłabieniem zdolności do generowania pojęć należących do różnych kategorii i zubożeniem wiedzy ogólnej (Kotapka – Minc, 2004). Strukturami odpowiadającymi za przechowywanie informacji w pamięci semantycznej są przednioboczne części płatów skroniowych (głównie po stronie lewej), natomiast za odtwarzanie informacji semantycznych odpowiada dolna i tylnoboczna część płatów czołowych oraz tylna część lewego płata skroniowego (Wiggs i wsp., 1998). Do mierzenia pamięci semantycznej najczęściej wykorzystuje się: ocenę fluencji słownej, nazywanie oraz znajdowanie podobieństw pomiędzy pojęciami (abstrahowanie). Wraz z nasilającymi się objawami procesu otępiennego, chorzy mogą mieć trudności z fluencją słowną, czyli płynnością językową opisywaną jako zdolność do aktualizowania informacji i zmiany do nastawienia umysłowego (Barczak, 2011; Drago i wsp., 2011). Pacjenci mogą również doświadczać tak zwanego zjawiska „na końcu języka”, mają trudności z aktualizacją nazw przedmiotów (nazywanie), nazw własnych czy imion bliskich w bardziej zaawansowanych stadiach choroby. Również w dalszych etapach choroby mogą występować trudności z rozumieniem i rozwiązywaniem problemów (poziom abstrahowania).

Najczęstszym sposobem badania nazywania w badaniu neuropsychologicznym jest Bostoński Test Nazywania (ang. *Boston Naming Test*), gdzie osoba badana ma za zadanie podać nazwę powszechnie stosowaną dla obrazków konturowych o różnej trudności (np. grzebień, ławka, wulkan) (Kaplan i wsp., 1983). Pacjenci z AD często mają tendencję do błędów słownych polegających na poddawaniu kategorii nadrzędnej (np. „zwierzę” zamiast „wielbłąd”) (Drago i wsp., 2011).

Poziom fluencji słownej bada się stosując próbę kliniczną polegającą na wyliczaniu w ciągu sześćdziesięciu sekund jak największej liczby słów należących do określonej kategorii semantycznej (np. zwierzęta) czy fonetycznej (np. słowa zaczynające się na konkretną literę) (Barczak, 2011; Lezak i wsp., 2004; Strauss i wsp., 2006).

Powszechnie stosowaną miarą poziomu abstrahowania jest podtest „Podobieństwa” ze skali do badania inteligencji Wechslera (Lezak i wsp., 2004; Wechsler, 1981). Jest to zadanie polegające na podaniu jakie istnieje podobieństwo pomiędzy pojęciami o rosnącej trudności np. jabłko i gruszka, wiersz i obraz czy mucha i drzewo.

Procesy uwagowe pełnią w systemie poznawczym rolę nadrzędną, ponieważ mają bezpośredni wpływ na pozostałe funkcje poznawcze. Uwaga jest procesem, na który składa się kilka podsystemów tj.: selektywność, trwałość, podzielność i przeszukiwanie pola percepcyjnego. Podsystemy te pełnią różne, ale wzajemnie ze sobą powiązane funkcje. We wczesnych stadiach procesu otępiennego zaburzenia procesów uwagowych utrudniają funkcjonowanie w życiu codziennym i przejawiają się brakiem wytrwałości, wzmożoną podatnością na bodźce zakłócające oraz trudnościami w hamowaniu impulsywnych reakcji (Kotapka – Minc, 2004). Za mechanizmy uwagi odpowiada zintegrowana aktywność kory nowej (głównie okolice przedczołowe, tylne obszary płatów ciemieniowych i podstawne płatów skroniowych), wzgórze oraz pnia mózgu. Struktury te funkcjonalnie są połączone za pośrednictwem aktywującego układu siatkowatego. Natomiast w kontrolę procesów uwagowych zaangażowane są głównie okolice przedczołowe prawej półkuli mózgu (Kotapka – Minc, 2004).

Do badania procesów uwagowych najczęściej stosuje się część „B” Testu Łączenia Punktów (*Trail Making Test - TMT*) z Baterii Testów Halsteda – Reitana, który jest typowym zadaniem dwutorowym. Pacjent proszony jest o naprzemienne łączenie ze sobą cyfr i liter, w kolejności rosnącej i alfabetycznej. Test ten ocenia głównie

podzielność uwagi, czyli zdolność równoczesnego zwracania uwagi na więcej niż jeden określony bodziec czy proces (Kotapka – Minc, 2004; Lezak i wsp., 2004; Reitan i Wolfson, 1995).

W starzejącym się zarówno fizjologicznie jak i patologicznie mózgu, zaburzeniu ulega również tempo przetwarzania informacji. Zmiany w tym obszarze obserwuje się już od trzeciej dekady życia (Harada i wsp., 2013; Salthouse, 2012). Najczęściej stosowaną miarą spowolnienia tempa przetwarzania informacji jest pomiar czasu wykonania części „A” Testu Łączenia Punktów (*Trail Making Test - TMT*) z Baterii Testów Halsteda – Reitana (Reitan i Wolfson, 1995). Pacjent proszony jest o łączenie ze sobą cyfr w kolejności rosnącej. Spowolnienie tempa przetwarzania informacji, podobnie jak procesy uwagowe, może negatywnie wpłynąć na poziom wykonania pozostałych testów mierzących funkcjonowanie poznawcze np. na poziom fluencji słownej (Harada i wsp., 2013).

2. Założenia i cel pracy

Cel pracy

Głównym celem pracy jest znalezienie czynników psychologicznych i biochemicznych umożliwiających wyłonienie wśród osób z SCD i MCI pacjentów ze zwiększonym ryzykiem rozwinięcia się otępienia typu alzheimerowskiego.

Cele szczegółowe

1. Ocena poziomów stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$, t-tau i p-tau w CSF i badanie fenotypowe nosicieli allelu $\epsilon 4$ APOE pod kątem wyłonienia pacjentów z podwyższonym ryzykiem szybkiego rozwinięcia się otępienia typu alzheimerowskiego.
2. Ocena wpływu poziomów stężenia biomarkerów AD w CSF oraz obecności allelu $\epsilon 4$ APOE na wyniki testów badających sprawność funkcji poznawczych.

3. Materiał i metody

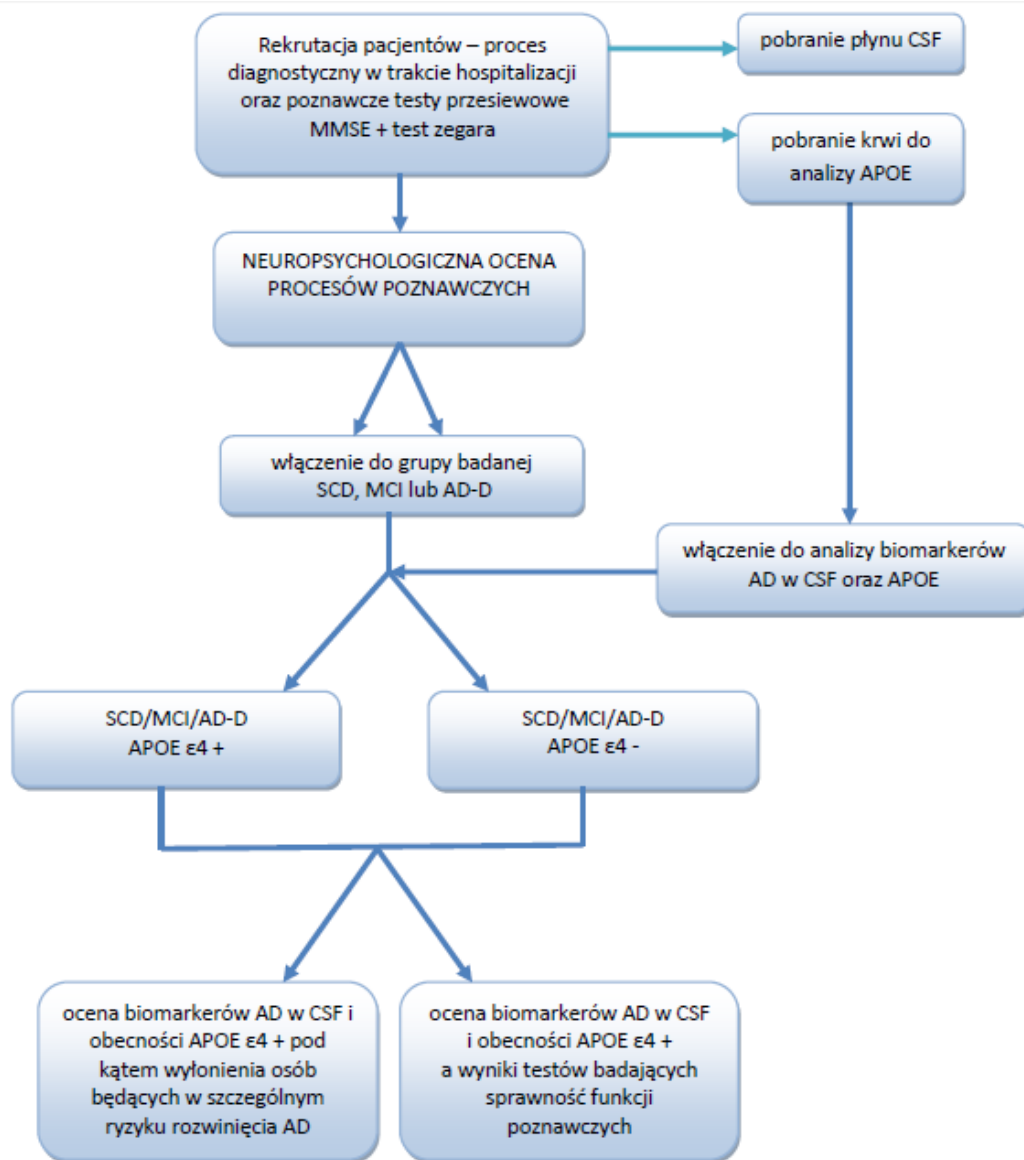
3.1. Proces diagnostyczny

Proces diagnostyczny pacjentów z MCI, SCD oraz AD odbywał się w trakcie dwudniowej hospitalizacji w Oddziale Alzheimerowskim Kliniki Neurologii CSK MSWiA. Dokonywany był w oparciu o:

- wywiad z pacjentem i informatorem (tzn. z osobą, która dobrze zna poziom funkcjonowania poznawczego pacjenta sprzed wystąpienia objawów);
- wyniki badania neurologicznego i badania psychiatrycznego;
- wyniki badań przesiewowych funkcji poznawczych z wykorzystaniem Krótkiej Skali Oceny Stanu Psychicznego MMSE (ang. *Mini Mental State Examination*) (Folstein i wsp., 1975) i testu rysowania zegara (Sunderland i wsp., 1989);
- ocenę funkcjonalną z wykorzystaniem Skali Klinicznej Oceny Stopnia Otępienia CDR (ang. *Clinical Dementia Rating*) (Morris, 1993) i Skali Ogólnej Deterioracji GDS (ang. *Global Deterioration Scale*) (Reisberg i wsp., 1982).

Następnie przeprowadzono badanie neuropsychologiczne, badania neuroobrazowe (rezonans magnetyczny lub tomografia komputerowa) oraz dodatkowe badania laboratoryjne (tj. poziom hormonów tarczycy, witaminy B12, kwasu foliowego oraz homocysteiny), celem wykluczenia innych przyczyn pogorszenia funkcjonowania poznawczego pacjentów. Wyniki oceny stężeń biomarkerów AD w CSF oraz obecności allelu APOE $\epsilon 4$ otrzymywano po około trzech miesiącach od okresu hospitalizacji. Diagnoza zespołu SCD, MCI i AD była stawiana bez znajomości tych wyników. Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA w Warszawie na przeprowadzenie badań i wykorzystanie uzyskanych wyników do potrzeb prac

naukowych. Wszyscy pacjenci podpisali zgodę na pobranie CSF i próbki krwi do analizy APOE. Schemat obrazujący kolejność przeprowadzania badań w projekcie przedstawia ryc. 3.1.1.



Ryc. 3.1.1. Schemat badań i analiz przeprowadzonych w projekcie badawczym.

3.2. Kryteria rozpoznania

3.2.1. Subiektywne pogorszenie funkcjonowania poznawczego – SCD

W niniejszym projekcie badawczym używano kryteriów diagnostycznych dla SCD opublikowanych w kwietniu 2014 roku przez zespół Jessena (Jessen i wsp., 2014):

1. Zgłaszane osobiście subiektywne pogorszenie sprawności funkcjonowania poznawczego w porównaniu z poprzednim normalnym stanem, którego nie można wyjaśnić tymczasowym pogorszeniem funkcjonowania poznawczego w związku z nagłym pogorszeniem stanu zdrowia czy samopoczucia.
2. Brak zaburzeń poznawczych w obiektywnych testach neuropsychologicznych używanych do oceny zaburzeń w MCI i AD, z uwzględnieniem odchyleń dla wieku, płci czy liczby lat nauki.
3. Oba kryteria muszą być spełnione.

Kryterium wyłączenia:

1. Spełnianie kryteriów diagnostycznych zespołu MCI oraz zespołu otępiennego.
2. Subiektywne zaburzenia poznawcze nie mogą wynikać z zaburzeń psychiatrycznych lub neurologicznych, innych zaburzeń medycznych, działania ubocznego leków czy nadużywania substancji psychoaktywnych.

3.2.2. Łagodne zaburzenia poznawcze –MCI

Dla rozpoznawania zespołu MCI zastosowano osiowe kryteria diagnostyczne opracowane przez amerykańskie Stowarzyszenie Alzheimerowskie i Narodowy Instytut Starzenia (ang. *National Institute on Aging–Alzheimer's Association* - NIA/AA) w 2011 roku (Albert i wsp., 2011). Na ich podstawie zespół, MCI może być rozpoznany, jeśli występują następujące objawy:

1. Zaniepokojenie dotyczące zmian w zakresie sprawności poznawczej.
2. Pogorszenie funkcjonowania poznawczego dotyczące jednego lub kilku obszarów poznawczych.

3. Zachowana samodzielna zdolność codziennego funkcjonowania.
4. Brak otępienia.

3.2.3. Choroba Alzheimera

Dla rozpoznania otępienia typu alzheimerowskiego zastosowano najnowsze kryteria diagnostyczne opracowane przez amerykańskie Stowarzyszenie Alzheimerowskie i Narodowy Instytut Starzenia (NIA/AA) (McKhann i wsp., 2011). Na ich podstawie otępienie może być rozpoznane, jeśli występują następujące objawy:

1. Zaburzenia funkcji poznawczych lub zachowania, które wpływają negatywnie na funkcjonowanie w pracy lub wykonywanie codziennych aktywności; oraz
2. Powodują pogorszenie poziomu funkcjonowania i wykonywania zadań w porównaniu do poprzedniego poziomu; oraz
3. Nie można ich wyjaśnić zaburzeniami świadomości lub innymi poważnymi zaburzeniami psychicznymi;
4. Zaburzenia poznawcze są rozpoznane na podstawie:
 - a. wywiadu od pacjenta i informatora (osoby, która zna pacjenta i ma wiedzę na temat jego funkcjonowania sprzed wystąpienia zaburzeń), oraz
 - b. obiektywnej oceny funkcji poznawczych albo za pomocą przyłóżkowych testów przesiewowych, np. MMSE albo badania neuropsychologicznego. Badanie neuropsychologiczne powinno być przeprowadzone w sytuacji, kiedy wywiad chorobowy i „przyłóżkowe” badanie stanu psychicznego nie pozwalają na dokonanie rozpoznania, które nie budziłoby wątpliwości.
5. Zaburzenia funkcji poznawczych i zaburzeń zachowania dotyczą minimum dwóch poniższych obszarów:
 - a. zaburzenia możliwości nabywania i zapamiętywania nowych informacji – do symptomów zalicza się: powtarzanie pytań lub rozmów, gubienie rzeczy osobistych, zapominania o wydarzeniach lub umówionych spotkaniach, gubienie się w znanym terenie.

- b. zaburzenia rozumienia i radzenia sobie ze złożonymi zadaniami, pogorszenie zdolności osądu – do symptomów zalicza się: pogorszenie rozumienia możliwości wystąpienia niebezpiecznych sytuacji , niezdolność radzenia sobie z finansami, pogorszenie możliwości podejmowania decyzji oraz złożonego planowania lub wykonywania zadań wieloetapowych.
- c. zaburzenia funkcji wzrokowo – przestrzennych – do symptomów zalicza się: niezdolność do rozpoznawania twarzy lub powszechnie znanych przedmiotów lub znajdowania przedmiotów będących w zasięgu wzroku pomimo prawidłowej ostrości wzroku, niezdolność operowania prostymi narzędziami lub niezdolność dopasowania ubrania do stosownej części ciała.
- d. zaburzenia funkcji językowych (mówienie, czytanie, pisanie) – do symptomów zalicza się: trudności w znajdowaniu prostych słów, niepewność w używaniu słów, błędy w mowie, ortografii i piśmie.
- e. zaburzenia osobowości, zachowania lub sposobu bycia – do symptomów zalicza się: niecharakterystyczna zmienność nastrojów tj. stany pobudzenia, utrata motywacji i inicjatywy, apatia, utrata energii, wycofanie społeczne, zmniejszenie zainteresowań wcześniejszymi aktywnościami, utrata empatii, zachowania kompulsywne lub obsesyjne, zachowania społecznie nieakceptowalne.

Rozpoznanie prawdopodobnego otępienia w chorobie Alzheimera możliwe jest jeśli:

1. Spełnione są opisane wyżej osiowe objawy otępienia oraz dodatkowo stwierdza się:
 - A. Skryty początek. Symptomy rozpoczynają się stopniowo w ciągu miesięcy lub lat, a nie nagle (w ciągu godzin lub dni).
 - B. Jednoznaczny wywiad wskazujący na pogorszenie funkcjonowania poznawczego na podstawie opisu lub obserwacji pacjenta.
 - C. Początkowe i najwyraźniejsze zaburzenia poznawcze , ustalone na podstawie wywiadu i badania klinicznego dotyczą jednej z poniższych kategorii:
 - a. zaburzenia amnestyczne: jest to najczęstszy zespół objawów w AD. Deficyty powinny obejmować zaburzenia uczenia się i przypominania

nowych informacji. Powinny również występować inne zaburzenia poznawcze w przynajmniej jednym, z opisanych w kryteriach osiowych otępienia obszarów.

b. zaburzenia nieamnestyczne:

- zaburzenia językowe: najwyraźniejsze deficyty dotyczą trudności w znajdowaniu słów, jednak powinny również występować zaburzenia w innych obszarach poznawczych.
- zaburzenia wzrokowo-przestrzenne: najwyraźniejsze deficyty dotyczą funkcji wzrokowo-przestrzennych, włączając w to agnozę przedmiotów, trudności w rozpoznawaniu twarzy, symultagnozę oraz aleksję, jednak powinny również występować zaburzenia w innych obszarach poznawczych.
- zaburzenia funkcji wykonawczych: najwyraźniejsze deficyty dotyczą zdolności osądu, wnioskowania i rozwiązywania problemów, jednak powinny również występować zaburzenia w innych obszarach poznawczych.

D. Rozpoznanie prawdopodobnego otępienia w AD nie powinno się stawiać, gdy istnieją dane wskazujące na:

- a. istotną współwystępującą chorobę naczyniową mózgu, zdefiniowaną przez udar mózgu powiązany czasowo z wystąpieniem lub nasileniem zaburzeń poznawczych, lub obecność licznych lub rozległych zawałów lub nasilonych zmian hiperintensywnych w istocie białej mózgu; lub
- b. osiowe objawy otępienia z ciałami Lewy'ego inne niż samo otępienie; lub
- c. wyraźne objawy behawioralnego wariantu otępienia czołowo – skroniowego; lub
- d. wyraźne objawy semantycznej pierwotnej afazji postępującej lub pierwotnej afazji postępującej bez płynności mowy/ z agramatyzmami; lub
- e. dane wskazujące na inną współwystępującą aktywną chorobę neurologiczną lub inną niż neurologiczna, lub stosowanie leków, które mogłyby mieć istotny wpływ na funkcjonowanie poznawcze.

3.3. Markery biochemiczne

Pobranie płynu mózgowo-rdzeniowego odbywało się w trakcie dwudniowej hospitalizacji, pierwszego dnia około godziny trzynastej, w standardowych warunkach. Próbkę pobierano poprzez punkcję lędźwiową w przestrzeń między wyrostkami kolczystymi L3/L4 lub L4/L5. Oznaczenie stężenia biomarkerów AD: A β ₁₋₄₂ oraz t-tau i p-tau w płynie mózgowo-rdzeniowym przeprowadzono metodą ELISA, przy użyciu zestawów firmy Innogenetics (Gent, Belgium) w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej CSK MSWiA w Warszawie. Do ustalenia punktów odcięcia stężeń markerów charakterystycznych dla AD użyto poniższych norm:

- dla A β ₁₋₄₂ poziom stężenia poniżej 609,54 pg/mL;
- dla białka t-tau poziom stężenia powyżej 277,02 pg/mL;
- dla białka p-tau poziom stężenia powyżej 55,08 pg/mL.

Opisane punkty odcięcia obliczono w laboratorium CSK MSWiA dla reprezentatywnej grupy pacjentów Oddziału Alzheimerowskiego Kliniki Neurologii CSK MSWiA metodą oszacowania najlepszego punktu odcięcia (metodą krzywych ROC).

3.4. Metoda oznaczania genu APOE

W genie APOE znajdują się dwa miejsca polimorficzne rs.429358 i rs.7412, których podstawienie prowadzi do zmian aminokwasowych w pozycjach 112 i 158 białka (Cys 112 Arg i Arg 158 Cys). W zależności od współwystępujących podstawień nukleotydowych wyróżnia się 3 allele genu APOE, kodujące izoformy białka różniące się strukturalnie i funkcjonalnie, co niesie fizjologiczne konsekwencje: APOE ϵ 2 (Cys 112, Cys 158), APOE ϵ 3 (Cys 112, Arg 158) i APOE ϵ 4 (Arg 112, Arg 158). DNA do badań genetycznych izolowane było z limfocytów krwi obwodowej metodą wysalania. Polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (rs.429358 i rs.7412) determinujące genotyp APOE, określane były przy użyciu sond fluorescencyjnych techniką TaqMan (*Step One Plus Detection System, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA*) zgodnie z instrukcją producenta. Badania genetyczne przeprowadzono w Pracowni Neurogenetyki Zespołu

Kliniczno-Badawczego Chorób Zwyrodnieniowych CUN w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN. Po uzyskaniu wyników analizy genotypu, pacjentów podzielono na tych posiadających przyjemniej jeden allel $\epsilon 4$ APOE (APOE $\epsilon 4+$) oraz pacjentów, którzy nie posiadali allelu $\epsilon 4$ APOE (APOE $\epsilon 4-$).

3.5. Osoby badane

Badaniami objęto pacjentów Oddziału Alzheimerowskiego Kliniki Neurologii CSK MSWiA w Warszawie, spośród których wyłoniono 172 pacjentów spełniających kryteria włączenia (rozpoznanie SCD lub MCI). Wszystkie badania przeprowadzono w trakcie dwudniowej hospitalizacji, na koniec której pacjent otrzymywał diagnozę.

Przebadano 87 pacjentów z diagnozą MCI oraz 85 pacjentów z diagnozą SCD. Grupę odniesienia (kontrolną) stanowiło 80 pacjentów z rozpoznaniem AD. Łącznie do analizy zakwalifikowano 252 pacjentów, w tym 144 kobiet i 108 mężczyzn, w wieku od 50 do 87 lat, $M = 65,49$ $SD = 9,50$. Szczegółowe statystyki opisowe przedstawiono w tab. 4.1.1.

3.6. Opis metod oceny neuropsychologicznej

Badanie neuropsychologiczne przeprowadzano pierwszego dnia dwudniowej hospitalizacji, przed nakłuciem lędźwiowym. Badanie trwało około półtorej godziny. Do oceny funkcjonowania poznawczego pacjentów w badaniu neuropsychologicznym użyto zestawu metod standardowo wykorzystywanego w diagnozie osób z zaburzeniami poznawczymi w Oddziale Alzheimerowskim CSK MSWiA. Dla potrzeb rozprawy wykorzystano wyniki następujących testów:

- Pamięć epizodyczna: słuchowe uczenie się listy dziesięciu słów - AVLT (*Auditory Verbal Learning Test*). Pacjent proszony jest o zapamiętanie listy słów a następnie o podanie ich po czasowym odroczeniu (Łuria, 1973).
- Fluencja słowna: próba kliniczna stosowana jako miara płynności językowej służąca do oceny funkcji wykonawczych (*Verbal Fluency Test*). Pacjent proszony

jest o wymienienie jak największej liczby słów w ciągu 60 sekund w dwóch kategoriach semantycznych: „zwierzęta”, „owoce i warzywa”; oraz dwóch kategoriach fonetycznych: słowa zaczynające się na literę “p” i “w” (Barczak, 2011; Lezak i wsp., 2004; Strauss i wsp., 2006).

- Nazywanie: nazywanie 20 obrazków konturowych z Bostońskiego Testu Nazywania (ang. *Boston Naming Test*) (Kaplan i wsp., 1983). Pacjent proszony jest o nazwanie prezentowanych obrazków.
- Poziom abstrahowania: Podtest Podobieństwa ze Skali Inteligencji WAIS-R (*Wechsler Adult Intelligence Scale – Revised*). Pacjent proszony jest o podanie jakie jest podobieństwo pomiędzy parami pojęć o rosnącej trudności. Zadanie to ocenia zdolność do myślenia abstrakcyjnego (Lezak i wsp., 2004; Wechsler, 1981).
- Procesy uwagowe: Test Łączenia Punktów część B (*Trail Making Test - TMT*) z Baterii Testów Halsteada – Reitana. Metoda powszechnie stosowana do oceny procesów uwagowych. Pacjent proszony jest o naprzemienne łączenie ze sobą cyfr i liter w kolejności rosnącej i alfabetycznej (Reitan i Wolfson, 1995; Lezak i wsp., 2004).
- Tempo przetwarzania informacji: mierzone za pomocą oceny czasu wykonania Testu Łączenia Punktów część A (wyżej wymienionego).

3.7. Analiza statystyczna

Wyniki poddano analizie statystycznej wykorzystując metodę dwuczynnikowej analizy wariancji *ANOVA* (*two-way Anova*), model analizy regresji oraz korelacji R Pearsona. Posłużono się pakietem statystycznym IBM SPSS Statistics 20.0.0. PL. Wyniki uznano za istotne statystycznie przy wartości $p \leq 0,05$. W tabelach przedstawiono wyniki testu F (analiza wariancji) oraz istotność statystyczną dla poszczególnych wyników – symbolem ns (*non significant*) oznaczono wyniki nieistotne statystycznie, oraz miarę siły efektu – współczynnik eta kwadrat (oznaczony symbolem η^2).

4. Wyniki

4.1. Statystyki opisowe

Spośród 252 pacjentów zakwalifikowanych do badania 17 osób miało wykształcenie podstawowe, 125 średnie, 95 wyższe, natomiast 15 pacjentów miało ponad wyższe wykształcenie (tj. stopnie naukowe lub ukończony więcej niż jeden kierunek studiów). Analizując poziom biomarkerów AD w CSF pod kątem opracowanych norm w grupie SCD stwierdzono obniżony poziom stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ u 20 osób (23,5%), natomiast podwyższony poziom stężenia białka t-tau u 27 (31,8%) oraz p-tau u 18 osób (21,2%). W grupie pacjentów z MCI stwierdzono obniżony poziom stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ u 39 osób (44,8%), natomiast podwyższony poziom stężenia białka t-tau u 38 (43,7%) oraz p-tau u 31 osób (35,6%). U pacjentów z rozpoznaniem AD-D wykryto obniżony poziom stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ u 73 osób (91,3%), natomiast podwyższony poziom stężenia białka t-tau u 67 (83,8%) oraz p-tau u 60 osób (75%). Szczegółowe statystyki opisowe dotyczące wieku, płci, wykształcenia (liczba lat nauki), a także wyników w zakresie biomarkerów AD w CSF, profilu biomarkerów AD w CSF, wskaźników $A\beta_{1-42}$ /t-tau i $A\beta_{1-42}$ /p-tau oraz występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE przedstawiono w tab. 4.1.1. Natomiast w tab.4.1.2. przedstawiono poziom biomarkerów analizowany za pomocą indeksu Erlangen.

Tab. 4.1.1. Średnie i odchylenia standardowe dla wieku, płci, liczby lat nauki oraz poziomu biomarkerów AD w CSF oraz występowanie allelu $\epsilon 4$ genu APOE w badanych grupach.

	SCD	MCI	AD-D	Cała grupa
n	85	87	80	252
wiek	61,28 (8,26)	64,85 (8,32)	70,66 (9,61)	65,49 (9,5)
płeć	M 28/ K 57	M 51/ K 36	M 29/ K 51	M 108/ K 144
edukacja (liczba lat nauki)	15,01 (3,31)	13,66 (3,51)	12,51 (3,53)	13,75 (3,58)
$A\beta_{1-42}$	801,15 (263,87)	671,05 (320,33)	426,53 (194,77)	637,31 (306,66)
t-tau	258,43 (132,50)	337,18 (211,17)	587,84 (304,86)	390,19 (264,02)
p-tau	44,27 (15,83)	55,13 (24,68)	78,66 (41,18)	58,94 (32,06)
APOE $\epsilon 4$ +	28/32,9%	28/32,2%	43/53,7%	99/ 39,3%
$A\beta_{1-42} \leq 609,54$	20/23,5%	39/44,8%	73/91,3%	132/52,4%
t-tau $\geq 277,02$	27/31,8%	38/43,7%	67/83,8%	132/52,4%
p-tau $\geq 55,08$	18/21,2%	31/35,6%	60/75%	109/43,3%
profil AD w CSF	6/7,1%	21/24,1%	54/67,5%	81/32,1%
$A\beta_{1-42}$ /t-tau	3,77 (1,75)	2,80 (1,94)	1,11 (1,23)	2,59 (1,99)
$A\beta_{1-42}$ /p-tau	19,88 (7,45)	14,71 (9,02)	6,95 (5,69)	13,99 (9,18)
$A\beta_{1-42}$ /t-tau $\leq 2,20$	17/20%	41/47,1%	70/87,5%	128/50,8%
$A\beta_{1-42}$ /p-tau $\leq 11,07$	10/11,8%	34/39,1%	69/86,3%	113/44,8%

Odchylenia standardowe podano w nawiasach. Poziomy stężenia biomarkerów podano w pg/mL.

Tab. 4.1.2. Poziom biomarkerów AD w CSF analizowany za pomocą indeksu Erlangen.

	SCD	MCI	AD-D	Cała grupa
Indeks Erlangen	N 85	N 87	N 80	N 252
Brak dowodów na chorobę neurozwyrodnieniową (0 pkt.)	42–49,4%	28–32,2%	2–2,5%	72–28,6%
Nieprawdopodobna AD (1 pkt.)	1–1,2%	1–1,1%	0–0%	2–0,8%
Możliwa AD (2-3 pkt.)	34–40%	38–43,7%	20–25%	92–36,5%
Prawdopodobna AD (4 pkt.)	8–9,4%	20–23%	58–72,5%	86–34,1%

4.2. Różnice pomiędzy grupami w zakresie charakterystyk opisowych

Różnice pomiędzy grupami w zakresie charakterystyk opisowych tj. wieku, płci i liczby lat nauki a diagnozą i występowaniem allelu $\epsilon 4$ genu APOE obliczonych metodą analizy wariancji zaprezentowano w tab.4.2.1. W pierwszej fazie analizy kontrolowano także wpływ wieku jako kowariantu na zależności pomiędzy omawianymi zmiennymi, jednak żaden z efektów związanych z wiekiem nie był istotny statystycznie, stąd zmienną tę wykluczono z dalszej analizy.

Tab. 4.2.1. Średnie i odchylenia standardowe dla wieku, płci oraz liczby lat nauki w zależności od rozpoznania i występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.

N	SCD 85		MCI 87		AD-D 80		Istotność statystyczna (wartości p)			Istotność całego modelu
	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	Diagnoza	APOE	Interakcja	
N	57	28	59	28	37	43				
Wiek	61,82 (8,71)	60,18 (7,30)	64,22 (8,76)	66,18 (7,26)	71,86 (11,06)	69,63 (8,15)	F=24,29; p<0,001	ns	ns	ns
Płeć	M 23 K 34	M 5 K 23	M 34 K 25	M 17 K 11	M 13 K 24	M 16 K 27	ns	ns	ns	ns
Edukacja (liczba lat nauki)	14,77 (3,57)	15,50 (2,70)	13,78 (3,63)	13,39 (3,29)	13,16 (3,17)	11,95 (3,76)	F= 10,19; P<0,001	ns	ns	ns

Odchylenia standardowe podano w nawiasach. M- mężczyźni, K- kobiety.

4.3. Poziom biomarkerów AD w CSF oraz APOE $\epsilon 4+$ a rozpoznanie

W celu oceny różnic pomiędzy poziomem biomarkerów AD w CSF, w trzech grupach pacjentów, przy jednoczesnej analizie obecności APOE $\epsilon 4+$ przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA, gdzie diagnoza i obecność APOE $\epsilon 4+$ są zmiennymi niezależnymi. Wyniki zaprezentowano w tab. 4.3.1. Zaobserwowano efekt główny dla diagnozy we wszystkich trzech biomarkerach w CSF. Pacjenci z bardziej nasilonymi zaburzeniami poznawczymi charakteryzowali się niższym poziomem stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ oraz istotnie statystycznie wyższym poziomem stężenia białek t-tau i p-tau. Efekt główny dla obecności APOE $\epsilon 4+$ był również istotny statycznie we wszystkich badanych grupach. Pacjenci z allelem $\epsilon 4+$ genu mieli niższy poziom stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wyższy poziom stężenia białek t-tau oraz p-tau. Jednakże istotny statystycznie efekt interakcji pomiędzy diagnozą a obecnością APOE $\epsilon 4+$ zaobserwowano jedynie w przypadku amyloidu $A\beta_{1-42}$. Ryciny 4.3.1., 4.3.2, i 4.3.3. obrazują opisane wyżej różnice w zakresie biomarkerów CSF i obecności APOE $\epsilon 4+$ w trzech badanych grupach. Jednoczesna analiza obecności APOE $\epsilon 4+$ i poziomu amyloidu $A\beta_{1-42}$ pozwala na wyłonienie pacjentów z zespołem MCI, którzy są w szczególnej grupie ryzyka (por. ryc. 4.3.1.). Poziom biomarkerów AD w CSF różnicuje grupy pacjentów ze względu na rozpoznanie.

Tab. 4.3.1. Średnie i odchylenia standardowe dla poziomów biomarkerów AD w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE u pacjentów w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.

N	SCD 85		MCI 87		AD-D 80		Istotność statystyczna (wartości p)			Istotność całego modelu
	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	Diagnoza	APOE	Interakcja	
N	57	28	59	28	37	43				
$A\beta_{1-42}$	818,85 (283,87)	765,14 (217,89)	766,47 (319,78)	469,99 (212,97)	505,01 (229,28)	359,01 (127,27)	F=39,72 p<0,001 $\eta^2=0,24$	F=24,98 p<0,001 $\eta^2=0,09$	F=4,50 p<0,012 $\eta^2=0,04$	F=25,62 p<0,001 $\eta^2=0,34$
t-tau	245,76 (127,20)	284,21 (141,55)	285,15 (134,83)	446,80 (290,87)	544,19 (295,41)	625,39 (311,27)	F=42,61 p<0,001 $\eta^2=0,26$	F=10,39 p<0,001 $\eta^2=0,04$	ns	F=22,56 p<0,001 $\eta^2=0,31$
p-tau	42,95 (15,58)	46,95 (16,28)	50,29 (17,19)	65,35 (33,85)	70,67 (35,11)	85,54 (45,04)	F=26,88 p<0,001 $\eta^2=0,18$	F=9,14 p<0,003 $\eta^2=0,04$	ns	F=14,80 p<0,001 $\eta^2=0,23$

Odchylenia standardowe podano w nawiasach. Poziomy stężenia biomarkerów podano w pg/mL.

Zaobserwowano efekt główny dla diagnozy we wszystkich trzech biomarkerach. Pacjenci z bardziej zaawansowanymi zaburzeniami poznawczymi mieli istotnie niższy poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ i istotnie wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau.

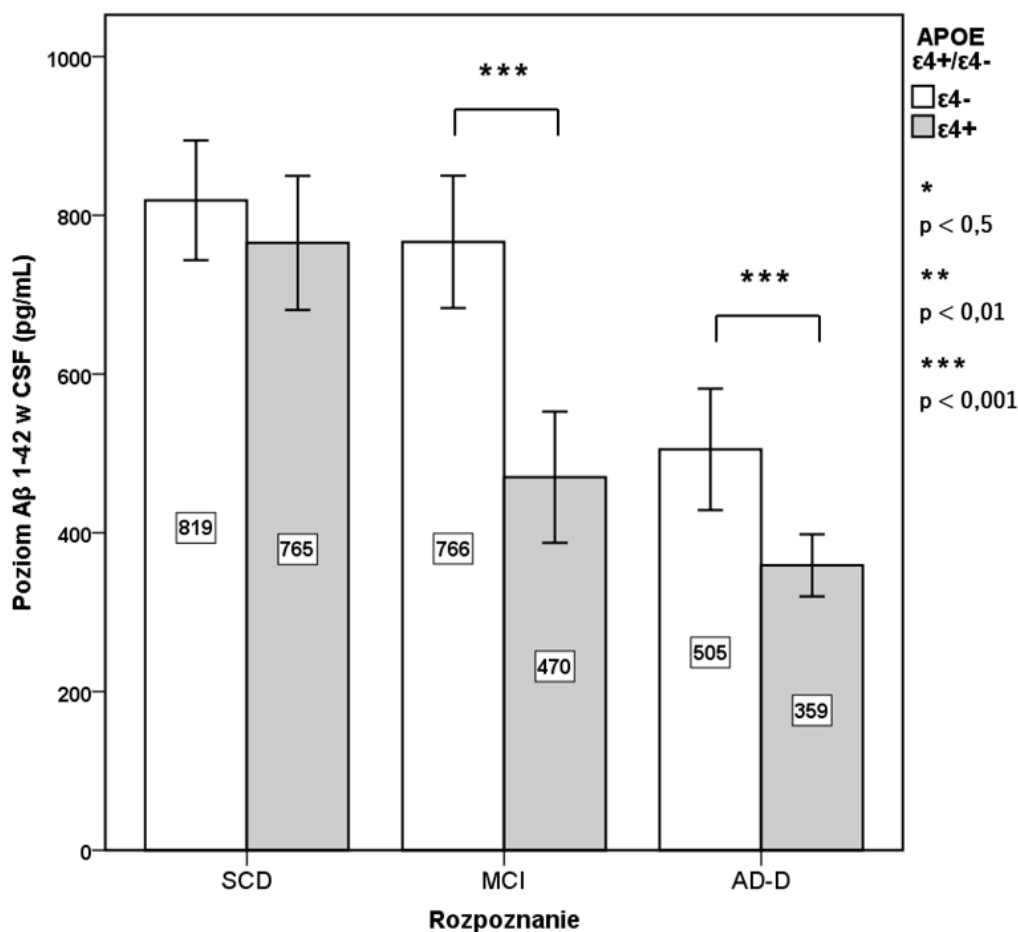
Zaobserwowano również istotny główny efekt dla APOE $\epsilon 4$ w trzech badanych grupach. Grupa pacjentów z APOE $\epsilon 4+$ miała niższy poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ i wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau. Aczkolwiek, istotny statystycznie efekt interakcji zaobserwowano jedynie w zakresie amyloidu $A\beta_{1-42}$. Ryciny 4.3.1., 4.3.2, i 4.3.3. obrazują różnice w zakresie biomarkerów.

Zgodnie z oczekiwaniami, w grupie pacjentów z AD zaobserwowano niższy poziom $A\beta_{1-42}$ niż u pacjentów z MCI (LSD test, MD = -244,51, p < 0,001) i w grupie SCD (LSD test, MD= -374,62, p < 0,01). Natomiast pacjenci z MCI mieli niższy poziom $A\beta_{1-42}$ niż pacjenci z SCD (LSD test, MD = -130,10, p =0,002). Obecność allelu APOE $\epsilon 4$ różnicowała pacjentów w grupie AD ($t_{df=78}=3,58$, p =0,001), a efekt interakcji był jeszcze bardziej wyraźny w grupie MCI ($t_{df=75,4}= 5,12$, p <0,001). Natomiast w grupie SCD nie zaobserwowano istotnego efektu dla APOE $\epsilon 4$.

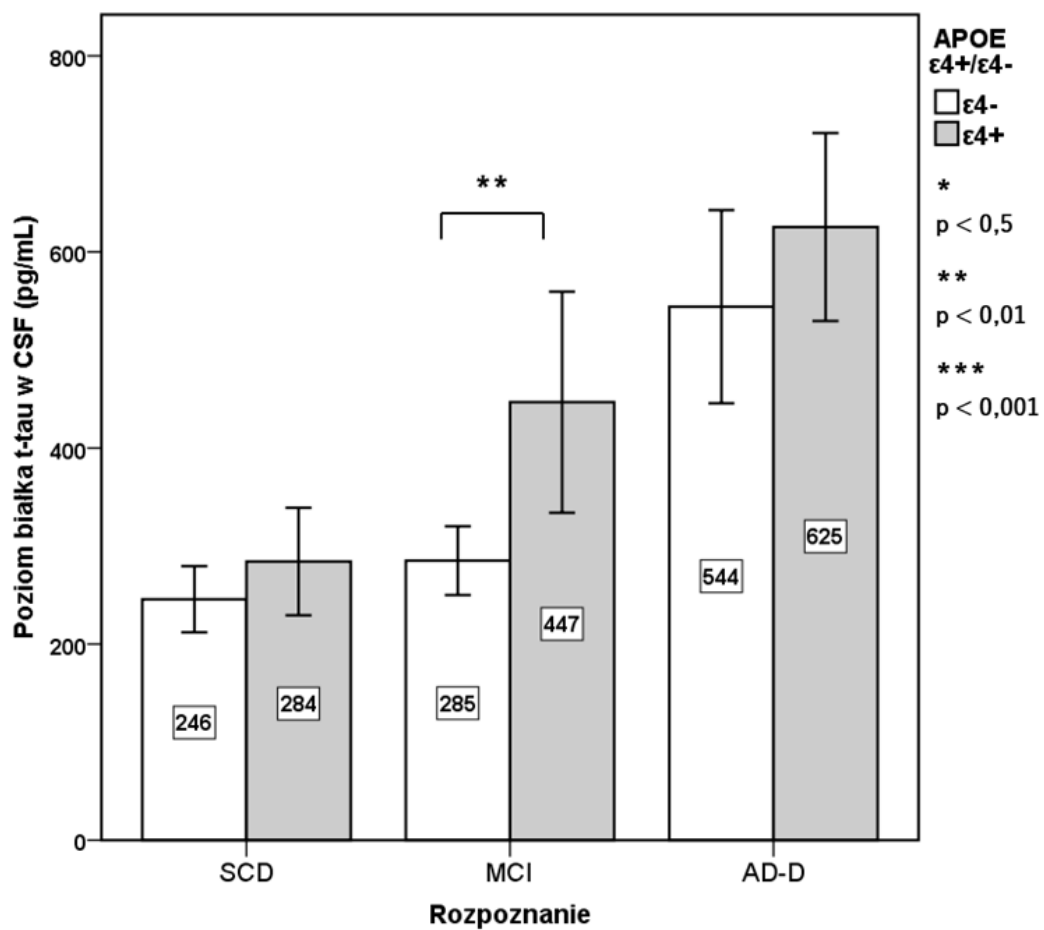
Zgodnie z oczekiwaniami, w grupie pacjentów z AD zaobserwowano wyższy poziom t-tau niż u pacjentów z MCI (LSD test, MD = 250,66, p < 0,001) i w grupie SCD (LSD test, MD= 329,41, p < 0,001). Natomiast pacjenci z grupy MCI mieli wyższy poziom t-tau niż

pacjenci z grupy SCD (LSD test, MD = 78,75, p = 0,023). Obecność allelu APOE $\epsilon 4$ różnicowała jedynie pacjentów w grupie MCI ($t_{df=32,6} = -2,8, p = 0,008$).

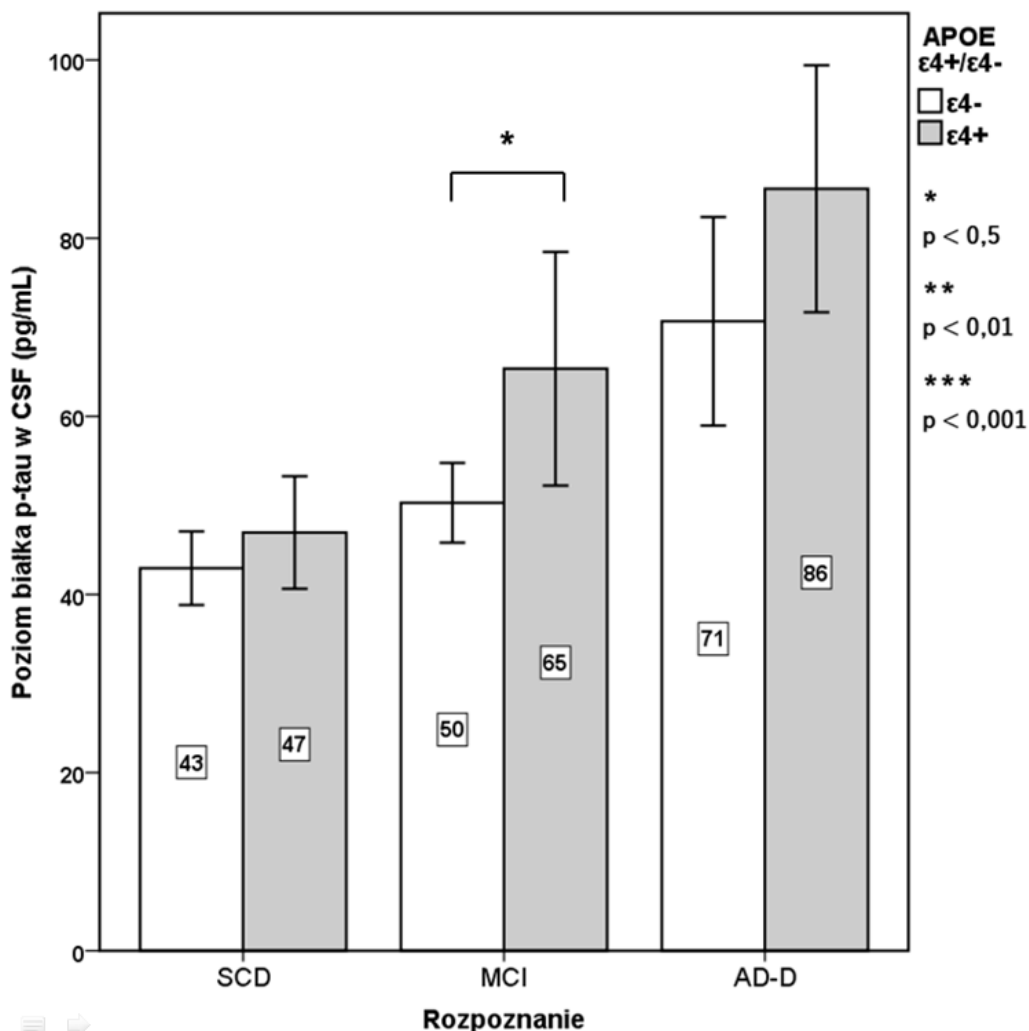
Zgodnie z oczekiwaniami, w grupie pacjentów z AD zaobserwowano wyższy poziom p-tau niż u pacjentów z MCI (LSD test, MD = 23,52, p < 0,001) i w grupie SCD (LSD test, MD = 34,39, p < 0,001). Natomiast pacjenci z grupy MCI mieli wyższy poziom p-tau niż pacjenci z grupy SCD (LSD test, MD = 10,86, p = 0,014). Obecność allelu APOE $\epsilon 4$ różnicowała jedynie pacjentów w grupie MCI ($t_{df=33,8} = -2,22, p = 0,033$).



Ryc. 4.3.1. Poziom amyloidu $A\beta_{1-42}$ w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji. Istotne statystycznie różnice oznaczono gwiazdkami.



Ryc.4.3.2. Poziom całkowitego białka t-tau w CSF w zależności od występowania allelu ε4 genu APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji. Istotnie statystycznie różnice oznaczono gwiazdkami.



Ryc.4.3.3. Poziom ufosforylowanego białka p-tau w CSF w zależności od występowania allelu ε4 genu APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji. Istotne statystycznie różnice oznaczono gwiazdkami.

4.4. Wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /t-tau i $A\beta_{1-42}$ /p-tau biomarkerów AD w CSF oraz APOE ε4+ a rozpoznanie

W ocenie różnic pomiędzy poziomem wskaźników $A\beta_{1-42}$ /t-tau oraz $A\beta_{1-42}$ /p-tau w CSF, w trzech grupach pacjentów, przy jednoczesnej analizie obecności APOE ε4+ przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA, gdzie diagnoza i obecność APOE ε4+ są zmiennymi niezależnymi. Wyniki zaprezentowano w tab.4.4.1. Zaobserwowano efekt główny dla diagnozy w dwóch opisywanych wskaźnikach.

Pacjenci z bardziej nasilonymi zaburzeniami poznawczymi charakteryzowali się niższymi wskaźnikami $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$. Efekt główny dla obecności APOE $\epsilon 4+$ był również istotny statycznie we wszystkich badanych grupach. Pacjenci z allelem $\epsilon 4+$ genu APOE mieli niższe wskaźniki $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$. Jednakże nie zaobserwowano istotnego statycznie efektu interakcji pomiędzy diagnozą a obecnością APOE $\epsilon 4+$. Ryciny 4.4.1. i 4.4.2. obrazują opisane wyżej różnice w zakresie wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ i obecności APOE $\epsilon 4+$ w trzech badanych grupach. Poziom wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ biomarkerów AD w CSF różnicuje grupy pacjentów ze względu na rozpoznanie.

Tab. 4.4.1. Średnie i odchylenia standardowe dla poziomów wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ biomarkerów AD w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE u pacjentów w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.

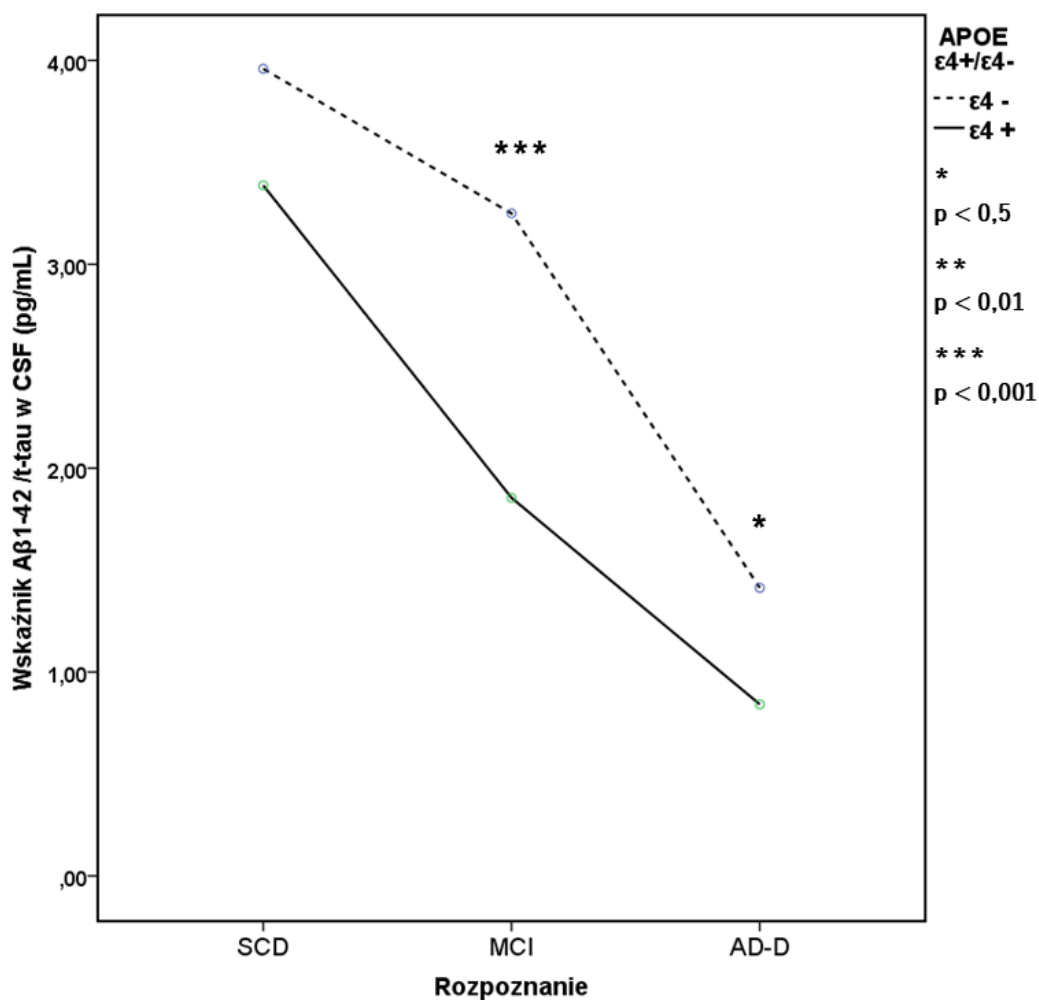
N	SCD 85		MCI 87		AD 80		Istotność statystyczna (wartości p)			Istotność całego modelu
	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	Diagnoza	APOE	Interakcja	
N	57	28	59	28	37	43				
$A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ (pg/mL)	3,96 (1,70)	3,39 (1,82)	3,25 (1,78)	1,85 (1,94)	1,41 (1,44)	0,84 (0,95)	F=47,64 p<0,001 $\eta^2=0,28$	F=15,58 p<0,001 $\eta^2=0,06$	ns	F=26,31 p<0,001 $\eta^2=0,35$
$A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ (pg/mL)	20,57 (6,81)	18,47 (8,57)	16,93 (8,52)	10,04 (8,35)	9,27 (7,20)	4,96 (2,75)	F=56,91 p<0,001 $\eta^2=0,32$	F=21,69 p<0,001 $\eta^2=0,08$	ns	F=31,79 p<0,001 $\eta^2=0,39$

Odchylenia standardowe podano w nawiasach. Poziomy stężenia biomarkerów podano w pg/mL.

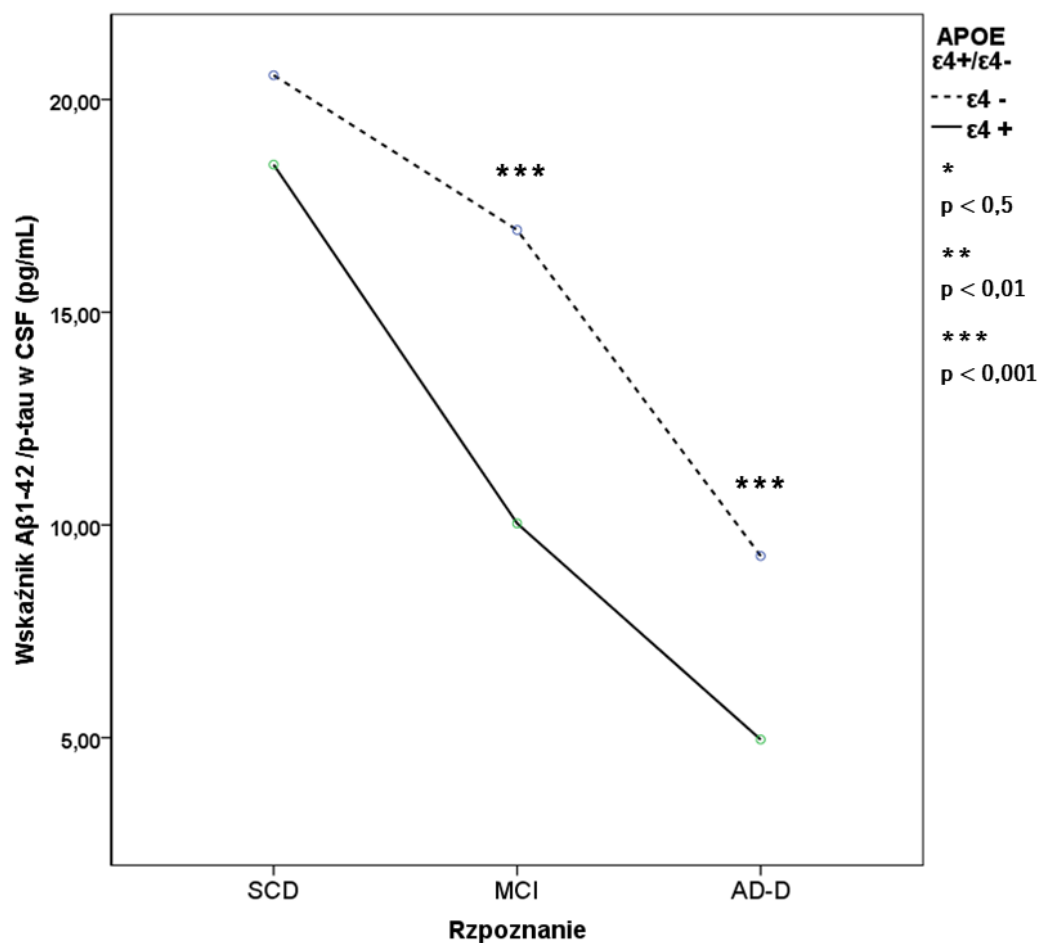
Zgodnie z oczekiwaniami, w grupie pacjentów z AD zaobserwowano niższy poziom wskaźnika $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ niż u pacjentów z MCI (LSD test, MD = -1,69, p < 0,001) i w grupie SCD (LSD test, MD= -2,66, p < 0,001). Natomiast pacjenci z MCI mieli niższy poziom wskaźnika $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ niż pacjenci z grupy SCD (LSD test, MD = -0,97, p < 0,001). Obecność allelu APOE $\epsilon 4$ różnicowała pacjentów w grupie AD (t_{df=60,7}=2,06, p = 0,044), a efekt interakcji był jeszcze bardziej wyraźny w grupie MCI (t_{df=85}= 3,31, p = 0,001). Natomiast w grupie SCD nie zaobserwowano istotnego efektu dla APOE $\epsilon 4$.

Zgodnie z oczekiwaniami, w grupie pacjentów z AD zaobserwowano niższy poziom wskaźnika $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ niż u pacjentów z MCI (LSD test, MD = -7,76, p < 0,001) i w grupie SCD (LSD test, MD= -12,92, p < 0,001). Natomiast pacjenci z MCI mieli niższy

poziom wskaźnika $A\beta_{1-42}$ /p-tau niż pacjenci z grupy SCD (LSD test, MD = -5,16, $p < 0,001$). Obecność allelu APOE $\epsilon 4$ różnicowała pacjentów w grupie AD ($t_{df=45}=3,43$, $p = 0,001$), a efekt interakcji był jeszcze bardziej wyraźny w grupie MCI ($t_{df=85}= 3,54$, $p = 0,001$). Natomiast w grupie SCD nie zaobserwowano istotnego efektu dla APOE $\epsilon 4$.



Ryc.4.4.1. Wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /t-tau biomarkerów AD w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji. Istotne statystycznie różnice oznaczono gwiazdkami.



Ryc.4.4.2. Wskaźnik $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ biomarkerów AD w CSF w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ APOE w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji. Istotne statystycznie różnice oznaczono gwiazdkami.

4.5.Pamięć epizodyczna a APOE $\epsilon 4+$

W ocenie różnic w zakresie werbalnej pamięci epizodycznej, przy jednoczesnej analizie obecności APOE $\epsilon 4+$, przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji ANOVA, gdzie diagnoza i obecność APOE $\epsilon 4+$ są zmiennymi niezależnymi. Wyniki zaprezentowano w tab.4.5.1. Zgodnie z oczekiwaniami zaobserwowano efekt główny dla diagnozy we wszystkich grupach badanych. Pacjenci z bardziej zaawansowanymi zaburzeniami poznawczymi mieli istotnie statystycznie gorsze wyniki w zakresie

werbalnej pamięci epizodycznej. Jednakże nie zaobserwowano efektu głównego dla obecności APOE $\epsilon 4+$ ani efektu interakcji.

Tab.4.5.1. Średnie i odchylenia standardowe dla wyników w teście badającym pamięć epizodyczną w zależności od występowania allelu $\epsilon 4$ genu APOE u pacjentów w trzech badanych grupach – wyniki obliczone metodą analizy wariancji.

N	SCD 85		MCI 87		AD 80		Istotność statystyczna (wartości p)			Istotność całego modelu
	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	$\epsilon 4 -$	$\epsilon 4 +$	Diagnoza	APOE	Interakcja	
N	57	28	59	28	37	43				
Pamięć epizodyczna (0 – 10 pkt.)	8,05 (1,59)	7,86 (1,35)	4,92 (1,63)	4,89 (1,55)	0,51 (1,12)	0,23 (0,65)	F=587,73 p<0,001 $\eta^2=0,83$	ns	ns	F=252,08 p<0,001 $\eta^2=0,84$

Odchylenia standardowe podano w nawiasach.

4.6. Poziom biomarkerów AD w CSF a funkcjonowanie poznawcze

W celu sprawdzenia czy biomarkery AD w CSF korelują z wynikami testów oceniających funkcjonowanie poznawcze osób badanych przeprowadzono korelacje R Pearsona. Wyniki przedstawiono w tab. 4.6.1. Najsilniejsze korelacje zaobserwowano w zakresie werbalnej pamięci epizodycznej. Kierunek zmian jest zgodny z oczekiwanym. Obniżone poziomy amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz podwyższone poziomy białek t-tau i p-tau korelują z obniżonymi wynikami w zakresie werbalnej pamięci epizodycznej, fluencji słownej oraz poziomem abstrahowania. Natomiast obniżone poziomy amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz podwyższone poziomy białek t-tau i p-tau korelują z większą liczbą błędów w nazywaniu oraz z wolniejszym tempem przetwarzania informacji. Gorsze wyniki w zakresie procesów uwagowych korelują z niższymi wartościami wskaźnika $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$. Kierunek zmian w zakresie zmiennej „procesy uwagowe” z pozostałymi markerami jest zgodny z oczekiwaniami, aczkolwiek korelacje te nie osiągnęły istotności statystycznej. Wyniki badań korelacji trzech biomarkerów i wskaźników były kontrolowane dla zmiennych: wiek, płeć i liczba lat nauki.

Tab.4.6.1. Wyniki badań korelacyjnych (R Pearsona) testów badających funkcje poznawcze oraz biomarkerów AD w CSF w trzech badanych grupach jednocześnie.

	A β_{1-42}	t-tau	p-tau	A β_{1-42} /t-tau	A β_{1-42} /p-tau
Pamięć epizodyczna	r = 0,423; p<0,001; df = 247	r = -0,440; p<0,001; df = 247	r = -0,365; p<0,001; df = 247	r = 0,473; p<0,001; df = 247	r = 0,485; p<0,001; df = 247
Fluencja słowna	r = 0,242; p<0,001; df = 247	r = -0,327; p<0,001; df = 247	r = -0,264; p<0,001; df = 247	r = 0,289; p<0,001; df = 247	r = 0,311; p<0,001; df = 247
Nazywanie	r = -0,140; p<0,05; df=234	r = 0,295; p<0,001; df=234	r = 0,199; p<0,01; df=234	r = -0,224; p<0,001; df = 234	r = -0,212; p<0,001; df = 234
Poziom abstrahowania	r = 0,288; p<0,001; df = 242	r = -0,347; p<0,001; df = 242	r = -0,268; p<0,001; df = 242	r = 0,334; p<0,001; df = 242	r = 0,322; p<0,001; df = 242
Tempo przetwarzania informacji	r = -0,254; p<0,001; df = 247	r = 0,325; p<0,001; df = 247	r = 0,263; p<0,001; df = 247	r = -0,302; p<0,001; df = 247	r = -0,307; p<0,001; df = 247
Procesy uwagowe	r = 0,135; p=0,056; df = 201	r = -0,116; p=0,101 df= 201	r = -0,116; p = 0,101; df= 201	r = 0,108; p = 0,127; df= 201	r = 0,152; p<0,05; df= 201

4.7. Pamięć epizodyczna a wskaźnik A β_{1-42} /p-tau biomarkerów AD w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$

W celu określenia, które czynniki wpływają na uzyskiwane wyniki w zakresie oceny werbalnej pamięci epizodycznej, będącej neuropsychologicznym markerem AD, przeprowadzono model analizy regresji. Do modelu regresji liniowej, gdzie zmienną wyjaśnianą był poziom werbalnej pamięci epizodycznej, wprowadzono zmienne A β_{1-42} /p-tau, wiek, płeć, liczbę lat nauki oraz APOE. Zmienna APOE $\epsilon 4+$ (obecność allelu $\epsilon 4$ APOE) okazała się nie przewidywać w sposób istotny poziomu werbalnej pamięci epizodycznej i nie weszła do modelu. Tak skonstruowany model okazał się być dobrze dopasowany do danych $F(4,247) = 39,47$; $p<0,001$; skorygowane $r^2 = 0,38$. Wskaźnik A β_{1-42} /p-tau okazał się być najsilniejszym predyktorem poziomu werbalnej pamięci epizodycznej ($\beta = 0,48$, $p<0,001$). Również liczba lat nauki ($\beta = 0,19$, $p<0,001$), wiek ($\beta = -0,18$, $p<0,01$) i płeć ($\beta = 0,14$, $p<0,01$) okazały się być istotne dla przewidywania wyników w zakresie werbalnej pamięci epizodycznej.

Model ten pozwolił na wyjaśnienie większej wariancji w zakresie zmiennej „werbalna pamięć epizodyczna” niż alternatywne modele uwzględniające współczynnik $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i model uwzględniający każdy z biomarkerów osobno.

4.8. Fluencja słowna a wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /p-tau biomarkerów AD w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$

W celu poznania czynników wpływających na uzyskiwane wyniki w zakresie oceny fluencji słownej, przeprowadzono model analizy regresji. Do modelu regresji liniowej, gdzie zmienną wyjaśnianą był poziom fluencji słownej, wprowadzono zmienne $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$, wiek, płeć, liczbę lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$. Zmienna APOE $\epsilon 4+$ (obecność allelu $\epsilon 4$ APOE) okazała się nie przewidywać w sposób istotny wyników fluencji słownej i nie weszła do modelu. Tak skonstruowany model okazał się być dobrze dopasowany do danych $F(4,247) = 29,45$; $p < 0,001$; skorygowane $r^2 = 0,31$. Liczba lat nauki okazała być najsilniejszym predyktorem wyników w zakresie fluencji słownej ($\beta = 0,35$, $p < 0,001$). Również wskaźnik $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ ($\beta = 0,30$, $p < 0,001$), wiek ($\beta = -0,19$, $p < 0,01$) i płeć ($\beta = 0,14$, $p < 0,01$) okazały się istotnie przewidywać wyniki w zakresie fluencji słownej.

Model ten pozwolił na wyjaśnienie większej wariancji w zakresie zmiennej „fluencja słowna” niż alternatywne modele uwzględniające współczynnik $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i model uwzględniający każdy z biomarkerów osobno.

4.9. Nazywanie a wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /t-tau biomarkerów AD w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$

W ocenie czynników wpływających na uzyskiwane wyniki w zakresie oceny nazywania, przeprowadzono model analizy regresji. Do modelu regresji liniowej, gdzie zmienną wyjaśnianą było nazywanie, wprowadzono zmienne $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$, wiek, płeć, liczbę lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$. Zmienne płeć oraz APOE $\epsilon 4+$ okazały się nie przewidywać w sposób istotny nazywania i nie weszły do modelu. Tak skonstruowany model okazał się być dobrze dopasowany do danych $F(3,235) = 23,37$; $p < 0,001$;

skorygowane $r^2 = 0,22$. Liczba lat nauki okazała być najsilniejszym predyktorem nazywania ($\beta = -0,27, p < 0,001$). Również wiek ($\beta = 0,21, p < 0,01$) i wskaźnik $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ ($\beta = -0,22, p < 0,001$) okazały się istotnie przewidywać wyniki w zakresie nazywania.

Model ten pozwolił na wyjaśnienie większej wariancji w zakresie zmiennej „nazywanie” niż alternatywne modele uwzględniające współczynnik $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ i model uwzględniający każdy z biomarkerów osobno.

4.10. Poziom abstrahowania a poziom $A\beta_{1-42}$ oraz t-tau w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$

W celu zidentyfikowania czynników wpływających na uzyskiwane wyniki w zakresie oceny poziomu abstrahowania, przeprowadzono model analizy regresji. Do modelu regresji liniowej, gdzie zmienną wyjaśnianą był poziom abstrahowania, wprowadzono zmienne $A\beta_{1-42}$, t-tau, wiek, płeć, liczbę lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$. Zmienne płeć oraz APOE $\epsilon 4+$ okazały się nie przewidywać w sposób istotny poziomu abstrahowania i nie weszły do modelu. Tak skonstruowany model okazał się być dobrze dopasowany do danych $F(4,242) = 41,36; p < 0,001$; skorygowane $r^2 = 0,40$. Liczba lat nauki okazała być najsilniejszym predyktorem poziomu abstrahowania ($\beta = 0,45, p < 0,001$). Również wiek ($\beta = -0,12, p < 0,05$), $A\beta_{1-42}$ ($\beta = 0,17, p < 0,01$) oraz t-tau ($\beta = -0,23, p < 0,001$) okazały się istotnie przewidywać wyniki w zakresie poziomu abstrahowania.

Model ten pozwolił na wyjaśnienie większej wariancji w zakresie zmiennej „poziom abstrahowania” niż alternatywne modele uwzględniające współczynnik $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ oraz wskaźnik $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$.

4.11. Tempo przetwarzania informacji a poziom $A\beta_{1-42}$ oraz t-tau w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$

Dla oceny czynników wpływających na uzyskiwane wyniki w zakresie tempa przetwarzania informacji, przeprowadzono model analizy regresji. Do modelu regresji liniowej, gdzie zmienną wyjaśnianą było „tempo przetwarzania informacji”, wprowadzono zmienne $A\beta_{1-42}$, t-tau, wiek, płeć, liczbę lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$. Zmienne

płeć, wiek oraz liczba lat nauki okazały się nie przewidywać w sposób istotny tempa przetwarzania informacji i nie weszły do modelu. Tak skonstruowany model okazał się być dobrze dopasowany do danych $F(3,244) = 18,54$; $p < 0,001$; skorygowane $r^2 = 0,18$. Białko t-tau okazało się być najsilniejszym predyktorem tempa przetwarzania informacji ($\beta = 0,34$, $p < 0,001$). Również $A\beta_{1-42}$ ($\beta = -0,21$, $p < 0,01$) oraz APOE $\epsilon 4+$ ($\beta = -0,16$, $p < 0,01$) okazały się być istotnymi predyktorami wyników w zakresie tempa przetwarzania informacji.

Model ten pozwolił na wyjaśnienie większej wariancji w zakresie zmiennej „tempo przetwarzania informacji” niż alternatywne modele uwzględniające współczynnik $A\beta_{1-42}/t$ -tau oraz wskaźnik $A\beta_{1-42}/p$ -tau.

4.12. Procesy uwagowe a wskaźnik $A\beta_{1-42}/p$ -tau biomarkerów AD w CSF, wiek, płeć, liczba lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$

W celu poznania jakie czynniki wpływają na uzyskiwane wyniki w zakresie oceny procesów uwagowych, przeprowadzono model analizy regresji. Do modelu regresji liniowej, gdzie zmienną wyjaśnianą były procesy uwagowe, wprowadzono zmienne $A\beta_{1-42}/p$ -tau, wiek, płeć, liczbę lat nauki oraz APOE $\epsilon 4+$. Zmienna APOE $\epsilon 4+$, wiek, płeć oraz liczba lat nauki okazały się nie przewidywać w sposób istotny procesów uwagowych i nie weszły do modelu. Tak skonstruowany model okazał się być dobrze dopasowany do danych $F(1,204) = 8,88$; $p < 0,01$; skorygowane $r^2 = 0,04$. Wskaźnik $A\beta_{1-42}/p$ -tau ($\beta = 0,20$, $p < 0,01$) okazał się być istotnym predyktorem wyników w zakresie procesów uwagowych.

Model ten pozwolił na wyjaśnienie większej wariancji w zakresie zmiennej „procesy uwagowe” niż alternatywne modele uwzględniające współczynnik $A\beta_{1-42}/t$ -tau i model uwzględniający każdy z biomarkerów osobno.

5. Dyskusja

Wczesne rozpoznawanie chorób powodujących otępienie, jak AD, w świetle danych dotyczących rozpowszechnienia tego zjawiska we współczesnym świecie stanowi duże wyzwanie dla klinicystów. Dzięki nowym, dokładnym kryteriom, zawierającym szczegółowy opis obrazu klinicznego i pomocne w diagnozowaniu wytyczne, staje się ono coraz bardziej wiarygodne (McKhann i wsp., 2011). Niestety, najczęściej AD rozpoznawana jest w zaawansowanej fazie klinicznej, a wykrycie obecności procesu chorobowego przed pełną manifestacją kliniczną objawów jest bardzo rzadkie. Dlatego pierwszym z celów projektu badawczego opisywanego w niniejszej rozprawie była ocena poziomów stężeń biochemicznych markerów AD w CSF oraz badanie fenotypowe nosicieli allelu $\epsilon 4$ APOE, pod kątem wyłonienia pacjentów z podwyższonym ryzykiem szybkiego rozwinięcia się otępienia typu alzheimerowskiego. Natomiast drugim celem rozprawy była ocena wpływu wspomnianych markerów na wyniki testów neuropsychologicznych badających sprawność poznawczą pacjentów. Analiza tych danych jest szczególnie interesująca, ponieważ jest stosunkowo niewiele badań, które korelują wyniki badań neuropsychologicznych z markerami biochemicznymi. Większość badaczy wykorzystuje do oceny funkcjonowania poznawczego wyniki testów przesiewowych. Prezentowane w rozprawie wyniki analiz są jednymi z pierwszych przeprowadzonych na populacji polskich pacjentów.

5.1. Patologiczne poziomy biomarkerów – analiza pod kątem norm laboratoryjnych

Ocena poziomu stężenia biomarkerów patologii alzheimerowskiej w CSF osób w fazie przedklinicznej choroby z neurochemicznego punktu widzenia (poniżej normy) pozwoliła na wyłonienie pacjentów, którzy są szczególnie narażeni na rozwinięcie się otępienia.

W grupie pacjentów z SCD nieprawidłowy, charakterystyczny dla AD poziom $A\beta_{1-42}$ wykryto u 23,5 % pacjentów, poziom białka t-tau u 31,8 % a białka p-tau u 21,2 % osób

z tej grupy. Natomiast patologiczny poziom wskaźnika $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ występował u 20% pacjentów SCD, a wskaźnika $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ u 11%. Oznacza to, że pomimo braku objawów klinicznych, w dokładnej ocenie funkcji poznawczych w badaniu neuropsychologicznym, nawet u osób z subiektywnymi zaburzeniami funkcji poznawczych występowała charakterystyczna dla AD patologia, wyrażona nieprawidłowymi stężeniami markerów neurochemicznych.

Jak przewidywano, prawie połowa pacjentów z badanej grupy z rozpoznaniem MCI miała patologiczny poziom $A\beta_{1-42}$ (44,8%), białka t-tau (43,7%), białka p-tau (35,6%). Natomiast charakterystyczny dla AD poziom wskaźnika $A\beta_{1-42} /t\text{-tau}$ występował u 47,1% pacjentów z MCI, a wskaźnika $A\beta_{1-42} /p\text{-tau}$ u 39,1% z nich. Wykazano, że w porównaniu z grupą SCD, nieprawidłowe stężenia poziomów markerów procesu alzheimerowskiego występowały ponad dwukrotnie częściej w grupie MCI, co wiąże się ze znacznie większym nasileniem zaburzeń poznawczych widocznych w badaniu neuropsychologicznym.

W grupie pacjentów z AD-D nieprawidłowy poziom $A\beta_{1-42}$ zaobserwowano u 91,3% pacjentów, poziom białka t-tau u 83,8% z nich, a białka p-tau u 75%. Natomiast patologiczny poziom wskaźnika $A\beta_{1-42} /t\text{-tau}$ występował u 87,5% pacjentów z AD-D, a wskaźnika $A\beta_{1-42} /p\text{-tau}$ u 86,3% osób z tej grupy.

Charakterystyczny dla AD profil analizowanych jednocześnie trzech biomarkerów, czyli obniżony poniżej normy poziom stężenia amyloidu- β oraz podwyższony poziom stężenia białek t-tau i p-tau zanotowano u 7,1% pacjentów z grupy SCD i u 24,1% pacjentów z MCI a w grupie AD-D u 67,5% osób.

Visser i wsp. (2009) w swoich badaniach zaobserwowali, że u około 52% pacjentów z SCD z badanej przez nich grupy, występuje typowy dla AD profil w CSF, obecny również u 79 % pacjentów z rozpoznaniem MCI, u których dominowały zaburzenia pamięci. Jednak badacze ci definiowali profil charakterystyczny dla AD używając własnej formuły obliczeniowej do stworzenia punktu odcięcia dla wskaźnika $A\beta_{1-42} /t\text{-tau}$. Chociaż wyniki badań są podobne do prezentowanych w niniejszej rozprawie, to jednak procent pacjentów z profilem AD w CSF jest znacznie większy. Jak wspomniano, prawdopodobnie jest to związane z zastosowaniem innej formuły obliczeniowej dla wskaźnika oraz innych punktów odcięcia nieprawidłowych poziomów stężeń markerów, wypracowanych w

laboratorium tych autorów. Zastosowane przez autorów normy mogły być mniej surowe niż te, które były stosowane w niniejszej pracy. Innym wytłumaczeniem, może być również wykorzystanie odmiennych metod oceny poznawczej dla kwalifikacji pacjentów do poszczególnych grup. Badanie Vissera i wsp. (2009) opierało się na danych uzyskanych z wielu europejskich ośrodków, w których stosowano odmienne metody oceny poznawczego funkcjonowania pacjentów. Badanie neuropsychologiczne nie miało w pełni jednolitego charakteru, przeprowadzane było przez wielu różnych specjalistów, a do analizy używano wyników przeliczonych a nie surowych. Co więcej, stosowane w rozprawie kryteria rozpoznania zarówno SCD, jak i MCI oparte były na znacznie nowszych i bardziej precyzyjnych kryteriach niż w przypadku wspomnianych badań (Albert i wsp., 2011; Jessen i wsp. 2014).

Pomimo różnic procentowych w zakresie występowania profilu AD w CSF w opisywanych grupach pacjentów, badacze zgodni są co do tego, że subiektywnie doświadczane i postępujące zaburzenia poznawcze (w grupie SCD) mogą odzwierciedlać wczesne zmiany patologiczne świadczące o toczącym się procesie chorobowym.

Prezentowane wyżej wyniki niniejszej rozprawy wydają się potwierdzać hipotezę continuum procesu alzheimerowskiego, gdzie pacjenci z grupy SCD są na wcześniejszym stadium tego procesu niż pacjenci z grupy MCI (Sierra-Rio i wsp., 2015).

Posługiwanie się surowymi wynikami w zakresie analizy biomarkerów AD w CSF pozwala na porównywanie badań między ośrodkami na całym świecie, ale różnice pomiędzy laboratoriami w wypracowywaniu norm stanowią jeszcze nierozwiązany problem (Lewczuk i wsp., 2009). W odpowiedzi na to wyzwanie, Lewczuk i wsp. skonstruowali tak zwany indeks Erlangen. Jest to swego rodzaju algorytm do interpretacji wyników wszystkich trzech biomarkerów AD w CSF w celu stworzenia porównywalnego między różnymi ośrodkami badawczymi systemu diagnozy AD (por. tab. 1.5.1. w rozdziale Wstęp). Analizując poziomy stężenie biomarkerów AD w CSF używając do interpretacji wyników indeksu Erlangen uzyskano bardzo interesujące rezultaty. Zaobserwowano, że w grupie SCD prawie połowa pacjentów (49,4%) osiągnęła liczbę punktów od 2 do 4, co pozwala na postawienie możliwej lub prawdopodobnej diagnozy AD z punktu widzenia oceny neurochemicznej. W grupie pacjentów z MCI

procent ten wynosił już 66,7, natomiast w grupie AD-D aż 97,5% (por. tab. 4.1.2. w rozdziale Wyniki).

Warto podkreślić, że dwóch pacjentów z analizowanej grupy, u których ustalono kliniczne rozpoznanie AD miało w indeksie Erlangen liczbę punktów 0, co wskazuje na brak dowodów na chorobę neurodegeneracyjną. Pacjenci ci z klinicznego punktu widzenia mieli charakterystyczny dla AD profil zaburzeń poznawczych w badaniu neuropsychologicznym, z dominującymi dysfunkcjami pamięci epizodycznej, jak również odpowiadające procesowi alzheimerowskiemu wyniki neuroobrazowania, i co najważniejsze patognomiczne dla AD objawy w obrazie klinicznym. Niezgodność tę można próbować wyjaśnić tym, że prawdopodobnie tych dwóch pacjentów należy do tej części populacji, którzy posiadają wyjściowo bardzo wysoki poziom amyloidu- β i musi minąć o wiele więcej czasu, żeby osiągnął on poziom stężenia poniżej norm laboratoryjnych. Zdaniem Lewczuka i wsp. (2009) najwierniej oddającym patologię alzheimerowską w takich przypadkach jest wskaźnik $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$, który również sprawdza się w sytuacjach gdy pacjenci wyjściowo mają bardzo niski poziom amyloidu- β . Badacze sugerują nawet, że być może powinien on zostać czwartym biomarkerem standardowo stosowanym do oceny ryzyka rozwoju AD (Lewczuk i wsp., 2015), i że może on być szczególnie przydatny do oceny progresji do AD u pacjentów z MCI (Guhra i wsp., 2016). W 2015 roku Lewczuk i wsp. opublikowali wyniki podłużnego badania potwierdzające użyteczność zaproponowanego przez nich w 2009 roku indeksu Erlangen. W badaniu tym analizowane były dwie kohorty pacjentów. Niemiecka (*Initiative and the German Dementia Competence Network*) liczyła 190 pacjentów MCI, a amerykańska (*The US-Alzheimer's Disease Neuroimaging*) 292 pacjentów zdrowych i z zespołem MCI. Badacze wykazali, że indeks Erlangen silnie przewidywał progresję do AD w okresie 4-5 lat od przeprowadzenia punkcji lędźwiowej i dodatkowo pozwalał na dokładniejszą ocenę ryzyka rozwoju otępienia niż analizowanie trzech biomarkerów jednocześnie, czyli tzw. typowego profilu AD w CSF. Przykładowo, pacjent z MCI, który otrzymał indeks Erlangen 2 ma mniejsze ryzyko rozwinięcia AD w przeciągu czterech lat, a ryzyko progresji jest mniejsze niż u pacjenta, który otrzymał indeks Erlangen 3. Biorąc pod uwagę wyniki tych podłużnych badań, szczególnie interesujące wydaje się objęcie badaniami podłużnymi prezentowanej w niniejszej rozprawie grupy pacjentów, z

podziałem na osiągnięte w indeksie Erlangen punkty i korelacją z wynikami kontrolnych badań neuropsychologicznych.

5.2. Poziom biomarkerów AD w CSF oraz APOE $\epsilon 4$ a rozpoznanie

Zastosowano jednoczesną analizę obecności genu APOE $\epsilon 4$ i poziomu biomarkerów AD w CSF, ponieważ polimorfizm APOE $\epsilon 4$ jest powszechnie uznanym czynnikiem ryzyka rozwoju AD (Alzheimer's Association, 2015). Pozwoliła ona z większą dokładnością niż sama ocena stężenia poziomów i konfiguracji patologicznych białek na wyłonienie pacjentów, którzy są szczególnie narażeni na rozwój AD. Wyniki przedstawionych w niniejszej rozprawie badań wskazują, że poziomy stężenie wszystkich trzech biomarkerów AD w CSF oraz obu wskaźników $A\beta_{1-42}/t$ -tau oraz $A\beta_{1-42}/p$ -tau istotnie statystycznie różnicują grupy pacjentów ze względu na rozpoznanie, które było stawiane przed poznaniem wyników analizy CSF.

Pacjenci z bardziej nasilonymi zaburzeniami poznawczymi charakteryzowali się niższym poziomem stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$, niższymi wskaźnikami $A\beta_{1-42}/t$ -tau oraz $A\beta_{1-42}/p$ -tau oraz wyższym poziomem stężenia białek t-tau i p-tau. Osoby z grupy AD-D miały niższy poziom stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t$ -tau i $A\beta_{1-42}/p$ -tau oraz wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau niż pacjenci z grup, u których nie stwierdzono otępienia (SCD i MCI). Natomiast u pacjentów z MCI analogicznie stwierdzono niższy poziom stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t$ -tau i $A\beta_{1-42}/p$ -tau oraz wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau niż u pacjentów z SCD.

Risacher i wsp. (2013) w swoim badaniu wykazali, że rozpoznanie korelowało z poziomem stężenia białek tau, ale nie amyloidu- β w grupie zdrowych pacjentów i z zespołem MCI, co częściowo jest zgodne z wynikami prezentowanymi w niniejszej rozprawie.

Jeśli zaś chodzi o różnicę między grupami MCI i AD, to dane z literatury nie są spójne. DeRiva i wsp. (2014) wykazali, że poziom stężenia amyloidu różnicował te grupy pacjentów, natomiast Struyfs i wsp. (2015) w swoich badaniach nie zaobserwowali

różnic pomiędzy tymi grupami w żadnym z badanych biomarkerów AD w CSF. Zdaniem tych badaczy można było przewidzieć uzyskanie takich wyników, ponieważ w obu grupach patologia alzheimerowska jest odpowiedzialna za występujące w obrazie klinicznym objawy, a zmiany poziomów biomarkerów wahają się nieznacznie w ciągu trwania choroby. Oznacza to, że niezależnie od stopnia nasilenia objawów poznawczych, na poziomie biochemicznym zarówno pacjenci z MCI jak i z otępieniem typu alzheimerowskiego stanowią homogeniczną grupę, a zaawansowanie stanu klinicznego może być uwarunkowane innymi czynnikami, np. rezerwą poznawczą czy występowaniem zachorowań na AD w rodzinie pacjenta.

Analizując najnowszą literaturę przedmiotu w zakresie badań podłużnych, można stwierdzić, że wśród pacjentów z rozpoznaniem SCD występuje podwyższone ryzyko progresji do otępienia. Sierra Rio i wsp. (2015) wykazali, że już 27% pacjentów z tej grupy, u których stwierdzono obniżony poziom stężenia $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ rozwinęło objawy AD po pięcioletnim okresie obserwacji, a z grupy MCI procent ten wynosił aż 83%. Zdaniem tych badaczy wskaźnik $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ jest silnym markerem progresji do otępienia alzheimerowskiego.

Analizując obecność APOE $\epsilon 4$, stwierdzono, że wszyscy pacjenci z allelem $\epsilon 4+$ genu, bez względu na stopień zaburzeń poznawczych, mieli niższy poziom stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz wyższy poziom stężenia białek t-tau i p-tau. Potwierdza to, iż obecność polimorfizmu $\epsilon 4$ APOE jest czynnikiem ryzyka rozwoju AD. Wykazano również, że obecność APOE $\epsilon 4$ różnicuje pacjentów pod względem diagnozy tylko w przypadku amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ w grupie AD-D i MCI. Natomiast jeśli chodzi o białka t-tau i p-tau, obecność APOE $\epsilon 4$ różnicuje pacjentów pod względem diagnozy tylko w grupie MCI. Można zatem stwierdzić, że jednoczesna analiza obecności APOE $\epsilon 4+$ i poziomu trzech biomarkerów AD w CSF pozwala na wyłonienie pacjentów z zespołem MCI, którzy są szczególnie narażeni na ryzyko rozwinięcia zespołu otępiennego typu alzheimerowskiego. Wydaje się to szczególnie potrzebne w celu podjęcia działań prewencyjnych i terapeutycznych w tej grupie pacjentów.

Struyfs i wsp. (2015) w swoich badaniach zaobserwowali, że osoby z allelem $\epsilon 4$ genu APOE miały niższy poziom $A\beta_{1-42}$ niż osoby, u których nie wykryto obecności APOE $\epsilon 4$.

Różnica ta nie była jednak istotna statystycznie, gdy badacze analizowali grupy pacjentów z AD-D i MCI oddzielnie – inaczej niż w prezentowanych wyżej wynikach niniejszej rozprawy.

Thorvaldsson i wsp. (2010) zaobserwowali natomiast istotnie statystycznie niższy poziom $A\beta_{1-42}$ u osób z allelem $\epsilon 4$ APOE w grupie pacjentów z MCI. Natomiast Mosconi i wsp. (2008) badając grupę zdrowych pacjentów, skarżących się na subiektywne trudności z pamięcią (można porównać do grupy SCD badanej w tej rozprawie) odnotowali, że osoby u których stwierdzono obecność APOE $\epsilon 4$ mają istotnie wyższy poziom białka t-tau, p-tau i wskaźnika $A\beta_{1-42}/p$ -tau. Badacze ci zaobserwowali również niższy poziom $A\beta_{1-42}$ w grupie nosicieli APOE $\epsilon 4$, jednak różnica ta nie była istotna statystycznie, co można wyjaśnić stosunkowo małą liczbą pacjentów w badaniu (łącznie 28 osób).

5.3. Badanie neuropsychologiczne

Ze względu na to, że patomechanizmy odpowiadające za rozwój procesu otępiennego zaczynają się nawet dwadzieścia lat przed wystąpieniem objawów klinicznych AD, konieczne jest zatem poszukiwanie metod pozwalających na postawienie rozpoznania w fazie przedklinicznej. Umożliwiają to badania markerów procesu alzheimerowskiego, zarówno biochemicznych, neuroobrazowych, jak i neuropsychologicznych. Z powodu braku powszechnego dostępu do nowoczesnych metod diagnostycznych, kluczowe staje się określenie związków pomiędzy wynikami znacznie bardziej dostępnej i nieinwazyjnej oceny neuropsychologicznej, ze szczególnym uwzględnieniem dysfunkcji pamięci epizodycznej, jako neuropsychologicznego markera AD, a uznanymi biomarkerami tego schorzenia, uzyskiwanymi w bardziej inwazyjnym i mniej dostępnym badaniu CSF. Dlatego drugim celem niniejszej rozprawy była ocena związku poziomów stężenia biomarkerów AD w CSF, przy jednoczesnym uwzględnieniu obecności allelu $\epsilon 4$ APOE, z wynikami testów badających sprawność funkcji poznawczych.

5.3.1. Pamięć epizodyczna

Analizując jednocześnie wyniki w zakresie pamięci epizodycznej, będącej markerem neuropsychologicznym procesu alzheimerowskiego, i obecności APOE $\epsilon 4$ wykazano, że pacjenci z allelem $\epsilon 4$ wypadają gorzej w próbie odroczonego odtwarzania testu AVLT w trzech badanych grupach niż osoby nieposiadające tego allelu, jednak różnica pomiędzy grupami nie była wystarczająco duża, aby osiągnąć poziom istotności statystycznej. Obecność APOE $\epsilon 4$ nie pozwalała na przewidywanie wyników testu AVLT i nie różnicowała pacjentów pod względem diagnozy. Wyniki te są zgodne z danymi z literatury. Podobne wyniki badań uzyskali Pettigrew i wsp. (2015) w badaniach podłużnych, gdzie oceniali ryzyko konwersji do procesu otępiennego u zdrowych osób w jedenastoletnim przedziale czasowym. Oni również nie zaobserwowali związku pomiędzy funkcjonowaniem poznawczym a obecnością APOE $\epsilon 4$ i nie udowodnili istotnej statystycznie różnicy pomiędzy osobami z allelem $\epsilon 4$ i bez tego allelu. Prawdopodobnie wynika to stąd, że obecność APOE $\epsilon 4$ jest nie tylko czynnikiem ryzyka rozwoju AD, ale również może być odpowiedzialna za współwystępowanie patologii alzheimerowskiej w innych rodzajach otępień (Slaets i wsp., 2013). Podobnie jak w opisywanym w rozprawie badaniu również Thorvaldsson i wsp. (2010) zaobserwowali, że nosiciele allelu $\epsilon 4$ APOE wypadają gorzej niż osoby bez tego allelu, ale różnica ta nie była istotna statystycznie w badanej przez nich grupie pacjentów z MCI. Istnieją jednak doniesienia, które przeczą powyższemu wynikowi. Risacher i wsp. (2013) udowodnili, że osoby z allelem $\epsilon 4$ APOE wypadają gorzej w zakresie pamięci epizodycznej w grupie MCI. Natomiast Wolk i wsp. (2010) wykazali te same zależności w grupie pacjentów z AD-D. El Haj i wsp. (2016) w swojej metaanalizie przeanalizowali czternaście doniesień na temat wpływu obecności APOE $\epsilon 4$ na funkcjonowanie poznawcze i nie udało im się wyciągnąć spójnej konkluzji. Doniesienia są sprzeczne, co badacze tłumaczą tym, że większość z nich używała różnych metod badania pamięci epizodycznej. Głównym zarzutem jest brak trafności ekologicznej stosowanych testów, która odnosi się do stopnia w jakim można generalizować otrzymane wyniki na sytuacje występujące w życiu codziennym pacjenta. Kolejnym argumentem wyjaśniającym brak spójności analizowanych badań było

niestosowanie najnowszych kryteriów włączania pacjentów do badań bazujących na ocenie biomarkerów AD w CSF. El Haj wraz zespołem (2016) zauważyli, że ciekawe byłoby zastosowanie patologicznych poziomów wspomnianych biomarkerów jako metody przydziału do grup badawczych. Interesujące też według nich, byłoby podzielenie pacjentów ze względu na postać choroby o wczesnym i późnym początku, czy bardziej szczegółowy podział ze względu na obecność jednego albo dwóch alleli APOE $\epsilon 4$.

Zgodnie z oczekiwaniami, wyniki w zakresie pamięci epizodycznej istotnie statystycznie różnicowały pacjentów ze względu na diagnozę, gdyż właśnie te wyniki były jednym z kryteriów włączenia do danej grupy. Najistotniejsze jest jednak to, że wyniki w próbie odroczonego odtwarzania testu AVLT silnie korelują z trzema biomarkerami i oboma wskaźnikami AD w CSF. Obniżony poziom stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz podwyższony poziom stężenia białek $t\text{-tau}$ i $p\text{-tau}$ korelują z gorszymi wynikami w tej próbie.

Prezentowane wyniki są zgodne z tymi, które uzyskali również niektórzy inni badacze. Haldenwanger i wsp. (2010) zaobserwowali pozytywną korelację pomiędzy wynikami w zakresie pamięci epizodycznej a poziomem stężenia $A\beta_{1-42}$ w grupie pacjentów z MCI, ale wyniki te nie były istotne w grupie pacjentów z AD-D. Badacze ci nie odnotowali korelacji między pamięcią epizodyczną a poziomem stężenia białek tau, w przeciwieństwie do wyników badań niniejszej pracy. Natomiast Guhra i wsp. (2016) zaobserwowali korelację w zakresie pamięci epizodycznej i wszystkich trzech biomarkerów AD w CSF w grupie pacjentów z AD-D. W tej samej grupie van der Viles i wsp. (2009) udowodnili, że ci pacjenci, którzy mieli charakterystyczny dla AD profil markerów w CSF, mieli również większe trudności w zakresie pamięci. W grupie osób z MCI podobne wyniki w zakresie pamięci epizodycznej zaobserwowali Nordlund i wsp. (2008) oraz Schoonenboom i wsp. (2005). Rolstad i wsp. (2011) odnotowali również korelacje między poziomem pamięci epizodycznej a poziomem stężenia $A\beta_{1-42}$ jedynie w grupie AD-D, nie obserwując takich zależności w grupie MCI i SCD.

Kolejnym krokiem była analiza czynników pozwalających na przewidywanie wyników w zakresie pamięci epizodycznej, której zaburzenia są neuropsychologicznym markerem AD. Okazało się, że najsilniejszym predyktorem wyników w tej próbie jest

wskaźnik $A\beta_{1-42}$ /p-tau, liczba lat nauki, wiek oraz płeć pacjentów. Zarówno płeć męska, jak i starszy wiek oraz niższy poziom wykształcenia pozwalały przewidywać gorsze wykonanie próby odroczonej pamięci w teście AVLT, sugerujące bardziej nasilone zaawansowanie procesu alzheimerowskiego. Inni badacze w swoich doniesieniach również potwierdzili, że biomarkery AD w CSF pozwalały istotnie przewidywać poziom funkcjonowania poznawczego (Grambaite i wsp., 2013). Udowodniono, że stężenie $A\beta_{1-42}$ istotnie przewiduje poziom pamięci epizodycznej w grupie pacjentów z SCD, natomiast stężenie białka t-tau w grupie pacjentów z MCI. Rolstad i wsp. (2011) analizując trzy grupy pacjentów (SCD, MCI i AD-D) wykazali, że zmienność wyników w zakresie pamięci epizodycznej przewiduje w większym stopniu nieprawidłowości w poziomie stężenia białka t-tau a następnie $A\beta_{1-42}$, ale zależność taką zaobserwowali tylko w grupie MCI i AD-D. Być może miało to związek z tym, że pacjenci z grupy SCD nie mieli stwierdzonych obiektywnie zaburzeń w zakresie pamięci epizodycznej, co wynika z samego przydziału do tej grupy.

Interpretując powyższe wyniki warto rozważyć aspekt teoretyczny dotyczący sposobu badania pamięci epizodycznej. Niektórzy badacze uważają, że testy badające pamięć polegające na swobodnym odtwarzaniu zapamiętanego materiału mogą nie oddawać w pełni trudności z pamięcią w życiu codziennym pacjentów (Cheke i Clayton, 2013; El Haj i wsp., 2016; Mazurek i wsp., 2015; Plancher i wsp., 2012). System pamięci epizodycznej umożliwia nam pamiętanie osobistych wydarzeń z życia z określeniem gdzie, jak i kiedy się one wydarzyły. Oryginalna koncepcja pamięci epizodycznej jest ściśle związana z przypominaniem sobie wydarzeń w ich kontekście czasoprzestrzennym oraz z samoświadomością tego procesu (Tulving, 2002). Zdaniem Tulvinga (2002) testy pamięci epizodycznej typu AVLT, bazujące na swobodnym odtwarzaniu po odroczeniu zapamiętanego materiału, nie uwzględniają tych dwóch ważnych aspektów pamięci epizodycznej. W tym sensie, testy swobodnego odtwarzania mają mniejszą trafność ekologiczną niż testy bazujące na próbach co – gdzie – kiedy (ang. *What-Where-When – WWW memory tasks*). Próby te stosuje się w badaniach eksperymentalnych nad pamięcią, w których są one przeprowadzane w formie gier komputerowych, wirtualnej rzeczywistości czy zadań w rzeczywistym świecie (ang. *real-world tasks*) (Cheke i Clayton, 2013; Mazurek i wsp., 2015; Plancher i wsp., 2012). Próby

WWW często również są wykorzystywane do badań nad pamięcią zbliżoną do epizodycznej (ang. *episodic - like memory*) u zwierząt (Belblidia i wsp., 2015; Clayton i Dickinson, 1998). Warto tu jednak zaznaczyć, że badanie pamięci epizodycznej przy użyciu AVLT jest bardziej praktyczne w warunkach klinicznych, ponieważ zajmuje znacznie mniej czasu i nie wymaga specjalnego zaplecza technicznego. Poza tym, osoby starsze mogą mieć trudności w wejściu w zadania w formie wirtualnej rzeczywistości czy gier komputerowych, ponieważ mogą to być dla części z nich zupełnie nowe doświadczenia, z którymi nigdy wcześniej nie mieli do czynienia. Część tej grupy pacjentów również zmagają się z trudnościami ze wzrokiem czy słuchem, co też mogłoby być zmienną zakłócającą w badaniu eksperymentalnym nad pamięcią. Badacze podkreślają również, że testy typu AVLT polegające na swobodnym odtwarzaniu są silnie powiązane ze zmianami w strukturach hipokampów (Vyhnalek i wsp., 2014; Wolk i Dickerson, 2011) i są opisywane w literaturze, jako standardowe testy pamięci epizodycznej w warunkach klinicznych czułe na wykrywanie wczesnej patologii alzheimerowskiej (Gifford i wsp., 2015; Mazurek i wsp., 2015; Russo i wsp., 2017; Widmann i wsp., 2012). Co więcej, taki właśnie sposób oceny pamięci epizodycznej, ze szczególnym uwzględnieniem warunków badania jest rekomendowany w przypadku diagnostyki AD (Dubois i wsp. 2007; Hort i wsp., 2010).

5.3.2. Fluencja słowna

Interesujące wyniki również uzyskano w zakresie fluencji słownej, której obniżony poziom koreluje z obniżonym poziomem stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz podwyższonym poziomem stężenia białek t-tau i p-tau w trzech badanych grupach pacjentów.

Podobnie jak w przypadku wyników w zakresie pamięci epizodycznej, obecność APOE $\epsilon 4$ nie przewiduje wyników w zakresie fluencji słownej. Najsilniejszym predyktorem zmienności wyników w zakresie fluencji słownej okazała się liczba lat nauki i kolejno: wskaźnik $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$, wiek pacjenta oraz płeć. Płeć żeńska, młodszy

wiek oraz wyższy poziom wykształcenia pozwalały przewidywać lepsze wyniki w zakresie fluencji słownej.

Guhra i wsp. (2016) zaobserwowali korelacje w zakresie wszystkich trzech biomarkerów AD w CSF w grupie pacjentów z AD. Rolstad i wsp. (2013) odnotowali wpływ $A\beta_{1-42}$ na wyniki w zakresie fluencji słownej zarówno w grupie pacjentów z MCI jaki i AD oraz wpływ białka t-tau w grupie SCD. Natomiast w badaniach nad fluencją słowną, doniesienia Mirandez i wsp. (2017) są częściowo zgodne z prezentowanymi w niniejszej rozprawie. W grupie pacjentów z MCI badacze ci zaobserwowali istotną korelację między białkiem t-tau i fluencją w kategorii „zwierzęta” oraz korelację na poziomie trendu w kategorii „owoce”. Nie odnotowali natomiast korelacji w zakresie białka p-tau, $A\beta_{1-42}$ oraz wskaźnika $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$, czyli inaczej niż w opisywanych w rozprawie badaniach. Być może różnice te wynikają z tego, że badacze ci oceniali jedynie pacjentów z MCI i zdrową grupę kontrolną oraz stosowali korelacje z poszczególnymi próbami we fluencji słownej, podczas gdy w niniejszej pracy analizowano wynik sumaryczny czterech prób (dwóch fonetycznych i dwóch semantycznych – por. rozdział Metody).

5.3.3. Nazywanie

Jeśli chodzi o nazywanie, to okazało się, że zarówno płeć jak i obecność APOE $\epsilon 4$ nie pozwalają na przewidywanie wyników w tym zakresie. Natomiast istotnym predyktorem okazały się być liczba lat nauki, wiek oraz poziom wskaźnika $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$. Starszy wiek pacjentów i niższy poziom wykształcenia pozwalał przewidywać większe trudności z aktualizacją słów w przypadku nazywania obrazków. Z większą liczbą błędów w próbie nazywania korelują obniżone poziomy stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ i $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz podwyższone poziomy stężenia białek t-tau i p-tau. Wyniki te są zgodne z doniesieniami Engelborghs i wsp. (2006), którzy odnotowali, że w badanej grupie pacjentów z otępieniem zachodzi dodatnia korelacja między obniżonym poziomem stężenia $A\beta_{1-42}$, a bardziej nasilonymi trudnościami w nazywaniu. Podobne wyniki otrzymali Rolstad i wsp. (2013), którzy zaobserwowali korelację pomiędzy

białkiem t-tau i $A\beta_{1-42}$ w grupie pacjentów z AD oraz Guhra i wsp., (2016), którzy uzyskali korelacje w zakresie białka p-tau i $A\beta_{1-42}$ oraz wskaźnika $A\beta_{1-42}/t$ -tau w tej samej grupie pacjentów. Zaś Rolstad i wsp. (2011) analizując grupy pacjentów z SCD, MCI i AD-D wykazali, że zmienność wyników w zakresie nazywania przewiduje $A\beta_{1-42}$ w grupie SCD, natomiast w grupie MCI poziom stężenia białka t-tau. Badacze ci tłumaczą to tym, że być może $A\beta_{1-42}$ jest związane z funkcjonowaniem poznawczym zwłaszcza w początkowych fazach zaczynającego się procesu patologicznych zmian w mózgu, a t-tau jest lepszym markerem zmian poznawczych w późniejszych stadiach choroby.

5.3.4. Poziom abstrahowania

Poziom abstrahowania najsilniej pozwalają przewidywać kolejno: liczba lat nauki, poziom stężenia białka t-tau i $A\beta_{1-42}$ w CSF oraz wiek. Niższy poziom wykształcenia oraz starszy wiek pacjentów pozwalał przewidywać większe trudności z abstrahowaniem. Zarówno płeć jak i obecność APOE $\epsilon 4$ nie wpływają na przewidywanie wyników w zakresie poziomu abstrahowania.

W badaniach korelacyjnych okazało się, że obniżony poziom abstrahowania koreluje z obniżonym poziomem stężenia amyloidu $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t$ -tau i $A\beta_{1-42}/p$ -tau oraz podwyższonym poziomem stężenia białek t-tau i p-tau. Inni badacze również zaobserwowali korelacje w zakresie poziomu wskaźnika $A\beta_{1-42}/t$ -tau oraz $A\beta_{1-42}$ i białka p-tau z poziomem abstrahowania w grupie pacjentów z AD (Guhra i wsp. 2016). W tej samej grupie pacjentów Rolstad i wsp. (2013) zanotowali duży wpływ białek t-tau i mniejszy $A\beta_{1-42}$. W innym badaniu ci sami badacze (Rolstad i wsp., 2011) analizując grupy pacjentów z SCD, MCI i AD-D wykazali, że zmienność wyników w zakresie poziomu abstrahowania przewiduje poziom stężenia białka t-tau w grupie MCI, a w grupie SCD poziom stężenia $A\beta_{1-42}$. Wyjaśnienie tych wyników jest podobne do tego opisanego w przypadku nazywania – białko t-tau może być lepszym predyktorem zmian w bardziej zaawansowanych stadiach patologii alzheimerowskiej w mózgu, a $A\beta_{1-42}$ może lepiej oddawać stany początkowe tego procesu.

5.3.5. Tempo przetwarzania informacji

Ciekawe wyniki uzyskano również w zakresie oceny tempa przetwarzania informacji. Najsilniejszym predyktorem tempa przetwarzania u pacjentów w badanych grupach jest poziom stężenia białka t-tau, $A\beta_{1-42}$ oraz obecność APOE $\epsilon 4$. Co wydaje się być szczególnie interesujące, to fakt, że zarówno wiek, płeć jak i liczba lat nauki okazały się nie przewidywać w istotny sposób tempa przetwarzania informacji.

W badaniach korelacyjnych okazało się, że wolniejsze tempo przetwarzania informacji koreluje z obniżonym poziomem stężenia $A\beta_{1-42}$ i wskaźników $A\beta_{1-42}/t$ -tau i $A\beta_{1-42}/p$ -tau oraz podwyższonym poziomem stężenia białek t-tau i p-tau.

W grupie pacjentów z MCI Rolstad i wsp. (2013) zanotowali niewielki wpływ białka t-tau i $A\beta_{1-42}$ na tempo przetwarzania informacji. Natomiast w grupie pacjentów z AD, van der Viles i wsp. (2009) zaobserwowali, że ci pacjenci, którzy mieli obniżony poziom stężenia $A\beta_{1-42}$ i podwyższony poziom stężenia białek t-tau i p-tau wypadali gorzej w skali badającej tempo przetwarzania informacji. W grupie pacjentów z MCI, podobne wyniki zaobserwowali Nordlund i wsp. (2008). Inni badacze analizując trzy grupy pacjentów (SCD, MCI i AD-D) wykazali, że zmienność wyników w zakresie tempa przetwarzania informacji przewiduje poziom stężenia białka t-tau a w mniejszym stopniu $A\beta_{1-42}$, ale zależność taką zaobserwowali tylko w grupie MCI (Rolstad i wsp., 2011).

5.3.6. Procesy uwagowe

Natomiast jeśli chodzi o procesy uwagowe, to istotnym predyktorem okazał się być wskaźnik $A\beta_{1-42}/p$ -tau. Niższe wartości wskaźnika $A\beta_{1-42}/p$ -tau korelowały z większymi trudnościami z uwagą w badanej grupie pacjentów. Co ciekawe, zarówno wiek, płeć, liczba lat nauki jak i obecność APOE $\epsilon 4$ nie przewidywały w istotny sposób poziomu funkcjonowania uwagi u pacjentów.

W badaniach na grupie pacjentów z AD, van der Viles i wsp. (2009) zaobserwowali, że ci pacjenci, którzy mieli tak zwany profil AD w CSF mieli większe trudności z zakresie

procesów uwagowych. Podobne wyniki, aczkolwiek w grupie MCI, odnotowali Nordlund i wsp. (2008). Natomiast Rolstad i wsp. (2011) analizując trzy grupy pacjentów (SCD, MCI i AD-D) wykazali, że zmienność wyników w zakresie procesów uwagowych przewiduje poziom w większym stopniu białko t-tau a następnie $A\beta_{1-42}$, ale zależność taką zaobserwowali tylko w grupie MCI.

5.4. Dane demograficzne

Wyniki uwarunkowane biologicznie, czyli oceny poziomu stężenia biomarkerów i polimorfizmu APOE nie tłumaczą w pełni uzyskanych przez nas danych. Interpretując wyżej opisane wyniki, warto rozważyć czynniki demograficzne w opisywanych grupach pacjentów tj. jak wiek, płeć czy wykształcenie. W przypadkach, kiedy czynniki te mogły wpłynąć na uzyskane wyniki, kontrolowano te zmienne umieszczając je jako współzmiennie w analizach.

Szczególnie istotnym czynnikiem jest wiek, który jest jednym z najsilniejszych opisywanych w literaturze czynników ryzyka rozwoju AD (Alzheimer's Association, 2015). W prezentowanych w rozprawie badaniach, wiek różnicował istotnie grupy pacjentów ze względu na nasilenie zaburzeń poznawczych. Zgodnie z oczekiwaniami grupa pacjentów z AD-D była istotnie statystycznie starsza od grup, w których nie stwierdzono zespołu otępiennego, i odpowiednio grupa MCI była starsza od pacjentów z SCD. Inni badacze również zaobserwowali podobny rozkład wieku w swoich projektach badawczych. W badaniu Grambaite i wsp. (2013), gdzie grupą badawczą byli pacjenci z SCD i MCI, ta pierwsza była nieznacznie młodsza od drugiej. Również Rolstad i wsp. (2011), uzyskali podobne wyniki, gdzie grupa badawcza obejmowała zarówno pacjentów SCD, MCI jak i AD, rozkład wieku był podobny jak w niniejszej rozprawie. Można zatem przypuszczać, że jest to spowodowane tym, że część pacjentów z MCI może być mniej krytyczna co do swoich deficytów poznawczych, niż pacjenci z SCD i często zgłaszają się oni do lekarza dopiero wtedy, gdy ktoś z bliskich zaniepokoi się ich pogarszającą się pamięcią. Grambaite i wsp. (2013) zauważają, że stopień świadomości

swojego stanu poznawczego może się zmniejszać wraz z rozwojem choroby, również z powodu dysfunkcji w obszarach płatów czołowych.

Kolejnym istotnym aspektem jest wykształcenie, które może być czynnikiem protekcyjnym w rozwoju otępienia alzheimerowskiego (Alzheimer's Association, 2015). Pacjenci z grupy AD-D w niniejszym badaniu mieli niższy poziom wykształcenia niż osoby bez otępienia. Odpowiednio, grupa pacjentów z MCI miała istotnie mniejszą liczbę lat nauki niż pacjenci z grupy SCD. Wyniki te są zgodne z ogólnymi różnicami związanymi z wiekiem w polskiej populacji (Nowak, 2013). W Polsce, starsze wiekowo populacje są mniej wykształcone niż młodsze. Może to wynikać z uwarunkowań historycznych, gdyż okres szkolny części z pacjentów przypadał na lata trwania drugiej wojny światowej lub tuż po wojnie i, jak już wspomniano w poprzednim akapicie, pacjenci z grup MCI i AD-D są istotnie starsi od pacjentów z grupy SCD. W badaniu Grambaite i wsp. (2013) grupa SCD również była nieznacznie lepiej wykształcona niż grupa MCI. Podobnie jak w badaniu Rolstad i wsp. (2011), gdzie osoby z grupy SCD miały większą liczbę lat nauki niż grupa MCI, a ci z kolei byli lepiej wykształceni niż pacjenci z grupy AD.

Prawdopodobnym również wydaje się fakt, że lepiej wykształceni pacjenci mogą zgłaszać się wcześniej do specjalistów, gdyż są bardziej świadomi swoich deficytów poznawczych i czynników ryzyka rozwoju procesu otępiennego. Rolstad i wsp. w innym swoim badaniu wykazali, że poziom wykształcenia jest silnie powiązany z poziomem biomarkerów AD w CSF (Rolstad i wsp., 2010). Grupa MCI z wyższym wykształceniem w ich badaniu miała niższy poziom białek t-tau, w porównaniu do osób z niższym wykształceniem z tej grupy pacjentów. Badacze ci, również zaobserwowali istotną korelację pomiędzy poziomami t-tau w CSF a wiekiem pacjentów. We wcześniejszym badaniu dotyczącym pacjentów z MCI, którzy w trakcie okresu obserwacji rozwinęli zespół otępienny, badacze odnotowali, że pacjenci z większą liczbą lat nauki mieli niższy poziom $A\beta_{1-42}$ w porównaniu do pacjentów z niższym wykształceniem (Rolstad i wsp., 2009). Wyniki te mogą zaskakiwać, ale jeśli przyjrzymy się im z perspektywy koncepcji rezerwy poznawczej, to wydają się być zrozumiałe. Ponieważ osoby z wyższym wykształceniem mogą mieć bardziej intelektualnie wymagające zawody oraz mogą być bardziej aktywni społecznie, w związku z tym ich poziom CR jest wysoki i może dłużej

kompensować utratę połączeń neuronalnych. Co za tym idzie, tacy pacjenci mogą mieć większe zmiany neuropatologiczne w momencie zgłoszenia się do specjalisty niż osoby z niższym poziomem CR.

Płeć żeńska jest znanym czynnikiem ryzyka rozwoju AD, prawdopodobnie dlatego, że jest powiązana z wiekiem, a średni przewidywany okres przeżycia dla kobiet jest dłuższy niż dla mężczyzn (Carter i wsp., 2012; Mielke i wsp., 2014). Chociaż kobiety stanowią większość prezentowanych w niniejszej rozprawie pacjentów, to zaskakujący wydaje się fakt, że w grupie pacjentów MCI występuje nadreprezentacja mężczyzn. Jest to zgodne z dostępnymi wynikami badań opisujących przewagę płci męskiej w grupach MCI (Mielke i wsp., 2014; Petersen i wsp., 2010). Mielke i wsp. (2014) sugerują, że mężczyźni mogą umierać wcześniej z powodu innych współwystępujących schorzeń niż kobiety i tylko najbardziej odporni z mężczyzn dożywają na tyle późnego wieku, aby rozwinęły się objawy zaburzeń poznawczych. Natomiast Petersen i wsp. (2010) uważają, że kobiety mogą konwertować do zespołu otępiennego w późniejszym wieku niż mężczyźni, za to proces ten jest bardziej gwałtowny.

5.5. Ograniczenia badania

Prezentowane w niniejszej rozprawie analizy mają pewne ograniczenia, na które warto zwrócić uwagę projektując w przyszłości podobne badania. Jednym z nich jest brak badań podłużnych. Zdecydowano się na badania przekrojowe z powodu długiego okresu rekrutacji pacjentów do hospitalizacji – potrzebnej do obserwacji pacjentów po wykonaniu punkcji lędźwiowej, w celu uzyskania płynu mózgowo-rdzeniowego. Jak wiadomo, badania przekrojowe nie pozwalają na interpretację przyczynową i ograniczają się tylko do korelacji z obecnym stanem poznawczym pacjentów. Niemniej jednak, analiza pod kątem progresji do procesu otępiennego, zwłaszcza tych pacjentów, którzy są w grupie SCD a już mają poziomy biomarkerów AD w CSF pozwalające na postawienie diagnozy AD z punktu widzenia neurochemicznego, prawdopodobnie dostarczyłaby najciekawszych wyników.

Interesująca byłaby również dodatkowa analiza kontrolnej grupy pacjentów, którzy w przeciwieństwie do osób z SCD nie zgłaszają żadnych skarg na trudności z funkcjonowaniem poznawczym. Jednak ze względu na inwazyjną metodę pobierania próbek płynu mózgowo-rdzeniowego badanie takie byłoby trudne do przeprowadzenia z powodów etycznych.

Również to, że pacjenci byli rekrutowani w klinice wyspecjalizowanej w diagnozowaniu zaburzeń poznawczych spowodowanych procesami neurozwyrodnieniowymi, utrudnia generalizację wyników na całą populację. Prezentowana w badaniu grupa pacjentów może się różnić od populacji ogólnej również poziomem wykształcenia. W niniejszym projekcie było zaledwie siedemnaście osób z podstawowym wykształceniem, więc nadreprezentacja osób z wyższym wykształceniem jest znacząca. Inni badacze zwracają również uwagę, że w badaniach bazujących na pacjentach z klinik pamięci może być nadreprezentacja osób z allelem $\epsilon 4$ genu APOE (Kukull i Ganguli, 2012). Również w takich projektach może brać udział więcej osób, u których występowały w rodzinie zachorowania na AD, gdyż takie osoby częściej zgłaszają się do wyspecjalizowanych ośrodków.

5.6. Podsumowanie

Podsumowując wyżej opisane wyniki, można stwierdzić, że analiza biomarkerów AD w CSF jest kluczowa dla wczesnego rozpoznawania patologii alzheimerowskiej, zwłaszcza u pacjentów z SCD. Fakt, że pacjenci ci zgłaszają skargi na pogarszające się funkcjonowanie poznawcze, których nie można wykryć w obiektywnym badaniu neuropsychologicznym można wyjaśnić przy pomocy koncepcji rezerwy poznawczej. Osoby z wysoką CR mogą mieć bardziej zaawansowane zmiany neuropatologiczne kiedy decydują się na kontakt ze specjalistą, niż osoby z niską CR. Analiza patologicznych poziomów biomarkerów AD w CSF przeprowadzona w tym badaniu wydaje się potwierdzać to założenie. Muszą wystąpić bardziej nasilone zamiany patologiczne w mózgu, by pojawiły się objawy utrudniające satysfakcjonujące funkcjonowanie

poznawcze u osób z wysoką CR, gdyż zdaniem badaczy dochodzi w tych sytuacjach do kompensacji w formie bardziej efektywnych połączeń neuronalnych (Rolstad i wsp., 2010). Dlatego tak ważne jest ustanowienie bardziej rzetelnych i surowych kryteriów pozwalających na zidentyfikowanie tych pacjentów, u których klinicyści nie mogą obiektywnie stwierdzić objawów wskazujących na toczący się proces alzheimerowski w mózgu. Badacze sugerują, że szybkie zidentyfikowanie osób będących w grupach istotnie podwyższonego ryzyka rozwoju procesu otępiennego w fazie presymptomatycznej, pozwoliłoby na lepsze planowanie terapii prewencyjnych i umożliwienie stosowania nowych leków działających przyczynowo w AD, które są obecnie testowane w różnych fazach badań klinicznych (Mar i wsp., 2015; Villemagne i wsp., 2013).

Również ocena neuropsychologiczna pacjentów, poza przydatnością diagnostyczną, dostarczyła wielu interesujących danych. Oprócz wyników oceny pamięci epizodycznej, najciekawsze okazały się wyniki oceny fluencji słownej, nazywania oraz tempa przetwarzania informacji. Otrzymane dane pokazują, że markery biologiczne są silnie powiązane z markerami neuropsychologicznymi. Chociaż obecność allelu $\epsilon 4$ okazała się nie przewidywać istotnie funkcjonowania poznawczego pacjentów w tym badaniu, to wszystkie opisywane biomarkery AD w CSF korelują w różnym nasileniu z wynikami testów poznawczych. Uprawniona zatem wydaje się konkluzja, że połączenie badania neuropsychologicznego i analizy biomarkerów AD w CSF może być krokiem w kierunku efektywniejszego identyfikowania pacjentów narażonych na szybki rozwój zespołu otępiennego w przebiegu AD.

6. Wnioski

Przedstawione w rozprawie wyniki pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

- Poziom stężeń $A\beta_{1-42}$ oraz białek t-tau i p-tau, jak również obu wskaźników $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$ oraz $A\beta_{1-42}/t\text{-tau}$ różnicuje badanych pacjentów ze względu na rozpoznanie.
- Obecność patologicznych dla AD poziomów stężeń biomarkerów w CSF, w opisywanych grupach osób z SCD i MCI pozwala na wyłonienie pacjentów szczególnie narażonych na szybsze rozwinięcie się otępienia alzheimerowskiego.
- Obecność allelu $\epsilon 4$ APOE pozwala na przewidywanie jedynie tempa przetwarzania informacji. Obecność APOE $\epsilon 4$ nie przewiduje poziomu funkcjonowania poznawczego w pozostałych testach i nie różnicuje istotnie pacjentów w zakresie najsilniejszego pod względem diagnostycznym markera neuropsychologicznego AD - pamięci epizodycznej.
- W badanych grupach pacjentów, poziom biomarkerów AD w CSF koreluje z wynikami testów neuropsychologicznych, co potwierdza wartość diagnostyczną tych testów i ich rolę w wyłanianiu osób będących w grupie podwyższonego ryzyka rozwinięcia się zespołu otępiennego.
- Najsilniejszymi predyktorami poziomu funkcjonowania poznawczego w badanych grupach pacjentów są głównie: wskaźnik $A\beta_{1-42}/p\text{-tau}$, liczba lat nauki oraz wiek.

7. Piśmiennictwo

1. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, Gamst A, Holtzman DM, Jagust WJ, Petersen RC, Snyder PJ, Carrillo MC, Thies B, Phelps CH (2011) The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 7, 270–279.
2. Alzheimer's Disease International, World Health Organization, eds. (2012) *Dementia: a public health priority*, Geneva.
3. Alzheimer's Association (2015) 2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 11, 332–384.
4. Andreasen N, Blennow K (2005) CSF biomarkers for mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 107, 165–173.
5. Avila J, Lucas JJ, Perez M, Hernandez F (2004) Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol. Rev.* 84, 361–384.
6. Bäckman L, Jones S, Berger A-K, Laukka EJ, Small BJ (2005) Cognitive impairment in preclinical Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Neuropsychology* 19, 520–531.
7. Barczak AK (2011) Zastosowanie badań neuropsychologicznych i spektroskopii rezonansu magnetycznego do oceny przebiegu funkcji planowania i ich zaburzeń. Niepublikowana praca doktorska. Warszawa: Instytut Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN.
8. Belblidia H, Abdelouadoud A, Jozet-Alves C, Dumas H, Freret T, Leger M, Schumann-Bard P (2015) Time decay of object, place and temporal order memory in a paradigm assessing simultaneously episodic-like memory components in mice. *Behav. Brain Res.* 286, 80–84.
9. Bertram L, Tanzi RE (2005) The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. *J. Clin. Invest.* 115, 1449–1457.

10. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H (2006) Alzheimer's disease. *The Lancet* 368, 387–403.
11. Blennow K, Hampel H (2003) CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2, 605–613.
12. Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H (2010) Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* 6, 131–144.
13. Blennow K, Mattsson N, Schöll M, Hansson O, Zetterberg H (2015) Amyloid biomarkers in Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 36, 297–309.
14. Blennow K, Wallin A, Häger O (1993) Low frequency of post-lumbar puncture headache in demented patients. *Acta Neurol. Scand.* 88, 221–223.
15. Busse A, Hensel A, Gühne U, Angermeyer MC, Riedel-Heller SG (2006) Mild cognitive impairment Long-term course of four clinical subtypes. *Neurology* 67, 2176–2185.
16. Carter CL, Resnick EM, Mallampalli M, Kalbarczyk A (2012) Sex and gender differences in Alzheimer's disease: recommendations for future research. *J. Womens Health* 2002 21, 1018–1023.
17. Caselli RJ, Chen K, Locke DEC, Lee W, Roontiva A, Bandy D, Fleisher AS, Reiman EM (2014) Subjective cognitive decline: Self and informant comparisons. *Alzheimers Dement.* 10, 93–98.
18. Cheke LG, Clayton NS (2013) Do different tests of episodic memory produce consistent results in human adults? *Learn. Mem.* 20, 491–498.
19. Cheng Y-W, Chen T-F, Chiu M-J (2017) From mild cognitive impairment to subjective cognitive decline: conceptual and methodological evolution. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 13, 491–498.
20. Chiang GC, Insel PS, Tosun D, Schuff N, Truran-Sacrey D, Raptentsetsang ST, Thompson PM, Reiman EM, Jack CR, Fox NC, Jagust WJ, Harvey DJ, Beckett LA, Gamst A, Aisen PS, Petersen RC, Weiner MW (2011) Impact of apolipoprotein $\epsilon 4$ -cerebrospinal fluid beta-amyloid interaction on hippocampal volume loss over 1 year in mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement.* 7, 514–520.
21. Clayton NS, Dickinson A (1998) Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature* 395, 272.

22. Da X, Toledo JB, Zee J, Wolk DA, Xie SX, Ou Y, Shacklett A, Parmpi P, Shaw L, Trojanowski JQ, Davatzikos C (2013) Integration and relative value of biomarkers for prediction of MCI to AD progression: Spatial patterns of brain atrophy, cognitive scores, APOE genotype and CSF biomarkers. *NeuroImage Clin.* 4, 164–173.
23. De Riva V, Galloni E, Marcon M, Di Dionisio L, Deluca C, Meligrana L, Bolner A, Perini F (2014) Analysis of combined CSF biomarkers in AD diagnosis. *Clin. Lab.* 60, 629–634.
24. Drago V, Babiloni C, Bartrés-Faz D, Caroli A, Bosch B, Hensch T, Didic M, Klafki H-W, Pievani M, Jovicich J, Venturi L, Spitzer P, Vecchio F, Schoenknecht P, Wiltfang J, Redolfi A, Forloni G, Blin O, Irving E, Davis C, Hårdemark H, Frisoni GB (2011) Disease tracking markers for Alzheimer’s disease at the prodromal (MCI) stage. *J. Alzheimers Dis. JAD* 26 Suppl 3, 159–199.
25. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, Meguro K, O’Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P (2007) Research criteria for the diagnosis of Alzheimer’s disease: revising the NINCDS–ADRDA criteria. *Lancet Neurol.* 6, 734–746.
26. El Haj M, Antoine P, Amouyel P, Lambert J-C, Pasquier F, Kapogiannis D (2016) Apolipoprotein E (APOE) ϵ 4 and episodic memory decline in Alzheimer’s disease: A review. *Ageing Res. Rev.* 27, 15–22.
27. Engelborghs S, Maertens K, Vloeberghs E, Aerts T, Somers N, Mariën P, De Deyn PP (2006) Neuropsychological and behavioural correlates of CSF biomarkers in dementia. *Neurochem. Int.* 48, 286–295.
28. Fillit HM, Butler RN, O’Connell AW, Albert MS, Birren JE, Cotman CW, Greenough WT, Gold PE, Kramer AF, Kuller LH, Perls TT, Sahagan BG, Tully T (2002) Achieving and Maintaining Cognitive Vitality With Aging. *Mayo Clin. Proc.* 77, 681–696.
29. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res.* 12, 189–198.

30. Forsberg A, Engler H, Almkvist O, Blomquist G, Hagman G, Wall A, Ringheim A, Långström B, Nordberg A (2008) PET imaging of amyloid deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging* 29, 1456–1465.
31. Gabryelewicz T (2012) Łagodne zaburzenia poznawcze. W: Diagnostyka i leczenie otępień. Rekomendacje zespołu ekspertów Polskiego Towarzystwa Alzheimerowskiego. Medisfera, Otwock, str. 50-57.
32. Gifford KA, Liu D, Damon SM, Chapman WG, Romano Iii RR, Samuels LR, Lu Z, Jefferson AL, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2015) Subjective memory complaint only relates to verbal episodic memory performance in mild cognitive impairment. *J. Alzheimers Dis.* 44, 309–318.
33. Goldman JS, Hahn SE, Catania JW, LaRusse-Eckert S, Butson MB, Rumbaugh M, Strecker MN, Roberts JS, Burke W, Mayeux R, Bird T (2011) Genetic counseling and testing for Alzheimer disease: Joint practice guidelines of the American College of Medical Genetics and the National Society of Genetic Counselors. *Genet. Med.* 13, 597–605.
34. Grambaite R, Hessen E, Auning E, Aarsland D, Selnes P, Fladby T (2013) Correlates of Subjective and Mild Cognitive Impairment: Depressive Symptoms and CSF Biomarkers. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord. Extra* 3, 291–300.
35. Grimmer T, Wutz C, Drzezga A, Förster S, Förstl H, Ortner M, Perneczky R, Kurz A (2013) The usefulness of amyloid imaging in predicting the clinical outcome after two years in subjects with mild cognitive impairment. *Curr. Alzheimer Res.* 10, 82–85.
36. Guhra M, Thomas C, Boedeker S, Kreisel S, Driessen M, Beblo T, Ohrmann P, Toepper M (2016) Linking CSF and cognition in Alzheimer's disease: Reanalysis of clinical data. *Exp. Gerontol.* 73, 107–113.
37. Haldenwanger A, Eling P, Kastrup A, Hildebrandt H (2010) Correlation between cognitive impairment and CSF biomarkers in amnesic MCI, non-amnesic MCI, and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 22, 971–980.
38. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L (2006) Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol.* 5, 228–234.

39. Harada CN, Natelson Love MC, Triebel KL (2013) Normal Cognitive Aging. *Clin. Geriatr. Med.* 29, 737–752.
40. Holtzman DM, Herz J, Bu G (2012) Apolipoprotein E and Apolipoprotein E Receptors: Normal Biology and Roles in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2, a006312.
41. Hort J, O'Brien JT, Gainotti G, Pirttila T, Popescu BO, Rektorova I, Sorbi S, Scheltens P, EFNS Scientist Panel on Dementia (2010) EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Eur. J. Neurol.* 17, 1236–1248.
42. Humpel C, Hochstrasser T (2011) Cerebrospinal fluid and blood biomarkers in Alzheimer's disease. *World J. Psychiatry* 1, 8–18.
43. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Shaw LM, Aisen PS, Weiner MW, Petersen RC, Trojanowski JQ (2010) Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol.* 9, 119–128.
44. Jagodzińska M (2008) *Psychologia pamięci. Badania, teorie, zastosowania.*, Helion, Gliwice.
45. Jessen F, Amariglio RE, van Boxtel M, Breteler M, Ceccaldi M, Chételat G, Dubois B, Dufouil C, Ellis KA, van der Flier WM, Glodzik L, van Harten AC, de Leon MJ, McHugh P, Mielke MM, Molinuevo JL, Mosconi L, Osorio RS, Perrotin A, Petersen RC, Rabin LA, Rami L, Reisberg B, Rentz DM, Sachdev PS, de la Sayette V, Saykin AJ, Scheltens P, Shulman MB, Slavin MJ, Sperling RA, Stewart R, Uspenskaya O, Vellas B, Visser PJ, Wagner M, Subjective Cognitive Decline Initiative (SCD-I) Working Group (2014) A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 10, 844–852.
46. Jessen F, Wiese B, Bachmann C, Eifflaender-Gorfer S, Haller F, Kölsch H, Luck T, Mösch E, Bussche H van den, Wagner M, Wollny A, Zimmermann T, Pentzek M, Riedel-Heller SG, Romberg H-P, Weyerer S, Kaduszkiewicz H, Maier W, Bickel H (2010) Prediction of Dementia by Subjective Memory Impairment: Effects of Severity and Temporal Association With Cognitive Impairment. *Arch. Gen. Psychiatry* 67, 414–422.
47. Kaplan E, Goodglass H, Weintraub S, Goodglass H (1983) *Boston Naming Test*, Lea & Febiger, Philadelphia.

48. Kester MI, Blankenstein MA, Bouwman FH, Elk V, J E, Scheltens P, Flier VD, M W (2009) CSF Biomarkers in Alzheimer's Disease and Controls: Associations with APOE Genotype are Modified by Age. *J. Alzheimers Dis.* 16, 601–607.
49. Kotapka – Minc S (2004) Funkcje poznawcze i ich zaburzenia. W: Otępienie. red. Szczudlik A, Liberski PP, Barcikowska M, Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, str. 15- 26.
50. Kukull WA, Ganguli M (2012) Generalizability. *Neurology* 78, 1886–1891.
51. Lewczuk P, Zimmermann R, Wiltfang J, Kornhuber J (2009) Neurochemical dementia diagnostics: a simple algorithm for interpretation of the CSF biomarkers. *J. Neural Transm.* 116, 1163–1167.
52. Lewczuk P, Kornhuber J, on behalf of the German Dementia Competence Network, Toledo JB, Trojanowski JQ, Knapik-Czajka M, Peters O, Wiltfang J, Shaw LM (2015) Validation of the Erlangen Score Algorithm for the Prediction of the Development of Dementia due to Alzheimer's Disease in Pre-Dementia Subjects. *J. Alzheimers Dis.* 48, 433–441.
53. Lewczuk P (2011) Neurochemiczna diagnostyka chorób otępiennych. W: Choroby otępienne. Teoria i praktyka. red. Leszek J, Continuo, Wrocław, str. 371-385.
54. Lezak MD, Howieson DB, Loring DW, Hannay HJ, Fisher JS (2004) Neuropsychological assessment. Fourth Edition, Oxford University Press, Oxford.
55. Loy CT, Schofield PR, Turner AM, Kwok JBJ (2014) Genetics of dementia. *Lancet Lond. Engl.* 383, 828–840.
56. Łuria AR (1973) The working brain: An introduction to neuropsychology, Basic Books, New York.
57. Mar J, Soto-Gordoa M, Arrospide A, Moreno-Izco F, Martínez-Lage P (2015) Fitting the epidemiology and neuropathology of the early stages of Alzheimer's disease to prevent dementia. *Alzheimers Res. Ther.* 7, 2.
58. Mast BT, Zimmerman J, Rowe SV (2009) What Do We Know About the Aging Brain?: Implications for Learning in Late Life. W: Handbook of Research on Adult Learning and Development. red. Smith MC, DeFrates-Densch N, Routledge, Nowy Jork, str. 693 – 731.

59. Mattsson N, Portelius E, Rolstad S, Gustavsson M, Andreasson U, Stridsberg M, Wallin A, Blennow K, Zetterberg H (2012) Longitudinal Cerebrospinal Fluid Biomarkers over Four Years in Mild Cognitive Impairment. *J. Alzheimers Dis.* 30, 767–778.
60. Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, Herukka S-K, van der Flier WM, Blankenstein MA, Ewers M, Rich K, Kaiser E, Verbeek M, Tsolaki M, Mulugeta E, Rosén E, Aarsland D, Visser PJ, Schröder J, Marcusson J, de Leon M, Hampel H, Scheltens P, Pirttilä T, Wallin A, Jönhagen ME, Minthon L, Winblad B, Blennow K (2009) CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 302, 385–393.
61. Mazurek A, Bhoopathy RM, Read JCA, Gallagher P, Smulders TV (2015) Effects of age on a real-world What-Where-When memory task. *Front. Aging Neurosci.* 7,74.
62. McDowell I, Xi G, Lindsay J, Tierney M (2007) Mapping the connections between education and dementia. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 29, 127–141.
63. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH (2011) The diagnosis of dementia due to Alzheimer’s disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 7, 263–269.
64. Mielke MM, Vemuri P, Rocca WA (2014) Clinical epidemiology of Alzheimer’s disease: assessing sex and gender differences. *Clin. Epidemiol.* 6, 37–48.
65. Mirandez RM, Aprahamian I, Talib LL, Forlenza OV, Radanovic M (2017) Multiple category verbal fluency in mild cognitive impairment and correlation with CSF biomarkers for Alzheimer’s disease. *Int. Psychogeriatr.* 29, 949–958.
66. Morris JC (1993) The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology* 43, 2412–2414.
67. Mosconi L, De Santi S, Brys M, Tsui WH, Pirraglia E, Glodzik-Sobanska L, Rich KE, Switalski R, Mehta PD, Pratico D, Zinkowski R, Blennow K, de Leon MJ (2008) Hypometabolism and Altered Cerebrospinal Fluid Markers in Normal Apolipoprotein E E4 Carriers with Subjective Memory Complaints. *Biol. Psychiatry* 63, 609–618.

68. Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, Chang L, Miller B, Clark C, Green R (1995) Reduction of beta-amyloid peptide₄₂ in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* 38, 643–648.
69. Nordlund A, Rolstad S, Klang O, Lind K, Pedersen M, Blennow K, Edman A, Hansen S, Wallin A (2008) Episodic memory and speed/attention deficits are associated with Alzheimer-typical CSF abnormalities in MCI. *J. Int. Neuropsychol. Soc. JINS* 14, 582–590.
70. Nowak L, (2013) *Ludność: stan i struktura demograficzno-społeczna : Narodowy Spis Powszechny Ludności i Mieszkań 2011*, Główny Urząd Statystyczny, Zakład Wydawnictw Statystycznych, Warszawa.
71. Perrotin A, Mormino EC, Madison CM, Hayenga AO, Jagust WJ (2012) Subjective Cognition and Amyloid Deposition Imaging: A Pittsburgh Compound B Positron Emission Tomography Study in Normal Elderly Individuals. *Arch. Neurol.* 69, 223–229.
72. Petersen RC, Roberts RO, Knopman DS, Geda YE, Cha RH, Pankratz VS, Boeve BF, Tangalos EG, Ivnik RJ, Rocca WA (2010) Prevalence of mild cognitive impairment is higher in men The Mayo Clinic Study of Aging. *Neurology* 75, 889–897.
73. Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E (1999) Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch. Neurol.* 56, 303–308.
74. Pettigrew C, Soldan A, Moghekar A, Wang M-C, Gross AL, O'Brien R, Albert M (2015) Relationship between cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease and cognition in cognitively normal older adults. *Neuropsychologia* 78, 63–72.
75. Plancher G, Tirard A, Gyselinck V, Nicolas S, Piolino P (2012) Using virtual reality to characterize episodic memory profiles in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: Influence of active and passive encoding. *Neuropsychologia* 50, 592–602.
76. Raz N, Rodrigue KM (2006) Differential aging of the brain: Patterns, cognitive correlates and modifiers. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 30, 730–748.

77. Reinvang I, Espeseth T, Westlye LT (2013) APOE-related biomarker profiles in non-pathological aging and early phases of Alzheimer's disease. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 37, 1322–1335.
78. Reisberg B, Ferris SH, de Leon MJ, Crook T (1982) The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am. J. Psychiatry* 139, 1136–1139.
79. Reisberg B, Shulman MB, Torossian C, Leng L, Zhu W (2010) Outcome over seven years of healthy adults with and without subjective cognitive impairment. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 6, 11–24.
80. Reitan RM, Wolfson D (1995) Category test and trail making test as measures of frontal lobe functions. *Clin. Neuropsychol.* 9, 50–56.
81. Risacher SL, Kim S, Shen L, Nho K, Foroud T, Green RC, Petersen RC, Jack CR, Aisen PS, Koeppe RA, Jagust WJ, Shaw LM, Trojanowski JQ, Weiner MW, Saykin AJ, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)† (2013) The role of apolipoprotein E (APOE) genotype in early mild cognitive impairment (E-MCI). *Front. Aging Neurosci.* 5, 11.
82. Ritchie K (2002) Epidemiology of the Dementias and Alzheimer's Disease. W: Evidence-based Dementia Practice. red. Qizilbash N, Blackwell Science, Oxford, str. 238 – 240.
83. Rodda J, Okello A, Edison P, Dannhauser T, Brooks DJ, Walker Z (2010) 11C-PIB PET in subjective cognitive impairment. *Eur. Psychiatry* 25, 123–125.
84. Rogalski E, Stebbins GT, Barnes CA, Murphy CM, Stoub TR, George S, Ferrari C, Shah RC, deToledo-Morrell L (2012) Age-related changes in parahippocampal white matter integrity: A diffusion tensor imaging study. *Neuropsychologia* 50, 1759–1765.
85. Rolstad S, Nordlund A, Eckerström C, Gustavsson MH, Zetterberg H, Wallin A (2009) Biomarkers in relation to cognitive reserve in patients with mild cognitive impairment--proof of concept. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 27, 194–200.
86. Rolstad S, Nordlund A, Eckerström C, Gustavsson MH, Blennow K, Olesen PJ, Zetterberg H, Wallin A (2010) High education may offer protection against tauopathy in patients with mild cognitive impairment. *J. Alzheimers Dis.* 21, 221–228.

87. Rolstad S, Berg AI, Bjerke M, Blennow K, Johansson B, Zetterberg H, Wallin A (2011) Amyloid- β_{42} is associated with cognitive impairment in healthy elderly and subjective cognitive impairment. *J. Alzheimers Dis.* 26, 135–142.
88. Rolstad S, Berg AI, Bjerke M, Johansson B, Zetterberg H, Wallin A (2013) Cerebrospinal fluid biomarkers mirror rate of cognitive decline. *J. Alzheimers Dis.* 34, 949–956.
89. Russo MJ, Campos J, Vázquez S, Sevlever G, Allegri RF (2017) Adding Recognition Discriminability Index to the Delayed Recall Is Useful to Predict Conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer’s Disease in the Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative. *Front. Aging Neurosci.* 9,46.
90. Salthouse T (2012) Consequences of age-related cognitive declines. *Annu. Rev. Psychol.* 63, 201–226.
91. Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, Rosi BL, Gusella JF, Crapper-MacLachlan DR, Alberts MJ (1993) Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer’s disease. *Neurology* 43, 1467–1472.
92. Schoonenboom SNM, Visser PJ, Mulder C, Lindeboom J, Van Elk EJ, Van Kamp GJ, Scheltens PH (2005) Biomarker profiles and their relation to clinical variables in mild cognitive impairment. *Neurocase* 11, 8–13.
93. Sierra-Rio A, Balasa M, Olives J, Antonell A, Iranzo A, Castellví M, Bosch B, Grau-Rivera O, Fernandez-Villullas G, Rami L, Lladó A, Sánchez-Valle R, Molinuevo JL (2016) Cerebrospinal Fluid Biomarkers Predict Clinical Evolution in Patients with Subjective Cognitive Decline and Mild Cognitive Impairment. *Neurodegener. Dis.* 16, 69–76.
94. Slaets S, Le Bastard N, Theuns J, Sleegers K, Verstraeten A, De Leenheir E, Luyckx J, Martin J-J, Van Broeckhoven C, Engelborghs S (2013) Amyloid pathology influences A β 1-42 cerebrospinal fluid levels in dementia with Lewy bodies. *J. Alzheimers Dis.* 35, 137–146.
95. Smith G, Rush BK (2006) Normal Aging and Mild Cognitive Impairment. W: Geriatric Neuropsychology: Assessment and Intervention. red. Attix DK, Welsh-Bohmer KA, Guilford Press, Nowy Jork, str. 27-55.

96. Soldan A, Pettigrew C, Li S, Wang M-C, Moghekar A, Selnes OA, Albert M, O'Brien R (2013) Relationship of cognitive reserve and cerebrospinal fluid biomarkers to the emergence of clinical symptoms in preclinical Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 34, 2827–2834.
97. Solomon A, Mangialasche F, Richard E, Andrieu S, Bennett DA, Breteler M, Fratiglioni L, Hooshmand B, Khachaturian AS, Schneider LS, Skoog I, Kivipelto M (2014) Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia. *J. Intern. Med.* 275, 229–250.
98. Spinney L (2014) Alzheimer's disease: The forgetting gene. *Nature* 510, 26–28.
99. Stern Y (2012) Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 11, 1006–1012.
100. Strauss E, Sherman EMS, Spreen O (2006) *A Compendium of Neuropsychological tests*, University Press, Oxford.
101. Struyfs H, Van Broeck B, Timmers M, Franssen E, Slegers K, Van Broeckhoven C, De Deyn PP, Streffer JR, Mercken M, Engelborghs S (2015) Diagnostic Accuracy of Cerebrospinal Fluid Amyloid- β Isoforms for Early and Differential Dementia Diagnosis. *J. Alzheimers Dis.* 45, 813–822.
102. Sunderland T, Hill JL, Mellow AM, Lawlor BA, Gundersheimer J, Newhouse PA, Grafman JH (1989) Clock drawing in Alzheimer's disease. A novel measure of dementia severity. *J. Am. Geriatr. Soc.* 37, 725–729.
103. Tales A, Wilcock GK, Phillips JE, Bayer A (2014) Is there more to subjective cognitive impairment than meets the eye? A perspective. *J. Alzheimers Dis. JAD* 41, 655–661.
104. Terry RD, Katzman R (2001) Life span and synapses: will there be a primary senile dementia? *Neurobiol. Aging* 22, 347–348.
105. Tifratene K, Robert P, Metelkina A, Pradier C, Dartigues JF (2015) Progression of mild cognitive impairment to dementia due to AD in clinical settings. *Neurology* 85, 331–338.
106. The Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease" (1998). Consensus report of the Working Group on "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of

- the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group. *Neurobiol. Aging* 19, 109–116.
107. Thorvaldsson V, Nordlund A, Reinvang I, Blennow K, Zetterberg H, Wallin A, Johansson B (2010) Memory in individuals with mild cognitive impairment in relation to APOE and CSF Abeta42. *Int. Psychogeriatr.* 22, 598–606.
 108. Toledo JB, Zetterberg H, van Harten AC, Glodzik L, Martinez-Lage P, Bocchio-Chiavetto L, Rami L, Hansson O, Sperling R, Engelborghs S, Osorio RS, Vanderstichele H, Vandijck M, Hampel H, Teipl S, Moghekar A, Albert M, Hu WT, Monge Argilés JA, Gorostidi A, Teunissen CE, De Deyn PP, Hyman BT, Molinuevo JL, Frisoni GB, Linazasoro G, de Leon MJ, van der Flier WM, Scheltens P, Blennow K, Shaw LM, Trojanowski JQ, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2015) Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarker in cognitively normal subjects. *Brain J. Neurol.* 138, 2701–2715.
 109. Tulving E (2002) Episodic memory: from mind to brain. *Annu. Rev. Psychol.* 53, 1–25.
 110. van der Vlies AE, Verwey NA, Bouwman FH, Blankenstein MA, Klein M, Scheltens P, van der Flier WM (2009) CSF biomarkers in relationship to cognitive profiles in Alzheimer disease. *Neurology* 72, 1056–1061.
 111. Villemagne VL, Burnham S, Bourgeat P, Brown B, Ellis KA, Salvado O, Szoek C, Macaulay SL, Martins R, Maruff P, Ames D, Rowe CC, Masters CL, Australian Imaging Biomarkers and Lifestyle (AIBL) Research Group (2013) Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 12, 357–367.
 112. Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund L-O, Freund-Levi Y, Tsolaki M, Minthon L, Wallin AK, Hampel H, Bürger K, Pirttila T, Soininen H, Rikkert MO, Verbeek MM, Spuru L, Blennow K (2009) Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 8, 619–627.
 113. Vos SJB, Rossum IA van, Verhey F, Knol DL, Soininen H, Wahlund L-O, Hampel H, Tsolaki M, Minthon L, Frisoni GB, Froelich L, Nobili F, Flier W van der, Blennow K,

- Wolz R, Scheltens P, Visser PJ (2013) Prediction of Alzheimer disease in subjects with amnesic and nonamnesic MCI. *Neurology* 80, 1124–1132.
114. Vos SJB, Verhey F, Frölich L, Kornhuber J, Wiltfang J, Maier W, Peters O, Rütger E, Nobili F, Morbelli S, Frisoni GB, Drzezga A, Didic M, van Berckel BNM, Simmons A, Soinen H, Kłoszewska I, Mecocci P, Tsolaki M, Vellas B, Lovestone S, Muscio C, Herukka S-K, Salmon E, Bastin C, Wallin A, Nordlund A, de Mendonça A, Silva D, Santana I, Lemos R, Engelborghs S, Van der Mussele S, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, Freund-Levi Y, Wallin ÅK, Hampel H, van der Flier W, Scheltens P, Visser PJ (2015) Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain J. Neurol.* 138, 1327–1338.
115. Vyhnalek M, Nikolai T, Andel R, Nedelska Z, Rubínová E, Marková H, Laczó J, Bezdicek O, Sheardova K, Hort J (2014) Neuropsychological Correlates of Hippocampal Atrophy in Memory Testing in Nondemented Older Adults. *J. Alzheimers Dis.* 42, S81–S90.
116. Ward A, Tardiff S, Dye C, Arrighi HM (2013) Rate of Conversion from Prodromal Alzheimer's Disease to Alzheimer's Dementia: A Systematic Review of the Literature. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord. Extra* 3, 320–332.
117. Wechsler D (1981) WAIS-R manual, The Psychological Corporation, New York.
118. Widmann CN, Beinhoff U, Riepe MW (2012) Everyday memory deficits in very mild Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 33, 297–303.
119. Wiggs CL, Weisberg J, Martin A (1998) Neural correlates of semantic and episodic memory retrieval. *Neuropsychologia* 37, 103–118.
120. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund L-O, Nordberg A, Bäckman L, Albert M, Almkvist O, Arai H, Basun H, Blennow K, de Leon M, DeCarli C, Erkinjuntti T, Giacobini E, Graff C, Hardy J, Jack C, Jorm A, Ritchie K, van Duijn C, Visser P, Petersen RC (2004) Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J. Intern. Med.* 256, 240–246.
121. Wolk DA, Dickerson BC, Initiative the ADN (2010) Apolipoprotein E (APOE) genotype has dissociable effects on memory and attentional-executive network function in Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 10256–10261.

122. Wolk DA, Dickerson BC (2011) Fractionating verbal episodic memory in Alzheimer's disease. *NeuroImage* 54, 1530–1539.
123. World Health Organization, Alzheimer's Disease International (2012). *Dementia: A public health priority*. Geneva: World Health Organization.
124. Yoon B, Shim YS, Hong Y-J, Kim Y-D, Lee KO, Na S-J, Yang D-W (2012) Which symptoms can distinguish between subjective cognitive impairment (SCI) and mild cognitive impairment (MCI)? *Arch. Gerontol. Geriatr.* 54, 325–329.