

**Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**

**Sveučilište u Dubrovniku**

**Institut Ruđer Bošković**

**Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij Molekularne bioznanosti**

**Mirjana Babić Leko**

**Prediktivna vrijednost bioloških biljega u  
ranom otkrivanju i diferencijalnoj dijagnozi  
Alzheimerove bolesti**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Osijek, 2017.**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Sveučilište u Dubrovniku

Institut Ruđer Bošković

Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij Molekularne bioznanosti

**Mirjana Babić Leko**

**Prediktivna vrijednost bioloških biljega u  
ranom otkrivanju i diferencijalnoj dijagnozi  
Alzheimerove bolesti**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

Doktorska disertacija predložena je Sveučilišnom Vijeću za poslijediplomske interdisciplinarne doktorske studije u svrhu stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti na Poslijediplomskom interdisciplinarnom sveučilišnom studiju Molekularne bioznanosti – modul biomedicina

Osijek, 2017.

Doktorska disertacija izrađena je u Laboratoriju za razvojnu neuropatologiju, Hrvatskog instituta za istraživanje mozga, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr. sc. Gorana Šimića, dr. med., u sklopu Poslijediplomskog interdisciplinarnog sveučilišnog studija Molekularne bioznanosti u Osijeku.

**Financirano sredstvima Hrvatske zaklade za znanost**



**IP-2014-09-9730**  
**ALZTAUPROTECT**

**09/16**  
**ALZBIOTRACK**

Troškovi izrade ove disertacije su financirani sredstvima Hrvatske zaklade za znanost, istraživačkim projektima IP-2014-09-9730 – „Hiperfosforilacija, agregacija i transsinaptički prijenos tau proteina u Alzheimerovoj bolesti: analiza likvora i ispitivanje potencijalnih neuroprotektivnih spojeva“ i 09/16 – „Otkrivanje i praćenje bioloških biljega radi rane terapijske intervencije u sporadičnoj Alzheimerovoj bolesti“, voditelj prof. dr. sc. Goran Šimić, koji se provode na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.



## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Sveučilište u Dubrovniku  
Institut Ruđer Bošković  
Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni  
studij Molekularne bioznanosti

Doktorska disertacije

**Znanstveno područje:** Biomedicina i zdravstvo  
**Znanstveno polje:** Temeljne medicinske znanosti

### PREDIKTIVNA VRIJEDNOST BIOLOŠKIH BILJEGA U RANOM OTKRIVANJU I DIFERENCIJALNOJ DIJAGNOZI ALZHEIMEROVE BOLESTI

Mirjana Babić Leko

**Disertacija je izrađena u:** Laboratoriju za razvojnu neuropatologiju, Hrvatski institut za istraživanje mozga, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 12, 10000 Zagreb

**Mentor:** prof. dr. sc. Goran Šimić, dr. med.

#### **Kratki sažetak doktorske disertacije:**

Rana dijagnostika Alzheimerove bolesti (AB) je važna s obzirom na razvoj novih lijekova koji bi se trebali primjenjivati već u pretkliničkoj fazi dok bolest nije uznapredovala. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi vjerojatnost napredovanja blagog spoznajnog poremećaja (BSP) u AB pomoću kombinacije likvorskih proteinskih biljega ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) s neinvazivnim biološkim biljezima (protein neurokan iz plazme i evocirani potencijali mjereni elektroencefalografijom) te razinama 24 makro- i mikroelementa mjerenima u likvoru. Istraživanje je provedeno na sveukupno 156 bolesnika s AB, 63 osoba s BSP i 20 zdravih kontrolnih ispitanika. Rezultiralo je izradom triju prediktivnih modela za određivanje vjerojatnosti nastanka AB u osoba s BSP. Biomarker s najboljom prediktivnom vrijednošću bila je latencija P300 potencijala, a osjetljivost i specifičnost temeljnih likvorskih biljega poboljšala se kombinacijom s potencijalnim likvorskim biljezima. Iako nije bilo značajne razlike u razinama ispitivanih makro- i mikroelemenata između AB, BSP i kontrolnih ispitanika, vrijednosti Se, Tl, Zn, Cr i Ba su bile statistički značajno povezane sa šest bioloških biljega, a vrijednosti Cu, Fe, As, Co, Ca, Mg i S s pet bioloških biljega. Zaključno, ovo je istraživanje ponudilo rješenja za unaprjeđenje rane dijagnostike AB pomoću bioloških biljega, te dalo bolji uvid o mogućoj ulozi pojedinih makro- i mikroelemenata, pogotovo metala, u razvoju AB.

**Broj stranica:** 248

**Broj slika:** 46

**Broj tablica:** 42

**Broj literaturnih navoda:** 571

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Ključne riječi:** Alzheimerova bolest, blagi spoznajni poremećaj, biološki biljezi, rana dijagnostika, cerebrospinalna tekućina, kognitivni evocirani potencijali, makro- i mikroelementi

**Datum obrane:** 5. lipnja, 2017.

#### **Stručno povjerenstvo za obranu:**

1. Izv. prof. dr. sc. Nela Pivac, znanstvena savjetnica (predsjednica povjerenstva)
2. Dr. sc. Dubravka Švob Štrac, viša znanstvena suradnica (član)
3. Izv. prof. dr. sc. Mario Vukšić, dr. med. (član)
4. Prof. dr. sc. Đurđica Ugarković, znanstvena savjetnica (zamjena člana)

**Disertacija je pohranjena u:** Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; Gradskoj i sveučilišnoj knjižnici Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Sveučilištu Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Trg Sv. Trojstva 3, Osijek

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**  
**University of Dubrovnik**  
**Ruder Bošković Institute**  
**University Postgraduate Interdisciplinary Doctoral Study of**  
**Molecular biosciences**

**PhD thesis**

**Scientific Area:** Biomedicine and health

**Scientific Field:** Basic clinical sciences

### **PREDICTIVE VALUE OF BIOMARKERS IN EARLY DETECTION AND DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ALZHEIMER'S DISEASE**

Mirjana Babić Leko

**Thesis performed at:** Laboratory for Developmental Neuropathology, Croatian Institute for Brain Research, University of Zagreb, School of Medicine, Šalata 12, 10000 Zagreb

**Supervisor:** prof. Goran Šimić, PhD, MD

#### **Short abstract:**

Early diagnosis of Alzheimer's disease (AD) is important due to the development of new therapeutics targeting the preclinical stages at which the disease is not advanced yet. The aim of this study was to determine the probability of mild cognitive impairment (MCI) progression to AD by using the combination of cerebrospinal fluid (CSF) AD biomarkers ( $A\beta_{1-42}$ , total tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> and VILIP-1) with non-invasive biomarkers (neurocan protein measured in plasma and evoked potentials measured by electroencephalography) and levels of 24 macro- and microelements measured in CSF. The study involved 156 AD patients, 63 MCI patients and 20 control subjects. It resulted in three predictive models for determination of AD probability in patients with MCI. The biomarker with the best predictive value was latency of P300 potential. The sensitivity and specificity of core CSF biomarkers was improved by the combination with potential CSF biomarkers. Although there was no difference in CSF macro- and microelements' levels among AD, MCI and controls, the levels of Se, Tl, Zn, Cr and Ba were significantly associated with six biomarkers and the levels of Cu, Fe, As, Co, Ca, Mg and S were significantly associated with five biomarkers of AD. In conclusion, this research offers the solutions for the improvement of the early AD diagnosis, and also gives the better insight into the role of macro- and microelements, especially metals, in the development of AD.

**Number of pages:** 248

**Number of figures:** 46

**Number of tables:** 42

**Number of references:** 571

**Original in:** Croatian

**Key words:** Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, biomarkers, early diagnosis, cerebrospinal fluid, cognitive evoked potentials, macro- and microelements

**Date of the thesis defense:** June 5<sup>th</sup>, 2017

#### **Reviewers:**

1. Prof. Nela Pivac, PhD, senior scientist (president of review committee)
2. Dubravka Švob Štrac, PhD, research associate (reviewer)
3. Prof. Mario Vukšić, PhD, MD (reviewer)
4. Prof. Đurđica Ugarković, PhD, senior scientist (substitute reviewer)

**Thesis deposited in:** National and University Library in Zagreb, Ul. Hrvatske bratske zajednice 4, Zagreb; City and University Library of Osijek, Europska avenija 24, Osijek; Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Trg sv. Trojstva 3, Osijek

## Zahvale

Zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Goranu Šimiću na velikoj podršci i stručnom vodstvu tijekom izrade ovog rada. Hvala na savjetima, strpljenju i nesebično pruženom znanju koje me je osposobilo za daljnji znanstveni, ali i nastavni rad.

Veliko hvala:

prof. dr. sc. Franu Borovečkom i doc. dr. sc. Nataši Klepac sa Zavoda za kognitivnu neurologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb,

dr. sc. Magdaleni Krbot Skorić iz Laboratorija za kognitivnu i eksperimentalnu neurofiziologiju Klinike za neurologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb,

dr. sc. Jasni Jurasović i dr. sc. Tatjani Orct iz Jedinice za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu,

te

prof. dr. sc. Zdenku Sonickiju sa Zavoda za medicinsku statistiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu,

bez kojih ovaj rad ne bi bio moguć.

Posebno zahvaljujem svim kolegama s Hrvatskog instituta za istraživanje mozga na stručnoj pomoći, korisnim savjetima i uvijek odličnoj radnoj atmosferi.

Hvala dr. sc. Matei Nikolac Perković i dr. sc. Sofiji Blažević na pružnim savjetima prilikom izrade ovog rada.

Svim članovima moje obitelji, a osobito roditeljima Jadranki i Borku, sestrama Mandi i Mariji i bratu Mati od srca zahvaljujem na svemu, na podršci, ljubavi i ohrabivanju.

Hvala i svim mojim prijateljima koji su uvijek uspješno ovo putovanje činili mnogo zabavnijim.

Na kraju, posebno hvala mom suprugu Branimiru na beskrajnom razumijevanju, podršci i ljubavi bez kojih ovaj rad ne bi bio moguć.

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. Alzheimerova bolest.....	2
1.1.1. Klinički pokazatelji i patologija AB.....	4
1.1.2. Pretpostavke o nastanku Alzheimerove bolesti.....	7
1.1.2.1. Amiloidna hipoteza .....	8
1.1.2.2. Uloga tau proteina u nastanku AB.....	12
1.1.3. Genetička podloga Alzheimerove bolesti.....	16
1.1.3.1. Utjecaj epigenetičkih promjena na nastanak AB.....	17
1.1.4. Liječenje Alzheimerove bolesti.....	17
1.2. Ostali tipovi demencije.....	19
1.2.1. Vaskularna demencija .....	21
1.2.1.1. Utjecaj vaskularnih promjena na nastanak AB.....	23
1.2.2. Bolest Lewyjevih tjelešaca .....	26
1.2.3. Frontotemporalna demencija .....	27
1.3. Blagi kognitivni (spoznajni) poremećaj .....	31
1.4. Biomarkeri za dijagnozu Alzheimerove bolesti .....	33
1.4.1. Biomarkeri u cerebrospinalnoj tekućini (likvoru) .....	37
1.4.1.1. Amiloid $\beta$ .....	39
1.4.1.2. Ukupni tau protein.....	40
1.4.1.3. Fosforilirani tau proteini.....	41
1.4.1.4. Longitudinalne promjene likvorskih biomarkera .....	43
1.4.1.5. Novi likvorski biomarkeri .....	44
1.4.2. Neuroslikovni biomarkeri.....	45
1.4.3. Biomarkeri u plazmi .....	46
1.5. Poremećaj homeostaze metala u Alzheimerovoj bolesti .....	47
1.5.1. Bakar .....	51
1.5.2. Cink .....	52
1.5.3. Željezo .....	53
1.5.4. Živa.....	54
1.5.5. Aluminij.....	57
1.5.6. Potencijalni terapeutici za AB koji se temelje na hipotezi poremećene homeostaze iona metala .....	58
1.6. Evocirani potencijali.....	59
1.6.1. Osjetni evocirani potencijali.....	59
1.6.2. Potencijali vezani za događaj .....	59

1.6.2.1. Promjena potencijala vezanih za događaj u Alzheimerovoj bolesti .....	61
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	63
3. MATERIJALI I METODE .....	65
3.1. Ispitanici, klinička obrada i izuzimanje uzoraka likvora i krvi .....	66
3.2. Određivanje koncentracije proteinskih bioloških biljega ELISA metodom .....	67
3.3. Određivanje makro- i mikroelementa u likvoru pomoću masene spektrometrije induktivno spregnute plazme (ICP-MS, inductively coupled plasma mass spectroscopy) .....	71
3.4. Mjerenje kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena.....	73
3.5. Statistička analiza podataka.....	74
4. REZULTATI.....	75
4.1. Proteinski biološki biljezi u cerebrospinalnoj tekućini.....	76
4.1.1. Demografski podatci i vrijednosti $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau, p-tau <sub>181</sub> , p-tau <sub>199</sub> , p-tau <sub>231</sub> i VILIP-1 u likvoru oboljelih od AB, BSP i zdravih kontrola .....	76
4.1.2. Osjetljivost, specifičnost i izlučne vrijednosti (IV) likvorskih bioloških biljega .....	80
4.2. Potencijali vezani uz događaj (kognitivni evocirani potencijali) .....	81
4.2.1. Demografski podatci i vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala kod oboljelih od AB, BSP i zdravih kontrola .....	81
4.2.2. Osjetljivost, specifičnost i izlučne vrijednosti (IV) kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena.....	86
4.2.3. Korelacije kognitivnih evociranih potencijala s proteinskim biološkim biljezima i MMSE .....	87
4.2.4. Usporedba amplitude P300 potencijala s likvorskim proteinskim biološkim biljezima .....	96
4.2.5. Usporedba vrijednosti reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala između pacijenata sa i bez AChEI tretmana.....	97
4.2.6. Usporedba vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega .....	99
4.2.6.1. Ispitanici koji su sudjelovali paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije .....	99
4.2.6.2. Ispitanici koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije.....	102
4.2.6.3. Ispitanici koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije .....	104
4.3. Makro- i mikroelementi u cerebrospinalnoj tekućini .....	106
4.3.1. Demografski podatci i vrijednosti makro- i mikroelemenata u likvoru oboljelih od AB, ispitanika s BSP i zdravih kontrola .....	106
4.3.2. Korelacije makro- i mikroelemenata s proteinskim biološkim biljezima i MMSE .....	110
4.3.3. Korelacije makro- i mikroelemenata s kognitivnim evociranim potencijalima i reakcijskim vremenom.....	118
4.3.4. Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između grupa pacijenata s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega .....	121

4.3.5. Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena .....	127
4.4. Kombinacija bioloških biljega.....	131
4.4.1. Faktorski skor likvorskih proteinskih bioloških biljega .....	131
4.4.2. Faktorski skor kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena .....	136
4.4.3. Modeli logističke regresije za izračun vjerojatnosti AB kod ispitanika s BSP .....	144
4.4.4. Faktorski skor makro- i mikroelemenata.....	149
4.5. Biološki biljeg u plazmi .....	152
4.5.1. Koncentracija neurokana u plazmi oboljelih od AB, ispitanika s BSP i zdravih kontrola	152
5. RASPRAVA.....	154
5.1. Proteinski biološki biljezi AB .....	155
5.1.1. Proteinski biološki biljezi u cerebrospinalnoj tekućini.....	155
5.1.2. Faktorski skor likvorskih proteinskih bioloških biljega .....	159
5.1.3. Proteinski biološki biljeg u plazmi .....	162
5.2. Kognitivni evocirani potencijali .....	163
5.2.1. Usporedba kognitivnih evociranih potencijala između AB, BSP i kontrolne skupine ispitanika .....	163
5.2.2. Usporedba kognitivnih evociranih potencijala s neuropsihološkim testiranjem .....	167
5.2.3. Usporedba kognitivnih evociranih potencijala s biološkim biljezima AB .....	169
5.2.4. Utjecaj inhibitora acetilkolinesteraze na kognitivne evocirane potencijale i reakcijsko vrijeme.....	173
5.2.5. Faktorski skor kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena .....	174
5.3. Makro- i mikroelementi u cerebrospinalnoj tekućini .....	175
5.3.1. Usporedba makro- i mikroelemenata između AB, BSP i kontrolne skupine ispitanika....	175
5.3.2. Usporedba makro- i mikroelemenata s biološkim biljezima AB.....	177
5.3.3. Usporedba makro- i mikroelemenata s kognitivnim evociranim potencijalima.....	185
5.3.4. Usporedba makro- i mikroelemenata s neuropsihološkim testovima.....	186
5.3.5. Faktorski skor makro- i mikroelemenata.....	187
6. ZAKLJUČCI.....	189
LITERATURA.....	193
SAŽETAK.....	230
SUMMARY .....	232
POPIS KRATICA .....	234
ŽIVOTOPIS .....	242

# **1. UVOD**

## 1.1. Alzheimerova bolest

U svijetu je 2015. godine 46.8 milijuna ljudi bolovalo od sindroma demencije. Procjenjuje se da će 2030. godine od demencije bolovati 74.7 milijuna ljudi, a 2050. godine čak oko 134 milijuna ljudi. Otprilike svake 3 sekunde u svijetu netko oboli od demencije. Ukupni svjetski trošak na liječenje i njegu oboljelih od demencije je u 2015. godini iznosio oko 818 milijardi US\$ (<http://www.worldalzreport2015.org/>). Procjenjuje se da u Republici Hrvatskoj trenutno od demencije boluje oko 86000 ljudi (Mimica, 2016). Učestalost Alzheimerove bolesti (AB) i drugih, manje čestih primarnih uzroka sindroma demencije, u svjetskoj populaciji je (<https://www.alzheimers.org.uk/dementiauk>; (Alzheimer's Association, 2014)):

- Alzheimerova bolest – 62%
- Vaskularna demencija (VaD) – 17%
- Miješani tip demencije (najčešće AB + VaD, ali mogu biti i druge kombinacije) – 10%
- Demencija s Lewyjevim tjelešcima – 4%
- Frontotemporalna demencija – 2%
- Demencija u Parkinsonovoj bolesti – 2%
- Ostali uzroci demencije – 3%

Najvažniji ostali uzroci demencije su nasljedne (obiteljske) tauopatije, hidrocefalus s normalnim intrakranijskim tlakom, sifilis i Creutzfeldt-Jakobova bolest (CJB). Novije studije također ukazuju i na veliku učestalost bolesti argirofilnih tjelešaca (Braakova bolest) koja se zbog nedovoljno dobre dijagnostike često ispušta u velikim službenim statistikama (dijagnosticiraju je samo specijalizirani centri), a neki autori smatraju da se javlja u čak oko 5% svih slučajeva demencije (Tolnay i Probst, 2008).

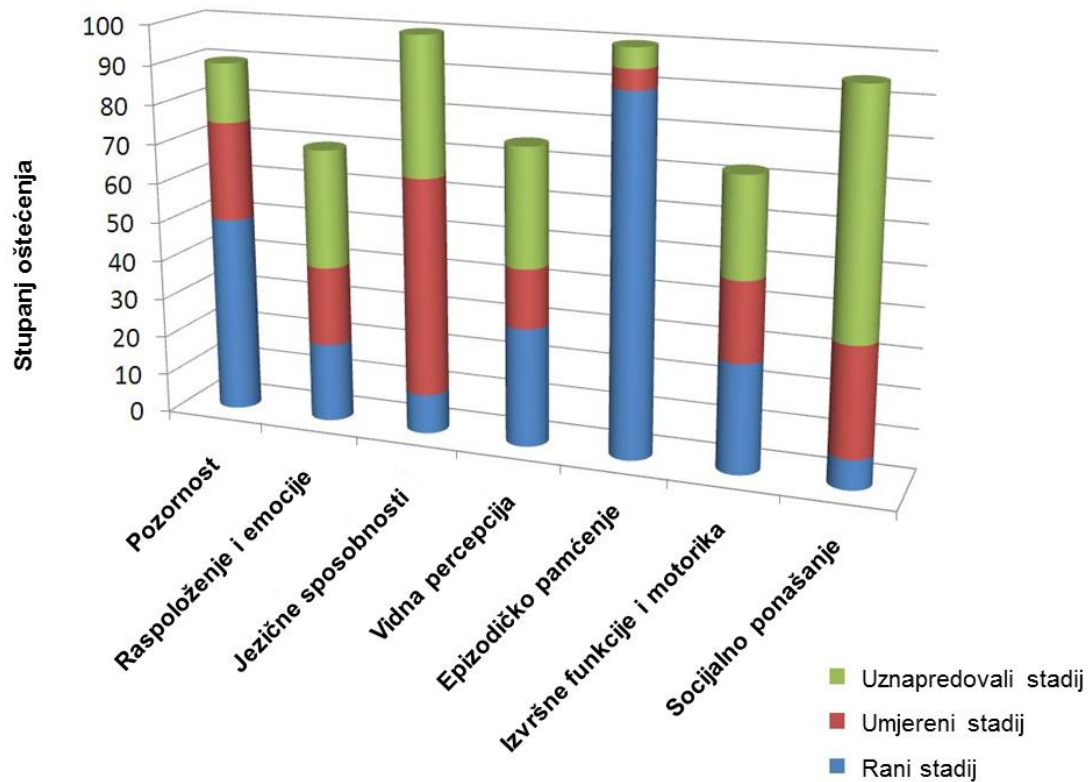
AB je vodeći primarni uzrok sindroma demencije koja je, pored ranih nekognitivnih simptoma i znakova, klinički karakterizirana slabljenjem prostorne i vremenske pozornosti (napose u vidnom i slušnom, ali i drugim modalitetima) te epizodičkog eksplicitnog (deklarativnog) pamćenja (tj. nemogućnosti pretvorbe kratkotrajnog u dugotrajno pamćenje), a kasnije u daljnjem tijeku razvoja bolesti i ostalih spoznajnih sposobnosti (**Slika 1**). AB je prvi opisao Alois Alzheimer 1906. godine u Tübingenu u bolesnice Auguste Deter. Ta je gospođa, rođena 1850. godine, pri dolasku u bolnicu u studenom 1901. godine imala značajno otežano zapamćivanje, promijenjenu osobnost, paranoju te poteškoće u čitanju i pisanju. Prije njezine smrti 1906. godine, Alzheimer je uočio i opisao i psihotična obilježja (halucinacije),



kao i značajne deficite u ostalim kognitivnim domenama (disfazija, disgnozija i dispraksija). Alzheimer se smatra prvim koji je povezoao navedene kliničke simptome bolesti s prisutnošću senilnih plakova (SP) i posebice neurofibrilarnih snopića (NFT, *neurofibrillary tangles*) u moždanoj kori oboljelih. Navedene patološke promjene prikazao je metodom srebrne impregnacije po Bielschowskom, a brojne modifikacije te metode se i danas rabe u svrhu vizualizacije navedenih promjena. Nakon što je Alzheimer u mozgu pacijenta Johanna F. koji je umro 1910. godine također, pored SP, uočio i opisao veliku brojnost NFT u moždanoj kori, Kraepelin je bio uvjeren kako se radi o posebnoj bolesti, te je u svojoj knjizi iz psihijatrije 1912. godine tu bolest nazvao Alzheimerovom bolešću (Berrios, 1990; Maurer *i sur.*, 1997).

Dva su temeljna oblika AB, sporadična i nasljedna (obiteljska) AB. Obiteljska AB (fAD, *familial AD*) čini sveukupno manje od 1% svih slučajeva AB, a od svih oboljelih je 6% s ranim početkom (EOAD, *early-onset AD*), tj. prije 65-te godine života. Obiteljska AB se definira ako je dokumentirano zahvaćanje triju generacija i ima snažnu genetičku podlogu (<http://www.alzforum.org/early-onset-familial-ad/overview/what-early-onset-familial-alzheimer-disease-efad>). Sporadična AB se još naziva i AB s kasnim početkom (LOAD, *late-onset AD*). Iako su takvi bolesnici rijetkost (u odnosu na sveukupni broj oboljelih), ponekad AB može biti obiteljska, a da ipak nema rani početak, a također može biti i sporadična, ali s ranim početkom (Brickell *i sur.*, 2006). Najvažniji rizični čimbenik za nastanak sporadične AB je dob (<https://www.nia.nih.gov/alzheimers/publication/preventing-alzheimers-disease/risk-factors-alzheimers-disease>). Ostali važni rizični čimbenici za nastanak AB su spol (žene češće obolijevaju) (Altmann *i sur.*, 2014) i genetička podloga (rizični ε4 alel gena za apolipoprotein E (ApoE) u slučaju sporadične AB te mutacije u genima za prekursori protein amiloida (APP, *amyloid precursor protein*), presenilin 1 i presenilin 2 (PSEN1 i PSEN2) u slučaju obiteljske AB) (Alzheimer's Association, 2013; Strittmatter, 2012). Dodatni rizični čimbenici su trauma glave (Jellinger, 2002) te niži stupanj obrazovanja (zbog smanjene „sinaptičke rezerve“), odnosno smanjena mentalna sposobnost u mlađoj životnoj dobi (Caamaño-Isorna *i sur.*, 2006), arterioskleroza, povišen krvni tlak, pretilost, dijabetes, hiperkolesterolemija, pušenje i prekomjerna konzumacija alkohola (Povova *i sur.*, 2012). Postoje i studije u kojima je pokazana niža prevalencija AB kod pušača (Fratiglioni i Wang, 2000), iako su rezultati meta analiza dokazali upravo suprotno, odnosno veći rizik za nastanak AB kod pušača (Anstey *i sur.*, 2007; Peters *i sur.*, 2008). Potencijalni zaštitni čimbenici koji sprječavaju nastanak AB su uzimanje nesteroidnih protuupalnih lijekova (in 't Veld *i sur.*, 2001), mediteranska dijeta, umjerena konzumacija alkohola, kofeina, kurkumina,

homocisteina, vitamina B<sub>12</sub> i nezasićenih masnih kiselina (Luchsinger i Mayeux, 2004). Epidemiološki podatci ukazuju na zaštitno djelovanje estrogena na razvoj (Nourhashemi *i sur.*, 2000; Simpkins *i sur.*, 2009).



**Slika 1.** Neuropsihološki profil oštećenja pojedinih kognitivnih domena prema stadiju Alzheimerove bolesti.

Preuzeto i prilagođeno iz: (Weintraub *i sur.*, 2012)

### 1.1.1. Klinički pokazatelji i patologija AB

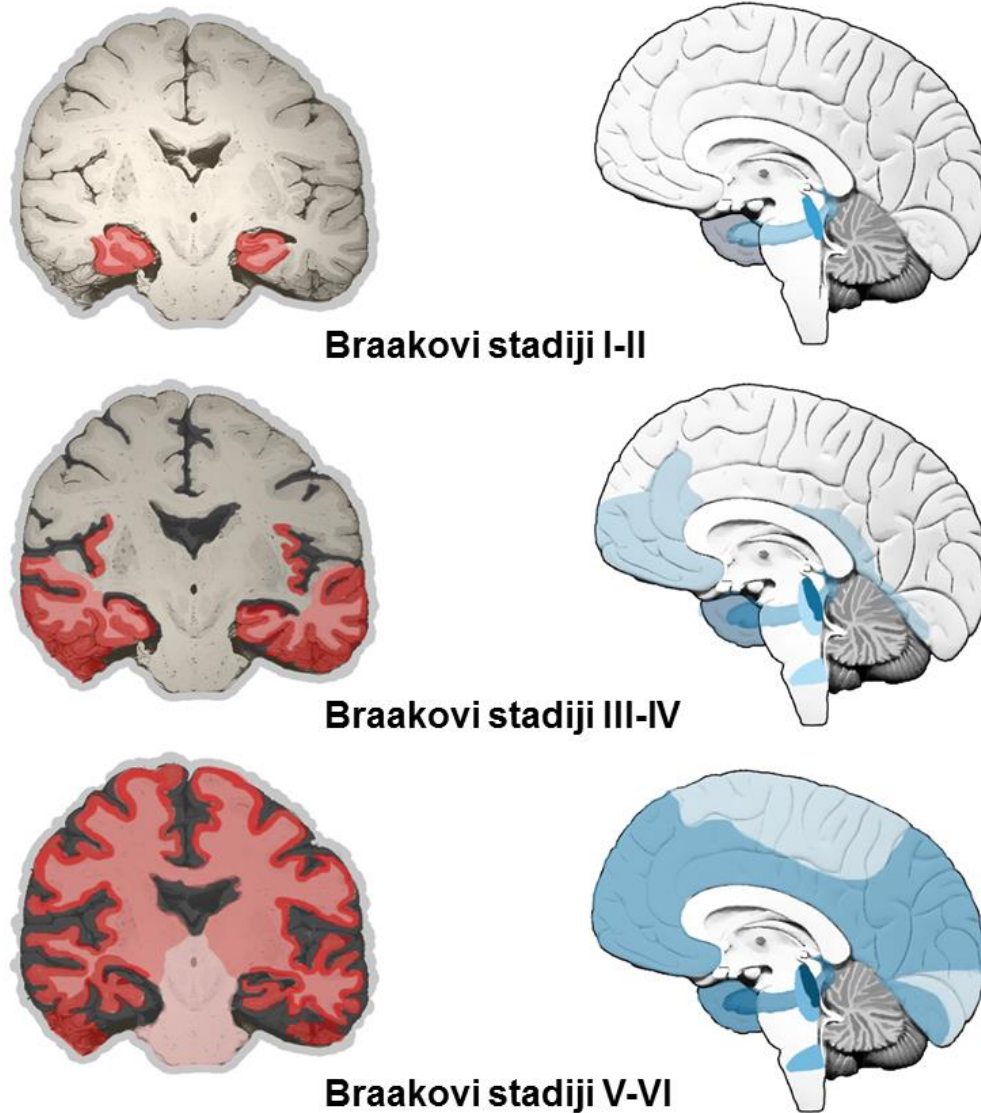
Podmukao i postepen poremećaj zapamćivanja nedavnih epizodičkih sadržaja je glavni simptom koji se povezuje s AB (amnestički poremećaj ili sindrom). Sporo, ali progresivno tijekom bolesti dolazi do oštećenja i drugih spoznajnih funkcija. Sjögren je 1950. godine prvi detaljno opisao složenu kliničku sliku AB podijelivši bolest u tri stadija (Sjögren, 1950). Prvi stadij je karakteriziran gubitkom deklarativnog (eksplicitnog) epizodičkog pamćenja (nesposobnošću pretvorbe kratkoročnog u dugoročno autobiografsko pamćenje svakodnevnih događaja jedinstvenih u životu neke osobe). Oboljeli također vrlo rano u tijeku bolesti imaju

pored kognitivnih (teškog pronalaženja prave riječi – anomičke disfazije, blaže agnozije, apraksije i drugih) i nekognitivne simptome kao što su promjene raspoloženja, smetenost u sumrak, poremećaj ciklusa budnosti i spavanja, smetnje apetita, simptomi depresivnosti, te su sve više prostorno i vremenski dezorijentirani (Šimić *i sur.*, 2009). Već u ovom stadiju bolesnik može imati problema u obavljanju svakodnevnih aktivnosti, a zabilježeno je da su ovakvi bolesnici često uzrokom prometnih nesreća (Adler *i sur.*, 1996). Kod manjeg broja oboljelih se vide i simptomi agresivnosti (verbalne, a zatim i fizičke), te psihotični simptomi kao što su paranoidne ideje i halucinacije. U drugom stadiju je demencija već uznapredovala te dolazi do značajnijeg oštećenja govora (afazije) i percepcije (agnozije). Semantičko eksplicitno pamćenje također biva sve više oštećeno, pa bolesnici imaju sve više poteškoća u prepoznavanju drugih osoba, čak i članova vlastite obitelji. U trećem stadiju je i eksplicitno pamćenje izgubljeno, a i implicitno (motoričko, proceduralno) je dramatično narušeno, tako da bolesnici u potpunosti postaju ovisni o skrbnicima. Na poslijetku postaju komatozni i najčešće uslijed nepokretnosti i poremećaja hranjenja umiru od posljedica pothranjenosti i bronhopulmonalnih infekcija (Sjögren, 1950).

Kod oboljelih od AB je uočeno drastično smanjenje volumena mozga te proširenje lateralnih moždanih komora i brazda (atrofija mozga). Mali mozak, moždano deblo i bazalni gangliji su uvijek očuvani. Neuropatološke promjene u AB se mogu opisati pomoću tri tzv. „ABC“ parametra. Parametar A se odnosi na patološke promjene amiloida  $\beta$  ( $A\beta$ ) koje su opisali Thal i suradnici (2002) (Thal *i sur.*, 2002). Parametar B se odnosi na neurofibrilarne promjene koje su opisali Braak i Braak (1991) (Braak i Braak, 1991). Parametar C se odnosi na broj i rasprostranjenost neuritičkih plakova (NP), patoloških nakupina čiji se središnji dio sastoji od  $A\beta$ , a vanjski od degeneriranih nastavaka živčanih stanica, pretežno distrofičnih dendrita. Ti su dendriti distrofični/atrofični/degenerirani jer se u njima nakupljaju fosforilirani/hiperfosforilirani tau proteini. U prvom stadiju nakupljanja SP u mozgu, zahvaćena su samo neokortikalna područja (čeonni, sljepoočni, tjemeni i zatiljni režanj). U drugom stadiju dolazi do nakupljanja SP i u alokortikalnim područjima (entorinalni korteks, hipokampus, cingularna vijuga, inzula i presubikul). U trećem stadiju su zahvaćene jezgre međumozga, strijatum i kolinergičke jezgre mediobazalnog telencefalona. U četvrtom stadiju se SP šire na moždano deblo, a na poslijetku u petom stadiju i na mali mozak (Thal *i sur.*, 2002). U prvom stadiju neurofibrilarne degeneracije dolazi do nakupljanja neurofibrilarnih promjena (NFT, NP i NT, neuropilnih niti, *neuropil threads*), u transentorinalnoj i entorinalnoj moždanoj kori te se u drugom stadiju neurodegeneracija širi na hipokampalnu

formaciju. Sljepoočni, čeon i tjemeni korteks budu zahvaćeni navedenim promjenama u trećem i četvrtom stadiju. Primarna osjetna i motorička moždana kora bude zahvaćena tek u petom i šestom stadiju, odnosno terminalnoj fazi bolesti (**Slika 2**) (Braak i Braak, 1991).

## Širenje neurofibrilarne degeneracije



**Slika 2.** Širenje neurofibrilarne degeneracije prema (Braak i Braak, 1991).  
Preuzeto i prilagođeno iz: (Šimić *i sur.*, 2017)

### 1.1.2. Pretpostavke o nastanku Alzheimerove bolesti

Dvije glavne pretpostavke o nastanku AB (amiloidna i tau hipoteza) respektivno objašnjavaju nakupljanje SP i NFT u mozgu oboljelih (Grundke-Iqbal *i sur.*, 1986; Hardy i Selkoe, 2002). Još uvijek nije razjašnjeno što povezuje navedene patološke nakupine u mozgu oboljelih od AB. Neki od uzročno-posljedičnih mehanizama kojima se to nastoji objasniti su toksičnost depozita A $\beta$  i mehaničko oštećenje aksona čime se kompromitira aksoplazmatski transport. Odgovor neurona na takvo djelovanje je izrastanje novih aksonskih mladica kako bi se premostio oštećeni dio aksona (*sprouting*). Da bi se lakše pomicali i tvorili sinapse, aksonske mladice i njihovi mikrotubuli trebaju biti manje stabilni nego što je to slučaj u potpuno diferenciranim neuronima. To je moguće nakon što se od mikrotubula odvoje tau proteini. Pojačana fosforilacija tau proteina dovodi do promjene njegove konformacije i odvajanja od mikrotubula (Teter i Ashford, 2002). Također se misli kako nakupljanje amiloida uzrokuje aktivaciju mikroglije i upalni odgovor (Cai *i sur.*, 2014). Aktivirane mikroglija stanice u moždanom tkivu mogu poprimiti dva različita fenotipa: M1 i M2 (Tang i Le, 2016). Ova je klasifikacija inicijalno preuzeta prema fenotipovima perifernih makrofaga (Kettenmann *i sur.*, 2011; Mills, 2012; Ransohoff i Perry, 2009). Iako se zbog toga prije mislilo kako je M1 fenotip isključivo proupalni i citotoksičan, a M2 protuupalni i neuroprotektivan (Xue *i sur.*, 2014), taj je pogled u središnjem živčanom sustavu vjerojatno puno složeniji i dinamičniji, te se danas smatra kako ista mikroglija stanica ima cijeli niz prijelaza u kontinuumu između M1 i M2 stanja. Općenito se ipak može reći da najprije A $\beta$ , a kasnije i tau proteini, aktiviraju M1 fenotip mikroglije koja aktivira upalni odgovor u okolini depozita amiloida (Itagaki *i sur.*, 1989) lučeći proupalne citokine, te prevladava na mjestu gdje se odvijaju aktivni patološki procesi i neurodegeneracija (Tang i Le, 2016). Aktivirane mikroglija stanice M1 fenotipa također putem lučenja citokina IL-1 $\alpha$  i TNF (čimbenika nekroze tumora, *tumor necrosis factor*) te C1q komponente sustava komplementa aktiviraju podvrstu reaktivnih astrocita pretvarajući ih u A1 fenotip (Liddelow *i sur.*, 2017). Promjenom normalnog fenotipa astrocita u A1 oni gube sposobnost poticanja preživljavanja neurona, izrastanja aksona, sinaptogeneze i fagocitoze, te izazivaju smrt neurona i oligodendrocita (već je od prije bilo poznato kako sprečavanje nastanka A1 fenotipa astrocita sprječava smrt aksotomiranih neurona središnjeg živčanog sustava). Pored navedenog, astrociti čine ključni dio krvno-moždane barijere (KMB, *blood-brain barrier*) uzduž perivaskularnih prostora (ispod endotelne stanice i bazalne membrane) (Sofroniew, 2015). Na taj način KMB postaje

propusnija, što uzrokuje cijeli niz promjena koje mogu pogoršati započete patološke procese u moždanom tkivu (ovdje izdvajamo i naglašavamo da se zbog otvaranja KMB vjerojatno pogoršava „curenje“ dvovalentnih iona željeza, bakra, cinka, aluminijskih i drugih, a koji pospješuju fibrilizaciju i agregaciju A $\beta$ ; budući da KMB sa starenjem postaje sve propusnija, možda je to jedan od razloga zašto je dob najvažniji rizični činitelj za nastanak AB) (Montagne *i sur.*, 2015).

Osamdesetih godina prošlog stoljeća je otkriveno da su SP sačinjeni uglavnom od A $\beta$  (Glenner i Wong, 1984; Masters *i sur.*, 1985) (**Slika 3**). Od tada pa sve do današnjih dana tzv. „amiloidna hipoteza“ dominira shvaćanjem o nastanku AB (Hardy i Allsop, 1991; Hardy i Higgins, 1992). Pored brojnih drugih, neke manje zastupljene pretpostavke kojima se nastoji objasniti i povezati svi simptomi i znakovi s laboratorijskim nalazima i nalazima dobivenim slikovnim prikazom strukture i aktivnosti mozga u AB su hipoteze oksidativnog stresa, upale, poremećaja funkcije mitohondrija i lizosoma, neurovaskularne disfunkcije i poremećaja staničnog ciklusa u AB (Aisen, 2002; Gibson i Huang, 2005; Reddy i Beal, 2005).

#### **1.1.2.1. Amiloidna hipoteza**

Prema amiloidnoj hipotezi, SP nastaju zbog pretjeranog stvaranja, nakupljanja (agregacije) i odlaganja A $\beta$  u mozgu (Masters *i sur.*, 1985). Uzrok tim patološkim promjenama u obiteljskom obliku AB s ranim početkom su mutacije u genima za proteine uključene u stvaranje A $\beta$ , dok je u sporadičnoj AB opažena neravnoteža u stvaranju i odstranjivanju A $\beta$  (Mawuenyega *i sur.*, 2010). Iako su inicijalna otkrića mutacija *APP* gena (Van Broeckhoven *i sur.*, 1990) podupirala pretpostavku kako A $\beta$  u mozak dolazi hematogeno, gotovo sva istraživanja koja su provedena nakon toga potvrdila su da A $\beta$  zapravo ne dolazi u mozak ni krvno-žilnim sustavom, ni iz ependima, niti iz koroidnog pleksusa, a također ga ne proizvode niti astrociti, oligodendrociti ili mikroglia stanice (Masters i Beyreuther, 2006). Ipak, u najnovije vrijeme se pretpostavlja kako, osim nastajanja A $\beta$  u neuronima moždane kore (i njegovog nakupljanja u manjoj mjeri u neuronima i većoj mjeri u neuropilu), A $\beta$  može i „curiti“ iz aferentnih vlakana moždane kore koja ne tvore sinapse (*non-junctional varicosities*), a dolaze iz velikih projekcijskih neurona jezgara moždanog debla (dorzalna raphe jezgra, locus coeruleus i druge) (Braak i Del Tredici, 2013;

Šimić *i sur.*, 2017). Time bi se bolje mogla objasniti različitost u veličini i raspodjeli nakupljenog amiloida u obliku SP u moždanoj kori (što je ilustrirano na **slici 3**).

A $\beta$  je peptid molekularne mase 4.2 kDa, a sastoji se od 39-43 aminokiseline. Nastaje cijepanjem velikog transmembranskog glikoproteina neurona (110-135 kDa), APP-a (Haass *i sur.*, 2012). APP protein je sastavljen od malog citoplazmatskog dijela te velike izvanstanične domene. A $\beta_{1-42}$  se stvara cijepanjem APP-a amiloidogenim putem (put  $\beta$ -sekretaze). Taj put cijepanja APP-a prevladava u AB. Kod zdravih osoba prevladava ne-amiloidogeni put (put  $\alpha$ -sekretaze) u kojem se ne stvara A $\beta_{1-42}$  (Hardy i Selkoe, 2002). Kada u amiloidogenom putu APP biva pocijepan  $\beta$ -sekretazom (BACE, *beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme*), nastaje  $\beta$ -topljivi APP kojega cijepa  $\gamma$ -sekretaza. Ovisno o položaju cijepanja  $\gamma$ -sekretaze, može nastati A $\beta$  od 40 ili 42 aminokiseline (A $\beta_{1-40}$  i A $\beta_{1-42}$ ) (**Slika 4**) (Hardy i Selkoe, 2002).

A $\beta$  agregira te stvara netopljive oligomere i još veća netopljiva vlakna. Dulji oblik peptida (A $\beta_{1-42}$ ) potiče abnormalnu agregaciju peptida A $\beta$  jače nego kraći A $\beta_{1-40}$  (Jarrett *i sur.*, 1993). A $\beta$  se također nakuplja u stijenkama meningealnih i moždanih arterija, arteriola, kapilara i vena, a to stanje se naziva cerebralnom amiloidnom angiopatijom (CAA, *cerebral amyloid angiopathy*) (Attems *i sur.*, 2004; Jellinger, 2002; Preston *i sur.*, 2003; Zekry *i sur.*, 2003). Amiloid se u stijenkama krvnih žila najbolje i najlakše vizualizira Kongo crvenilom. Učestalost i stupanj CAA raste s dobi i u nedementnih i u osoba s AB, a povezana je s moždanim udarom i oštećenjima bijele tvari (Ellis *i sur.*, 1996; Jellinger, 2002; Tian *i sur.*, 2003, 2004; Vonsattel *i sur.*, 1991). Prevalencija CAA u bolesnika s AB varira od 70-100% (Ellis *i sur.*, 1996; Jellinger, 2002; Tian *i sur.*, 2003, 2004; Vonsattel *i sur.*, 1991), ali je možda i važnije od toga reći kako je CAA u velikim krvnim žilama karakterizirana odlaganjem pretežno A $\beta_{1-40}$  i uobičajeno nije povezana s nastankom AB (već VaD), dok je odlaganje A $\beta_{1-42}$  perikapilarno (CapCAA, *capillary CAA*) u visokoj povezanosti s nastankom AB (Attems *i sur.*, 2004). Navedene činjenice također potvrđuju kako su neuroni glavni izvor u kojemu nastaje A $\beta$ , koji se dalje intersticijskom tekućinom drenira i deponira uzduž bazalne membrane moždanih žila i kapilara.

Glavni dokaz kojim se amiloidna hipoteza navodi kao uzrok AB je da do nasljednog oblika AB dolazi zbog mutacija gena za proteine APP, PSEN1 i PSEN2 (Alzheimer's Association, 2013). Navedeno dodatno potvrđuje nedavno otkrivena i tzv. zaštitna mutacija (Jonsson *i sur.*, 2012) u blizini mjesta cijepanja APP  $\beta$ -sekretazom, koja APP čini slabijim

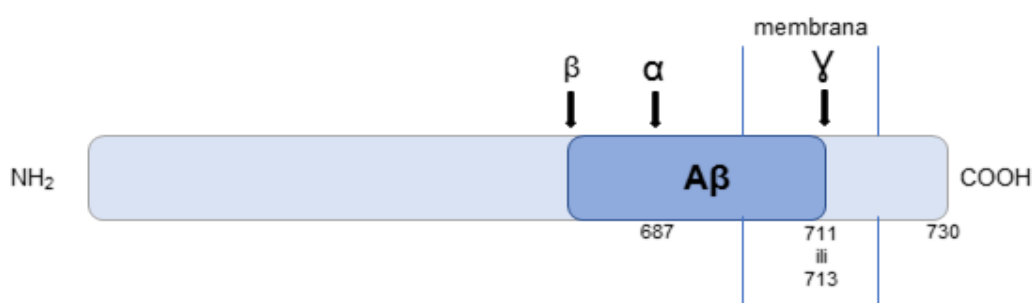
supstratom za cijepanje  $\beta$ -sekretazom, zbog čega te osobe imaju manju vjerojatnost obolijevanja od AB. Rezultati navedenog istraživanja su potvrđeni i od druge, neovisne istraživačke skupine (Kero *i sur.*, 2013). Presenilini su bitne komponente multiproteinskog kompleksa  $\gamma$ -sekretaze (De Strooper *i sur.*, 2012), koji se sastoji od četiri proteina – presenilina, nikastrina, APH-1 (*anterior pharynx defective-1*), te PEN-2 (*presenilin enhancer-2*) proteina (De Strooper *i sur.*, 2012). Dodatno je uočeno da kod osoba s Downovim sindromom (DS) (trisomija 21. kromosoma) dolazi do nakupljanja SP u mozgu već nakon sedme godine života (Rumble *i sur.*, 1989). Najvjerojatniji razlog tome je što se *APP* gen nalazi na 21. kromosomu, pa osobe s DS imaju tri *APP* gena (umjesto uobičajena dva), zbog čega ranije tijekom života stvaraju više amiloida.

Iako nisu poznati mehanizmi koji reguliraju količinu proizvodnje amiloida, i u obiteljima kod kojih je nađena duplikacija *APP* gena je uočeno rano nakupljanje SP, upravo kao i kod osoba s DS (Rovelet-Lecrux *i sur.*, 2006).





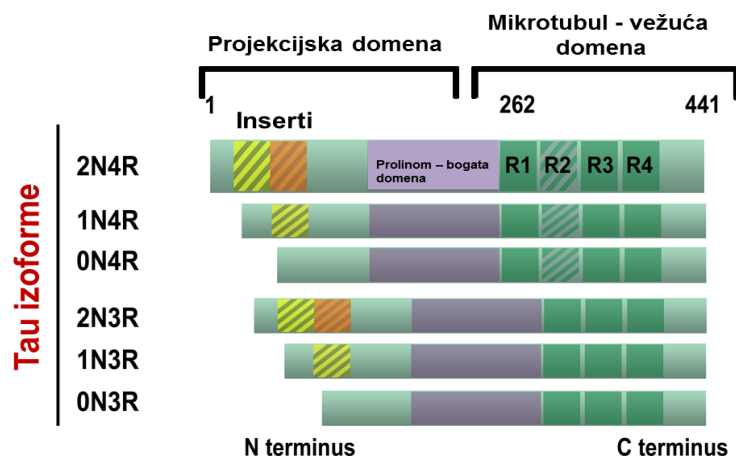
**Slika 3.** Senilni plakovi u hipokampusu pacijenta s AB. Campbell-Switzer-Martinova metoda.  
Mjerilo = 1 mm.  
Preuzeto iz: (Šimić *i sur.*, 2017)



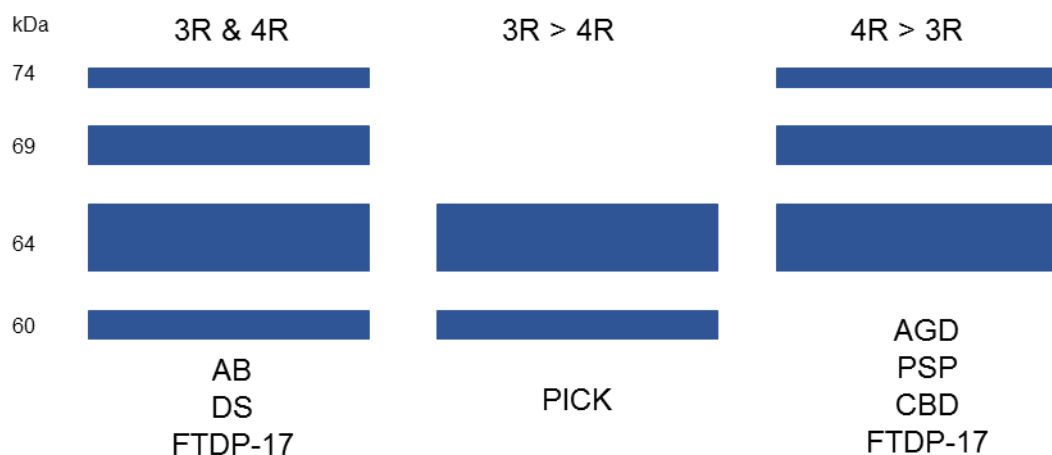
**Slika 4.** Nastanak  $A\beta$  cijepanjem APP-a.

### 1.1.2.2. Uloga tau proteina u nastanku AB

Tau protein je glavni sastojak NFT (Bierer *i sur.*, 1995). U zdravim neuronima se tau protein prvenstveno nalazi u aksonima gdje unakrsno povezujući monomere  $\alpha$  i  $\beta$  tubulina regulira duljinu, stabilnost i čvrstoću mikrotubula u aksonima (Johnson i Jenkins, 1999). Tau protein spada u obitelj s mikrotubulima povezanih proteina (MAP, *microtubule-associated protein*), a u čovjeka se izražava 6 izooblika, koji se sastoje od 352-441 aminokiseline (ak). Molekulska masa im varira od 45-65 kDa. Varijante tau proteina se međusobno razlikuju po prisutnosti 3 ili 4 ponavljajuće regije na karboksi-terminalnom kraju (3R i 4R), odnosno jednog umetnutog dijela (veličine 29 ak, 1N), dva umetnuta dijela (veličine 58 ak, 2N) ili bez umetaka na amino-terminalnom kraju (0N) (**Slika 5**). Svaki izooblik tau proteina ima određenu fiziološku ulogu te drugačiji obrazac izražaja tijekom razvitka. Tako se npr. u tijeku embrionalnog i fetalnog razdoblja izražava jedino 0N3R (fetalni) tau izooblik, a ostali se izooblici počinju izražavati tek postnatalno (Šimić *i sur.*, 2003). Zbog potrebe za visokom plastičnošću aksona u tijeku elongacije, fetalni je tau protein izrazito fosforiliran, a taj obrazac fosforilacije nalikuje onome u AB (Jovanov-Milošević *i sur.*, 2012). U pojedinim neurodegenerativnim bolestima je različito poremećen omjer izražaja 3R i 4R tau proteina (**Slika 6**). U AB se u neuronima, glija stanicama i cerebrospinalnoj tekućini nalazi podjednak udio 3R i 4R izooblika tau proteina (Buée *i sur.*, 2000).



**Slika 5.** Izooblici tau proteina.



**Slika 6.** Promijenjeni omjer izražaja 3R i 4R izooblika tau proteina u različitim neurodegenerativnim bolestima.

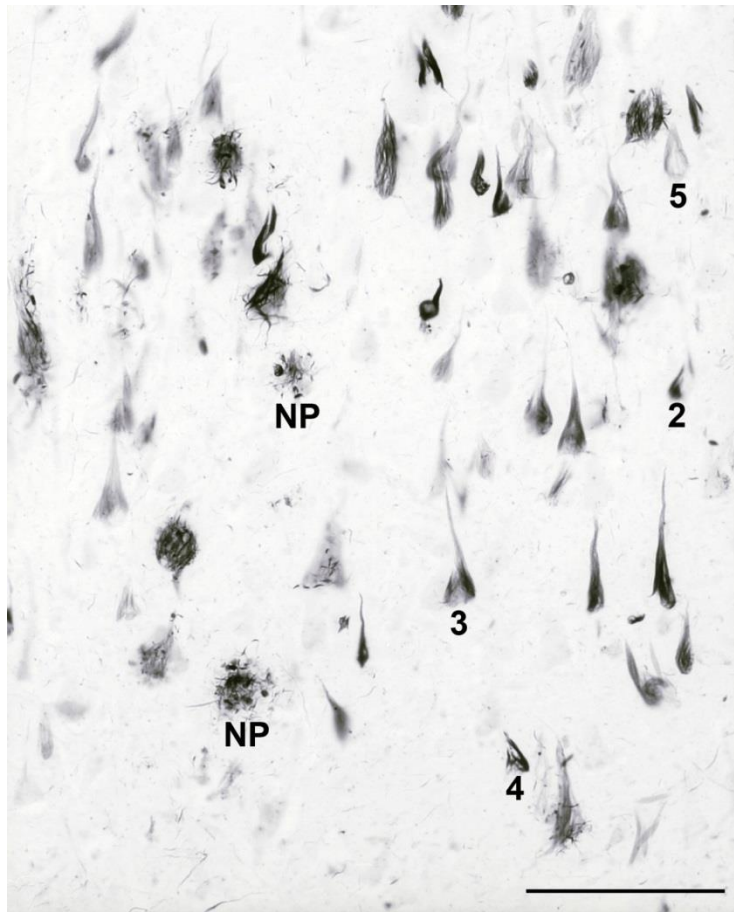
AB, Alzheimerova bolest; AGD, bolest argirofilnih tjelešaca (*argyrophilic grain disease*); CBD, kortikobazalna degeneracija (*corticobasal degeneration*); DS, Downov sindrom; FTDP-17, frontotemporalna demencija s parkinsonizmom zbog mutacije *MAPT* gena na kromosomu 17; PICK, Pickova bolest; PSP, progresivna supranuklearna paraliza (*progressive supranuclear palsy*).

Preuzeto i prilagođeno iz: (Spillantini i Goedert, 1998)

Tau protein podliježe brojnim posttranslacijskim modifikacijama kojima se mijenjaju njegova biološka svojstva (najčešće takve promjene su fosforilacija, acetilacija i O-glikozilacija) (Šimić *i sur.*, 2016, 2017). Fosforilacija tau proteina je najviše istraživana posttranslacijska promjena tau proteina u AB, iako se u novije vrijeme sve više analizira i acetilacija, naročito zbog uočenog mogućeg zaštitnog učinka acetilacije tau proteina na razvitak patoloških promjena karakterističnih za AB (Cook *i sur.*, 2014). Većina istraživača smatra kako hiperfosforilacija tau proteina dovodi do njegovog odvajanja od mikrotubula i raspada mikrotubula, a posljedično i aksona, što rezultira smrću neurona (Mandelkow i Mandelkow, 1998). Manji broj ih misli kako najprije nastupa cijepanje odnosno presavijanje tau proteina, a tek potom fosforilacija i odvajanje od mikrotubula (Skrabana *i sur.*, 2004). Abnormalno fosforilirani tau protein se u različitim neurodegenerativnim bolestima agregira u obliku NFT (**Slika 7**) (Grundke-Iqbal *i sur.*, 1986; Johnson i Stoothoff, 2004; Šimić *i sur.*, 1998), a najčešće i najviše se to događa u AB. Od 85 mogućih mjesta fosforilacije, uglavnom na serinima i treoninima, tau protein je u AB uobičajeno fosforiliran na više od 30 mjesta (Iqbal *i sur.*, 2010). Fosforilacija je regulirana brojnim kinazama (GSK-3 $\beta$ , CDK 5, CDC2, CaMPK II, PKA i brojnim drugima; u ljudskom genomu ima sveukupno 518 gena za protein kinaze – 478 tipičnih, 40 atipičnih, te još 106 njihovih pseudogena (Manning *i sur.*, 2002;

Milanesi *i sur.*, 2005)) što rezultira različitim obrascima fosforilacije tau proteina u različitim fazama bolesti (Iqbal *i sur.*, 2005). U ranoj fazi AB je tau protein fosforilirana na epitopima treoninu 153, serinu 262 i treoninu 231 (Augustinack *i sur.*, 2002). Zatim slijedi fosforilacija na treoninu 175/181, serinu 262/356, serinu 422, serinu 46, serinu 214 i treoninu 212 (Augustinack *i sur.*, 2002). Kasni uzorak fosforilacije tau proteina prema Augustinack i suradnicima je fosforilacija na epitopima serinu 199/202/treoninu 205 (te tri aminokiseline gotovo uvijek budu fosforilirane odjednom) te fosforilacija na epitopima serinu 396/404 (Augustinack *i sur.*, 2002), iako ima i dijametralno suprotnih mišljenja. Tako je, prema Mondragón-Rodríguez i suradnicima fosforilacija na epitopima serinu 396/404 (Mondragón-Rodríguez *i sur.*, 2014), a prema Braaku i suradnicima fosforilacija na epitopima serinu 199/202/treoninu 205 (Braak *i sur.*, 2006), jedan od najranijih događaja u AB.

Iako točan slijed predmnijevanih promjena još uvijek nije poznat, sve je više dokaza koji idu u prilog važnosti patoloških promjena tau proteina za nastanak AB. Naime, poznato je kako i neurološki i kognitivno zdrave osobe imaju puno depozita A $\beta$ , a nisu dementne, što je potvrđeno i njegovom vizualizacijom *in vivo* (Klunk, 2011). Najsnažniji dokaz koji ide u prilog važnosti tau proteina za patogenezu i kliničku sliku AB je pozitivna korelacija broja NFT u mozgu oboljelih i stupnja demencije, dok ni broj niti volumen SP u mozgu oboljelih od AB nije u korelaciji sa stupnjem demencije (Bierer *i sur.*, 1995). Budući da je ovaj nalaz višestruko potvrđen i brojnim kasnijim istraživanjima (Koepsell *i sur.*, 2008; Markesbery *i sur.*, 2006; Nelson *i sur.*, 2007; Sonnen *i sur.*, 2007), smatra se da je AB najčešća i najvažnija sekundarna tauopatija (primarne su tzv. obiteljske tauopatije koje nastaju zbog mutacija *MAPT* gena, a tih mutacija u AB nema). Samo neka od ključnih, a još uvijek nerazjašnjenih pitanja su sljedeća: 1. Postoji li, i koja je uzročno-posljedična povezanost A $\beta$  i nastanka neurofibrilarnih promjena, bilo direktna ili indirektna (npr. preko aktivacije upalnih i imunoloških mehanizama), 2. Koji čimbenici (npr. povećana prisutnost divovalentnih iona Zn, Cu, Fe, Al zbog popuštanja krvno-moždane barijere ili povećana prisutnost Fe uslijed raspada mijelina (Bartzokis *i sur.*, 2007)) dovode do pretvaranja topljivog (neštetnog?) A $\beta$  u čvrste fibrile tj. SP?, 3. Zašto se ovaj proces u istoj mjeri i jednakom brzinom ne odvija i u npr. presubikulu, bazalnim ganglijima, talamusu i malom mozgu, već pretežno u moždanoj kori i moždanom deblu?, te 4. Na koji način se neurofibrilarne promjene u tijeku AB uvijek šire u preciznom slijedu od početnih mjesta na kojima nastaju (*locus coeruleus* i *nucleus raphe dorsalis* u moždanom deblu, te transentorinalno i entorinalno područje sljepoočne moždane kore) prema asocijativnim izokortikalnim područjima i događa li se to zbog transsinaptičkog prijenosa, ekto/egzosomima ili putem mikroglia stanica?

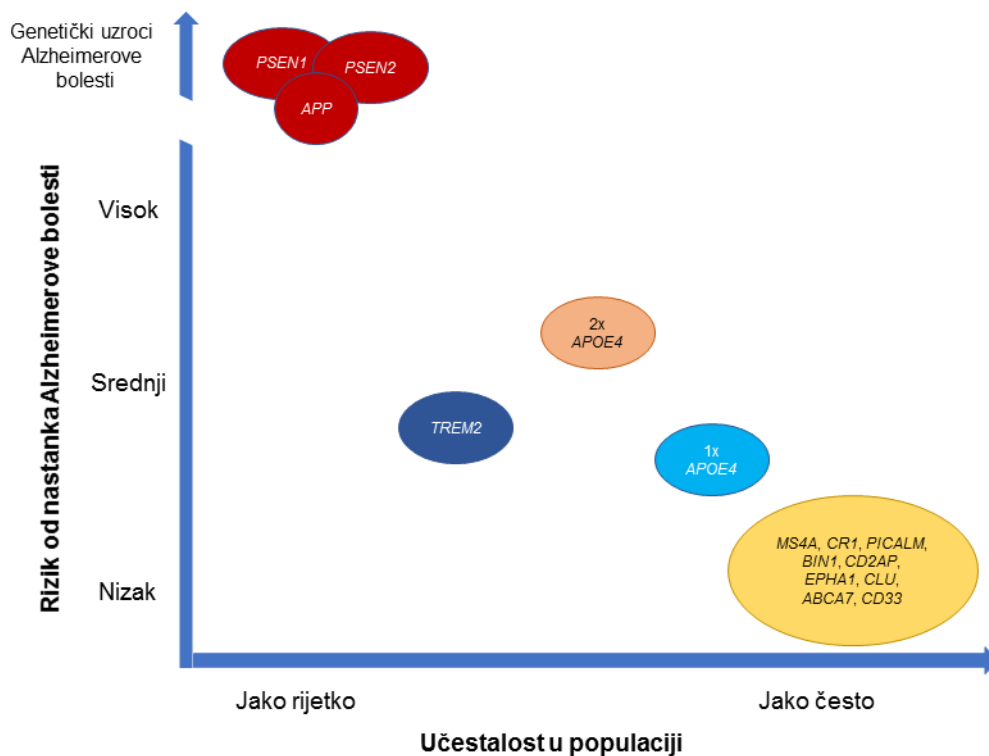


**Slika 7.** Neurofibrilarne promjene u hipokampusu osobe oboljele od AB. NP = neuritički plakovi, 2-5 = stadiji nastanka NFT. Metoda srebrnog bojanja prema (Yamamoto i Hirano, 1985). Mjerilo = 100  $\mu$ m.

Preuzeto iz: (Šimić *i sur.*, 2017)

### 1.1.3. Genetička podloga Alzheimerove bolesti

Genetička podloga obiteljskog oblika AB koji čini manje od 1% slučajeva AB je relativno dobro razjašnjena. Do danas je otkriveno preko 200 patoloških mutacija u *APP*, *PSEN1* i *PSEN2* genima (<http://www.molgen.ua.ac.be/ADmutations/> i <http://www.alzgene.org/>). U sporadičnom obliku AB koji čini 99% slučajeva bolesti, jedini definitivno potvrđeni genetički čimbenik koji povećava relativni rizik za nastanak AB je  $\epsilon 4$  varijanta gena za ApoE. Jedan rizični  $\epsilon 4$  alel povećava rizik obolijevanja od AB za oko 5 puta, dok oba  $\epsilon 4$  alela povećavaju relativni rizik za čak oko 20 puta (Strittmatter, 2012). U novije vrijeme su otkriveni i brojni drugi geni povezani s nastankom sporadične AB, ali je njihov utjecaj na povećanje rizika od obolijevanja više od 30 puta manji od *APOE* gena. To su *BIN1*, *CLU*, *ABCA7*, *CR1*, *PICALM*, *MS4A6A*, *CD33*, *MS4A4E*, *CD2AP* ([www.alzgene.org](http://www.alzgene.org/)), *TREM2* (Jonsson *i sur.*, 2013), *PLD3* (Cruchaga *i sur.*, 2014) i drugi (**Slika 8**).



**Slika 8.** Genetička podloga Alzheimerove bolesti.  
Preuzeto i prilagođeno iz: (Hardy *i sur.*, 2014)

### **1.1.3.1. Utjecaj epigenetičkih promjena na nastanak AB**

Od brojnih epigenetičkih promjena - metilacije DNA, modifikacije histona, nekodirajućih dugih RNA (dulje od 200 nukleotida), nekodirajućih kratkih RNA (npr. mikroRNA, 18-28 nukleotida), u AB je do sada najbolje proučena metilacija DNA. U starenju se sveukupna metilacija DNA općenito smanjuje, pa se stupanj metiliranosti DNA može koristiti za određivanje starosti (Horvath, 2013). Ipak, neki su geni tijekom starenja hipermetilirani (npr. promotori *CREB* i *BDNF* gena). I u AB je uočena smanjena metilacija DNA (Chouliaras *i sur.*, 2013; Mastroeni *i sur.*, 2010) i smanjena aktivnost enzima DNMT1 (DNA metil-transferaze 1) (Mastroeni *i sur.*, 2010). Smanjena je i metilacija promotora *APP* gena što neki autori smatraju uzrokom veće proizvodnje A $\beta$  u AB (West *i sur.*, 1995). Jiang i suradnici su sveukupno manju metiliranost DNA u AB objasnili na način da manjak folata/B<sub>12</sub> u prehrani (tipičan kod starijih osoba, a posebice oboljelih od AB) dovodi do nakupljanja homocisteina, što vodi k povećanju unutarstanične razine S-adenozilhomocisteina i hipometilacije DNA (Jiang *i sur.*, 2012). Nađena je i povezanosti *DNMT3B* TGG haplotipa s povećanim rizikom za razvoj AB (Pezzi *i sur.*, 2014). Dodatni geni čija je promijenjena metiliranost nađena u AB su *ANK1*, *RHBDF2*, *CDH23*, *RPL13* (De Jager *i sur.*, 2014; Lunnon *i sur.*, 2014), *BINI*, *ABCA7* (De Jager *i sur.*, 2014; Yu *i sur.*, 2015), *SORL1* (Furuya *i sur.*, 2012; Yu *i sur.*, 2015), *SERPINF1*, *SERPINF2*, *DIP2A* (De Jager *i sur.*, 2014), *ELOVL1*, *VAX2*, *TNXB*, *ZNF177*, *ZNF559* (Watson *i sur.*, 2016), *HLA-DRB5* i *SLC24A4* (Yu *i sur.*, 2015).

### **1.1.4. Liječenje Alzheimerove bolesti**

Današnje liječenje AB nije uzročno, već se temelji samo na ublažavanju simptoma bolesti. Postojeću terapiju za AB čine četiri kolinomimetika: takrin, rivastigmin, donepezil, galantamin, te jedan nekompetitivni antagonist *N*-metil-D-aspartatnih (NMDA) receptora za glutamat - memantin. Iako ne mogu spriječiti napredovanje bolesti, navedeni lijekovi u manjeg broja bolesnika donekle ublažavaju simptome bolesti (kolinomimetici pospješuju kolinergičku neurotransmisiju, dok je memantin univerzalni neuroprotektiv koji sprječava ekscitotoksičnu smrt živčanih stanica) (Wilcock, 2003). Još je od ranih 1980-tih godina poznato kako acetilkolinški neuroni bazalne Meynertove jezgre u mediobazalnom

telencefalonu odumiru u tijeku AB (Whitehouse *i sur.*, 1981). Acetilkolin ima bitnu ulogu u moduliranju aktivnosti moždane kore te nedostatak acetilkolina uzrokuje smetnje u pamćenju, prostornoj i vremenskoj orijentaciji i drugim kognitivnim domenama (Hasselmo, 2006; Mufson *i sur.*, 2008). U AB dolazi i do prekomjerne aktivnosti glutamatergičkih neurona (Areosa *i sur.*, 2005). Pored navedenih lijekova nastoji se dodatno kombinacijom antipsihotika, antidepresiva, i anksiolitika ublažiti tzv. psihijatrijske simptome bolesti. Tu treba biti vrlo oprezan, naročito u svezi uporabe antipsihotika (neuroleptika) kod dementnih bolesnika, te slijediti preporuke iz 2008. godine navedene na mrežnoj stranici središnje ustanove za registraciju lijekova S.A.D. (<http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm124830.htm>).

Glavne mete potencijalnih novih terapeutika koji bi trebali mijenjati tijek bolesti su A $\beta$  i tau protein (**Tablica 1**) (Waite, 2015; Yiannopoulou i Papageorgiou, 2013). Prema Mangialasche i suradnicima je do 2010. godine više od 400 lijekova za AB testirano u 858 kliničkih studija, od čega je tek četvrtina spojeva došla u fazu III kliničkih istraživanja (Mangialasche *i sur.*, 2010). Ni do današnjih dana se stanje nije značajno promijenilo. Naime, još uvijek nije registriran niti jedan lijek koji bi imao učinkovit modificirajući učinak na tijek bolesti.

**Tablica 1.** Potencijalni terapeutici za liječenje AB.

Meta potencijalnog terapeutika	Mehanizam djelovanja potencijalnog terapeutika
<b>Amiloid <math>\beta</math></b>	Sprječavanje nakupljanja A $\beta$ Smanjenje stvaranja A $\beta$ (aktivatori $\alpha$ -sekretaze, inhibitori $\beta$ -sekretaze, modulatori i inhibitori $\gamma$ -sekretaze)
	Uklanjanje A $\beta$ (aktivna i pasivna imunizacija)
<b>Tau protein</b>	Inhibicija fosforilacije tau proteina Sprječavanje nakupljanja tau proteina
<b>Ostalo</b>	Smanjenje disfunkcije mitohondrija
	Neurotropini
	Protuupalno djelovanje Smanjenje oksidativnog oštećenja
	Moduliranje metabolizma kolesterola i čimbenika koji dovode do vaskularnih bolesti Keliranje iona metala



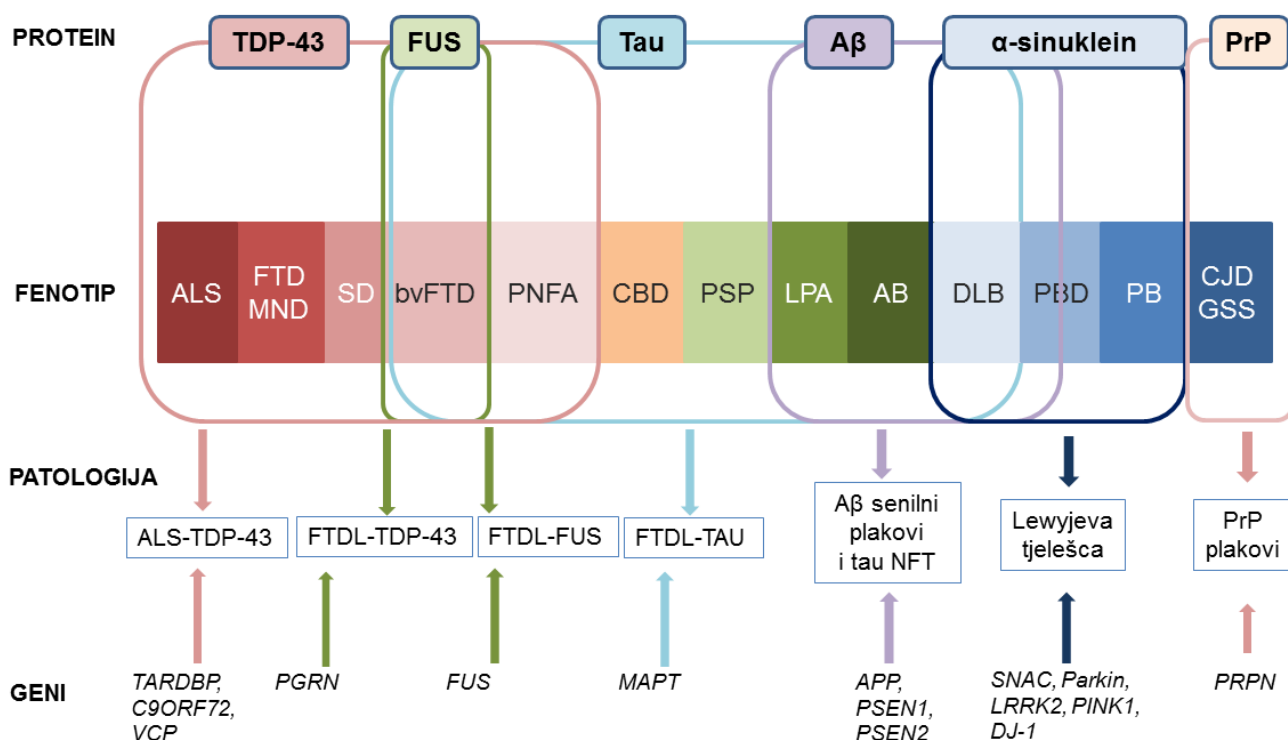
## 1.2. Ostali tipovi demencije

Demencije možemo klasificirati na više načina. Neke od najvažnijih podjela su one npr. na:

- Progresivne, sporo progresivne i neprogresivne (prema vremenskom tijeku)
- Primarne i sekundarne (prema uzroku)
- Kortikalne, kortikalno-subkortikalne, subkortikalne, te multifokalne (prema lokalizaciji patoloških promjena)

Etiologija primarnih demencija još uvijek nije poznata, dok sekundarne demencije mogu biti posljedica brojnih bolesti i stanja. Uzroci sekundarnih demencija su jako heterogeni, pa tako sekundarne demencije mogu biti posljedica: traume glave, tumora mozga, infektivnih bolesti (stečeni sindrom imunodeficijencije, *acquired immunodeficiency syndrome* - *AIDS*, sifilis, meningitis, encefalitis), okolišnih čimbenika (anoksija, trovanje teškim metalima, konzumacija alkohola i droga), nedostatka vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>, endokrinih (bolesti štitnjače – najčešće hipotireoza, ali također i hipertireoza) i metaboličkih poremećaja (najčešće dijabetes), nuspojava lijekova i brojnih drugih uzroka.

Najčešći uzroci primarnih demencija su AB, VaD i demencija s Lewyjevim tjelešcima (DLB, *dementia with Lewy bodies*). **Slika 9** ilustrira heterogenost neurodegenerativnih bolesti prema promijenjenim proteinima koji se nakupljaju u patološke nakupine te genima čije su promjene implicirane u njihovom nastanku.



**Slika 9.** Shematski prikaz glavnih patoloških nakupina, promijenjenih proteina i geni u različitim neurodegenerativnim bolestima. Sve navedene promjene mogu se javiti zasebno ili u međusobnim kombinacijama (komorbiditet).

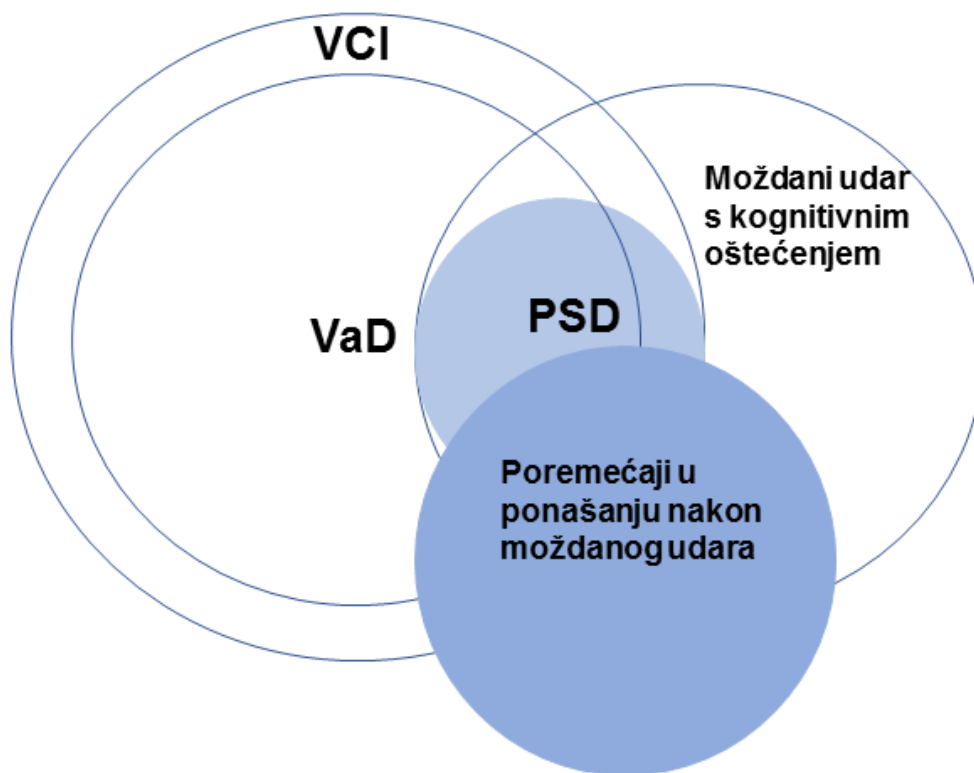
AB, Alzheimerova bolest; ALS, amiotrofična lateralna skleroza; bvFTD, (frontalna) varijanta frontotemporalne demencije s poremećenim ponašanjem (*behavioral variant FTD*); CBD, kortikobazalna degeneracija (*corticobasal degeneration*); CJD, Creutzfeldt-Jakobova bolest (*Creutzfeldt-Jakob disease*); DLB, demencija s Lewyjevim tjelešcima (*dementia with Lewy bodies*); DS, Downov sindrom; FTD-MND, frontotemporalna demencija s bolešću motoneurona (MND, *motor neuron disease*); GSS, Gerstmann-Sträussler-Scheinkerov sindrom; LPA, logopenička afazija; PB, Parkinsonova bolest; PBD, demencija u Parkinsonovoj bolesti; PNFA, progresivna nefluentna afazija (*progressive nonfluent aphasia*); PrP, prionski protein; PSP, progresivna supranuklearna paraliza (*progressive supranuclear palsy*); SD, semantička demencija.

Preuzeto i prilagođeno iz: (Villemagne *i sur.*, 2015).

### 1.2.1. Vaskularna demencija

Ukupna duljina kapilara u ljudskom mozgu iznosi više stotina kilometara (Zlokovic, 2005). Stoga je mozak jako ranjiv na oštećenja i začepljenja krvnih žila. Vaskularna demencija (VaD) može nastati kao posljedica višestrukih infarkta, strateških infarkta, bolesti malih krvnih žila, hemoragije, hipoperfuzije i drugih mehanizama (Román, 2002). Posljedica navedenih promjena je prestanak ili smanjena opskrba krvlju različitih regija mozga. Jedini točno poznati uzrok vaskularne demencije, odnosno moždanog udara, su mutacije *NOTCH-3* gena (Thomas *i sur.*, 2000). Nakon proteolize notch-3 proteina putem ADAM10 metaloproteaze, odcijepljeni dio notch-3 proteina s unutarnje strane stanične membrane može postati jedan od mnogobrojnih supstrata za presenilin ( $\gamma$ -sekretazu) (Groot *i sur.*, 2014), što je trenutno važno područje istraživanje i jedno od molekularnih „raskršća“ AB i moždanog udara (vidi ispod). U oko 80-85% slučajeva je temeljni mehanizam nastanka moždanog udara ishemijski (dijeli se na trombotički koji čini 70-80% ishemijskih tj. oko 60% svih moždanih udara, embolijski – 15% svih moždanih udara, te sistemsku hipoperfuziju), a u oko 15-20% hemoragijski (krvareći) koji se dijeli na unutar moždano krvarenje (čini oko 70% hemoragijskih tj. 10-15% svih moždanih udara) i subarahnoidalno krvarenje (5-7% svih moždanih udara, obično nastupa uslijed puknuća aneurizme, češći je uzrok među osobama mlađim od 40 godina). Brojni patofiziološki mehanizmi i lokalizacije moždanog udara mogu dovesti do VaD, demencije nakon moždanog udara (PSD, *post-stroke dementia*) i poremećaja raspoloženja, kao i do šireg pojma vaskularnog kognitivnog urušavanja (VCI, *vascular cognitive impairment*) (Mijajlović *i sur.*, 2017) (**Slika 10**).

Simptomi VaD mogu se jako razlikovati od jednog do drugog bolesnika. Najuočljiviji su simptomi VaD koji se jave nakon težeg moždanog udara, napose u dominantnoj polutki mozga (kod dešnjaka, kojih je oko 97%, u lijevoj polutki), kada se nastale promjene u razmišljanju i percepciji očituju kroz poteškoće u govorenju (Brocina afazija) i razumijevanju govora (Wernickeova afazija). Ako VaD nastane kao posljedica više manjih moždanih udara i drugih oštećenja krvnih žila manjeg opsega, simptomi se mogu pojavljivati i postepeno. Rizični čimbenici koji pridonose nastanku VaD su dob, pušenje, kardiovaskularne i cerebrovaskularne bolesti, izostanak kretanja, dijabetes i povišeni krvni tlak, pa se i vjerojatnost obolijevanja može smanjiti kontrolom istih: prestankom pušenja, vježbanjem, zdravom prehranom, kontroliranjem dijabetesa i srčanožilnih bolesti (Santos *i sur.*, 2017).



**Slika 10.** Kognitivna stanja kao posljedica moždanog udara.

Preuzeto i prilagođeno iz: (Mijajlović *i sur.*, 2017).

VaD, vaskularna demencija; VCI, vaskularno kognitivno urušavanje (*vascular cognitive impairment*); PSD, demencija nakon moždanog udara (*post-stroke dementia*).

Dijagnoza VaD se donosi prema kriterijima Dijagnostičkog i statističkog priručnika mentalnih bolesti i poremećaja (DSM5, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) (American Psychiatric Association, 2013), Međunarodne klasifikacije bolesti (MKB-10) (WHO, 2010), Nacionalnog instituta za neurološke poremećaje i moždani udar - Međunarodna udruga za istraživanja i obrazovanje u neuroznanosti (NINDS-AIREN, *National Institute for Neurological Disorders and Stroke - Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences*) (Román *i sur.*, 1993) te Dijagnostičkog i terapijskog centra za Alzheimerovu bolest (ADDTC, *Alzheimer's Disease Diagnostic and Treatment Centers*) (Chui *i sur.*, 1992). Budući da niti jedan od navedenih kriterija nije dovoljno specifičan za postavljanje dijagnoze VaD, dijagnostika se nastoji poboljšati uporabom metoda za slikovni prikaz strukture (poput magnetske rezonancije, MRI, *magnetic resonance imaging*) i aktivnosti mozga (poput pozitronske emisijske tomografije, PET,

*positron emission tomography* i jednofotonske emisijske kompjutorizirane tomografije, SPECT, *single photon emission computerized tomography*). Dijagnoza VaD se isključuje ukoliko se metodama slikovnog prikaza strukture i aktivnosti mozga prikaže obrazac oštećenja mozga koji ne odgovara kliničkoj slici bolesti.

Ranih 70-tih godina je glavni entitet koncepta VaD činila demencija s višestrukim žarištima (MID, *multi-infarct dementia*), a na temelju kliničkih zapažanja je Hachinski predložio tzv. HIS (*Hachinski ischemic score*) ljestvicu za razlikovanje VaD, AB i miješanje demencije (istovremene prisutnosti VaD i AB) (HIS, *Hachinski ischemic score*) (Hachinski *i sur.*, 1975). Upravo je u miješanom tipu demencije koji obuhvaća najmanje 10% svih slučajeva demencije, najučestalija kombinacija AB i VaD (4.1 - 21.6%, prema (McAleese *i sur.*, 2016)). Ovdje ubrajamo i kombinaciju AB i DLB, dok je kombinacija VaD i DLB dosta rijetka. HIS ljestvica se sastoji od sljedećih kriterija s pripadajućim bodovima: nagli početak (2 boda), emocionalna inkontinencija (1 bod), postupno pogoršanje (1 bod), hipertenzija (1 bod), fluktuirajući tijekom bolesti (2 boda), pretrpljeni moždani udari (2 boda), konfuzija po noći (1 bod), ateroskleroza (1 bod), relativno očuvanje osobnosti (1 bod), žarišni neurološki simptomi (2 boda), depresija (1 bod), žarišni neurološki znakovi (2 boda) i somatske smetnje (1 bod). Ukoliko je ukupni zbroj bodova na HIS ljestvici jednak ili veći od 7, pacijentu se dijagnosticira VaD. Ukoliko je zbroj bodova 5 ili 6, postavlja se dijagnoza miješane demencije (AB + VaD), a ako je zbroj 4 ili manje, smatra se da se na temelju kliničke slike radi o AB (Pantoni i Inzitari, 1993). Vaskularne promjene koje se uočavaju u AB su CAA, cerebralna arterioskleroza, bolest malih krvnih žila, mikrovaskularna degeneracija i disfunkcija krvno-moždane barijere (Attems i Jellinger, 2014).

### ***1.2.1.1. Utjecaj vaskularnih promjena na nastanak AB***

Od inicijalnih opisa Miyakawe i suradnika 1982. godine (Miyakawa *i sur.*, 1982), te Glennera i Wonga 1984. godine (Glenner i Wong, 1984), jasno je kako su A $\beta$  u krvnim žilama (CAA) i A $\beta$  u SP tijesno povezani (imaju isti ili vrlo sličan sastav), i u AB i Downovom sindromu. Zbog toga je s jedne strane pretpostavljeno kako su neuroni koji inerviraju krvne žile u čijim stijenkama se nakuplja A $\beta$  možda ranije zahvaćeni patološkim promjenama od ostalih, a s druge strane je postavljeno možda još važnije pitanje koji čimbenici uzrokuju da se depoziti oligomeriziranog A $\beta$  nakupljaju u obliku SP. U pokušaju

davanja odgovora na to pitanje pomogli su transgenični modeli AB, jer je za razliku od dotadašnjih nalaza o 60-77%-tnoj povezanosti SP i CAA (Kawai *i sur.*, 1990) u takvim modelima bilo jasno kako se čak otprilike 95% SP u Tg2576 mišjem modelu AB, te oko 85% SP u PSAPP mišjem modelu AB, SP nalaze u neposrednoj blizini CAA (Kumar-Singh *i sur.*, 2005). Dodatni važan nalaz uočen na navedenim modelima bolesti je bila činjenica da su se praktično u svakom SP nalazili ioni željeza (Falangola *i sur.*, 2005), zbog čega je postavljeno logično pitanje predstavljaju li SP zapravo područja mikrohemoragija. Nakon provjere navedene pretpostavke na rezovima moždanog tkiva osoba s AB i DS, a uslijed pronađenog visokog stupnja preklapanja hemom bogatih depozita vizualiziranih pruskim plavilom i depozita A $\beta$  vizualiziranim monoklonskim protutijelima na A $\beta$  (Cullen *i sur.*, 2006), zaključeno je kako se A $\beta$  možda stvara prvenstveno kao akutni zaštitni odgovor na prijeteće pucanje krvnih žila koji pomaže u sprječavanju nastanka većeg krvarenja (moždanog udara). Kao što je navedeno u odjeljku 1.1.2.1. (Amiloidna hipoteza), prvootkrivena mutacija *APP* gena (*APP* Glu693Gln) ne uzrokuje AB, nego cerebralnu autosomno dominantnu arteriopatiju sa subkortikalnim infarktima i encefalopatijom (*CADASIL*, *cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and encephalopathy*) budući da osobe s navedenom mutacijom zbog ranog moždanog udara ne stignu poživjeti dovoljno dugo kako bi „stigle“ oboljeti od AB, što je ujedno podupiralo pretpostavku o hematogenom ulasku A $\beta$  u mozak (Van Broeckhoven *i sur.*, 1990; Levy *i sur.*, 1990). Ipak, sva kasnija istraživanja su potvrdila kako najviše APP, odnosno A $\beta$  proizvode neuroni središnjeg živčanog sustava (Takahashi *i sur.*, 2002). Ipak, ovdje je bitno naglasiti kako još uvijek nije poznato je li i u kolikoj mjeri curi amiloid iz aferentnih, napose serotoninergičkih vlakana, koji dolaze u moždanu koru iz projekcijskih neurona moždanog debla (Braak i Del Tredici, 2013), te kako APP i A $\beta$  također u značajnim količinama proizvode i glatke mišićne stanice stijenki krvnih žila mozga (Frackowiak *i sur.*, 1995). Ta je činjenica važna u svjetlu prethodno navedenog nalaza o visokom stupnju preklapanja mikrohemoragija i SP. Naime, izuzetno je važno znati nastaju li depoziti A $\beta$  prije ili poslije mikrokrvarenja. Ukoliko nastaju poslije krvarenja, to bi možda mogla biti posljedica inače poznatog neurotoksičnog djelovanja hema (Regan i Rogers, 2003), koji u roku 24 sata snažno aktivira mikroglija stanice. Zbog izuzetne stabilnosti proteina hemosiderina koji na sebe čvrsto veže ione željeza, njegovom vizualizacijom u mikroglija stanicama mogu se jasno dokazati sva prijašnja krvarenja u moždanom tkivu (Wagner *i sur.*, 2003). U slučaju da A $\beta$  nastaje prije mikrohemoragija, odnosno pogubnog krvarenja, to bi značilo kako A $\beta$  služi kao „ljepilo“ koje održava strukturni integritet krvnih žila. Osim što

njegovo nakupljanje u obliku CAA mijenja vazoreaktivnost krvnih žila mozga (Thomas *i sur.*, 1996) te kompromitira KMB (Su *i sur.*, 1999), suvišno stvaranje A $\beta$  (zbog poremećene regulacije, tj. prekomjernog stvaranja i/ili nemogućnosti dovoljnog odstranjivanja) koji se odlaže stijenke krvnih žila mozga (CAA) može uzrokovati njihovo pucanje (hemoragijski mehanizam nastanka moždanog udara) (Coria i Rubio, 1996). Sve navedeno više govori u prilog kako bi mikrovaskularne promjene mogle biti najranijim događajem u tijeku razvoja AB. Naime, budući da u krvnim žilama mozga ne smije doći do stvaranja ugruška jer bi to dovelo do moždanog udara, možda je zatvaranje vaskularnih oštećenja pomoću A $\beta$  zapravo evolucijska prilagodba APP proteina za antikoagulantnu funkciju u središnjem živčanom sustavu, tj. fiziološki put sprječavanja moždanog udara (Atwood *i sur.*, 2003; Frackowiak *i sur.*, 1995). U prilog tome također govori činjenica da je APP protein zapravo topljivi izooblik inhibitora proteaza neksina-2 (PN-2) (kao i drugi inhibitori proteaza, i APP i PN-2 inhibiciju proteaza vrše svojom tzv. Kunitzovom domenom) (Nostrand *i sur.*, 1989), a oba proteina potentno inhibiraju koagulacijski čimbenik XIa te se pored lučenja iz aktiviranih trombocita također luče iz endotelnih stanica krvnih žila mozga i neurona (na taj način sprječavajući nastanak ugruška, odnosno moždanog udara). Pokazano je da ioni cinka u koncentraciji većoj od 1  $\mu$ M snažno potenciraju taj inhibicijski učinak APP na koagulacijski čimbenik XIa, što dodatno osigurava sprječavanje nastanka ugruška i posljedičnog moždanog udara (Van Nostrand *i sur.*, 1995). Dvije od četiri poznate mutacije APP gena u području eksona 16 i 17 koje kodira za dio APP molekule iz kojega kasnije proteolitičkim cijepanjem  $\beta$ - i  $\gamma$ -sekretaze nastaje A $\beta$  uzrokuju poguban moždani udar u 40-tim i ranim 50-tim godinama života. Te dvije mutacije koje uzrokuju moždani udar su APP Cys692Gly – tzv. flamanska mutacija i APP Glu693Lys – tzv. talijanska mutacija. Druge dvije mutacije APP gena u području eksona 16 i 17 koje kodira za dio APP molekule iz kojega kasnije proteolitičkim cijepanjem  $\beta$ - i  $\gamma$ -sekretaze nastaje A $\beta$ , puno su rjeđe, a uzrokuju AB: APP Glu693Gly – tzv. arktička mutacija i APP Glu693D – tzv. Osaka mutacija (uzrokuju povećano stvaranje A $\beta$  i ranu AB). Zbog svega navedenog, ne iznenađuje činjenica kako je više od nekoliko stotina eksperimentalnih i kliničkih studija u kojima se aktivnom (fragmentima A $\beta$  ili cijelom A $\beta$  molekulom) ili pasivnom imunizacijom (davanjem anti-A $\beta$  protutijela svaka četiri tjedna) ili na druge načine pokušalo eliminirati stvaranje A $\beta$  završilo neuspješno, budući da su svi ti postupci doveli do povećane incidencije moždanog udara (Mangialasche *i sur.*, 2010; Pfeifer *i sur.*, 2002; Racke *i sur.*, 2005).

### 1.2.2. Bolest Lewyjevih tjelešaca

Za bolest Lewyjevih tjelešaca (LBD, *Lewy body disease*) je karakteristično nakupljanje Lewyjevih tjelešaca u kortikalnim i subkortikalnim područjima mozga. Lewyjeva tjelešca, koja je prvi uočio Lewy 1910. godine, citoplazmatske su nakupine  $\alpha$ -sinukleina, ali mogu sadržavati i druge proteine poput ubikvitina, neurofilamena,  $\alpha$ -B kristalina i glukocerebrozidaze (Goker-Alpan *i sur.*, 2010). LBD podrazumijeva nekoliko kliničkih entiteta od kojih su najvažniji DLB (*dementia with Lewy bodies*), Parkinsonova bolest (PB) i multipla sistemska atrofija (MSA). Te bolesti zajedničkim imenom nazivamo  $\alpha$ -sinukleinopatije (McCann *i sur.*, 2014) jer se ne razlikuju po sastavu (Lewyjevih tjelešaca), već samo po njihovoj raspodjeli u mozgu oboljelih. Dok se kod oboljelih od PB Lewyjeva tjelešca nakupljaju subkortikalno, prvenstveno u crnoj jezgri (*substantia nigra*), kod oboljelih od DLB dolazi do nakupljanja Lewyjevih tjelešaca i u moždanoj kori. DLB se prema broju i distribuciji Lewyjevih tjelešaca može podijeliti u tri široke kategorije u kojima je DLB patologijom prvenstveno zahvaćeno: 1) moždano deblo, 2) limbički režanj, 3) moždana kora (McKeith *i sur.*, 2004).

DLB najčešće nastupa kod starijih ljudi (od 75-80 godine starosti), a uzrok bolesti još uvijek nije poznat. Obiteljski oblik bolesti je izuzetno rijedak. Pored sindroma demencije, oboljeli od DLB često imaju vidne i halucinacije u drugim osjetnim modalitetima, motoričke simptome parkinsonizma i druge ekstrapiramidne poremećaje pokreta te poremećaj REM (*rapid eye movement*) stadija spavanja (u REM stadiju spavanja bolesnik se miče, gestikulira i govori). Stoga se može reći da se neki simptomi DLB preklapaju sa simptomima AB i PB. Ukoliko kod pacijenata sa simptomima parkinsonizma kognitivno propadanje nastupi unutar prve godine bolesti, postavlja se dijagnoza DLB, no ako sindrom demencije nastupi tek kasnije, bolesniku se dijagnosticira demencija u sklopu PB (McKeith *i sur.*, 2005). U odnosu na AB, bolesnici s DLB obično imaju bolji rezultat na neuropsihološkim testovima u kojima se procjenjuje verbalno pamćenje, dok im je rezultat lošiji u testovima vidno-prostornog snalaženja (McKeith *i sur.*, 2004). Ipak, budući da se neke podvrste DLB relativno često pojavljuju u komorbiditetu s AB, time je i njihovo razlikovanje naspram AB teže, pogotovo ako se uzme u obzir i činjenica da su kod bolesnika s miješanim tipom demencije (*mixed dementia*) manje izražene vidne halucinacije i simptomi parkinsonizma (Merdes *i sur.*, 2003). Kod tih se bolesnika Lewyjeva tjelešca mogu pronaći samo u prisutnosti SP (kada se postavlja dijagnoza „AB s DLBD“ (DLBD, *diffuse Lewy-body disease*)) ili u prisutnosti i SP i NFT



(tada se postavlja dijagnoza „Lewyjeva varijanta AB“) (Šimić, 2006). Dijagnozu bolesti često dodatno otežava izvanredno varijabilna klinička prezentacija DLB.

Iako još uvijek ne postoji uzročno liječenje, važno je postaviti dijagnozu DLB što ranije, budući da bolesnici s DLB dobro reagiraju na inhibitore acetilkolinesteraze. Iako se simptomi parkinsonizma nastoje ublažiti lijekovima koji djeluju na dopaminergičku transmisiju, bolesnici s DLB slabo reagiraju na davanje prekursora dopamina (L-DOPA). Primjena antipsihotika za ublažavanje psihotičnih simptoma često izaziva nuspojave i pogoršanje kliničke slike, pa se male doze katkad rabe i za točno rano postavljanje dijagnoze (*diagnosis ex juvantibus*).

### 1.2.3. Frontotemporalna demencija

Frontotemporalna demencija (FTD) je naziv za kliničku sliku (sindrom) koji obuhvaća skupinu različitih neurodegenerativnih bolesti što zahvaćaju čeonu i sljepoočnu režnju mozga, a primarna su joj obilježja poremećeno ponašanje i poteškoće u jezičnim sposobnostima. Pod zajedničkim kišobranom FTD nalaze se i sporadični i obiteljski slučajevi bolesti (Neary *i sur.*, 1998). Klinička simptomatologija FTD često se preklapa s AD što otežava postavljanje točne dijagnoze (Boban *i sur.*, 2010). Frontotemporalna lobarna degeneracija (FTLD) naziv je za neuropatološki supstrat većine FTD. FTLD je patološki i genetički heterogena skupina poremećaja koji se dijele u različite tipove u zavisnosti od proteina koji se pretežno akumuliraju u stanicama mozga (**Slika 9**). FTD je tip demencije koji nastupa dosta rano (kod osoba od 45-65 godine starosti) s prevalencijom od oko 10-20 oboljelih na 100,000, a 40-50% slučajeva FTD su nasljedni (Neary *i sur.*, 2005; Ratnavalli *i sur.*, 2002). Kod oboljelih od FTD dolazi do progresivne i lokalizirane atrofije čeonih i sljepoočnih režnjeva (Rohrer, 2012). Ranije su se svi oblici FTD nazivali Pickovom bolesti prema Arnoldu Picku koji je 1892. opisao 71-godišnjeg afazičnog muškarca sa žarišnom atrofijom lijevog sljepoočnog režnja te zaključio kako „jednostavna progresivna atrofija mozga može biti posljedica difuznih procesa koji dovode do simptoma lokaliziranog poremećaja“ (Pick, 1892). Danas se pod nazivom Pickove bolesti smatra samo jedan od podtipova FTD te se dijagnosticira jedino ukoliko se u mozgu oboljelih detektiraju intraneuronalna Pickova tjelešca sastavljena od tau proteina, ubikvitina i fosforiliranih neurofilamenata. Karakteristično je da se kod Pickove bolesti nakupljaju isključivo 3R

izooblici tau proteina (Buée i Delacourte, 1999). Frontotemporalna demencija se zbog heterogenosti simptomatologije dijeli u tri klinički različita podtipa: 1) frontalnu varijantu s poremećenim ponašanjem FTD (bvFTD, *behavioral variant FTD*) (**Slika 11**), 2) progresivnu nefluentnu afaziju (PNFA, *progressive nonfluent aphasia*) i 3) semantičku demenciju (SD). Frontalna (bihevioralna) varijanta FTD je najčešća, a karakteristični su joj simptomi promjene u osobnosti i ponašanju, apatija, disinhibicija i manjak emocionalne brige (Rascovsky *i sur.*, 2011). Za PNFA je karakterističan gubitak tečnosti govora, a u SD dolazi do poteškoća u razumijevanju govora (Neary *i sur.*, 1998). Simptomi FTD se ponekad preklapaju i s kortikobazalnom degeneracijom (CBD, *corticobasal degeneration*), progresivnom supranuklearnom paralizom (PSP, *progressive supranuclear palsy*), apraksijom govora (koja se često puta podrazumijeva kao dio PNFA) i bolesti motoneurona (MND, *motor neuron disease*) (Mohandas i Rajmohan, 2009). U razjašnjavanju navedenih preklapanja je napravljen značajan napredak kada je 2011. godine otkrivena ekspanzija heksanukleotida u genu za C9orf72 koja dovodi do nastanka FTD i amiotrofične lateralne skleroze (ALS) (DeJesus-Hernandez *i sur.*, 2011; Renton *i sur.*, 2011). To otkriće značajno pomaže objasniti klinička i neuropsihologijska zapažanja kako su FTD i ALS dvije krajnosti tzv. FTD-ALS spektra bolesti (Strong *i sur.*, 2009).

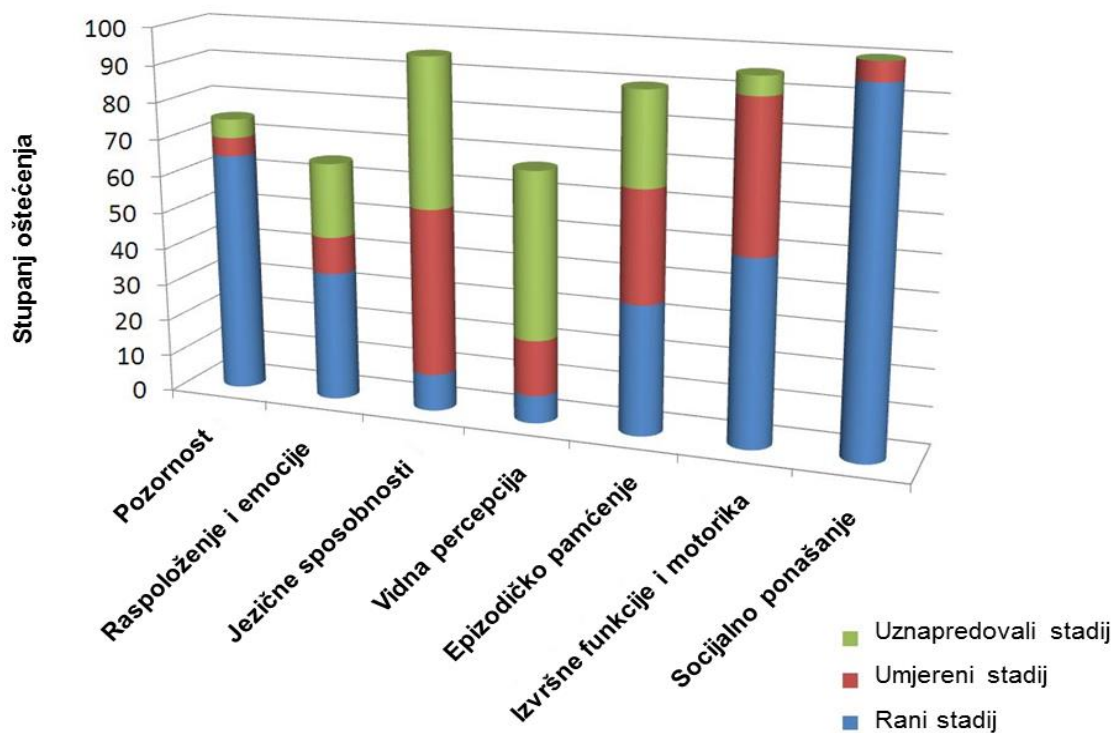
Molekularno-biološka podloga FTD je jako složena pa se tako na temelju patoloških nakupina u mozgu oboljelih FTD može podijeliti u više tipova. Najvažniji tip FTLD naziva se FTLT-tau, budući da se u tom tipu FTLD u neuronima i glija stanicama nakupljaju patološki tau proteini. Taj tip uključuje nekoliko različitih podtipova tauopatija od kojih je većina (do 60%, (Rohrer *i sur.*, 2015)) sporadična (Pickova bolest, PSP, CBD, bolest argirofilnih tjelešaca, GGT (globularna glijalna tauopatija), te demencija nastala isključivo zbog neurofibrilarnih promjena, NFT demencija) (Šimić *i sur.*, 2016), a manji dio (oko 35%) su obiteljske (npr. podtipovi koji nastaju uslijed mutacija *MAPT* gena koji kodira protein tau, FTLT-TDP podtipova A-D, zatim FTLT-FUS s patologijom FUS proteina (*fused in sarcoma*), FTLT-UPS s patologijom ubikvitin-proteosoma te još neki rjeđi oblici (Neumann *i sur.*, 2009; Sleegers *i sur.*, 2010; Šimić *i sur.*, 2016). Preostali tipovi (oko 5-10% sveukupnog broja oboljelih) čine manju skupinu FTLD kod kojih se unutarstanične nakupine sastoje od TDP-43 proteina (FTD-TDP, TDP-43 - *TAR DNA-binding protein 43*) ili pak još uvijek nije utvrđeno od kojih se proteina sastoje unutarstanične nakupine (Lashley *i sur.*, 2015).

Vrijednosti ukupnih i fosforiliranih tau proteina u cerebrospinalnoj tekućini (likvoru) značajno su veće u skupini bolesnika s AB nego u skupini bolesnika s FTD (Boban *i sur.*, 2010; Hampel *i sur.*, 2004), pri čemu se u odnosu na ukupne tau proteine pomoću

fosforiliranih tau proteina (npr. p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>213</sub> i drugih) može značajno pouzdanije razlikovati AB od FTD. Iako ni jedan od poznatih bioloških biljega ne zadovoljava kriterije idealnoga (tj. osjetljivost i specifičnost veću od 85%), uporabom kombinacije vrijednosti npr. koncentracija ukupnih tau proteina i p-tau<sub>199</sub> iz likvora u jednom je istraživanju postignuta točna klasifikacija 88% bolesnika s FTD (Boban *i sur.*, 2010). Razine A $\beta$ <sub>1-42</sub> u likvoru osoba s FTD su u prosjeku manje u odnosu na zdrave kontrole, ali isto tako u prosjeku veće u odnosu na AB (Llorens *i sur.*, 2016). Omjer A $\beta$ <sub>1-42/1-40</sub> značajno je povećan u FTD u odnosu na AB i zdrave kontrole (Pijnenburg *i sur.*, 2007). Pri tome treba znati da su, baš kao i u AB, u bolesnika s FTD niže razine A $\beta$ <sub>1-42</sub> u likvoru povezane s lošijim kognitivnim statusom i slabijim izvršnim sposobnostima (Koedam *i sur.*, 2013).

U odnosu na neke relativno rijetke primarne uzroke sindroma demencije kao što je npr. CJB, gdje je pomoću bioloških biljega iz likvora relativno jednostavno postaviti točnu dijagnozu, u drugim slučajevima demencije nastalim zbog FTD, DLB ili npr. vaskularnih promjena (a pogotovo uslijed njihovih kombinacija) još uvijek nisu otkriveni biološki biljezi u tjelesnim tekućinama, uključujući likvor, pomoću kojih bi bilo moguće postaviti pouzdanu dijagnozu.

Sažeto, iako FTD obično nastupa dosta ranije od sporadičnog tipa AB (prije 65 godine života), simptomi demencije mogu se javiti tek u kasnijim stadijima bolesti. Zbog toga diferencijalna dijagnoza može biti dosta teška. Budući da ne postoji uzročna terapija, simptomi bolesti se nastoje ublažiti nefarmakološkim terapijama i primjenom antidepresiva, najviše onih iz skupine selektivnih inhibitora ponovnog unosa serotonina (*selective serotonin reuptake inhibitors*, SSRI) skupine (paroksetin, sertralin, citalopram, fluoksetin, fluvoksamin). Inhibitori acetilkolinesteraze koji se koriste u terapiji AB nemaju dokazanih povoljnih učinaka kod oboljelih od FTD.



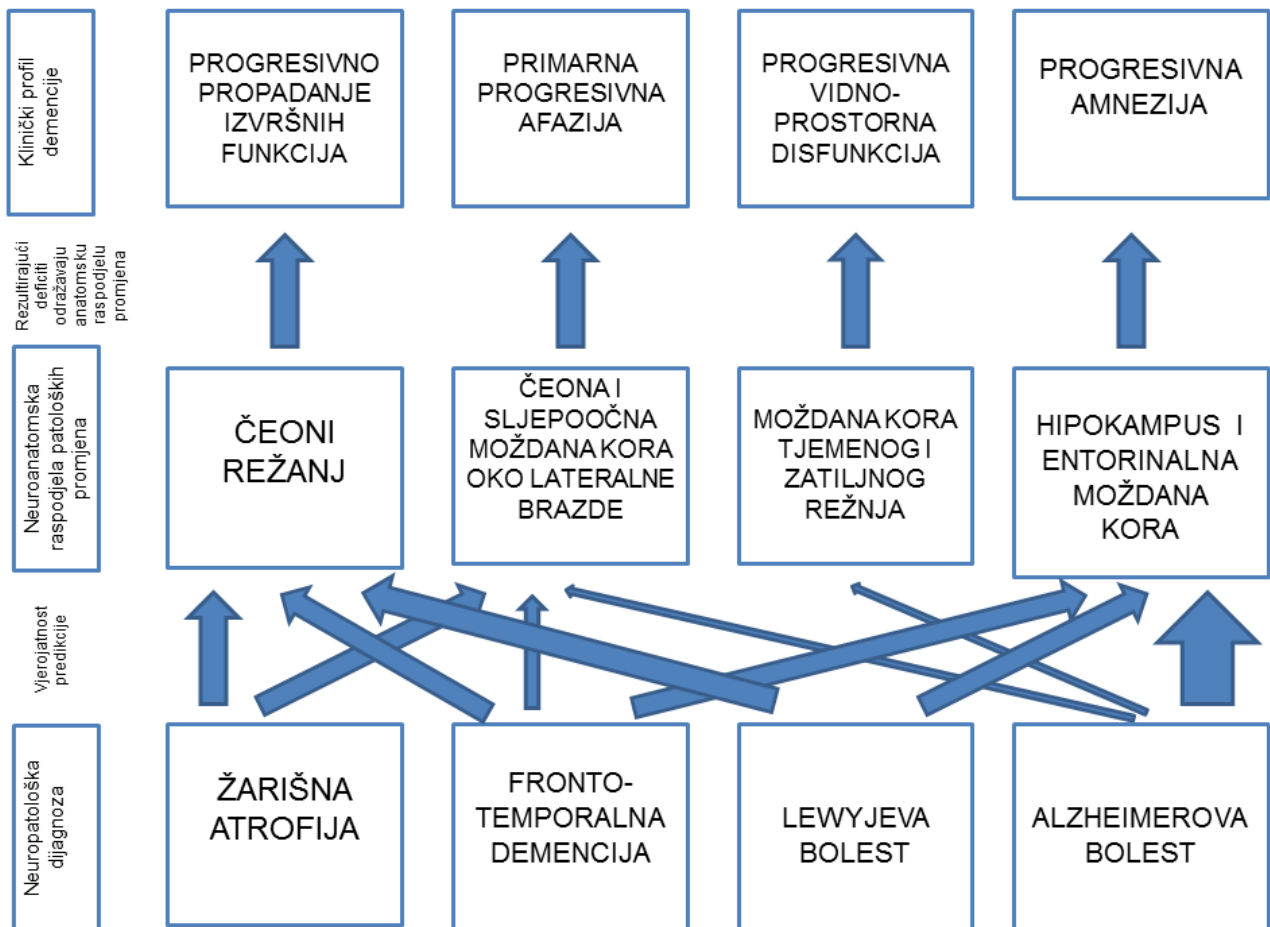
**Slika 11.** Neuropsihološki profil oštećenja pojedinih kognitivnih domena prema stadiju u najčešćeg oblika FTD – bvFTD (tzv. frontalna varijanta FTD, odnosno FTD s poremećenim ponašanjem, behavioral variant FTD).

Preuzeto i prilagođeno iz: (Weintraub *i sur.*, 2012).

### 1.3. Blagi kognitivni (spoznajni) poremećaj

Blagi kognitivni (spoznajni) poremećaj (BSP) (*mild cognitive impairment*) se smatra prijelaznim stadijem između normalnog starenja i demencije. Zbog umanjivanja stigmatizacije u novim DSM5 kriterijima (American Psychiatric Association, 2013) se za BSP predlaže naziv mali neurokognitivni poremećaj, a za sindrom demencije naziv veliki neurokognitivni poremećaj. Veliki neurokognitivni poremećaj podrazumijeva veće kognitivno oštećenje u najmanje jednoj, tipično u dvije ili više, kognitivnih domena (pažnja, izvršno funkcioniranje, učenje i pamćenje, govor, vidno-prostornu sposobnost percepcije, socijalna prilagođenost) pri čemu oštećenje pamćenja ne mora biti nužno prisutno, a uzrokuje nemogućnost svakodnevnog samostalnog funkcioniranja. Mali neurokognitivni poremećaj označava značajna klinička stanja osoba koje imaju blago kognitivno oštećenje u jednom ili više područja kognicije koja su navedena za veliki neurokognitivni poremećaj, ali su njihove svakodnevne životne aktivnosti (*activities of daily living*, ADL) još uvijek sačuvane uslijed uključivanja kompenzacijskih mehanizama. Slika 12 prikazuje odnos kliničkog profila sindroma demencije i mogućih uzroka tj. neuropatoloških supstrata koji je uzrokuju (**Slika 12**). Budući da po toj definiciji kod osoba s BSP dolazi samo do popuštanja kognitivnih funkcija koje ih ne ometaju značajno u svakodnevnim životnim aktivnostima, osobe s BSP ne ispunjavaju kriterije za dijagnozu AB ili nekog drugog primarnog uzroka sindroma demencije (FTD, VaD, DLB). Samo manji dio osoba s BSP godišnje progredira u AB (Petersen *i sur.*, 1999) dok neki BSP pacijenti mogu ostati stabilni (ne razviti demenciju) ili pak progrediraju u sindrom demencije zbog nekog drugog primarnog uzroka demencije (VaD, FTD, DLB). Budući da je stupanj konverzije BSP u AB samo oko 9.6% godišnje (i to u specijaliziranim ustanovama), potrebno je dugo vrijeme praćenja (7-10 godina) da bi se povećala točnost postavljanja dijagnoze (Mitchell i Shiri-Feshki, 2009). Petersen (2004) je u svrhu jednostavnijeg predviđanja tijeka bolesti, BSP podijelio u 4 podtipa: 1. amnestički BSP s oštećenjem u jednoj kognitivnoj domeni, 2. amnestički BSP s oštećenjem u više kognitivnih domena, 3. neamnestički BSP s oštećenjem u jednoj kognitivnoj domeni i 4. neamnestički BSP s oštećenjem u više kognitivnih domena (Mariani *i sur.*, 2007; Petersen, 2004).

Amnestički tip BSP najčešće predstavlja rani stadij AB (oko 90% slučajeva razvije AB), dok osobe s neamnestičkim BSP najčešće postanu dementne (razviju veliki neurokognitivni poremećaj) zbog nekog drugog primarnog uzroka demencije poput VaD, DLB ili FTD.



**Slika 12.** Skica odnosa kliničkog profila sindroma demencije, neuroanatomske raspodjele patoloških promjena i mogućih uzroka tj. neuropatoloških supstrata koji je uzrokuju. Debljina plavih strelica predstavlja vjerojatnost, odnosno učestalost kojom pojedine neuropatološke promjene zahvaćaju pojedine dijelove mozga, a ta se lokalizacija (raspodjela) patoloških promjena u ovisnosti od brojnosti promjena direktno odražava na kliničku sliku (profil sindroma demencije).

## 1.4. Biomarkeri za dijagnozu Alzheimerove bolesti

Pretpostavlja se da patološki procesi u mozgu oboljelih od sporadične AB započinju otprilike dvadesetak godina prije pojave prvih simptoma te, u prosjeku, još oko 11 godina ranije u nositelja mutacija *APP*, *PSEN1* i *PSEN2* gena (obiteljska AB) u odnosu na tipičnu dob pojavljivanja AB u njihovim obiteljima (Braak *i sur.*, 2013; Price i Morris, 1999). Zbog toga se smatra kako bi se potencijalni novi lijekovi trebali početi primjenjivati kod osoba bez simptoma bolesti dok još neurodegenerativni procesi nisu uznapredovali (Sperling *i sur.*, 2011) (**Slika 13**). Ranije otkrivanje AB stoga bi omogućilo i raniji početak primjene postojećih i budućih terapijskih postupaka za AB. Slijedom navedenog, pouzdani biološki biljezi su, osim za razumijevanje patogeneze AB, ključni kako za rano otkrivanje AB u pretkliničkom (prodromalnom) stadiju bolesti, tako i za što ranije započinjanje s liječenjem.

Općenito se biološki biljezi obično određuju u tjelesnim tekućinama (krv, urin, cerebrospinalna tekućina – likvor), ali se i podatci sakupljeni neuroslikovnim metodama smatraju biomarkerima (Aluise *i sur.*, 2008; Craig-Schapiro *i sur.*, 2009; Perrin *i sur.*, 2009). Da bi se neki potencijalni biološki biljeg smatrao pogodnim markerom mora biti: 1) testiran u najmanje dvije neovisne studije objavljene u časopisima sa znanstvenom recenzijom; 2) neuropatološki potvrđen prilikom obdukcije (Hampel *i sur.*, 2010a). Vrijednost potencijalnog biološkog biljega u otkrivanju bolesti mjeri se putem triju glavnih parametara: osjetljivošću (vjerojatnost ranog otkrivanja AB u osoba koje stvarno imaju AB), specifičnošću (razlikovanje bolesnika s AB od zdravih pojedinaca i bolesnika s drugim primarnim uzrocima demencije) te određivanjem koliko izmjerene vrijednosti nekoga biljega koreliraju s napredovanjem bolesti (**Tablica 3**). Navedeni parametri nekoga biljega ne mogu se promatrati odvojeno, a idealan biološki biljeg bi trebao imati i osjetljivost i specifičnost veću od 85%, te dobro korelirati s napredovanjem bolesti. Dodatna bitna obilježja potencijalnih bioloških biljega su dostupnost, neinvazivnost i reproducibilnost (**Tablica 2**) (Hampel *i sur.*, 2010a; The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group, 1998). Biološki biljezi općenito se mogu podijeliti u dvije skupine: biljezi rizika i biljezi bolesti. Biološki biljezi rizika služe za procjenu čimbenika rizika za nastanak bolesti, dok se biološki biljezi bolesti koriste u probiru (prognostički markeri), dijagnostičkim testovima za rano otkrivanje (dijagnostički markeri), praćenju progresije bolesti (markeri stanja) te praćenju odgovora na terapiju (Blennow *i sur.*, 2010; Mayeux, 2004). Biološki biljezi su stoga iznimno važni za odabir osoba pogodnih za

sudjelovanje u kliničkim studijama, a posljedično i u validaciji učinka ispitivanih tretmana (Pillai i Cummings, 2013).

**Tablica 2.** Karakteristike bioloških biljega Alzheimerove bolesti.

	<b>Prednosti</b>	<b>Nedostatci</b>
<b>Biološki biljezi u cerebrospinalnoj tekućini</b>	Visoka osjetljivost i specifičnost; najbolje odražavaju patološke procese u mozgu oboljelih od AB; dijagnostička vrijednost potvrđena u brojnim studijama	Invazivno sakupljanje uzorka postupkom lumbalne punkcije; skupi ELISA testovi; inter- i intra-laboratorijska varijabilnost; otežano praćenje pacijenata zbog invazivnog postupka lumbalne punkcije
<b>Neuroslikovni biološki biljezi</b>	Visoka osjetljivost i specifičnost; neinvazivnost; dijagnostička vrijednost potvrđena u brojnim studijama	Sofisticirana oprema; skupi radionuklidi; nemaju široko rasprostranjenu uporabu
<b>Biološki biljezi u plazmi</b>	Minimalno invazivni; mogućnost praćenja pacijenata; moguć probir zdrave populacije	Niska osjetljivost i specifičnost; česti oprečni rezultati; još uvijek ne postoje pogodni biološki biljezi iz plazme
<b>Genetički biološki biljezi</b>	Izvršni za predviđanje obiteljske AB; neinvazivni; relativno jeftini; moguć probir zdrave populacije	Osim <i>APOE</i> ne postoje genetički biološki biljezi sporadične AB, a i <i>APOE</i> nije pogodan za probir

**Tablica 3.** Dijagnostička vrijednost bioloških biljega Alzheimerove bolesti.

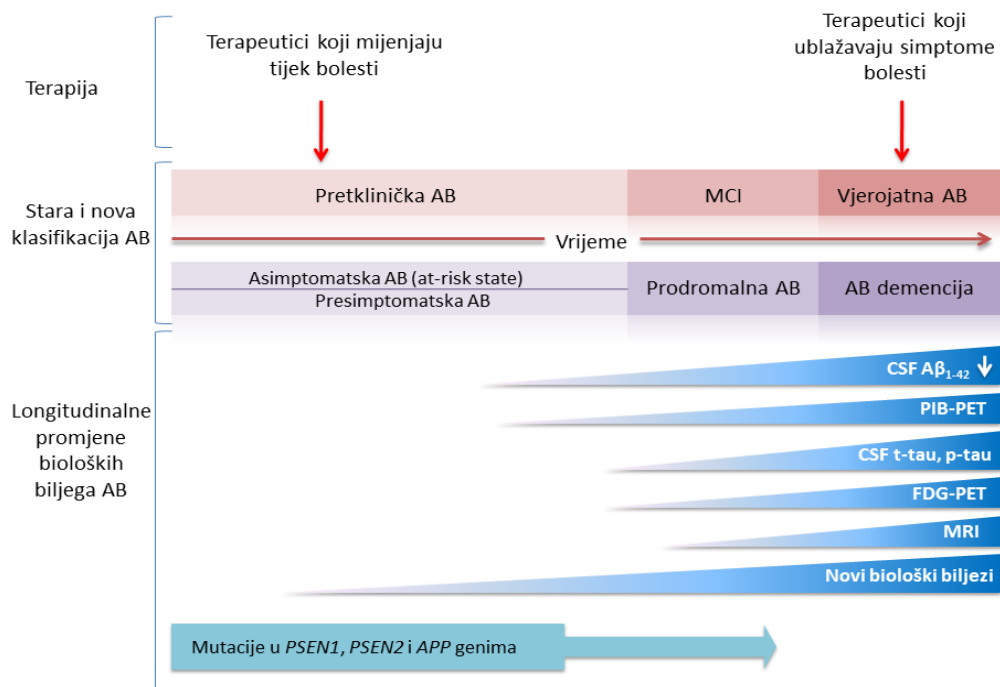
<b>Biomarkeri</b>	<b>Patološka specifičnost</b>	<b>Rana dijagnostička osjetljivost</b>	<b>Korelacija s progresijom bolesti</b>
<b>Neuropsihološko testiranje</b>	+	++	++
<b>Amiloid <math>\beta_{1-42}</math></b>	++	+	+
<b>Ukupni tau</b>	++	++	+
<b>p-tau</b>	+++	+++	++
<b>Magnetska rezonancija</b>	+	++	+++
<b>Pozitronska emisijska tomografija</b>	+	++	+++

\*Minimalno (+), umjereno (++), maksimalno (+++)

Dijagnostika AB se prvenstveno temelji na neuropsihološkim testiranjima (Boban *i sur.*, 2012), što je često nedostatan osjetljiva metodologija za rano otkrivanje te nedovoljno specifična metodologija za razlikovanje AB od drugih primarnih uzroka demencije poput VaD, FTD i DLB. Zato se dijagnoza “vjerojatne AB” na navedeni način obično uspostavlja



tek kada su neurodegenerativni procesi već znatno uznapredovali (Cummings *i sur.*, 2013). Stoga je Europska federacija neuroloških društava (*European Federation of Neurological Societies*) predložila dodatne metode za dijagnostiku AB, uključujući procjenu volumena mozga pomoću MRI i mjerenje tau proteina u likvoru (Hort *i sur.*, 2010; Šimić *i sur.*, 1997). U tom su prijedlogu međunarodne radne skupine Dubois i suradnici (Dubois *i sur.*, 2010) i dodatno izmijenili i do tada već uvriježene kriterije NINCDS-ADRDA (Nacionalni institut za neurološke i komunikacijske poremećaje te moždani udar-Asocijacija za Alzheimerovu bolest i srodne poremećaje, *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-the Alzheimer's disease and Related Disorders Association*) za dijagnozu AB (McKhann *i sur.*, 1984). Kao dodatak temeljnim dijagnostičkim kriterijima koji se uglavnom odnose na praćenje oštećenja epizodičkog pamćenja pomoću baterije neuropsiholoških testova, naveli su (doduše još uvijek u obliku preporuke, tj. prema mogućnostima) kako bi se za dijagnostiku AB trebali uvijek kada je to moguće razmotriti i dodatni kriteriji, uključujući atrofiju medijalnog sljepoočnog režnja mjerenu pomoću MRI, smanjeni metabolizam glukoze u sljepoočnim i tjemenim režnjevima vizualiziran pomoću PET, abnormalnost likvorskih bioloških biljega te prisutnost  $\epsilon 4$  alela *APOE* gena (Dubois *i sur.*, 2010).



**Slika 13.** Longitudinalne promjene bioloških biljega tijekom napredovanja AB. Preuzeto i prilagođeno iz: (Babić *i sur.*, 2014).

Točnost (*accuracy*) likvorskih biomarkera je teško povećati zbog triju glavnih razloga: 1) niskog stupnja konverzije BSP u AD od oko 10% (ona je zapravo još i niža jer se navedeni postotak odnosi na specijalizirane ustanove), zbog čega je za povećanje točnosti potrebno dugo vrijeme praćenja osoba s BSP od oko 7-10 godina (Mitchell, 2009), 2) likvorski biljezi bolje koreliraju s neuropatološkom nego s kliničkom dijagnozom, zbog čega je točnost triju glavnih likvorskih biljega 14-17% slabija u odnosu na kliničku dijagnozu (naspram vrijednosti koeficijenta korelacije koji se dobije kad se uspoređuju s neuropatološkom dijagnozom) (Toledo *i sur.*, 2012) i 3) jer još uvijek nije do kraja provedena standardizacija izlučnih vrijednosti („*cut-off values*”) pojedinih bioloških biljega u dijagnostici neurodegenerativnih bolesti, napose AB. Za standardizaciju izlučnih vrijednosti potreban je veliki broj uzoraka. U jednoj od najvećih studija bilo je uključeno 40 laboratorija te su za određivanje koncentracija biomarkera korišteni kitovi triju različitih proizvođača (Innogenetics, Invitrogen Biosource, Meso Scale Discovery). Izmjerene razine biomarkera u stratificiranim skupinama bolesnika bile su dramatično različite, a koeficijent varijacije je varirao od 13-36% (Mattsson *i sur.*, 2011). Naše istraživanje je pokazalo slične rezultate, točnije pokazali smo da je razlika u ELISA kitovima za A $\beta$ <sub>1-42</sub> i ukupni tau različitih proizvođača statistički značajna, što onemogućuje simultanu uporabu tih kitova u istom laboratoriju ili za isto istraživanje (Babić *i sur.*, 2013). Dodatni problem u ranoj dijagnostici AB na temelju likvorskih bioloških biljega su varijabilnosti u preanalitičkim i analitičkim postupcima obrade uzoraka. Preanalitička varijabilnost se odnosi na izbor ispitanika te tretman likvorskih uzoraka nakon lumbalne punkcije (npr. temperatura pohrane, izbor tubica za pohranu uzoraka, broj ciklusa smrzavanja i odmrzavanja prije analize) (Carrillo *i sur.*, 2013; Šimić *i sur.*, 2008; Vanderstichele *i sur.*, 2012), dok se analitički čimbenici odnose na laboratorijske postupke koji se razlikuju između laboratorija (Teunissen *i sur.*, 2010).

### 1.4.1. Biomarkeri u cerebrospinalnoj tekućini (likvoru)

Biokemijske promjene u metabolizmu moždanog tkiva vjerno se odražavaju u sastavu likvora, pa se zato za likvor kaže da je „prozor u zbivanja u mozgu“ (Raedler i Wiedemann, 2006). Likvor je bezbojna tekućina koja oplahuje mozak i leđnu moždinu te ispunjava moždane komore, akvedukt i središnji kanal. Ima sličan sastav kao i serum, najveća razlika je u tome što su razina proteina i glukoze u likvoru manje, a klorida i laktata veće. Likvor je bogat aminokiselinama, anorganskim solima, šećerima, te sadrži kateholamine, steroide i njihove metabolite. U likvoru zdravih osoba ima malo stanica (oko 5 stanica po mikrolitru), uglavnom limfocita i monocita. Glavna funkcija likvora je mehanička zaštita mozga jer djeluje poput „moždanog jastuka“ (prema Arhimedovom zakonu masa mozga od 1500 grama u tekućini likvora snižava se na 49,5 grama), a regulacija sastava i tlaka likvora je ključna za održavanje homeostaze središnjeg živčanog sustava. Približno 500 mililitara likvora se svakodnevno proizvede ultrafiltriranjem plazme u koroidnom pleksusu moždanih komora koji se sastoji od spletova kapilara čije su epitelne stanice povezane čvrstim spojevima (Damkier *i sur.*, 2013). Ta krvno-likvorska barijera onemogućuje direktni kontakt krvi sa likvorom, osim u području cirkumventrikularnih organa (*organum vasculosum laminae terminalis*, *organum subfornicale*, *organum subcommissurale*, *area postrema*, *epiphysis*, *neurohypophysis* i *eminentia mediana*), gdje ne postoji krvno-moždana, već krvno-likvorska barijera. Stvaranje i apsorpcija (izmjena) likvora prvenstveno je posljedica stalne filtracije vode između moždanih kapilara i intersticijske tekućine mozga (Orešković *i sur.*, 2016). Ukupni volumen likvora koji se u središnjem živčanom sustavu tako izmjeni svakih 5-6 sati iznosi oko 150 ml (u ventrikulima se nalazi oko 25 ml likvora, a još oko 125 ml u subarahnoidalnom prostoru).

Tijekom starenja se smanjuje i proizvodnja likvora i njegovo „otjecanje“ iz intersticija u vensku krv. Zbog takve smanjene izmjene likvora se smanjuje i ispiranje štetnih tvari iz međustanične tekućine, napose A $\beta$ . Zbog sličnosti s limfom, te činjenice da ga posreduju glija (astroglija) stanice, taj je sustav nazvan glimfatički sustav mozga (*glymphatic system*) (Iliff *i sur.*, 2012). Budući da priljev (*influx*) molekula vode iz perikapilarnog (Virchow-Robinovog) prostora u intersticij, a također i otjecanje vode i metabolita najviše ovise od akvaporin-4 kanala za vodu, taj se proces može proučavati u mišjem modelu kod kojega je gen za ove kanale inaktiviran. Izvanredno je zanimljiv nalaz kako je pomoću novorazvijene metode za praćenje molekula izotopa vode H<sub>2</sub><sup>17</sup>O u transgeničnih miševa koji stvaraju SP pokazan gotovo identičan nalaz smanjenog „ispiranja“ A $\beta$  kao što se to vidi i u miševa kojima je utišan gen za akvaporin-4 kanale za vodu (Igarashi *i sur.*, 2014). Na temelju navedenog se smatra

kako poremećaj limfatičkog sustava ima značajnu ulogu u smanjenom otplavlivanju A $\beta$ , a time i nastanku SP, odnosno AB.

Iako još uvijek nisu detaljno poznati svi mehanizmi tog procesa, pretpostavlja se kako zbog njega mnogi bolesnici s AB razviju normotenzivni hidrocefalus (Pomeraniec *i sur.*, 2016) i obrnuto, kod pacijenata s normotenzivnim hidrocefalusom preporučuje se napraviti obradu na moguću AB (Elobeid *i sur.*, 2015). Tu se postavlja pitanje koja bi onda bila razlika između patofizioloških procesa koji dovode do AB i idiopatskog hidrocefalusa s normalnim tlakom likvora (iNPH, *idiopathic normal-pressure hydrocephalus*)? Jedna skupina autora smatra da su iNPH i AB zapravo dvije krajnosti istoga procesa, a razlika je samo u tome što se kod AB prvenstveno radi o smanjenom utijeku molekula vode iz perikapilarnog prostora u intersticij i smanjenoj proizvodnji likvora, dok bi se kod iNPH prvenstveno radilo o povećanom otporu otjecanja intersticijske tekućine s metabolitima (uključujući i A $\beta$ ) u venule (Silverberg *i sur.*, 2003). Bez obzira na to koji proces u pojedine osobe započne prvi, on dramatično povećava i rizik za nastanak onog drugog, što potvrđuju i epidemiološke studije i klinička zapažanja (Golomb *i sur.*, 2000; Savolainen *i sur.*, 1999).

Likvor se izuzima postupkom lumbalne punkcije nakon informiranog pristanka pacijenta. Prilikom sumnje na demenciju opće je prihvaćeno mišljenje da je korist od nalaza punkcije daleko veća od mogućih potencijalnih komplikacija (koje su izuzetno rijetke ako se punkcija izvodi sterilnim priborom). Pri izvođenju lumbalne punkcije, leđa pacijenta trebaju biti u najvećem mogućem stupnju fleksije (u sjedećem ili ležećem položaju), a tanka sterilna igla se umeće između šiljatih nastavaka 3. i 4. ili 4. i 5. slabinskog kralješka. Zatim se igla pažljivo gurne prema naprijed sve dok se ne osjeti „treći“ otpor prolasku igle (prvi je koža, drugi je ligamentum flavum) kada se probije dura mater spinalis. Tada je vrh igle u subarahnoidalnom prostoru pa se iz njega izuzima mala količina cerebrospinalne tekućine (obično 5 ml). U istom aktu se može manometrom izmjeriti i tlak likvora.

#### 1.4.1.1. Amiloid $\beta$

Brojne studije su potvrdile da u likvoru oboljelih od AB dolazi do sniženja  $A\beta_{1-42}$  (Babić *i sur.*, 2013; Babić Leko *i sur.*, 2016; Craig-Schapiro *i sur.*, 2011; Fagan *i sur.*, 2009). Razlog otprilike 50% sniženoj difuziji  $A\beta_{1-42}$  u likvor se objašnjava povećanim odlaganjem  $A\beta_{1-42}$  u obliku SP (Grimmer *i sur.*, 2009). No, budući da je sniženje  $A\beta_{1-42}$  u likvoru uočeno i u drugim bolestima u kojima ne dolazi do stvaranja SP u mozgu (poput CJB, i MSA), misli se da sniženje  $A\beta_{1-42}$  u likvoru može biti posredovano i drugim mehanizmima (Holmberg *i sur.*, 2003; Otto *i sur.*, 2000). Tako sniženje  $A\beta_{1-42}$  u likvoru može biti rezultat vezanja  $A\beta_{1-42}$  za ApoE, cystatin C,  $\beta$ -trace protein (mjerjenje tog proteina u likvoru koji se u novije vrijeme naziva prostaglandin  $D_2$  sintaza je inače najbolji poznati biljeg za cerebrospinalne fistule, odnosno stanja u kojima dolazi do nekontroliranog otjecanja likvora izvan likvorskog sustava, npr. rinoreju ili otoreju, (Bachmann-Harildstad, 2008)), ili pak kao posljedica akumulacije ili sekvestracije u obliku  $A\beta$  oligomera (Hempel *i sur.*, 2010b).

U jednom je istraživanju  $A\beta_{1-42}$  u likvoru pokazao visoku osjetljivost (78-100%), ali nedostatnu specifičnost (47-81%) u razlikovanju bolesnika s AB od zdravih kontrola (Blennow i Hempel, 2003). Izlučna (*cut-off*) vrijednost  $A\beta_{1-42}$  u likvoru je postavljena na 500 pg/ml te se vrijednosti  $A\beta_{1-42}$  niže od 500 pg/ml smatraju patološkima (Humpel, 2011). Razine  $A\beta_{1-42}$  se ne mijenjaju puno tijekom starenja i u patološkim stanjima poput moždanog udara, depresije, PB, alkoholne demencije i PSP (Holmberg *i sur.*, 2003; Sjögren *i sur.*, 2000). No, u stanjima poput VaD, FTD, DLB, ALS, CJB, MSA te prilikom upale uočeno je sniženje razine  $A\beta_{1-42}$  u likvoru, što rezultira nedovoljnom specifičnošću  $A\beta_{1-42}$  kad se rabi u svrhu postavljanja dijagnoze AB (Holmberg *i sur.*, 2003; Kanemaru *i sur.*, 2000; Otto *i sur.*, 2000; Sjögren *i sur.*, 2000, 2002). Dodatno,  $A\beta_{1-42}$  nije pogodan biološki biljeg AB zbog visoke nestabilnosti (raspada se nakon samo dva ciklusa smrzavanja i odmrzavanja) te čini samo oko 10% od ukupne količine izooblika likvorskog  $A\beta$ . Stoga se, iako u AB nisu zamijećene značajnije promjene u vrijednostima  $A\beta_{1-40}$  u likvoru (obično je nepromijenjen ili blago povišen), boljim biološkim biljegom AB smatra određivanje omjera  $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$  (Hansson *i sur.*, 2006). No, kako se sniženje  $A\beta_{1-42}$  događa vrlo rano, tj. puno prije pojave prvih simptoma AB,  $A\beta_{1-42}$  se još uvijek koristi u dijagnostici AB i kao samostalan biljeg. Iako neki smatraju kako se mjerenjem razine  $A\beta_{1-42}$  u likvoru poboljšava točnost rane dijagnoze AB kod osoba s BSP (Diniz *i sur.*, 2008), dijagnostička specifičnost  $A\beta_{1-42}$  u ranom otkrivanju bolesti se stalno nastoji poboljšati i novim biološkim biljezima (Fagan i Holtzman, 2010).

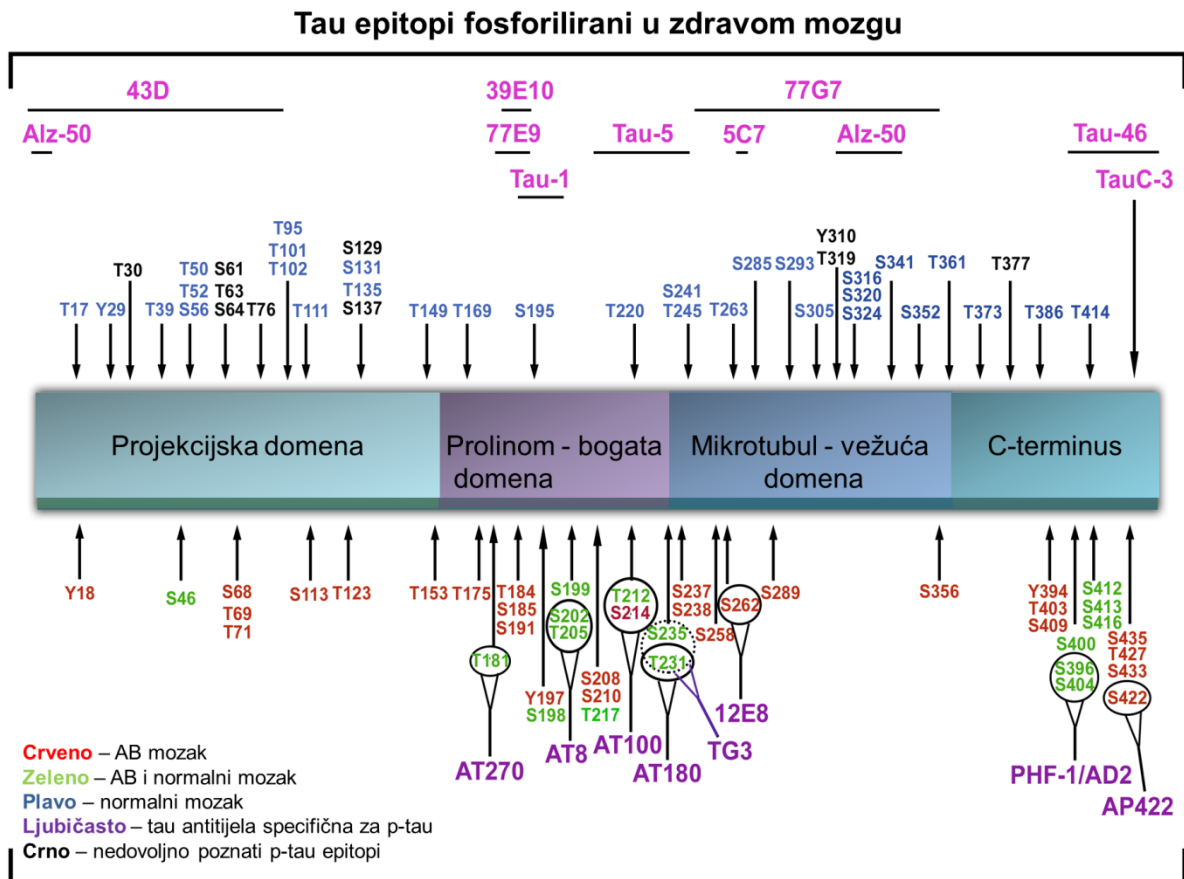
### ***1.4.1.2. Ukupni tau protein***

Raspad aksona i odumiranje neurona dovode do povećanog otpuštanja i koncentracije tau proteina u likvoru. Mnoga istraživanja su potvrdila povećanje ukupnog tau proteina (*t-tau*, *total tau*) u likvoru bolesnika s AB (Babić *i sur.*, 2013; Babić Leko *i sur.*, 2016; Boban *i sur.*, 2008; Craig-Schapiro *i sur.*, 2011; Šimić *i sur.*, 2007). Razina ukupnog tau varira od 300 do 900 pg/ml te može biti povećana i do 300% u AB u odnosu na zdrave kontrole (Blennow, 2004). Kako vrijednosti ukupnog tau proteina rastu sa starenjem, preporučene su izlučne vrijednosti prilagođene dobi ispitivanih osoba. Za osobe od 51-70 godina starosti, vrijednosti ukupnog tau iznad 450 pg/ml smatraju se patološkima, dok je za osobe starije od 71 godinu izlučna vrijednost postavljena na 600 pg/ml (Humpel, 2011). U jednom istraživanju je određivanje razine ukupnog tau imalo visoku osjetljivost (84%) i specifičnost (91%) u razlikovanju bolesnika s AB od zdravih osoba (Blennow, 2004). Ipak, tumačenje razine ukupnog tau treba uvijek činiti s velikim oprezom budući da se povećanje razine ukupnog tau u likvoru može dogoditi i kao posljedica traumatske ozljede mozga, moždanog udara, CJB, FTD te VaD (Boban *i sur.*, 2008, 2010; Hesse *i sur.*, 2001; Šarac *i sur.*, 2008; Šimić *i sur.*, 2007). U svim navedenim stanjima je ukupni tau umjereno povišen, osim u CJB gdje kao posljedica teškog oštećenja moždanog tkiva vrijednosti ukupnog tau u likvoru mogu dosegnuti čak 3000 pg/ml – tzv. „tau rakete“ (Riemenschneider *i sur.*, 2003). Zbog svega navedenog, ukupni tau nije pouzdan biološki biljeg u razlikovanju AB od ostalih primarnih uzroka sindroma demencije. No, kako su vrijednosti ukupnog tau normalne u likvoru gerijatrijskih bolesnika s velikim depresivnim poremećajem, mjerenje ukupnog tau omogućuje izvrsno razlikovanje bolesnika s AB (kod kojih je rani simptom depresija) od gerijatrijskih bolesnika s velikim depresivnim poremećajem (Bürger née Buch *i sur.*, 1999). Pomoću ukupnog tau je s relativno visokom osjetljivošću i specifičnošću također moguće otkriti ranu AB u skupini oboljelih od BSP (Diniz *i sur.*, 2008), no kao i u slučaju s  $A\beta_{1-42}$ , potrebno je imati na umu da BSP može prethoditi i drugim tipovima demencije u kojima je ukupni tau također povišen (Diniz *i sur.*, 2008).

### 1.4.1.3. Fosforilirani tau proteini

U AB je fosforilirani tau protein (p-tau, *phosphorylated tau*) povećan i do 250% u odnosu na zdrave osobe (Blennow, 2004; Boban *i sur.*, 2008, 2010; Fagan *i sur.*, 2009; Šimić *i sur.*, 2007). U likvoru se mogu određivati i razine pojedinih p-tau epitopa, najčešće treonin 181 (p-tau<sub>181</sub>), treonin 231 (p-tau<sub>231</sub>) i serin 199 (p-tau<sub>199</sub>) (Blennow i Hampel, 2003; Boban *i sur.*, 2010; Hampel *i sur.*, 2003, 2004; Hu *i sur.*, 2002). Zbog viših vrijednosti osjetljivosti (80%) i specifičnosti (92%) p-tau pri razlikovanju bolesnika s AB od zdravih pojedinaca (Blennow i Hampel, 2003), općenito je prihvaćena činjenica kako p-tau u likvoru bolje odražava patologiju AB od ukupnog tau. Naime, za razliku od ukupnog tau koji je pokazatelj opće degeneracije i smrti neurona, misli se da p-tau odražava fosforilacijsko stanje tau proteina (**Slika 14**) i stvaranje NFT u mozgu oboljelih od AB (Bürger *i sur.*, 2006). Međutim, još uvijek nije jasno koji je glavni izvor p-tau u likvoru i na koji nači neuroni pogođeni patologijom tau proteina „otpuštaju“ p-tau u izvanstanični prostor. Stoga neki znanstvenici još uvijek preispituju odražava li p-tau uistinu stvaranje NFT u mozgu oboljelih od AB (Braak *i sur.*, 2013). Bez obzira što još uvijek nije poznat mehanizam otpuštanja p-tau proteina u likvor, korištenjem p-tau kao biljega postigla se 80% specifičnost u razlikovanju AB od ostalih primarnih uzroka sindroma demencije (Hampel *i sur.*, 2004). Uporabi p-tau kao biološkog biljega AB doprinosi činjenica da su vrijednosti p-tau normalne u patološkim stanjima poput moždanog udara, depresije, FTD, DLB i VaD (Bürger *i sur.*, 2003; Hesse *i sur.*, 2001; Riemenschneider *i sur.*, 2003). Umjereno povećanje p-tau je opaženo u CJB (Riemenschneider *i sur.*, 2003), a sniženje p-tau i ukupnog tau u PB (Zhang *i sur.*, 2013).

U većini kliničkih studija se ukupni tau, p-tau<sub>181</sub> i A $\beta$ <sub>1-42</sub> mjere u likvoru kao dio rutinske analize. Izlučna vrijednost p-tau<sub>181</sub> postavljena je na 60 pg/ml (Hampel *i sur.*, 2003, 2004; Hampel, 2011). P-tau<sub>181</sub> se potvrdio dobrim biološkim biljekom u razlikovanju AB od DLB i oboljelih od hidrocefalusa s normalnim intrakranijskim tlakom (Hampel *i sur.*, 2004; Kapaki *i sur.*, 2007). Povrh toga, Hansson i suradnici (Hansson *i sur.*, 2006) su kombinacijom ukupnog tau, A $\beta$ <sub>1-42</sub> i omjera A $\beta$ <sub>1-42</sub>/p-tau<sub>181</sub> uspješno (s 95% osjetljivošću i 83-87% specifičnošću) odredili osobe s BSP čije je stanje progrediralo u AB (BSP-AB).



### Tau epitopi fosforilirani u AB mozgu

**Slika 14.** Fosforilacija tau proteina u zdravom i mozgu bolesnika s AB. U ljubičastoj boji prikazana su protutijela na nefosforilirane tau epitope: Alz-50 (aminokiseline, ak 2-10, ak 312-342), 43D (ak 1-100), 77E9 (ak 185-195), 39E10 (ak 189-195), Tau-5 (ak 210-230), 5C7 (ak 267-278), Tau-1 (ak 195, 198, 199 i 202), 77G7 (ak 270-375), Tau-46 (ak 404-441), TauC-3 (tau pocijepan na ak 421).

Preuzeto i prilagođeno iz: (Šimić *i sur.*, 2016)



#### 1.4.1.4. Longitudinalne promjene likvorskih biomarkera

Longitudinalna praćenja bioloških biljega su jako vrijedna u praćenju terapijskog odgovora. Stoga je bitno znati dolazi li tijekom progresije AB do longitudinalnih promjena glavnih likvorskih biljega ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau), odnosno koreliraju li njihove razine s napredovanjem bolesti. Potvrđeno je da razine likvorskih bioloških biljega ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau) mogu biti stabilne od 6 mjeseci pa čak i do 2 godine tijekom progresije bolesti, te stoga pogodne i za praćenje promjena u likvoru do kojih su eventualno doveli potencijalni terapijski postupci (Le Bastard *i sur.*, 2013; Blennow *i sur.*, 2007; Mattsson *i sur.*, 2012). No, postoje i oprečne studije u kojima je uočeno brzo povećanje  $A\beta_{1-42}$  i ukupnog tau (ali ne i p-tau) tijekom napredovanja bolesti (Bouwman *i sur.*, 2007), ali i sniženje  $A\beta_{1-42}$  i p-tau u kasnim stadijima (Mollenhauer *i sur.*, 2005; Seppälä *i sur.*, 2011). Toledo i suradnici (Toledo *i sur.*, 2013) su tijekom longitudinalnog praćenja opisali dvije različite skupine ispitanika s normalnim početnim likvorskim vrijednostima bioloških biljega: pacijente sa stabilnim i pacijente s abnormalnim vrijednostima likvorskih bioloških biljega (snižanim  $A\beta_{1-42}$  i povećanim p-tau<sub>181</sub>). I oni su pretpostavili kako sniženje  $A\beta_{1-42}$  prethodi povećanju p-tau<sub>181</sub> (Buchhave *i sur.*, 2012; Toledo *i sur.*, 2013). Najčešće citirani model dinamike promjena bioloških biljega u AB koji su predložili Jack i suradnici također podupire shvaćanje kako se razina  $A\beta_{1-42}$  u likvoru mijenja (smanjuje) puno prije nastanka tau patologije u živčanom sustavu i likvoru (**Slika 14**) (Jack *i sur.*, 2010, 2013b). Prema tom modelu sigmoidalnih krivulja abnormalnosti bioloških biljega tijekom progresije bolesti, u trenutku pojave prvih simptoma demencije, većina bioloških biljega je već dosegla fazu platoa (osobito  $A\beta_{1-42}$ ) te se ne mijenjaju značajno kao u pretkliničkoj fazi bolesti (Jack *i sur.*, 2013b). Iako je rezultat svih navedenih istraživanja shvaćanje kako promjene  $A\beta_{1-42}$  u likvoru nastupaju prije promjena tau proteina, Braak i suradnici misle da je ovaj model nepotpun jer ne definira vremenski razmak između krivulja pojedinih biljega te također ne uzima u obzir dobro poznati nalaz o tome da unutarstanična agregacija tau proteina prethodi nastanku SP u mozgu oboljelih od AB (Braak *i sur.*, 2013).

### 1.4.1.5. Novi likvorski biomarkeri

Pored temeljnih likvorskih bioloških biljega AB, novi bi biološki biljezi mogli dati još bolji uvid u patološke procese u AB i poboljšati dijagnostiku bolesti (Craig-Schapiro *i sur.*, 2011). Novi biološki biljezi se uglavnom deriviraju iz signalnih putova koji uključuju metabolizam A $\beta$ , upalu, neurodegeneraciju i metabolizam lipida (**Tablica 4**). Većina navedenih potencijalnih biljega se zbog visokih varijabilnosti u vrijednostima između različitih studija ne koristi u dijagnostici AB. Od svih navedenih potencijalnih bioloških biljega AB u tablici 4 su se do sada najboljima pokazali proteini VILIP-1 i YKL-40.

**Tablica 4.** Potencijalni biološki biljezi AB.

Proces	Potencijalni biološki biljeg	Referenca
Metabolizam A $\beta$	Aktivnost $\beta$ -sekretaze	(Fagan i Perrin, 2012)
	APP izooblici (topljivi APP $\alpha$ i topljivi APP $\beta$ )	(Fagan i Perrin, 2012)
	A $\beta$ izooblici oštećeni na C-terminusu (A $\beta$ 1-14, A $\beta$ 1-15, A $\beta$ 1-16, A $\beta$ 1-37, A $\beta$ 1-38, A $\beta$ 1-39)	(Wiltfang <i>i sur.</i> , 2002)
	Oligomeri A $\beta$	(Cleary <i>i sur.</i> , 2005)
	Neprilizin	(Maruyama <i>i sur.</i> , 2005)
	Cistatin C	(Sundelöf <i>i sur.</i> , 2008)
Degeneracija	Vizininu-sličan protein 1 (VILIP-1, <i>visinin-like protein 1</i> )	(Babić Leko <i>i sur.</i> , 2016)
	Neurofilamenti	(de Jong <i>i sur.</i> , 2007)
	Neuromodulin (GAP43, <i>growth associated protein 43</i> )	(de Jong <i>i sur.</i> , 2007)
	$\alpha$ -Distroglikan	(Yin <i>i sur.</i> , 2009)
	Prekursor adhezijske molekule neurona 1 (NCAM-120, <i>neural cell adhesion molecule 120</i> )	(Yin <i>i sur.</i> , 2009)
	Kokainom i amfetaminom regulirani transkript (CART, <i>cocaine- and amphetamine-regulated transcript</i> )	(Mao, 2012)
Upala	Interleukin 1 (IL-1)	(Brosseron <i>i sur.</i> , 2014)
	Interleukin 6 (IL-6)	(Brosseron <i>i sur.</i> , 2014)
	Transformirajući čimbenik rasta $\beta$ (TGF- $\beta$ , <i>transforming growth factor <math>\beta</math></i> )	(Brosseron <i>i sur.</i> , 2014)
	Faktor nekroze tumora $\alpha$ (TNF- $\alpha$ , <i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i> )	(Brosseron <i>i sur.</i> , 2014)
	Komponenta komplementa 3 (C3, <i>complement component 3</i> )	(Hu <i>i sur.</i> , 2016)
	Interferon- $\gamma$	(Brosseron <i>i sur.</i> , 2014)
	S100 kalcij-vežući protein A7 (S100A7)	(Qin <i>i sur.</i> , 2009)
	Receptor pokretanja izražen na mijeloidnim stanicama 2 (TREM2, <i>triggering receptor expressed on myeloid cells 2</i> )	(Heslegrave <i>i sur.</i> , 2016)
	Hitotriozidaza	(Rosén <i>i sur.</i> , 2014)
Hitinazi-3-slični protein 1 (YKL-40, <i>chitinase-3-like protein 1</i> )	(Craig-Schapiro <i>i sur.</i> , 2010)	
Metabolizam lipida	F2-izoprostan	(Montine <i>i sur.</i> , 2005)
	27-hidroksikolesterol (27-OHC)	(Leoni <i>i sur.</i> , 2006)
	ApoE, ApoJ, ApoA-I	(Hayashi, 2011)
	Sfingolipidi	(Košíček <i>i sur.</i> , 2012)

## 1.4.2. Neuroslikovni biomarkeri

Uz likvorske, ponajboljim biološkim biljezima za ranu dijagnostiku AB se smatraju neuroslikovni biološki biljezi (Dubois *i sur.*, 2014; Hort *i sur.*, 2010). MRI je neuroslikovna metoda koja daje uvid u strukturu mozga. Najranije promjene u AB koje se mogu zabilježiti pomoću MRI su atrofija hipokampusa i entorinalne moždane kore (de Toledo-Morrell *i sur.*, 2004), a zatim i stanjenje cijele moždane kore koje je u normalnih starijih osoba 0.2-0.5% godišnje, a u AB 2-3% godišnje (Fox *i sur.*, 1999; Fox i Schott, 2004). Budući da su navedene promjene zapažene i u VaD i FTD, upotreba MRI nije dostatna u dijagnostici AB (Bastos-Leite *i sur.*, 2007; Jauhiainen *i sur.*, 2009; van de Pol *i sur.*, 2006). Funkcionalna MRI (fMRI) se također razmatra kao metoda u dijagnostici demencija. Naime, bolesnici s AB imaju sniženu aktivnost živčanih stanica u hipokampusu i tjemenu reznju, dok im je neuralna aktivnost u primarnim (idiotipskim) područjima moždane kore, koja uobičajeno nisu zahvaćena patološkim promjenama sve do zadnjeg stadija AB, povećana (Teipel *i sur.*, 2003). Šimić i suradnici (Šimić *i sur.*, 2014) su naglasili važnost fMRI u oslikavanju “mreže stalne aktivnosti” (DMN, *default mode network*) kao potencijalnog biološkog biljega AB. Oštećenja u funkciji DMN se mogu pomoću fMRI otkriti jako rano, prije pojave prvih simptoma demencije (Šimić *i sur.*, 2014).

Pozitronska emisijska tomografija, metoda kojom se mjeri promjena metabolizma u mozgu je potencijalno najbolja neuroslikovna metoda u dijagnostici demencija. Tom se metodom pomoću standardnog radioliganda za vizualizaciju energijskog metabolizma  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoksiglukoze (FDG) u mozgu oboljelih od AB u tjemenu, sljepoočnoj i stražnjoj cingularnoj moždanoj kori gotovo uvijek zabilježi hipometabolizam (Jagust, 2006). Primjenom FDG-PET se s 93%-tnom specifičnošću i 84%-tnom osjetljivošću uspješno razlikovati oboljele od AB od zdravih ispitanika (Herholz *i sur.*, 2002). Uporabom radionuklida poput PiB (*Pittsburgh Compound-B*) i  $^{18}\text{F}$ FDDNP (2- (1- {6- [(2-  $^{18}\text{F}$ ] fluoroetil (metil) amino]- 2-naftil} etilidin) malononitril) (2- (1- {6- [(2-  $^{18}\text{F}$ ] fluoroethyl (methyl) amino]- 2-naphthyl} ethylidene) malononitrile), moguće je u mozgu oboljelih *in vivo* detektirati SP (PiB), odnosno NFT zajedno sa SP ( $^{18}\text{F}$ FDDNP) (Fagan *i sur.*, 2007, 2011; Jack *i sur.*, 2013a; Tolboom *i sur.*, 2009). Uz PiB i  $^{18}\text{F}$ FDDNP su relativno nedavno još dva dodatna radionuklida odobrena za vizualizaciju amiloida:  $^{18}\text{F}$ florbetapir (Amyvid) i  $^{18}\text{F}$ flutemetamol (Vizamyl). Također i radionuklidi  $^{18}\text{F}$ - florbetaben i  $^{18}\text{F}$ -NAV4694, koji se rabe za vizualizaciju amiloida te  $^{18}\text{F}$ - T808 i  $^{11}\text{C}$ - PBB3 (*phenyl/pyridinyl-butadienyl-*

*benzothiazoles/benzothiazolium*), koji se koriste za vizualizaciju patoloških promjena tau proteina, također polako ulaze u sve širu kliničku primjenu (Šimić *i sur.*, 2014).

Iako neuroslikovne metode daju izvrsne rezultate u ranom otkrivanju AB i razlikovanju AB od drugih demencija, zbog korištenja visoko sofisticirane tehnologije i skupoće radionuklida, još uvijek su nedostupne većini zdravstvenih ustanova u svijetu, pa tako i u Republici Hrvatskoj (**Tablica 2**). Budući da također mjeri biološku aktivnost danog radioliganda u prostoru (ali sa slabijom rezolucijom prikaza od one kakva se dobije PET snimanjem), značajno jeftinija neuroslikovna metoda SPECT, također je dobar izbor za pouzdano otkrivanje hipometabolizma sljepoočno-tjemene (a u kasnijim stadijima i prefrontalne moždane kore) u oboljelih od AB u odnosu na zdrave kontrole (Trollor *i sur.*, 2005). Nažalost, bez obzira na relativno široku dostupnost, SPECT metoda se još uvijek nedovoljno koristi u dijagnostici AB i drugih demencija.

### 1.4.3. Biomarkeri u plazmi

S obzirom da se lumbalna punkcija još uvijek smatra invazivnom metodom, u brojnim studijama su ispitivani i ispituju se potencijalni biološki biljezi AB u krvi (plazmi i serumu). Iako su u plazmi oboljelih od AB mjerene vrijednosti kolesterola, homocisteina, ApoA1, F2-izosprostana, čimbenika komplementa H, A $\beta$  autoantitijela i  $\alpha_2$ -makroglobulina (Gustaw *i sur.*, 2008; Hye *i sur.*, 2006; Irizarry, 2004; Merched *i sur.*, 2000; Seshadri, 2006), nažalost do danas niti jedan od ispitivanih bioloških biljega nije postigao zadovoljavajuće vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti (Irizarry, 2004). U plazmi oboljelih od AB je zamjećena i snižena izraženost enzima ADAM10 (*A disintegrin and metalloprotease 10*) iz trombocita, čije se mjerenje također razmatra kao potencijalni rani biološki biljeg AB, budući da se radi o najvažnijem enzimu s  $\alpha$ -sekretaznom aktivnošću (Manzine *i sur.*, 2013).

S obzirom na dijagnostički potencijal u likvoru, A $\beta$  u plazmi je najispitivaniji biološki biljeg AB. Nažalost, istraživanja dijagnostičkog potencijala A $\beta$  u plazmi su dala oprečne rezultate: 1) povećanje A $\beta_{1-42}$  i A $\beta_{1-40}$  u plazmi, 2) povećanje A $\beta_{1-42}$  (ali ne i A $\beta_{1-40}$ ), 3) povećanje A $\beta_{1-40}$  (ali ne i A $\beta_{1-42}$ ) i 4) nepromijenjene vrijednosti A $\beta_{1-42}$  i A $\beta_{1-40}$  u plazmi (Irizarry, 2004; van Oijen *i sur.*, 2006). Dodatno je predloženo praćenje snižavanja omjera A $\beta_{1-42}$ /A $\beta_{1-40}$  kao mogući pokazatelj konverzije BSP u AB (Graff-Radford *i sur.*, 2007). Najznačajnija otežavajuća okolnost nastojanjima dijagnostičke primjene A $\beta$  u plazmi je to što još uvijek nije jasno odražava li A $\beta$  u plazmi stanje u mozgu budući da se proizvodi i u

drugim tkivima (Freeman *i sur.*, 2007), a pored toga izmjerena vrijednost vjerojatno ovisi i od stanja propusnosti KMB. Konačni cilj dijagnostike AB iz plazme je pronalazak kombinacije bioloških biljega koja bi rezultirala dijagnostički korisnim probirnim testovima. Ukoliko bi u budućnosti takvo testiranje bilo moguće, još uvijek bi se samo osobe sa sumnjom na demenciju podvrgavali određivanju visoko specifičnih i osjetljivih (a samim time i skupljih) neuroslikovnih i likvorskih bioloških biljega AB (Galasko i Golde, 2013).

## **1.5. Poremećaj homeostaze metala u Alzheimerovoj bolesti**

Smatra se kako je homeostaza iona metala poremećena u mozgu oboljelih od AB (Bush, 2013). Ovdje se u prvom redu misli na metale koji su u normalnim okolnostima prisutni u organizmu i bitni za funkcioniranje brojnih enzima. Kalcij, natrij i magnezij su najzastupljeniji metali u ljudskom organizmu, dok se metali poput bakra, željeza, cinka, kroma, molibdena, mangana, kobalta, silicija, vanadija, kositra i bora nalaze samo u tragovima. Ioni metala stabiliziraju proteine i nukleinske kiseline, ključni su za funkcioniranje metaloenzima (nalaze se u aktivnom mjestu enzima), a djeluju i kao sekundarni glasnici. Hipoteza o poremećaju homeostaze metala u AB pretpostavlja da je patogeneza bolesti posljedica poremećenog metabolizma prvenstveno bakra, cinka i željeza u mozgu (Bush, 2013). Neka su istraživanja pokazala i povezanost metala koji u normalnim okolnostima nisu prisutni u organizmu s nastankom AB, poput aluminija i teških metala - žive, olova i kadmija (Basun *i sur.*, 1991). U područjima mozga zahvaćenim patološkim promjenama karakterističnima za AB je uočen oksidativni stres i povećano stvaranje slobodnih radikala kisika. Dobro je poznato kako ioni dvovalentnih metala (poput Fe, Cu, Zn i Al) sudjeluju u Fentonovoj reakciji u kojoj se uslijed reakcije reduciranog dvovalentnog metala s vodikovim peroksidom (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) stvaraju slobodni radikali kisika (u ovom slučaju hidroksilni radikal, HO·) koji svojom visokom reaktivnošću uzrokuju oksidativni stres oštećujući proteine, lipide i nukleinske kiseline, što u konačnici može prouzročiti smrti neurona (Kanti Das *i sur.*, 2015). Nastanak oksidativnog stresa nije jedini mehanizam kojim bi ioni metala mogli pridonositi

nastanku AB. Nakupljanje metala je zabilježeno u SP i NFT, a dokazana je i interakcija različitih metala i metaloida s A $\beta$  peptidom, tau proteinom i glavnim poznatim predisponirajućim čimbenikom sporadične AB – izooblikom ApoE (Ayton *i sur.*, 2013; Xu *i sur.*, 2014a). No, još uvijek se traži odgovor na pitanje je li poremećaj homeostaze metala uzrok AB ili posljedica već ranije započetih patoloških procesa? Jedna je pretpostavka da do dishomeostaze iona metala u mozgu osoba s AB dolazi zbog veće propusnosti KMB (González-Domínguez *i sur.*, 2014; Sastre *i sur.*, 2015). Uzrok tome su možda abnormalnosti u strukturi i funkciji krvnih žila u osoba s AB (Raha *i sur.*, 2013; Sastre *i sur.*, 2015), zbog kojih može doći do pojačanog curenja iona metala iz krvi u mozak, te njihove akumulacije i posljedične neurodegeneracije (González-Domínguez *i sur.*, 2014; Sastre *i sur.*, 2015). U tablici 5 su prikazane dosadašnje studije u kojima su određivani makro- i mikroelementi u likvoru, serumu i plazmi oboljelih od AB (**Tablica 5**). U tablici 6 su prikazane usporedbe makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima AB (**Tablica 6**).

**Tablica 5.** Makro- i mikroelementi mjereni u likvoru, serumu i plazmi.

Referenca	Analizirana tjelesna tekućina	Korištena metoda	Mjereni makro- i mikroelementi	Skupine ispitanika	Opažanja – vrijednosti makro- i mikroelemenata u AB u odnosu na KONT
(Hershey <i>i sur.</i> , 1983)	Likvor	Emisijska spektrometrija pomoću induktivno spregnute argonske plazme	Al, As, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Si, Sn, Ti, V i Zn	AB, KONT	Si↑, Zn↑
(Subhash <i>i sur.</i> , 1991)	Likvor	Mjerenje koncentracije kalcija titracijom pomoću <i>o</i> -krezoftaleina, spektrofotometrijsko mjerenja koncentracije anorganskog fosfora pomoću amonij-molibdata	Ca i P	AB, VaD, KONT	Ca↓, P↓
(Basun <i>i sur.</i> , 1991)	Plazma		Al, Cd, Ca, Cu, Pb, Mg, Hg, As, Br, Cr, Fe, Mn, Ni, Rb, Se, Sr i Zn	AB, KONT	Al↑, Cd↑, Hg↑, Se↑, Fe↓, Mn↓
	Likvor		Al, Cd, Ca, Cu, Pb, Mg i Hg		Cd↓, Ca↓, Cu↑
(Molina <i>i sur.</i> , 1998)	Serum	Spektrofotometrijska metoda atomske apsorpcije	Fe, Cu, Mn i Zn	AB, KONT	Nije zapažena promjena
	Likvor				Zn↓
(Hock <i>i sur.</i> , 1998)	Krv	Spektrofotometrijska metoda atomske apsorpcije	Hg	AB, KONT	Hg↑
(Meseguer <i>i sur.</i> , 1999)	Serum	Spektrofotometrijska metoda atomske apsorpcije	Se	AB, KONT	Nije zapažena promjena
	Likvor				
(Smorgon <i>i sur.</i> , 2004)	Serum	Spektrofotometrijske ili kromatografske metode	Fe, Zn, Mn, Se, Co, Cr, Cu, Mo i Al	AB, KONT, VaD	Se↓, Co↓, Cr↓, Cu↑
(Bocca <i>i sur.</i> , 2005)	Serum	ICP-MS, ICP-AES	Al, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Si, Sn, Sr, Tl, V, W, Zn i Zr	AB, KONT	Ca↑, Cd↑, Hg↑, Mg↑, Si↑, Sn↑, Al↓, Co↓, Fe↓, Zn↓
	Puna krv				Cu↑, Li, ↑ Mn↑, Sn↑, Zr↑, Fe↓, Hg↓, Mo↓
(Alimonti <i>i sur.</i> , 2007)	Serum	ICP-MS, ICP-AES	Ca, Cu, Fe, Mg, Si, Zn, Ba, Be, Bi, Cd, Hg, Li, Mo, Pb, Sb, Sn, Sr, Tl, W, Zr, Al, Co, Cr, Mn, Ni i V	AB, KONT, PB, MS	Ca↑, Sn↑, Co↓, Fe↓, Zn↓
(Gerhardsson <i>i sur.</i> , 2008)	Plazma	ICP-MS	Mg, Ca, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs, Hg i Pb	AB, AB + VaD, KONT	Mn↑, Hg↑, Co↓, Se↓, Cs↓
	Likvor				V↓, Mn↓, Rb↓, Sb↓, Cs↓, Pb↓
(Baum <i>i sur.</i> , 2010)	Serum	ICP-MS	Al, As, Be, Cr, Co, Cu, I, Fe, Mn, Ni, Se i Zn	AB, KONT	Zn↓
(Hozumi <i>i sur.</i> , 2011)	Likvor	ICP-MS	Cu, Fe, Mg, Mn i Zn	AB, KONT, PB, ALS	Cu↑, Zn↑
(Bucossi <i>i sur.</i> , 2011)	Likvor	<b>Meta-analiza</b>	Cu	AB, KONT	Nije zapažena promjena
	Serum				Cu↑
	Plazma				Nije zapažena promjena
(Park <i>i sur.</i> , 2014)	Serum	ICP-MS	Pb, Cd, Hg, As	AB, KONT	Nije zapažena promjena
(González-Domínguez <i>i sur.</i> , 2014)	Serum	ICP-MS	Li, Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Mo, Cd, Pb	AB, BSP, KONT	Mn↓, Al↑, Se↓, Fe↑
(Tao <i>i sur.</i> , 2014)	Serum	<b>Meta-analiza</b>	Fe	AB, KONT	Fe↓
	Likvor				Nije zapažena promjena
(Wang <i>i sur.</i> , 2015)	Serum	<b>Meta-analiza</b>	Fe, Cu, Zn	AB, KONT	Cu↑, Zn↓, Nije zapažena promjena razine Fe
(Ventriglia <i>i sur.</i> , 2015)	Likvor	<b>Meta-analiza</b>	Zn	AB, KONT	Nije zapažena promjena razine Zn
	Serum				Zn↓
(Koç <i>i sur.</i> , 2015)	Serum	ICP-MS	Cu, Se, Zn, Mg, Mn i Fe	AB, KONT	Mn↓
	Kosa				Se↓, Zn↓, Cu↑, Mn↑
(Negahdar <i>i</i>		Spektrofotometrijska	Cu, Mn, Zn		

(sur., 2015)	Serum	metoda atomske apsorpcije (Cu, Mn) + dijagnostički kit (Zn)		BSP, KONT	Nije zapažena promjena
(Roberts i sur., 2016)	Serum	ICP-MS	K i Rb	AB, KONT	K↑, Rb↓
	Likvor				Nije zapažena promjena
(Paglia i sur., 2016)	Serum	ICP-MS	Al, Sb, As, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Hg, Mn, Mo, Ni, Se, Sr, Tl, Sn, U, V i Zn	AB, BSP, ispitanici sa subjektivnim smetnjama u pamćenju (SSP), KONT	Mn↓, V↑ (AB, BSP), Hg↓, Mo↑, Sb↓, Se↓ (BSP u odnosu na KONT), Cu↑ (SSP u odnosu na KONT), Zn↓ (AB i BSP u odnosu na SSP), Tl↓ (AB u odnosu na SSP), Fe↓ (AB u odnosu na SSP)

AB, Alzheimerova bolest; ALS, amiotrofična lateralna skleroza; BSP, blagi spoznajni poremećaj, ICP-AES, *inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*, emisijska spektrometrija pomoću induktivno spregnute plazme; ICP-MS, *inductively coupled plasma mass spectroscopy*, spektrometrija masa pomoću induktivno spregnute plazme; KONT, kontrola; MS, multipla skleroza; PB, Parkinsonova bolest; SSP, subjektivne smetnje u pamćenju; VaD, vaskularna demencija.

**Tablica 6.** Korelacija makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima.

Referenca	Analizirana tjelesna tekućina	Mjereni makro- i mikroelementi	Mjereni biološki biljezi	Opažanja
(Hock i sur., 1998)	Krv	Hg	A $\beta$ <sub>1-42</sub>	Izmjerene razine Hg u krvi su pozitivno korelirale s izmjerenim razinama A $\beta$ <sub>1-42</sub> u likvoru.
(Squitti i sur., 2006)	Serum, plazma, likvor izuzet lumbalnom punkcijom	Cu	A $\beta$ <sub>1-42</sub> , ukupni tau	Izmjerene razine Cu u serumu su negativno korelirale s izmjerenim razinama A $\beta$ <sub>1-42</sub> u likvoru, a pozitivno s vrijednostima ukupnog tau proteina u likvoru.
(Gerhardsson i sur., 2009)	Likvor (izuzet lumbalnom punkcijom)	Mg, Ca, V, Cd, Sn, Sb, Mn, Ni, Cu, Zn, Se, Rb, Fe, Co, Sr, Mo, Cs, Hg i Pb	A $\beta$ <sub>1-42</sub> , ukupni tau, p-tau <sub>181</sub>	Izmjerene razine Mn su pozitivno korelirale s izmjerenim razinama ukupnog tau proteina i p-tau <sub>181</sub> . Izmjerene razine Cs su negativno korelirale s izmjerenim razinama ukupnog tau proteina i p-tau <sub>181</sub> . Izmjerene razine Cs su pozitivno korelirale s izmjerenim razinama A $\beta$ <sub>1-42</sub> .
(Strozyk i sur., 2009)	Likvor (izuzet pri obdukciji iz ventrikula)	Cu, Zn, Fe, Mn i Cr	A $\beta$ <sub>1-42</sub>	Nadena je negativna korelacija izmjerenih razina A $\beta$ <sub>1-42</sub> s izmjerenim razinama Cu, Zn, Fe, Mn i Cr.

A $\beta$ <sub>1-42</sub>, amiloid  $\beta$ <sub>1-42</sub>.



### 1.5.1. Bakar

Optimalna razina bakra bitna je za normalno funkcioniranje mozga, što je razvidno iz poremećaja njegovog metabolizma. Na primjer, kod Menkesovog sindroma koji nastaje zbog spolno vezane mutacije gena *ATP7A* na X kromosomu, a koji kodira protein uključen u transmembranski prijenos iona bakra, dolazi do njegove smanjene apsorpcije u crijevu i posljedično snižene koncentracije u citosolu svih stanica u tijelu osim crijeva i bubrega, te duševne zaostalosti i neurodegeneracije (Kodama *i sur.*, 1999). Wilsonovu bolest karakterizira pojava psihoze, parkinsonizma i demencije (Merle *i sur.*, 2007), a nastaje zbog autosomno recesivnog defekta gena *ATP7B* na 13 kromosomu ili kao *de novo* mutacija; gen također kodira za protein uključen u transmembranski prijenos bakra, ali u ovom slučaju iz hepatocita u jetreni žučni kanal; zbog toga dolazi do nemogućnosti izlučivanja bakra jetrom iz organizma, pa dolazi do povećane razine i odlaganja bakra, osobito u jetri, mozgu (hepatolentikularna degeneracija), bubrezima i rožnici (patognomonični Keyser-Fleischerov zeleni prsten oko šarenice oka). I u AB je uočen poremećaj homeostaze bakra. Bakar se veže za A $\beta$  te potiče stvaranje i nakupljanje oligomera A $\beta$  (Jiao *i sur.*, 2005). Kompleks Cu-A $\beta$  ima citotoksično djelovanje koje se može dokinuti primjenom kelatora bakra (You *i sur.*, 2012). Unutar SP je izmjerena povećana koncentracija bakra (Lovell *i sur.*, 1998), a dokazana je i interakcija bakra s APP (Ayton *i sur.*, 2013). Ioni bakra mogu izazvati i fosforilaciju (putem Cdk5 i GSK3 kinaza) i agregaciju tau proteina (Kitazawa *i sur.*, 2009; Zhou *i sur.*, 2007), a također se misli kako mogu pridonijeti patogenezi AB i kroz interakciju s ApoE. ApoE2 izooblik ima najveći, a ApoE4 izooblik najmanji afinitet vezanja divovalentnih iona bakra, cinka i željeza (ApoE2 > ApoE3 > ApoE4) (Miyata i Smith, 1996; Moir *i sur.*, 1999). Do sada su ponuđena dva moguća objašnjenja kako bi različit afinitet metala za ApoE izooblike mogao doprinijeti nastanku AB: 1) Budući da ApoE2 izooblik ima veći afinitet vezanja metala od ApoE4 izooblika, nositelji  $\epsilon$ 2 alela u genu za ApoE imaju veći potencijal pohrane metala unutar ApoE u odnosu na nositelje rizičnog  $\epsilon$ 4 alela. Posljedica toga je veći antioksidativni potencijal ApoE2 u odnosu na ApoE4. Pored toga, metali vezani za ApoE2 neće moći potaknuti agregaciju A $\beta$  (Xu *i sur.*, 2014a); 2) Iako se ApoE u mozgu prvenstveno proizvodi u astrocitima, tijekom AB i neuroni mogu povećati vlastitu sintezu ApoE. Tako sintetiziran ApoE2 u neuronima je stabilniji (jer ga stabiliziraju metali za koje ima veći afinitet vezanja), dok je ApoE4 izooblik proizveden u neuronima nestabilniji, zbog čega se više i brže degradira pa tako oslobođeni fragmenti ApoE4 mogu oštetiti mitohondrije i citoskelet te dovesti do fosforilacije tau proteina (Xu *i sur.*, 2014a). Bakar i cink potiču

izraženost gena za ApoE (Cui *i sur.*, 2002; Reaves *i sur.*, 2000) što smanjuje sintezu ApoE, zbog čega se posljedično uklanja manje A $\beta$  iz mozga (Xu *i sur.*, 2014a). Brewer (2014) je predložio hipotezu u kojoj je kao glavni okolišni čimbenik koji dovodi do nastanka AB naveo anorganski bakar kojeg svakodnevno unosimo u organizam u vodi za piće ili kao dodatak tabletama (Brewer, 2014). Prema njemu je anorganski bakar toksičan, dok je organski bakar kojeg unosimo hranom vezan za proteine u hrani i stoga netoksičan. Otprilike 65-85% bakra je u plazmi vezano za ceruloplazmin, dok je ostatak slabo vezan za albumin ili je slobodan. Razina tog slobodnog bakra je povišena u krvi oboljelih od AB (Squitti *i sur.*, 2005). Brewer smatra da je epidemija AB u zemljama zapadnog svijeta započela nakon masovne upotrebe bakrenih vodovodnih cijevi (posebno nakon 1950. godine) kojima bakar dolazi u vodu za piće. Iako se glavnim uzrokom povećane incidencije AB u zemljama razvijenog svijeta smatra dob, odnosno povećana starost populacije, u Japanu (koji je također razvijena zemlja) je zabilježena niža stopa nastanka AB (Ueda *i sur.*, 1992). Zato je naročito zanimljiv podatak da je postavljanje bakrenih vodovodnih cijevi u toj zemlji izbjegavano upravo zbog straha od toksičnosti bakra.

### 1.5.2. Cink

U mozgu su izmjerene najviše koncentracije cinka u odnosu na druge organe (Frederickson, 1989). Upravo se tijekom neurotransmisije u sinaptičku pukotinu oslobađa relativno velika količina cinka koji igra bitnu ulogu u presinaptičkim i postsinaptičkim događajima za vrijeme i nakon sinaptičke transmisije. Cinkom su naročito bogati aksoni zrnatih stanica fascije dentate koje se projiciraju na CA3 neurone hipokampusa, a lijepo se mogu vizualizirati reakcijom po Timmu (Seress i Gallyas, 2000). Na važnost cinka za normalno funkcioniranje organizma upućuje i velik broj proteina koji reguliraju koncentraciju cinka; 4 MT izooblika (protein koji kontrolira koncentraciju cinka u citosolu, *metallothioneins*), 10 ZnT proteina (proteini koji izbacuju cink iz stanice, *Zn<sup>2+</sup> transporter proteins*) te 15 ZIP proteina (proteini koji unose cink u stanicu, *Zrt-Irt like proteins*) (Greenough *i sur.*, 2013; Hancock *i sur.*, 2014). Budući da je cink antagonist glutamatnog NMDA receptora, djeluje neuroprotektivno i sprječava glutatomom potaknuto oštećenje neurona (ekscitotoksičnost) (Takeda *i sur.*, 2010). Iako je kod oboljelih od AB dokumentirana akumulacija cinka u SP (Bush *i sur.*, 1994), studije u kojima je koncentracija cinka mjerena u različitim područjima mozga osoba s AB zbog oprečnih rezultata nisu polučile jednoznačan

zaključak (Corrigan *i sur.*, 1993; Deibel *i sur.*, 1996; Hershey *i sur.*, 1984; Panayi *i sur.*, 2002; Thompson *i sur.*, 1988). Istraživanja molekularnih mehanizama pokazala su povezanost cinka i s amiloidnom i s tau patologijom. Vežanje cinka za A $\beta$  potiče agregaciju A $\beta$  i stvaranje SP (Bush *i sur.*, 1994). Pri tome se tri iona cinka vežu na tri histidina A $\beta$  (pozicije 6, 13 i 14) (Damante *i sur.*, 2009). Zanimljivo je da se slijed A $\beta$  kod glodavaca razlikuje od onoga kod čovjeka zbog čega ljudi imaju veći afinitet vežanja cinka za A $\beta$ . To bi potencijalno mogao biti razlog zašto čak i stari miševi i štakori ne razvijaju amiloidnu patologiju (Bush *i sur.*, 1994). Naime, SP se mogu naći jedino u mozgu transgeničnih životinja kojima je unesen ljudski APP gen. Uočena je i uloga cinka u procesiranju APP (Aytton *i sur.*, 2013). Cink potiče agregaciju (Mo *i sur.*, 2009) i fosforilaciju (preko GSK-3 $\beta$ , ERK1/2, c-Jun N-terminalne kinaze i protein kinaze B) (An *i sur.*, 2005; Lei *i sur.*, 2011; Pei *i sur.*, 2006) tau proteina, ali može utjecati i na njegovu translaciju (Pei *i sur.*, 2006).

Uz promjenu homeostaze cinka, u mozgu osoba s AB su zabilježene i promjene u proteinima bitnim za metabolizam cinka, poput smanjene izraženosti ZnT3 (Adlard *i sur.*, 2010) i MT III (Yu *i sur.*, 2001) te povišene izraženosti ZnT1 (Lovell *i sur.*, 2005) i MT I/II (Adlard *i sur.*, 1998). Ranije je se smatralo da je posljedica poremećene homeostaze cinka u AB njegova toksičnost (uslijed povišene razine cinka u mozgu). Danas prevladava upravo suprotno stajalište. Zbog nakupljanja cinka unutar SP dolazi do sveukupnog smanjenja cinka u mozgu (Brewer, 2014). Štoviše, neke su novije studije pokazale smanjenje cinka i u serumu oboljelih od AB u odnosu na zdrave kontrole (Baum *i sur.*, 2010; Brewer *i sur.*, 2010). Stoga je liječenje dodavanjem cinka u prehranu predloženo za poboljšanje kognitivnih sposobnosti oboljelih od AB (Brewer, 2014). Jedna *in vivo* studija je pokazala povoljne učinke nakon unosa cinka u mišjim modelima AB (Corona *i sur.*, 2010), a u jednoj manjoj dvostruko slijepoj kliničkoj studiji je uočena stabilizacija kognitivnih sposobnosti u osoba s AB nakon terapije cinkom kroz šest mjeseci (Brewer, 2012).

### 1.5.3. Željezo

Ioni željeza reguliraju brojne biološke procese, pa tako i one koji se odvijaju u mozgu. Važno je za izraženost proteina (Rogers *i sur.*, 2002), rast i diferencijaciju stanica (Landschulz *i sur.*, 1984; Verger i Imbenotte, 1982), regulaciju enzima ovisnih o željezu (Namgaladze *i sur.*, 2002), prijenos kisika (Sanders-Loehr, 1988) te lanac prijenosa elektrona

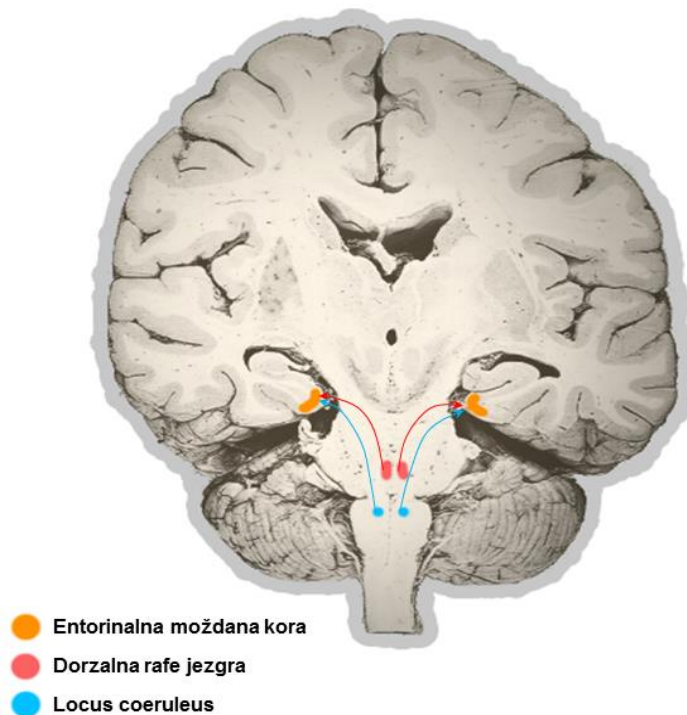
u reakcijama oksidacije i redukcije (Malkin i Rabinowitz, 1967). U mozgu je željezo također naročito bitno za procese mijelinizacije (Schulz *i sur.*, 2012), razvitka (Beard, 2003) i funkcioniranje različitih neurotransmiterskih sustava (Agarwal, 2001). U mozgu bolesnika s AB dolazi do povišenja razine željeza, osobito u moždanoj kori. Tako je povećanje koncentracije željeza zabilježeno i u SP i u NFT (Smith *i sur.*, 1997). Lokalizacija željeza u područjima mozga osjetljivim na degenerativne promjene korelira sa stvaranjem slobodnih radikala kisika (Honda *i sur.*, 2004). Željezo kroz Fentonovu reakciju sudjeluje i u oksidativnom stresu te posljedičnom stvaranju slobodnih kisikovih radikala u mozgu oboljelih od AB (Kanti Das *i sur.*, 2015). U mozgu bolesnika s AB su pronađene i promijenjene vrijednosti proteina koji reguliraju razinu željeza poput feritina (globularni protein važan za unutarstanično pohranjivanje trovalentnog željeza jer se na taj način željezo drži u topljivom i netoksičnom stanju) (Connor *i sur.*, 1992), transferina (glikoprotein plazme koji može prenositi dva iona trovalentnog željeza) (Loeffler *i sur.*, 1995), ceruloplazmina (protein plazme koji prenosi 70% bakra, ali veže i željezo) (Connor *i sur.*, 1993), DMT1 (transporter dvovalentnih iona metala 1, *divalent metal transporter 1*) (Zheng *i sur.*, 2009) i feroksidaze (Torsdottir *i sur.*, 2010). Željezo dodatno potiče agregaciju A $\beta$  *in vitro* (Mantyh *i sur.*, 1993) i agregaciju fosforiliranog tau proteina (Yamamoto *i sur.*, 2002). Fe<sup>2+</sup> potiče, dok Fe<sup>3+</sup> smanjuje fosforilaciju tau proteina (Egaña *i sur.*, 2003; Lovell *i sur.*, 2004). Suprotno tome, Fe<sup>3+</sup> potiče, a Fe<sup>2+</sup> smanjuje agregaciju tau proteina (Yamamoto *i sur.*, 2002). Zanimljivo je da APP ima također i funkciju feroksidaze, enzima koji izbacuje željezo iz stanice. U osoba s AB je uočeno smanjenje feroksidazne aktivnosti APP i nakupljanje željeza u moždanom tkivu (Duce *i sur.*, 2010). Mogući značaj i uloga željeza u patogenezi AB dodatno je opisana kod vaskularnih promjena.

#### 1.5.4. Živa

Živa je globalni zagađivač okoliša i neurotoksin. U okoliš se otpušta prilikom iskapanja i industrijskog procesiranja ruda (npr. iskapanje zlata je najvažniji razlog zagađivanja živom u siromašnim zemljama Afrike, Azije i Južne Amerike), spaljivanjem fosilnih goriva te korištenjem žive u industrijskim postupcima (npr. u proizvodnji cementa, klora i natrijevog hidroksida, monomera vinil-klorida) i proizvodima (npr. u dentalnoj medicini, električnim uređajima, žaruljama i baterijama) (Pacyna *i sur.*, 2010). Znanstvenike dodatno zabrinjava mogućnost trovanja živom konzumacijom ribe koja ju kumulira (posebice

jer npr. mediteranska dijeta koju i Svjetska zdravstvena organizacija preporučuje za poboljšanje kognitivnog zdravlja i smanjenje rizika od AB upravo uključuje povećanu konzumaciju ribe). Morris i suradnici (2016) su kod ispitanika koji su umjereno konzumirali hranu iz mora (jedan obrok tjedno) dokazali povišene vrijednosti žive u mozgu, ali razine žive nisu korelirale s neuropatološkim promjenama karakterističnim za AB ili druge primarne uzroke sindroma demencije (Morris *i sur.*, 2016). Mutter i suradnici su pregledom literature (1041 reference od kojih je 106 zadovoljilo kriterije za daljnju obradu) utvrdili povezanost žive s patološkim promjenama karakterističnim za AB u *in vitro* i *in vivo* studijama (Mutter *i sur.*, 2010). Dodatno je u 32 od 40 studija pokazano kako su pojedinci izloženi povećanom unosu Hg imali poteškoće u pamćenju, dok su neke studije pokazale i povišene razine žive u mozgu oboljelih od AB. Pamphlett i Kum Jew su iznijeli hipotezu da nakupljanje žive u noradrenergičkim neuronima *locus coeruleus* (LC, noradrenergička jezgra A6) dovodi do nastanka patoloških promjena karakterističnih za AB, koje se zatim šire u susjedne serotoninergične neurone rafe jezgara i druga područja. Zbog još uvijek nedovoljno proučenih svojstava nekih LC neurona za unos teških metala u citoplazmu, čini se da su oni podložniji nakupljanju teških metala (napose žive, bizmuta i srebra) i toksikanata iz okoliša, što je zanimljivo zbog činjenice što je, uz neurone dorzalne rafe jezgre, LC mjesto najranijih patoloških promjena tau proteina karakterističnih za AB (Pamphlett i Kum Jew, 2015). Ta hipoteza je u skladu s opažanjima autora koji naglašavaju da su rani nekognitivni, ponašajni i psihološki simptomi demencije (BPSD, *behavioral and psychological symptoms of dementia*) uzrokovani ranim patološkim promjenama serotoninergičkih i noradrenergičkih neurona u moždanom deblu (Hyman i Trojanowski, 1997; Rüb *i sur.*, 2000; Šimić *i sur.*, 2009) (**Slika 15**). Nasuprot navedenom, iako se radilo o postmortalnoj analizi samo šestoro osoba s autizmom i jedanaest kontrolnih ispitanika podudarne dobi, u autističnim osoba nije pronađeno nakupljanje žive u LC (Pamphlett i Kum Jew, 2016). Za razliku od *in vitro* i *in vivo* studija, mjerenja žive u likvoru, krvi, urinu, kosi i noktima te epidemiološke studije zbog velikog odstupanja nisu dovele do jednoznačnih zaključaka (Mutter *i sur.*, 2010). Zbog svega navedenog, uloga žive u patogenezi AB je još uvijek nerazjašnjena te su potrebne daljnje, prvenstveno longitudinalne studije, u kojima bi se dokazalo ima li nakupljanje žive ulogu u patogenezi AB.

## Područja najranijih neurofibrilarnih promjena



**Slika 15.** Hipoteza o ranom nastanku i širenju neurofibrilarnih patoloških promjena u AB iz dorzalne rafe jezgre i lokus ceruleusa u transentorinalnu i entorinalnu moždanu koru. Preuzeto i prilagođeno iz: (Šimić *i sur.*, 2017)

### 1.5.5. Aluminij

Promišljanje o metalima kao potencijalnim čimbenicima nastanka AB započelo je šezdesetih godina prošlog stoljeća kad su Wiśniewski i suradnici (1966) unosom aluminijevih soli izazvali neurofibrilarne promjene u mozgu kunića (Wiśniewski *i sur.*, 1966). Dodatni interes je izazvala studija koja je pokazala da trovanje vode za piće aluminijem povećava rizik od nastanka AB 1.5 puta (Martyn *i sur.*, 1989). Zagovornici „aluminijevske hipoteze AB“ smatraju da je aluminij glavni okolišni čimbenik koji dovodi do nastanka AB. Iako je ta hipoteza desetljećima bila izložena kritikama, devedesetih godina je odbačena. Glavni argumenti za njezino odbacivanje su bile studije koje su pokazale da su: 1) aluminijem izazvani NFT u mozgu životinja prema raspodjeli i ultrastrukturnim značajkama različiti od NFT karakterističnih za AB, 2) plakovi pronađeni u mozgu bolesnika s dijaličkom demencijom (uzrokovanom trovanjem aluminijevim hidroksidom koji nije prethodno odstranjen iz vode korištene za hemodijalizu) različitog su oblika i veličine od SP karakterističnih za AB (Šimić, 2006), 3) povišene razine aluminija izmjerene u NFT u ranijim istraživanjima mogu biti posljedica kontaminacije staklenog posuđa korištenog u mjerenjima razina aluminija (Trapp *i sur.*, 1978), budući da sami ioni aluminija teško prolaze KMB (Tomljenovic, 2011). Dodatni razlog zbog čega je „aluminijevska hipoteza AB“ odbačena je i činjenica da su ljudi jedino u ekstremnim i rijetkim situacijama izloženi trovanju aluminijem. Dok većina znanstvenika odbacuje aluminijevsku hipotezu AB (Lidsky, 2014), postoje istraživačke grupe koje i dalje nastoje otkriti potencijalni doprinos aluminija u nastanku AB (Bhattacharjee *i sur.*, 2014), najčešće kroz njegovu moguću ulogu u pojačanoj oligomerizaciji A $\beta$  (Kawahara i Kato-Negishi, 2011) odnosno putem djelovanja fluoroaluminata (AIF-X) koji lako prolaze kroz KMB (Tomljenovic, 2011).

### 1.5.6. Potencijalni terapeutici za AB koji se temelje na hipotezi poremećene homeostaze iona metala

Kliokvinol je možda najpoznatiji potencijalni terapeutik za AB čije se djelovanje temelji na uklanjanju viška iona metala u mozgu. Taj je spoj pokazao dobre rezultate u drugoj fazi kliničkih ispitivanja (Ritchie *i sur.*, 2003), ali zbog poteškoća u proizvodnji nije došao u treću fazu kliničkih ispitivanja (Ayton *i sur.*, 2013). PBT2, analog kliokvinola, pokazao je još bolje terapijske učinke, ali zbog činjenice da nije dokazana njegova mogućnost smanjenja patoloških promjena povezanih s nakupljanjem A $\beta$  u mozgu oboljelih od AB, nije prošao drugu fazu kliničkih ispitivanja (<http://www.alzforum.org/news/research-news/pbt2-takes-dive-phase-2-alzheimers-trial>). Kliokvinol i PBT2 uklanjaju višak bakra i cinka djelujući kao ionofori, dok kliokvinol vjerojatno uklanja i željezo keliranjem (Bush, 2013; Li *i sur.*, 2010). I drugi su kelatori željeza poput epigalokatehin-3-galata i M-30 pokazali povoljne učinke na smanjenje patoloških promjena karakterističnih za AB *in vivo* i *in vitro*, dok je deferoksamin testiran i na bolesnicima. Pokazano je da je GTSM, spoj koji spada u skupinu bistiosemikarbazona, a ima svojstvo unutarstaničnog vezanja/otpuštanja iona bakra, željeza i cinka, uspješno smanjio opseg patoloških promjena karakterističnih za AB i u *in vivo* i u *in vitro* modelima bolesti (Ayton *i sur.*, 2013).



## 1.6. Evocirani potencijali

Evocirani potencijali se bilježe elektroencefalografijom (EEG), a odražavaju promjenu električne aktivnosti dijela mozga nakon nekog specifičnog osjetnog podražaja. Do promjene električne aktivnosti nekoga dijela mozga dolazi ponajviše zbog istodobnih promjena postsinaptičkih potencijala velikog broja neurona, a u vrlo malom dijelu (do 5%) i zbog akcijskih potencijala koje neuroni okidaju. Podražaj koji izaziva pojavu evociranih potencijala može biti slušni, vidni ili somatosenzibilni. Snimanjem evociranih potencijala došlo se do vrijednih otkrića poput razjašnjavanja povezanosti jezgara talamusa i moždane kore te topografske organizacije moždane kore (Kandel *i sur.*, 2013). Osim u znanstvene svrhe, uporaba evociranih potencijala je dosta široka te se koriste u dijagnostici poremećaja vidnog, slušnog i somatosenzibilnog sustava, demijelinizacijskih bolesti te intraoperativnom nadzoru (Walsh *i sur.*, 2005).

### 1.6.1. Osjetni evocirani potencijali

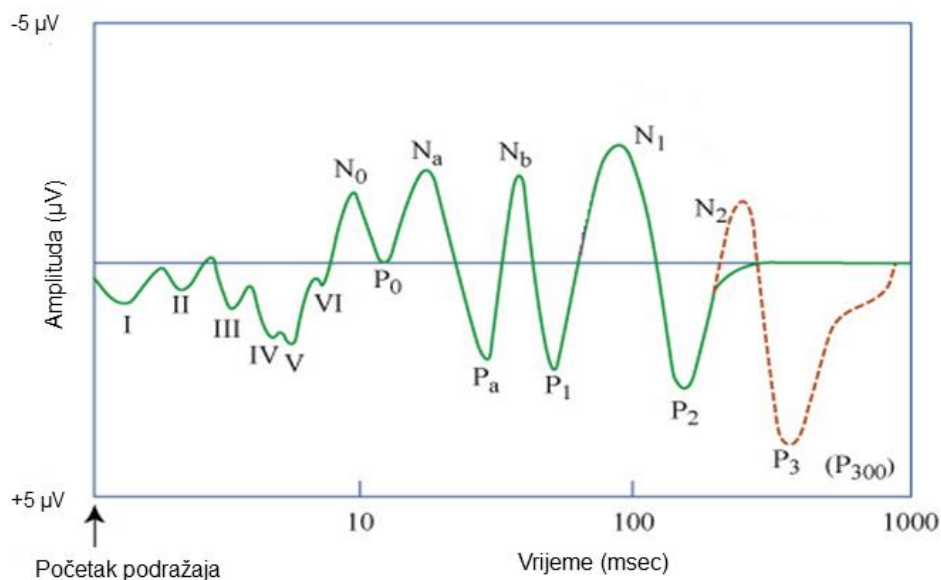
Osjetni evocirani potencijali (SEP, *sensory evoked potentials*) se javе uslijed aktivacije kortikalnih i subkortikalnih struktura nakon izlaganja osjetnom podražaju. Ovisno o tipu podražaja razlikujemo slušne, vidne i somatosenzibilne evocirane potencijale. Analizom izgleda EEG zapisa dobivenog snimanjem pojedinih osjetnih evociranih potencijala dobivaju se vrijedne informacije o funkcioniranju tih osjetnih sustava. Rane komponente osjetnih evociranih potencijala odražavaju aktivaciju subkortikalnih struktura, dok kasnije komponente odražavaju aktivaciju talamokortikalnog sustava i moždane kore (Kraus i Nicol, 2008) (**Slika 16**).

### 1.6.2. Potencijali vezani za događaj

Potencijali vezani za događaj (ERP, *event related potentials*) se još nazivaju i kognitivni evocirani potencijali. ERP mogu biti izazvani slušnim, vidnim, somatosenzibilnim i mirisnim podražajima (Polich, 1999), ali njihov izgled ovisi i o ozračju u kojem se javlja podražaj. ERP imaju niz komponenti (**Slika 16**) koje se mogu iščitati na elektroencefalogramu (Sur i Sinha, 2009):

- P50 - otklon u pozitivnom smjeru 50 ms nakon podražaja;

- N100 (N1) – otklon u negativnom smjeru 90 - 200 ms nakon podražaja;
- P200 (P2) - otklon u pozitivnom smjeru 100 - 250 ms nakon podražaja;
- N200 (N2) - otklon u negativnom smjeru 200 ms nakon podražaja. N200 val je sačinjen od 3 komponente – N2a, N2b i N2c;
- N300 - otklon u negativnom smjeru 300 ms nakon podražaja;
- P300 (P3) - otklon u pozitivnom smjeru 300 ms nakon podražaja. P3a i P3b su dvije podkomponente P300 vala;
- N400 - otklon u negativnom smjeru 300 - 600 ms nakon podražaja;
- P600 - otklon u pozitivnom smjeru 600 ms nakon podražaja.



**Slika 16.** Slušni evocirani potencijali.

Osjetni evocirani potencijali se javljaju ranije te predstavljaju aktivaciju moždanog debla, talamusa i primarne osjetne moždane kore uslijed izlaganja osjetnom podražaju. U odnosu na SEP, ERP se pojavljuju kasnije jer zahtijevaju aktivaciju asocijativnih područja moždane kore (komponente ERP nakon 200 ms) te se koriste u istraživanjima spoznajnih procesa poput pamćenja, razmišljanja i jezičnih funkcija (Münste *i sur.*, 2000). *Oddball* paradigma je najčešće korišten eksperimentalni dizajn prilikom snimanja ERP. Ispitanicima se u slijedovima predstavljaju ciljni i neciljni vidni ili slušni podražaji, koji su u nekim eksperimentalnim shemama isprekidani ometajućim podražajima (Işoğlu-alkaç *i sur.*, 2007). Komponenta P300 se javlja kada ispitanik prepozna ciljni podražaj te označava mentalni

proces prepoznavanja i kategorizacije podražaja. P300 potencijal se također može okarakterizirati kao odgovor mozga na iznenađujući, neočekivani podražaj (Polich, 2007). Za nastanak P300 potencijala moždane kore je najvažnija funkcionalna očuvanost kolinergičke bazalne jezgre (Šimić *i sur.*, 1999). Kao odgovor na kolinergičku inervaciju koja facilitira kortikalno procesiranje, nastupa veća aktivnost kortikalnih neurona u sljepoočnom i tjemennom režnju i hipokampusu. Ti se dijelovi moždane kore smatraju glavnim područjima odgovornima za generiranje P300 potencijala, iako su u navedeni proces uključena i brojna druga područja (Yamaguchi i Knight, 1991). Tako se snimanjem P300 potencijala ustvari ispituju dva bitna kognitivna procesa, pozornost i radno pamćenje (Polich, 2007). Ukoliko je ispitaniku tijekom *oddball* paradigme izložen ciljani podražaj, u EEG će se pojaviti P300 potencijal, odnosno cijeli ERP, dok će u odsutnosti ciljnog podražaja EEG krivulja izgledati kao i nakon snimanja SEP (**Slika 16** – prvih 100 ms). P3a i P3b komponente P300 potencijala se pojavljuju kada se primjenjuje paradigma s tri podražaja (ciljni, neciljni i ometajući). Pritom nam P3b podkomponenta govori da je došlo do otkrivanja ciljnog podražaja, dok se P3a podkomponenta javlja ukoliko je prisutan ometajući podražaj (Polich, 2007). Informacije o amplitudi i latenciji P300 potencijala se koriste kako u dijagnostičke tako i u istraživačke svrhe. Do sniženja amplitude i povećanja latencije P300 dolazi ukoliko ispitanik ima poteškoća u kognitivnom procesiranju, kao npr. uslijed konzumacije alkohola i droga, u različitim neuropsihijatrijskim poremećajima (npr. shizofreniji (Heimer, 2000)) i demenciji (Bramon *i sur.*, 2005; Lee *i sur.*, 2013; Patrick *i sur.*, 2006).

#### ***1.6.2.1. Promjena potencijala vezanih za događaj u Alzheimerovoj bolesti***

U AB zbog narušavanja kognitivnih funkcija i propadanja neurona bazalne jezgre (Šimić *i sur.*, 1999) dolazi do sniženja amplitude i produžetka latencije P300 potencijala (Lee *i sur.*, 2013). U ranijim su istraživanjima koja su pomoću latencije P300 potencijala pokušavala razlikovati bolesnike s AB od zdravih kontrola i ispitanika s BSP dobiveni vrlo varijabilni rezultati (Bennys *i sur.*, 2007; Filipović i Kostić, 1995; Sumi *i sur.*, 2000), dok se u novije vrijeme uporabom naprednijih metoda snimanja može postići i do 80%-tna osjetljivost i specifičnost. Latencija P300 potencijala je produžena i kod pacijenata s BSP u odnosu na zdrave kontrole (Bennys *i sur.*, 2011; Frodl *i sur.*, 2002; Papaliagkas *i sur.*, 2011). Brojna su istraživanja pokazala da se praćenjem P300 potencijala može relativno dobro predvidjeti koji će BSP pacijenti progredirati u AB (van Deursen *i sur.*, 2009; Golob *i sur.*, 2009; Papaliagkas

*i sur.*, 2008). Latencija N200 potencijala se također pokazala korisnom za dijagnostičke svrhe jer je bila značajno produžena kod ispitanika s BSP koji su kasnije oboljeli od AB (Papaliagkas *i sur.*, 2009). Vrijednost latencije P300 potencijala je korelirala s rezultatima neuropsiholoških testova kojima su se kod oboljelih od AB ispitivale jezične sposobnosti, pamćenje i ostale kognitivne funkcije (Lee *i sur.*, 2013). Dodatno je utvrđena i povezanost latencije P300 potencijala i rizičnog  $\epsilon 4$  alela *APOE* gena (Irimajiri *i sur.*, 2010), predispozicije za razvoj obiteljske AB (Golob *i sur.*, 2009), vrijednosti  $A\beta_{1-42}$  u likvoru (Papaliagkas *i sur.*, 2010) te sniženog protoka krvi (Gungor *i sur.*, 2005) i hipometabolizma (Szeliés *i sur.*, 1995) u mozgu oboljelih od AB. Starenjem se amplituda P300 potencijala smanjuje, a latencija produžuje (Ashford *i sur.*, 2011), dok je nakon korištenja inhibitora acetilkolinesteraze tijekom 26 tjedana kod bolesnika s AB zamijećeno skraćanje latencije P300 potencijala (Werber *i sur.*, 2003). Ta dva čimbenika (dob bolesnika i liječenje kolinomimetikom) bi se stoga uvijek trebali uzimati u obzir prilikom određivanja dijagnostičke vrijednosti P300 potencijala.

## **2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

## Hipoteza istraživanja

Nulta hipoteza istraživanja je bila da se kombinacijom bioloških biljega iz likvora ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) ne može pretkazati koje će osobe s BSP oboljeti od AB.

U okviru navedene hipoteze, testirali smo može li se:

- 1) kombinacijom p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 proteina u likvoru povećati specifičnost i osjetljivost  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau i p-tau<sub>181</sub> kao bioloških biljega AB;
- 2) kombinacijom likvorskih proteinskih bioloških biljega te makro- i mikroelemenata iz likvora utvrditi stupanj rizika nastanka AB u osoba s BSP;
- 3) pokazati da neinvazivni biološki biljezi - kognitivni evocirani potencijali (i reakcijsko vrijeme na zadane podražaje) i protein neurokan iz plazme imaju dijagnostički potencijal za rano otkrivanje AB, te
- 4) na temelju svih promatranih bioloških biljega AB izraditi kvalitetan (pouzdan) prediktivni model nastanka AB u osoba s BSP.

## Ciljevi istraživanja

Glavni cilj istraživanja je bio određivanje prediktivne vrijednosti poznatih i nekih potencijalnih bioloških biljega u ranom otkrivanju AB.

Specifični ciljevi istraživanja su bili:

- 1) odrediti kojom će se kombinacijom likvorskih proteinskih bioloških biljega najranije i najtočnije pretkazati vjerojatnost nastanak AB u osoba s BSP;
- 2) odrediti prediktivnu vrijednost nekih novih potencijalnih likvorskih biljega AB (koncentracije VILIP-1 proteina, razine 24 makro- i mikroelemenata u cerebrospinalnoj tekućini);
- 3) odrediti dijagnostički potencijal nekih neinvazivnih bioloških biljega iz plazme (proteina neurokana), kognitivnih evociranih potencijala (N200 i P300) mjerenih elektroencefalografijom te reakcijskog vremena na zadane podražaje;
- 4) odrediti postoje li razlike (i kakve) u vrijednostima 24 makro- i mikroelemenata iz likvora, kognitivnih evociranih potencijala, reakcijskog vremena na zadane podražaje i koncentracije neurokana iz plazme između podskupina osoba s BSP definiranih s obzirom na normalne/patološke vrijednosti likvorskih proteinskih bioloških biljega ( $A\beta$ , ukupnog tau, fosforiliranih tau proteina i VILIP-1 proteina).

### **3. MATERIJALI I METODE**

### 3.1. Ispitanici, klinička obrada i izuzimanje uzoraka likvora i krvi

U istraživanje je bilo uključeno sveukupno 239 ispitanika koji su klinički obrađivani na Zavodu za kognitivnu neurologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Kišpatićeva 12. Istraživanje je obuhvatilo bolesnike s AB, osobe s BSP i kognitivno zdrave osobe. Izuzimanje uzoraka cerebrospinalne tekućine je vršeno nakon klinički postavljene sumnje na sindrom demencije i isključivo nakon potpisanog informiranog pristanka ispitanika ili njegove/njegovog skrbnika. Uzorci cerebrospinalne tekućine od kognitivno zdravih osoba su dobiveni kao neobrađeni viškovi izuzetih uzoraka likvora od zdravih osoba sa sumnjom na bakterijski meningitis ili subarahnoidalno krvarenje. Obrada i izuzimanje uzoraka je bilo usklađeno s međunarodnim standardima Dobre kliničke prakse (International Conference on Harmonization, 2013), Helsinškom deklaracijom (World Medical Association, 2013) te uz odobrenje Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Zagreb (ur. br. 01-20/53-1-2006) od 26. lipnja 2006. godine i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (ur. br. 380-59/11-500-77/90, klasa 641-01/11-02) od 19. svibnja 2011. godine.

Prije postupka lumbalne punkcije, svaki je ispitanik prošao temeljit neurološki pregled, neuropsihološko testiranje te rutinske krvne pretrage, uključujući određivanje hormona štitnjače, vitamina B<sub>12</sub>, folne kiseline (vitamin B<sub>9</sub>), serologiju na sifilis pomoću *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) testa ili *Treponema pallidum hemagglutination assay* (TPHA) eseja, elektrokardiogram (EKG) i kompjutoriziranu tomografiju (CT) / snimanje MRI mozga, a zbog isključivanja sekundarnih uzroka sindroma demencije (velikog neurokognitivnog poremećaja). Težina demencije je procjenjivana uporabom male skale mentalnog stanja - MMSE (*Mini-Mental State Examination*) ljestvice (0-30 bodova) u svih ispitanika, a u mnogih još i CDR (*Clinical Dementia Rating*) ljestvicom (0-3 boda, pri čemu se 0.5 uzima kao ekvivalent za BSP), ADAS (*Alzheimer's Disease Assessment Scale*) ljestvicom, testom crtanja sata, CDT (*Clock Drawing Test*) i drugima. Klinička dijagnoza AB temeljila se na NINCDS-ADRDA i DSM-IV-TR kriterijima (APA, 2000; McKhann *i sur.*, 1984). Dijagnoza BSP je određena prema kriteriju koji su opisali Petersen i suradnici (Petersen *i sur.*, 1999). Prema navedenom kriteriju osobe s BSP imaju izolirani poremećaj pamćenja koji se može objektivno dokumentirati (za razliku od zdravih kontrola), ali nemaju nikakvih poremećaja u drugim kognitivnim domenama (za razliku od bolesnika s ranom AB).

Uzorci likvora su prikupljeni lumbalnom punkcijom iz L<sub>3</sub>/L<sub>4</sub> subarahnoidalnog prostora uvijek u jutarnjim satima (između 9 i 11 h). Veći dio uzorka je obrađen rutinski (broj



eritrocita i leukocita, koncentracija glukoze, laktata i ukupnih proteina, IgG indeks, postojanje oligoklonalnih traka, TPHA test pasivne hemaglutinacije na spirohetu *Treponema pallidum*, uzročnik sifilisa). Manji dio likvora (1 ml) je alikvotiran i pohranjen na -80°C u polipropilenskim epruvetama radi kasnije analize.

Ispitanicima koji su bili natašte je u jutarnjim satima izvađena krv u *BD Vacutainer* staklene epruvete (uz dodatak 2 ml antikoagulansa s natrij citratom, limunskom kiselinom i dekstrozom). U Laboratoriju za molekularnu neuropsihijatriju Instituta Ruđer Bošković je iz pune krvi pacijenata nizom centrifugiranja (1100 x g, 3 min, a zatim 5087 x g, 15 min) izdvojena plazma bez trombocita te pohranjena na -20°C za daljnju analizu bioloških biljega.

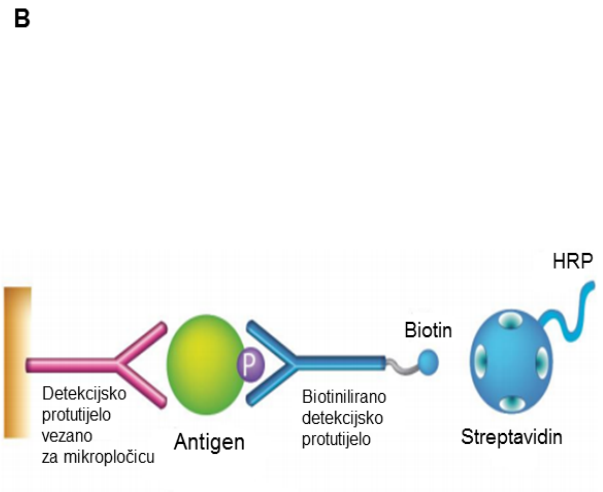
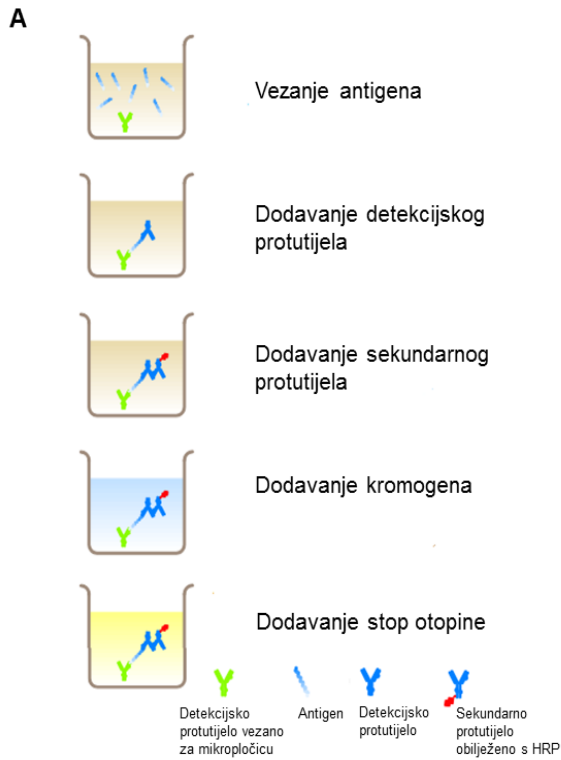
### 3.2. Određivanje koncentracije proteinskih bioloških biljega ELISA metodom

Koncentracije bioloških biljega u likvoru i plazmi su određene pomoću enzimski povezane imunoapsorpcijske analize (ELISA, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) prema zadanim protokolima, korištenjem tržišno dostupnih kitova:

- A $\beta$ <sub>1-42</sub> (Innotest  $\beta$ -amyloid<sub>1-42</sub>, Fujirebio, Gent, Belgija)
- Ukupni tau (Innotest hTau Ag, Fujirebio, Gent, Belgija)
- p-tau<sub>181</sub> (Innotest Phospho-Tau(181P), Fujirebio, Gent, Belgija)
- p-tau<sub>199</sub> (TAU [pS199] Phospho-ELISA Kit, Human, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD)
- p-tau<sub>231</sub> (Tau [pT231] Phospho-ELISA Kit, Human, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD)
- VILIP-1 (VILIP-1 Human ELISA, BioVendor, Brno, Češka)
- Neurokan (Human Neurocan core protein (NCAN) ELISA Kit, Wuhan, Kina)

Svi ELISA protokoli (uz manje modifikacije) uključuju mikrotitarske pločice s 96 jažica presvučene monoklonskim protutijelima na željeni protein u koje su nanijeti uzorci, standardi (100  $\mu$ l) i prazne probe. Standardi su se razrjeđivali prema uputstvima proizvođača opisanima u protokolu iz otopine dobivene otapanjem liofiliziranog praha rekombinantnog proteina koji se detektirao ELISA kitom. Nakon dodavanja uzoraka i standarda slijedila je inkubacija u mikrotitarskoj pločici, a uvjeti i duljina inkubacije ovisili su o protokolu (**Tablice 7-9**). Nakon procesa ispiranja u puferu za ispiranje (pomoću aparata za ispiranje - model PW 40, Biorad Laboratories, Hercules, CA, SAD), u mikrotitarske pločice se dodavalo

detekcijsko protutijelo koje se vezalo na željeni protein. Po inkubaciji od 1 h na sobnoj temperaturi, mikrotitarske pločice su se ponovno isprale. Dodano sekundarno protutijelo za koje je vezan enzim HRP (peroksidaza iz hrena, *horseradish peroxidase*) se inkubiralo na sobnoj temperaturi (vrijeme je bilo ovisno o protokolu, navedeno u tablicama 7-9), a nakon ispiranja se dodao kromogen (TMB, 3,3',5,5-tetrametilbenzidin) kao supstrat za enzim HRP. Nakon inkubacije od 30 min na sobnoj temperaturi u mraku, dodala se otopina koja je zaustavila navedenu reakciju te se uz pomoć ELISA čitača (model 680, Biorad Laboratories, Hercules, CA, SAD) pri 450 nm unutar jažica očitavala apsorbancija. Koncentracije proteina su se određivale prema krivulji dobivenoj iz koncentracija standarda uz pomoć 4-parametarskog algoritma u GraphPad Prism 5.0 programu (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, SAD). Inkubacija detekcijskog i sekundarnog protutijela, kromogena i otopine pomoću koje se zaustavljala reakcija provodila se na sobnoj temperaturi, osim ako u tablicama 7-9 nije naznačeno drugačije. ELISA kitovi za detekciju A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, VILIP-1 i neurokana razlikovali su se od navedenog protokola po tome što je u tim ELISA kitovima detekcijsko protutijelo bilo obilježeno biotinom (a nije se na njega vezalo sekundarno protutijelo) (**Slika 17**). Stoga se umjesto sekundarnog protutijela u tim određivanjima dodavao kompleks streptavidin-HRP (streptavidin se s visokim afinitetom veže na biotin na detekcijskom protutijelu) (**Slika 17**). Ostatak protokola je bio jednak kao i u ELISA kitovima za detekciju p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>.



**Slika 17.** Ilustracija dvaju ELISA protokola. A) detekcija p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>, B) detekcija A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, VILIP-1 i neurokana. Preuzeto i prilagođeno iz: Thermo Fisher Scientific (<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/KHB8051>) i Fujirebio ([http://www.peramed.com/peramed/docs/81574\\_EN.pdf](http://www.peramed.com/peramed/docs/81574_EN.pdf)).

**Tablica 7.** ELISA protokol za detekciju A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupnog tau i p-tau<sub>181</sub>.

Analizirani protein	Volumen nanesenog uzorka, standarda i validacijskih kontrola	Inkubacija uzoraka i standarda s detekcijskim protutijelom obilježenim biotinom	Broj i volumen ciklusa ispiranja	Volumen streptavidin-HRP konjugata i vrijeme inkubacije	Broj i volumen ciklusa ispiranja	Volumen kromogena i vrijeme inkubacije	Volumen otopine za zaustavljanje reakcije
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub></b>	25 $\mu$ l	1 h na 25°C	5 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	5 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	50 $\mu$ l
<b>Ukupni tau</b>	25 $\mu$ l	17 h na 25°C	5 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	5 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	50 $\mu$ l
<b>p-tau<sub>181</sub></b>	75 $\mu$ l	17 h na 4°C	5 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 1 h	5 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	50 $\mu$ l

A $\beta$ <sub>1-42</sub>, amiloid  $\beta$ <sub>1-42</sub>; HRP, peroksidaza iz hrena, *horseradish peroxidase*; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181.

**Tablica 8.** ELISA protokol za detekciju p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>.

Analizirani protein	Volumen nanesenog uzorka	Inkubacija uzoraka i standarda	Broj i volumen ciklusa ispiranja	Volumen detekcijskog protutijela i vrijeme inkubacije	Broj i volumen ciklusa ispiranja	Volumen sekundarnog protutijela i vrijeme inkubacije	Broj i volumen ciklusa ispiranja	Volumen kromogena i vrijeme inkubacije	Volumen otopine za zaustavljanje reakcije
<b>p-tau<sub>199</sub></b>	80 $\mu$ l	17 h na ST	4 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 1 h	4 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	4 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	100 $\mu$ l
<b>p-tau<sub>231</sub></b>	80 $\mu$ l	17 h na ST	4 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 1 h	4 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	4 x 400 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 30 min	100 $\mu$ l

P-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231; ST, sobna temperatura.

**Tablica 9.** ELISA protokol za detekciju VILIP-1 i neurokana.

Analizirani protein	Volumen nanesenog uzorka	Inkubacija uzoraka i standarda	Broj i volumen ciklusa ispiranja	Volumen detekcijskog protutijela obilježenog biotinom i vrijeme inkubacije	Broj i volumen ciklusa ispiranja	Volumen streptavidin-HRP konjugata i vrijeme inkubacije	Broj i volumen ciklusa ispiranja	Volumen kromogena i vrijeme inkubacije	Volumen otopine za zaustavljanje reakcije
<b>VILIP-1</b>	75 $\mu$ l	1 h na ST, uz trešnju (300 rpm)	5 x 350 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 1 h, 300 rpm	5 x 350 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 1 h, 300 rpm	5 x 350 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 10 min	100 $\mu$ l
<b>Neurokan</b>	90 $\mu$ l	2 h na 37°C	Uklanjanje uzoraka bez ispiranja	100 $\mu$ l, 1 h na 37°C	3 x 200 $\mu$ l	100 $\mu$ l, 1 h na 37°C	3 x 200 $\mu$ l	90 $\mu$ l, 30 min na 37°C	50 $\mu$ l

HRP, peroksidaza iz hrena, *horseradish peroxidase*; rpm, rotacija u minuti (*rotations per minute*); ST, sobna temperatura.

### **3.3. Određivanje makro- i mikroelementa u likvoru pomoću masene spektrometrije induktivno spregnute plazme (ICP-MS, inductively coupled plasma mass spectroscopy)**

Koncentracije 24 makro- i mikroelemenata (Li, B, Na, Mg, Al, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Cd, Ba, Tl, Pb i Hg) u likvoru su mjerene masenom spektrometrijom induktivno spregnute plazme (ICP-MS, *inductively coupled plasma mass spectroscopy*) na uređaju Agilent 7500cx (Agilent Technologies, Tokyo, Japan) u Jedinici za analitičku toksikologiju i mineralni metabolizam Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu, Ksaverska cesta 2. U ovom dijelu istraživanja ispitani su uzorci ukupno 63 bolesnika s AB, 30 ispitanika s BSP i 10 kontrolnih (zdravih) osoba.

Uzorci likvora su razrijeđeni 1:10 na način da je 100 µl likvora dodano u 900 µl alkalne otopine koja je sadržavala amonijak (0,7 mM), EDTA (0,01 mM), Triton X-100 (0,07%) i unutarnje standarde (Ge, Rh, Lu, Tb i Ir, 2 µg/l) u kemijski ultra čistoj vodi. Setovi otopina radnih standarda elemenata pripremljeni su ovisno o njihovim razinama u tjelesnim tekućinama: 1. set činila je otopina pripravljena razrjeđenjem osnovnih standarda makroelementa Na, K, Ca, Mg i S (PlasmaCAL, SCP Science, Kanada) s 5% HNO<sub>3</sub>, 2. set činila je otopina pripravljena razrjeđenjem osnovnih standarda mikroelemenata Li, B, Al, Cr, Fe, Co, Mn, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Cd, Ba, Tl i Pb (PlasmaCAL, SCP Science, Kanada) s 5% HNO<sub>3</sub> i 3. set je bila radna standardna otopina Hg, pripravljena razrjeđenjem osnovnog standarda Hg (Inorganic Ventures, SAD) s 5% HNO<sub>3</sub> i 1% HCl. Kalibracijski pravci za kvantifikaciju koncentracija elemenata u likvoru dobiveni su razrjeđenjem svakog seta otopine radnih standardnih otopina alkalnom otopinom koja je rabljena za razrjeđenje uzoraka, uz dodatak 100 µl miješanog uzorka („*pooled sample*“) napravljenog od većeg broja pojedinačnih uzoraka likvora za set 2 i 3 radnih standarda (tzv. „*matrix-matched calibration*“).

Uvjeti rada na ICP-MS uređaju Agilent 7500cx prikazani su u tablici 10, a izotopi mjerenih elemenata i način rada kolizijske ćelije (bez dodatnog plina ili s helijem ili vodikom radi uklanjanja interferencija) u tablici 11. Korišteni su MicroMist raspršivač (Glass Expansion, Pocasset, MA, SAD) u kombinaciji sa standardnom (Scottovom) komoricom za raspršenje hlađenom na 2°C, kvarcni plamenik sa zaštitnom pločicom od platine te konusi od nikla (jedan veći s otvorom za prolaz iona od oko 1 mm i jedan manji s otvorom od oko 0.4 mm radi stvaranja vakuuma). Za potvrđivanje točnosti mjerenja su korišteni sljedeći referentni materijali za elemente u tragovima u serumu/plazmi: ClinChek® plazma kontrole

(razina I i II) i ClinChek® serumske kontrole (razina I i II) (RECIPE Chemicals + Instruments GmbH, München, Njemačka) te Seronorm™ Trace Elements Serum (L-1-2) (Sero AS, Billingstad, Norveška). Izmjerene srednje vrijednosti elemenata bile su unutar raspona preporučenih vrijednosti za pojedini referentni materijal.

**Tablica 10.** Uvjeti rada Agilent 7500cx ICP-MS uređaja

(<https://www.agilent.com/cs/library/Support/Documents/F05009.pdf>) za analizu elemenata u uzorcima likvora.

Parametar	
Snaga generatora radio frekvencija (W)	1550
Udaljenost plamenika od konusa (mm)	7,8
Vodoravna os plamenika (mm)	0,7
Okomita os plamenika (mm)	-0,2
Protok plina za razrjeđenje (l/min)	0,15
Protok plina nositelja (l/min)	1,0
Brzina peristaltičke pumpe (rps)	0,08
Protok vodika (ml/min)	3,7
Protok helija (ml/min)	3,6
Napon na leći 1 (V)	0
Napon na leći 2 (V)	-130

**Tablica 11.** Izotopi mjerenih elemenata, vrijeme integracije signala i plinovi korišteni u kolizijskoj reakcijskoj ćeliji za analizu pojedinog elementa.

Element	Izotop (m/z)	Integracijsko vrijeme signala (s)	Plin u kolizijskoj ćeliji
Li	7	0,1	-
B	11	0,1	-
Na	23	0,05	He
Mg	24	0,05	He
Al	27	0,1	-
S	34	0,05	He
K	39	0,05	He
Ca	43	0,05	He
Cr	52	0,2	H <sub>2</sub>
Fe	54	0,05	H <sub>2</sub>
Co	59	0,3	He
Mn	55	0,2	He
Ni	60	0,2	He
Cu	63	0,1	He
Zn	68	0,1	He
As	75	1,0	He
Se	78	1,0	H <sub>2</sub>
Sr	88	0,1	He
Mo	95	0,5	He
Cd	114	1,0	He
Ba	138	0,1	He
Tl	205	0,3	-
Pb	208	0,1	He
Hg	202	1,0	-

### 3.4. Mjerenje kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena

Kognitivni evocirani potencijali su mjereni elektroencefalografijom s 32 elektrode raspoređene na glavi ispitanika prema međunarodnom 10/20 sustavu u dvije paradigme u Laboratoriju za kognitivnu i eksperimentalnu neurofiziologiju Klinike za neurologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Ispitanici su sjedili u zvučno izoliranoj komori sa slušalicama na ušima te im je izvedena slušna *oddball* paradigma (paradigma slijeda prekinutog neuobičajenim podražajem, SPNP) s dvije i s tri frekvencije. U SPNP paradigmi s dvije frekvencije (ciljni i neciljni podražaj), kognitivni evocirani potencijali su mjereni u vrijeme dok su ispitanici razlikovali ciljni zvučni podražaj od neciljnog zvučnog podražaja. U paradigmi s tri frekvencije (ciljni, necilji i ometajući podražaj), kognitivni evocirani potencijali su mjereni u vrijeme dok su ispitanici nastojali između neciljnog i ometajućeg zvučnog podražaja izabrati ciljni zvučni podražaj.

Ispitanici koji su sudjelovali u SPNP paradigmi imali su dva različita zadatka. U prvom zadatku (paradigma RV, reakcijsko vrijeme) su ispitanici trebali pritisnuti tipkalo kao odgovor na ciljni zvučni podražaj. Reakcijsko vrijeme stoga je označavalo vrijeme proteklo od ciljnog zvučnog podražaja do pritiskanja tipkala. U drugom zadatku (paradigma brojanje) su ispitanici među zvučnim podražajima kojima su bili izloženi (ciljni, necilji i ometajući podražaj), trebali prebrojiti samo ciljne zvučne podražaje. U tom dijelu istraživanja je sudjelovalo ukupno 49 bolesnika s AB, 28 ispitanika s BSP i četiri kontrolne (zdrave) osobe.

### 3.5. Statistička analiza podataka

Statistička analiza dobivenih podataka je rađena u SPSS programskom paketu v.19.0.1 (SPSS, Chicago, IL, SAD), uz razinu značajnosti od  $\alpha \leq 0.05$ . Normalnost raspodjele pojedinih parametara unutar skupina je testirana pomoću Kolmogorov-Smirnovljeva testa normalnosti. U ovisnosti o rezultatima testa normalnosti, ali i broja ispitanika po skupinama, korišteni su parametrijski i neparametrijski statistički testovi.

Razlike u izmjerenim vrijednostima bioloških biljega između triju skupina su u slučaju normalne raspodjele testirane pomoću jednosmjerne analize varijance (ANOVA), a u slučaju odstupanja od normalnosti Kruskal-Wallis testom. Nakon jednosmjerne analize varijance je za usporedbu pojedinih skupina proveden *post-hoc* Scheffé test, dok je nakon Kruskal-Wallis testa proveden Mann-Whitney test (uz Bonferronijevu korekciju). Razlike u vrijednostima bioloških biljega su između dvije skupine u slučaju normalne raspodjele testirane pomoću Studentovog t-testa, a u slučaju odstupanja od normalnosti Mann-Whitney testom. Korelacije između pojedinih parametara su u slučaju normalne raspodjele rađene Pearsonovom korelacijom, a u slučaju odstupanja od normalnosti Spearmanovom korelacijom.

Dijagnostičke osjetljivosti i specifičnosti pojedinih bioloških biljega su određene iz ROC krivulje (*Receiver Operating Characteristic*, krivulja osjetljivosti dijagnostičkog testa). Istodobno kombiniranje različitih bioloških biljega izvršeno je pomoću opcije redukcije dimenzija (*Dimension Reduction*) u programskom paketu SPSS. Tom funkcijom se npr. iz dvije ili više varijabli (manifestne varijable) izvede jedna zajednička varijabla (latentna varijabla) – tzv. faktorski skor (FS). FS je zapravo standardizirani prosjek „težinskih“ suma dviju ili više povezanih varijabli.

Za određivanje vjerojatnosti AB kod ispitanika s BSP je korištena logistička regresija. Iz regresijskih modela su izvedene jednadžbe pomoću kojih je određen postotak vjerojatnosti nastanka AB kod ispitanika s BSP.



## **4. REZULTATI**

## 4.1. Proteinski biološki biljezi u cerebrospinalnoj tekućini

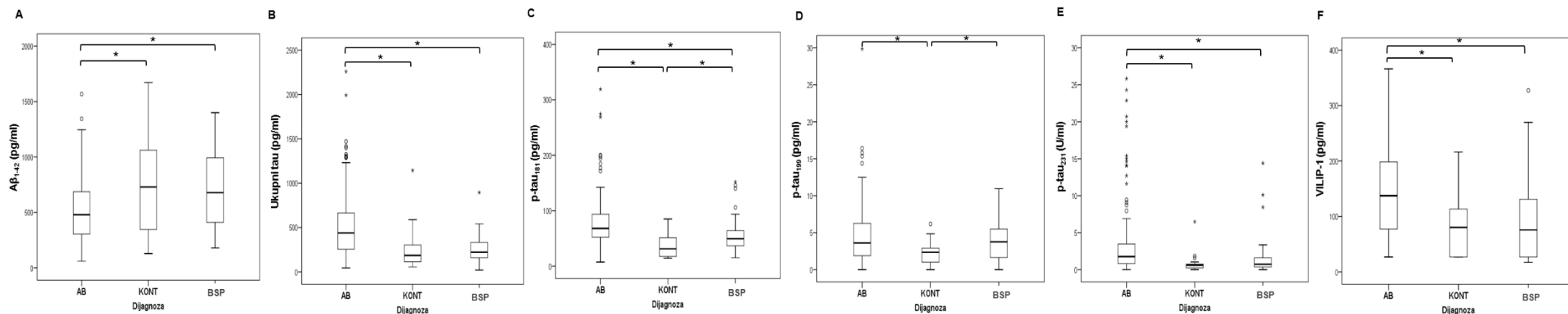
### 4.1.1. Demografski podatci i vrijednosti A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 u likvoru oboljelih od AB, BSP i zdravih kontrola

Vrijednosti proteinskih bioloških biljega (A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) kod AB, BSP skupine i zdravih kontrola su prikazane u **tablici 12** i **slici 18**.

**Tablica 12.** Vrijednosti A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 i demografski podatci u ispitivanim skupinama (AB, BSP i KONT).

	AB			BSP			KONT		
	Broj ispitanika	Srednja vrijednost $\pm$ SD	Medijan (25.-75. percentila)	Broj ispitanika	Srednja vrijednost $\pm$ SD	Medijan (25.-75. percentila)	Broj ispitanika	Srednja vrijednost $\pm$ SD	Medijan (25.-75. percentila)
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub> (pg/ml)</b>	156	521.36 $\pm$ 290.10	479.23 (304.33 - 686.57)	63	713.04 $\pm$ 351.31	679.00 (406.11 - 1012.00)	20	762.64 $\pm$ 451.96	729.72 (310.52 - 1082)
<b>Ukupni tau (pg/ml)</b>	156	518.63 $\pm$ 376.34	439.33 (254.75 - 667.00)	63	252.09 $\pm$ 151.01	222.00 (158.35 - 333.00)	20	267.47 $\pm$ 252.91	185.07 (98.84 - 304.75)
<b>p-tau<sub>181</sub> (pg/ml)</b>	155	78.68 $\pm$ 47.53	68.10 (51.73 - 93.72)	61	54.80 $\pm$ 28.69	49.45 (36.45 - 65.02)	19	37.36 $\pm$ 21.82	31.27 (17.00 - 55.82)
<b>p-tau<sub>199</sub> (pg/ml)</b>	153	4.560 $\pm$ 3.974	3.594 (1.875 - 6.328)	61	3.916 $\pm$ 2.651	3.750 (1.565 - 5.485)	19	2.280 $\pm$ 1.650	2.344 (1.00 - 3.00)
<b>p-tau<sub>231</sub> (U/ml)</b>	146	3.501 $\pm$ 5.007	1.758 (0.804 - 3.493)	60	1.414 $\pm$ 2.396	0.713 (0.346 - 1.602)	18	0.907 $\pm$ 1.481	0.587 (0.164 - 0.803)
<b>VILIP-1 (pg/ml)</b>	151	145.31 $\pm$ 87.64	137.45 (75.67 - 199.63)	60	93.97 $\pm$ 72.01	75.67 (27.00 - 130.99)	20	85.81 $\pm$ 55.02	80.28 (27.00 - 114.37)
<b>Dob</b>	156	71.4 $\pm$ 8.1	72 (66 - 77)	63	66.8 $\pm$ 9.3	67 (61 - 74)	19	59.5 $\pm$ 14.0	59 (52 - 67)
<b>MMSE</b>	154	20.34 $\pm$ 4.43	21 (17.75 - 24)	63	25.84 $\pm$ 2.38	26 (25 - 27)	17	28.53 $\pm$ 1.77	29 (27 - 30)

AB, Alzheimerova bolest; A $\beta$ <sub>1-42</sub>, amiloid  $\beta$ <sub>1-42</sub>; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; MMSE, *Mini Mental State Examination* (mala ljestvica mentalnog stanja); p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231; SD, standardna devijacija.



**Slika 18.** Usporedba vrijednosti A)  $A\beta_{1-42}$ , B) ukupni tau, C) p-tau<sub>181</sub>, D) p-tau<sub>199</sub>, E) p-tau<sub>231</sub> i F) VILIP-1 između AB, BSP i KONT skupina ispitanika.  
\* $p < 0.05$ .

Rezultati testiranja normalnosti raspodjele ispitivanih proteinskih bioloških biljega su prikazani u **tablici 13**. Vrijednosti  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 su se značajno razlikovale između ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT) (**Slika 18, Tablica 14**).

**Tablica 13.** Kolmogorov-Smirnovljev test normalnosti raspodjele  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 unutar ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

Grupe	$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1	Dob	MMSE
<b>AB</b>	$p=0.108$	$p=0.007^*$	$p=0.008^*$	$p=0.005^*$	$p<0.001^*$	$p=0.187$	$p=0.194$	$p=0.067$
<b>BSP</b>	$p=0.536$	$p=0.519$	$p=0.149$	$p=0.828$	$p<0.001^*$	$p=0.094$	$p=0.474$	$p=0.095$
<b>KONT</b>	$p=0.970$	$p=0.202$	$p=0.750$	$p=0.899$	$p=0.043^*$	$p=0.704$	$p=0.963$	$p=0.176$

AB, Alzheimerova bolest;  $A\beta_{1-42}$ , amiloid  $\beta_{1-42}$ ; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; MMSE *Mini Mental State Examination* (mala ljestvica mentalnog stanja); p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231. \* $p < 0.05$ .

**Tablica 14.** Usporedba vrijednosti  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 između ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

		AB vs BSP	AB vs KONT	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta_{1-42}</math></b>	ANOVA	F=10.964, st. sl.=2, 236, p<0.001*; p=0.002 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=16.550$ , st. sl.=2, p<0.001*		
	MW	U=3335.5, Z=-3.719, p<0.001*	U=1068.5, Z=-2.291, p=0.022*	U=607.5, Z=-0.240, p=0.811
<b>Ukupni tau</b>	ANOVA	F=17.983, st. sl.=2, 236, p<0.001*; p<0.001 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=41.703$ , st. sl.=2, p<0.001*		
	MW	U=2432.5, Z=-5.846, p<0.001*	U=759, Z=-3.734, p<0.001*	U=557, Z=-0.777, p=0.437
<b>p-tau<sub>181</sub></b>	ANOVA	F=13.105, st. sl.=2, 232, p<0.001*; p=0.009 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=35.361$ , st. sl.=2, p<0.001*		
	MW	U=2901.5, Z=-4.416, p<0.001*	U=534, Z=-4.529, p<0.001*	U=342.5, Z=-2.680, p=0.007*
<b>p-tau<sub>199</sub></b>	ANOVA	F=3.796, st. sl.=2, 230, p=0.024; p=0.009 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=8.388$ , st. sl.=2, p=0.015*		
	MW	U=4449.5, Z=-0.531, p=0.596	U=872.5, Z=-2.839, p=0.005*	U=357.5, Z=-2.510, p=0.012*
<b>p-tau<sub>231</sub></b>	ANOVA	F=6.902, st. sl.=2, 221, p=0.001*; p<0.001 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=34.523$ , st. sl.=2, p<0.001*		
	MW	U=2480.5, Z=-4.886, p<0.001*	U=548, Z=-4.030, p<0.001*	U=421.5, Z=-1.406, p=0.160
<b>VILIP-1</b>	ANOVA	F=11.281, st. sl.=2, 228, p<0.001*; p=0.013 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=22.474$ , st. sl.=2, p<0.001*		
	MW	U=2893, Z=-4.098, p<0.001*	U=866.5, Z=-3.096, p=0.002*	U=586.5, Z=-0.151, p=0.880
<b>Dob</b>	ANOVA	F=17.686, st. sl.=2, 235, p<0.001; p=0.006 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=22.354$ , st. sl.=2, p<0.001*		
	MW	U=3537, Z=-3.247, p=0.001*	U=680.5, Z=-3.847, p<0.001*	U=389.5, Z=-2.299, p=0.022* <sup>B</sup>
<b>MMSE</b>	ANOVA	F=69.308, st. sl.=2, 231, p<0.001; p<0.001 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=104.112$ , st. sl.=2, p<0.001*		
	MW	U=1224, Z=-8.663, p<0.001*	U=59, Z=-6.467, p<0.001*	U=194.5, Z=-4.051, p<0.001*

AB, Alzheimerova bolest;  $A\beta_{1-42}$ , amiloid  $\beta_{1-42}$ ; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; KW, Kruskal-Wallis test; MMSE, *Mini Mental State Examination* (mala ljestvica mentalnog stanja); MW, Mann-Whitney test; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231.

\*p < 0.05. <sup>#</sup>Levenov test jednakosti varijanci. <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je p < 0.016).

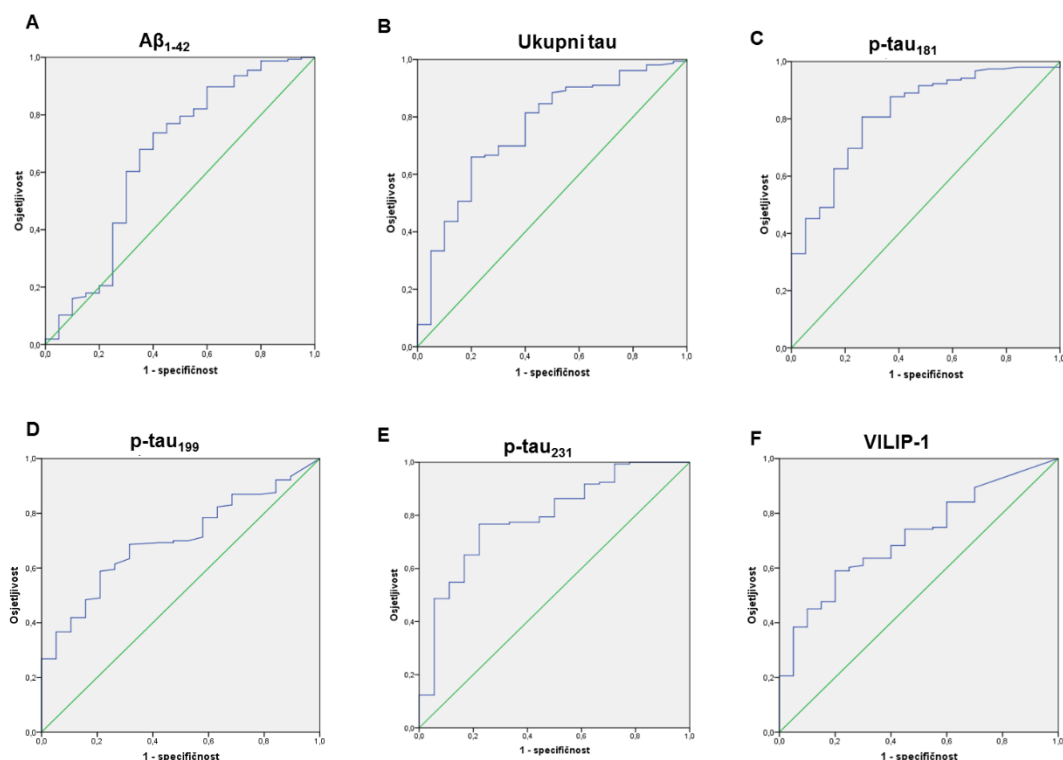
P-tau<sub>199</sub> je pokazao dobru korelaciju sa svim ispitivanim biološkim biljezima –  $A\beta_{1-42}$  (svi ispitanici: r = -0.170, df = 231, p = 0.009, AB ispitanici: r = -0.135, df = 151, p = 0.097, BSP ispitanici: r = -0.223, df = 59, p = 0.084), ukupni tau (svi ispitanici: r = 0.529, df = 231, p < 0.001, AB ispitanici: r = 0.529, df = 151, p < 0.001, BSP ispitanici: r = 0.657, df = 59, p < 0.001), p-tau<sub>181</sub> (svi ispitanici: r = 0.547, df = 227, p < 0.001, AB ispitanici: r = 0.583, df = 150, p < 0.001, BSP ispitanici: r = 0.326, df = 57, p = 0.012), p-tau<sub>231</sub> (r = 0.361, df = 221, p < 0.001, AB ispitanici: r = 0.378, df = 144, p < 0.001, BSP ispitanici: r = 0.132, df = 57, p = 0.318) i VILIP-1 (r = 0.493, df = 225, p < 0.001, AB ispitanici: r = 0.515, df = 147, p < 0.001, BSP ispitanici: r = 0.399, df = 57, p = 0.002). P-tau<sub>231</sub> je također pokazao dobru korelaciju sa svim ispitivanim biološkim biljezima -  $A\beta_{1-42}$  (svi ispitanici: r = -0.309, df = 222, p < 0.001, AB ispitanici: r = -0.267, df = 144, p = 0.001, BSP ispitanici: r = -0.387, df = 58, p = 0.002), ukupni tau (svi ispitanici: r = 0.280, df = 222, p < 0.001, AB ispitanici: r = 0.211, df = 144, p = 0.011, BSP ispitanici: r = 0.083, df = 58, p = 0.530), p-tau<sub>181</sub> (svi ispitanici: r = 0.727, df = 222, p < 0.001, AB ispitanici: r = 0.714, df = 144, p < 0.001, BSP ispitanici: r = 0.707, df = 58, p < 0.001) i VILIP-1 (r = 0.302, df = 221, p < 0.001, AB ispitanici: r = 0.234, df = 144, p

= 0.004, BSP ispitanici:  $r = 0.334$ ,  $df = 57$ ,  $p = 0.010$ ). Vrijednosti VILIP-1 su također pokazale dobru korelaciju sa svim ispitivanim biološkim biljezima - ukupni tau (svi ispitanici:  $r = 0.492$ ,  $df = 229$ ,  $p < 0.001$ , AB ispitanici:  $r = 0.440$ ,  $df = 149$ ,  $p < 0.001$ , BSP ispitanici:  $r = 0.406$ ,  $df = 58$ ,  $p = 0.001$ ), p-tau<sub>181</sub> (svi ispitanici:  $r = 0.548$ ,  $df = 228$ ,  $p < 0.001$ , AB ispitanici:  $r = 0.485$ ,  $df = 149$ ,  $p < 0.001$ , BSP ispitanici:  $r = 0.558$ ,  $df = 58$ ,  $p < 0.001$ ), osim s vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (svi ispitanici:  $r = -0.070$ ,  $df = 229$ ,  $p = 0.289$ , AB ispitanici:  $r = -0.030$ ,  $df = 149$ ,  $p = 0.716$ , BSP ispitanici:  $r = -0.029$ ,  $df = 58$ ,  $p = 0.828$ ).

Vrijednosti p-tau<sub>199</sub> ( $r = -0.125$ ,  $df = 226$ ,  $p = 0.060$ ) i VILIP-1 ( $r = -0.056$ ,  $df = 224$ ,  $p = 0.400$ ) nisu pokazali korelaciju s MMSE, dok su vrijednosti p-tau<sub>231</sub> negativno korelirale s vrijednostima MMSE ( $r = -0.193$ ,  $df = 217$ ,  $p = 0.004$ ).

#### 4.1.2. Osjetljivost, specifičnost i izlučne vrijednosti (IV) likvorskih bioloških biljega

Osjetljivost, specifičnost i izlučne vrijednosti (IV) likvorskih bioloških biljega su prikazane na slici 19 i u tablici 15.



**Slika 19.** ROC krivulja (*Receiver Operating Characteristic*, krivulja osjetljivosti dijagnostičkog testa) za likvorske proteinske biološke biljege.

**Tablica 15.** Vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti te izlučne vrijednosti likvorskih proteinskih bioloških biljega.

	Osjetljivost	Specifičnost	Izlučne vrijednosti	AUC, p
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub></b>	73.7%	60%	669 pg/ml	0.658, p=0.022*
<b>Ukupni tau</b>	66%	80%	309.5 pg/ml	0.757, p<0.001*
<b>p-tau<sub>181</sub></b>	80.6%	73.7%	46.83 pg/ml	0.819, p<0.001*
<b>p-tau<sub>199</sub></b>	58.8%	78.9%	3.06 pg/ml	0.701, p=0.004*
<b>p-tau<sub>231</sub></b>	76.7%	77.8	0.734 U/ml	0.791, p<0.001*
<b>VILIP-1</b>	58.9%	80%	116.26 pg/ml	0.713, p=0.002*

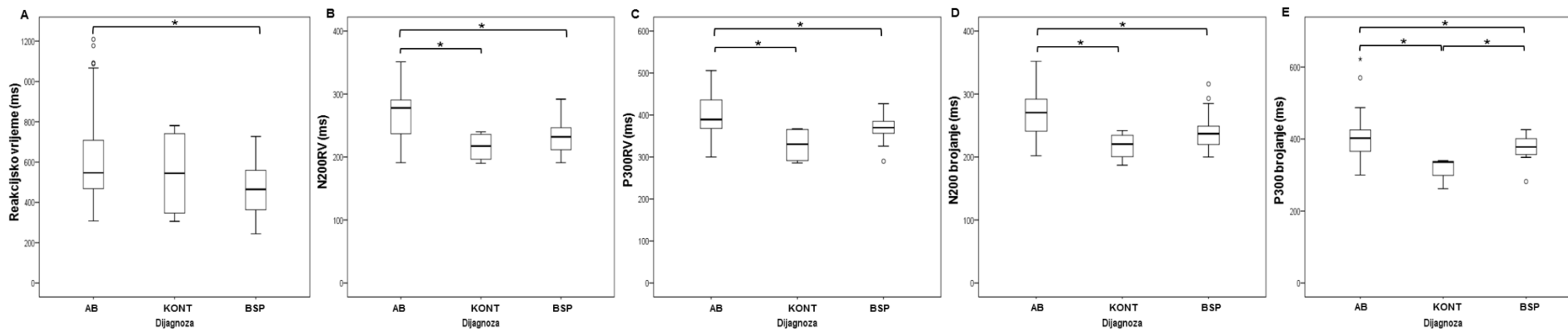
A $\beta$ <sub>1-42</sub>, amiloid  $\beta$ <sub>1-42</sub>; AUC, *area under curve* (površina ispod krivulje); IV, izlučna vrijednost; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231. \*p < 0.05.

## 4.2. Potencijali vezani uz događaj (kognitivni evocirani potencijali)

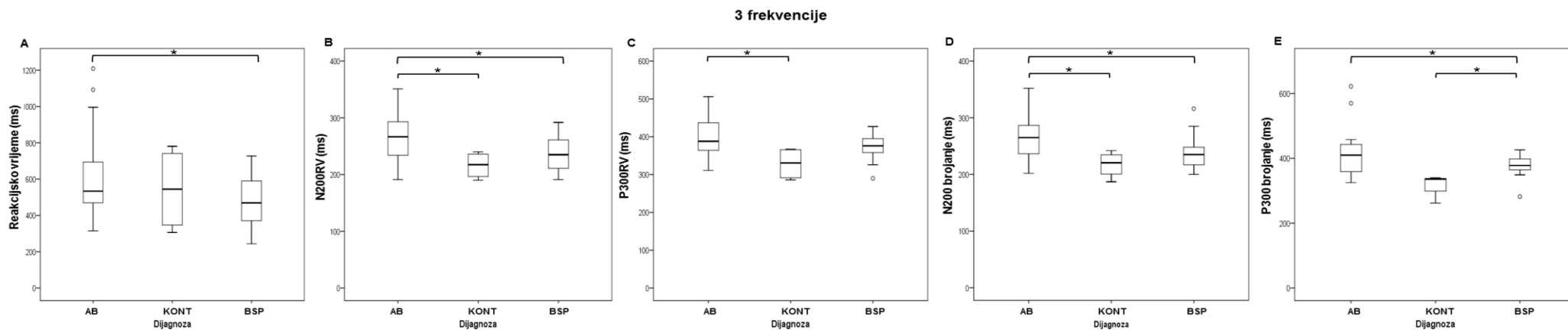
### 4.2.1. Demografski podatci i vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala kod oboljelih od AB, BSP i zdravih kontrola

Među ispitanicima kojima su mjereni kognitivni evocirani potencijali u dvije paradigme (paradigma RV (P300RV i N200RV) i paradigma brojanje (P300 brojanje i N200 brojanje)) su bili oni kojima je izvedena slušna *oddball* paradigma (paradigma slijeda prekinutog neuobičajenim podražajem, SPNP)) s dvije i s tri frekvencije. Statističke analize su rađene zasebno za pacijente koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije i zasebno za pacijente koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije. Zbog malog broja ispitanika su sve statističke analize rađene i na skupini svih ispitanika (koji su sudjelovali u paradigmi SPNP i s dvije i s tri frekvencije). Vrijednosti reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala (P300RV, N200RV, P300 brojanje i N200 brojanje) između AB i BSP skupine te zdravih kontrola su prikazane u **tablici 16**, **slici 20**, **slici 21** i **slici 22**.

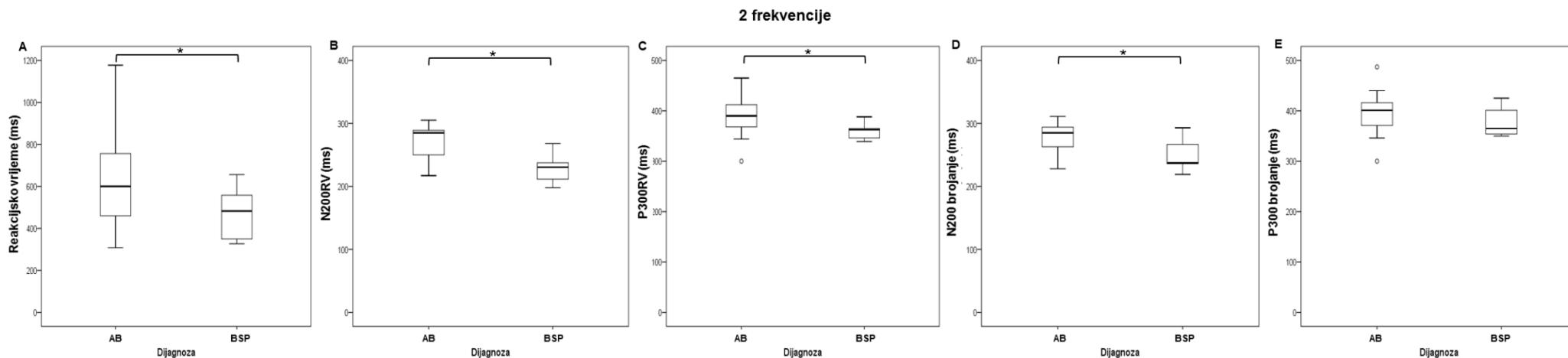
#### 2 + 3 frekvencije



**Slika 20.** Usporedba vrijednosti A) reakcijskog vremena, B) N200RV, C) P300RV, D) N200 brojanja i E) P300 brojanja između AB, BSP i KONT skupine ispitanika kojima je izvedena slušna paradigma SPNP s dvije i tri frekvencije. \* $p < 0.05$ .



**Slika 21.** Usporedba vrijednosti A) reakcijskog vremena, B) N200RV, C) P300RV, D) N200 brojanja i E) P300 brojanja između AB, BSP i KONT ispitanika kojima je izvedena slušna paradigma SPNP s tri frekvencije. \* $p < 0.05$ .



**Slika 22.** Usporedba vrijednosti A) reakcijskog vremena, B) N200RV, C) P300RV, D) N200 brojanja i E) P300 brojanja između AB i BSP grupe ispitanika kojima je izvedena slušna paradigma SPNP s dvije frekvencije. \* $p < 0.05$ .



**Tablica 16.** Vrijednosti reakcijskog vremena, kognitivnih evociranih potencijala (P300RV, N200RV, P300 brojanje i N200 brojanje) i demografskih podataka u ispitivanim skupinama (AB, BSP i KONT).

	AB			BSP			KONT		
	Broj ispitanika	Srednja vrijednost ± SD	Medijan (25.-75. percentila)	Broj ispitanika	Srednja vrijednost ± SD	Medijan (25.-75. percentila)	Broj ispitanika	Srednja vrijednost ± SD	Medijan (25.-75. percentila)
	<b>2 + 3 frekvencije</b>								
<b>Reakcijsko vrijeme</b>	49	625.7 ± 234.3	547.0 (464.0 - 732.0)	28	476.9 ± 125.8	464.5 (359.8 - 559.5)	4	544.0 ± 232.2	544.5 (326.5 - 761.0)
<b>P300RV</b>	46	397.5 ± 46.9	389.5 (367.0 - 436.3)	27	369.1 ± 27.9	370.0 (355.0 - 387.0)	4	328.5 ± 42.9	330.5 (288.8 - 366.3)
<b>N200RV</b>	39	267.2 ± 33.4	278.0 (236.0 - 292.0)	23	544.0 ± 232.2	232.0 (211.0 - 254.0)	4	216.3 ± 23.6	217.5 (193.3 - 238.0)
<b>P300 brojanje</b>	40	405.6 ± 59.7	402.5 (364.0 - 427.3)	25	378.9 ± 32.5	378.0 (355.5 - 404.5)	4	318.5 ± 37.7	336.0 (280.5 - 339.0)
<b>N200 brojanje</b>	34	269.3 ± 33.1	270.5 (240.5 - 293.0)	23	241.9 ± 29.4	237.0 (220.0 - 250.0)	4	217.5 ± 23.3	220.5 (193.8 - 238.3)
	<b>2 frekvencije</b>								
<b>Reakcijsko vrijeme</b>	21	644.6 ± 248.0	600.0 (453.0 - 798.5)	10	469.0 ± 116.8	482.5 (348.8 - 558.5)			
<b>P300RV</b>	21	392.5 ± 38.9	390.0 (368.0 - 418.5)	10	360.8 ± 14.9	362.5 (345.8 - 368.0)			
<b>N200RV</b>	17	270.0 ± 27.9	285.0 (247.5 - 290.5)	8	228.1 ± 22.1	230.5 (207.6 - 238.6)			
<b>P300 brojanje</b>	18	396.9 ± 40.8	401.0 (370.8 - 419.3)	9	379.4 ± 29.2	365.0 (353.5 - 405.5)			
<b>N200 brojanje</b>	15	276.8 ± 24.9	285.0 (259.0 - 296.0)	7	250.6 ± 27.3	237.0 (235.0 - 283.0)			
	<b>3 frekvencije</b>								
<b>Reakcijsko vrijeme</b>	28	611.6 ± 227.1	533.5 (468.8 - 701.0)	17	482.5 ± 137.6	469.0 (363.5 - 618.0)	4	544.0 ± 232.2	544.5 (326.5 - 761.0)
<b>P300RV</b>	25	401.8 ± 53.1	388.0 (363.5 - 438.5)	16	373.8 ± 33.9	376.0 (356.5 - 395.5)	4	328.5 ± 42.9	330.5 (288.8 - 366.3)
<b>N200RV</b>	22	265.1 ± 37.6	266.5 (233.5 - 294.8)	14	238.2 ± 32.3	235.0 (210.8 - 265.0)	4	216.3 ± 23.6	217.5 (193.3 - 238.0)
<b>P300 brojanje</b>	22	412.7 ± 71.9	410.0 (358.3 - 444.0)	15	378.3 ± 36.3	378.0 (359.0 - 408.0)	4	318.5 ± 37.7	336.0 (280.5 - 339.0)
<b>N200 brojanje</b>	19	263.3 ± 38.0	265.0 (235.0 - 292.0)	15	238.5 ± 31.4	235.0 (214.0 - 248.0)	4	217.5 ± 23.3	220.5 (193.8 - 238.3)

AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; RV, reakcijsko vrijeme; SD, standardna devijacija.

Rezultati testiranja normalnosti raspodjele mjerenih kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena su prikazani u **tablici 17**. Vrijednosti reakcijskog vremena i evociranih potencijala (N200RV, P300RV, N200 brojanje i P300 brojanje) su se značajno razlikovali između ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT) (**Slika 20, Tablica 18**).

**Tablica 17.** Kolmogorov-Smirnovljev test normalnosti raspodjele reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala (P300RV, N200RV, P300 brojanje i N200 brojanje) unutar ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

Grupe	Reakcijsko vrijeme	Paradigma RV		Paradigma brojanje		Dob	MMSE
		P300	N200	P300	N200		
<b>2 + 3 frekvencije</b>							
<b>AB</b>	p=0.278	p=0.415	p=0.435	p=0.397	p=0.970	p=0.575	p=0.627
<b>BSP</b>	p=0.958	p=0.976	p=0.518	p=0.725	p=0.491	p=0.502	p=0.283
<b>KONT</b>	p=0.958	p=0.876	p=0.967	p=0.454	p=0.999	p=0.625	p=0.766
<b>2 frekvencije</b>							
<b>AB</b>	p=0.756	p=0.442	p=0.313	p=0.995	p=0.823	p=0.978	p=0.978
<b>BSP</b>	p=0.599	p=0.868	p=0.944	p=0.652	p=0.722	p=0.946	p=0.591
<b>3 frekvencije</b>							
<b>AB</b>	p=0.440	p=0.661	p=0.867	p=0.506	p=0.981	p=0.575	p=0.615
<b>BSP</b>	p=0.972	p=0.897	p=0.917	p=0.916	p=0.707	p=0.272	p=0.467
<b>KONT</b>	p=0.963	p=0.876	p=0.967	p=0.454	p=0.999	p=0.625	p=0.766

AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; MMSE, *Mini Mental State Examination* (mala ljestvica mentalnog stanja); RV, reakcijsko vrijeme.

**Tablica 18.** Usporedba vrijednosti reakcijskog vremena, P300RV, N200RV, P300 brojanje i N200 brojanje između ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

		AB vs BSP	AB vs KONT	BSP vs KONT
		<b>2 + 3 frekvencije</b>		
<b>Reakcijsko vrijeme</b>	ANOVA	F=4.809, st. sl.=2, 78, p=0.011*; p=0.018 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=7.505$ , st. sl.=2, p=0.023*		
	MW	U=428, Z=-2.732, p=0.006*	U=78, Z=-0.673, p=0.526	U=47, Z=-0.513, p=0.640
<b>N200RV</b>	ANOVA	F=10.952, st. sl.=2, 63, p<0.001*; p=0.337 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=16.087$ , st. sl.=2, p<0.001*		
	PH SCHEFFÉ	p=0.001*	p=0.011*	p=0.578
<b>P300RV</b>	MW	U=205.5, Z=-3.452, p<0.001*	U=19.5, Z=-2.447, p=0.010*	U=32, Z=-0.956, p=0.372
	ANOVA	F=7.935, st. sl.=2, 74, p=0.001*; p=0.018 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=12.002$ , st. sl.=2, p=0.002*		
<b>N200 brojanje</b>	MW	U=88.5, Z=-2.657, p=0.008*	U=21.5, Z=-2.522, p=0.007*	U=25, Z=-1.710, p=0.094
	ANOVA	F=8.403, st. sl.=2, 58, p=0.001*; p=0.526 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=13.623$ , st. sl.=2, p=0.001*		
<b>P300 brojanje</b>	PH SCHEFFÉ	p=0.008*	p=0.011*	p=0.363
	MW	U=206, Z=-3.010, p=0.003*	U=14, Z=-2.569, p=0.007*	U=23.5, Z=-1.537, p=0.128
	ANOVA	F=6.484, st. sl.=2, 66, p=0.003; p=0.192 <sup>#</sup>		
<b>Dob</b>	KW	$\chi^2=12.550$ , st. sl.=2, p=0.002*		
	MW	U=354, Z=-1.969, p=0.049* <sup>B</sup>	U=9, Z=-2.899, p=0.001*	U=3, Z=-2.974, p=0.001*
	ANOVA	F=13.146, st. sl.=2, 78, p<0.001*; p=0.001 <sup>#</sup>		
<b>MMSE</b>	KW	$\chi^2=12.885$ , st. sl.=2, p=0.002*		
	MW	U=522.5, Z=-1.733, p=0.083	U=1, Z=-3.270, p<0.001*	U=8, Z=-2.741, p=0.003*
	ANOVA	F=24.514, st. sl.=2, 76, p<0.001*; p=0.001 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=32.983$ , st. sl.=2, p<0.001*		

	MW	U=185, Z=-5.267, p<0.001*	U=3, Z = -2.772, p=0.001*	U=10.5, Z=-2.145, p=0.030* <sup>B</sup>
	<b>2 frekvencije</b>			
<b>Reakcijsko vrijeme</b>	TT	t=2.116, st. sl.=29, p=0.043*		
	MW	U=58.5, Z=-1.965, p=0.048*		
<b>N200RV</b>	TT	t=3.709, st. sl.=23, p=0.001*		
	MW	U=18.5, Z=-2.885, p=0.002*		
<b>P300RV</b>	TT	t=2.473, st. sl.=29, p=0.019*		
	MW	U=38, Z=-2.835, p=0.004*		
<b>N200 brojanje</b>	TT	t=2.237, st. sl.=20, p=0.037*		
	MW	U=24, Z=-2.010, p=0.047*		
<b>P300 brojanje</b>	TT	t=1.144, st. sl.=25, p=0.264		
	MW	U=55, Z=-1.337, p=0.194		
<b>Dob</b>	TT	t=1.490, st. sl.=29, p=0.147		
	MW	U=76, Z=-1.227, p=0.233		
<b>MMSE</b>	TT	t=-5.155, st. sl.=29, p<0.001*		
	MW	U=15, Z=-3.816, p<0.001*		
	<b>3 frekvencije</b>			
<b>Reakcijsko vrijeme</b>	ANOVA	F=2.197, st. sl.=2, 46, p=0.123; p=0.189 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=3.530$ , st. sl.=2, p=0.171		
	PH SCHEFFÉ	p=0.124	p=0.821	p=0.860
	MW	U=158, Z=-1.873, p=0.061	U=46, Z=-0.570, p=0.602	U=29, Z=-0.448, p=0.698
<b>N200RV</b>	ANOVA	F=4.710, st. sl.=2, 37, p=0.015*; p=0.532 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=7.609$ , st. sl.=2, p=0.022*		
	PH SCHEFFÉ	p=0.093	p=0.047*	p=0.545
	MW	U=89.5, Z=-2.094, p=0.035* <sup>B</sup>	U=13.5, Z=-2.165, p=0.026* <sup>B</sup>	U=17.5, Z=-1.116, p=0.277
<b>P300RV</b>	ANOVA	F=5.064, st. sl.=2, 42, p=0.011*; p=0.059 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=6.927$ , st. sl.=2, p=0.031*		
	PH SCHEFFÉ	p=0.182	p=0.020*	p=0.230
	MW	U=148.5, Z=-1.377, p=0.171	U=13.5, Z=-2.309, p=0.016*	U=11, Z=-1.984, p=0.050* <sup>B</sup>
<b>N200 brojanje</b>	ANOVA	F=4.012, st. sl.=2, 35, p=0.027*; p=0.429 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=6.953$ , st. sl.=2, p=0.031*		
	PH SCHEFFÉ	p=0.129	p=0.067	p=0.560
	MW	U=86, Z=-1.961, p=0.050* <sup>B</sup>	U=12, Z=-2.109, p=0.035* <sup>B</sup>	U=17.5, Z=-1.252, p=0.221
<b>P300 brojanje</b>	ANOVA	F=4.894, st. sl.=2, 38, p=0.013*; p=0.170 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=9.598$ , st. sl.=2, p=0.008*		
	PH SCHEFFÉ	p=0.230	p=0.020*	p=0.209
	MW	U=121.5, Z=-1.346, p=0.181	U=6, Z=-2.702, p=0.004*	U=3, Z=-2.702, p=0.004*
<b>Dob</b>	ANOVA	F=11.493, st. sl.=2, 46, p<0.001*; p=0.644 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=10.360$ , st. sl.=2, p=0.006*		
	PH SCHEFFÉ	p=0.564	p<0.001*	p=0.001
	MW	U=196.5, Z=-0.974, p=0.330	U=1, Z=-3.138, p<0.001*	U=5, Z=-2.607, p=0.006*
<b>MMSE</b>	ANOVA	F=10.529, st. sl.=2, 44, p<0.001*; p<0.001 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=10.360$ , st. sl.=2, p=0.006*		
	MW	U=100.5, Z=-3.132, p=0.002*	U=3, Z=-2.606, p=0.003*	U=2.5, Z=-2.492, p=0.007*

AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; KW, Kruskal-Wallis test; MMSE, *Mini Mental State Examination* (mala ljestvica mentalnog stanja); MW, Mann-Whitney test; PH SCHEFFÉ, *post-hoc* Scheffé test; RV, reakcijsko vrijeme; TT, Studentov t-test.

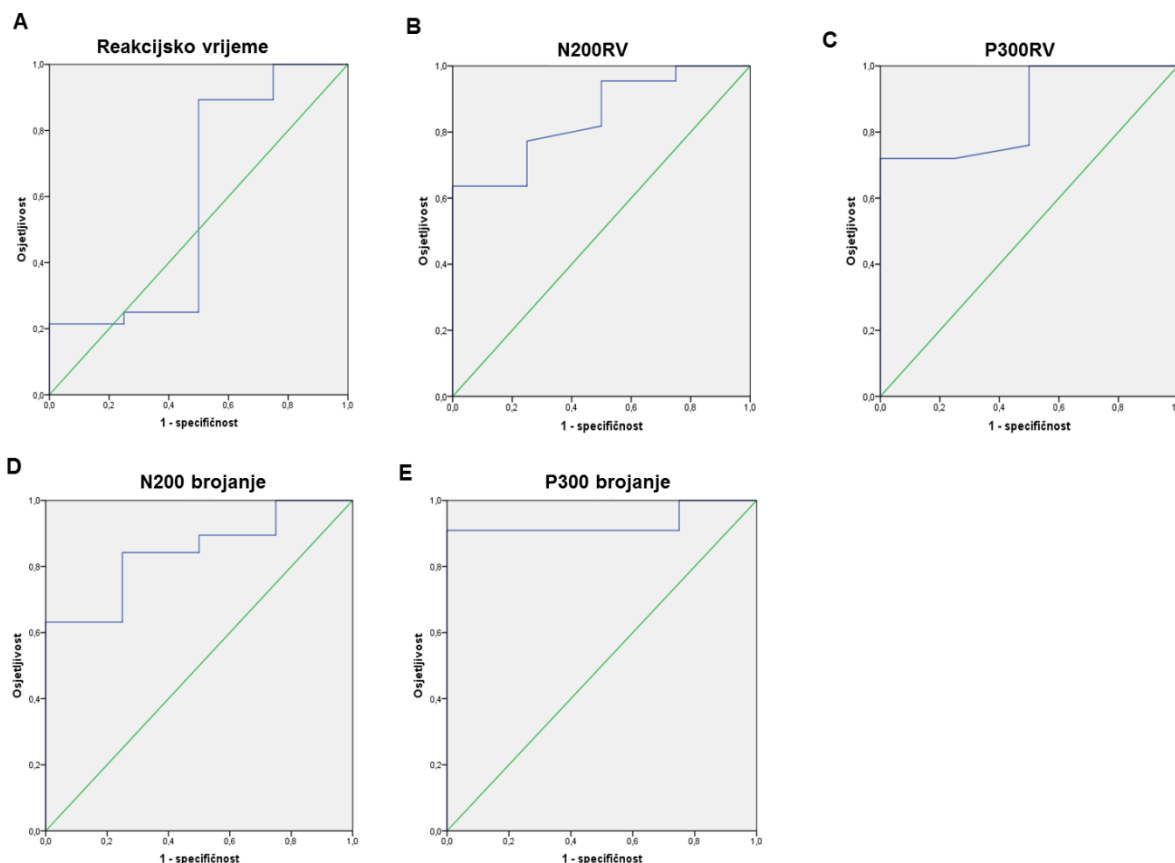
\*p < 0.05.

<sup>#</sup>Levenov test jednakosti varijanci.

<sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je p < 0.016)

#### 4.2.2. Osjetljivost, specifičnost i izlučne vrijednosti (IV) kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena

Osjetljivost, specifičnost i izlučne vrijednosti (IV) kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena su određene na skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije (Slika 23, Tablica 19). Vrijednosti su dobivene analizom rezultata oko 20 bolesnika s AB (ovisno o analiziranoj komponenti) i 4 kontrolna ispitanika (Tablica 16).



Slika 23. ROC krivulja za kognitivne evocirane potencijale i reakcijsko vrijeme.

Tablica 19. Vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti te izlučnih vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena.

	Osjetljivost	Specifičnost	Izlučne vrijednosti	AUC, p
<b>RV</b>	89.3%	50%	397.5 ms	0.589, p=0.569
<b>N200 RV</b>	63.3%	100%	249 ms	0.847, p=0.030*
<b>P300 RV</b>	72%	100%	368.5 ms	0.865, p=0.021*
<b>N200 brojanje</b>	63.2%	100%	245 ms	0.842, p=0.035*
<b>P300 brojanje</b>	90.9%	100%	341.5 ms	0.932, p=0.007*

AUC, area under curve (površina ispod krivulje); RV, reakcijsko vrijeme. \*p < 0.05.

### 4.2.3. Korelacije kognitivnih evociranih potencijala s proteinskim biološkim biljezima i MMSE

Korelacije kognitivnih evociranih potencijala (P300RV, N200RV, P300 brojanje i N200 brojanje) i reakcijskog vremena s proteinskim biološkim biljezima ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) su prikazane u **tablici 20, 21 i 22** te **slikama 24, 25 i 26**. Korelacije kognitivnih evociranih potencijala (P300RV, N200RV, P300 brojanje i N200 brojanje) i reakcijskog vremena s vrijednostima MMSE su prikazane u **tablici 23** i na **slici 27**. Vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala kod bolesnika s blagom AB (MMSE 20-25) i umjerenom i teškom AB (MMSE 10-19) su prikazane u **tablici 24**.

**Tablica 20.** Korelacija reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala s proteinskim likvorskim biološkim biljezima ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije.

		2 + 3 frekvencije					
RV vs		$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	PK	r=-0.042, st. sl.=79, p=0.771	r=0.134, st.sl.=79, p=0.234	r=0.093, st.sl.=76, p=0.419	r=-0.065, st.sl.=79, p=0.566	r=0.141, st.sl.=76, p=0.219	r=-0.015, st.sl.=76, p=0.894
	SK	r <sub>S</sub> =-0.104, st. sl.=79, p=0.353	r <sub>S</sub> =0.130, st.sl.=79, p=0.248	r <sub>S</sub> =0.004, st.sl.=76, p=0.973	r <sub>S</sub> =-0.105, st.sl.=79, p=0.351	r <sub>S</sub> =0.020, st.sl.=76, p=0.863	r <sub>S</sub> =0.054, st.sl.=76, p=0.636
<b>AB</b>	PK	r=0.049, st. sl.=47, p=0.740	r=0.023, st.sl.=79, p=0.873	r=-0.027, st.sl.=46, p=0.858	r=-0.161, st.sl.=47, p=0.268	r=0.095, st.sl.=46, p=0.519	r=-0.294, st.sl.=46, p=0.043* <sup>B</sup>
	SK	r <sub>S</sub> =-0.075, st. sl.=47, p=0.608	r <sub>S</sub> =-0.135, st.sl.=47, p=0.354	r <sub>S</sub> =-0.200, st.sl.=46, p=0.173	r <sub>S</sub> =-0.213, st.sl.=47, p=0.142	r <sub>S</sub> =-0.143, st.sl.=46, p=0.332	r <sub>S</sub> =-0.326, st.sl.=46, p=0.024* <sup>B</sup>
<b>KONT</b>	PK	r=0.331, st. sl.=2, p=0.669	r=0.837, st.sl.=2, p=0.163	r=0.836, st.sl.=2, p=0.164	r=-0.859, st.sl.=2, p=0.141	r=-0.918, st.sl.=2, p=0.082	r=0.850, st.sl.=2, p=0.150
	SK	r <sub>S</sub> =0.200, st. sl.=2, p=0.800	r <sub>S</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>S</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>S</sub> =-0.600, st.sl.=2, p=0.400	r <sub>S</sub> =-0.738, st.sl.=2, p=0.262	
<b>BSP</b>	PK	r=-0.238, st. sl.=26, p=0.222	r=0.071, st.sl.=26, p=0.720	r=-0.151, st.sl.=24, p=0.462	r=-0.197, st.sl.=26, p=0.315	r=-0.020, st.sl.=24, p=0.921	r <sub>S</sub> =0.091, st.sl.=24, p=0.660
	SK	r <sub>S</sub> =-0.191, st. sl.=26, p=0.330	r <sub>S</sub> =0.061, st.sl.=26, p=0.759	r <sub>S</sub> =-0.195, st.sl.=24, p=0.343	r <sub>S</sub> =0.252, st.sl.=26, p=0.196	r <sub>S</sub> =-0.012, st.sl.=24, p=0.955	r <sub>S</sub> =0.254, st.sl.=24, p=0.210
<b>N200 RV vs</b>		$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	PK	r=-0.147, st. sl.=64, p=0.238	r=0.220, st. sl.=64, p=0.077	r=0.284, st.sl.=62, p=0.023* <sup>B</sup>	r=0.074, st.sl.=64, p=0.553	r=0.109, st.sl.=62, p=0.390	r=0.151, st.sl.=62, p=0.223
	SK	r <sub>S</sub> =-0.115, st. sl.=64, p=0.356	r <sub>S</sub> =0.223, st. sl.=64, p=0.072	r <sub>S</sub> =0.338, st.sl.=62, p=0.006*	r <sub>S</sub> =0.101, st.sl.=64, p=0.422	r <sub>S</sub> =0.288, st.sl.=62, p=0.021* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.192, st.sl.=62, p=0.128
<b>AB</b>	PK	r=0.101, st. sl.=37, p=0.539	r=-0.010, st. sl.=37, p=0.952	r=0.047, st.sl.=37, p=0.777	r=-0.061, st.sl.=37, p=0.711	r=-0.090, st.sl.=37, p=0.585	r=-0.103, st.sl.=37, p=0.532
	SK	r <sub>S</sub> =0.115, st. sl.=37, p=0.486	r <sub>S</sub> =0.007, st. sl.=37, p=0.964	r <sub>S</sub> =0.141, st.sl.=37, p=0.391	r <sub>S</sub> =0.038, st.sl.=37, p=0.817	r <sub>S</sub> =0.022, st.sl.=37, p=0.894	r <sub>S</sub> =0.008, st.sl.=37, p=0.963
<b>KONT</b>	PK	r=0.407, st. sl.=2, p=0.593	r=0.875, st. sl.=2, p=0.125	r=0.868, st.sl.=2, p=0.132	r=-0.834, st.sl.=2, p=0.166	r=-0.885, st.sl.=2, p=0.115	r=0.884, st.sl.=2, p=0.116
	SK	r <sub>S</sub> =0.200, st. sl.=2, p=0.800	r <sub>S</sub> =0.800, st. sl.=2, p=0.200	r <sub>S</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>S</sub> =-0.600, st.sl.=2, p=0.400	r <sub>S</sub> =-0.738, st.sl.=2, p=0.262	
<b>BSP</b>	PK	r=-0.251, st. sl.=21, p=0.248	r=-0.031, st. sl.=21, p=0.889	r=0.342, st.sl.=19, p=0.129	r=0.107, st.sl.=21, p=0.627	r=-0.161, st.sl.=19, p=0.487	r <sub>S</sub> =0.073, st.sl.=19, p=0.752
	SK	r <sub>S</sub> =-0.209, st. sl.=21, p=0.340	r <sub>S</sub> =0.096, st. sl.=21, p=0.662	r <sub>S</sub> =-0.187, st.sl.=19, p=0.417	r <sub>S</sub> =0.168, st.sl.=21, p=0.444	r <sub>S</sub> =-0.174, st.sl.=19, p=0.450	r <sub>S</sub> =-0.018, st.sl.=19, p=0.937
<b>P300 RV vs</b>		$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	PK	r=-0.248, st.sl.=75, p=0.030* <sup>B</sup>	r=0.108, st.sl.=75, p=0.351	r=0.337, st.sl.=72, p=0.003*	r=0.087, st.sl.=72, p=0.450	r=0.356, st.sl.=72, p=0.002*	r=0.182, st.sl.=72, p=0.120

<b>AB</b>	SK	$r_s = -0.239$ , st.sl.=75, $p = 0.036^{*B}$	$r_s = 0.016$ , st.sl.=75, $p = 0.890$	$r_s = 0.245$ , st.sl.=72, $p = 0.036^{*B}$	$r_s = 0.053$ , st.sl.=75, $p = 0.648$	$r_s = 0.239$ , st.sl.=72, $p = 0.041^{*B}$	$r_s = 0.141$ , st.sl.=72, $p = 0.231$
	PK	$r = -0.083$ , st.sl.=44, $p = 0.583$	$r = -0.070$ , st.sl.=44, $p = 0.643$	$r = 0.193$ , st.sl.=43, $p = 0.203$	$r = 0.045$ , st.sl.=44, $p = 0.765$	$r = 0.296$ , st.sl.=43, $p = 0.049^*$	$r = -0.016$ , st.sl.=43, $p = 0.919$
<b>KONT</b>	SK	$r_s = -0.104$ , st.sl.=44, $p = 0.490$	$r_s = -0.132$ , st.sl.=44, $p = 0.383$	$r_s = 0.139$ , st.sl.=43, $p = 0.361$	$r_s = 0.077$ , st.sl.=44, $p = 0.610$	$r_s = 0.101$ , st.sl.=43, $p = 0.508$	$r_s = 0.001$ , st.sl.=43, $p = 0.996$
	PK	$r = 0.108$ , st.sl.=2, $p = 0.894$	$r = 0.716$ , st.sl.=2, $p = 0.284$	$r = 0.754$ , st.sl.=2, $p = 0.246$	$r = -0.961$ , st.sl.=2, $p = 0.039^{*B}$	$r = -0.991$ , st.sl.=2, $p = 0.009^{*B}$	$r = 0.655$ , st.sl.=2, $p = 0.345$
<b>BSP</b>	SK	$r_s = -0.200$ , st.sl.=2, $p = 0.800$	$r_s = 0.800$ , st.sl.=2, $p = 0.200$	$r_s = 0.800$ , st.sl.=2, $p = 0.200$		$r_s = -0.949$ , st.sl.=2, $p = 0.051$	$r_s = 0.600$ , st.sl.=2, $p = 0.400$
	PK	$r = -0.262$ , st.sl.=25, $p = 0.187$	$r = -0.150$ , st.sl.=25, $p = 0.455$	$r = 0.289$ , st.sl.=23, $p = 0.610$	$r = -0.094$ , st.sl.=25, $p = 0.639$	$r = -0.239$ , st.sl.=23, $p = 0.251$	$r = 0.055$ , st.sl.=23, $p = 0.793$
<b>N200 brojanje vs</b>	SK	$r_s = -0.278$ , st.sl.=25, $p = 0.160$	$r_s = -0.304$ , st.sl.=25, $p = 0.123$	$r_s = -0.022$ , st.sl.=23, $p = 0.917$	$r_s = -0.179$ , st.sl.=25, $p = 0.371$	$r_s = -0.114$ , st.sl.=23, $p = 0.587$	$r_s = -0.216$ , st.sl.=23, $p = 0.229$
		<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub></b>	<b>Ukupni tau</b>	<b>p-tau<sub>181</sub></b>	<b>p-tau<sub>199</sub></b>	<b>p-tau<sub>231</sub></b>	<b>VILIP-1</b>
<b>Svi ispitanici</b>	PK	$r = -0.287$ , st.sl.=59, $p = 0.025^{*B}$	$r = 0.270$ , st.sl.=59, $p = 0.035^{*B}$	$r = 0.363$ , st.sl.=57, $p = 0.005^*$	$r = 0.171$ , st.sl.=59, $p = 0.186$	$r = 0.175$ , st.sl.=57, $p = 0.184$	$r = 0.211$ , st.sl.=57, $p = 0.109$
	SK	$r_s = -0.339$ , st.sl.=59, $p = 0.008^*$	$r_s = 0.286$ , st.sl.=59, $p = 0.025^{*B}$	$r_s = 0.384$ , st.sl.=57, $p = 0.003^*$	$r_s = 0.254$ , st.sl.=59, $p = 0.048^{*B}$	$r_s = 0.372$ , st.sl.=57, $p = 0.004^*$	$r_s = 0.242$ , st.sl.=57, $p = 0.064$
<b>AB</b>	PK	$r = -0.115$ , st.sl.=32, $p = 0.516$	$r = 0.058$ , st.sl.=32, $p = 0.743$	$r = 0.119$ , st.sl.=32, $p = 0.501$	$r = -0.001$ , st.sl.=32, $p = 0.997$	$r = -0.060$ , st.sl.=32, $p = 0.736$	$r = -0.126$ , st.sl.=32, $p = 0.477$
	SK	$r_s = -0.168$ , st.sl.=32, $p = 0.341$	$r_s = 0.060$ , st.sl.=32, $p = 0.736$	$r_s = 0.159$ , st.sl.=32, $p = 0.369$	$r_s = 0.106$ , st.sl.=32, $p = 0.553$	$r_s = 0.068$ , st.sl.=32, $p = 0.702$	$r_s = -0.106$ , st.sl.=32, $p = 0.551$
<b>KONT</b>	PK	$r = 0.659$ , st.sl.=2, $p = 0.341$	$r = 0.978$ , st.sl.=2, $p = 0.022^{*B}$	$r = 0.997$ , st.sl.=2, $p = 0.003^*$	$r = -0.799$ , st.sl.=2, $p = 0.201$	$r = -0.706$ , st.sl.=2, $p = 0.294$	$r = 0.788$ , st.sl.=2, $p = 0.212$
	SK	$r_s = 0.400$ , st.sl.=2, $p = 0.600$			$r_s = -0.800$ , st.sl.=2, $p = 0.200$	$r_s = -0.736$ , st.sl.=2, $p = 0.262$	$r_s = 0.800$ , st.sl.=2, $p = 0.200$
<b>BSP</b>	PK	$r = -0.413$ , st.sl.=21, $p = 0.050^{*B}$	$r = 0.248$ , st.sl.=21, $p = 0.253$	$r = 0.548$ , st.sl.=19, $p = 0.010^{*B}$	$r = 0.410$ , st.sl.=21, $p = 0.952$	$r = 0.381$ , st.sl.=19, $p = 0.089$	$r = 0.464$ , st.sl.=19, $p = 0.034^{*B}$
	SK	$r_s = -0.399$ , st.sl.=21, $p = 0.059$	$r_s = 0.379$ , st.sl.=21, $p = 0.075$	$r_s = 0.381$ , st.sl.=19, $p = 0.088$	$r_s = 0.583$ , st.sl.=21, $p = 0.003^*$	$r_s = 0.293$ , st.sl.=19, $p = 0.197$	$r_s = 0.344$ , st.sl.=19, $p = 0.127$
<b>P300 brojanje vs</b>		<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub></b>	<b>Ukupni tau</b>	<b>p-tau<sub>181</sub></b>	<b>p-tau<sub>199</sub></b>	<b>p-tau<sub>231</sub></b>	<b>VILIP-1</b>
<b>Svi ispitanici</b>	PK	$r = -0.160$ , st.sl.=67, $p = 0.188$	$r = 0.112$ , st.sl.=67, $p = 0.359$	$r = 0.442$ , st.sl.=64, $p < 0.001^*$	$r = 0.356$ , st.sl.=67, $p = 0.003^*$	$r = 0.411$ , st.sl.=64, $p = 0.001^*$	$r = 0.311$ , st.sl.=64, $p = 0.009^{*B}$
	SK	$r_s = -0.111$ , st.sl.=67, $p = 0.366$	$r_s = 0.071$ , st.sl.=67, $p = 0.356$	$r_s = 0.351$ , st.sl.=64, $p = 0.004^*$	$r_s = 0.302$ , st.sl.=67, $p = 0.012^{*B}$	$r_s = 0.241$ , st.sl.=64, $p = 0.051$	$r_s = 0.235$ , st.sl.=64, $p = 0.057$
<b>AB</b>	PK	$r = 0.012$ , st.sl.=38, $p = 0.940$	$r = 0.034$ , st.sl.=38, $p = 0.835$	$r = 0.413$ , st.sl.=37, $p = 0.009^{*B}$	$r = 0.325$ , st.sl.=38, $p = 0.041^{*B}$	$r = 0.380$ , st.sl.=37, $p = 0.017^{*B}$	$r = 0.245$ , st.sl.=37, $p = 0.133$
	SK	$r_s = -0.041$ , st.sl.=38, $p = 0.800$	$r_s = -0.035$ , st.sl.=38, $p = 0.830$	$r_s = 0.367$ , st.sl.=37, $p = 0.022^{*B}$	$r_s = 0.296$ , st.sl.=38, $p = 0.064$	$r_s = 0.126$ , st.sl.=37, $p = 0.445$	$r_s = 0.173$ , st.sl.=37, $p = 0.293$
<b>KONT</b>	PK	$r = -0.660$ , st.sl.=2, $p = 0.340$	$r = -0.030$ , st.sl.=2, $p = 0.970$	$r = 0.040$ , st.sl.=2, $p = 0.960$	$r = -0.672$ , st.sl.=2, $p = 0.328$	$r = -0.769$ , st.sl.=2, $p = 0.231$	$r = -0.008$ , st.sl.=2, $p = 0.992$
	SK	$r_s = -0.632$ , st.sl.=2, $p = 0.368$	$r_s = 0.316$ , st.sl.=2, $p = 0.684$	$r_s = 0.316$ , st.sl.=2, $p = 0.684$	$r_s = -0.632$ , st.sl.=2, $p = 0.368$	$r_s = -0.833$ , st.sl.=2, $p = 0.167$	$r_s = 0.632$ , st.sl.=2, $p = 0.368$
<b>BSP</b>	PK	$r = -0.057$ , st.sl.=23, $p = 0.787$	$r = 0.002$ , st.sl.=23, $p = 0.994$	$r = 0.228$ , st.sl.=21, $p = 0.182$	$r = 0.329$ , st.sl.=23, $p = 0.108$	$r = 0.283$ , st.sl.=21, $p = 0.191$	$r = 0.305$ , st.sl.=21, $p = 0.157$
	SK	$r_s = 0.022$ , st.sl.=23, $p = 0.919$	$r_s = -0.120$ , st.sl.=23, $p = 0.568$	$r_s = 0.092$ , st.sl.=21, $p = 0.677$	$r_s = 0.224$ , st.sl.=23, $p = 0.282$	$r_s = -0.089$ , st.sl.=21, $p = 0.686$	$r_s = 0.232$ , st.sl.=21, $p = 0.286$

AB, Alzheimerova bolest; A $\beta$ <sub>1-42</sub>, amiloid  $\beta$ <sub>1-42</sub>; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; PK, Pearsonova korelacija; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231; RV, reakcijsko vrijeme; SK, Spearmanova korelacija.

\* $p < 0.05$ . <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je  $p < 0.008$ ). Ružičasto su označene korelacije koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije.

Kada su kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije u statističku analizu dodani su i podatci ispitanika na terapiji s inhibitorima acetilkolinesteraze (AChEI), u skupini svih ispitanika (AB, BSP i KONT) su s vrijednostima N200RV korelirale vrijednosti ukupnog tau ( $r = 0.248$ , st.sl. = 84,  $p = 0.021$ ) i p-tau<sub>181</sub> ( $r = 0.312$ , st.sl. = 82,  $p = 0.004$ ), s vrijednostima P300RV su korelirale vrijednosti A $\beta$ <sub>1-42</sub> ( $r = -0.243$ , st.sl. = 99,  $p = 0.014$ ), p-tau<sub>181</sub> ( $r = 0.318$ , st.sl. = 96,  $p = 0.001$ ) i p-tau<sub>231</sub> ( $r = 0.355$ , st.sl. = 96,  $p < 0.001$ ), s vrijednostima N200 brojanje su korelirale vrijednosti A $\beta$ <sub>1-42</sub> ( $r = -0.271$ , st.sl. = 78,  $p = 0.015$ ), ukupnog tau ( $r = 0.318$ , st.sl. = 78,  $p = 0.004$ ) i p-

tau<sub>181</sub> (r = 0.354, st.sl. = 76, p = 0.001), a s vrijednostima P300 brojanje su korelirale vrijednosti p-tau<sub>181</sub> (r = 0.401, st.sl. = 87, p < 0.001), p-tau<sub>199</sub> (r = 0.296, st.sl. = 90, p = 0.004), p-tau<sub>231</sub> (r = 0.406, st.sl. = 87, p < 0.001) i VILIP-1 (r = 0.257, st.sl. = 87, p = 0.015).

**Tablica 21.** Korelacija reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala s proteinskim likvorskim biološkim biljezima (A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije.

		3 frekvencije					
RV vs		A $\beta$ <sub>1-42</sub>	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	PK	r=-0.150, st.sl.=47, p=0.304	r=0.067, st.sl.=47, p=0.646	r=0.156, st.sl.=44, p=0.300	r=0.011, st.sl.=47, p=0.938	r=0.212, st.sl.=44, p=0.158	r=-0.024, st.sl.=44, p=0.874
	SK	r <sub>s</sub> =-0.203, st.sl.=47, p=0.162	r <sub>s</sub> =0.189, st.sl.=47, p=0.194	r <sub>s</sub> =0.037, st.sl.=44, p=0.805	r <sub>s</sub> =-0.105, st.sl.=47, p=0.351	r <sub>s</sub> =0.040, st.sl.=44, p=0.792	r <sub>s</sub> =0.022, st.sl.=44, p=0.883
<b>AB</b>	PK	r=-0.090, st.sl.=26, p=0.650	r=-0.128, st.sl.=26, p=0.517	r=0.055, st.sl.=25, p=0.785	r=-0.173, st.sl.=26, p=0.378	r=0.214, st.sl.=25, p=0.283	r=-0.288, st.sl.=25, p=0.145
	SK	r <sub>s</sub> =-0.194, st.sl.=26, p=0.322	r <sub>s</sub> =-0.085, st.sl.=26, p=0.665	r <sub>s</sub> =-0.205, st.sl.=25, p=0.305	r <sub>s</sub> =-0.113, st.sl.=26, p=0.568	r <sub>s</sub> =-0.046, st.sl.=25, p=0.818	r <sub>s</sub> =-0.366, st.sl.=25, p=0.061
<b>KONT</b>	PK	r=0.331, st.sl.=2, p=0.669	r=0.837, st.sl.=2, p=0.163	r=0.836, st.sl.=2, p=0.164	r=-0.859, st.sl.=2, p=0.141	r=-0.918, st.sl.=2, p=0.082	r=0.850, st.sl.=2, p=0.150
	SK	r <sub>s</sub> =0.200, st.sl.=2, p=0.800	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =-0.600, st.sl.=2, p=0.400	r <sub>s</sub> =-0.738, st.sl.=2, p=0.262	
<b>BSP</b>	PK	r=-0.411, st.sl.=15, p=0.101	r=0.219, st.sl.=15, p=0.398	r=-0.131, st.sl.=13, p=0.641	r=-0.384, st.sl.=15, p=0.128	r=-0.017, st.sl.=13, p=0.953	r=-0.063, st.sl.=13, p=0.823
	SK	r <sub>s</sub> =-0.429, st.sl.=15, p=0.086	r <sub>s</sub> =0.145, st.sl.=15, p=0.580	r <sub>s</sub> =-0.096, st.sl.=13, p=0.732	r <sub>s</sub> =0.420, st.sl.=15, p=0.094	r <sub>s</sub> =0.123, st.sl.=13, p=0.661	r <sub>s</sub> =0.184, st.sl.=13, p=0.510
<b>N200RV vs</b>		A $\beta$ <sub>1-42</sub>	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	PK	r=-0.127, st.sl.=38, p=0.435	r=0.139, st.sl.=38, p=0.391	r=0.309, st.sl.=36, p=0.059	r=0.128, st.sl.=38, p=0.431	r=0.066, st.sl.=36, p=0.694	r=0.162, st.sl.=36, p=0.331
	SK	r <sub>s</sub> =-0.068, st.sl.=38, p=0.677	r <sub>s</sub> =0.123, st.sl.=38, p=0.450	r <sub>s</sub> =0.282, st.sl.=36, p=0.086	r <sub>s</sub> =0.166, st.sl.=38, p=0.307	r <sub>s</sub> =-0.184, st.sl.=36, p=0.268	r <sub>s</sub> =-0.136, st.sl.=36, p=0.414
<b>AB</b>	PK	r=0.035, st.sl.=20, p=0.878	r=-0.100, st.sl.=20, p=0.658	r=0.050, st.sl.=20, p=0.823	r=-0.072, st.sl.=20, p=0.751	r=-0.098, st.sl.=20, p=0.665	r=-0.106, st.sl.=20, p=0.639
	SK	r <sub>s</sub> =0.060, st.sl.=20, p=0.791	r <sub>s</sub> =-0.138, st.sl.=20, p=0.539	r <sub>s</sub> =0.013, st.sl.=20, p=0.954	r <sub>s</sub> =0.018, st.sl.=20, p=0.936	r <sub>s</sub> =-0.082, st.sl.=20, p=0.717	r <sub>s</sub> =-0.075, st.sl.=20, p=0.742
<b>KONT</b>	PK	r=0.407, st.sl.=2, p=0.593	r=0.875, st.sl.=2, p=0.125	r=0.868, st.sl.=2, p=0.132	r=-0.834, st.sl.=2, p=0.166	r=-0.885, st.sl.=2, p=0.115	r=0.884, st.sl.=2, p=0.116
	SK	r <sub>s</sub> =0.200, st.sl.=2, p=0.800	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =-0.600, st.sl.=2, p=0.400	r <sub>s</sub> =-0.738, st.sl.=2, p=0.262	
<b>BSP</b>	PK	r=-0.014, st.sl.=12, p=0.961	r=-0.031, st.sl.=12, p=0.915	r=0.416, st.sl.=10, p=0.178	r=0.290, st.sl.=12, p=0.314	r=0.064, st.sl.=10, p=0.844	r <sub>s</sub> =0.334, st.sl.=10, p=0.289
	SK	r <sub>s</sub> =-0.033, st.sl.=12, p=0.911	r <sub>s</sub> =0.295, st.sl.=12, p=0.306	r <sub>s</sub> =0.452, st.sl.=10, p=0.140	r <sub>s</sub> =0.354, st.sl.=12, p=0.215	r <sub>s</sub> =0.200, st.sl.=10, p=0.534	r <sub>s</sub> =0.217, st.sl.=10, p=0.498
<b>P300RV vs</b>		A $\beta$ <sub>1-42</sub>	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	PK	r=-0.381, st.sl.=43, p=0.010* <sup>B</sup>	r=0.140, st.sl.=43, p=0.359	r=0.443, st.sl.=40, p=0.003*	r=0.156, st.sl.=43, p=0.307	r=0.406, st.sl.=40, p=0.008*	r=0.205, st.sl.=40, p=0.192
	SK	r <sub>s</sub> =-0.357, st.sl.=43, p=0.016* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.023, st.sl.=43, p=0.881	r <sub>s</sub> =0.320, st.sl.=40, p=0.039* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.207, st.sl.=43, p=0.173	r <sub>s</sub> =0.238, st.sl.=40, p=0.129	r <sub>s</sub> =0.141, st.sl.=40, p=0.373
<b>AB</b>	PK	r=-0.319, st.sl.=23, p=0.120	r=-0.046, st.sl.=23, p=0.829	r=0.294, st.sl.=22, p=0.164	r=0.028, st.sl.=23, p=0.894	r=0.362, st.sl.=22, p=0.082	r=-0.054, st.sl.=22, p=0.801
	SK	r <sub>s</sub> =-0.334, st.sl.=23, p=0.103	r <sub>s</sub> =-0.09, st.sl.=23, p=0.694	r <sub>s</sub> =0.201, st.sl.=22, p=0.347	r <sub>s</sub> =0.097, st.sl.=23, p=0.643	r <sub>s</sub> =0.142, st.sl.=22, p=0.507	r <sub>s</sub> =-0.048, st.sl.=22, p=0.824
<b>KONT</b>	PK	r=0.108, st.sl.=2, p=0.894	r=0.716, st.sl.=2, p=0.284	r=0.754, st.sl.=2, p=0.246	r=-0.961, st.sl.=2, p=0.039* <sup>B</sup>	r=-0.991, st.sl.=2, p=0.009* <sup>B</sup>	r=0.655, st.sl.=2, p=0.345
	SK	r <sub>s</sub> =0.200, st.sl.=2, p=0.800	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =-0.949, st.sl.=2, p=0.051	r <sub>s</sub> =-0.949, st.sl.=2, p=0.051	r <sub>s</sub> =0.600, st.sl.=2, p=0.400
<b>BSP</b>	PK	r=-0.136, st.sl.=14, p=0.615	r=-0.062, st.sl.=14, p=0.820	r=0.379, st.sl.=12, p=0.181	r=0.166, st.sl.=14, p=0.539	r=0.218, st.sl.=12, p=0.454	r=0.301, st.sl.=12, p=0.296
	SK	r <sub>s</sub> =-0.015, st.sl.=14, p=0.579	r <sub>s</sub> =-0.144, st.sl.=14, p=0.594	r <sub>s</sub> =0.165, st.sl.=12, p=0.573	r <sub>s</sub> =0.078, st.sl.=14, p=0.774	r <sub>s</sub> =-0.185, st.sl.=12, p=0.527	r <sub>s</sub> =-0.049, st.sl.=12, p=0.867
<b>N200 brojanje vs</b>		A $\beta$ <sub>1-42</sub>	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	PK	r=-0.260, st.sl.=36, p=0.114	r=0.119, st.sl.=36, p=0.231	r=0.380, st.sl.=34, p=0.022* <sup>B</sup>	r=0.173, st.sl.=36, p=0.300	r=0.164, st.sl.=34, p=0.341	r=0.163, st.sl.=34, p=0.344
	SK	r <sub>s</sub> =-0.345, st.sl.=36, p=0.034* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.155, st.sl.=36, p=0.354	r <sub>s</sub> =0.369, st.sl.=34, p=0.027* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.279, st.sl.=36, p=0.090	r <sub>s</sub> =0.275, st.sl.=34, p=0.105	r <sub>s</sub> =0.184, st.sl.=34, p=0.282
<b>AB</b>	PK	r=-0.117, st.sl.=17, p=0.633	r=-0.027, st.sl.=17, p=0.914	r=0.007, st.sl.=17, p=0.976	r=-0.020, st.sl.=17, p=0.937	r=-0.111, st.sl.=17, p=0.651	r=-0.301, st.sl.=17, p=0.210
	SK	r <sub>s</sub> =-0.249, st.sl.=17, p=0.303	r <sub>s</sub> =-0.219, st.sl.=17, p=0.367	r <sub>s</sub> =0.005, st.sl.=17, p=0.983	r <sub>s</sub> =0.088, st.sl.=17, p=0.721	r <sub>s</sub> =-0.112, st.sl.=17, p=0.647	r <sub>s</sub> =-0.300, st.sl.=17, p=0.212

<b>KONT</b>	PK	r=0.659, st.sl.=2, p=0.341	r=0.978, st.sl.=2, p=0.022* <sup>B</sup>	r=0.997, st.sl.=2, p=0.003*	r=-0.799, st.sl.=2, p=0.201	r=-0.706, st.sl.=2, p=0.294	r=0.788, st.sl.=2, p=0.212
	SK	r <sub>S</sub> =0.400, st.sl.=2, p=0.600			r <sub>S</sub> =-0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>S</sub> =-0.736, st.sl.=2, p=0.262	r <sub>S</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200
<b>BSP</b>	PK	r=-0.381, st.sl.=13, p=0.161	r=0.271, st.sl.=13, p=0.328	r=-0.709, st.sl.=11, p=0.007*	r=-0.496, st.sl.=13, p=0.060	r=0.468, st.sl.=11, p=0.107	r=0.716, st.sl.=11, p=0.006*
	SK	r <sub>S</sub> =-0.433, st.sl.=13, p=0.107	r <sub>S</sub> =0.457, st.sl.=13, p=0.087	r <sub>S</sub> =0.414, st.sl.=11, p=0.160	r <sub>S</sub> =0.688, st.sl.=13, p=0.007*	r <sub>S</sub> =0.314, st.sl.=11, p=0.295	r <sub>S</sub> =0.411, st.sl.=11, p=0.163
<b>P300 brojanje vs</b>		<b>Aβ<sub>1-42</sub></b>	<b>Ukupni tau</b>	<b>p-tau<sub>181</sub></b>	<b>p-tau<sub>199</sub></b>	<b>p-tau<sub>231</sub></b>	<b>VILIP-1</b>
<b>Svi ispitanici</b>	PK	r=-0.259, st.sl.=39, p=0.102	r=0.105, st.sl.=67, p=0.515	r=-0.464, st.sl.=37, p=0.003*	r=-0.354, st.sl.=639, p=0.023* <sup>B</sup>	r=-0.438, st.sl.=37, p=0.006*	r=0.294, st.sl.=37, p=0.073
	SK	r=-0.253, st.sl.=39, p=0.111	r <sub>S</sub> =0.050, st.sl.=39, p=0.757	r <sub>S</sub> =0.377, st.sl.=37, p=0.020* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.357, st.sl.=39, p=0.022* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.288, st.sl.=37, p=0.080	r <sub>S</sub> =0.170, st.sl.=37, p=0.308
<b>AB</b>	PK	r=-0.054, st.sl.=21, p=0.812	r=-0.087, st.sl.=21, p=0.699	r=0.377, st.sl.=19, p=0.091	r=0.260, st.sl.=21, p=0.243	r=0.374, st.sl.=19, p=0.094	r=0.164, st.sl.=19, p=0.478
	SK	r <sub>S</sub> =-0.109, st.sl.=21, p=0.630	r <sub>S</sub> =-0.104, st.sl.=21, p=0.645	r <sub>S</sub> =0.296, st.sl.=19, p=0.192	r <sub>S</sub> =0.288, st.sl.=21, p=0.194	r <sub>S</sub> =0.136, st.sl.=19, p=0.555	r <sub>S</sub> =0.062, st.sl.=19, p=0.788
<b>KONT</b>	PK	r=-0.660, st.sl.=2, p=0.340	r=-0.030, st.sl.=2, p=0.970	r=0.040, st.sl.=2, p=0.960	r=-0.672, st.sl.=2, p=0.328	r=-0.769, st.sl.=2, p=0.231	r=-0.008, st.sl.=2, p=0.992
	SK	r <sub>S</sub> =-0.632, st.sl.=2, p=0.368	r <sub>S</sub> =0.316, st.sl.=2, p=0.684	r <sub>S</sub> =0.316, st.sl.=2, p=0.684	r <sub>S</sub> =-0.632, st.sl.=2, p=0.368	r <sub>S</sub> =-0.833, st.sl.=2, p=0.167	r <sub>S</sub> =0.632, st.sl.=2, p=0.368
<b>BSP</b>	PK	r=-0.095, st.sl.=13, p=0.736	r=0.050, st.sl.=13, p=0.860	r=0.401, st.sl.=11, p=0.175	r=-0.419, st.sl.=13, p=0.120	r=0.354, st.sl.=11, p=0.236	r=0.398, st.sl.=11, p=0.178
	SK	r <sub>S</sub> =-0.030, st.sl.=13, p=0.914	r <sub>S</sub> =-0.068, st.sl.=13, p=0.810	r <sub>S</sub> =0.099, st.sl.=11, p=0.748	r <sub>S</sub> =0.416, st.sl.=13, p=0.123	r <sub>S</sub> =-0.198, st.sl.=11, p=0.516	r <sub>S</sub> =0.328, st.sl.=11, p=0.273

AB, Alzheimerova bolest; Aβ<sub>1-42</sub>, amiloid β<sub>1-42</sub>; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; PK, Pearsonova korelacija; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231; RV, reakcijsko vrijeme; SK, Spearmanova korelacija.

\*p < 0.05.

<sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je p < 0.008). Ružičasto su označene korelacije koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije.

Kada su kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije u statističku analizu dodani i podatci ispitanika na terapiji s AChEI, u skupini svih ispitanika (AB, BSP i KONT) s vrijednostima N200RV su korelirale vrijednosti p-tau<sub>181</sub> (r = 0.349, st.sl. = 46, p = 0.015), s vrijednostima P300RV su korelirale vrijednosti Aβ<sub>1-42</sub> (r = -0.316, st.sl. = 53, p = 0.019), p-tau<sub>181</sub> (r = 0.404, st.sl. = 50, p = 0.003) i p-tau<sub>231</sub> (r = 0.391, st.sl. = 50, p = 0.004), s vrijednostima N200 brojanje su korelirale vrijednosti p-tau<sub>181</sub> (r = 0.363, st.sl. = 43, p = 0.014), a s vrijednostima P300 brojanje su korelirale vrijednosti p-tau<sub>181</sub> (r = 0.425, st.sl. = 46, p = 0.003), p-tau<sub>199</sub> (r = 0.313, st.sl. = 49, p = 0.026) i p-tau<sub>231</sub> (r = 0.433, st.sl. = 46, p = 0.002).



**Tablica 22.** Korelacija reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala s proteinskim likvorskim biološkim biljezima ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije.

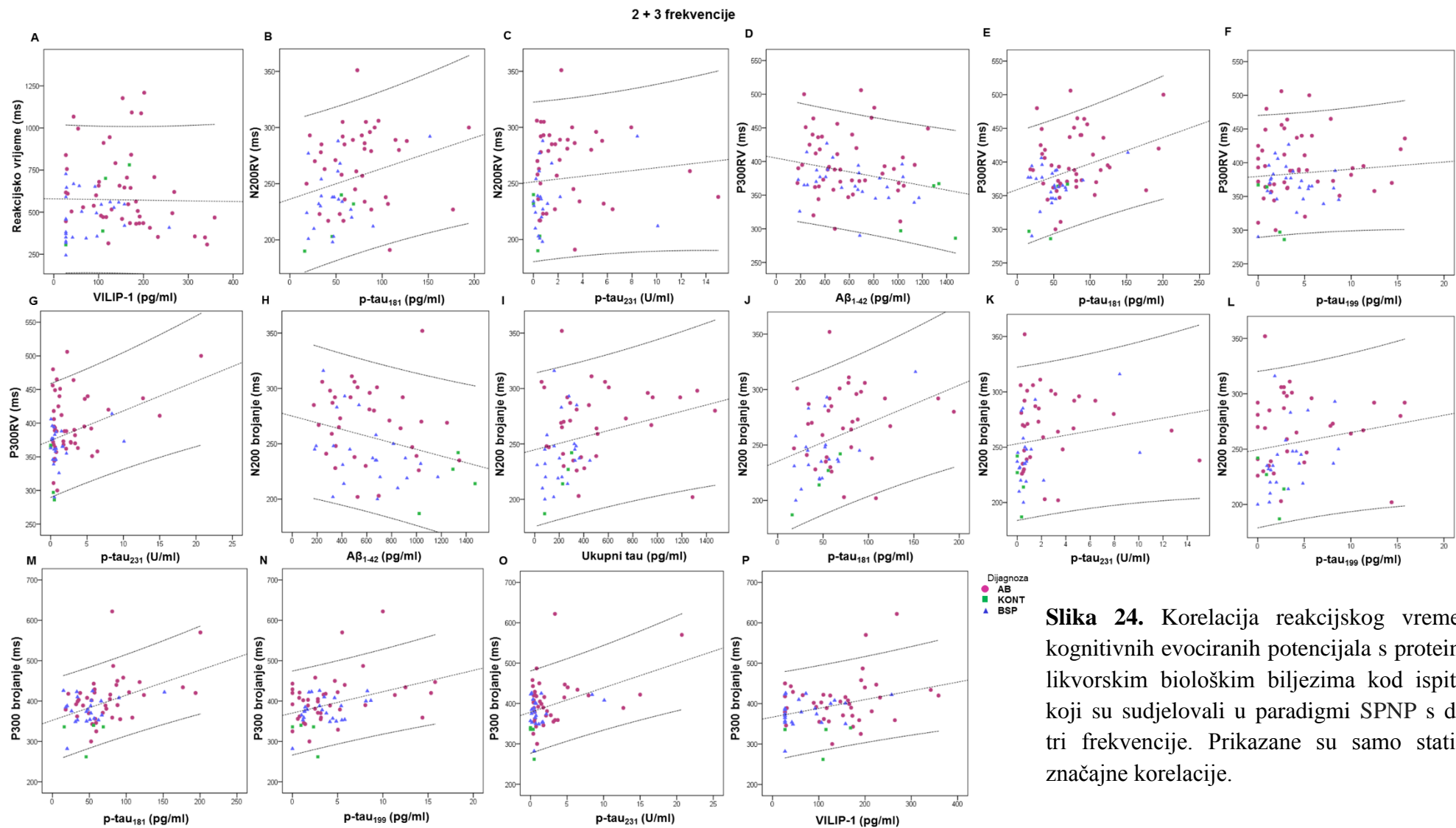
		2 frekvencije					
RV vs		$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	SK	$r_s=0.048$ , st.sl.=29, p=0.798	$r_s=-0.072$ , st.sl.=29, p=0.700	$r_s=-0.094$ , st.sl.=29, p=0.614	$r_s=-0.323$ , st.sl.=29, p=0.077	$r_s=-0.104$ , st.sl.=29, p=0.577	$r_s=0.060$ , st.sl.=29, p=0.749
<b>AB</b>	SK	$r_s=0.096$ , st.sl.=19, p=0.679	$r_s=-0.296$ , st.sl.=19, p=0.192	$r_s=-0.143$ , st.sl.=19, p=0.537	$r_s=-0.353$ , st.sl.=19, p=0.117	$r_s=-0.261$ , st.sl.=19, p=0.253	$r_s=-0.294$ , st.sl.=19, p=0.197
<b>BSP</b>	SK	$r_s=0.236$ , st.sl.=8, p=0.511	$r_s=-0.200$ , st.sl.=8, p=0.580	$r_s=-0.394$ , st.sl.=8, p=0.260	$r_s=0.176$ , st.sl.=8, p=0.627	$r_s=-0.345$ , st.sl.=8, p=0.328	$r_s=0.486$ , st.sl.=8, p=0.154
<b>N200RV vs</b>		$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	SK	$r_s=-0.169$ , st.sl.=23, p=0.419	$r_s=0.388$ , st.sl.=23, p=0.055	$r_s=0.437$ , st.sl.=23, p=0.029* <sup>B</sup>	$r_s=-0.084$ , st.sl.=23, p=0.690	$r_s=0.432$ , st.sl.=23, p=0.031* <sup>B</sup>	$r_s=0.273$ , st.sl.=23, p=0.187
<b>AB</b>	SK	$r_s=0.260$ , st.sl.=15, p=0.313	$r_s=0.177$ , st.sl.=15, p=0.498	$r_s=0.402$ , st.sl.=15, p=0.109	$r_s=0.140$ , st.sl.=15, p=0.593	$r_s=0.108$ , st.sl.=15, p=0.680	$r_s=0.215$ , st.sl.=15, p=0.408
<b>BSP</b>	SK	$r_s=-0.833$ , st.sl.=8, p=0.010* <sup>B</sup>	$r_s=0.262$ , st.sl.=8, p=0.531	$r_s=-0.024$ , st.sl.=8, p=0.955	$r_s=0.286$ , st.sl.=8, p=0.493	$r_s=0.000$ , st.sl.=8, p=1.000	$r_s=-0.389$ , st.sl.=8, p=0.382
<b>P300RV vs</b>		$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	SK	$r_s=-0.108$ , st.sl.=29, p=0.564	$r_s=0.036$ , st.sl.=29, p=0.848	$r_s=0.126$ , st.sl.=29, p=0.500	$r_s=-0.152$ , st.sl.=29, p=0.414	$r_s=0.216$ , st.sl.=29, p=0.243	$r_s=0.200$ , st.sl.=29, p=0.281
<b>AB</b>	SK	$r_s=0.103$ , st.sl.=19, p=0.658	$r_s=-0.195$ , st.sl.=19, p=0.397	$r_s=0.006$ , st.sl.=19, p=0.980	$r_s=0.005$ , st.sl.=19, p=0.982	$r_s=-0.042$ , st.sl.=19, p=0.856	$r_s=0.122$ , st.sl.=19, p=0.600
<b>BSP</b>	SK	$r_s=-0.827$ , st.sl.=8, p=0.003* <sup>B</sup>	$r_s=0.164$ , st.sl.=8, p=0.560	$r_s=0.030$ , st.sl.=8, p=0.934	$r_s=-0.134$ , st.sl.=8, p=0.713	$r_s=0.340$ , st.sl.=8, p=0.336	$r_s=-0.524$ , st.sl.=8, p=0.120
<b>N200 brojanje vs</b>		$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	SK	$r_s=-0.247$ , st.sl.=19, p=0.268	$r_s=0.453$ , st.sl.=19, p=0.034	$r_s=0.456$ , st.sl.=19, p=0.033* <sup>B</sup>	$r_s=0.033$ , st.sl.=19, p=0.886	$r_s=0.558$ , st.sl.=19, p=0.007* <sup>B</sup>	$r_s=0.271$ , st.sl.=19, p=0.222
<b>AB</b>	SK	$r_s=0.084$ , st.sl.=13, p=0.766	$r_s=0.470$ , st.sl.=13, p=0.077	$r_s=0.561$ , st.sl.=13, p=0.029* <sup>B</sup>	$r_s=0.170$ , st.sl.=13, p=0.546	$r_s=0.472$ , st.sl.=13, p=0.076	$r_s=0.261$ , st.sl.=13, p=0.348
<b>BSP</b>	SK	$r_s=-0.739$ , st.sl.=5, p=0.058	$r_s=0.072$ , st.sl.=5, p=0.878	$r_s=-0.306$ , st.sl.=5, p=0.504	$r_s=0.396$ , st.sl.=5, p=0.379	$r_s=0.054$ , st.sl.=5, p=0.908	$r_s=-0.118$ , st.sl.=5, p=0.801
<b>P300 brojanje vs</b>		$A\beta_{1-42}$	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>Svi ispitanici</b>	SK	$r_s=0.113$ , st.sl.=25, p=0.575	$r_s=0.120$ , st.sl.=25, p=0.552	$r_s=0.391$ , st.sl.=25, p=0.044* <sup>B</sup>	$r_s=0.295$ , st.sl.=25, p=0.135	$r_s=0.112$ , st.sl.=25, p=0.577	$r_s=0.433$ , st.sl.=25, p=0.024* <sup>B</sup>
<b>AB</b>	SK	$r_s=0.112$ , st.sl.=16, p=0.657	$r_s=0.174$ , st.sl.=16, p=0.489	$r_s=0.581$ , st.sl.=16, p=0.011* <sup>B</sup>	$r_s=0.419$ , st.sl.=16, p=0.083	$r_s=0.174$ , st.sl.=16, p=0.489	$r_s=0.534$ , st.sl.=16, p=0.023* <sup>B</sup>
<b>BSP</b>	SK	$r_s=-0.017$ , st.sl.=7, p=0.966	$r_s=0.000$ , st.sl.=7, p=1.000	$r_s=-0.033$ , st.sl.=7, p=0.932	$r_s=0.283$ , st.sl.=7, p=0.460	$r_s=-0.283$ , st.sl.=7, p=0.460	$r_s=-0.109$ , st.sl.=7, p=0.781

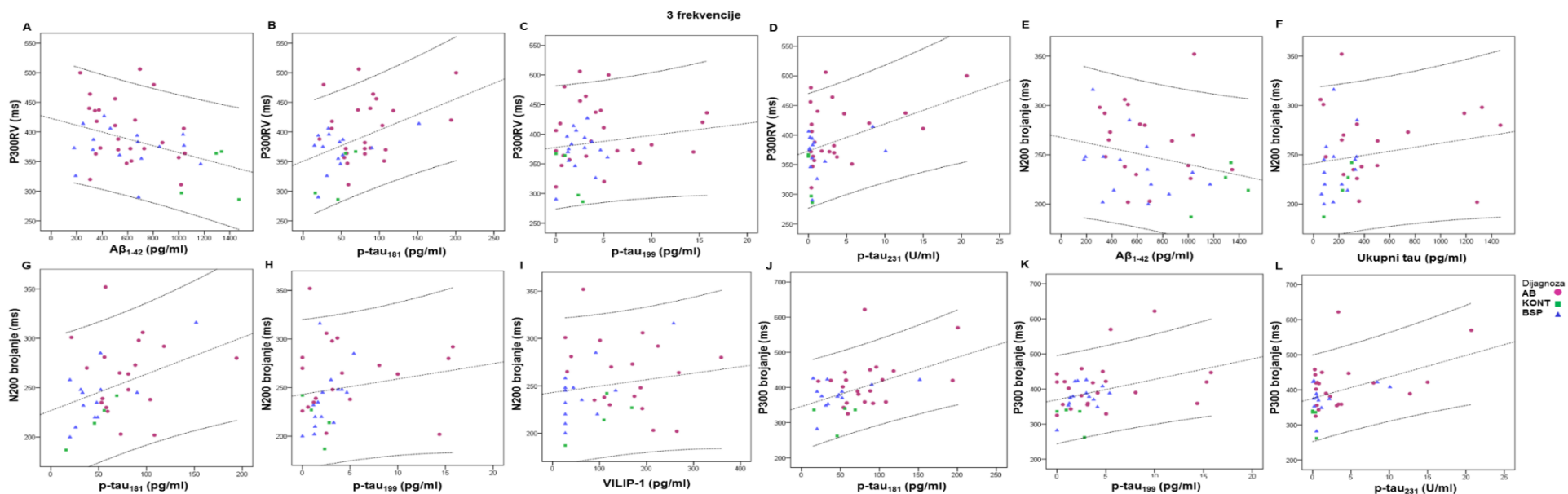
AB, Alzheimerova bolest;  $A\beta_{1-42}$ , amiloid  $\beta_{1-42}$ ; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; PK, Pearsonova korelacija; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231; RV, reakcijsko vrijeme; SK, Spearmanova korelacija.

\* $p < 0.05$ . <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je  $p < 0.008$ ). Ružičasto su označene korelacije koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije.

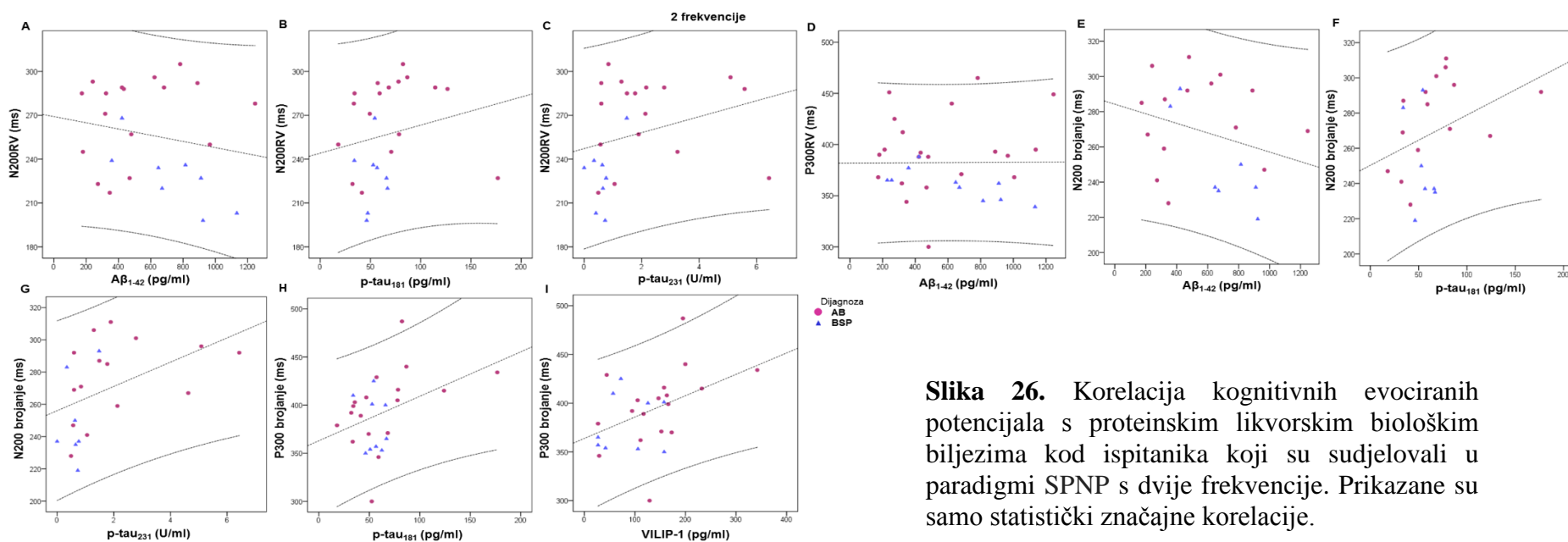
Kada su kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije u statističku analizu dodani i podatci ispitanika na terapiji s AChEI, u skupini svih ispitanika (AB, BSP i KONT) s vrijednostima N200RV su korelirale vrijednosti p-tau<sub>231</sub> ( $r = 0.334$ , st.sl. = 33,  $p = 0.050$ ), s vrijednostima N200 brojanje su korelirale vrijednosti t-tau ( $r = 0.432$ , st.sl. = 30,  $p = 0.032$ ) i p-tau<sub>231</sub> ( $r = 0.417$ , st.sl. = 30,  $p = 0.018$ ),

a s vrijednostima P300 brojanje su korelirale vrijednosti p-tau<sub>181</sub> ( $r = 0.360$ , st.sl. = 38,  $p = 0.023$ ), p-tau<sub>231</sub> ( $r = 0.347$ , st.sl. = 38,  $p = 0.028$ ) i VILIP-1 ( $r = 0.350$ , st.sl. = 38,  $p = 0.027$ ).





**Slika 25.** Korelacija reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala s proteinskim likvorskim biološkim biljezima kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije. Prikazane su samo statistički značajne korelacije.



**Slika 26.** Korelacija kognitivnih evociranih potencijala s proteinskim likvorskim biološkim biljezima kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije. Prikazane su samo statistički značajne korelacije.

**Tablica 23.** Korelacija MMSE vrijednosti s reakcijskim vremenom i kognitivnim evociranim potencijalima.

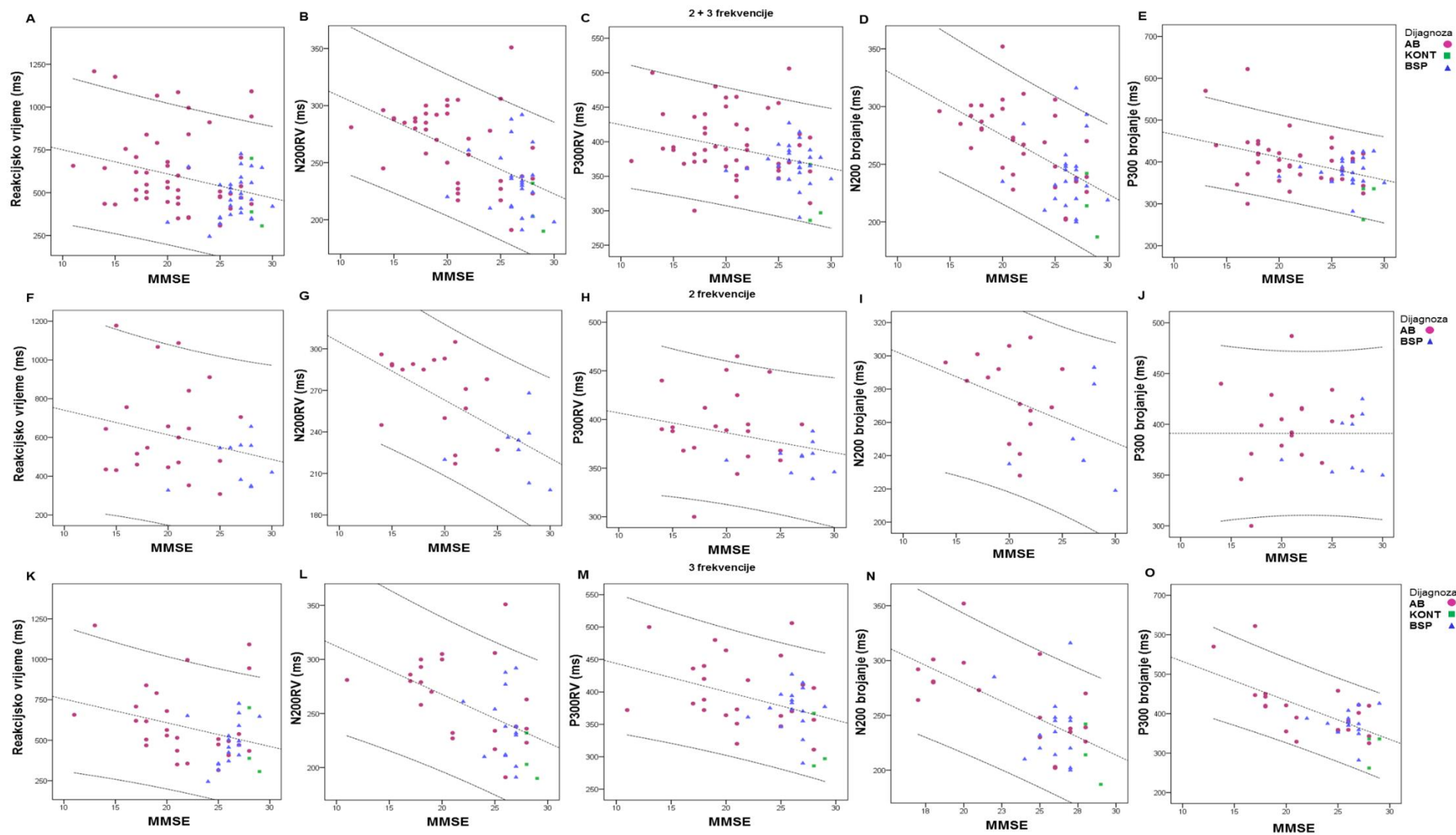
MMSE vs		Reakcijsko vrijeme	N200RV	P300RV	N200 brojanje	P300 brojanje
<b>2 + 3 frekvencije</b>						
Svi ispitanici	PK	r=-0.3011, st.sl.=77, p=0.007*	r=-0.546, st.sl.=62, p<0.001*	r=-0.327, st.sl.=73, p=0.004*	r=-0.572, st.sl.=57, p<0.001*	r=-0.418, st.sl.=65, p<0.001*
	SK	r <sub>s</sub> =-0.240, st.sl.=77, p=0.033* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =-0.574, st.sl.=62, p<0.001*	r <sub>s</sub> =-0.349, st.sl.=73, p=0.002*	r <sub>s</sub> =-0.537, st.sl.=57, p<0.001*	r <sub>s</sub> =-0.318, st.sl.=65, p=0.009*
AB	SK	r <sub>s</sub> =-0.196, st.sl.=46, p=0.181	r <sub>s</sub> =-0.417, st.sl.=36, p=0.009*	r <sub>s</sub> =-0.157, st.sl.=43, p=0.303	r <sub>s</sub> =-0.571, st.sl.=31, p=0.001*	r <sub>s</sub> =-0.283, st.sl.=37, p=0.081
BSP	SK	r <sub>s</sub> =0.302, st.sl.=26, p=0.118	r <sub>s</sub> =-0.187, st.sl.=21, p=0.392	r <sub>s</sub> =-0.045, st.sl.=25, p=0.824	r <sub>s</sub> =0.058, st.sl.=21, p=0.791	r <sub>s</sub> =0.158, st.sl.=23, p=0.452
KONT	SK	r <sub>s</sub> =-0.866, st.sl.=1, p=0.333	r <sub>s</sub> =-0.866, st.sl.=1, p=0.333	r <sub>s</sub> =0.000, st.sl.=1, p=1.000	r <sub>s</sub> =-0.866, st.sl.=1, p=0.333	r <sub>s</sub> =0.500, st.sl.=1, p=0.667
<b>2 frekvencije</b>						
Svi ispitanici	PK	r=-0.265, st.sl.=29, p=0.149	r=-0.628, st.sl.=23, p=0.001*	r=-0.268, st.sl.=29, p=0.144	r=-0.403, st.sl.=20, p=0.063	r=0.000, st.sl.=25, p=0.999
	SK	r <sub>s</sub> =-0.215, st.sl.=29, p=0.245	r <sub>s</sub> =-0.611, st.sl.=23, p=0.001*	r <sub>s</sub> =-0.367, st.sl.=29, p=0.043* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =-0.364, st.sl.=20, p=0.096	r <sub>s</sub> =0.005, st.sl.=25, p=0.982
AB	SK	r <sub>s</sub> =0.020, st.sl.=19, p=0.931	r <sub>s</sub> =-0.410, st.sl.=15, p=0.102	r <sub>s</sub> =-0.029, st.sl.=19, p=0.902	r <sub>s</sub> =-0.268, st.sl.=13, p=0.333	r <sub>s</sub> =0.214, st.sl.=16, p=0.394
BSP	SK	r <sub>s</sub> =0.157, st.sl.=8, p=0.665	r <sub>s</sub> =0.135, st.sl.=6, p=0.750	r <sub>s</sub> =0.104, st.sl.=8, p=0.775	r <sub>s</sub> =0.110, st.sl.=5, p=0.814	r <sub>s</sub> =-0.017, st.sl.=7, p=0.965
<b>3 frekvencije</b>						
Svi ispitanici	PK	r=-0.307, st.sl.=45, p=0.036* <sup>B</sup>	r=-0.493, st.sl.=36, p=0.002*	r=-0.384, st.sl.=41, p=0.011* <sup>B</sup>	r=-0.617, st.sl.=34, p<0.001*	r=-0.625, st.sl.=37, p<0.001*
	SK	r <sub>s</sub> =-0.176, st.sl.=45, p=0.235	r <sub>s</sub> =-0.524, st.sl.=36, p=0.001*	r <sub>s</sub> =-0.376, st.sl.=41, p=0.013* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =-0.520, st.sl.=34, p=0.001*	r <sub>s</sub> =-0.468, st.sl.=37, p=0.003*
AB	SK	r <sub>s</sub> =-0.314, st.sl.=25, p=0.111	r <sub>s</sub> =-0.419, st.sl.=19, p=0.059	r <sub>s</sub> =-0.319, st.sl.=22, p=0.129	r <sub>s</sub> =-0.617, st.sl.=16, p=0.006*	r <sub>s</sub> =-0.592, st.sl.=19, p=0.005*
BSP	SK	r <sub>s</sub> =0.551, st.sl.=15, p=0.022* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =-0.201, st.sl.=12, p=0.492	r <sub>s</sub> =-0.055, st.sl.=14, p=0.839	r <sub>s</sub> =-0.068, st.sl.=13, p=0.810	r <sub>s</sub> =0.096, st.sl.=13, p=0.734
KONT	SK	r <sub>s</sub> =-0.866, st.sl.=1, p=0.333	r <sub>s</sub> =-0.866, st.sl.=1, p=0.333	r <sub>s</sub> =0.000, st.sl.=1, p=1.000	r <sub>s</sub> =-0.866, st.sl.=1, p=0.333	r <sub>s</sub> =0.500, st.sl.=1, p=0.667

AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; MMSE, *Mini Mental State Examination* (mala ljestvica mentalnog stanja); PK, Pearsonova korelacija; SK, Spearmanova korelacija; RV, reakcijsko vrijeme. \*p < 0.05. <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je p < 0.010). Ružičasto su označene korelacije koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije.

**Tablica 24.** Vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala kod pacijenata s blagom AB (MMSE 20-25) i umjerenom i teškom AB (MMSE 10-19).

	Blaga AB vs umjereni AB	Reakcijsko vrijeme	N200 RV	P300 RV	N200 brojanje	P300 brojanje
AB (2 + 3 frekvencije)	TT	t=0.109, st.sl.=46, p=0.914	t=-0.519, st.sl.=35, p=0.607	t=-0.703, st.sl.=43, p=0.486	t=0.491, st.sl.=34, p=0.627	t=0.063, st.sl.=39, p=0.950
	MW	U=258, Z=-0.256, p=0.798	U=140.5, Z=-0.493, p=0.622	U=216.5, Z=-0.368, p=0.713	U=135.5, Z=-0.461, p=0.645	U=179.5, Z=-0.070, p=0.944
AB (2 frekvencije)	TT	t=0.443, st.sl.=17, p=0.664	t=0.078, st.sl.=12, p=0.939	t=0.204, st.sl.=17, p=0.841	t=1.308, st.sl.=10, p=0.220	t=-0.129, st.sl.=14, p=0.890
	MW	U=35, Z=-0.351, p=0.726	U=19.5, Z=-0.071, p=0.944	U=37.5, Z=-0.132, p=0.895	U=5.5, Z=-1.482, p=0.138	U=22, Z=-0.243, p=0.808
AB (3 frekvencije)	TT	t=-0.478, st.sl.=27, p=0.637	t=-0.814, st.sl.=21, p=0.425	t=-1.012, st.sl.=24, p=0.322	t=-0.266, st.sl.=22, p=0.792	t=0.069, st.sl.=23, p=0.945
	MW	U=100, Z=-0.089, p=0.929	U=52, Z=-0.694, p=0.488	U=69, Z=-0.580, p=0.562	U=62, Z=-0.469, p=0.639	U=70, Z=-0.113, p=0.910

AB, Alzheimerova bolest; MW, Mann-Whitney test; RV, reakcijsko vrijeme; TT, Studentov t-test. \*p < 0.05.



**Slika 27.** Korelacija reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala s vrijednostima MMSE kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije (A-E), dvije frekvencije (F-J) i tri frekvencije (K-O).

#### 4.2.4. Usporedba amplitude P300 potencijala s likvorskim proteinskim biološkim biljezima

Usporedba vrijednosti likvorskih proteinskih bioloških biljega kod ispitanika sa sniženom, urednom i povišenom amplitudom P300 potencijala je prikazana u **tablici 25**. Svi BSP pacijenti koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije su imali urednu amplitudu.

**Tablica 25.** Vrijednosti proteinskih likvorskih bioloških biljega kod ispitanika sa sniženom, urednom i povišenom amplitudom P300 potencijala.

		A $\beta$ <sub>1-42</sub>	Ukupni tau	p-tau <sub>181</sub>	p-tau <sub>199</sub>	p-tau <sub>231</sub>	VILIP-1
<b>2 + 3 frekvencije</b>							
<b>Svi ispitanici</b>	Anova	F=0.040, st.sl.=2, 77, p=0.961, p=0.091 <sup>#</sup>	F=0.263, st.sl.=2, 77, p=0.770, p=0.371 <sup>#</sup>	F=0.634, st.sl.=2, 74, p=0.533, p=0.453 <sup>#</sup>	F=1.149, st.sl.=2, 77, p=0.322, p=0.083 <sup>#</sup>	F=1.023, st.sl.=2, 74, p=0.365, p=0.163 <sup>#</sup>	F=1.538, st.sl.=2, 74, p=0.222, p=0.104 <sup>#</sup>
	KW	$\chi^2$ =0.286, st.sl.=2, p=0.867	$\chi^2$ =0.699, st.sl.=2, p=0.705	$\chi^2$ =3.509, st.sl.=2, p=0.173	$\chi^2$ =1.526, st.sl.=2, p=0.466	$\chi^2$ =1.394, st.sl.=2, p=0.498	$\chi^2$ =4.788, st.sl.=2, p=0.091
	Sn vs Ur	U=662.5, Z=-0.352, p=0.725	U=622, Z=-0.778, p=0.437	U=534, Z=-1.358, p=0.174	U=578, Z=-1.241, p=0.215	U=571, Z=-0.953, p=0.341	U=20.5, Z=-1.352, p=0.176
	Sn vs Pov	U=40, Z=-0.226, p=0.721	U=35.5, Z=-0.517, p=0.605	U=9, Z=-1.580, p=0.114	U=39, Z=-0.291, p=0.771	U=18, Z=-0.832, p=0.406	U=4.5, Z=-1.954, p=0.041 <sup>*B</sup>
	Ur vs Pov	U=60, Z=-0.480, p=0.631	U=69, Z=-0.120, p=0.904	U=26, Z=-1.061, p=0.289	U=69, Z=-0.120, p=0.904	U=35, Z=-0.606, p=0.544	U=20.5, Z=-1.352, p=0.176
<b>AB</b>	Sn vs Ur	U=281.5, Z=-0.124, p=0.901	U=219, Z=-1.414, p=0.157	U=253, Z=-0.489, p=0.625	U=224.5, Z=-1.301, p=0.193	U=250, Z=-0.553, p=0.580	U=259, Z=-0.362, p=0.717
<b>BSP</b>	Anova	F=0.210, st.sl.=2, 25, p=0.812, p=0.099 <sup>#</sup>	F=0.408, st.sl.=2, 25, p=0.669, p=0.242 <sup>#</sup>	F=0.097, st.sl.=2, 23, p=0.908, p=0.625 <sup>#</sup>	F=0.193, st.sl.=2, 25, p=0.826, p=0.117 <sup>#</sup>	F=1.643, st.sl.=2, 23, p=0.215, p=0.004 <sup>#</sup>	F=0.483, st.sl.=2, 23, p=0.623, p=0.283 <sup>#</sup>
	KW	$\chi^2$ =0.117, st.sl.=2, p=0.943	$\chi^2$ =1.328, st.sl.=2, p=0.515	$\chi^2$ =0.402, st.sl.=2, p=0.818	$\chi^2$ =0.354, st.sl.=2, p=0.838	$\chi^2$ =0.149, st.sl.=2, p=0.928	$\chi^2$ =0.877, st.sl.=2, p=0.645
	Sn vs Ur	U=32, Z=-0.084, p=0.933	U=33, Z=0.000, p=1.000	U=29, Z=-0.218, p=0.827	U=25.5, Z=-0.627, p=0.530	U=27, Z=-0.393, p=0.694	U=27, Z=-0.403, p=0.687
	Sn vs Pov	U=4, Z=-0.218, p=0.827	U=2, Z=-1.091, p=0.275	U=3, Z=0.000, p=1.000	U=4, Z=-0.218, p=0.827	U=3, Z=0.000, p=1.000	U=1.5, Z=-0.889, p=0.374
	Ur vs Pov	U=29, Z=-0.334, p=0.738	U=20, Z=-1.087, p=0.277	U=15, Z=-0.655, p=0.513	U=33, Z=0.000, p=1.000	U=20, Z=-0.109, p=0.913	U=14, Z=-0.787, p=0.431
<b>2 frekvencije</b>							
<b>Svi ispitanici</b>	Sn vs Ur	U=103, Z=-0.065, p=0.949	U=89, Z=-0.667, p=0.505	U=86, Z=-0.796, p=0.426	U=67.5, Z=-1.594, p=0.111	U=80, Z=-1.054, p=0.292	U=83, Z=-0.926, p=0.355
<b>AB</b>	Sn vs Ur	U=45, Z=-0.342, p=0.732	U=45, Z=-0.342, p=0.732	U=46, Z=-0.266, p=0.790	U=39, Z=-0.800, p=0.424	U=49, Z=-0.038, p=0.970	U=44, Z=-0.418, p=0.676
<b>3 frekvencije</b>							
<b>Svi ispitanici</b>	Anova	F=0.115, st.sl.=2, 46, p=0.891, p=0.164 <sup>#</sup>	F=0.277, st.sl.=2, 46, p=0.759, p=0.030 <sup>#</sup>	F=0.516, st.sl.=2, 43, p=0.601, p=0.353 <sup>#</sup>	F=0.407, st.sl.=2, 46, p=0.668, p=0.107 <sup>#</sup>	F=0.653, st.sl.=2, 43, p=0.526, p=0.171 <sup>#</sup>	F=1.091, st.sl.=2, 43, p=0.345, p=0.148 <sup>#</sup>
	KW	$\chi^2$ =0.685, st.sl.=2, p=0.710	$\chi^2$ =0.343, st.sl.=2, p=0.842	$\chi^2$ =2.094, st.sl.=2, p=0.351	$\chi^2$ =0.164, st.sl.=2, p=0.921	$\chi^2$ =0.397, st.sl.=2, p=0.820	$\chi^2$ =3.257, st.sl.=2, p=0.194
<b>AB</b>	Sn vs Ur	U=83.5, Z=-0.665, p=0.505	U=67, Z=-1.424, p=0.154	U=71, Z=-0.971, p=0.332	U=73, Z=-1.149, p=0.250	U=79, Z=-0.582, p=0.560	U=85, Z=-0.291, p=0.771
<b>BSP</b>	Anova	F=0.156, st.sl.=2, 14, p=0.857, p=0.170 <sup>#</sup>	F=2.179, st.sl.=2, 14, p=0.150, p=0.625 <sup>#</sup>	F=0.045, st.sl.=2, 12, p=0.956, p=0.760 <sup>#</sup>	F=0.770, st.sl.=2, 14, p=0.485, p=0.761 <sup>#</sup>	F=0.699, st.sl.=2, 12, p=0.516, p=0.071 <sup>#</sup>	F=0.343, st.sl.=2, 12, p=0.716, p=0.537 <sup>#</sup>
	KW	$\chi^2$ =0.150, st.sl.=2, p=0.928	$\chi^2$ =4.176, st.sl.=2, p=0.124	$\chi^2$ =0.000, st.sl.=2, p=1.000	$\chi^2$ =1.951, st.sl.=2, p=0.377	$\chi^2$ =0.548, st.sl.=2, p=0.760	$\chi^2$ =1.246, st.sl.=2, p=0.536

AB, Alzheimerova bolest; A $\beta$ <sub>1-42</sub>, amiloid  $\beta$ <sub>1-42</sub>; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KW, Kruskal-Wallis test; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231; Pov, povišena amplituda P300; Sn, snižena amplituda P300; Ur, uredna amplituda P300. \*p < 0.05. <sup>#</sup>Levenov test jednakosti varijanci. <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je p < 0.008). Ružičasto su označene korelacije koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost.



#### 4.2.5. Usporedba vrijednosti reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala između pacijenata sa i bez AChEI tretmana

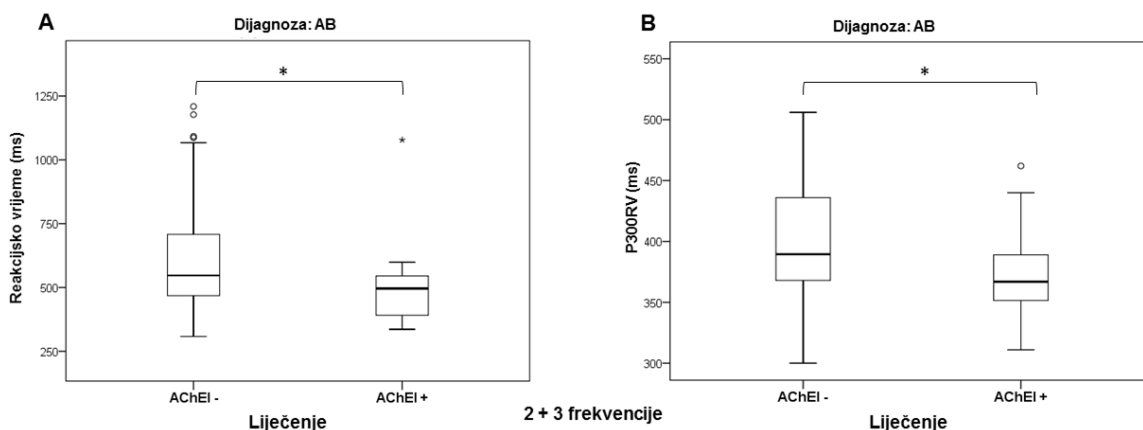
Usporedba vrijednosti reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala između ispitanika koji su primali terapiju s inhibitorima acetilkolinesteraze (AChEI+) i koji nisu primali AChEI terapiju (AChEI-) je prikazana u **tablici 26** i na **slikama 28** i **29**.

**Tablica 26.** Usporedba vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena između pacijenata koji su primali terapiju s inhibitorima acetilkolinesteraze (AChEI+) i koji nisu primali AChEI terapiju (AChEI-).

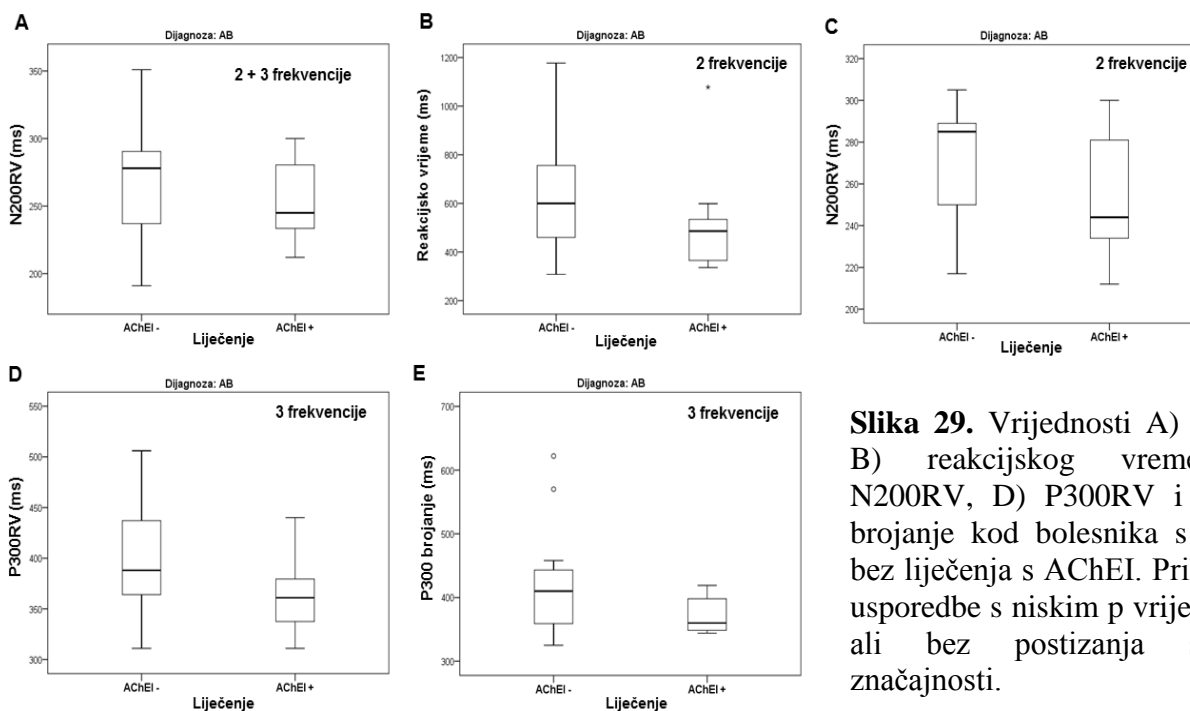
Terapija	AChEI- vs AChEI+	Reakcijsko vrijeme	N200RV	P300RV	N200 brojanje	P300 brojanje
<b>2 + 3 frekvencije</b>						
<b>Svi ispitanici</b>	TT	t=1.209, st.sl.=103, p=0.229	t=0.540, st.sl.=84, p=0.591	t=0.988, st.sl.=99, p=0.326	t=-0.164, st.sl.=78, p=0.870	t=-0.762, st.sl.=90, p=0.448
	MW	U=774, Z=-1.511, p=0.131	U=617.5, Z=-0.435, p=0.664	U=764, Z=-1.277, p=0.202	U=554, Z=-0.288, p=0.773	U=731.5, Z=-0.559, p=0.576
<b>AB</b>	TT	t=2.209, st.sl.=66, p=0.031*, p=0.032#	t=1.646, st.sl.=53, p=0.106	t=1.831, st.sl.=63, p=0.072	t=0.886, st.sl.=47, p=0.380	t=1.246, st.sl.=56, p=0.218
	MW	U=296.5, Z=-2.310, p=0.021*	U=221, Z=-1.687, p=0.092	U=300.5, Z=-1.969, p=0.049*	U=213, Z=-0.912, p=0.362	U=291.5, Z=-1.152, p=0.249
<b>BSP</b>	TT	t=-1.164, st.sl.=31, p=0.253, p=0.017#	t=0.071, st.sl.=25, p=0.944	t=-0.084, st.sl.=30, p=0.934	t=-0.132, st.sl.=25, p=0.896	t=0.956, st.sl.=28, p=0.347
	MW	U=69, Z=-0.050, p=0.960	U=45, Z=-0.068, p=0.946	U=65, Z=-0.130, p=0.897	U=45, Z=-0.068, p=0.946	U=46, Z=-0.918, p=0.358
<b>2 frekvencije</b>						
<b>Svi ispitanici</b>	TT	t=1.210, st.sl.=43, p=0.233	t=0.408, st.sl.=33, p=0.686	t=0.037, st.sl.=43, p=0.971	t=-0.042, st.sl.=30, p=0.966	t=-0.108, st.sl.=38, p=0.915
	MW	U=161, Z=-1.373, p=0.170	U=114.5, Z=-0.384, p=0.701	U=207.5, Z=-0.233, p=0.816	U=108.5, Z=-0.061, p=0.951	U=169, Z=-0.188, p=0.851
<b>AB</b>	TT	t=1.669, st.sl.=31, p=0.105	t=1.483, st.sl.=24, p=0.151	t=0.770, st.sl.=31, p=0.447	t=0.718, st.sl.=22, p=0.480	t=0.130, st.sl.=27, p=0.897
	MW	U=78, Z=-1.796, p=0.072	U=50, Z=-1.429, p=0.153	U=94.5, Z=-1.179, p=0.238	U=54.5, Z=-0.776, p=0.438	U=98, Z=-0.045, p=0.964
<b>BSP</b>	TT	t=-0.363, st.sl.=10, p=0.724, p=0.048#		t=-1.640, st.sl.=10, p=0.132		t=0.038, st.sl.=9, p=0.971
	MW	U=10, Z=0.000, p=1.000		U=6, Z=-0.861, p=0.389		U=8, Z=-0.236, p=0.814
<b>3 frekvencije</b>						
<b>Svi ispitanici</b>	TT	t=0.545, st.sl.=57, p=0.588	t=0.530, st.sl.=48, p=0.598	t=1.313, st.sl.=53, p=0.195	t=0.372, st.sl.=45, p=0.712	t=1.111, st.sl.=49, p=0.272
	MW	U=205, Z=-0.808, p=0.419	U=183.5, Z=-0.400, p=0.689	U=158, Z=-1.462, p=0.144	U=162, Z=-0.243, p=0.808	U=156.5, Z=-1.151, p=0.250
<b>AB</b>	TT	t=1.478, st.sl.=33, p=0.149	t=0.952, st.sl.=27, p=0.350	t=1.741, st.sl.=30, p=0.092	t=0.914, st.sl.=23, p=0.370	t=1.382, st.sl.=27, p=0.178
	MW	U=67, Z=-1.278, p=0.201	U=58, Z=-0.969, p=0.333	U=51.5, Z=-1.642, p=0.101	U=42, Z=-0.955, p=0.339	U=48, Z=-1.479, p=0.139
<b>BSP</b>	TT	t=-1.085, st.sl.=18, p=0.292, p=0.001#	t=0.444, st.sl.=15, p=0.663	t=0.587, st.sl.=17, p=0.565	t=0.143, st.sl.=16, p=0.888	t=1.085, st.sl.=16, p=0.294
	MW	U=24, Z=-0.159, p=0.876	U=18, Z=-0.378, p=0.705	U=16, Z=-0.894, p=0.371	U=21, Z=-0.178, p=0.859	U=14, Z=1.008, p=0.314

AB, Alzheimerova bolest; AChEI, inhibitori acetilkolinesteraze; BSP, blagi spoznajni poremećaj; MW, Mann-Whitney test; RV, reakcijsko vrijeme; TT, Studentov t-test.

\*p < 0.05. #Levenov test jednakosti varijanci. Plavo su označene statistički značajne usporedbe, dok su zeleno označene usporedbe bez statističke značajnosti, ali s niskim p vrijednostima.



**Slika 28.** Vrijednosti A) reakcijskog vremena i B) P300RV kod bolesnika s AB (koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije) sa (49 bolesnika kojima je određeno RV i 46 bolesnika kojima je određeno P300RV) i bez liječenja s AChEI (19 bolesnika s AB). \* $p < 0.05$ .



**Slika 29.** Vrijednosti A) N200RV, B) reakcijskog vremena, C) N200RV, D) P300RV i E) P300 brojanje kod bolesnika s AB sa i bez liječenja s AChEI. Prikazane su usporedbe s niskim p vrijednostima, ali bez postizanja statističke značajnosti.



#### **4.2.6. Usporedba vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega**

Vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena su uspoređene između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega. Statističke analize su rađene zasebno za: 1) BSP skupinu pacijenata, 2) AB skupinu pacijenata i 3) skupinu svih ispitanika (AB + BSP + KONT). Navedene statističke analize su zatim napravljene u: 1) skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije, 2) skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije i 3) skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije. Izlučne vrijednosti likvorskih bioloških biljega su prikazane u **tablici 15**. Za biomarkere  $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau i p-tau<sub>181</sub> su uz dobivene izlučne vrijednosti navedene u **tablici 15**, korištene i izlučne vrijednosti iz literature ( $A\beta_{1-42}$  (500 pg/ml), ukupni tau (450 pg/ml) i p-tau<sub>181</sub> (60 pg/ml) (Humpel, 2011)).

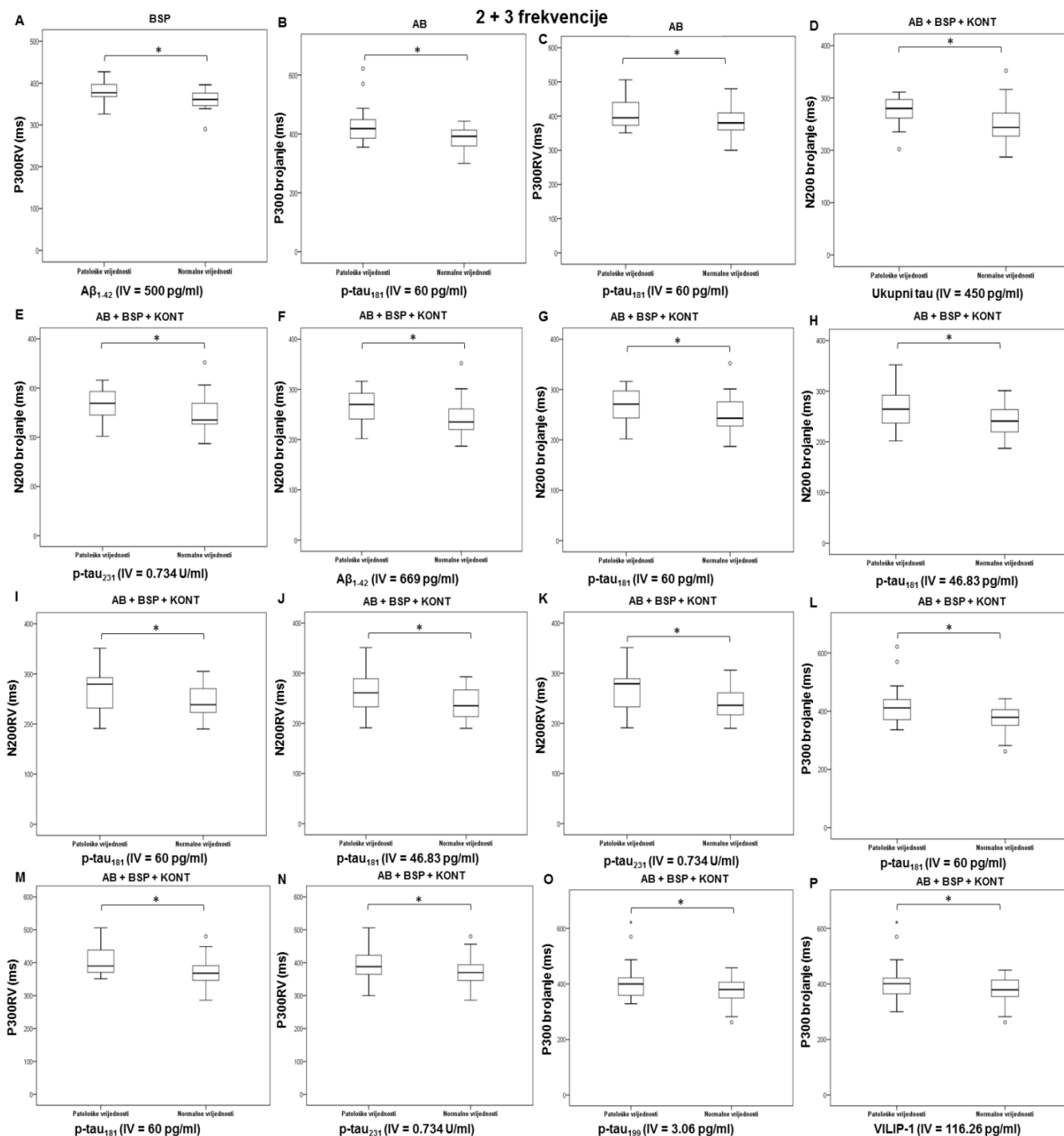
##### ***4.2.6.1. Ispitanici koji su sudjelovali paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije***

U skupini pacijenata s BSP nije bilo razlike u vrijednostima reakcijskog vremena, N200RV i P300 brojanje između ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima svih ispitivanih proteinskih bioloških biljega.

Vrijednosti N200RV su bile blago povišene, ali bez statističke značajnosti kod pacijenata s BSP koji su imali patološke vrijednosti p-tau<sub>231</sub> ( $t = 1.702$ , st.sl. = 19,  $p = 0.105$ ;  $U = 30.5$ ,  $Z = -1.381$ ,  $p = 0.167$ ). Vrijednosti P300RV su bile značajno povišene kod pacijenata s BSP koji su imali patološke vrijednosti  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml iz literature) ( $t = 2.160$ , st.sl. = 25,  $p = 0.041$ ;  $U = 45$ ,  $Z = -2.198$ ,  $p = 0.028$ )\* (**Slika 30**). U slučaju korištenja izlučnih vrijednosti  $A\beta_{1-42}$  postavljene u ovom istraživanju (669 pg/ml), vrijednosti P300RV su bile povišene kod pacijenata s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$ , ali bez postizanja statističke značajnosti ( $t = 1.906$ , st.sl. = 25,  $p = 0.068$ ;  $U = 54$ ,  $Z = -1.797$ ,  $p = 0.072$ ). U slučaju ostalih bioloških biljega AB, nije bilo značajne razlike u vrijednostima P300RV između ispitivanih skupina. Vrijednosti P300RV su bile značajno povišene kod bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) ( $t = 2.310$ , st.sl. = 43,  $p = 0.026$ ;  $U = 159$ ,  $Z = -2.079$ ,  $p = 0.038$ )\*. Vrijednosti N200 brojanje su bile značajno povišene kod BSP pacijenata s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml) ( $U = 35.5$ ,  $Z = -1.879$ ,  $p = 0.060$ ), ali bez postizanja statističke značajnosti. Vrijednosti N200 brojanje su bile značajno

povišene kod BSP pacijenata s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> (U = 35.5, Z = -1.879, p = 0.060), ali bez postizanja statističke značajnosti. U slučaju ostalih bioloških biljega AB, nije bilo značajne razlike u vrijednostima N200 brojanje između ispitivanih skupina. Vrijednosti P300 brojanje su bile značajno povišene kod bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (t = 2.538, st.sl. = 37, p = 0.015; U = 110, Z = -2.248, p = 0.025)\* i kod pacijenata s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub>, ali bez postizanja statističke značajnosti (t = 1.969, st.sl. = 38, p = 0.056; U = 142, Z = -1.569, p = 0.117) (**Slika 30**).

Vrijednosti N200RV su bile značajno povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (t = 2.387, st.sl. = 62, p = 0.020)\*, p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) (t = 2.466, st.sl. = 62, p = 0.016)\* i p-tau<sub>231</sub> (t = 2.952, st.sl. = 62, p = 0.004)\* (**Slika 30**). Vrijednosti P300RV su bile značajno povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (t = 3.654, st.sl. = 72, p < 0.001)\* i p-tau<sub>231</sub> (t = 2.325, st.sl. = 72, p = 0.023)\* (**Slika 30**). Vrijednosti N200 brojanje su bile značajno povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub> (IV = 669 pg/ml) (t = 2.665, st.sl. = 59, p = 0.010)\*, ukupnog tau (IV = 450 pg/ml) (t = 2.499, st.sl. = 59, p = 0.015)\*, p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (t = 2.190, st.sl. = 57, p = 0.033)\*, p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) (t = 2.503, st.sl. = 57, p = 0.015)\* i p-tau<sub>231</sub> (t = 2.457, st.sl. = 57, p = 0.017)\* (**Slika 30**). Vrijednosti P300 brojanje su bile značajno povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (t = 3.283, st.sl. = 64, p = 0.002)\*, p-tau<sub>199</sub> (t = 2.349, st.sl. = 67, p = 0.022)\* i VILIP-1 (t = 2.004, st.sl. = 64, p = 0.049)\* (**Slika 30**).



**Slika 30.** Usporedba vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije. \* $p < 0.05$ .

#### 4.2.6.2. Ispitanici koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije

Vrijednosti N200RV su bile značajno povišene kod pacijenata s BSP koji su imali patološke vrijednosti  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml iz literature) ( $t = 2.466$ , st.sl. = 6,  $p = 0.049$ ;  $U = 0.00$ ,  $Z = -2.000$ ,  $p = 0.046$ )\* i  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml) ( $t = 2.456$ , st.sl. = 6,  $p = 0.049$ \*;  $U = 1.000$ ,  $Z = -1.938$ ,  $p = 0.053$ ) (**Slika 31**). Vrijednosti N200RV su bile povišene u skupini bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml), ali bez statističke značajnosti ( $t = 2.013$ , st.sl. = 15,  $p = 0.062$ ;  $U = 20$ ,  $Z = -1.541$ ,  $p = 0.123$ ).

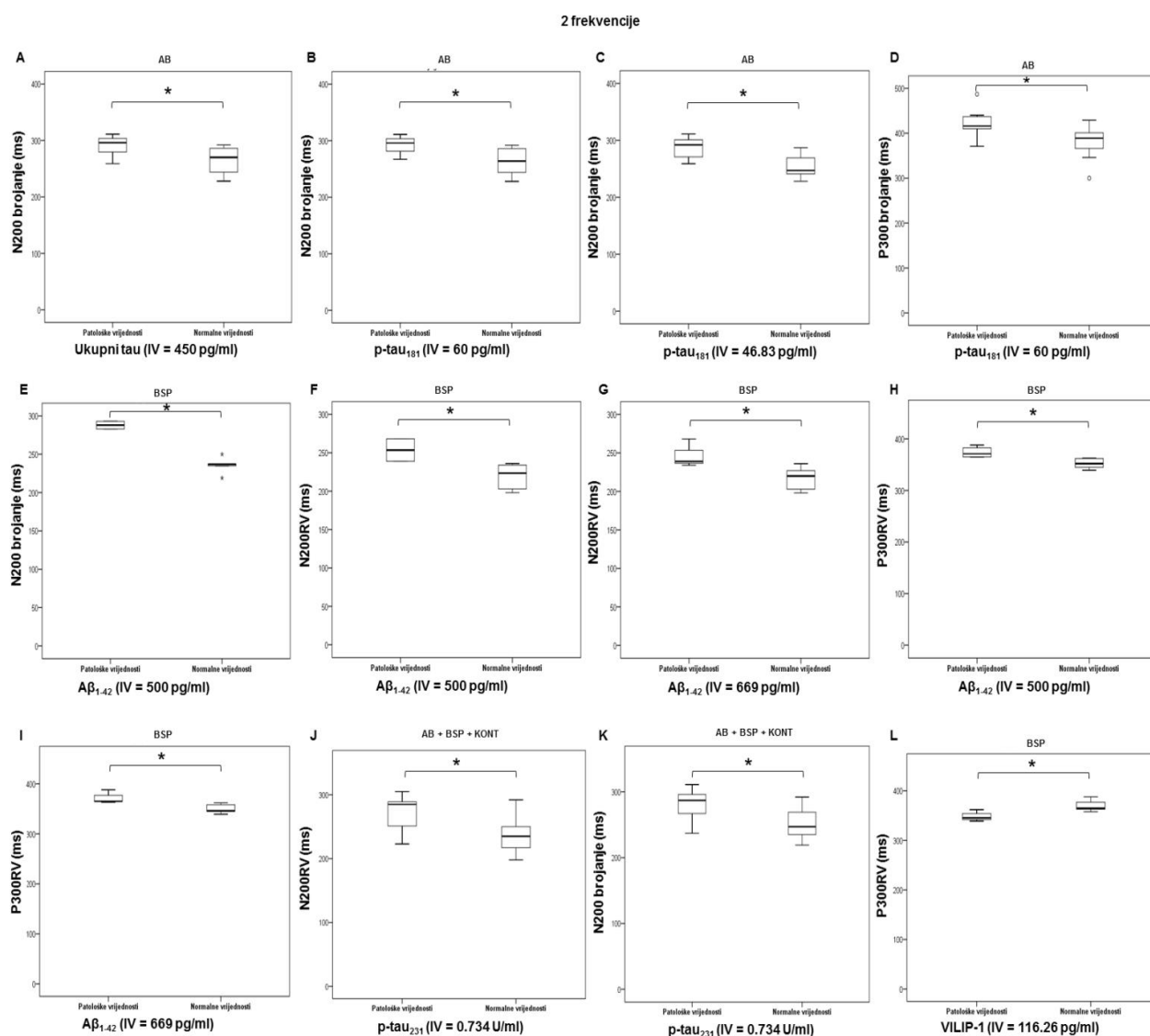
Vrijednosti P300RV su bile značajno povišene kod pacijenata s BSP koji su imali patološke vrijednosti  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml iz literature) ( $t = 3.192$ , st.sl. = 8,  $p = 0.013$ ;  $U = 0.000$ ,  $Z = -2.566$ ,  $p = 0.010$ )\* i  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml) ( $t = 3.355$ , st.sl. = 8,  $p = 0.010$ ;  $U = 0.000$ ,  $Z = -2.619$ ,  $p = 0.009$ )\* (**Slika 31**). Vrijednosti P300RV su bile značajno snižene kod BSP pacijenata s patološkim vrijednostima VILIP-1 ( $t = -3.110$ , st.sl. = 8,  $p = 0.014$ ;  $U = 1.000$ ,  $Z = -2.352$ ,  $p = 0.019$ )\* (**Slika 31**). Vrijednosti N200 brojanje su bile značajno povišene kod BSP pacijenata s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml iz literature) ( $t = 6.042$ , st.sl. = 5,  $p = 0.002$ \*;  $U = 0.000$ ,  $Z = -1.954$ ,  $p = 0.051$ ) (**Slika 31**). Vrijednosti N200 brojanje su bile povišene u skupini bolesnika s AB s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml), ali bez statističke značajnosti ( $t = 2.197$ , st.sl. = 5,  $p = 0.079$ ;  $U = 1.5$ ,  $Z = -1.605$ ,  $p = 0.108$ ).

Vrijednosti N200 brojanje su bile značajno povišene kod bolesnika s AB s patološkim vrijednostima ukupnog tau (IV = 450 pg/ml iz literature) ( $t = 2.223$ , st.sl. = 13,  $p = 0.045$ ;  $U = 10.5$ ,  $Z = -2.027$ ,  $p = 0.043$ )\*, p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml iz literature) ( $t = 2.645$ , st.sl. = 13,  $p = 0.020$ ;  $U = 7.5$ ,  $Z = -2.375$ ,  $p = 0.018$ )\* i p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) ( $t = 3.158$ , st.sl. = 13,  $p = 0.008$ ;  $U = 7.5$ ,  $Z = -2.375$ ,  $p = 0.018$ )\* (**Slika 31**). Vrijednosti N200 brojanje su bile povišene kod bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>231</sub>, ali bez statističke značajnosti ( $t = 1.799$ , st.sl. = 13,  $p = 0.095$ ;  $U = 10.5$ ,  $Z = -1.503$ ,  $p = 0.133$ ).

Vrijednosti P300 brojanje su bile značajno povišene kod bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml iz literature) ( $t = 2.595$ , st.sl. = 16,  $p = 0.020$ ;  $U = 11$ ,  $Z = -2.491$ ,  $p = 0.013$ )\* (**Slika 31**) i p-tau<sub>231</sub>, ali bez postizanja statističke značajnosti ( $t = 2.111$ , st.sl. = 16,  $p = 0.051$ ;  $U = 32$ ,  $Z = -0.375$ ,  $p = 0.708$ ).

Vrijednosti N200RV ( $t = 2.835$ , st.sl. = 23,  $p = 0.009$ )\* i N200 brojanje ( $t = 2.783$ , st.sl. = 20,  $p = 0.011$ )\* su bile značajno povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>231</sub> (**Slika 31**).

Vrijednosti N200 brojaje su bile povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima ukupnog tau (IV = 450 pg/ml) ( $t = 2.028$ , st.sl. = 20,  $p = 0.056$ ) i p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) ( $t = 1.814$ , st.sl. = 20,  $p = 0.085$ ), ali bez postizanja statističke značajnosti. Vrijednosti P300 brojaje su bile povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) ( $t = 1.945$ , st.sl. = 25,  $p = 0.063$ ), ali bez postizanja statističke značajnosti.



**Slika 31.** Usporedba vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije. \* $p < 0.05$ .

#### 4.2.6.3. Ispitanici koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije

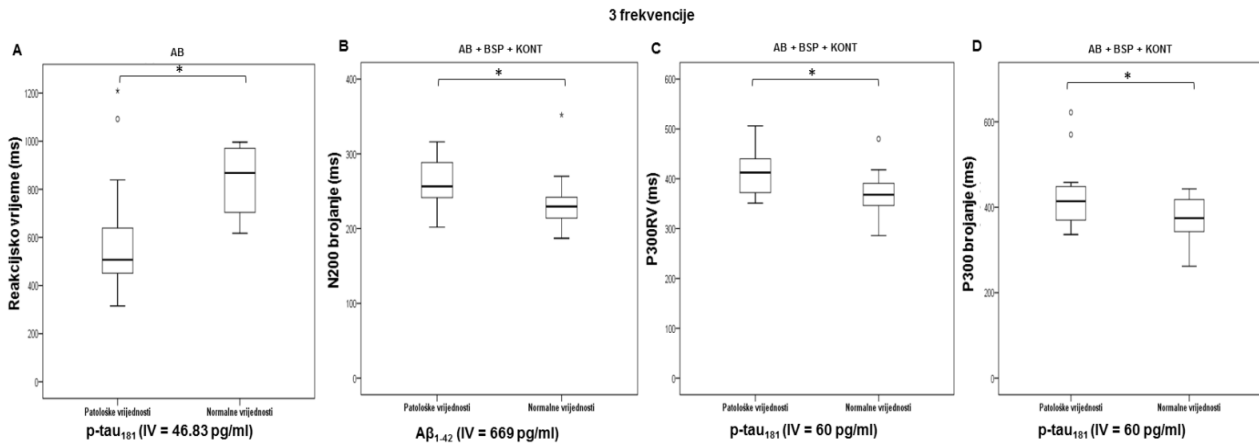
Vrijednosti reakcijskog vremena su bile povišene, ali bez statističke značajnosti kod BSP pacijenata s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml) ( $t = 1.765$ , st.sl. = 15,  $p = 0.098$ ;  $U = 18$ ,  $Z = -1.732$ ,  $p = 0.083$ ). Kod bolesnika s AB, reakcijsko vrijeme je bilo značajno sniženo kod ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) ( $t = -2.243$ , st.sl. = 25,  $p = 0.034$ ;  $U = 14$ ,  $Z = -2.184$ ,  $p = 0.029$ )\* (**Slika 32**).

Vrijednosti P300RV su bile povišene u skupini bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml), ali bez statističke značajnosti ( $t = 1.743$ , st.sl. = 22,  $p = 0.095$ ;  $U = 38.5$ ,  $Z = -1.730$ ,  $p = 0.084$ ).

Vrijednosti N200 brojanje su bile povišene u skupini BSP pacijenata s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) ( $t = 2.089$ , st.sl. = 11,  $p = 0.061$ ;  $U = 4.5$ ,  $Z = -1.288$ ,  $p = 0.198$ ) i VILIP-1 ( $t = 2.089$ , st.sl. = 11,  $p = 0.061$ ;  $U = 4.5$ ,  $Z = -1.288$ ,  $p = 0.198$ ), ali bez statističke značajnosti.

Vrijednosti RV su bile povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml) ( $t = 1.788$ , st.sl. = 47,  $p = 0.080$ ), ali bez postizanja statističke značajnosti. Vrijednosti N200RV su bile povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) ( $t = 1.754$ , st.sl. = 36,  $p = 0.088$ ) i p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) ( $t = 1.734$ , st.sl. = 36,  $p = 0.091$ ), ali bez postizanja statističke značajnosti. Vrijednosti P300RV su bile povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml) ( $t = 1.831$ , st.sl. = 43,  $p = 0.074$ ),  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml) ( $t = 1.814$ , st.sl. = 43,  $p = 0.077$ ) i p-tau<sub>231</sub> ( $t = 1.975$ , st.sl. = 40,  $p = 0.055$ ), ali bez postizanja statističke značajnosti. Vrijednosti P300RV su bile značajno povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) ( $t = 3.301$ , st.sl. = 40,  $p = 0.002$ )\* (**Slika 32**). Vrijednosti N200 brojanje su bile značajno povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml) ( $t = 2.238$ , st.sl. = 36,  $p = 0.032$ )\* (**Slika 32**). Vrijednosti N200 brojanje su bile povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) ( $t = 1.781$ , st.sl. = 34,  $p = 0.084$ ), ali bez postizanja statističke značajnosti. Vrijednosti P300 brojanje su bile značajno povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) ( $t = 2.632$ , st.sl. = 36,  $p = 0.012$ )\* (**Slika 32**). Vrijednosti P300 brojanje su bile povišene u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) s patološkim

vrijednostima p-tau<sub>199</sub> ( $t = 1.961$ , st.sl. = 39,  $p = 0.057$ ) i p-tau<sub>231</sub> ( $t = 1.876$ , st.sl. = 36,  $p = 0.069$ ), ali bez postizanja statističke značajnosti.



**Slika 32.** Usporedba vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije. \* $p < 0.05$ .

### 4.3. Makro- i mikroelementi u cerebrospinalnoj tekućini

#### 4.3.1. Demografski podatci i vrijednosti makro- i mikroelemenata u likvoru oboljelih od AB, ispitanika s BSP i zdravih kontrola

Vrijednosti makro- i mikroelemenata između AB, BSP skupine i zdravih kontrola su prikazane u **tablici 27**. Rezultati testiranja normalnosti raspodjele ispitivanih makro- i mikroelemenata su prikazani u **tablici 28**. Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT) je prikazana u **tablici 29** i **slici 33**.

**Tablica 27.** Vrijednosti makro- i mikroelemenata i demografski podatci u ispitivanim skupinama (AB, BSP i KONT).

	AB (63)		BSP (30)		KONT (10)	
	Srednja vrijednost ± SD	Medijan (25.-75. percentila)	Srednja vrijednost ± SD	Medijan (25.-75. percentila)	Srednja vrijednost ± SD	Medijan (25.-75. percentila)
<b>Li</b>	0.4903±0.7060	0.1839 (0.1138- 0.4088)	0.4932±0.7715 N=28*	0.2578 (0.0981- 0.5163)	0.6553±1.1995	0.2613 (0.1094- 0.6307)
<b>B</b>	34.598±16.3271	31 (21- 47.1)	31.179±17.3712 N=28*	30.05 (19.025- 39.625)	27.74±12.5911	22.4 (16.9-36.6)
<b>Na</b>	3430.06±973.41	3522.2 (2788.81- 4352.18)	2957.42±952.854	3054.64 (2320.61- 3740.63)	3454.06±826.099	3428.06 (2490.44- 4336.04)
<b>Mg</b>	30.4591±9.6861	30.7256 (23.471- 36.0638)	26.552±8.8013	26.9291 (20.872- 32.2487)	31.5115±9.4419	29.3541 (22.7326- 39.6797)
<b>Al</b>	4.9501±2.3183 N=62*	4.7155 (3.4385- 5.913)	4.9844±3.4839	3.8244 (2.9471- 5.9931)	5.6353±1.8966 N=9*	4.7672 (4.2691- 6.8972)
<b>S</b>	14.252±5.4885	14.5 (9.6- 18.6)	12.43±5.8471	11.55 (8.125- 17.225)	13.76±6.4686	12.95 (8.225- 18.9)
<b>K</b>	137.76±45.733	139.04 (107.18- 169.23)	116.45±40.593	116.49 (88.63- 145.75)	141.62±46.604	131.15 (98.36- 179.41)
<b>Ca</b>	47.646±14.491	46.3 (37.4- 55.4)	40.63±12.2549	40 (32.9- 48.425)	46.94±13.6472	45.2 (34.35- 53.875)
<b>Cr</b>	0.8483±0.5422 N=62*	0.7513 (0.4593- 1.1703)	0.7254±0.5548	0.6162 (0.3379- 1.0566)	0.6913±0.3208	0.6855 (0.4078- 0.9591)
<b>Fe</b>	35.63±19.5192	33.5 (19.7- 49.4)	35.083±20.7789	27.4 (19.425- 46.325)	30.74±13.2268	33.7 (19.675- 40.125)
<b>Co</b>	0.1187±0.0502 N=62*	0.1055 (0.0868- 0.1493)	0.1202±0.0642 N=28*	0.107 (0.0675- 0.1675)	0.1541±0.0951	0.1255 (0.0788- 0.2265)
<b>Mn</b>	1.3381±0.7433	1.1549 (0.8047- 1.8256)	1.3807±0.9154	1.0779 (0.6129- 1.8566)	1.4735±1.0148	1.0461 (0.8164- 2.2182)
<b>Ni</b>	1.1588±0.6493	0.8998 (0.6817- 1.377)	1.2693±0.8039 N=29*	0.9863 (0.7481- 1.5615)	1.6629±0.9368 N=9*	1.1803 (0.9793- 2.7565)
<b>Cu</b>	16.7433±7.1431	16.6973 (11.7363- 20.5319)	14.2495±6.612	12.925 (9.1485- 20.9665)	17.5408±10.1776	19.5704 (7.4902- 25.9867)
<b>Zn</b>	88.1006±37.6256	84.616 (60.5387- 103.7839)	72.8655±42.5894	63.2758 (44.9999-103.6341)	88.4784±48.2993	96.614 (43.992- 117.9366)
<b>As</b>	0.3335±0.1357 N=62*	0.3365 (0.2295- 0.4163)	0.2718±0.109	0.272 (0.216- 0.351)	0.3459±0.1098	0.3325 (0.27-0.4023)
<b>Se</b>	1.7872±0.7124	1.8081 (1.2193- 2.229)	1.4656±0.7786	1.2881 (0.7967- 1.9667)	1.8251±1.0168	2.0401 (0.754- 2.6045)
<b>Sr</b>	9.7346±4.3318 N=62*	8.5236 (6.6286- 12.5943)	10.31±4.6611 N=29*	9.1349 (7.0431- 13.7451)	10.4463±4.4218	9.498 (6.8759- 12.507)
<b>Mo</b>	0.5186±0.2807	0.4748 (0.3762- 0.6876)	0.622±0.4689	0.4459 (0.3352- 0.83)	0.6116±0.4304	0.4877 (0.3348- 0.7954)
<b>Cd</b>	0.0279±0.0136	0.025 (0.019- 0.032)	0.0289±0.0187	0.026 (0.0138- 0.0375)	0.024±0.0088	0.0245 (0.017- 0.029)
<b>Ba</b>	38.908±23.8362 N=62*	35.8244 (21.2665- 52.0214)	32.0779±15.2809	29.5281 (21.0176- 45.1108)	43.7331±25.667 N=9*	38.6042 (25.804- 68.9256)
<b>Tl</b>	0.0058±0.0027	0.006 (0.003- 0.008)	0.0055±0.0033	0.005 (0.003-0.009)	0.0068±0.0029	0.0075 (0.0038- 0.01)
<b>Pb</b>	3.9846±3.0517	3.5579 (1.0934- 7.0948)	3.5036±3.3093	2.3852 (1.0822- 4.9017)	4.2685±2.6163	3.2405 (2.1222- 6.6271)



<b>Hg</b>	0.0544±0.0404 N=62*	0.0525 (0.0208- 0.073)	0.045±0.0285	0.0415 (0.024- 0.0643)	0.0465±0.04327	0.036 (0.0198- 0.0588)
<b>MMSE</b>	19.7±4.343	20 (16-23)	25.17±2.64	25 (23.75-27)	27.43±16.171 N=7*	28 (26-29)
<b>Dob</b>	73.2±7.7	75 (67-78)	67±10.948	70 (58-75)	54±16.171 N=9*	52 (43-62)

AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; MMSE, *Mini Mental State Examination* (mala ljestvica mentalnog stanja); N, broj pacijenata; SD, standardna devijacija.

**Tablica 28.** Kolmogorov-Smirnovljev test normalnosti raspodjele makro- i mikroelemenata unutar ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

	AB	BSP	KONT		AB	BSP	KONT
<b>Li</b>	p<0.001*	p=0.013*	p=0.087	<b>Ni</b>	p=0.031*	p=0.107	p=0.615
<b>B</b>	p=0.618	p=0.872	p=0.826	<b>Cu</b>	p=0.956	p=0.711	p=0.784
<b>Na</b>	p=0.521	p=0.919	p=0.912	<b>Zn</b>	p=0.550	p=0.324	p=0.802
<b>Mg</b>	p=0.977	p=0.998	p=0.960	<b>As</b>	p=1.000	p=0.950	p=0.711
<b>Al</b>	p=0.400	p=0.164	p=0.635	<b>Se</b>	p=0.950	p=0.799	p=0.847
<b>S</b>	p=0.703	p=0.711	p=0.994	<b>Sr</b>	p=0.324	p=0.389	p=0.735
<b>K</b>	p=0.992	p=0.950	p=0.955	<b>Mo</b>	p=0.326	p=0.335	p=0.513
<b>Ca</b>	p=0.624	p=0.995	p=0.915	<b>Cd</b>	p=0.153	p=0.475	p=0.883
<b>Cr</b>	p=0.317	p=0.603	p=0.490	<b>Ba</b>	p=0.653	p=0.944	p=0.981
<b>Fe</b>	p=0.224	p=0.196	p=0.931	<b>Tl</b>	p=0.170	p=0.459	p=0.962
<b>Co</b>	p=0.219	p=0.746	p=0.894	<b>Pb</b>	p=0.046*	p=0.205	p=0.665
<b>Mn</b>	p=0.136	p=0.277	p=0.159	<b>Hg</b>	p=0.602	p=0.735	p=0.611

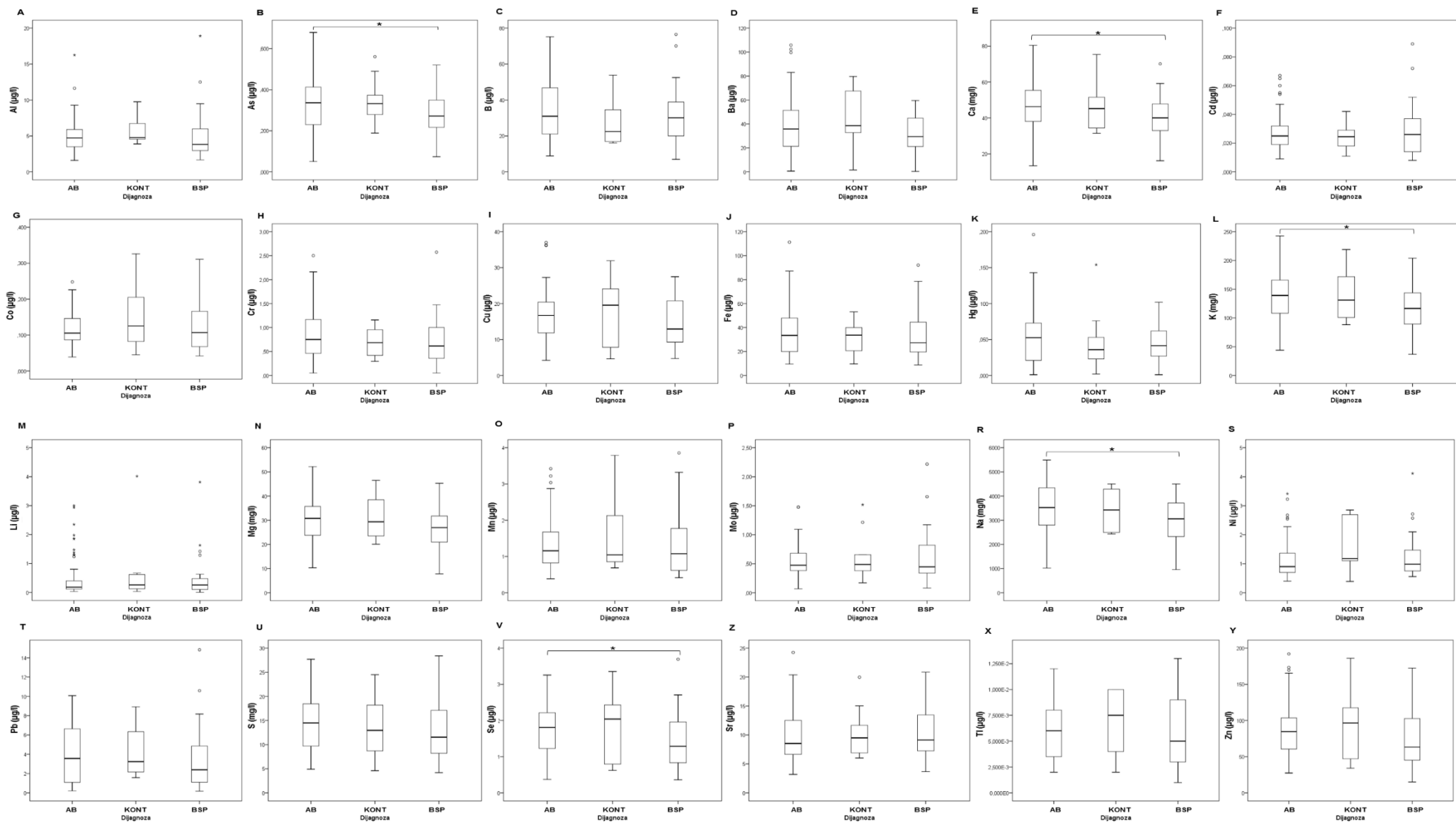
AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola. \*p < 0.05.

**Tablica 29.** Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

		AB vs BSP	AB vs KONT	BSP vs KONT
<b>Li</b>	Anova	F=0.198, st.sl.=2, 98, p=0.820; p=0.609 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=0.431$ , st.sl.=2, p=0.806		
	PH SCHEFFÉ	p=0.999	p=0.826	p=0.854
	MW	U=828, Z=-0.464, p=0.642	U=281 Z=-0.545, p=0.585	U=133, Z=-0.232, p=0.817
<b>B</b>	Anova	F=0.996, st.sl.=2, 98, p=0.373; p=0.545 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=2.060$ , st.sl.=2, p=0.357		
	PH SCHEFFÉ	p=0.655	p=0.469	p=0.849
	MW	U=768.5, Z=-0.976, p=0.329	U=238.5, Z=-1.227, p=0.220	U=124, Z=-0.530, p=0.596
<b>Na</b>	Anova	F=2.643, st.sl.=2, 100, p=0.076; p=0.888 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=5.213$ , st.sl.=2, p=0.074		
	PH SCHEFFÉ	p=0.088	p=0.997	p=0.366
	MW	U=674, Z=-2.229, p=0.026 <sup>*B</sup>	U=107.5, Z=-1.328, p=0.184	U=774, Z=-1.511, p=0.131
<b>Mg</b>	Anova	F=2.022, st.sl.=2, 100, p=0.138; p=0.734 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=9.074$ , st.sl.=2, p=0.215		
	PH SCHEFFÉ	p=0.179	p=0.948	p=0.357
	MW	U=774, Z=-1.652, p=0.099	U=298, Z=-0.273, p=0.785	U=112, Z=-1.187, p=0.235
<b>Al</b>	Anova	F=0.259, st.sl.=2, 98, p=0.772; p=0.273 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=3.321$ , st.sl.=2, p=0.190		
	PH SCHEFFÉ	p=0.998	p=0.775	p=0.817
	MW	U=812, Z=-0.983, p=0.326	U=206, Z=-1.262, p=0.207	U=80, Z=-1.833, p=0.067
<b>S</b>	Anova	F=1.044, st.sl.=2, 100, p=0.356; p=0.819 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=2.825$ , st.sl.=2, p=0.244		
	PH SCHEFFÉ	p=0.356	p=0.968	p=0.815
	MW	U=739.5, Z=-1.689, p=0.091	U=298, Z=-0.273, p=0.785	U=127.5, Z=-0.703, p=0.482
<b>K</b>	Anova	F=2.608, st.sl.=2, 100, p=0.079; p=0.657 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=4.692$ , st.sl.=2, p=0.096		
	PH SCHEFFÉ	p=0.101	p=0.968	p=0.304
	MW	U=691, Z=-2.088, p=0.037 <sup>*B</sup>	U=308 Z=-0.112, p=0.911	U=106, Z=-1.374, p=0.169
<b>Ca</b>	Anova	F=2.683, st.sl.=2, 100, p=0.073; p=0.655 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=4.682$ , st.sl.=2, p=0.096		
	PH SCHEFFÉ	p=0.077	p=0.989	p=0.459
	MW	U=684, Z=-2.145, p=0.032 <sup>*B</sup>	U=300.5, Z=-0.233, p=0.816	U=114.5, Z=-1.109, p=0.267
<b>Cr</b>	Anova	F=0.764, st.sl.=2, 99, p=0.469; p=0.507 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=1.688$ , st.sl.=2, p=0.430		
	PH SCHEFFÉ	p=0.582	p=0.686	p=0.985
	MW	U=788.5, Z=-1.179, p=0.239	U=263, Z=-0.765, p=0.444	U=139, Z=-0.344, p=0.731
<b>Fe</b>	Anova	F=0.274, st.sl.=2,100, p=0.761; p=0.379 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=0.249$ , st.sl.=2, p=0.883		

	PH SCHEFFÉ	p=0.992	p=0.761	p=0.829
	MW	U=924, Z=-0.173, p=0.863	U=282.5, Z=-0.521, p=0.602	U=141, Z=-0.281, p=0.779
<b>Co</b>	Anova	F=1.548, st.sl.=2, 97, p=0.218; p=0.009 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=0.875$ , st.sl.=2, p=0.646		
	MW	U=831, Z=-0.323, p=0.747	U=261, Z=-0.798, p=0.425	U=115.2, Z=-0.912, p=0.362
<b>Mn</b>	Anova	F=0.126, st.sl.=2, 100, p=0.882; p=0.206 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=0.083$ , st.sl.=2, p=0.959		
	PH SCHEFFÉ	p=0.973	p=0.890	p=0.954
	MW	U=917, Z=-0.230, p=0.818	U=314, Z=-0.016, p=0.987	U=139, Z=-0.344, p=0.731
<b>Ni</b>	Anova	F=1.867, st.sl.=2, 98, p=0.160; p=0.188 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=3.193$ , st.sl.=2, p=0.203		
	PH SCHEFFÉ	p=0.802	p=0.167	p=0.383
	MW	U=842, Z=-0.601, p=0.548	U=183, Z=-1.711, p=0.087	U=89, Z=-1.425, p=0.154
<b>Cu</b>	Anova	F=1.394, st.sl.=2, 100, p=0.253; p=0.100 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=1.882$ , st.sl.=2, p=0.390		
	PH SCHEFFÉ	p=0.312	p=0.950	p=0.472
	MW	U=777, Z=-1.381, p=0.167	U=291, Z=-0.289, p=0.773	U=130, Z=-0.625, p=0.532
<b>Zn</b>	Anova	F=1.540, st.sl.=2, 100, p=0.219; p=0.391 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=3.873$ , st.sl.=2, p=0.144		
	PH SCHEFFÉ	p=0.237	p=0.999	p=0.569
	MW	U=700, Z=-2.014, p=0.044 <sup>*B</sup>	U=309, Z=-0.096, p=0.923	U=124, Z=-0.812, p=0.417
<b>As</b>	Anova	F=2.717, st.sl.=2, 99, p=0.071; p=0.251 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=4.986$ , st.sl.=2, p=0.083		
	PH SCHEFFÉ	p=0.094	p=0.959	p=0.279
	MW	U=682, Z=-2.066, p=0.039 <sup>*B</sup>	U=303, Z=-0.114, p=0.909	U=95.5, Z=-1.702, p=0.089
<b>Se</b>	Anova	F=1.957, st.sl.=2, 100, p=0.147; p=0.187 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=4.586$ , st.sl.=2, p=0.101		
	PH SCHEFFÉ	p=0.170	p=0.989	p=0.439
	MW	U=683, Z=-2.153, p=0.031 <sup>*B</sup>	U=310, Z=-0.080, p=0.936	U=117, Z=-1.031, p=0.303
<b>Sr</b>	Anova	F=0.230, st.sl.=2, 98, p=0.795; p=0.843 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=0.422$ , st.sl.=2, p=0.810		
	PH SCHEFFÉ	p=0.847	p=0.895	p=0.996
	MW	U=835, Z=-0.545, p=0.586	U=281, Z=-0.472, p=0.637	U=143, Z=-0.064, p=0.949
<b>Mo</b>	Anova	F=0.964, st.sl.=2, 100, p=0.385; p=0.026 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=0.209$ , st.sl.=2, p=0.901		
	MW	U=902, Z=-0.353, p=0.724	U=294, Z=-0.337, p=0.736	U=143, Z=-0.219, p=0.827
<b>Cd</b>	Anova	F=0.418, st.sl.=2, 100, p=0.660; p=0.100 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=0.436$ , st.sl.=2, p=0.804		
	PH SCHEFFÉ	p=0.948	p=0.746	p=0.661
	MW	U=922, Z=-0.189, p=0.850	U=271, Z=-0.707, p=0.480	U=138, Z=-0.375, p=0.708
<b>Ba</b>	Anova	F=1.417, st.sl.=2, 98, p=0.247; p=0.114 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=2.043$ , st.sl.=2, p=0.360		
	PH SCHEFFÉ	p=0.375	p=0.826	p=0.376
	MW	U=807, Z=-1.024, p=0.306	U=236, Z=-0.743, p=0.457	U=95, Z=-1.333, p=0.182
<b>Tl</b>	Anova	F=0.769, st.sl.=2, 100, p=0.466; p=0.463 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=1.776$ , st.sl.=2, p=0.411		
	PH SCHEFFÉ	p=0.882	p=0.606	p=0.466
	MW	U=865.5, Z=-0.657, p=0.511	U=248.5, Z=-1.073, p=0.283	U=111.5, Z=-1.209, p=0.227
<b>Pb</b>	Anova	F=0.337, st.sl.=2, 100, p=0.715; p=0.557 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=1.465$ , st.sl.=2, p=0.481		
	PH SCHEFFÉ	p=0.783	p=0.964	p=0.795
	MW	U=863, Z=-0.674, p=0.500	U=269, Z=-0.738, p=0.461	U=108, Z=-1.312, p=0.190
<b>Hg</b>	Anova	F=0.708, st.sl.=2, 99, p=0.495; p=0.215 <sup>#</sup>		
	KW	$\chi^2=1.263$ , st.sl.=2, p=0.532		
	PH SCHEFFÉ	p=0.534	p=0.826	p=0.994
	MW	U=822, Z=-0.900, p=0.368	U=261, Z=-0.798, p=0.425	U=133.5, Z=-0.516, p=0.606

AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; KW, Kruskal-Wallis test; MW, Mann-Whitney test; PH SCHEFFÉ, *post-hoc* Scheffé test. \* $p < 0.05$ . <sup>#</sup>Levenov test jednakosti varijanci. <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je  $p < 0.016$ ). Ružičasto su označene usporedbe koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost.



**Slika 33.** Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između AB, BSP i KONT grupe ispitanika. \* $p < 0.05$ .

### 4.3.2. Korelacije makro- i mikroelemenata s proteinskim biološkim biljezima i MMSE

Korelacija makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima je prikazana u **tablici 30** i **slikama 34, 35, 36, 37 i 38**.

**Tablica 30.** Korelacija makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima.

			<b>Aβ<sub>1-42</sub></b>	<b>Ukupni tau</b>	<b>p-tau<sub>181</sub></b>	<b>p-tau<sub>199</sub></b>	<b>p-tau<sub>231</sub></b>	<b>VILIP-1</b>
<b>Li</b>	Svi ispitanici	PK	r=0.018, st.sl.=99, p=0.858	r=-0.112, st.sl.=99, p=0.263	r=0.086, st.sl.=99, p=0.395	r=-0.041, st.sl.=99, p=0.684	r=0.151, st.sl.=99, p=0.131	r=0.065, st.sl.=99, p=0.518
		SK	r <sub>S</sub> =-0.069, st.sl.=99, p=0.493	r <sub>S</sub> =-0.184, st.sl.=99, p=0.066	r <sub>S</sub> =0.029, st.sl.=99, p=0.773	r <sub>S</sub> =-0.033, st.sl.=99, p=0.740	r <sub>S</sub> =0.181, st.sl.=99, p=0.071	r <sub>S</sub> =0.165, st.sl.=99, p=0.098
	AB	SK	r <sub>S</sub> =0.036, st.sl.=61, p=0.780	r <sub>S</sub> =-0.267, st.sl.=61, p=0.034* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =-0.051, st.sl.=61, p=0.690	r <sub>S</sub> =-0.006, st.sl.=61, p=0.965	r <sub>S</sub> =0.189, st.sl.=61, p=0.137	r <sub>S</sub> =0.159, st.sl.=61, p=0.213
	BSP	SK	r <sub>S</sub> =-0.116, st.sl.=26, p=0.557	r <sub>S</sub> =-0.022, st.sl.=26, p=0.910	r <sub>S</sub> =0.245, st.sl.=26, p=0.210	r <sub>S</sub> =0.000, st.sl.=26, p=0.999	r <sub>S</sub> =0.276, st.sl.=26, p=0.156	r <sub>S</sub> =0.284, st.sl.=26, p=0.143
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =-0.515, st.sl.=8, p=0.128	r <sub>S</sub> =-0.127, st.sl.=8, p=0.726	r <sub>S</sub> =0.152, st.sl.=8, p=0.676	r <sub>S</sub> =-0.116, st.sl.=8, p=0.750	r <sub>S</sub> =0.316, st.sl.=8, p=0.374	r <sub>S</sub> =0.331, st.sl.=8, p=0.350
<b>B</b>	Svi ispitanici	PK	r=-0.084, st.sl.=99, p=0.403	r=-0.135, st.sl.=99, p=0.177	r=0.220, st.sl.=99, p=0.027* <sup>B</sup>	r=0.226, st.sl.=99, p=0.023* <sup>B</sup>	r=0.213, st.sl.=99, p=0.032* <sup>B</sup>	r=0.412, st.sl.=99, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.028, st.sl.=99, p=0.078	r <sub>S</sub> =-0.110, st.sl.=99, p=0.273	r <sub>S</sub> =0.143, st.sl.=99, p=0.153	r <sub>S</sub> =0.227, st.sl.=99, p=0.023* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.210, st.sl.=99, p=0.035* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.416, st.sl.=99, p<0.001*
	AB	PK	r=0.015, st.sl.=61, p=0.906	r=0.256, st.sl.=61, p=0.043* <sup>B</sup>	r=0.090, st.sl.=61, p=0.484	r=0.158, st.sl.=61, p=0.215	r=0.113, st.sl.=61, p=0.378	r=0.377, st.sl.=61, p=0.002*
	BSP	PK	r=-0.273, st.sl.=28, p=0.160	r=0.162, st.sl.=28, p=0.392	r=0.611, st.sl.=28, p=0.001*	r=0.384, st.sl.=28, p=0.044* <sup>B</sup>	r=0.635, st.sl.=28, p<0.001*	r=0.491, st.sl.=28, p<0.001*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.164, st.sl.=8, p=0.650	r <sub>S</sub> =-0.219, st.sl.=8, p=0.544	r <sub>S</sub> =0.055, st.sl.=8, p=0.881	r <sub>S</sub> =-0.159, st.sl.=8, p=0.661	r <sub>S</sub> =0.220, st.sl.=8, p=0.542	r <sub>S</sub> =0.229, st.sl.=8, p=0.525
<b>Na</b>	Svi ispitanici	PK	r=-0.086, st.sl.=101, p=0.388	r=0.021, st.sl.=101, p=0.832	r=0.158, st.sl.=101, p=0.111	r=0.382, st.sl.=101, p<0.001*	r=0.010, st.sl.=101, p=0.919	r=0.590, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.118, st.sl.=101, p=0.234	r <sub>S</sub> =0.092, st.sl.=101, p=0.353	r <sub>S</sub> =0.252, st.sl.=101, p=0.010* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.402, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.209, st.sl.=101, p=0.034* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.634, st.sl.=101, p<0.001*
	AB	PK	r=0.007, st.sl.=61, p=0.959	r=-0.124, st.sl.=61, p=0.334	r=0.015, st.sl.=61, p=0.905	r=0.359, st.sl.=61, p=0.004*	r=-0.102, st.sl.=61, p=0.427	r=0.543, st.sl.=61, p<0.001*
	BSP	PK	r=-0.273, st.sl.=28, p=0.144	r=0.392, st.sl.=28, p=0.032* <sup>B</sup>	r=0.449, st.sl.=28, p=0.013* <sup>B</sup>	r=0.524, st.sl.=28, p=0.003*	r=0.303, st.sl.=28, p=0.104	r=0.654, st.sl.=28, p<0.001*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.333, st.sl.=8, p=0.347	r <sub>S</sub> =0.370, st.sl.=8, p=0.293	r <sub>S</sub> =0.515, st.sl.=8, p=0.128	r <sub>S</sub> =0.293, st.sl.=8, p=0.412	r <sub>S</sub> =0.043, st.sl.=8, p=0.907	r <sub>S</sub> =0.607, st.sl.=8, p=0.063
<b>Mg</b>	Svi ispitanici	PK	r=-0.109, st.sl.=101, p=0.273	r=-0.038, st.sl.=101, p=0.700	r=0.169, st.sl.=101, p=0.087	r=0.293, st.sl.=101, p=0.003*	r=0.078, st.sl.=101, p=0.436	r=0.580, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.137, st.sl.=101, p=0.166	r <sub>S</sub> =0.035, st.sl.=101, p=0.727	r <sub>S</sub> =0.035, st.sl.=101, p=0.005*	r <sub>S</sub> =0.350, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.259, st.sl.=101, p=0.008*	r <sub>S</sub> =0.621, st.sl.=101, p<0.001*
	AB	PK	r=-0.017, st.sl.=61, p=0.894	r=-0.168, st.sl.=61, p=0.189	r=0.033, st.sl.=61, p=0.795	r=0.284, st.sl.=61, p=0.024* <sup>B</sup>	r=-0.020, st.sl.=61, p=0.877	r=0.527, st.sl.=61, p<0.001*
	BSP	PK	r=-0.265, st.sl.=28, p=0.157	r=0.257, st.sl.=28, p=0.170	r=0.516, st.sl.=28, p=0.004*	r=0.406, st.sl.=28, p=0.026* <sup>B</sup>	r=0.424, st.sl.=28, p=0.019* <sup>B</sup>	r=0.693, st.sl.=28, p<0.001*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.055, st.sl.=8, p=0.881	r <sub>S</sub> =0.309, st.sl.=8, p=0.385	r <sub>S</sub> =0.564, st.sl.=8, p=0.090	r <sub>S</sub> =0.116, st.sl.=8, p=0.750	r <sub>S</sub> =0.091, st.sl.=8, p=0.802	r <sub>S</sub> =0.619, st.sl.=8, p=0.056
<b>Al</b>	Svi ispitanici	PK	r=0.103, st.sl.=99, p=0.107	r=-0.034, st.sl.=99, p=0.734	r=-0.072, st.sl.=99, p=0.475	r=-0.015, st.sl.=99, p=0.886	r=-0.122, st.sl.=99, p=0.225	r=-0.024, st.sl.=99, p=0.814
		SK	r <sub>S</sub> =0.081, st.sl.=99, p=0.422	r <sub>S</sub> =0.025, st.sl.=99, p=0.807	r <sub>S</sub> =-0.053, st.sl.=99, p=0.597	r <sub>S</sub> =0.036, st.sl.=99, p=0.719	r <sub>S</sub> =0.033, st.sl.=99, p=0.746	r <sub>S</sub> =0.077, st.sl.=99, p=0.444
	AB	PK	r=-0.086, st.sl.=60, p=0.509	r=-0.054, st.sl.=60, p=0.760	r=-0.078, st.sl.=60, p=0.546	r=0.002, st.sl.=60, p=0.987	r=-0.166, st.sl.=60, p=0.197	r=0.040, st.sl.=60, p=0.756
	BSP	PK	r=0.103, st.sl.=28, p=0.587	r=0.010, st.sl.=28, p=0.960	r=-0.011, st.sl.=28, p=0.952	r=-0.036, st.sl.=28, p=0.851	r=-0.070, st.sl.=28, p=0.712	r=-0.069, st.sl.=28, p=0.718
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =-0.100, st.sl.=7, p=0.798	r <sub>S</sub> =-0.100, st.sl.=7, p=0.798	r <sub>S</sub> =-0.200, st.sl.=7, p=0.606	r <sub>S</sub> =0.840, st.sl.=7, p=0.005*	r <sub>S</sub> =0.544, st.sl.=7, p=0.130	r <sub>S</sub> =0.203, st.sl.=7, p=0.600
<b>S</b>	Svi ispitanici	PK	r=-0.163, st.sl.=101, p=0.100	r=0.028, st.sl.=101, p=0.777	r=0.342, st.sl.=101, p<0.001*	r=0.317, st.sl.=101, p=0.001*	r=0.292, st.sl.=101, p=0.003*	r=0.538, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.167, st.sl.=101, p=0.092	r <sub>S</sub> =0.116, st.sl.=101, p=0.245	r <sub>S</sub> =0.354, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.389, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.410, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.597, st.sl.=101, p<0.001*
	AB	PK	r=-0.055, st.sl.=61, p=0.667	r=0.081, st.sl.=61, p=0.530	r=0.254, st.sl.=61, p=0.044* <sup>B</sup>	r=0.341, st.sl.=61, p=0.006*	r=0.247, st.sl.=61, p=0.051	r=0.445, st.sl.=61, p<0.001*
	BSP	PK	r=-0.355, st.sl.=28, p=0.054	r=0.219, st.sl.=28, p=0.245	r=0.586, st.sl.=28, p=0.001*	r=0.335, st.sl.=28, p=0.071	r=0.548, st.sl.=28, p=0.002*	r=0.678, st.sl.=28, p<0.001*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.067, st.sl.=8, p=0.855	r <sub>S</sub> =0.333, st.sl.=8, p=0.347	r <sub>S</sub> =0.588, st.sl.=8, p=0.074	r <sub>S</sub> =-0.061, st.sl.=8, p=0.867	r <sub>S</sub> =0.030, st.sl.=8, p=0.934	r <sub>S</sub> =0.719, st.sl.=8, p=0.019* <sup>B</sup>
<b>K</b>	Svi ispitanici	PK	r=-0.101, st.sl.=101, p=0.310	r=-0.051, st.sl.=101, p=0.609	r=0.165, st.sl.=101, p=0.095	r=0.277, st.sl.=101, p=0.005*	r=0.085, st.sl.=101, p=0.392	r=0.585, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.064, st.sl.=101, p=0.520	r <sub>S</sub> =0.072, st.sl.=101, p=0.467	r <sub>S</sub> =0.218, st.sl.=101, p=0.027* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.397, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.157, st.sl.=101, p=0.113	r <sub>S</sub> =0.581, st.sl.=101, p<0.001*
	AB	PK	r=0.004, st.sl.=61, p=0.974	r=-0.280, st.sl.=61, p=0.102	r=0.017, st.sl.=61, p=0.894	r=0.245, st.sl.=61, p=0.053	r=-0.017, st.sl.=61, p=0.894	r=0.514, st.sl.=61, p<0.001*
	BSP	PK	r=-0.248, st.sl.=28, p=0.187	r=0.300, st.sl.=28, p=0.107	r=0.522, st.sl.=28, p=0.003*	r=0.444, st.sl.=28, p=0.014* <sup>B</sup>	r=0.426, st.sl.=28, p=0.019* <sup>B</sup>	r=0.712, st.sl.=28, p<0.001*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =-0.006, st.sl.=8, p=0.987	r <sub>S</sub> =0.358, st.sl.=8, p=0.310	r <sub>S</sub> =0.661, st.sl.=8, p=0.038* <sup>B</sup>	r <sub>S</sub> =0.085, st.sl.=8, p=0.815	r <sub>S</sub> =0.164, st.sl.=8, p=0.650	r <sub>S</sub> =0.713, st.sl.=8, p=0.021* <sup>B</sup>
<b>Ca</b>	Svi ispitanici	PK	r=-0.013, st.sl.=101, p=0.896	r=-0.048, st.sl.=101, p=0.631	r=0.077, st.sl.=101, p=0.439	r=0.303, st.sl.=101, p=0.002*	r=-0.055, st.sl.=101, p=0.582	r=0.505, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.134, st.sl.=101, p=0.176	r <sub>S</sub> =0.037, st.sl.=101, p=0.711	r <sub>S</sub> =0.276, st.sl.=101, p=0.005*	r <sub>S</sub> =0.341, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.275, st.sl.=101, p=0.005*	r <sub>S</sub> =0.636, st.sl.=101, p<0.001*

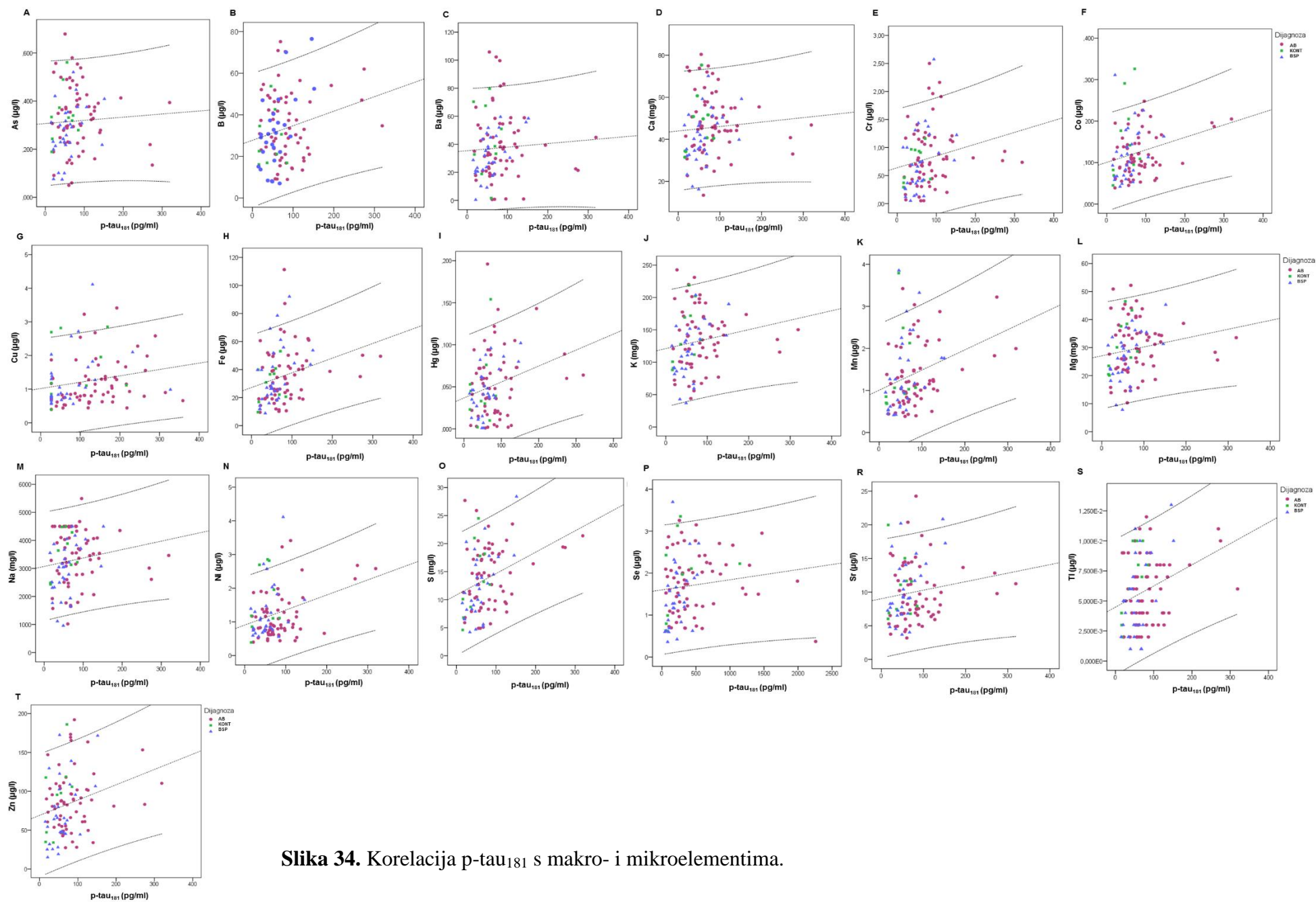
<b>Cr</b>	AB	PK	r=0.084, st.sl.=61, p=0.512	r=-0.210, st.sl.=61, p=0.099	r=-0.081, st.sl.=61, p=0.528	r=0.239, st.sl.=61, p=0.059	r=-0.169, st.sl.=61, p=0.185	r=0.416, st.sl.=61, p=0.001*
	BSP	PK	r=-0.239, st.sl.=28, p=0.203	r=0.385, st.sl.=28, p=0.036 <sup>*B</sup>	r=0.418, st.sl.=28, p=0.022 <sup>*B</sup>	r=0.546, st.sl.=28, p=0.002*	r=0.265, st.sl.=28, p=0.157	r=0.645, st.sl.=28, p<0.001*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.370, st.sl.=8, p=0.293	r <sub>S</sub> =0.236, st.sl.=8, p=0.511	r <sub>S</sub> =0.455, st.sl.=8, p=0.187	r <sub>S</sub> =0.159, st.sl.=8, p=0.662	r <sub>S</sub> =0.158, st.sl.=8, p=0.663	r <sub>S</sub> =0.538, st.sl.=8, p=0.109
	Svi ispitanici	PK	r=-0.098, st.sl.=100, p=0.329	r=0.028, st.sl.=100, p=0.778	r=0.204, st.sl.=100, p=0.040	r=0.320, st.sl.=100, p=0.001*	r=0.121, st.sl.=100, p=0.225	r=0.479, st.sl.=100, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.131, st.sl.=100, p=0.190	r <sub>S</sub> =0.092, st.sl.=100, p=0.358	r <sub>S</sub> =0.340, st.sl.=100, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.310, st.sl.=100, p=0.002*	r <sub>S</sub> =0.267, st.sl.=100, p=0.007*	r <sub>S</sub> =0.544, st.sl.=100, p<0.001*
<b>Fe</b>	AB	PK	r=-0.044, st.sl.=60, p=0.732	r=-0.050, st.sl.=60, p=0.698	r=0.100, st.sl.=60, p=0.439	r=0.323, st.sl.=60, p=0.010 <sup>*B</sup>	r=0.063, st.sl.=60, p=0.628	r=0.470, st.sl.=60, p<0.001*
	BSP	PK	r=-0.143, st.sl.=28, p=0.452	r=0.287, st.sl.=28, p=0.124	r=0.441, st.sl.=28, p=0.015 <sup>*B</sup>	r=0.263, st.sl.=28, p=0.160	r=0.286, st.sl.=28, p=0.125	r=0.511, st.sl.=28, p=0.004*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.333, st.sl.=8, p=0.347	r <sub>S</sub> =-0.018, st.sl.=8, p=0.960	r <sub>S</sub> =0.382, st.sl.=8, p=0.276	r <sub>S</sub> =0.396, st.sl.=8, p=0.275	r <sub>S</sub> =0.006, st.sl.=8, p=0.987	r <sub>S</sub> =0.275, st.sl.=8, p=0.442
	Svi ispitanici	PK	r=-0.071, st.sl.=101, p=0.475	r=-0.022, st.sl.=101, p=0.826	r=0.277, st.sl.=101, p=0.005*	r=0.204, st.sl.=101, p=0.039 <sup>*B</sup>	r=0.235, st.sl.=101, p=0.017 <sup>*B</sup>	r=0.457, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.123, st.sl.=101, p=0.215	r <sub>S</sub> =0.069, st.sl.=101, p=0.491	r <sub>S</sub> =0.369, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.288, st.sl.=101, p=0.003*	r <sub>S</sub> =0.355, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.559, st.sl.=101, p<0.001*
<b>Co</b>	AB	PK	r=-0.030, st.sl.=61, p=0.815	r=-0.063, st.sl.=61, p=0.622	r=0.229, st.sl.=61, p=0.071	r=0.226, st.sl.=61, p=0.076	r=0.224, st.sl.=61, p=0.078	r=0.452, st.sl.=61, p<0.001*
	BSP	PK	r=0.013, st.sl.=28, p=0.945	r=0.187, st.sl.=28, p=0.323	r=0.473, st.sl.=28, p=0.008*	r=0.159, st.sl.=28, p=0.402	r=0.347, st.sl.=28, p=0.060	r=0.563, st.sl.=28, p=0.003*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =-0.394, st.sl.=8, p=0.260	r <sub>S</sub> =-0.139, st.sl.=8, p=0.701	r <sub>S</sub> =0.333, st.sl.=8, p=0.347	r <sub>S</sub> =-0.207, st.sl.=8, p=0.565	r <sub>S</sub> =0.304, st.sl.=8, p=0.393	r <sub>S</sub> =0.244, st.sl.=8, p=0.497
	Svi ispitanici	PK	r=-0.093, st.sl.=98, p=0.358	r=-0.069, st.sl.=98, p=0.497	r=0.254, st.sl.=98, p=0.011 <sup>*B</sup>	r=0.153, st.sl.=98, p=0.129	r=0.274, st.sl.=98, p=0.006*	r=0.308, st.sl.=98, p=0.002*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.119, st.sl.=98, p=0.238	r <sub>S</sub> =0.043, st.sl.=98, p=0.673	r <sub>S</sub> =0.299, st.sl.=98, p=0.002*	r <sub>S</sub> =0.295, st.sl.=98, p=0.003*	r <sub>S</sub> =0.368, st.sl.=98, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.423, st.sl.=98, p<0.001*
<b>Mn</b>	AB	PK	r=-0.095, st.sl.=60, p=0.464	r=-0.080, st.sl.=60, p=0.537	r=0.361, st.sl.=60, p=0.004*	r=0.278, st.sl.=60, p=0.029 <sup>*B</sup>	r=0.406, st.sl.=60, p=0.001*	r=0.377, st.sl.=60, p=0.003*
	BSP	PK	r=-0.349, st.sl.=26, p=0.068	r=0.156, st.sl.=26, p=0.427	r=0.280, st.sl.=26, p=0.148	r=0.145, st.sl.=26, p=0.462	r=0.312, st.sl.=26, p=0.106	r=0.321, st.sl.=26, p=0.096
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.224, st.sl.=8, p=0.533	r <sub>S</sub> =0.139, st.sl.=8, p=0.701	r <sub>S</sub> =0.552, st.sl.=8, p=0.098	r <sub>S</sub> =0.323, st.sl.=8, p=0.362	r <sub>S</sub> =0.103, st.sl.=8, p=0.776	r <sub>S</sub> =0.550, st.sl.=8, p=0.009 <sup>*B</sup>
	Svi ispitanici	PK	r=0.025, st.sl.=101, p=0.800	r=-0.054, st.sl.=101, p=0.586	r=0.300, st.sl.=101, p=0.002*	r=0.207, st.sl.=101, p=0.036 <sup>*B</sup>	r=0.322, st.sl.=101, p=0.001*	r=0.310, st.sl.=101, p=0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.035, st.sl.=101, p=0.727	r <sub>S</sub> =0.068, st.sl.=101, p=0.498	r <sub>S</sub> =0.355, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.366, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.358, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.442, st.sl.=101, p<0.001*
<b>Ni</b>	AB	PK	r=0.004, st.sl.=61, p=0.975	r=-0.077, st.sl.=61, p=0.546	r=0.355, st.sl.=61, p=0.004*	r=0.280, st.sl.=61, p=0.026 <sup>*B</sup>	r=0.482, st.sl.=61, p<0.001*	r=0.303, st.sl.=61, p=0.016 <sup>*B</sup>
	BSP	PK	r=0.134, st.sl.=28, p=0.481	r=0.104, st.sl.=28, p=0.583	r=0.381, st.sl.=28, p=0.038 <sup>*B</sup>	r=0.196, st.sl.=28, p=0.299	r=0.309, st.sl.=28, p=0.097	r=0.379, st.sl.=28, p=0.039 <sup>*B</sup>
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.406, st.sl.=8, p=0.244	r <sub>S</sub> =0.358, st.sl.=8, p=0.310	r <sub>S</sub> =0.552, st.sl.=8, p=0.098	r <sub>S</sub> =0.433, st.sl.=8, p=0.211	r <sub>S</sub> =-0.006, st.sl.=8, p=0.987	r <sub>S</sub> =0.719, st.sl.=8, p=0.019 <sup>*B</sup>
	Svi ispitanici	PK	r=-0.022, st.sl.=99, p=0.829	r=-0.065, st.sl.=99, p=0.518	r=0.304, st.sl.=99, p=0.002*	r=0.047, st.sl.=99, p=0.640	r=0.393, st.sl.=99, p<0.001*	r=0.200, st.sl.=99, p=0.045 <sup>*B</sup>
		SK	r <sub>S</sub> =-0.050, st.sl.=99, p=0.621	r <sub>S</sub> =-0.033, st.sl.=99, p=0.740	r <sub>S</sub> =0.169, st.sl.=99, p=0.092	r <sub>S</sub> =0.116, st.sl.=99, p=0.249	r <sub>S</sub> =0.233, st.sl.=99, p=0.019 <sup>*B</sup>	r <sub>S</sub> =0.292, st.sl.=99, p=0.003*
<b>Cu</b>	AB	PK	r <sub>S</sub> =-0.043, st.sl.=61, p=0.738	r <sub>S</sub> =-0.069, st.sl.=61, p=0.591	r <sub>S</sub> =0.187, st.sl.=61, p=0.142	r <sub>S</sub> =0.259, st.sl.=61, p=0.040 <sup>*B</sup>	r <sub>S</sub> =0.320, st.sl.=61, p=0.010 <sup>*B</sup>	r <sub>S</sub> =0.351, st.sl.=61, p=0.005*
	BSP	PK	r=-0.048, st.sl.=27, p=0.807	r=0.100, st.sl.=27, p=0.605	r=0.362, st.sl.=27, p=0.054	r=0.033, st.sl.=27, p=0.865	r=0.275, st.sl.=27, p=0.148	r=0.306, st.sl.=27, p=0.106
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =-0.050, st.sl.=8, p=0.898	r <sub>S</sub> =0.200, st.sl.=8, p=0.606	r <sub>S</sub> =0.300, st.sl.=8, p=0.433	r <sub>S</sub> =-0.059, st.sl.=8, p=0.881	r <sub>S</sub> =-0.017, st.sl.=8, p=0.996	r <sub>S</sub> =0.357, st.sl.=8, p=0.346
	Svi ispitanici	PK	r=-0.087, st.sl.=101, p=0.382	r=0.049, st.sl.=101, p=0.620	r=0.363, st.sl.=101, p<0.001*	r=0.312, st.sl.=101, p=0.001*	r=0.286, st.sl.=101, p=0.003*	r=0.487, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.082, st.sl.=101, p=0.409	r <sub>S</sub> =0.158, st.sl.=101, p=0.112	r <sub>S</sub> =0.387, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.375, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.399, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.555, st.sl.=101, p<0.001*
<b>Zn</b>	AB	PK	r=0.024, st.sl.=61, p=0.849	r=-0.077, st.sl.=61, p=0.549	r=0.280, st.sl.=61, p=0.026 <sup>*B</sup>	r=0.357, st.sl.=61, p=0.004*	r=0.242, st.sl.=61, p=0.056	r=0.383, st.sl.=61, p=0.002*
	BSP	PK	r=-0.273, st.sl.=28, p=0.144	r=0.259, st.sl.=28, p=0.166	r=0.656, st.sl.=28, p<0.001*	r=0.366, st.sl.=28, p=0.047 <sup>*B</sup>	r=0.590, st.sl.=28, p=0.001*	r=0.678, st.sl.=28, p<0.001*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.139, st.sl.=8, p=0.701	r <sub>S</sub> =0.527, st.sl.=8, p=0.117	r <sub>S</sub> =0.624, st.sl.=8, p=0.054	r <sub>S</sub> =-0.037, st.sl.=8, p=0.920	r <sub>S</sub> =-0.006, st.sl.=8, p=0.987	r <sub>S</sub> =0.669, st.sl.=8, p=0.034 <sup>*B</sup>
	Svi ispitanici	PK	r=-0.184, st.sl.=101, p=0.063	r=0.073, st.sl.=101, p=0.465	r=0.249, st.sl.=101, p=0.011 <sup>*B</sup>	r=0.196, st.sl.=101, p=0.047 <sup>*B</sup>	r=0.157, st.sl.=101, p=0.113	r=0.413, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.195, st.sl.=101, p=0.049 <sup>*B</sup>	r <sub>S</sub> =0.068, st.sl.=101, p=0.495	r <sub>S</sub> =0.256, st.sl.=101, p=0.009 <sup>*B</sup>	r <sub>S</sub> =0.243, st.sl.=101, p=0.013 <sup>*B</sup>	r <sub>S</sub> =0.261, st.sl.=101, p=0.008*	r <sub>S</sub> =0.452, st.sl.=101, p<0.001*
<b>As</b>	AB	PK	r=-0.076, st.sl.=61, p=0.555	r=0.001, st.sl.=61, p=0.994	r=0.148, st.sl.=61, p=0.246	r=0.185, st.sl.=61, p=0.147	r=0.077, st.sl.=61, p=0.547	r=0.434, st.sl.=61, p<0.001*
	BSP	PK	r=-0.201, st.sl.=28, p=0.286	r=0.154, st.sl.=28, p=0.416	r=0.468, st.sl.=28, p=0.009 <sup>*B</sup>	r=0.284, st.sl.=28, p=0.128	r=0.400, st.sl.=28, p=0.028 <sup>*B</sup>	r=0.242, st.sl.=28, p=0.198
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =-0.333, st.sl.=8, p=0.347	r <sub>S</sub> =-0.103, st.sl.=8, p=0.777	r <sub>S</sub> =0.552, st.sl.=8, p=0.098	r <sub>S</sub> =0.439, st.sl.=8, p=0.204	r <sub>S</sub> =0.146, st.sl.=8, p=0.668	r <sub>S</sub> =0.588, st.sl.=8, p=0.074
	Svi ispitanici	PK	r=-0.012, st.sl.=100, p=0.906	r=0.013, st.sl.=100, p=0.900	r=0.053, st.sl.=100, p=0.600	r=0.379, st.sl.=100, p<0.001*	r=-0.118, st.sl.=100, p=0.238	r=0.529, st.sl.=100, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.056, st.sl.=100, p=0.577	r <sub>S</sub> =0.141, st.sl.=100, p=0.159	r <sub>S</sub> =0.186, st.sl.=100, p=0.062	r <sub>S</sub> =0.439, st.sl.=100, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.111, st.sl.=100, p=0.265	r <sub>S</sub> =0.576, st.sl.=100, p<0.001*
<b>Se</b>	AB	PK	r=0.040, st.sl.=59, p=0.756	r=-0.125, st.sl.=59, p=0.333	r=-0.078, st.sl.=59, p=0.547	r=0.323, st.sl.=59, p=0.010 <sup>*B</sup>	r=-0.215, st.sl.=59, p=0.094	r=0.504, st.sl.=59, p<0.001*
	BSP	PK	r=-0.289, st.sl.=28, p=0.121	r=0.543, st.sl.=28, p=0.002*	r=0.373, st.sl.=28, p=0.042 <sup>*B</sup>	r=0.696, st.sl.=28, p<0.001*	r=0.154, st.sl.=28, p=0.416	r=0.576, st.sl.=28, p=0.001*
	KONT	SK	r <sub>S</sub> =0.564, st.sl.=8, p=0.090	r <sub>S</sub> =0.164, st.sl.=8, p=0.651	r <sub>S</sub> =0.103, st.sl.=8, p=0.777	r <sub>S</sub> =0.396, st.sl.=8, p=0.257	r <sub>S</sub> =-0.334, st.sl.=8, p=0.345	r <sub>S</sub> =0.288, st.sl.=8, p=0.420
	Svi ispitanici	PK	r=-0.061, st.sl.=101, p=0.540	r=0.125, st.sl.=101, p=0.210	r=0.391, st.sl.=101, p<0.001*	r=0.405, st.sl.=101, p<0.001*	r=0.232, st.sl.=101, p=0.019 <sup>*B</sup>	r=0.725, st.sl.=101, p<0.001*
		SK	r <sub>S</sub> =-0.097, st.sl.=101, p=0.328	r <sub>S</sub> =0.268, st.sl.=101, p=0.006 <sup>*B</sup>	r <sub>S</sub> =0.503, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.448, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.440, st.sl.=101, p<0.001*	r <sub>S</sub> =0.744, st.sl.=101, p<0.001*
	AB	PK	r=0.057, st.sl.=61, p=0.659	r=-0.002, st.sl.=61, p=0.990	r=0.276, st.sl.=61, p=0.028 <sup>*B</sup>	r=0.475, st.sl.=61, p<0.001*	r=0.144, st.sl.=61, p=0.261	r=0.672, st.sl.=61, p<0.001*

<b>Sr</b>	BSP	PK	$r=-0.295$ , st.sl.=28, $p=0.113$	$r=-0.375$ , st.sl.=28, $p=0.041^{*B}$	$r=0.747$ , st.sl.=28, $p<0.001^*$	$r=0.393$ , st.sl.=28, $p=0.032^{*B}$	$r=0.589$ , st.sl.=28, $p=0.001^*$	$r=0.839$ , st.sl.=28, $p<0.001^*$
	KONT	SK	$r_s=-0.212$ , st.sl.=8, $p=0.556$	$r_s=0.442$ , st.sl.=8, $p=0.200$	$r_s=0.685$ , st.sl.=8, $p=0.029^{*B}$	$r_s=0.189$ , st.sl.=8, $p=0.601$	$r_s=0.061$ , st.sl.=8, $p=0.868$	$r_s=0.819$ , st.sl.=8, $p=0.004^*$
	Svi ispitanici	PK	$r=-0.165$ , st.sl.=99, $p=0.098$	$r=-0.163$ , st.sl.=99, $p=0.103$	$r=0.148$ , st.sl.=99, $p=0.140$	$r=0.086$ , st.sl.=99, $p=0.394$	$r=0.099$ , st.sl.=99, $p=0.323$	$r=0.305$ , st.sl.=99, $p=0.002^*$
	AB	SK	$r_s=-0.165$ , st.sl.=99, $p=0.098$	$r_s=-0.150$ , st.sl.=99, $p=0.135$	$r_s=0.178$ , st.sl.=99, $p=0.074$	$r_s=0.157$ , st.sl.=99, $p=0.117$	$r_s=0.160$ , st.sl.=99, $p=0.109$	$r_s=0.356$ , st.sl.=99, $p<0.001^*$
	BSP	PK	$r=-0.019$ , st.sl.=59, $p=0.881$	$r=-0.200$ , st.sl.=59, $p=0.119$	$r=0.094$ , st.sl.=59, $p=0.465$	$r=0.107$ , st.sl.=59, $p=0.407$	$r=0.012$ , st.sl.=59, $p=0.927$	$r=0.320$ , st.sl.=59, $p=0.011^{*B}$
<b>Mo</b>	KONT	SK	$r_s=-0.370$ , st.sl.=27, $p=0.048^{*B}$	$r_s=0.089$ , st.sl.=27, $p=0.645$	$r_s=0.572$ , st.sl.=27, $p=0.001^*$	$r_s=0.265$ , st.sl.=27, $p=0.165$	$r_s=0.616$ , st.sl.=27, $p<0.001^*$	$r_s=0.516$ , st.sl.=27, $p=0.004^*$
	Svi ispitanici	PK	$r_s=-0.479$ , st.sl.=8, $p=0.162$	$r_s=-0.103$ , st.sl.=8, $p=0.777$	$r_s=0.152$ , st.sl.=8, $p=0.676$	$r_s=-0.226$ , st.sl.=8, $p=0.531$	$r_s=0.328$ , st.sl.=8, $p=0.354$	$r_s=0.244$ , st.sl.=8, $p=0.297$
	AB	SK	$r=-0.071$ , st.sl.=101, $p=0.473$	$r=-0.051$ , st.sl.=101, $p=0.607$	$r=0.102$ , st.sl.=101, $p=0.305$	$r=0.083$ , st.sl.=101, $p=0.406$	$r=0.137$ , st.sl.=101, $p=0.160$	$r=0.286$ , st.sl.=101, $p=0.003^*$
	BSP	PK	$r_s=-0.127$ , st.sl.=101, $p=0.201$	$r_s=0.050$ , st.sl.=101, $p=0.617$	$r_s=0.177$ , st.sl.=101, $p=0.074$	$r_s=0.187$ , st.sl.=101, $p=0.059$	$r_s=0.284$ , st.sl.=101, $p=0.004^*$	$r_s=0.403$ , st.sl.=101, $p<0.001^*$
	KONT	SK	$r=-0.112$ , st.sl.=61, $p=0.383$	$r=-0.047$ , st.sl.=61, $p=0.712$	$r=0.092$ , st.sl.=61, $p=0.474$	$r=0.173$ , st.sl.=61, $p=0.175$	$r=0.174$ , st.sl.=61, $p=0.174$	$r=0.280$ , st.sl.=61, $p=0.026^{*B}$
<b>Cd</b>	BSP	PK	$r=-0.397$ , st.sl.=28, $p=0.030^{*B}$	$r=-0.153$ , st.sl.=28, $p=0.420$	$r=0.314$ , st.sl.=28, $p=0.091$	$r=0.180$ , st.sl.=28, $p=0.340$	$r=0.354$ , st.sl.=28, $p=0.055$	$r=0.546$ , st.sl.=28, $p=0.002^*$
	KONT	SK	$r_s=0.624$ , st.sl.=8, $p=0.054$	$r_s=0.442$ , st.sl.=8, $p=0.200$	$r_s=0.430$ , st.sl.=8, $p=0.214$	$r_s=-0.024$ , st.sl.=8, $p=0.947$	$r_s=-0.413$ , st.sl.=8, $p=0.235$	$r_s=0.325$ , st.sl.=8, $p=0.359$
	Svi ispitanici	PK	$r=-0.002$ , st.sl.=101, $p=0.982$	$r=-0.062$ , st.sl.=101, $p=0.536$	$r=0.087$ , st.sl.=101, $p=0.381$	$r=0.140$ , st.sl.=101, $p=0.158$	$r=0.054$ , st.sl.=101, $p=0.585$	$r=0.113$ , st.sl.=101, $p=0.254$
	AB	SK	$r_s=-0.048$ , st.sl.=101, $p=0.628$	$r_s=0.042$ , st.sl.=101, $p=0.671$	$r_s=0.103$ , st.sl.=101, $p=0.302$	$r_s=-0.305$ , st.sl.=101, $p=0.002^*$	$r_s=0.180$ , st.sl.=101, $p=0.069$	$r_s=0.160$ , st.sl.=101, $p=0.107$
	BSP	PK	$r=0.064$ , st.sl.=61, $p=0.616$	$r=-0.098$ , st.sl.=61, $p=0.443$	$r=0.093$ , st.sl.=61, $p=0.446$	$r=0.165$ , st.sl.=61, $p=0.198$	$r=0.047$ , st.sl.=61, $p=0.717$	$r=0.120$ , st.sl.=61, $p=0.350$
<b>Ba</b>	KONT	SK	$r_s=0.383$ , st.sl.=8, $p=0.275$	$r_s=0.571$ , st.sl.=8, $p=0.084$	$r_s=0.480$ , st.sl.=8, $p=0.160$	$r_s=-0.003$ , st.sl.=8, $p=0.993$	$r_s=-0.149$ , st.sl.=8, $p=0.680$	$r_s=0.241$ , st.sl.=8, $p=0.502$
	Svi ispitanici	PK	$r=-0.015$ , st.sl.=99, $p=0.882$	$r=0.034$ , st.sl.=99, $p=0.734$	$r=0.059$ , st.sl.=99, $p=0.555$	$r=0.320$ , st.sl.=99, $p=0.001^*$	$r=-0.029$ , st.sl.=99, $p=0.771$	$r=0.358$ , st.sl.=99, $p<0.001^*$
	AB	SK	$r_s=-0.068$ , st.sl.=99, $p=0.500$	$r_s=0.088$ , st.sl.=99, $p=0.380$	$r_s=0.189$ , st.sl.=99, $p=0.058$	$r_s=0.415$ , st.sl.=99, $p<0.001^*$	$r_s=0.239$ , st.sl.=99, $p=0.016^{*B}$	$r_s=0.472$ , st.sl.=99, $p<0.001^*$
	BSP	PK	$r=0.011$ , st.sl.=61, $p=0.629$	$r=-0.038$ , st.sl.=61, $p=0.768$	$r=-0.049$ , st.sl.=61, $p=0.708$	$r=0.311$ , st.sl.=61, $p=0.014^{*B}$	$r=-0.133$ , st.sl.=61, $p=0.301$	$r=0.314$ , st.sl.=61, $p=0.013^{*B}$
	KONT	SK	$r=0.357$ , st.sl.=28, $p=0.053$	$r=0.327$ , st.sl.=28, $p=0.078$	$r=0.605$ , st.sl.=28, $p=0.001^*$	$r=0.542$ , st.sl.=28, $p=0.002^*$	$r=0.515$ , st.sl.=28, $p=0.004^*$	$r=0.452$ , st.sl.=28, $p=0.012^{*B}$
<b>Tl</b>	BSP	PK	$r_s=0.200$ , st.sl.=7, $p=0.606$	$r_s=0.050$ , st.sl.=7, $p=0.898$	$r_s=-0.083$ , st.sl.=7, $p=0.831$	$r_s=0.050$ , st.sl.=7, $p=0.897$	$r_s=-0.234$ , st.sl.=7, $p=0.544$	$r_s=0.407$ , st.sl.=7, $p=0.277$
	KONT	SK	$r=-0.142$ , st.sl.=101, $p=0.153$	$r=-0.082$ , st.sl.=101, $p=0.410$	$r=0.306$ , st.sl.=101, $p=0.002^*$	$r=0.307$ , st.sl.=101, $p=0.002^*$	$r=0.290$ , st.sl.=101, $p=0.003^*$	$r=0.324$ , st.sl.=101, $p=0.001^*$
	Svi ispitanici	SK	$r_s=-0.172$ , st.sl.=101, $p=0.082$	$r_s=0.085$ , st.sl.=101, $p=0.396$	$r_s=0.282$ , st.sl.=101, $p=0.004^*$	$r_s=0.348$ , st.sl.=101, $p<0.001^*$	$r_s=0.379$ , st.sl.=101, $p<0.001^*$	$r_s=0.391$ , st.sl.=101, $p<0.001^*$
	AB	PK	$r=-0.081$ , st.sl.=61, $p=0.526$	$r=0.069$ , st.sl.=61, $p=0.590$	$r=0.263$ , st.sl.=61, $p=0.037^{*B}$	$r=0.394$ , st.sl.=61, $p=0.001^*$	$r=0.249$ , st.sl.=61, $p=0.049^{*B}$	$r=0.308$ , st.sl.=61, $p=0.014^{*B}$
	BSP	PK	$r=-0.396$ , st.sl.=28, $p=0.030^{*B}$	$r=0.078$ , st.sl.=28, $p=0.681$	$r=0.534$ , st.sl.=28, $p=0.002^*$	$r=0.331$ , st.sl.=28, $p=0.074$	$r=0.616$ , st.sl.=28, $p<0.001^*$	$r=0.302$ , st.sl.=28, $p=0.105$
<b>Pb</b>	KONT	SK	$r_s=0.129$ , st.sl.=8, $p=0.722$	$r_s=0.406$ , st.sl.=8, $p=0.244$	$r_s=0.665$ , st.sl.=8, $p=0.036^{*B}$	$r_s=0.266$ , st.sl.=8, $p=0.457$	$r_s=0.161$ , st.sl.=8, $p=0.658$	$r_s=0.787$ , st.sl.=8, $p=0.007^*$
	Svi ispitanici	PK	$r=0.106$ , st.sl.=101, $p=0.287$	$r=0.056$ , st.sl.=101, $p=0.576$	$r=0.094$ , st.sl.=101, $p=0.343$	$r=0.221$ , st.sl.=101, $p=0.025^{*B}$	$r=0.021$ , st.sl.=101, $p=0.835$	$r=0.024$ , st.sl.=101, $p=0.807$
	AB	SK	$r_s=0.022$ , st.sl.=101, $p=0.823$	$r_s=0.070$ , st.sl.=101, $p=0.480$	$r_s=0.117$ , st.sl.=101, $p=0.239$	$r_s=0.283$ , st.sl.=101, $p=0.004^*$	$r_s=0.146$ , st.sl.=101, $p=0.142$	$r_s=0.044$ , st.sl.=101, $p=0.661$
	BSP	PK	$r_s=0.090$ , st.sl.=61, $p=0.482$	$r_s=0.058$ , st.sl.=61, $p=0.650$	$r_s=0.125$ , st.sl.=61, $p=0.328$	$r_s=0.328$ , st.sl.=61, $p=0.009^{*B}$	$r_s=0.166$ , st.sl.=61, $p=0.194$	$r_s=0.051$ , st.sl.=61, $p=0.691$
	KONT	SK	$r=0.061$ , st.sl.=28, $p=0.748$	$r=0.038$ , st.sl.=28, $p=0.843$	$r=0.076$ , st.sl.=28, $p=0.691$	$r=0.212$ , st.sl.=28, $p=0.261$	$r=0.058$ , st.sl.=28, $p=0.760$	$r=-0.039$ , st.sl.=28, $p=0.836$
<b>Hg</b>	BSP	PK	$r_s=0.418$ , st.sl.=8, $p=0.229$	$r_s=0.455$ , st.sl.=8, $p=0.187$	$r_s=0.345$ , st.sl.=8, $p=0.328$	$r_s=0.122$ , st.sl.=8, $p=0.737$	$r_s=-0.122$ , st.sl.=8, $p=0.738$	$r_s=0.150$ , st.sl.=8, $p=0.679$
	Svi ispitanici	PK	$r=-0.234$ , st.sl.=100, $p=0.018^{*B}$	$r=-0.007$ , st.sl.=100, $p=0.945$	$r=0.259$ , st.sl.=100, $p=0.008^*$	$r=0.069$ , st.sl.=100, $p=0.491$	$r=0.239$ , st.sl.=100, $p=0.015^{*B}$	$r=0.438$ , st.sl.=100, $p<0.001^*$
	AB	SK	$r_s=-0.182$ , st.sl.=100, $p=0.067$	$r_s=-0.044$ , st.sl.=100, $p=0.660$	$r_s=0.269$ , st.sl.=100, $p=0.006^*$	$r_s=0.042$ , st.sl.=100, $p=0.675$	$r_s=0.334$ , st.sl.=100, $p=0.001^*$	$r_s=0.377$ , st.sl.=100, $p<0.001^*$
	BSP	PK	$r=-0.140$ , st.sl.=60, $p=0.277$	$r=-0.054$ , st.sl.=60, $p=0.677$	$r=0.176$ , st.sl.=60, $p=0.172$	$r=0.054$ , st.sl.=60, $p=0.678$	$r=0.186$ , st.sl.=60, $p=0.147$	$r=0.382$ , st.sl.=60, $p=0.002^*$
	KONT	SK	$r=-0.042$ , st.sl.=28, $p=0.826$	$r=0.033$ , st.sl.=28, $p=0.863$	$r=0.575$ , st.sl.=28, $p=0.001^*$	$r=-0.039$ , st.sl.=28, $p=0.817$	$r=0.488$ , st.sl.=28, $p=0.006^*$	$r=0.669$ , st.sl.=28, $p<0.001^*$
	BSP	PK	$r_s=-0.806$ , st.sl.=8, $p=0.005^*$	$r_s=0.261$ , st.sl.=8, $p=0.467$	$r_s=0.236$ , st.sl.=8, $p=0.511$	$r_s=-0.122$ , st.sl.=8, $p=0.737$	$r_s=0.723$ , st.sl.=8, $p=0.018^{*B}$	$r_s=0.125$ , st.sl.=8, $p=0.731$

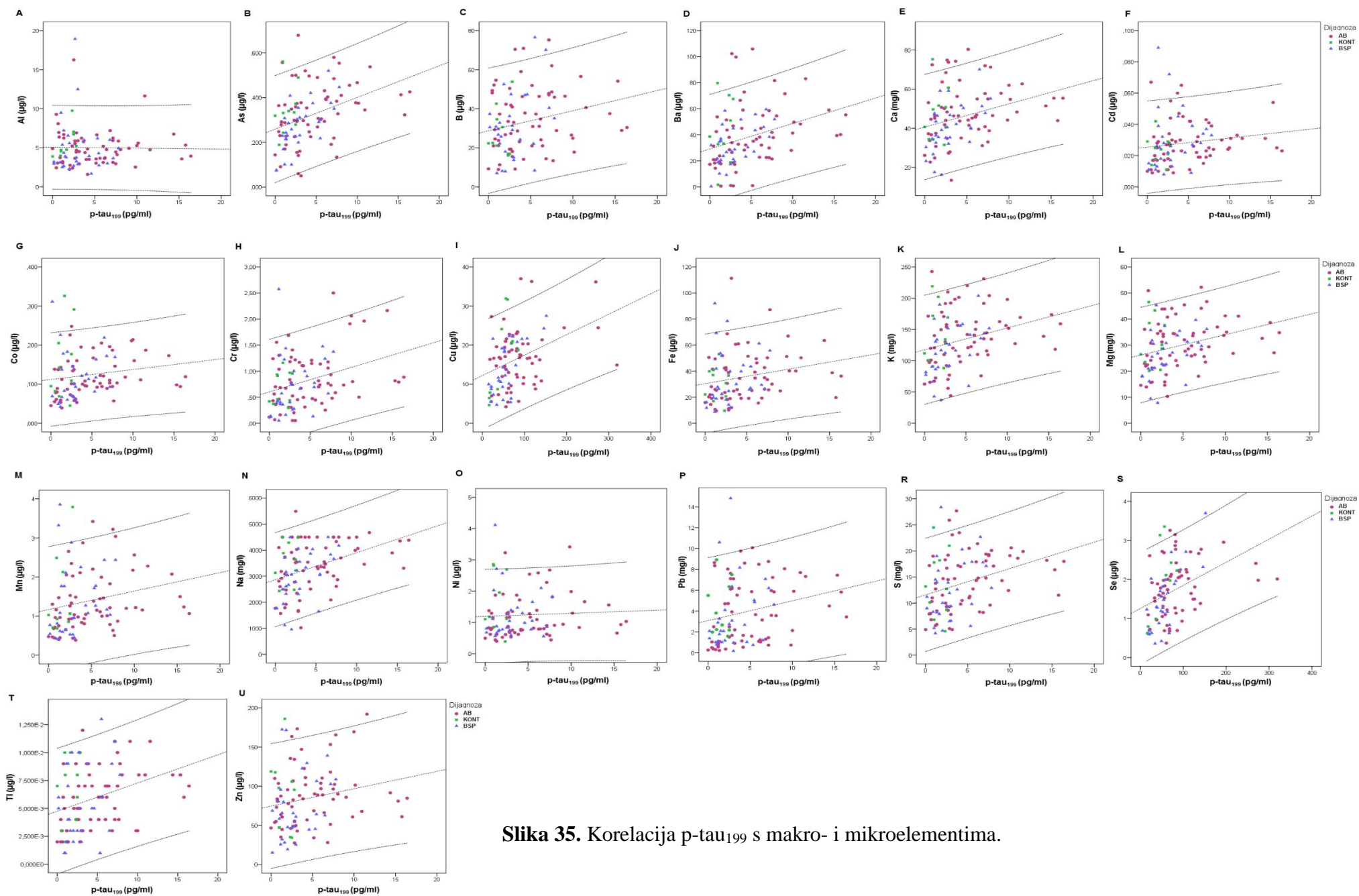
AB, Alzheimerova bolest;  $\beta_{1-42}$ , amiloid  $\beta_{1-42}$ ; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; PK, Pearsonova korelacija;  $p\text{-tau}_{181}$ , tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181;  $p\text{-tau}_{199}$ , tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199;  $p\text{-tau}_{231}$ , tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231; SK, Spearmanova korelacija. \* $p < 0.05$ . <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je  $p < 0.008$ ).

Ružičasto su označene korelacije koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije.



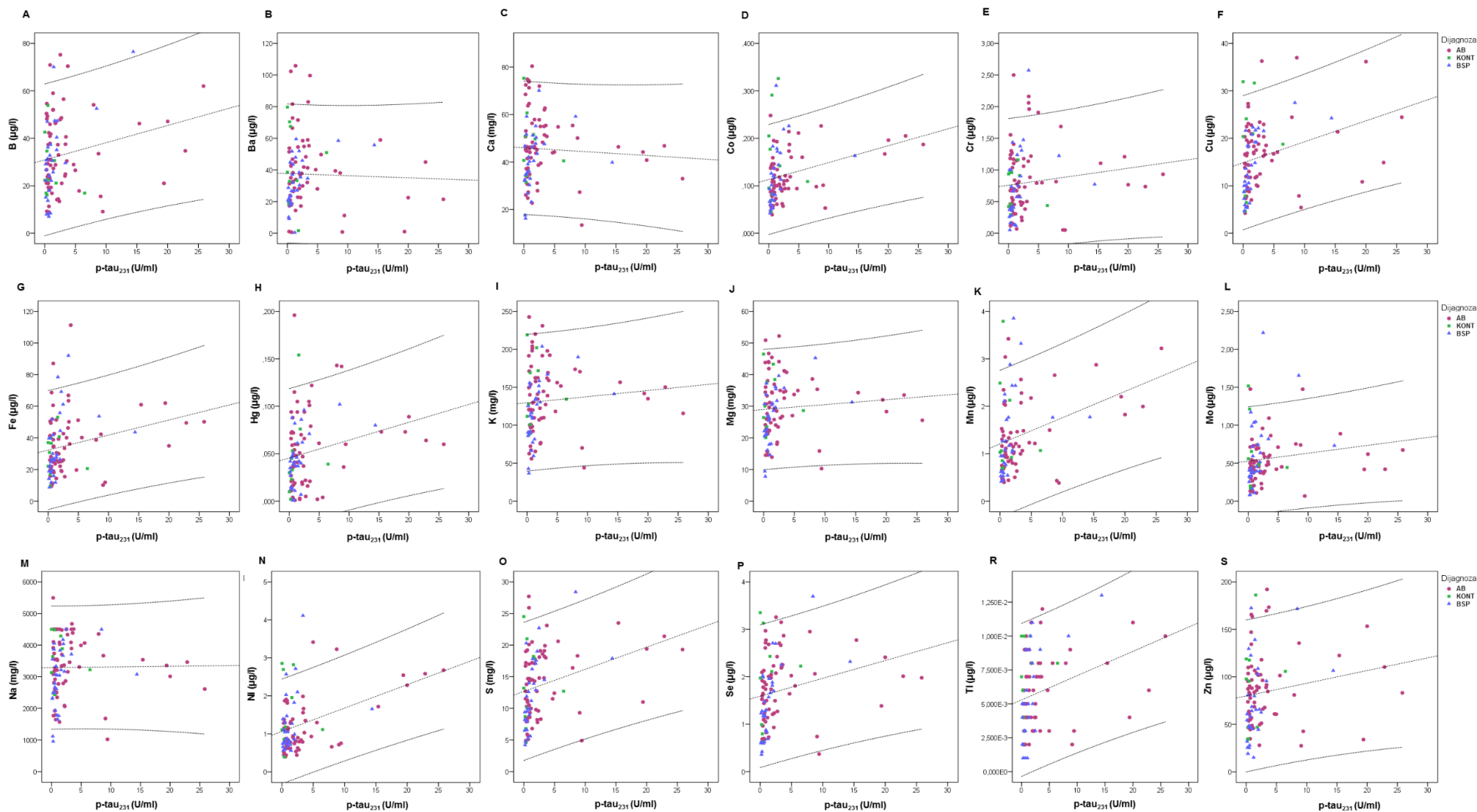


Slika 34. Korelacija p-tau<sub>181</sub> s makro- i mikroelementima.

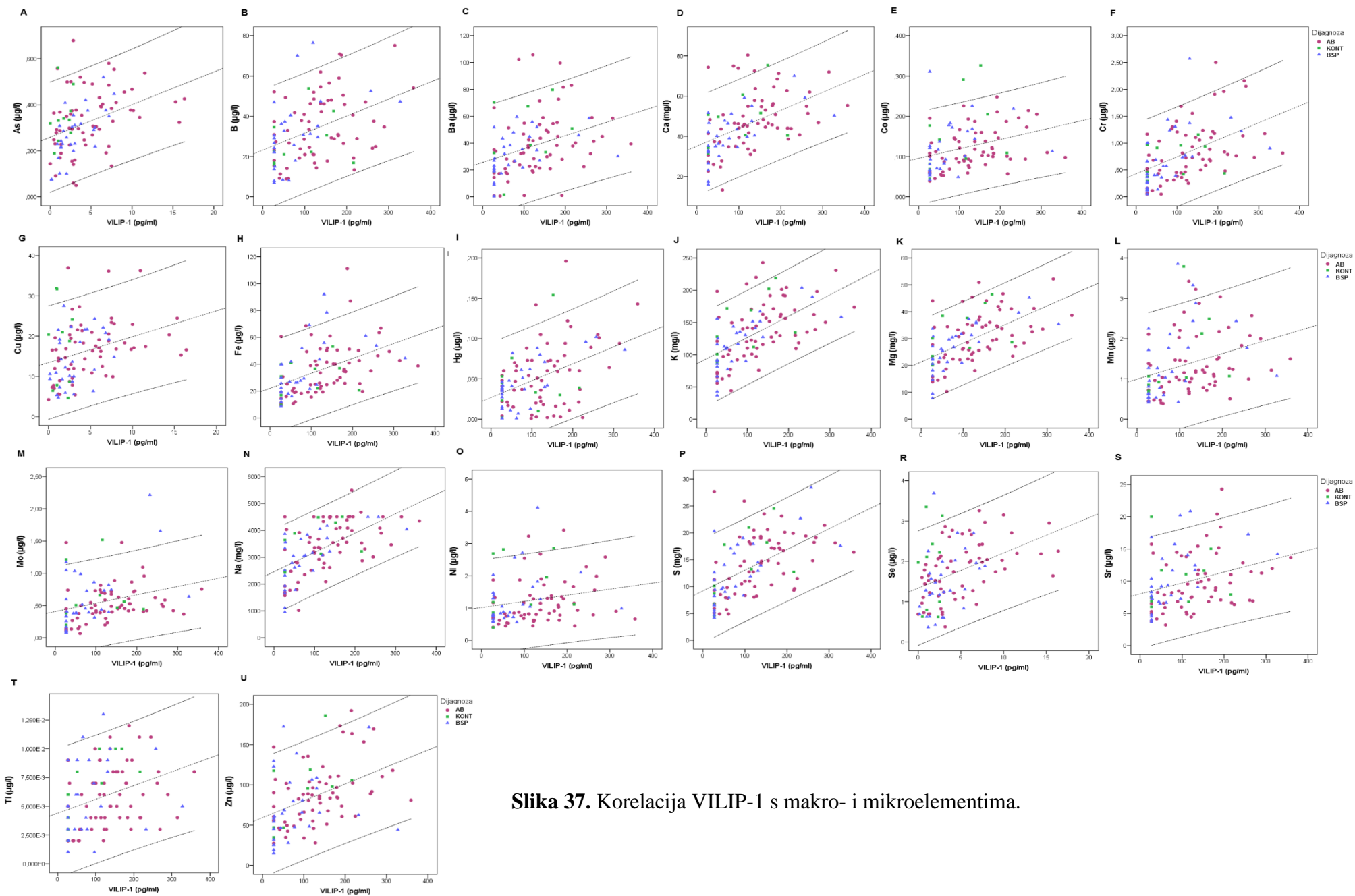


Slika 35. Korelacija p-tau<sub>199</sub> s makro- i mikroelementima.

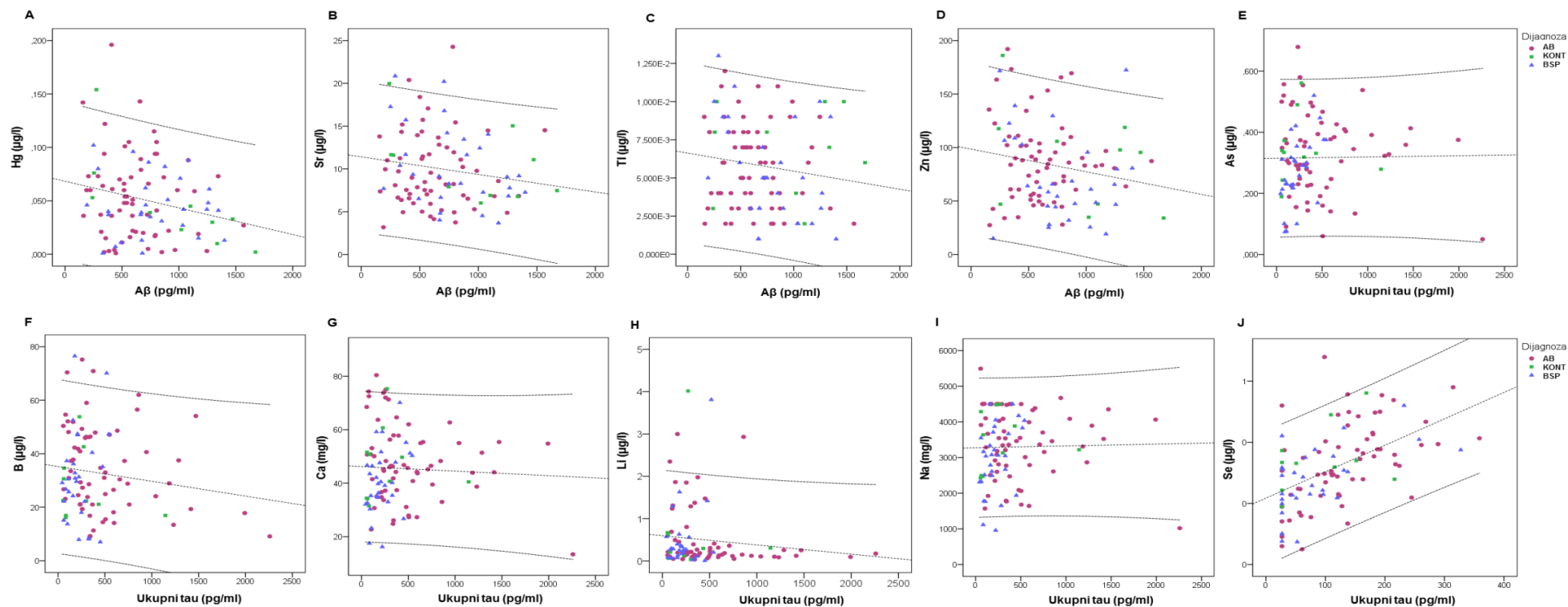




Slika 36. Korelacija p-tau<sub>231</sub> s makro- i mikroelementima.



Slika 37. Korelacija VILIP-1 s makro- i mikroelementima.



**Slika 38.** Korelacija  $A\beta_{1-42}$  i ukupnog tau s makro- i mikroelementima.

Vrijednosti Mo izmjerene u likvoru su korelirale s vrijednostima MMSE u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) ( $r = 0.281$ , st.sl. = 98,  $p = 0.005$ ), ( $r_s = 0.295$ , st.sl. = 61,  $p = 0.019$ )\*, kod oboljelih od AB ( $r = 0.278$ , st.sl. = 61,  $p = 0.027$ ), ( $r_s = 0.241$ , st.sl. = 98,  $p = 0.016$ )\* i kod ispitanika s BSP ( $r = 0.385$ , st.sl. = 28,  $p = 0.036$ ), ( $r_s = 0.363$ , st.sl. = 28,  $p = 0.048$ )\*. Vrijednosti Ni izmjerene u likvoru su korelirale s vrijednostima MMSE u skupini svih ispitanika (AB + BSP + KONT) ( $r = 0.281$ , st.sl. = 98,  $p = 0.005$ ), ( $r_s = 0.295$ , st.sl. = 61,  $p = 0.019$ )\* i kod oboljelih od AB ( $r = 0.272$ , st.sl. = 61,  $p = 0.031$ ), ( $r_s = 0.252$ , st.sl. = 98,  $p = 0.046$ )\*. Nije pronađena korelacija ostalih makro- i mikroelemenata s ostvarenim bodovima na MMSE ljestvici.

### 4.3.3. Korelacije makro- i mikroelemenata s kognitivnim evociranim potencijalima i reakcijskim vremenom

Zbog malog broja ispitanika kojima su u likvoru izmjerene razine makro- i mikroelemenata i kojima su određeni kognitivni evocirani potencijali (RV – 36 ispitanika, N200RV – 28 ispitanika, P300RV – 32 ispitanika, N200 brojanje – 27 ispitanika, P300 brojanje – 27 ispitanika), korelacije makro- i mikroelemenata s kognitivnim evociranim potencijalima su određene u skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP i s dvije i s tri frekvencije (**Tablica 31, Slika 39**). U **tablici 31** su prikazane samo statistički značajne korelacije.

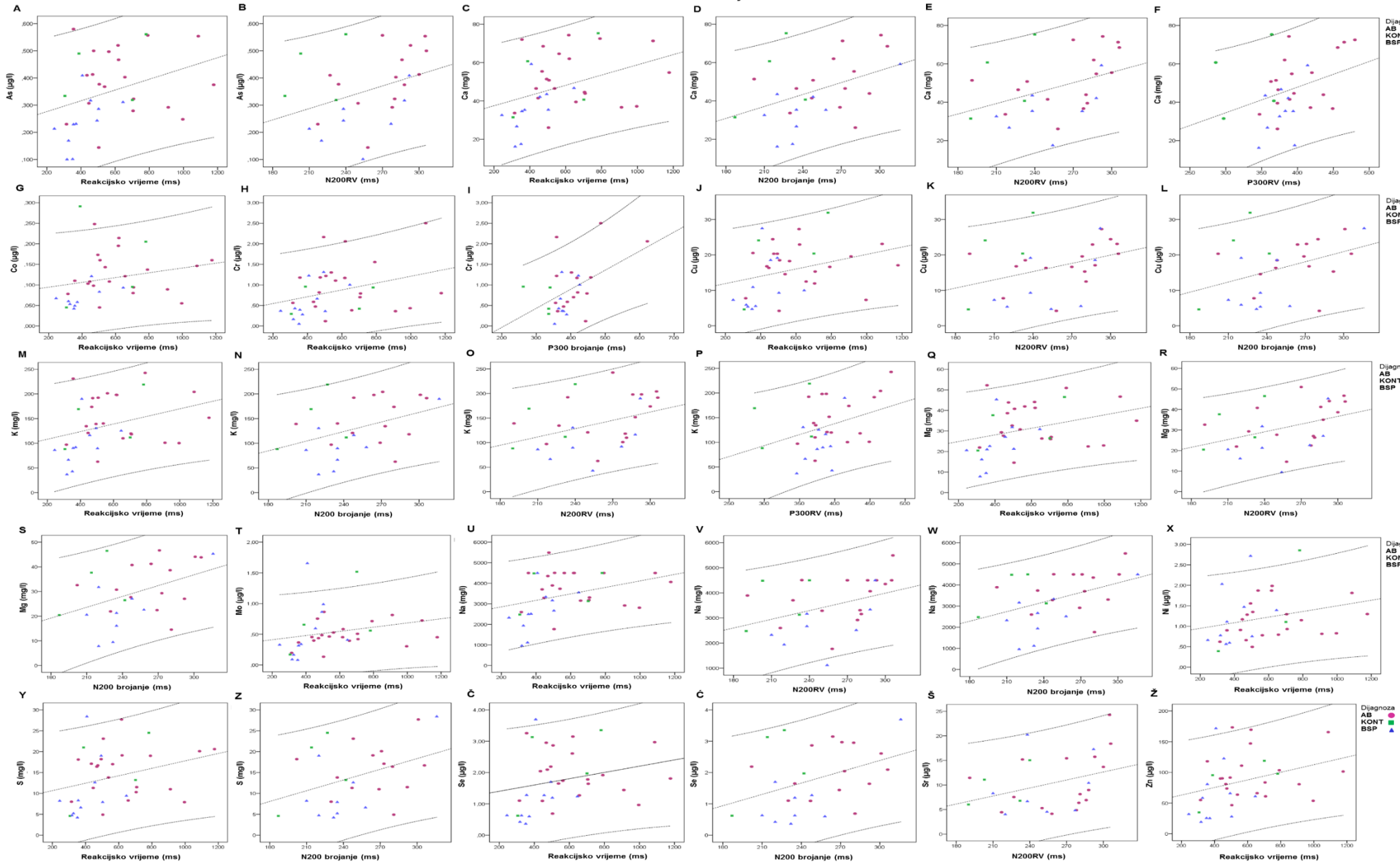
**Tablica 31.** Korelacije makro- i mikroelemenata s kognitivnim evociranim potencijalima i reakcijskim vremenom.

			RV	N200 RV	P300 RV	N200 brojanje	P300 brojanje	
			<b>2 + 3 frekvencije</b>					
<b>Na</b>	Svi ispitanici	PK	r=0.334, st.sl.=34, p=0.036* <sup>B</sup>	r=0.389, st.sl.=26, p=0.041* <sup>B</sup>		r=0.434, st.sl.=25, p=0.024* <sup>B</sup>		
		SK	r <sub>s</sub> =0.431, st.sl.=34, p=0.009*	r <sub>s</sub> =0.460, st.sl.=26, p=0.014* <sup>B</sup>		r <sub>s</sub> =0.411, st.sl.=25, p=0.033* <sup>B</sup>		
	AB	SK	r <sub>s</sub> =-0.028, st.sl.=19, p=0.903	r <sub>s</sub> =0.489, st.sl.=14, p=0.055		r <sub>s</sub> =0.245, st.sl.=12, p=0.398		
	BSP	SK	r <sub>s</sub> =0.809, st.sl.=9, p=0.003*	r <sub>s</sub> =0.611, st.sl.=6, p=0.108		r <sub>s</sub> =0.563, st.sl.=7, p=0.114	r <sub>s</sub> =0.700, st.sl.=7, p=0.036* <sup>B</sup>	
	KONT	SK	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200		r <sub>s</sub> =0.400, st.sl.=2, p=0.600		
<b>Mg</b>	Svi ispitanici	PK	r=0.318, st.sl.=34, p=0.058	r=0.400, st.sl.=26, p=0.035* <sup>B</sup>	r=0.359, st.sl.=30, p=0.043* <sup>B</sup>	r=0.424, st.sl.=25, p=0.027* <sup>B</sup>		
		SK	r <sub>s</sub> =0.413, st.sl.=34, p=0.012* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.469, st.sl.=26, p=0.012* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.313, st.sl.=30, p=0.081	r <sub>s</sub> =0.386, st.sl.=25, p=0.047* <sup>B</sup>		
	AB	SK	r <sub>s</sub> =0.000, st.sl.=19, p=1.000	r <sub>s</sub> =0.509, st.sl.=14, p=0.044* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.376, st.sl.=16, p=0.124	r <sub>s</sub> =0.240, st.sl.=12, p=0.409		
	BSP	SK	r <sub>s</sub> =0.764, st.sl.=9, p=0.006*	r <sub>s</sub> =0.587, st.sl.=6, p=0.126	r <sub>s</sub> =0.321, st.sl.=8, p=0.365	r <sub>s</sub> =0.529, st.sl.=7, p=0.143		
	KONT	SK	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.000, st.sl.=2, p=1.000	r <sub>s</sub> =0.400, st.sl.=2, p=0.600		
<b>S</b>	Svi ispitanici	PK	r=0.296, st.sl.=34, p=0.079			r=0.387, st.sl.=25, p=0.046* <sup>B</sup>		
		SK	r <sub>s</sub> =0.400, st.sl.=34, p=0.016* <sup>B</sup>			r <sub>s</sub> =0.299, st.sl.=25, p=0.130		
	AB	SK	r <sub>s</sub> =0.126, st.sl.=19, p=0.586			r <sub>s</sub> =0.108, st.sl.=12, p=0.714		
	BSP	SK	r <sub>s</sub> =0.573, st.sl.=9, p=0.066			r <sub>s</sub> =0.269, st.sl.=7, p=0.484		
	KONT	SK	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200			r <sub>s</sub> =0.400, st.sl.=2, p=0.600		
<b>K</b>	Svi ispitanici	PK	r=0.322, st.sl.=34, p=0.056	r=0.378, st.sl.=26, p=0.047* <sup>B</sup>	r=0.355, st.sl.=30, p=0.046* <sup>B</sup>	r=0.407, st.sl.=25, p=0.035* <sup>B</sup>		
		SK	r <sub>s</sub> =0.444, st.sl.=34, p=0.007*	r <sub>s</sub> =0.428, st.sl.=26, p=0.023* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.289, st.sl.=30, p=0.109	r <sub>s</sub> =0.370, st.sl.=25, p=0.057		
	AB	SK	r <sub>s</sub> =0.040, st.sl.=19, p=0.862	r <sub>s</sub> =0.459, st.sl.=14, p=0.074	r <sub>s</sub> =0.342, st.sl.=16, p=0.165	r <sub>s</sub> =0.174, st.sl.=12, p=0.553		
	BSP	SK	r <sub>s</sub> =0.718, st.sl.=9, p=0.013* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.587, st.sl.=6, p=0.126	r <sub>s</sub> =0.321, st.sl.=8, p=0.365	r <sub>s</sub> =0.529, st.sl.=7, p=0.143		
	KONT	SK	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.000, st.sl.=2, p=1.000	r <sub>s</sub> =0.400, st.sl.=2, p=0.600		
<b>Ca</b>	Svi ispitanici	PK	r=0.375, st.sl.=34, p=0.024* <sup>B</sup>	r=0.402, st.sl.=26, p=0.034* <sup>B</sup>	r=0.352, st.sl.=30, p=0.048* <sup>B</sup>	r=0.417, st.sl.=25, p=0.030* <sup>B</sup>		
		SK	r <sub>s</sub> =0.470, st.sl.=34, p=0.004*	r <sub>s</sub> =0.459, st.sl.=26, p=0.014* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =0.319, st.sl.=30, p=0.075	r <sub>s</sub> =0.376, st.sl.=25, p=0.053		
	AB	SK	r <sub>s</sub> =0.049, st.sl.=19, p=0.834	r <sub>s</sub> =0.576, st.sl.=14, p=0.019* <sup>B</sup>	r <sub>s</sub> =-0.051, st.sl.=61, p=0.690	r <sub>s</sub> =-0.006, st.sl.=61, p=0.965		
	BSP	SK	r <sub>s</sub> =0.818, st.sl.=9, p=0.002*	r <sub>s</sub> =0.527, st.sl.=6, p=0.180	r <sub>s</sub> =0.333, st.sl.=8, p=0.347	r <sub>s</sub> =0.487, st.sl.=7, p=0.183		
	KONT	SK	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.800, st.sl.=2, p=0.200	r <sub>s</sub> =0.000, st.sl.=2, p=1.000	r <sub>s</sub> =0.000, st.sl.=2, p=1.000		
<b>Cr</b>	Svi ispitanici	PK	r=0.322, st.sl.=34, p=0.055				r=0.483, st.sl.=25, p=0.009*	
		SK	r <sub>s</sub> =0.359, st.sl.=34, p=0.032* <sup>B</sup>				r <sub>s</sub> =0.353, st.sl.=25, p=0.065	
	AB	SK	r <sub>s</sub> =0.039, st.sl.=19, p=0.867				r <sub>s</sub> =-0.006, st.sl.=61, p=0.965	

	BSP	SK	$r_s=0.527$ , st.sl.=9, $p=0.096$				$r_s=0.000$ , st.sl.=26, $p=0.999$
	KONT	SK	$r_s=0.400$ , st.sl.=2, $p=0.600$				
<b>Co</b>	Svi ispitanici	PK	$r=0.219$ , st.sl.=32, $p=0.212$				
		SK	$r_s=0.404$ , st.sl.=32, $p=0.018^{*B}$				
	AB	SK	$r_s=0.054$ , st.sl.=19, $p=0.816$				
	BSP	SK	$r_s=0.483$ , st.sl.=7, $p=0.187$				
	KONT	SK	$r_s=0.400$ , st.sl.=2, $p=0.600$				
<b>Ni</b>	Svi ispitanici	PK	$r=0.261$ , st.sl.=32, $p=0.137$				
		SK	$r_s=0.392$ , st.sl.=32, $p=0.022^{*B}$				
	AB	SK	$r_s=0.265$ , st.sl.=19, $p=0.246$				
	BSP	SK	$r_s=0.309$ , st.sl.=8, $p=0.385$				
	KONT	SK	$r_s=1.000$ , st.sl.=1, $p<0.001^*$				
<b>Cu</b>	Svi ispitanici	PK	$r=0.313$ , st.sl.=34, $p=0.063$	$r=0.351$ , st.sl.=26, $p=0.067$		$r=0.383$ , st.sl.=25, $p=0.049^{*B}$	
		SK	$r_s=0.350$ , st.sl.=34, $p=0.036$	$r_s=0.390$ , st.sl.=26, $p=0.040^{*B}$		$r_s=0.306$ , st.sl.=25, $p=0.120$	
	AB	SK	$r_s=0.053$ , st.sl.=19, $p=0.819$	$r_s=0.526$ , st.sl.=14, $p=0.036^{*B}$		$r_s=0.262$ , st.sl.=12, $p=0.366$	
	BSP	SK	$r_s=0.555$ , st.sl.=9, $p=0.077$	$r_s=0.407$ , st.sl.=6, $p=0.317$		$r_s=0.202$ , st.sl.=7, $p=0.603$	
	KONT	SK	$r_s=0.800$ , st.sl.=2, $p=0.200$	$r_s=0.800$ , st.sl.=2, $p=0.200$		$r_s=0.400$ , st.sl.=2, $p=0.600$	
<b>Zn</b>	Svi ispitanici	PK	$r=0.325$ , st.sl.=34, $p=0.053$			$r=0.433$ , st.sl.=25, $p=0.024^{*B}$	
		SK	$r_s=0.387$ , st.sl.=34, $p=0.020^{*B}$			$r_s=0.361$ , st.sl.=25, $p=0.065$	
	AB	SK	$r_s=0.082$ , st.sl.=19, $p=0.724$			$r_s=0.165$ , st.sl.=12, $p=0.573$	
	BSP	SK	$r_s=0.400$ , st.sl.=9, $p=0.223$			$r_s=0.336$ , st.sl.=7, $p=0.376$	
	KONT	SK	$r_s=0.800$ , st.sl.=2, $p=0.200$			$r_s=1.000$ , st.sl.=2, $p<0.001^*$	
<b>As</b>	Svi ispitanici	PK	$r=0.341$ , st.sl.=33, $p=0.045^{*B}$	$r=0.362$ , st.sl.=25, $p=0.064$			
		SK	$r_s=0.397$ , st.sl.=33, $p=0.018^{*B}$	$r_s=0.413$ , st.sl.=25, $p=0.032^{*B}$			
	AB	SK	$r_s=0.014$ , st.sl.=18, $p=0.955$	$r_s=0.582$ , st.sl.=13, $p=0.023^{*B}$			
	BSP	SK	$r_s=0.791$ , st.sl.=9, $p=0.004^*$	$r_s=0.611$ , st.sl.=6, $p=0.108$			
	KONT	SK	$r_s=0.400$ , st.sl.=2, $p=0.600$	$r_s=0.400$ , st.sl.=2, $p=0.600$			
<b>Se</b>	Svi ispitanici	PK	$r=0.242$ , st.sl.=34, $p=0.156$			$r=0.389$ , st.sl.=25, $p=0.045^{*B}$	
		SK	$r_s=0.365$ , st.sl.=34, $p=0.028^{*B}$			$r_s=0.339$ , st.sl.=25, $p=0.083$	
	AB	SK	$r_s=0.104$ , st.sl.=19, $p=0.654$			$r_s=0.090$ , st.sl.=12, $p=0.759$	
	BSP	SK	$r_s=0.545$ , st.sl.=9, $p=0.083$			$r_s=0.303$ , st.sl.=7, $p=0.429$	
	KONT	SK	$r_s=0.800$ , st.sl.=2, $p=0.200$			$r_s=0.400$ , st.sl.=2, $p=0.600$	
<b>Sr</b>	Svi ispitanici	PK		$r=0.345$ , st.sl.=26, $p=0.072$			
		SK		$r_s=0.383$ , st.sl.=26, $p=0.044^{*B}$			
	AB	SK		$r_s=0.538$ , st.sl.=14, $p=0.031^{*B}$			
	BSP	SK		$r_s=0.311$ , st.sl.=6, $p=0.453$			
	KONT	SK		$r_s=0.800$ , st.sl.=2, $p=0.200$			
<b>Mo</b>	Svi ispitanici	PK	$r=0.224$ , st.sl.=34, $p=0.188$				
		SK	$r_s=0.451$ , st.sl.=34, $p=0.006^*$				
	AB	SK	$r_s=0.282$ , st.sl.=19, $p=0.216$				
	BSP	SK	$r_s=0.736$ , st.sl.=9, $p=0.010^*$				
	KONT	SK	$r_s=0.400$ , st.sl.=2, $p=0.600$				

AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; MMSE, *Mini Mental State Examination* (mala ljestvica mentalnog stanja); PK, Pearsonova korelacija; SK, Spearmanova korelacija; RV, reakcijsko vrijeme. \* $p < 0.05$ . <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je  $p < 0.010$ ). Ružičasto su označene korelacije koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije.

2 + 3 frekvencije



Slika 39. Korelacija kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena s makro- i mikroelementima.

#### 4.3.4. Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između grupa pacijenata s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega

Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između grupa pacijenata s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega je prikazana u **tablici 32**, **tablici 33** i **slikama 40, 41** i **42**. Izlučne vrijednosti likvorskih bioloških biljega su prikazane u **tablici 15**. Za biomarkere  $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau i p-tau<sub>181</sub> su uz dobivene izlučne vrijednosti navedene u **tablici 15**, korištene i izlučne vrijednosti iz literature ( $A\beta_{1-42}$  (500 pg/ml), ukupni tau (450 pg/ml) i p-tau<sub>181</sub> (60 pg/ml) (Humpel, 2011)).

**Tablica 32.** Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega (p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1).

		<b>p-tau<sub>181</sub></b> <b>(IV = 60 pg/ml)</b>	<b>p-tau<sub>181</sub></b> <b>(IV = 46.83 pg/ml)</b>	<b>p-tau<sub>199</sub></b> <b>(IV = 3.063 pg/ml)</b>	<b>p-tau<sub>231</sub></b> <b>(IV = 0.734 U/ml)</b>	<b>VILIP-1</b> <b>(IV = 116.26 pg/ml)</b>
<b>B</b>	AB					U=278.5, Z=-2.882, p=0.004*
	BSP	U=43, Z=-2.253, p=0.024*			U=43, Z=-2.511, p=0.012*	U=17, Z=-2.743, p=0.006*
<b>Na</b>	AB			U=310.5, Z=-2.385, p=0.017*		U=199, Z=-3.994, p<0.001*
	BSP	U=57, Z=-2.044, p=0.041*	U=58, Z=-2.001, p=0.045*	U=45, Z=-2.420, p=0.016*		U=17, Z=-3.743, p=0.002*
<b>Mg</b>	AB			U=309, Z=-2.401, p=0.016*		U=309, Z=-3.847, p<0.001*
	BSP	U=59, Z=-1.958, p=0.050*			U=60, Z=-2.114, p=0.035*	U=13, Z=-3.310, p=0.001*
<b>S</b>	AB			U=241, Z=-3.351, p=0.001*	U=230, Z=-2.663, p=0.008*	U=225, Z=-3.625, p<0.001*
	BSP			U=48, Z=-2.288, p=0.022*	U=31, Z=-3.327, p=0.001*	U=22, Z=-2.868, p=0.004*
<b>K</b>	AB			U=320, Z=-2.248, p=0.025*		U=220, Z=-3.694, p<0.001*
	BSP	U=54, Z=-2.173, p=0.030*		U=51, Z=-2.156, p=0.031*	U=58, Z=-2.197, p=0.028*	U=10, Z=-3.457, p=0.001*
<b>Ca</b>	AB			U=337.5, Z=-2.004, p=0.045*		U=239, Z=-3.431, p=0.001*
	BSP			U=43, Z=-2.508, p=0.012*	U=60.5, Z=-2.093, p=0.036*	U=25.5, Z=-2.697, p=0.007*
<b>Cr</b>	AB					U=260, Z=-3.017, p=0.003*
	BSP	U=53, Z=-2.216, p=0.027*				U=19, Z=-3.016, p=0.003*
<b>Fe</b>	AB			U=313, Z=-2.346, p=0.019*		U=206.5, Z=-3.882, p<0.001*
	BSP	U=59, Z=-2.346, p=0.019*	U=47, Z=-2.475, p=0.013*		U=43.5, Z=-2.805, p=0.005*	U=7, Z=-3.605, p<0.001*
<b>Co</b>	AB			U=301.5, Z=-2.376, p=0.018*		U=295.5, Z=-2.513, p=0.012*
	BSP				U=26.5, Z=-3.271, p=0.001*	U=22, Z=-2.464, p=0.014*
<b>Mn</b>	AB			U=305, Z=-2.457, p=0.014*	U=266, Z=-2.115, p=0.034*	
	BSP	U=53, Z=-2.216, p=0.027*		U=51, Z=-2.156, p=0.031*	U=27, Z=-3.495, p<0.001*	U=20, Z=-2.967, p=0.003*
<b>Ni</b>	AB					
	BSP					U=23, Z=-2.477, p=0.013*
<b>Cu</b>	AB			U=255, Z=-3.155, p=0.002*	U=222, Z=-2.784, p=0.005*	U=301, Z=-2.569, p=0.010*
	BSP	U=52, Z=-2.259, p=0.024*	U=55, Z=-2.130, p=0.033*	U=46, Z=-2.376, p=0.018*	U=30, Z=-3.369, p=0.001*	U=7, Z=-3.604, p<0.001*
<b>Zn</b>	AB			U=315, Z=-2.318, p=0.020*	U=265, Z=-2.130, p=0.033*	U=302, Z=-2.556, p=0.011*

	BSP				U=46, Z=-2.699, p=0.007*	
<b>As</b>	AB			U=290.5, Z=-2.532, p=0.011*		U=290.5, Z=-3.734, p<0.001*
	BSP	U=58, Z=-2.001, p=0.045*	U=59, Z=-1.958, p=0.050*	U=28, Z=-3.168, p=0.002*		U=30, Z=-2.476, p=0.013*
<b>Se</b>	AB	U=303, Z=-2.012, p=0.044*		U=207, Z=-3.825, p<0.001*	U=207, Z=-3.012, p=0.003*	U=182, Z=-4.222, p<0.001*
	BSP	U=47, Z=-2.475, p=0.013*	U=53, Z=-2.216, p=0.027*	U=42, Z=-2.552, p=0.011*	U=47, Z=-2.658, p=0.008*	U=8, Z=-3.555, p<0.001*
<b>Sr</b>	AB					U=278, Z=-2.761, p=0.006*
	BSP			U=46, Z=-2.074, p=0.038*	U=42, Z=-2.719, p=0.007*	U=24, Z=-2.423, p=0.015*
<b>Mo</b>	AB					U=294, Z=-2.667, p=0.008*
	BSP				U=53, Z=-2.406, p=0.016*	U=32, Z=-2.378, p=0.017*
<b>Cd</b>	AB					
	BSP				U=59.5, Z=-2.137, p=0.033*	
<b>Ba</b>	AB			U=223, Z=-3.437, p=0.001*	U=240, Z=-2.419, p=0.016*	U=263, Z=-2.974, p=0.003*
	BSP		U=51, Z=-2.302, p=0.021*	U=38, Z=-2.728, p=0.006*	U=24, Z=-3.620, p<0.001*	U=33, Z=-2.329, p=0.020*
<b>Tl</b>	AB			U=227, Z=-3.568, p<0.001*	U=215, Z=-2.909, p=0.004*	U=335, Z=-2.110, p=0.035*
	BSP				U=24.5, Z=-3.624, p<0.001*	U=32.5, Z=-2.370, p=0.018*
<b>Pb</b>	AB				U=257, Z=-2.252, p=0.024*	
	BSP					
<b>Hg</b>	AB					
	BSP	U=53.5, Z=-2.196, p=0.028*				U=23.5, Z=-2.796, p=0.005*

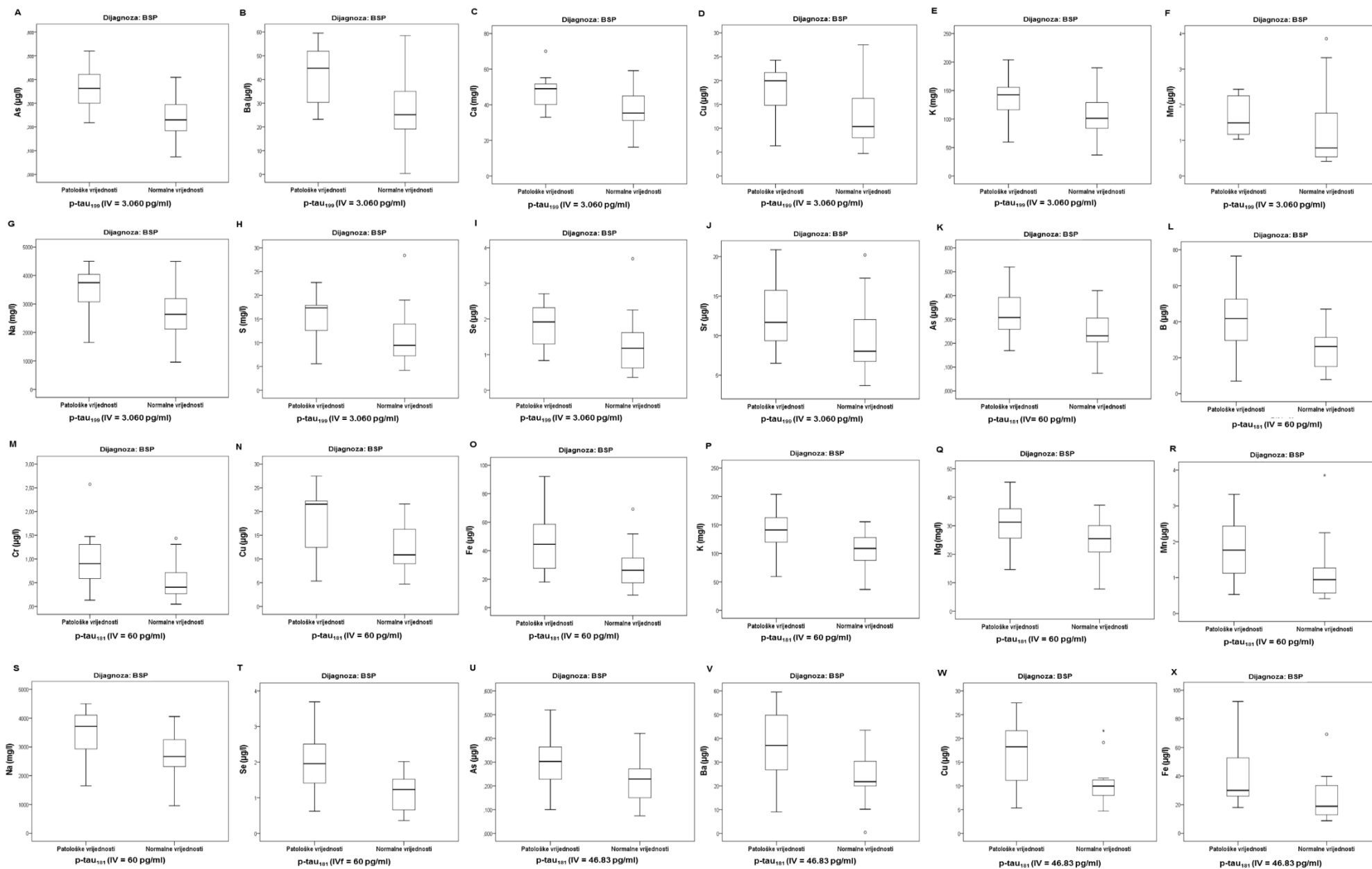
AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; IV, izlučna vrijednost; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231. \*p < 0.05.



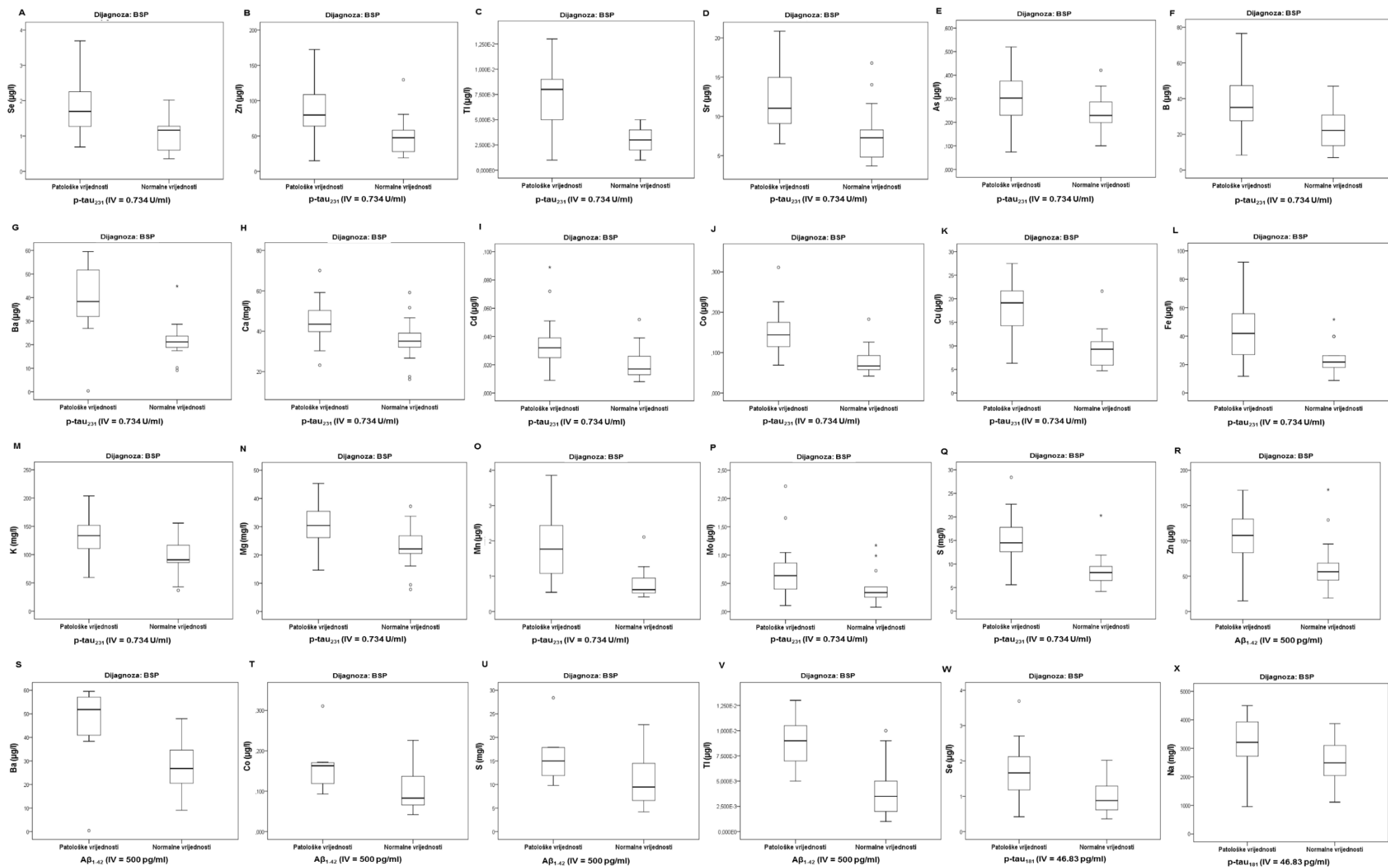
**Tablica 33.** Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih bioloških biljega ( $A\beta_{1-42}$  i ukupni tau).

		$A\beta_{1-42}$ (IV = 500 pg/ml)	$A\beta_{1-42}$ (IV = 669 pg/ml)	Ukupni tau (IV = 309.5 pg/ml)
<b>Li</b>	AB			U=318, Z=-2.276, p=0.023*
	BSP			
<b>B</b>	AB			U=291, Z=-2.653, p=0.008*
	BSP			
<b>Al</b>	AB	U=281, Z=-2.093, p=0.036*		
	BSP			
<b>S</b>	AB			
	BSP	U=45, Z=-2.017, p=0.044*	U=55, Z=-1.980, p=0.048*	
<b>Co</b>	AB			
	BSP	U=35.5, Z=-2.016, p=0.044*	U=40.5, Z=-2.214, p=0.027*	
<b>Zn</b>	AB			
	BSP	U=40, Z=-2.251, p=0.024*		
<b>As</b>	AB			
	BSP		U=52, Z=-2.112, p=0.035*	U=40, Z=-2.251, p=0.024*
<b>Sr</b>	AB			
	BSP			U=311, Z=-2.174, p=0.030*
<b>Ba</b>	AB			
	BSP	U=28, Z=-2.814, p=0.005*	U=34, Z=-2.904, p=0.004*	
<b>Tl</b>	AB			
	BSP	U=19, Z=-3.258, p=0.001*	U=51, Z=-2.170, p=0.030*	

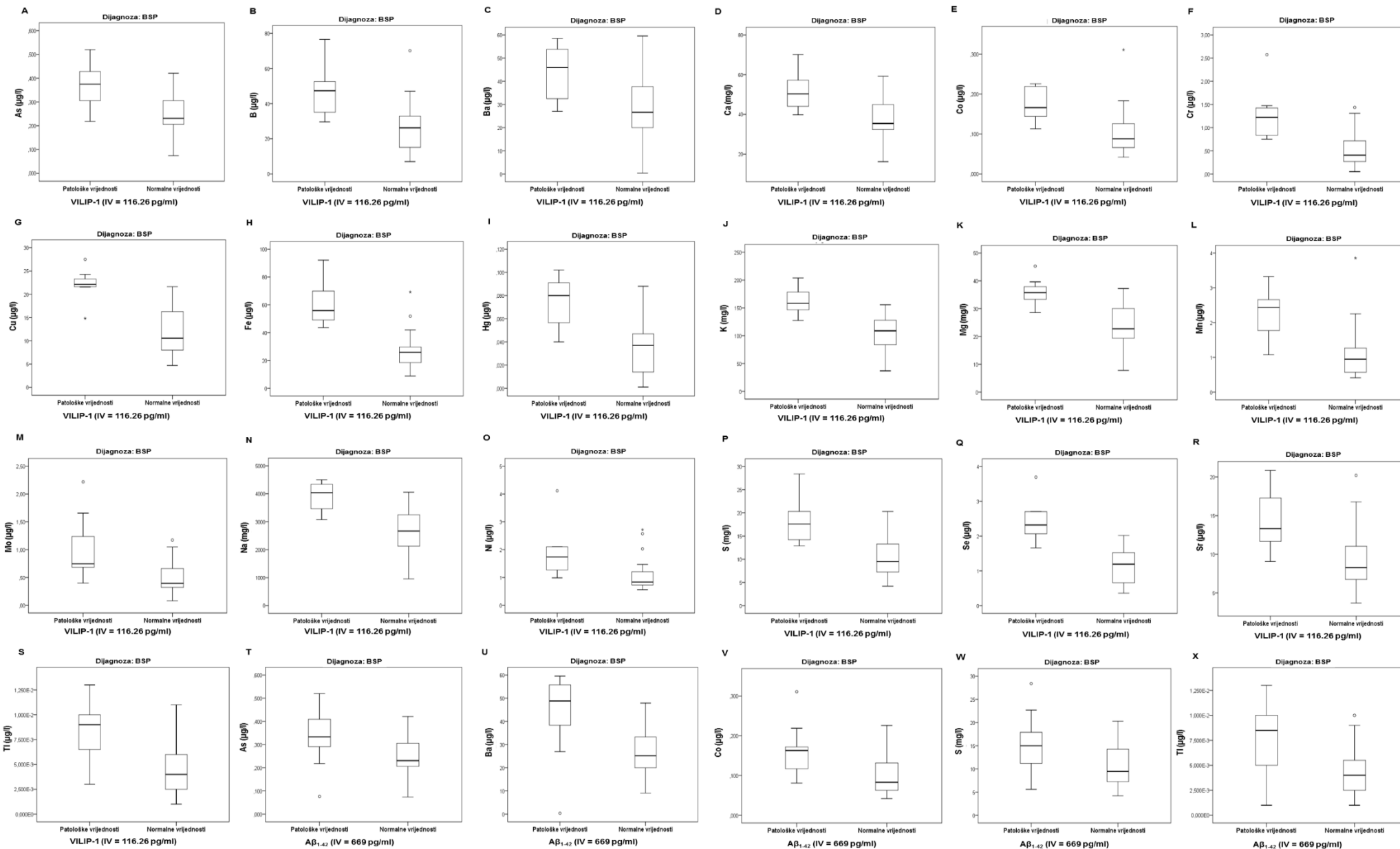
AB, Alzheimerova bolest;  $A\beta_{1-42}$ , amiloid  $\beta_{1-42}$ ; BSP, blagi spoznajni poremećaj; IV, izlučne vrijednosti. \*p < 0.05.



**Slika 40.** Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>199</sub>.



**Slika 41.** Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima p-tau<sub>231</sub>, p-tau<sub>181</sub> i Aβ<sub>1-42</sub>.



**Slika 42.** Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima VILIP-1 i Aβ<sub>1-42</sub>.

#### 4.3.5. Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena

Izlučne vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena su navedene u **tablici 19**. Vrijednosti su dobivene analizom rezultata oko 20 bolesnika s AB (ovisno o analiziranoj komponenti) i 4 kontrolna ispitanika (**Tablica 16**). Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena je provedena i kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije i zasebno za ispitanike koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije (**Tablica 34, Slika 43**). Zbog malog broja ispitanika, analize za ispitanike koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije nisu provedene. Rezultati usporedbe makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima, reakcijskim vremenom i kognitivnim evociranim potencijalima u AB su prikazani u **tablici 35**.

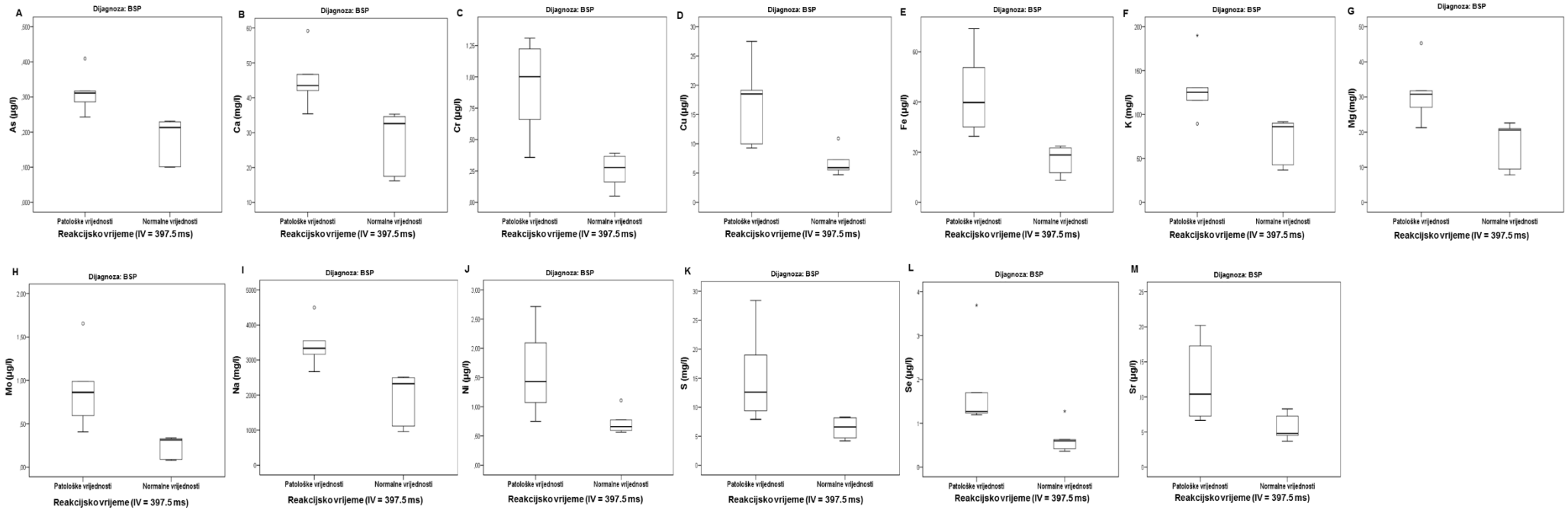
**Tablica 34.** Usporedba vrijednosti makro- i mikroelemenata između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena.

		Patološke vrijednosti vs normalne vrijednosti		
		RV (IV = 397.5)	N200 brojanje (IV = 245)	P300 brojanje (IV = 341.5)
		2 + 3 frekvencije		
Na	Svi ispitanici	U=44, Z=-3.048, p=0.002*	U=45.5, Z=-2.211, p=0.027*	
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.739, p=0.006*		
Mg	Svi ispitanici	U=51, Z=-2.790, p=0.005*	U=49, Z=-2.038, p=0.042*	
	BSP ispitanici	U=1.0, Z=-2.556, p=0.011*		
S	Svi ispitanici	U=49.5, Z=-2.844, p=0.004*		
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-2.373, p=0.018*		
K	Svi ispitanici	U=50, Z=-2.825, p=0.005*	U=50, Z=-1.990, p=0.047*	
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-2.373, p=0.018*		
Ca	Svi ispitanici	U=42, Z=-2.896, p=0.004*		
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.739, p=0.006*		
Cr	Svi ispitanici	U=53, Z=-2.720, p=0.007*		
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-2.191, p=0.028*		
Fe	Svi ispitanici	U=55, Z=-2.649, p=0.008*		
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.739, p=0.006*		
Ni	Svi ispitanici	U=48, Z=-2.518, p=0.012*		
	BSP ispitanici			
Cu	Svi ispitanici	U=54, Z=-2.684, p=0.007*		
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-2.373, p=0.018*		
Zn	Svi ispitanici	U=52, Z=-2.755, p=0.006*	U=46, Z=-2.184, p=0.029*	
	BSP ispitanici			
As	Svi ispitanici	U=60, Z=-2.373, p=0.018*		
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.739, p=0.006*		
Se	Svi ispitanici	U=57, Z=-2.578, p=0.010*		
	BSP ispitanici	U=3.0, Z=-2.191, p=0.028*		
Sr	Svi ispitanici	U=61, Z=-2.437, p=0.015*		
	BSP ispitanici	U=3.0, Z=-2.191, p=0.028*		
Mo	Svi ispitanici	U=28, Z=-3.602, p<0.001*		
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.739, p=0.006*		
Cd	Svi ispitanici	U=52, Z=-2.758, p=0.006*		

	BSP ispitanici			
<b>Ba</b>	Svi ispitanici			U=17, Z=-2.035, p=0.042*
	BSP ispitanici			
<b>Tl</b>	Svi ispitanici	U=55.5, Z=-2.647, p=0.008*		
	BSP ispitanici			
<b>3 frekvencije</b>				
Na	Svi ispitanici	U=34.5, Z=-2.726, p=0.006*	U=34, Z=-1.971, p=0.049*	
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.611, p=0.009*		
Mg	Svi ispitanici	U=40, Z=-2.466, p=0.014*		
	BSP ispitanici	U=1.0, Z=-2.402, p=0.016*		
S	Svi ispitanici	U=40.5, Z=-2.445, p=0.014*		
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-2.193, p=0.028*		
K	Svi ispitanici	U=40, Z=-2.466, p=0.014*		
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-2.193, p=0.028*		
Ca	Svi ispitanici	U=38, Z=-2.557, p=0.011*		
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.611, p=0.009*		
Cr	Svi ispitanici	U=36, Z=-2.647, p=0.008*		
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-2.193, p=0.028*		
Fe	Svi ispitanici	U=38, Z=-2.557, p=0.011*		
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.611, p=0.009*		
Ni	Svi ispitanici	U=23, Z=-2.899, p=0.004*		
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-1.960, p=0.050*		
Cu	Svi ispitanici	U=44, Z=-2.285, p=0.022*		
	BSP ispitanici	U=2.0, Z=-2.193, p=0.028*		
Zn	Svi ispitanici	U=41, Z=-2.421, p=0.015*		
	BSP ispitanici			
As	Svi ispitanici	U=47, Z=-2.027, p=0.043*		
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.611, p=0.009*		
Se	Svi ispitanici	U=45, Z=-2.240, p=0.025*		
	BSP ispitanici	U=3.0, Z=-1.984, p=0.047*		
Sr	Svi ispitanici	U=45, Z=-2.240, p=0.025*		
	BSP ispitanici	U=3.0, Z=-1.984, p=0.047*		
Mo	Svi ispitanici	U=24, Z=-3.191, p=0.001*		
	BSP ispitanici	U=0.0, Z=-2.611, p=0.009*		
Cd	Svi ispitanici	U=45, Z=-2.243, p=0.025*		
	BSP ispitanici			
Ba	Svi ispitanici			U=12, Z=-2.190, p=0.035*
	BSP ispitanici			
Tl	Svi ispitanici	U=50.5, Z=-2.006, p=0.045*		
	BSP ispitanici			

BSP, blagi spoznajni poremećaj; IV, izlučne vrijednosti; RV, reakcijsko vrijeme. \*p < 0.05. U tablici su prikazane samo statistički značajne usporedbe.

3 frekvencije



Slika 43. Vrijednosti makro- i mikroelemenata kod BSP ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima reakcijskog vremena.

**Tablica 35.** Rezultati usporedbe makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima, reakcijskim vremenom i kognitivnim evociranim potencijalima u AB.

	<b>Korelacije</b>	<b>Usporedba između skupina</b>
<b>Aβ<sub>1-42</sub></b>	Hg	As, Al, S, Co, Zn, Ba i Tl
<b>Ukupni tau</b>	As i Se	As, Sr, Li i B
<b>p-tau<sub>181</sub></b>	B, K, Sr, Ba, Ca, Cr, Co, Ni, Mg, S, Fe, Cu, Se, Tl, Hg i Mn	B, Na, Mg, K, Cr, Fe, Mn, Cu, As, Hg, Se, i Ba
<b>p-tau<sub>199</sub></b>	Mg, K, Cr, Fe, Co, Mn, Cd, Pb, S, Cu, Se, Tl, Ca, As, Ba, Na i Al	Na, S, K, Ca, Mn, Cu, As, Se, Ba, Mg, Fe, Co, Zn, Tl i Sr
<b>p-tau<sub>231</sub></b>	B, Sr, Ba, Mg, Ca, Cr, Fe, Ni, Zn, Mo, S, Cu, Se, Tl, Hg, Co i Mn	S, Mn, Cu, Zn, Se, Ba, Tl, Pb, B, Mg, K, Ca, Fe, Co, Sr, Mo i Cd
<b>VILIP-1</b>	B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Cu, As, Hg, Co, Ni, Zn, Mn, Ba, Sr, Mo, Tl i Se	B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl, Zn, Ni i Hg
<b>Reakcijsko vrijeme</b>	As, Mg, K, Mo, Ca, Na i Ni	Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Cu, As, Se, Sr, Mo, Ni, Zn, Cd i Tl
<b>Latencija P300</b>	Cr	Ba
<b>Latencija N200</b>	Zn	Na, Mg i Zn

Crveno su označeni makro- i mikroelementi kod kojih je nađena i korelacija s ispitivanim biološkim biljezima i razlika između grupa ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima bioloških biljega.



## 4.4. Kombinacija bioloških biljega

### 4.4.1. Faktorski skor likvorskih proteinskih bioloških biljega

Kombinacija različitih bioloških biljega je napravljena uporabom opcije redukcija dimenzije (*Dimension Reduction*) u SPSS programskom paketu. Tom funkcijom se npr. iz dvije ili više varijabli (manifestne varijable) izvede jedna zajednička varijabla (latentna varijabla) – tzv. faktorski skor (FS). U **tablici 36** su prikazane analize dijagnostičke osjetljivosti i specifičnosti FS izvedenih različitim kombinacijama likvorskih proteinskih bioloških biljega (ukupno 57 kombinacija; zbog velikog broja FS, rezultati nisu prikazani grafički). Ljubičasto su označeni FS s najvišim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti i najboljim razlikovanjem ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT) (**Tablica 36**).

**Tablica 36.** Dijagnostička osjetljivost i specifičnost FS dobivenih kombinacijom likvorskih proteinskih bioloških biljega.

Faktorski skor (FS) navedenih biomarkera	Osjetljivost	Specifičnost	Izlučna vrijednost	AUC, p	KW test	MW test	
Svi likvorski biomarkeri (A $\beta$ <sub>1-42</sub> , ukupni tau, p-tau <sub>181</sub> , p-tau <sub>199</sub> , p-tau <sub>231</sub> , VILIP-1)	64.4%	94.4%	-0.2758676	0.816, p<0.001	$\chi^2=36.912$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=483, Z=-4.372, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2431, Z=-4.879, p<0.001*	AB vs BSP
						U=391, Z=-1.685, p=0.092	BSP vs KONT
A $\beta$ <sub>1-42</sub> , ukupni tau	65.4%	80%	-0.0744464	0.747, p<0.001	$\chi^2=42.360$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=789, Z=-3.594, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2373, Z=-5.986, p<0.001*	AB vs BSP
						U=610, Z=-0.213, p=0.831	BSP vs KONT
A $\beta$ <sub>1-42</sub> , p-tau <sub>181</sub>	66.5%	84.2%	0.0504952	0.811, p<0.001	$\chi^2=40.572$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=557, Z=-4.418, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2557, Z=-5.249, p<0.001*	AB vs BSP
						U=443, Z=-1.543, p=0.123	BSP vs KONT
A $\beta$ <sub>1-42</sub> , p-tau <sub>199</sub>	50.3%	94.7%	-0.2728597	0.748, p<0.001	$\chi^2=18.256$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=732, Z=-3.524, p<0.001*	AB vs KONT
						U=3436, Z=-3.009, p=0.003*	AB vs BSP
						U=449, Z=-1.475, p=0.140	BSP vs KONT
A $\beta$ <sub>1-42</sub> , p-tau <sub>231</sub>	77.4%	61.1%	-0.3624690	0.712, p=0.003	$\chi^2=26.133$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=758, Z=-2.925, p=0.003*	AB vs KONT
						U=2575, Z=-4.643, p<0.001*	AB vs BSP
						U=512, Z=-0.332, p=0.740	BSP vs KONT
A $\beta$ <sub>1-42</sub> , VILIP-1	82.1%	60%	0.5015848	0.754, p<0.001	$\chi^2=35.079$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=742, Z=-3.691, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2440, Z=-5.224, p<0.001*	AB vs BSP
						U=570, Z=-0.333, p=0.739	BSP vs KONT
ukupni tau, p-tau <sub>181</sub>	72.3%	78.9%	-0.4188356	0.810, p<0.001	$\chi^2=41.760$ , st.sl.=2, p=0.002*	U=561, Z=-4.398, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2504, Z=-5.377, p<0.001*	AB vs BSP

<b>ukupni tau, p-tau<sub>199</sub></b>	65.4%	84.2%	-0.3581974	0.756, p<0.001	$\chi^2=21.833$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=434, Z=-1.645, p=0.100 U=710, Z=-3.632, p<0.001* U=3236, Z=-3.498, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>ukupni tau, p-tau<sub>231</sub></b>	80.8%	72.2%	-0.6221603	0.800, p<0.001	$\chi^2=45.755$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=441, Z=-1.566, p=0.117 U=504, Z=-4.261, p<0.001* U=2086, Z=-5.901, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>ukupni tau, VILIP-1</b>	67.5%	75%	-0.3768929	0.753, p<0.001	$\chi^2=36.836$ , st.sl.=2, p=0.002*	U=442, Z=-1.162, p=0.245 U=746, Z=-3.672, p<0.001* U=2363, Z=-5.416, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub></b>	67.1%	89.9%	-0.3679338	0.798, p<0.001	$\chi^2=20.057$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=572, Z=-0.311, p=0.756 U=571, Z=-4.036, p<0.001* U=3545, Z=-2.359, p=0.018* <sup>B</sup>	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	80.1%	77.8%	-0.4831492	0.836, p<0.001	$\chi^2=38.165$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=289, Z=-2.913, p=0.004* U=432, Z=-4.640, p<0.001* U=2553, Z=-4.700, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>p-tau<sub>181</sub>, VILIP-1</b>	66.9%	78.9%	-0.3736529	0.789, p<0.001	$\chi^2=33.247$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=327, Z=-2.526, p=0.012* U=604.5, Z=-4.105, p<0.001* U=2660, Z=-4.674, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	61.6%	77.8%	-0.3512363	0.718, p=0.003	$\chi^2=10.833$ , st.sl.=2, p=0.004*	U=441, Z=-1.480, p=0.139 U=724, Z=-2.352, p=0.003* U=3683, Z=-1.621, p=0.105	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>p-tau<sub>199</sub>, VILIP-1</b>	57%	84.2%	-0.2269483	0.721, p=0.002	$\chi^2=14.559$ , st.sl.=2, p=0.001*	U=343, Z=-2.263, p=0.024* <sup>B</sup> U=789, Z=-3.138, p=0.002* U=3347.5, Z=-2.678, p=0.007*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	67.1%	77.8%	-0.3691243	0.769, p<0.001	$\chi^2=31.910$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=439.5, Z=-1.409, p=0.159 U=608, Z=-3.714, p<0.001* U=2443, Z=-4.847, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub></b>	64.5%	89.5%	-0.1712614	0.822, p<0.001	$\chi^2=48.950$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=478, Z=-0.638, p=0.524 U=523, Z=-4.582, p<0.001* U=2256, Z=-5.977, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>199</sub></b>	59.5%	84.2%	-0.0743391	0.768, p<0.001	$\chi^2=29.235$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=463, Z=-1.317, p=0.188 U=673, Z=-3.813, p<0.001* U=2855, Z=-4.430, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>231</sub></b>	66.4%	83.3%	-0.1307514	0.771, p<0.001	$\chi^2=40.898$ , st.sl.=2, p=0.001*	U=477, Z=-1.159, p=0.247 U=601, Z=-3.751, p<0.001* U=2141, Z=-5.760, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, VILIP-1</b>	58.9%	95%	-0.1143857	0.785, p<0.001	$\chi^2=46.815$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=501, Z=-0.463, p=0.644 U=649, Z=-4.138, p<0.001* U=2086, Z=-6.109, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub></b>	64.5%	94.4%	-0.1845017	0.829, p<0.001	$\chi^2=28.990$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=580, Z=-0.222, p=0.824 U=469, Z=-4.553, p<0.001* U=3066, Z=-3.562, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	70.5%	83.3%	-0.3185041	0.817, p<0.001	$\chi^2=40.401$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=335, Z=-2.359, p=0.018* <sup>B</sup> U=482, Z=-4.377, p<0.001* U=2337, Z=-5.256, p<0.001*	BSP vs KONT AB vs KONT AB vs BSP
						U=395, Z=-1.720, p=0.086	BSP vs KONT

<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, VILIP-1</b>	70.2%	89.5%	-0.3047962	0.835, p<0.001	$\chi^2=44.652$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=472, Z=-4.760, p<0.001* U=2356, Z=-5.434, p<0.001* U=438, Z=-1.514, p=0.130	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	56.8%	89.9%	-0.0347343	0.764, p<0.001	$\chi^2=21.305$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=621, Z=-3.646, p<0.001* U=2987, Z=-3.433, p=0.001* U=415, Z=-1.396, p=0.163	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>199</sub>, VILIP-1</b>	46.3%	100%	0.1910731	0.758, p<0.001	$\chi^2=21.664$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=685, Z=-3.658, p<0.001* U=3041, Z=-3.462, p=0.001* U=433, Z=-1.484, p=0.138	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	71.9%	72.2%	-0.2950466	0.781, p<0.001	$\chi^2=38.280$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=575, Z=-3.888, p<0.001* U=2223, Z=-5.419, p<0.001* U=478, Z=-0.638, p=0.524	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, VILIP-1</b>	58.9%	94.7%	-0.1048821	0.792, p<0.001	$\chi^2=40.968$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=596, Z=-4.147, p<0.001* U=2327, Z=-5.506, p<0.001* U=468, Z=-1.170, p=0.242	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>199</sub>, VILIP-1</b>	65.1%	78.9%	-0.3645813	0.761, p<0.001	$\chi^2=25.423$ , st.sl.=2, p=0.001*	U=676, Z=-3.704, p<0.001* U=2826, Z=-4.011, p<0.001* U=456, Z=-1.216, p=0.224	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	60.3%	94.4%	-0.1811449	0.777, p<0.001	$\chi^2=40.560$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=586, Z=-3.830, p<0.001* U=2123, Z=-5.679, p<0.001* U=485, Z=-0.554, p=0.580	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub></b>	77%	77.8%	-0.6003730	0.795, p<0.001	$\chi^2=27.250$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=560, Z=-4.092, p<0.001* U=2976, Z=-3.789, p<0.001* U=348, Z=-2.203, p=0.028 <sup>*B</sup>	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	65.8%	83.3%	-0.4433812	0.761, p<0.001	$\chi^2=22.578$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=627, Z=-3.614, p<0.001* U=2924, Z=-3.596, p<0.001* U=382, Z=-1.793, p=0.073	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	64.4%	94.4%	-0.3189747	0.798, p<0.001	$\chi^2=23.215$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=531, Z=-4.119, p<0.001* U=3161, Z=-2.980, p=0.003* U=302, Z=-2.756, p=0.006*	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, VILIP-1</b>	57.7%	94.4%	-0.1465984	0.783, p<0.001	$\chi^2=23.101$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=583, Z=-3.912, p<0.001* U=3076, Z=-3.372, p=0.001* U=368, Z=-1.962, p=0.050 <sup>*B</sup>	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	60.3%	89.9%	-0.2158581	0.809, p<0.001	$\chi^2=37.200$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=503, Z=-4.266, p<0.001* U=2387, Z=-4.993, p<0.001* U=395, Z=-1.637, p=0.102	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	52.1%	94.4%	-0.0252324	0.750, p=0.001	$\chi^2=18.679$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=656, Z=-3.461, p=0.001* U=3102, Z=-3.134, p=0.002* U=403, Z=-1.541, p=0.123	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	73.3%	83.3%	-0.4439284	0.815, p<0.001	$\chi^2=29.170$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=487, Z=-4.351, p<0.001* U=2828, Z=-3.846, p<0.001* U=350, Z=-2.179, p=0.029 <sup>*B</sup>	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	58.2%	94.4%	-0.0927076	0.802, p<0.001	$\chi^2=46.687$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=520, Z=-4.177, p<0.001* U=1978, Z=-6.057, p<0.001* U=485, Z=-0.554, p=0.580	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>199</sub></b>	67.8%	84.2%	-0.3665090	0.718, p<0.001	$\chi^2=31.163$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=621, Z=-3.979, p<0.001*	AB vs KONT

<b>VILIP-1</b>						U=2614, Z=-4.553, p<0.001*	AB vs BSP
						U=465, Z=-1.112, p=0.266	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	56.2%	94.4%	-0.0502404	0.780, p<0.001	$\chi^2=29.956$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=579, Z=-3.867, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2590, Z=-4.465, p<0.001*	AB vs BSP
						U=419, Z=-1.348, p=0.178	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, VILIP-1</b>	72.2%	84.2%	-0.3814682	0.825, p<0.001	$\chi^2=48.607$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=503, Z=-4.607, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2151, Z=-5.946, p<0.001*	AB vs BSP
						U=468, Z=-1.170, p=0.242	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	74%	83.3%	-0.4252759	0.825, p<0.001	$\chi^2=45.915$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=459, Z=-4.498, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2146, Z=-5.747, p<0.001*	AB vs BSP
						U=415, Z=-1.482, p=0.138	BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	68.5%	89.9%	-0.3818182	0.828, p<0.001	$\chi^2=42.923$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=453, Z=-4.529, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2283, Z=-5.395, p<0.001*	AB vs BSP
						U=382, Z=-1.874, p=0.061	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub></b>	65.1%	94.4%	-0.1829478	0.871, p<0.001	$\chi^2=34.420$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=501, Z=-4.391, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2681, Z=-4.530, p<0.001*	AB vs BSP
						U=374, Z=-1.890, p=0.059	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	62.3%	94.4%	-0.1893083	0.818, p<0.001	$\chi^2=34.486$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=479, Z=-4.393, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2559, Z=-4.546, p<0.001*	AB vs BSP
						U=369, Z=-1.950, p=0.051	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	58.9%	89.9%	-0.1924922	0.775, p<0.001	$\chi^2=25.720$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=591, Z=-3.803, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2790, Z=-3.945, p<0.001*	AB vs BSP
						U=408, Z=-1.480, p=0.139	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	79.5%	77.8%	-0.4993535	0.830, p<0.001	$\chi^2=44.306$ , st.sl.=2, p=0.001*	U=447, Z=-4.561, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2180, Z=-5.531, p<0.001*	AB vs BSP
						U=396, Z=-1.625, p=0.104	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, VILIP-1</b>	67.1%	89.9%	-0.3601808	0.810, p<0.001	$\chi^2=29.887$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=509, Z=-4.294, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2817, Z=-4.034, p<0.001*	AB vs BSP
						U=371, Z=-1.926, p=0.054	BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	69.2%	77.8%	-0.4839158	0.773, p<0.001	$\chi^2=27.804$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=597, Z=-3.772, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2664, Z=-4.273, p<0.001*	AB vs BSP
						U=427, Z=-1.252, p=0.211	BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	63%	94.4%	-0.2841794	0.810, p<0.001	$\chi^2=42.757$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=500, Z=-4.282, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2160, Z=-5.583, p<0.001*	AB vs BSP
						U=416, Z=-1.384, p=0.166	BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, VILIP-1</b>	59.7%	94.4%	-0.1674541	0.791, p<0.001	$\chi^2=29.322$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=561, Z=-4.025, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2743, Z=-4.223, p<0.001*	AB vs BSP
						U=394, Z=-1.649, p=0.099	BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	61%	94.4%	-0.2365343	0.804, p<0.001	$\chi^2=29.040$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=516, Z=-4.198, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2787, Z=-3.953, p<0.001*	AB vs BSP
						U=343, Z=-2.263, p=0.024 <sup>B</sup>	BSP vs KONT
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	58.9%	94.4%	-0.1813750	0.797, p<0.001	$\chi^2=26.712$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=533, Z=-4.109, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2861, Z=-3.760, p<0.001*	AB vs BSP

						U=371, Z=-1.926, p=0.054	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	68.5%	83.3%	-0.3830192	0.797, p<0.001	$\chi^2=33.232$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=534, Z=-4.103, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2503, Z=-4.691, p<0.001*	AB vs BSP
						U=422, Z=-1.312, p=0.190	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	80.1%	77.8%	-0.5646127	0.831, p<0.001	$\chi^2=47.834$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=445, Z=-4.571, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2040, Z=-5.895, p<0.001*	AB vs BSP
						U=431, Z=-1.204, p=0.229	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, VILIP-1</b>	63.1%	94.4%	-0.2424124	0.812, p<0.001	$\chi^2=35.268$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=504, Z=-4.319, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2550, Z=-4.716, p<0.001*	AB vs BSP
						U=388, Z=-1.721, p=0.085	BSP vs KONT
<b>A<math>\beta</math><sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1</b>	69.9%	88.9%	-0.4440834	0.814, p<0.001	$\chi^2=31.898$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=489, Z=-4.340, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2664, Z=-4.273, p<0.001*	AB vs BSP
						U=373, Z=-1.902, p=0.057	BSP vs KONT
<b>ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP1</b>	63.7%	94.4%	-0.2726804	0.801, p<0.001	$\chi^2=31.271$ , st.sl.=2, p<0.001*	U=523, Z=-4.161, p<0.001*	AB vs KONT
						U=2627, Z=-4.369, p<0.001*	AB vs BSP
						U=391, Z=-1.685, p=0.092	BSP vs KONT

AB, Alzheimerova bolest; A $\beta$ <sub>1-42</sub>, amiloid  $\beta$ <sub>1-42</sub>; AUC, *area under curve* (površina ispod krivulje); BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; KW, Kruskal-Wallis test; MW, Mann-Whitney test; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231. \*p < 0.05. <sup>b</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je p < 0.016). Ružičasto su označene usporedbe koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije. Ljubičasto su označeni FS s najvišim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti i najboljim razlikovanjem ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

#### 4.4.2. Faktorski skor kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena

U **tablici 37** su prikazane analize dijagnostičke osjetljivosti i specifičnosti FS izvedenih različitim kombinacijama kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena (ukupno 26 kombinacija) kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije (**Slika 44**). Ljubičasto su označeni FS s najvišim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti i najboljim razlikovanjem ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT) (**Tablica 37**).

**Tablica 37.** Dijagnostička osjetljivost i specifičnost FS dobivenih kombinacijom kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena u skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije.

Faktorski skor (FS) navedenih biomarkera	Osjetljivost	Specifičnost	IV	AUC, p	KW test	MW test	
<b>3 frekvencije</b>							
<b>RV, N200RV, P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	83.3%	100%	-0.4219388	0.917, p=0.011	$\chi^2=10.095$ , st.sl.=2, p=0.006*	U=6, Z=-2.554, p=0.011*	AB vs KONT
						U=68, Z=-2.203, p=0.028* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=10, Z=-1.912, p=0.056	BSP vs KONT
<b>RV, N200RV</b>	54.5%	100%	0.6680317	0.784, p=0.076	$\chi^2=7.588$ , st.sl.=2, p=0.023*	U=19, Z=-1.777, p=0.076	AB vs KONT
						U=78, Z=-2.466, p=0.014*	AB vs BSP
						U=26, Z=-0.212, p=0.832	BSP vs KONT
<b>RV, P300RV</b>	100%	50%	-1.5042478	0.730, p=0.146	$\chi^2=6.443$ , st.sl.=2, p=0.040*	U=27, Z=-1.445, p=0.146	AB vs KONT
						U=112, Z=-2.352, p=0.018* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=30, Z=-0.189, p=0.850	BSP vs KONT
<b>RV, N200 brojanje</b>	47.4%	100%	0.5454174	0.724, p=0.168	$\chi^2=5.176$ , st.sl.=2, p=0.075	U=21, Z=-1.379, p=0.168	AB vs KONT
						U=82, Z=-2.098, p=0.036* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=26, Z=-0.400, p=0.689	BSP vs KONT
<b>RV, P300 brojanje</b>	100%	50%	-1.1954547	0.773, p=0.088	$\chi^2=5.587$ , st.sl.=2, p=0.061*	U=20, Z=-1.706, p=0.088	AB vs KONT
						U=102, Z=-1.949, p=0.051	AB vs BSP
						U=22, Z=-0.800, p=0.424	BSP vs KONT

<b>N200RV, P300RV</b>	68.2%	100%	-0.2102168	0.841, p=0.033	$\chi^2=7.630$ , st.sl.=2, p=0.022*	U=14, Z=-2.132, p=0.032* <sup>B</sup>	AB vs KONT
						U=93.5, Z=-1.963, p=0.049* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=12, Z=-1.699, p=0.089	BSP vs KONT
<b>N200RV, N200 brojanje</b>	77.8%	100%	-0.3408736	0.875, p=0.022	$\chi^2=8.174$ , st.sl.=2, p=0.017*	U=9, Z=-2.298, p=0.019* <sup>B</sup>	AB vs KONT
						U=70.5, Z=-2.108, p=0.034* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=15, Z=-1.381, p=0.167	BSP vs KONT
<b>N200RV, P300 brojanje</b>	78.9%	100%	-0.5495942	0.895, p=0.015	$\chi^2=9.509$ , st.sl.=2, p=0.009*	U=8, Z=-2.433, p=0.015*	AB vs KONT
						U=76.5, Z=-2.058, p=0.038* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=8, Z=-2.124, p=0.034* <sup>B</sup>	BSP vs KONT
<b>P300RV, N200 brojanje</b>	77.8%	100%	-0.2644537	0.903, p=0.014	$\chi^2=9.391$ , st.sl.=2, p=0.009*	U=7, Z=-2.469, p=0.014*	AB vs KONT
						U=74.5, Z=-2.188, p=0.027* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=13, Z=-1.700, p=0.089	BSP vs KONT
<b>P300RV, P300 brojanje</b>	81%	100%	-0.5871872	0.905, p=0.012	$\chi^2=9.660$ , st.sl.=2, p=0.008*	U=8, Z=-2.520, p=0.012*	AB vs KONT
						U=101.5, Z=-1.797, p=0.072	AB vs BSP
						U=5, Z=-2.500, p=0.012*	BSP vs KONT
<b>N200 brojanje, P300 brojanje</b>	84.2%	100%	-0.5930286	0.934, p=0.007	$\chi^2=9.807$ , st.sl.=2, p=0.007*	U=5, Z=-2.677, p=0.007*	AB vs KONT
						U=81.5, Z=-1.876, p=0.060	AB vs BSP
						U=8, Z=-2.124, p=0.034* <sup>B</sup>	BSP vs KONT
<b>RV, N200RV, P300RV</b>	68.2%	100%	-0.0259662	0.852, p=0.028	$\chi^2=8.569$ , st.sl.=2, p=0.014*	U=13, Z=-2.203, p=0.026* <sup>B</sup>	AB vs KONT
						U=83, Z=-2.304, p=0.021* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=17, Z=-1.168, p=0.243	BSP vs KONT
<b>RV, N200RV, N200 brojanje</b>	72.2%	100%	-0.1043541	0.847, p=0.033	$\chi^2=7.836$ , st.sl.=2, p=0.020*	U=11, Z=-2.128, p=0.033* <sup>B</sup>	AB vs KONT
						U=67, Z=-2.241, p=0.025* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=18, Z=-1.062, p=0.288	BSP vs KONT
<b>RV, N200RV, P300 brojanje</b>	73.7%	100%	0.2171704	0.882, p=0.019	$\chi^2=9.500$ , st.sl.=2, p=0.009*	U=9, Z=-2.352, p=0.016*	AB vs KONT
						U=68, Z=-2.368, p=0.017* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=14, Z=-2.487, p=0.137	BSP vs KONT
<b>RV, P300RV, N200 brojanje</b>	66.7%	100%	-0.2424124	0.847, p=0.033	$\chi^2=8.990$ , st.sl.=2, p=0.011*	U=11, Z=-2.128, p=0.033* <sup>B</sup>	AB vs KONT

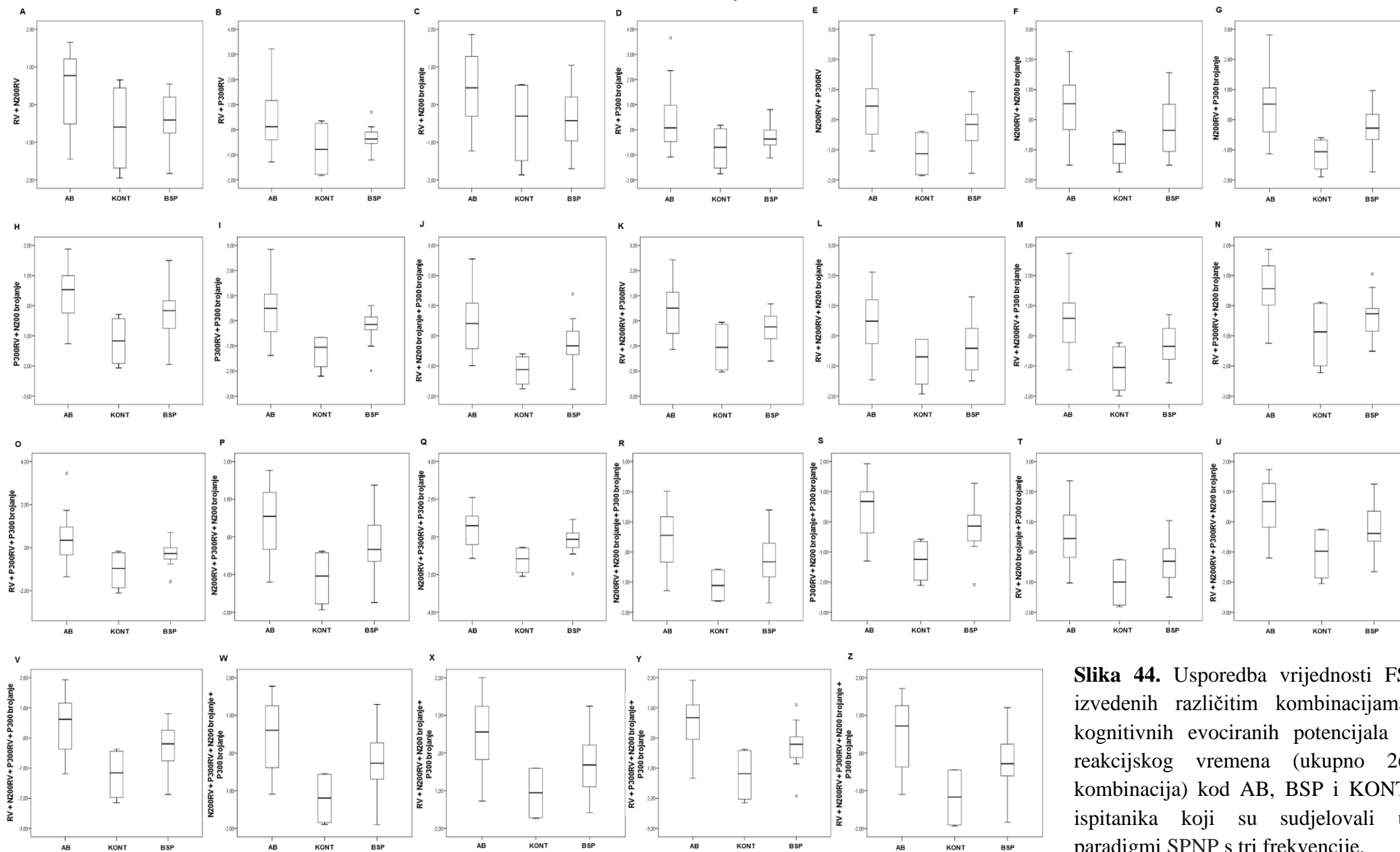
						U=63, Z=-2.603, p=0.009*	AB vs BSP
						U=24, Z=-0.600, p=0.549	BSP vs KONT
<b>RV, P300RV, P300 brojanje</b>	71.4%	100%	-0.0939009	0.857, p=0.026	$\chi^2=8.872$ , st.sl.=2, p=0.012*	U=12, Z=-2.224, p=0.025* <sup>B</sup>	AB vs KONT
						U=85, Z=-2.326, p=0.019* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=16, Z=-1.400, p=0.162	BSP vs KONT
<b>N200RV, P300RV, N200 brojanje</b>	77.8%	100%	-0.3562838	0.889, p=0.017	$\chi^2=8.572$ , st.sl.=2, p=0.014*	U=8, Z=-2.384, p=0.014*	AB vs KONT
						U=70.5, Z=-2.108, p=0.034* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=14, Z=-1.487, p=0.137	BSP vs KONT
<b>N200RV, P300RV, P300 brojanje</b>	78.9%	100%	-0.5305364	0.895, p=0.015	$\chi^2=9.757$ , st.sl.=2, p=0.008*	U=8, Z=-2.433, p=0.015*	AB vs KONT
						U=74.5, Z=-2.131, p=0.032* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=8, Z=-2.124, p=0.034* <sup>B</sup>	BSP vs KONT
<b>N200RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	77.8%	100%	-0.4525046	0.889, p=0.017	$\chi^2=9.430$ , st.sl.=2, p=0.009*	U=8, Z=-2.384, p=0.014*	AB vs KONT
						U=68.5, Z=-2.184, p=0.027* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=10, Z=-0.912, p=0.056	BSP vs KONT
<b>P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	77.8%	100%	-0.4697450	0.917, p=0.011	$\chi^2=10.234$ , st.sl.=2, p=0.006*	U=6, Z=-2.554, p=0.011*	AB vs KONT
						U=69.5, Z=-2.146, p=0.030* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=8, Z=-2.124, p=0.034* <sup>B</sup>	BSP vs KONT
<b>RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	73.7%	100%	-0.1540086	0.868, p=0.023	$\chi^2=8.161$ , st.sl.=2, p=0.017*	U=10, Z=-2.271, p=0.021* <sup>B</sup>	AB vs KONT
						U=74, Z=-2.149, p=0.032* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=16, Z=-1.274, p=0.203	BSP vs KONT
<b>RV, N200RV, P300RV, N200 brojanje</b>	77.8%	100%	-0.2152982	0.889, p=0.017	$\chi^2=8.936$ , st.sl.=2, p=0.011*	U=8, Z=-2.384, p=0.014*	AB vs KONT
						U=67, Z=-2.241, p=0.025* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=15, Z=-1.381, p=0.167	BSP vs KONT
<b>RV, N200RV, P300RV, P300 brojanje</b>	73.7%	100%	-0.3734721	0.882, p=0.019	$\chi^2=9.217$ , st.sl.=2, p=0.010*	U=9, Z=-2.352, p=0.016*	AB vs KONT
						U=74, Z=-2.149, p=0.032* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=10, Z=-1.912, p=0.056	BSP vs KONT
<b>N200RV, P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	77.8%	100%	-0.4665668	0.889, p=0.017	$\chi^2=8.744$ , st.sl.=2, p=0.013*	U=8, Z=-2.384, p=0.014*	AB vs KONT
						U=72.5, Z=-2.032, p=0.041* <sup>B</sup>	AB vs BSP



						U=11, Z=-1.805, p=0.071	BSP vs KONT
<b>RV, N200RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	83.3%	100%	-0.3765327	0.917, p=0.011	$\chi^2=10.364$ , st.sl.=2, p=0.006*	U=6, Z=-2.554, p=0.011*	AB vs KONT
						U=64, Z=-2.355, p=0.018* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=12, Z=-1.699, p=0.089	BSP vs KONT
<b>RV, P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	83.3%	100%	-0.3774522	0.917, p=0.011	$\chi^2=10.067$ , st.sl.=2, p=0.007*	U=6, Z=-2.554, p=0.011*	AB vs KONT
						U=65, Z=-2.317, p=0.020* <sup>B</sup>	AB vs BSP
						U=13, Z=-1.593, p=0.111	BSP vs KONT

AB, Alzheimerova bolest; AUC, *area under curve* (površina ispod krivulje); BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; KW, Kruskal-Wallis test; IV, izlučne vrijednosti; MW, Mann-Whitney test; RV, reakcijsko vrijeme. \* $p < 0.05$ . <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je  $p < 0.016$ ). Ružičasto su označene usporedbe koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije. Ljubičasto su označeni FS s najvišim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti i najboljim razlikovanjem ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

### 3 frekvencije



**Slika 44.** Usporedba vrijednosti FS izvedenih različitim kombinacijama kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena (ukupno 26 kombinacija) kod AB, BSP i KONT ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije.

U **tablici 38** su prikazane analize dijagnostičke osjetljivosti i specifičnosti FS izvedenih različitim kombinacijama kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena (ukupno 26 kombinacija) kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije. Ljubičasto su označeni FS s najvišim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti i najboljim razlikovanjem ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT) (**Tablica 38**).

**Tablica 38.** Dijagnostička osjetljivost i specifičnost FS dobivenih kombinacijom kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena u skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije.

Faktorski skor (FS) navedenih biomarkera	Osjetljivost	Specifičnost	IV	AUC, p	KW test	MW test	
<b>2 + 3 frekvencije</b>							
<b>RV, N200RV, P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	84.4%	100%	-0.4628575	0.930, p=0.006	$\chi^2=18.332$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=9, Z=-2.769, p=0.006* U=145, Z=-3.644, p<0.001* U=20, Z=-1.706, p=0.088	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>RV, N200RV</b>	53.8%	100%	0.4490756	0.808, p=0.045	$\chi^2=16.839$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=30, Z=-2.007, p=0.045* <sup>B</sup> U=182, Z=-3.883, p<0.001* U=43, Z=-0.205, p=0.838	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>RV, P300RV</b>	100%	50%	-1.6211379	0.750, p=0.100	$\chi^2=12.785$ , st.sl.=2, p=0.002*	U=46, Z=-1.645, p=0.100 U=323, Z=-3.405, p=0.001* U=50, Z=-0.236, p=0.814	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>RV, N200 brojanje</b>	58.8%	100%	0.2792185	0.787, p=0.064	$\chi^2=12.662$ , st.sl.=2, p=0.002*	U=29, Z=-1.855, p=0.064 U=186, Z=-3.334, p<0.001* U=38, Z=-0.546, p=0.585	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>RV, P300 brojanje</b>	50%	100%	0.0984271	0.794, p=0.055	$\chi^2=10.374$ , st.sl.=2, p=0.006*	U=33, Z=-1.919, p=0.055 U=288, Z=-2.859, p=0.004* U=36, Z=-0.885, p=0.376	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>N200RV, P300RV</b>	76.9%	100%	-0.2697847	0.885, p=0.012	$\chi^2=16.893$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=18, Z=-2.509, p=0.012* U=203, Z=-3.578, p<0.001* U=25, Z=-1.433, p=0.152	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>N200RV, N200 brojanje</b>	81.3%	100%	-0.4958710	0.898, p=0.010	$\chi^2=15.125$ , st.sl.=2, p=0.001 *	U=13, Z=-2.567, p=0.010* U=164.5, Z=-3.301, p=0.001* U=24, Z=-1.421, p=0.155	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>N200RV, P300 brojanje</b>	87.9%	100%	-0.6977448	0.939, p=0.005	$\chi^2=16.308$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=8, Z=-2.837, p=0.005* U=181.5, Z=-3.118, p=0.002* U=11, Z=-2.345, p=0.019* <sup>B</sup>	AB vs KONT AB vs BSP BSP vs KONT
<b>P300RV, N200 brojanje</b>	84.8%	100%	-0.4411657	0.932, p=0.005	$\chi^2=17.875$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=9, Z=-2.788, p=0.005* U=166.5, Z=-3.547, p<0.001*	AB vs KONT AB vs BSP

<b>P300RV, P300 brojanje</b>	87.2%	100%	-0.7089343	0.929, p=0.005	$\chi^2=14.734$ , st.sl.=2, p=0.001 *	U=20, Z=-1.775, p=0.076	BSP vs KONT
						U=11, Z=-2.801, p=0.005*	AB vs KONT
						U=290.5, Z=-2.711, p=0.007*	AB vs BSP
<b>N200 brojanje, P300 brojanje</b>	91.2%	100%	-0.8314109	0.963, p=0.003	$\chi^2=15.529$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=7, Z=-2.720, p=0.007*	BSP vs KONT
						U=5, Z=-2.997, p=0.003*	AB vs KONT
						U=207.5, Z=-2.793, p=0.005*	AB vs BSP
<b>RV, N200RV, P300RV</b>	74.4%	100%	-0.0707989	0.885, p=0.012	$\chi^2=19.253$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=9, Z=-2.487, p=0.013*	BSP vs KONT
						U=18, Z=-2.509, p=0.012*	AB vs KONT
						U=176, Z=-3.971, p<0.001 *	AB vs BSP
<b>RV, N200RV, N200 brojanje</b>	68.8%	100%	-0.0078845	0.844, p=0.027	$\chi^2=15.558$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=33, Z=-0.887, p=0.375	BSP vs KONT
						U=20, Z=-2.215, p=0.027*B	AB vs KONT
						U=147, Z=-3.609, p<0.001 *	AB vs BSP
<b>RV, N200RV, P300 brojanje</b>	72.7%	100%	0.1458807	0.886, p=0.013	$\chi^2=17.806$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=30, Z=-0.995, p=0.320	BSP vs KONT
						U=15, Z=-2.494, p=0.013*	AB vs KONT
						U=145, Z=-3.745, p<0.001 *	AB vs BSP
<b>RV, P300RV, N200 brojanje</b>	69.7%	100%	0.0319432	0.871, p=0.017	$\chi^2=18.023$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=23, Z=-1.492, p=0.136	BSP vs KONT
						U=17, Z=-2.397, p=0.017*B	AB vs KONT
						U=145, Z=-3.905, p<0.001 *	AB vs BSP
<b>RV, P300RV, P300 brojanje</b>	71.8%	100%	-0.2248792	0.878, p=0.014	$\chi^2=14.771$ , st.sl.=2, p=0.001 *	U=36, Z=-0.683, p=0.495	BSP vs KONT
						U=19, Z=-2.467, p=0.014*	AB vs KONT
						U=250, Z=-3.268, p<0.001 *	AB vs BSP
<b>N200RV, P300RV, N200 brojanje</b>	84.4%	100%	-0.4957402	0.922, p=0.007	$\chi^2=16.312$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=27, Z=-1.455, p=0.146	BSP vs KONT
						U=10, Z=-2.718, p=0.007*	AB vs KONT
						U=158.5, Z=-3.407, p=0.001 *	AB vs BSP
<b>N200RV, P300RV, P300 brojanje</b>	84.8%	100%	-0.6582468	0.924, p=0.006	$\chi^2=16.777$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=24, Z=-1.421, p=0.155	BSP vs KONT
						U=10, Z=-2.739, p=0.006*	AB vs KONT
						U=172.5, Z=-3.273, p=0.001 *	AB vs BSP
<b>N200RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	87.5%	100%	-0.7405408	0.938, p=0.005	$\chi^2=16.428$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=11, Z=-2.345, p=0.016*	BSP vs KONT
						U=8, Z=-2.819, p=0.005*	AB vs KONT
						U=170.5, Z=-3.195, p=0.001 *	AB vs BSP
<b>P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	87.9%	100%	-0.7499305	0.955, p=0.003	$\chi^2=17.909$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=13, Z=-2.203, p=0.028*B	BSP vs KONT
						U=6, Z=-2.935, p=0.003*	AB vs KONT
						U=170.5, Z=-3.307, p=0.001 *	AB vs BSP
<b>RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	82.4%	100%	-0.4508395	0.919, p=0.007	$\chi^2=15.092$ , st.sl.=2, p=0.001 *	U=10, Z=-2.416, p=0.013*	BSP vs KONT
						U=11, Z=-2.711, p=0.007*	AB vs KONT
						U=186, Z=-3.154, p=0.002*	AB vs BSP
<b>RV, N200RV, P300RV, N200 brojanje</b>	81.3%	100%	-0.3200393	0.906, p=0.009	$\chi^2=17.585$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=21, Z=-1.635, p=0.102	BSP vs KONT
						U=12, Z=-2.618, p=0.009*	AB vs KONT
						U=141, Z=-3.715, p<0.001 *	AB vs BSP
<b>RV, N200RV, P300RV, P300 brojanje</b>	78.8%	100%	-0.3302778	0.909, p=0.008	$\chi^2=17.095$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=30, Z=-0.995, p=0.320	BSP vs KONT
						U=12, Z=-2.641, p=0.008*	AB vs KONT
						U=158, Z=-3.522, p<0.001 *	AB vs BSP
<b>N200RV, P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	84.4%	100%	-0.6321600	0.922, p=0.007	$\chi^2=16.230$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=20, Z=-1.706, p=0.088	BSP vs KONT
						U=10, Z=-2.718, p=0.007*	AB vs KONT
						U=166.5, Z=-3.266, p=0.001 *	AB vs BSP

						U=15, Z=-2.061, p=0.039* <sup>B</sup>	BSP vs KONT
<b>RV, N200RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	84.4%	100%	-0.4574340	0.930, p=0.006	$\chi^2=17.987$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=9, Z=-2.769, p=0.006*	AB vs KONT
						U=148, Z=-3.591, p<0.001 *	AB vs BSP
						U=20, Z=-1.706, p=0.088	BSP vs KONT
<b>RV, P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	84.8%	100%	-0.4052591	0.932, p=0.005	$\chi^2=18.715$ , st.sl.=2, p<0.001 *	U=9, Z=-2.788, p=0.005*	AB vs KONT
						U=150, Z=-3.659, p<0.001 *	AB vs BSP
						U=18, Z=-1.848, p=0.065	BSP vs KONT

AB, Alzheimerova bolest; AUC, *area under curve* (površina ispod krivulje); BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; KW, Kruskal-Wallis test; IV, izlučne vrijednosti; MW, Mann-Whitney test; RV, reakcijsko vrijeme. \*p < 0.05. <sup>B</sup>Nakon Bonferronijeve korekcije izgubljena značajnost (statistički značajno ukoliko je p < 0.016). Ružičasto su označene usporedbe koje nakon Bonferronijeve korekcije izgube značajnost, dok su plavo označene korelacije koje ostaju statistički značajne i nakon Bonferronijeve korekcije. Ljubičasto su označeni FS s najvišim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti i najboljim razlikovanjem ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT).

#### 4.4.3. Modeli logističke regresije za izračun vjerojatnosti AB kod ispitanika s BSP

Za izradu modela logističke regresije kojim se može doći do izračuna vjerojatnosti AB kod ispitanika s BSP su korišteni najbolji FS dobiveni kombinacijom različitih bioloških biljega (označeni ljubičasto u **tablici 36** i **tablici 37**). Uporabom najboljih FS (označeni ljubičasto u **tablici 36** i **tablici 37**) je dobiveno 15 modela logističke regresije za izračun vjerojatnosti AB kod BSP pacijenata (**Tablica 39**). Od tih 15 modela, 7 je vezano za likvorske proteinske biološke biljege, dok ih je 8 vezano za kognitivne evocirane potencijale i reakcijsko vrijeme (**Tablica 39**).

Pomoću podataka dobivenih postupkom logističke regresije uporabom FS analiziranih bioloških biljega je za svaki model logističke regresije naveden u **tablici 39** ispisana jednadžba vjerojatnosti AB kod ispitanika s BSP. Iz dobivenih jednadžbi je izračunata vjerojatnost (%) AB kod ispitanika s BSP. Dobivene jednadžbe se mogu koristiti samo za procjenu kolika je vjerojatnost bolesti, ali ne kolika je vjerojatnost da će ju BSP ispitanik razviti iz razloga što postupak logističke regresije korišten u ovom radu u sebi nema komponentu vremena i predikcije, već samo vjerojatnost klasifikacije bolestan/zdrav. U **tablici 40** je navedena vjerojatnost (u postotcima) AB kod ispitanika s BSP dobivena; (1) logističkom regresijom FS svih likvorskih biomarkera ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP1), (2) određivanjem srednje vrijednosti postotka svih regresijskih modela s likvorskim proteinskim biološkim biljezima (7 regresijskih modela, **Tablica 39**), (3) određivanjem srednje vrijednosti postotka svih regresijskih modela s kognitivnim evociranim potencijalima (8 regresijskih modela, **Tablica 39**), (4) određivanjem srednje vrijednosti postotka svih regresijskih modela s likvorskim proteinskim biološkim biljezima i s kognitivnim evociranim potencijalima (15 regresijskih modela, **Tablica 39**).

**Tablica 39.** Petnaest modela logističke regresije dobiveni analizom FS proteinskih likvorskih bioloških biljega i kognitivnih evociranih potencijala (kod ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s 3 frekvencije).

Kombinacije bioloških biljega, FS	Exp(B)	95% CI Exp(B)	p	Wald	B	S.E.	X <sup>2</sup> , st. sl., p	-2 Log vjerojatnost	Cox & Snell R <sup>2</sup>	Nagelkerke R <sup>2</sup>	Sveukupni uspjeh predikcije
<b>Aβ<sub>1-42</sub>, ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP1</b>	7.772	2.519-23.981	<0.001	12.725	2.051	0.575	23.121, 1, <0.001	90.369	0.131	0.263	90.2%
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub></b>	6.445	2.181-19.046	0.001	11.362	1.863	0.553	19.137, 1, <0.001	95.721	0.106	0.217	89.4%
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	20.832	3.949-109.895	<0.001	12.807	3.037	0.848	23.906, 1, <0.001	89.584	0.136	0.272	88.4%
<b>Aβ<sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub></b>	5.773	2.361-13.922	<0.001	14.878	1.746	0.453	22.822, 1, <0.001	92.036	0.126	0.256	90%
<b>ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub></b>	6.946	2.156-19.566	0.001	11.062	1.871	0.563	19.698, 1, <0.001	95.160	0.109	0.223	89.4%
<b>p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	9.491	2.488-36.210	0.001	10.851	2.250	0.683	19.988, 1, <0.001	93.502	0.115	0.230	89%
<b>Aβ<sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub></b>	8.218	2.637-25.615	<0.001	13.189	2.106	0.580	22.437, 1, <0.001	91.052	0.128	0.256	89%
<b>3 frekvencije</b>											
<b>RV, N200RV, P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	7.886	1.053-59.060	0.044	4.041	2.065	1.027	8.674, 1, 0.003	12.188	0.326	0.532	90.9%
<b>N200RV, P300 brojanje</b>	23.578	0.659-843.112	0.083	2.999	3.160	1.825	10.113, 1, 0.001	11.141	0.356	0.590	87%
<b>P300RV, P300 brojanje</b>	10.362	1.063-101.041	0.044	4.049	2.338	1.162	9.185, 1, 0.002	12.789	0.307	0.526	84%
<b>P300RV, N200 brojanje</b>	7.961	1.108-57.216	0.039	4.250	2.075	1.006	8.733, 1, 0.003	12.129	0.328	0.535	86.4%
<b>N200 brojanje, P300 brojanje</b>	42.681	0.620-2940.378	0.082	3.021	3.754	2.160	10.810, 1, 0.001	10.443	0.375	0.622	91.3%
<b>N200RV, P300RV, P300 brojanje</b>	12.379	0.888-172.488	0.061	3.504	2.516	1.344	9.673, 1, 0.002	11.581	0.343	0.569	87%
<b>RV, N200RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	8.133	1.079-61.301	0.042	4.137	2.096	1.031	8.171, 1, 0.004	12.691	0.310	0.506	86.4%
<b>RV, P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje</b>	6.889	1.149-41.307	0.035	4.460	1.930	0.914	8.695, 1, 0.003	12.167	0.326	0.533	86.4%

AB, Alzheimerova bolest; Aβ<sub>1-42</sub>, amiloid β<sub>1-42</sub>; BSP, blagi spoznajni poremećaj; FS, *factor score*, faktorski skor; N, broj pacijenata; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231; RV, reakcijsko vrijeme. \*p < 0.05.

**Tablica 40.** Vjerojatnost (u postotcima) AB kod ispitanika s BSP dobivena: (1) logističkom regresijom FS svih likvorskih biomarkera ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP1), (2) određivanjem srednje vrijednosti postotka svih regresijskih modela s likvorskim biomarkerima (7 regresijskih modela, **Tablica 39**), (3) određivanjem srednje vrijednosti postotka svih regresijskih modela s evociranim potencijalima (8 regresijskih modela, **Tablica 39**), (4) određivanjem srednje vrijednosti postotka svih regresijskih modela s likvorskim biomarkerima i evociranim potencijalima (15 regresijskih modela, **Tablica 39**).

Postotak (%) AB kod BSP pacijenata	FS ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau <sub>181</sub> , p-tau <sub>199</sub> , p-tau <sub>231</sub> , VILIP1)		Srednja vrijednost postotka (%) svih regresijskih modela s likvorskim biomarkerima		Srednja vrijednost postotka (%) svih regresijskih modela s kognitivnim evociranim potencijalima		Srednja vrijednost postotka (%) svih regresijskih modela s likvorskim biomarkerima i kognitivnim evociranim potencijalima	
	% BSP ispitanika	Broj BSP ispitanika	% BSP ispitanika	Broj BSP ispitanika	Postotak BSP ispitanika	Broj BSP ispitanika	% BSP ispitanika	Broj BSP ispitanika
≥ 95%	20.3%	12 od 59	25%	15 od 60	31.3%	5 od 16	7.1%	1 od 14
90 – 94 %	16.9%	10 od 59	16.7%	10 od 60	12.5%	2 od 16	21.4%	3 od 14
85 – 89 %	10.2%	6 od 59	13.3%	8 od 60	12.5%	2 od 16	21.4%	3 od 14
80 – 84 %	15.3%	9 od 59	18.3%	11 od 60	12.5%	2 od 16	7.1%	1 od 14
70 – 79 %	13.6%	8 od 59	15%	9 od 60	12.5%	2 od 16	21.4%	3 od 14
60 – 69 %	15.3%	9 od 59	11.7%	7 od 60	6.3%	1 od 16	7.1%	1 od 14
<60%	8.4%	5 od 59			12.5%	2 od 16	7.1%	1 od 14

AB, Alzheimerova bolest;  $A\beta_{1-42}$ , amiloid  $\beta_{1-42}$ ; BSP, blagi spoznajni poremećaj; FS, *factor score*, faktorski skor; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231.



U svrhu određivanja rizika razvoja AB kod BSP ispitanika, BSP ispitanici su grupirani u 7 grupa u ovisnosti o broju patoloških likvorskih bioloških biljega:

1. Grupa – 0 patoloških biomarkera
2. Grupa – 1 patološki biomarker
3. Grupa – 2 patološka biomarkera
4. Grupa – 3 patološka biomarkera
5. Grupa – 4 patološka biomarkera
6. Grupa – 5 patoloških biomarkera
7. Grupa – 6 patoloških biomarkera

Izlučne vrijednosti likvorskih bioloških biljega su prikazane u **tablici 15**. Za biomarkere  $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau i p-tau<sub>181</sub> su uz dobivene izlučne vrijednosti navedene u **tablici 15**, korištene i izlučne vrijednosti iz literature ( $A\beta_{1-42}$  (500 pg/ml), ukupni tau (450 pg/ml) i p-tau<sub>181</sub> (60 pg/ml) (Humpel, 2011)). Zbog toga su napravljene dvije analize:

- 1) uporabom izlučnih vrijednosti  $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau i p-tau<sub>181</sub> određenih u ovom radu (**Tablica 15**)
- 2) uporabom izlučnih vrijednosti  $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau i p-tau<sub>181</sub> iz literature ( $A\beta_{1-42}$  (500 pg/ml), ukupni tau (450 pg/ml) i p-tau<sub>181</sub> (60 pg/ml) (Humpel, 2011)).

U **tablici 41** su prikazani postotci i broj ispitanika s BSP po skupinama određenima u ovisnosti o broju patoloških likvorskih bioloških biljega. Crveno su označeni ispitanici s BSP u skupini s jako visokim rizikom za nastanak AB (4 i više patoloških likvorskih biomarkera) (38.96% BSP ispitanika u prvoj analizi, a 22.04% BSP ispitanika u drugoj analizi). Ljubičasto i crveno su označeni BSP ispitanici u skupini s visokim rizikom za nastanak AB (3 i više patoloških likvorskih biomarkera) (50.82% BSP ispitanika u prvoj analizi, a 40.5% BSP ispitanika u drugoj analizi). Plavo su označeni BSP ispitanici s niskim rizikom za nastanak AB (1 i 2 patološka likvorska biomarkera) (35.59% BSP ispitanika u prvoj analizi, a 38.98% BSP ispitanika u drugoj analizi). Zeleno su označeni BSP ispitanici bez rizika za razvoj AB (0 patoloških likvorskih biomarkera) (13.56% BSP ispitanika u prvoj analizi, a 20.34% BSP ispitanika u drugoj analizi).

**Tablica 41.** Postotak i broj BSP ispitanika po skupinama određenima u ovisnosti o broju patoloških likvorskih bioloških biljega.

Grupa	Izlučne vrijednosti svih biomarkera određenih u ovom radu (A $\beta$ <sub>1-42</sub> , ukupni tau, p-tau <sub>181</sub> , p-tau <sub>199</sub> , p-tau <sub>231</sub> , VILIP1)		Izlučne vrijednosti A $\beta$ <sub>1-42</sub> , ukupnog tau i p-tau <sub>181</sub> preuzete iz (Humpel, 2011), a p-tau <sub>199</sub> , p-tau <sub>231</sub> i VILIP1 određenih u ovom radu	
	Broj BSP ispitanika	% (postotak BSP ispitanika)	Broj BSP ispitanika	% (postotak BSP ispitanika)
1. <b>0 patoloških biomarkera</b>	8	13.56%	12	20.34%
2. <b>1 patološki biomarker</b>	11	18.64%	15	25.42%
3. <b>2 patološka biomarkera</b>	10	16.95%	8	13.56%
4. <b>3 patološka biomarkera</b>	7	11.86%	11	18.64%
5. <b>4 patološka biomarkera</b>	9	15.26%	7	11.86%
6. <b>5 patoloških biomarkera</b>	8	13.56%	4	6.79%
7. <b>6 patoloških biomarkera</b>	6	10.17%	2	3.39%

A $\beta$ <sub>1-42</sub>, amiloid  $\beta$ <sub>1-42</sub>; BSP, blagi spoznajni poremećaj; p-tau<sub>181</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181; p-tau<sub>199</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199; p-tau<sub>231</sub>, tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231.

#### 4.4.4. Faktorski skor makro- i mikroelemenata

Opcija redukcija dimenzije (*Dimension Reduction*) iz SPSS programskog paketa je korištena s ciljem grupiranja 24 makro- i mikroelemenata. Makro- i mikroelementi su grupirani u 5 dimenzija i grupiranjem je dobiveno 5 FS:

- FS1 = B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl i Hg
- FS2 = Cd, Pb
- FS3 = Ni
- FS4 = Li
- FS5 = Al

Nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima FS1 (B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl i Hg) ( $\chi^2 = 2.528$ , st. sl. = 2,  $p = 0.282$ ), FS2 (Cd, Pb) ( $\chi^2 = 0.139$ , st. sl. = 2,  $p = 0.933$ ), FS3 (Ni) ( $\chi^2 = 4.672$ , st. sl. = 2,  $p = 0.097$ ), FS4 (Li) ( $\chi^2 = 2.091$ , st. sl. = 2,  $p = 0.352$ ) i FS5 (Al) ( $\chi^2 = 2.528$ , st. sl. = 2,  $p = 0.282$ ) između AB, BSP i KONT skupine ispitanika. Zanimljivo je da su se dva potencijalno toksična metala Cd i Pb za koje se smatra da bi trovanjem iz okoliša mogli pridonijeti nastanku AB, grupirali u istu dimenziju (FS2).

Dodatno je određen FS sljedećih kombinacija makro- i mikroelemenata:

- Fe, Cu i Zn (metali koji su u normalnim okolnostima prisutni u organizmu i čija je homeostaza poremećena u AB).
- Al, As, Cd, Hg i Pb (metali i polumetal As koji u normalnim okolnostima nisu prisutni u organizmu. Moguća povezanost trovanjem ovim elementima iz okoliša i razvojem AB) – napravljeni FS različitih kombinacija navedenih elemenata (FS (As, Cd i Pb), FS (As i Hg) i FS (Al, Cd i Pb)).
- Se i Hg – (potencijalno neuroprotektivno djelovanje Se – veže toksične ione Hg (Loef *i sur.*, 2011)).

Kombinacija Al, As, Cd, Hg i Pb je rezultirala s dva FS, odnosno navedeni elementi su grupirani u dvije dimenzije, s tim da su se As i Hg grupirali zajedno, a Al, Cd i Pb zajedno. Stoga su određeni FS (As i Hg) te FS (Al, Cd i Pb). Dodatno je određen i FS (As, Cd i Pb). Nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima FS (Fe, Cu i Zn) ( $\chi^2 = 2.528$ , st. sl. = 2,  $p = 0.282$ ), FS (As i Hg) ( $\chi^2 = 3.550$ , st. sl. = 2,  $p = 0.169$ ), FS (Al, Cd i Pb) ( $\chi^2 = 1.530$ , st. sl. =

2,  $p = 0.465$ ), FS (As, Cd i Pb) ( $\chi^2 = 1.260$ , st. sl. = 2,  $p = 0.533$ ) i FS (Se i Hg) ( $\chi^2 = 3.773$ , st. sl. = 2,  $p = 0.152$ ) između AB, BSP i KONT skupine ispitanika.

Budući da niti jedan dobiveni FS nije pokazao značajnu razliku između AB, BSP i KONT skupine, napravljena je usporedba u vrijednostima FS između skupina s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega i kognitivnih evociranih potencijala.

- Vrijednosti FS (B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl i Hg) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml) (U = 32, Z = 2.102,  $p = 0.036$ )\*, p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (U = 42, Z = -2.006,  $p = 0.045$ )\*, p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) (U = 42, Z = -2.159,  $p = 0.031$ )\*, p-tau<sub>199</sub> (U = 30, Z = -2.623,  $p = 0.009$ )\*, p-tau<sub>231</sub> (U = 34, Z = -2.766,  $p = 0.006$ )\* i VILIP-1 (U = 5, Z = -3.121,  $p = 0.002$ )\*. Vrijednosti FS (B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl i Hg) su bile povišene i u skupini bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> (U = 237, Z = -2.570,  $p = 0.010$ )\*, p-tau<sub>231</sub> (U = 222, Z = -2.058,  $p = 0.040$ )\* i VILIP-1 (U = 192, Z = -3.404,  $p = 0.001$ )\*.
- Vrijednosti FS (Cd i Pb) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml) (U = 26, Z = -2.434,  $p = 0.015$ )\* i  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml) (U = 39, Z = -1.965,  $p = 0.049$ )\*.
- Vrijednosti FS (Fe, Cu i Zn) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (U = 55, Z = -2.130,  $p = 0.033$ )\*, p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) (U = 54, Z = -2.173,  $p = 0.030$ )\*, p-tau<sub>231</sub> (U = 37, Z = -3.076,  $p = 0.001$ )\* i VILIP-1 (U = 17, Z = -3.114,  $p = 0.001$ )\*. Vrijednosti FS (Fe, Cu i Zn) su bile povišene i u skupini bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> (U = 283, Z = -2.764,  $p = 0.006$ )\*, p-tau<sub>231</sub> (U = 236, Z = -2.571,  $p = 0.010$ )\* i VILIP-1 (U = 240, Z = -3.417,  $p = 0.001$ )\*.
- Vrijednosti FS (As i Hg) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (U = 36, Z = -2.948,  $p = 0.002$ )\*, p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) (U = 54, Z = -2.173,  $p = 0.030$ )\*, p-tau<sub>199</sub> (U = 50, Z = -2.200,  $p = 0.028$ )\*, p-tau<sub>231</sub> (U = 55, Z = -2.323,  $p = 0.020$ )\* i VILIP-1 (U = 11, Z = -3.480,  $p = 0.001$ )\*, te u skupini bolesnika s AB s patološkim vrijednostima VILIP-1 (U = 226, Z = -3.383,  $p = 0.001$ )\*.
- Vrijednosti FS (Al, Cd i Pb) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml) (U = 46, Z = -1.970,  $p = 0.050$ )\*.

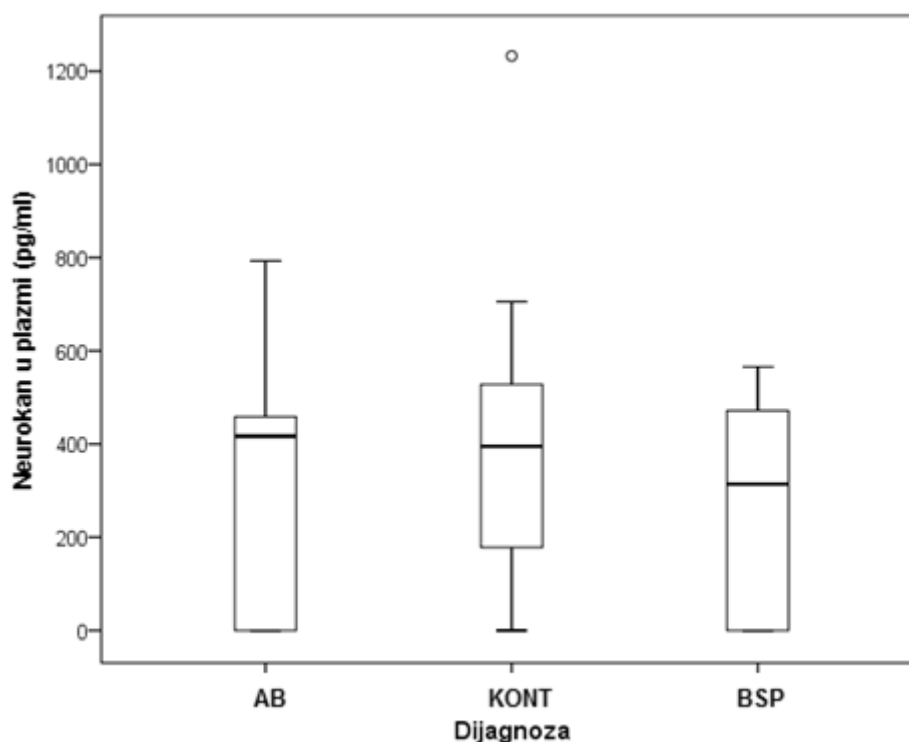
- Vrijednosti FS (As, Cd i Pb) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> (U = 54, Z = -2.024, p = 0.043)\*, p-tau<sub>231</sub> (U = 58, Z = -2.197, p = 0.028)\*, te u skupini bolesnika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> (U = 301, Z = -2.382, p = 0.017)\*.
- Vrijednosti FS (Se i Hg) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) (U = 42, Z = -2.690, p = 0.006)\*, p-tau<sub>231</sub> (U = 46, Z = -2.699, p = 0.006)\* i VILIP-1 (U = 12, Z = -3.359, p < 0.001)\*, te u skupini ispitanika s AB s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> (U = 284, Z = -2.625, p = 0.009)\*, p-tau<sub>231</sub> (U = 230, Z = -2.574, p = 0.010)\* i VILIP-1 (U = 214, Z = -3.670, p < 0.001)\*.

U skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima reakcijskog vremena su bile povišene vrijednosti FS (B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl i Hg) (U = 1, Z = -2.066, p = 0.048)\*, FS (Fe, Cu i Zn) (U = 1, Z = -2.556, p = 0.009)\*, FS (As i Hg) (U = 2, Z = -2.373, p = 0.018)\* i FS (As, Cd i Pb) (U = 2, Z = -2.373, p = 0.017)\*.

## 4.5. Biološki biljeg u plazmi

### 4.5.1. Koncentracija neurokana u plazmi oboljelih od AB, ispitanika s BSP i zdravih kontrola

Nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima neurokana u plazmi oboljelih od AB, ispitanika s BSP i kontrolnih ispitanika ( $\chi^2 = 2.142$ , st. sl. = 2,  $p = 0.343$ ) (Slika 45, Tablica 42).



Slika 45. Vrijednosti neurokana u plazmi bolesnika s AB, ispitanika s BSP i zdravih kontrola.

Tablica 42. Vrijednosti neurokana u plazmi AB, BSP i KONT ispitanika.

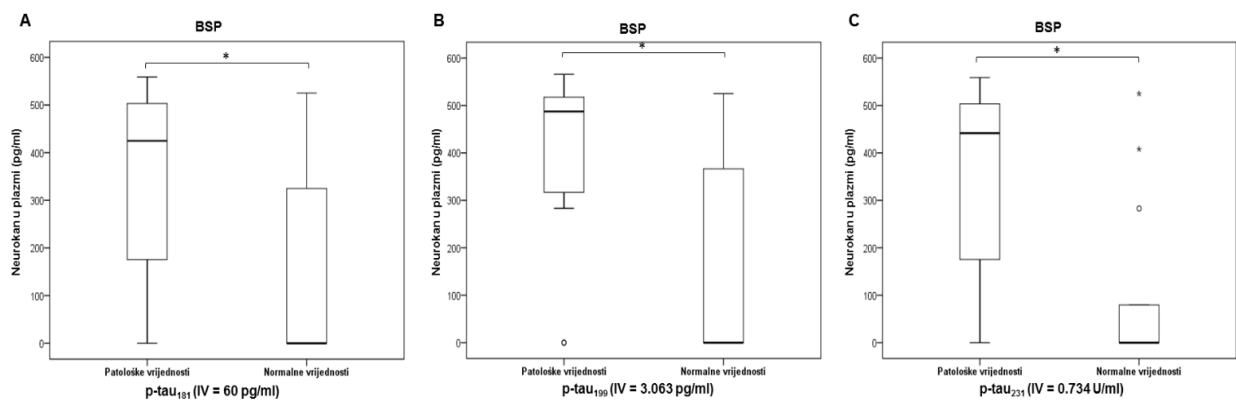
	AB			BSP			KONT		
	N	Srednja vrijednost $\pm$ SD	Medijan (25.-75. percentila)	N	Srednja vrijednost $\pm$ SD	Medijan (25.-75. percentila)	N	Srednja vrijednost $\pm$ SD	Medijan (25.-75. percentila)
<b>Neurokan (pg/ml)</b>	29	305.14 $\pm$ 238.51	416.75 (0 - 462.85)	32	242.23 $\pm$ 234.61	314.13 (0 - 479.57)	11	417.42 $\pm$ 361.42	394.94 (0 - 576.57)

AB, Alzheimerova bolest; BSP, blagi spoznajni poremećaj; KONT, kontrola; N, broj ispitanika; SD, standardna devijacija.

Vrijednosti neurokana su korelirale s vrijednostima ukupnog tau ( $r_s = 0.400$ , st. sl. = 30,  $p = 0.023$ )\*<sup>B</sup>, p-tau<sub>181</sub> ( $r_s = 0.442$ , st. sl. = 27,  $p = 0.016$ )\*<sup>B</sup>, p-tau<sub>199</sub> ( $r_s = 0.467$ , st. sl. = 29,

$p = 0.008$ )\* i  $p\text{-tau}_{231}$  ( $r_s = 0.489$ , st. sl. = 28,  $p = 0.006$ )\* u skupini ispitanika s BSP. U skupini bolesnika s AB i zdravih kontrola nije nađena korelacija neurokana s ijednim od likvorskih proteinskih bioloških biljega. Dodatno, vrijednosti neurokana nisu korelirale s vrijednostima MMSE ni u jednoj od ispitivanih skupina.

Vrijednosti neurokana su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima  $p\text{-tau}_{181}$  (IV = 60 pg/ml) ( $U = 53$ ,  $Z = -2.104$ ,  $p = 0.035$ )\*,  $p\text{-tau}_{199}$  ( $U = 40$ ,  $Z = -2.814$ ,  $p = 0.005$ )\* i  $p\text{-tau}_{231}$  ( $U = 46$ ,  $Z = -2.500$ ,  $p = 0.012$ )\* (**Slika 46**).



**Slika 46.** Vrijednosti neurokana iz plazme u ispitanika s BSP s patološkim i normalnim vrijednostima A)  $p\text{-tau}_{181}$ , B)  $p\text{-tau}_{199}$ , C)  $p\text{-tau}_{231}$ . \* $p < 0.05$ .

## **5. RASPRAVA**



## 5.1. Proteinski biološki biljezi AB

### 5.1.1. Proteinski biološki biljezi u cerebrospinalnoj tekućini

U ovom istraživanju je testiran dijagnostički potencijal mogućih novih likvorskih biljega AB (p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) uspoređivanjem s vrijednostima tzv. temeljnih bioloških biljega (*core biomarkers*) AB (A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupni tau i p-tau<sub>181</sub>) koji se već rabe u ranoj dijagnostici AB (Babić *i sur.*, 2014).

U studiji Leeja i suradnika je predloženo da bi biološki biljezi smrti stanica središnjeg živčanog sustava bolje odražavali napredovanje AB od postojećih temeljnih bioloških biljega (Lee *i sur.*, 2008). VILIP-1, neuronski protein ovisan o kalciju (*neuronal calcium sensor protein*), jedan je od takvih predloženih bioloških biljega neurodegeneracije, odnosno smrti neurona. Vrijednosti VILIP-1 proteina određene pomoću ELISA postupka u ovom su istraživanju dobro pozitivno korelirale sa svim ispitivanim likvorskim proteinskim biološkim biljezima (ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>), osim s A $\beta$ <sub>1-42</sub>. Ipak, razine VILIP-1 proteina u likvoru nisu korelirale s brojem bodova na MMSE ljestvici. Uporabom tog biološkog biljega uspješno su se mogli razlikovati bolesnici s AB od zdravih kontrola te bolesnici s AB i ispitanici s BSP, ali ne i ispitanici s BSP od zdravih kontrola (**Slika 18**, **Tablica 14**). Sveukupno, osjetljivost VILIP-1 proteina kao biološkog biljega za AB je bila 58.9%, specifičnost 80%, pri izlučnoj vrijednosti od 116.26 pg/ml.

I neke su prijašnje studije ukazivale na dijagnostički potencijal VILIP-1 proteina kao biološkog biljega neurodegeneracije (Babić Leko *i sur.*, 2016; Kester *i sur.*, 2015; Lee *i sur.*, 2008; Mroczko *i sur.*, 2015; Sutphen *i sur.*, 2015; Tarawneh *i sur.*, 2011, 2012). Tako je npr. VILIP-1 s visokim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti razlikovao oboljele od AB i DLB (Babić Leko *i sur.*, 2016; Luo *i sur.*, 2013). Pozitivna korelacija izmjerenih razina VILIP-1 proteina u likvoru s ukupnim tau i p-tau<sub>181</sub> opažena u ovom istraživanju je također u suglasju s rezultatima dosadašnjih istraživanja (Lee *i sur.*, 2008; Luo *i sur.*, 2013; Mroczko *i sur.*, 2015). Iako u ovom istraživanju nije zabilježena statistički značajna negativna korelacija između razine VILIP-1 proteina i broja bodova na MMSE ljestvici, dvije su prijašnje studije pokazale da se iz koncentracije VILIP-1 proteina u likvoru te pogotovo omjera VILIP-1/A $\beta$ <sub>1-42</sub> može predvidjeti kognitivno urušavanje kod zdravih osoba i bolesnika s AB (Tarawneh *i sur.*, 2011, 2012). Longitudinalna studija Kestera i suradnika je pokazala da bi se VILIP-1 mogao razmatrati i kao prognostički marker AB (budući da se vrijednosti VILIP-1 proteina u likvoru

kod ispitanika s BSP godišnje povećavaju za 10.7 pg/ml) (Kester *i sur.*, 2015). Izlučna vrijednost VILIP-1 proteina u likvoru određena u ovom istraživanju (116.26 pg/ml) niža je od izlučnih vrijednosti određenih u prijašnjim studijama: 365 pg/ml (Lee *i sur.*, 2008), 535 pg/ml (Tarawneh *i sur.*, 2011) i 560 pg/ml (Tarawneh *i sur.*, 2012), a Sutphen i suradnici su izmjerili kako koncentracija VILIP-1 proteina u likvoru kod zdravih osoba iznosi oko 150 pg/ml (Sutphen *i sur.*, 2015). Glavni razlog navedenih razlika u izmjerenim vrijednostima razine VILIP-1 proteina u likvoru najvjerojatnije leži u činjenici što su u navedenim studijama korišteni drugačiji ELISA kitovi za detekciju VILIP-1 proteina. U ovom istraživanju je razina VILIP-1 proteina određivana uporabom VILIP-1 Human ELISA kita (BioVendor, Brno, Češka). U dvjema prijašnjim studijama u kojima je također korišten taj ELISA kit su vrijednosti VILIP-1 proteina u likvoru bolesnika s AB bile slične vrijednostima VILIP-1 određenim u ovom istraživanju: 145.31 pg/ml (**Tablica 12**), 105 pg/ml (Mroczko *i sur.*, 2015) i 72.1 pg/ml (Luo *i sur.*, 2013). Osjetljivost i specifičnost VILIP-1 proteina u ovom su istraživanju u suglasju s rezultatima Leeja i suradnika (67.9% osjetljivost i 90.5% specifičnost) (Lee *i sur.*, 2008), dok su Luo i suradnici zabilježili nešto više vrijednosti i osjetljivosti i specifičnosti (78.7% i 87.5%) (Luo *i sur.*, 2013).

Čini se kako je najveće ograničenje uporabe VILIP-1 proteina kao biološkog biljega za AB činjenica što se njegova razina povećava sa starenjem (Sutphen *i sur.*, 2015). No, on se i kao takav može smatrati biološkim biljekom općeg stupnja neurodegenerativnih promjena (poput razina ukupnog tau proteina). Prije nego što se počeo rabiti u dijagnostici AB, VILIP-1 je korišten kao biološki biljeg ishemičkog moždanog udara (i razina ukupnog tau proteina se također povećava u likvoru nakon moždanog udara) (Laterza *i sur.*, 2006). Glavno ograničenje ovog istraživanja koje onemogućuje donošenje visoko pouzdanih zaključaka je to što su ispitanici s BSP i zdrave kontrole u prosjeku bili značajno mlađi od bolesnika s AB (**Tablica 12**, **Tablica 14**). Ipak, i bez obzira na navedeno ograničenje, naši rezultati čvrsto podupiru pretpostavku da razina VILIP-1 proteina predstavlja koristan biološki biljeg za ranu dijagnostiku AB i otkrivanje osoba s BSP koje imaju veći rizik za razvoj AB.

Fosforilacija tau proteina na treoninu 231 nastupa jako rano u tijeku AB te prethodi stvaranju NFT u mozgu (Vincent *i sur.*, 1998). Stoga je p-tau<sub>231</sub> često razmatran u kontekstu rane dijagnostike AB (Blennow *i sur.*, 1995; Ishiguro *i sur.*, 1999; Kohnken *i sur.*, 2000). Tako su, primjerice, Blennow i suradnici uporabom ELISA postupka kojim su u likvoru u istom eseju pomoću primarnih protutijela AT180 i AT270 te sekundarnih (biotiniliranih) protutijela HT7 i AT120 mjerili razinu tau proteina fosforiliranih na treoninu 181 i treoninu

231, razlikovali bolesnike s AB od zdravih kontrola s 88%-tnom osjetljivošću i 97%-tnom specifičnošću (Blennow *i sur.*, 1995). Slično tome, Kohnken i suradnici su mjerenjem razine p-tau<sub>231</sub> razlikovali bolesnike s AB od zdravih kontrola s 85%-tnom osjetljivošću i 97%-tnom specifičnošću (Kohnken *i sur.*, 2000). Kombinacija mjerenja razina p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>231</sub> kao bioloških biljega AB u likvoru također se pokazala relativno dobrim postupkom za ranije otkrivanje AB (Bürger *i sur.*, 2002a). Štoviše, u tom istraživanju je povećanje razine p-tau<sub>231</sub> obrnuto koreliralo s kognitivnim sposobnostima u skupini ispitanika s BSP i AB (Bürger *i sur.*, 2002a). I u kasnijim studijama su pomoću p-tau<sub>231</sub> uspješno detektirani ispitanici s BSP čije je stanje progrediralo u AB (Arai *i sur.*, 2000; Brys *i sur.*, 2009; Ewers *i sur.*, 2007). Dodatna vrijednost navedenog istraživanja Bürgera i suradnika jest nalaz da su se bolesnici s AB pomoću vrijednosti p-tau<sub>231</sub> razlikovali od bolesnika s drugim, manje učestalim, primarnim uzrocima sindroma demencije s 90.2%-tnom osjetljivošću i 80%-tnom specifičnošću, a uporabom tog biološkog biljega se osobito dobro razlikovala AB od FTD (Bürger *i sur.*, 2002b). Nešto kasnija multicentrična studija Hampela i suradnika (Hempel *i sur.*, 2004) potvrdila je vrijednost mjerenja razine p-tau<sub>231</sub> u razlikovanju AB od FTD, DLB i VaD. Vrijednosti p-tau<sub>231</sub> su također bile povišene kod AB ispitanika u odnosu na ispitanike s velikim depresivnim poremećajem (Bürger *i sur.*, 2003). Koliko nam je poznato, od svih takvih do sada objavljenih istraživanja jedino Regeniter i suradnici nisu uspjeli s visokom statističkom značajnosti razlikovati zdrave kontrole od bolesnika s AB i ispitanika s BSP, vjerojatno uslijed metodološkog ograničenja (nemogućnosti detekcije niskih vrijednosti p-tau<sub>231</sub>) (Regeniter *i sur.*, 2012).

Mitchell i Brindle su zaključili da u slučaju povišenja razina sva tri p-tau biološka biljega u likvoru, kliničari mogu biti 90% sigurni kako osoba boluje od AB (Mitchell i Brindle, 2003), a Spiegel i suradnici su potvrdili već prije postavljenu hipotezu kako p-tau<sub>231</sub> u likvoru bolje odražava stvaranje NFT u mozgu od p-tau<sub>181</sub> (Bürger *i sur.*, 2006, 2007; Spiegel *i sur.*, 2015). U toj studiji su bolesnici s AB razlikovani od zdravih kontrola s 85%-tnom osjetljivošću i 92%-tnom specifičnošću (Spiegel *i sur.*, 2015). Izlučna vrijednost p-tau<sub>231</sub> je iznosila 25.3 pg/ml (korišten je ELISA kit za detekciju p-tau<sub>231</sub> od Applied NeuroSolutions, Chicago, IL, SAD). Pokazano je i da su vrijednosti p-tau<sub>231</sub> značajno povećane kod nositelja rizičnog ε4 alela *APOE* gena (Bürger *i sur.*, 2005; Spiegel *i sur.*, 2015). U našem istraživanju su vrijednosti p-tau<sub>231</sub> bile značajno povezane sa svim ispitivanim proteinskim biološkim biljezima i brojem bodova na MMSE ljestvici. Bolesnici s AB su uporabom p-tau<sub>231</sub> razlikovani od zdravih kontrola sa 76.7%-tnom osjetljivošću i 77.8%-tnom

specifičnošću pri izlučnoj vrijednosti od 0.734 U/ml. Najveće ograničenje p-tau<sub>231</sub> kao potencijalnog biološkog biljega AB je velika varijabilnost između studija u korištenim ELISA testovima. Stoga je izuzetno teško odrediti jedinstvenu izlučnu vrijednost za postavljanje dijagnoze AB. Ipak, zbog izvrsnih rezultata postignutih mjerenjima razine p-tau<sub>231</sub> u likvoru radi postavljanja pouzdane rane dijagnoze AB i bez obzira na proizvođača ELISA kita kojim je mjerenje izvršeno, testovi za određivanje tog biološkog biljega u likvoru bi se trebali što prije standardizirati na međunarodnoj razini te odrediti izlučne vrijednosti koje bi se koristile u svim ustanovama u kojima se vrši navedena dijagnostika.

U odnosu na p-tau<sub>181</sub>, do sada je p-tau<sub>199</sub> kao biološki biljeg AB u likvoru vrjednovan u puno manjem broju objavljenih rezultata istraživanja. Tako su Itoh i suradnici (Itoh *i sur.*, 2001) pomoću p-tau<sub>199</sub> detektirali AB s vrlo visokom osjetljivošću (iznad 85%), dok su Boban i suradnici (Boban *i sur.*, 2010) kombinacijom ukupnog tau i p-tau<sub>199</sub> razlikovali FTD od AB s 88%-tnom točnošću. Vrijednosti p-tau<sub>199</sub> su također bile značajno povišene i kod bolesnika s AB u odnosu na ispitanike s VaD (Boban *i sur.*, 2008). Ishiguro i suradnici su pomoću p-tau<sub>199</sub> razlikovali bolesnike s AB od zdravih kontrola s 94%-tnom osjetljivošću i 80%-tnom specifičnošću (Ishiguro *i sur.*, 1999), a Hampel i suradnici s 85%-tnom osjetljivošću i 82%-tnom specifičnošću (Hampel *i sur.*, 2004). Urukami je uporabom razine p-tau<sub>199</sub> u likvoru kao biološkog biljega s visokim vrijednostima osjetljivosti (85.2%) i specifičnosti (85%) razlučio bolesnike s AB od ispitanika s ostalim primarnim i sekundarnim tauopatijama, te je uspješno detektirao sve ispitanike s BSP čije je stanje progrediralo u AB (Urukami, 2006). U našem je istraživanju vrijednost koncentracije p-tau<sub>199</sub> u likvoru kao biološkog biljega postigla relativno nisku, 58.8%-tnu osjetljivost i 78.9%-tnu specifičnost u razlikovanju AB od zdravih kontrola, s izlučnom vrijednošću od 3.06 pg/ml. Pomoću izmjerene razine p-tau<sub>199</sub> u likvoru su se također razlikovali bolesnici s AB i ispitanici s BSP od zdravih kontrola (s tim da nije bilo razlike u vrijednostima p-tau<sub>199</sub> između skupine bolesnika s AB i skupine ispitanika s BSP) (**Slika 18**, **Tablica 14**). Dodatno su vrijednosti p-tau<sub>199</sub> dobro korelirale sa svim ispitivanim proteinskim biološkim biljezima. Kao i kod p-tau<sub>231</sub>, najvažniji uzrok velike varijabilnosti u izmjerenim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> u likvoru je uporaba zaštićenih ELISA testova različitih proizvođača (Babić *i sur.*, 2013).

Sveukupno gledajući, s postignutim vrijednostima osjetljivosti od 80.6% i specifičnosti od 73.7% od svih se ispitivanih proteinskih bioloških biljega za AB najboljim pokazao p-tau<sub>181</sub> (**Tablica 15**). Tim biološkim biljegom se na našem uzorku postiglo i

uspješno (statistički značajno) razlikovanje svih ispitivanih skupina (AB, BSP i zdravih kontrola).

### **5.1.2. Faktorski skor likvorskih proteinskih bioloških biljega**

Otkrivanje AB kod asimptomatičnih osoba je još uvijek jako teško, čak i u specijaliziranim ustanovama. U posljednjih se nekoliko godina snažno razvio koncept rane dijagnoze bolesti koji se zasniva na kombinaciji različitih bioloških biljega (Fagan i Holtzman, 2010). Tako je još 2010. godine predloženo da se uz likvorske biljege u ranom otkrivanju AB koriste i *APOE* genotip te neuroslikovni biljezi – MR volumetrija medijalnog dijela sljepoočnog režnja i vizualizacija amiloida *in vivo* (Dubois *i sur.*, 2010). Stoga je fokus novijih studija poboljšanje dijagnostike AB kombinacijom različitih bioloških biljega (likvorskih, neuroslikovnih i genetičkih). Zbog lakoće i najmanje invazivnosti samog postupka skupljanja uzoraka, najbolje bi bilo kada bi se pronašli pouzdani biološki biljezi AB u krvi (plazmi ili serumu) ili urinu. Nažalost, svi takvi do sada predloženi biološki biljezi za AB imali su nizak stupanj točnosti (Flood *i sur.*, 2011). Po stupnju složenosti i skupoći, sljedeća je mogućnost određivanje bioloških biljega iz likvora. Ipak, budući da se postupak lumbalne punkcije još uvijek smatra relativno invazivnim postupkom, usprkos činjenici da su komplikacije toga postupka relativno beznačajne i vrlo rijetke ako se postupak pravilno izvede sterilnim priborom, informirani pristanak za tu pretragu potpisuje značajno manji broj ispitanika, odnosno njihovih skrbnika. Nažalost, neuroslikovni su biološki biljezi zbog uporabe skupih radionuklida i sofisticirane tehnike kakvu ne posjeduju većina dijagnostičkih centara još uvijek u većini zemalja Europske unije najmanje korišteni postupak u dijagnostici AB. Za usporedbu, MRI je 3 puta, a PIB-PET 25 puta skuplji od mjerenja koncentracija  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau i p-tau<sub>181</sub> u likvoru oboljelih. Zato se dijagnostički potencijal temeljnih bioloških biljega pokušava dodatno poboljšati novim biološkim biljezima u likvoru. Na taj način bi se uz manje troškove omogućilo ranije otkrivanje AB, možda čak i kod asimptomatičnih pojedinaca u pretkliničkoj fazi bolesti, što bi ujedno olakšalo primjenu potencijalnih terapeutika prije nastupa ireverzibilnih patoloških promjena. Sam bi nalaz istovremeno poslužio kako za osmišljavanje individualiziranog liječenja za svaku osobu ponaosob (personalizirana medicina), tako i za praćenje odgovora bolesnika na propisano mu liječenje (teragnostika).

U novije se vrijeme sve više koristi tehnologija višestrukih ELISA mjerenja većeg broja bioloških biljega (multiplex ELISA) istovremeno (u istom uzorku likvora). Tako se primjerice Luminex xMAP tehnologija (Luminex, Austin, TX, SAD) u sve većem broju istraživanja koristi za istovremeno određivanje vrijednosti  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau i p-tau<sub>181</sub> u likvoru. Sam po sebi taj postupak smanjuje varijabilnost koja nastaje kada se navedeni biološki biljezi mjere zasebnim ELISA kitovima. Dodatno je u jednoj nedavnoj studiji pokazano kako se pomoću ciljane višestruke proteomske analize (LC-MS/MS esej, *Liquid chromatography tandem-mass spectrometry*) u samo 100  $\mu$ l likvora istovremeno može određivati čak pet novijih potencijalnih bioloških biljega povezanih s AB (YKL-40, cistatin C, osteopontin, ukupni ApoE i L-malat dehidrogenaza) (Paterson *i sur.*, 2016).

U našem su istraživanju najviše vrijednosti osjetljivosti (iznad 80%) postignute kombinacijom  $A\beta_{1-42}$  peptida i VILIP-1 proteina, ukupnog tau i p-tau<sub>231</sub> proteina, p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>231</sub> proteina te pet bioloških biljega ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1), a 42 od 57 mogućih kombinacija šest bioloških biljega rezultirale su visokim vrijednostima specifičnosti (iznad 80%) (**Tablica 36**). Najviše zbirne vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti dobivene su kombinacijom p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>231</sub> (osjetljivost 80.1%, specifičnost 77.8%) i pet odabranih bioloških biljega ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) (osjetljivost 80.1%, specifičnost 77.8%). Povrh toga se kombinacijom p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>231</sub> te p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub> postiglo razlikovanje svih ispitivanih skupina (AB, BSP i zdravih kontrola), što je inače postignuto jedino pomoću p-tau<sub>181</sub> kao pojedinačnog biološkog biljega.

U drugom dijelu ispitivanja dijagnostičkog potencijala likvorskih bioloških biljega AB se kombinacijom različitih bioloških biljega nastojala odrediti vjerojatnost AB kod ispitanika s BSP. U navedenu svrhu je napravljena logistička regresija na FS dobivenim kombinacijom različitih bioloških biljega s najvišim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti (**Tablica 36**). Iz dobivenih sedam regresijskih modela (**Tablica 39**) su izrađene jednadžbe za određivanje vjerojatnosti nastanka AB kod ispitanika s BSP. Te se jednadžbe mogu koristiti samo za sveukupnu procjenu nastanka AB u ispitanika s BSP, ali ne i za određivanje individualne vjerojatnosti kroz koje će vrijeme kod pojedinog ispitanika s BSP bolest nastati. To je posljedica činjenice što postupak logističke regresije korištene u ovom radu u sebi nema komponentu vremena i predikcije, već samo vjerojatnost klasifikacije bolestan/zdrav. Prema ovom modelu, u najrizičniju podskupinu su svrstani oni ispitanici s BSP za koje je pokazana vjerojatnost nastanka AB, kako slijedi: 1) iznad 95% (20-25% ispitanika s BSP), 2) iznad 90% (kumulativno na prvonavedenu skupinu, sveukupno 37-41% ispitanika s BSP) te 3)

iznad 85% (kumulativno na prve dvije skupine, sveukupno 47-54% ispitanika s BSP) (**Tablica 40**).

Kombinacijom likvorskih bioloških biljega napravljena je i jednostavnija analiza svrstavanjem ispitanika s BSP u sedam skupina na temelju broja patoloških bioloških biljega (0, 1, 2, 3, 4, 5 i 6 patoloških biljega). Prema ovoj analizi, u najrizičnije se svrstavaju oni ispitanici s BSP koji imaju četiri ili više patoloških bioloških biljega (22-39% ispitanika s BSP). Relativno visok rizik za obolijevanje od AB imaju i ispitanici s BSP s tri i više patoloških likvorskih biomarkera (sveukupno 40-50% ispitanika s BSP), dok ispitanici s jednim ili dva patološka biološka biljega imaju izrazito nizak rizik za razvoj AB (sveukupno oko 35% ispitanika s BSP). Bez rizika za razvoj AB je preostalo 13-20% ispitanika s BSP (ispitanici bez ijednog patološkog likvorskog biološkog biljega) (**Tablica 41**). Glavna ograničenja navedenih rezultata proizlaze iz toga što se radi o presječnom, a ne longitudinalnom istraživanju. Stoga bi za definitivnu potvrdu navedenih vjerojatnosti o razvoju AB kod osoba s BSP bilo potrebno izvršiti i njihovo longitudinalno praćenje. Ipak, i bez obzira na nemogućnost potpuno pouzdanog predviđanja, smatramo kako bi liječnicima u specijaliziranim kliničkim ustanovama nakon prvog neurološkog ili psihijatrijskog pregleda, te neuropsihološkog testiranja i izuzimanja likvora osobe s BSP, za daljnji rad i praćenje bila izuzetno korisna informacija o vjerojatnosti razvoja AB procijenjena ovim istraživanjem. Tako bi se pacijente s visokim rizikom za razvoj AB moglo ranije početi liječiti, pomnije i češće pratiti, te uključiti u istraživanja djelovanja novih lijekova. Na taj način bi od ovog modela za određivanje vjerojatnosti AB kod osoba s BSP korist imale ne samo te osobe, već i njihove obitelji i društvo u cjelini. Od dvaju izrađenih modela za predviđanje AB kod ispitanika s BSP (prvog, gdje se preko jednadžbi dobivenih logističkom regresijom te drugog, kojime se vrši razvrstavanje ispitanika s BSP u sedam skupina na temelju broja patoloških bioloških biljega), smatramo drugonavedeni model (sa sedam podskupina) pogodnijim za širu primjenu, prvenstveno zbog jednostavnosti primjene. Na temelju usporedbe dobivenih i izlučnih vrijednosti ispitivanih bioloških biljega, njime bi liječnici u kliničkim ustanovama mogli osobe s BSP svrstati u jednu od odgovarajućih skupina i na temelju toga odrediti daljnji postupak praćenja i eventualnih modaliteta liječenja. Zbog svega navedenog nadamo se kako će ovo istraživanje unaprijediti medicinsku skrb za naše bolesnike, a također očekujemo kako će osim pozitivnog učinka u kliničkoj praksi naš model imati pozitivan učinak i na druga slična biomedicinska istraživanja neurodegenerativnih bolesti u Republici Hrvatskoj.

### 5.1.3. Proteinski biološki biljeg u plazmi

U ovom istraživanju je provedeno i vrjednovanje jednog potencijalnog biološkog biljega AB iz plazme – proteina izvanstaničnog matriksa neurokana. Budući da još uvijek ne postoje niti neki preliminarni rezultati u literaturi o mogućoj povezanosti koncentracije neurokana u plazmi s AB, do ideje o ispitivanju dijagnostičkog potencijala neurokana smo došli na temelju preliminarnih imunohistokemijskih rezultata dobivenih na uzorcima moždanog tkiva hipokampusa čovjeka (navedeni rezultati nisu prikazani u ovom istraživanju). Naime, ti rezultati ukazuju na promijenjenu izraženost proteina neurokana u moždanom tkivu osoba s AB u odnosu na zdrave ispitanike. Iako neurokan mjereno u plazmi nije pokazao razliku između ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT), vrijednosti neurokana su pozitivno korelirale s vrijednostima ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>. Također su vrijednosti neurokana bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>. Stoga, iako nije utvrđen velik dijagnostički potencijal neurokana iz plazme, s obzirom na njegovu dobru povezanost s likvorskim proteinskim biološkim biljezima AB, smatramo kako ispitivanje povezanosti neurokana s AB zaslužuje pomniju analizu na većem uzorku ispitanika svih triju skupina.



## 5.2. Kognitivni evocirani potencijali

U ovom istraživanju je provedena usporedba reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala ispitanika s vrijednostima ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 u likvoru. Kognitivni evocirani potencijali predstavljaju dostupan i neinvazivan način za poboljšanje točnosti postavljanja rane dijagnoze AB. U ranoj dijagnostici AB je se do danas uglavnom koristio P300 kognitivni evocirani potencijal, a zatim i N200. Dok se P300 kognitivni evocirani potencijal odnosi na odgovor mozga na obradu osjetnih informacija (evaluaciju zadanih podražaja i izvršavanje pripreme za motoričko djelovanje kao odgovor na navedene podražaje) (Katada *i sur.*, 2004; Twomey *i sur.*, 2015), N200 kognitivni evocirani potencijal se odnosi na odgovor mozga na razlikovanje podražaja (Howe, 2014; Ritter *i sur.*, 1982). Dodatno je uočeno da je reakcijsko vrijeme potrebno za izvršavanje zadatka koji se daje ispitanicima tijekom snimanja kognitivnih evociranih potencijala, produženo kod oboljelih od BSP i AB (van Deursen *i sur.*, 2009; Golob i Starr, 2000; Levinoff *i sur.*, 2005). U istraživanjima se također nastoji utvrditi dijagnostički potencijal N400 i P600 kognitivnih evociranih potencijala za procjenu rizika konverzije BSP u AB (Olichney *i sur.*, 2008). N400 i P600 kognitivni evocirani potencijali ponajviše odražavaju verbalne sposobnosti ispitanika. Pri tome se N400 više odnosi na verbalno učenje (leksičko-semantičku integraciju), dok se P600 potencijal snimi prilikom sintaktičkih pogrešaka tj. poremećenog redoslijeda riječi u rečenici (Beim Graben *i sur.*, 2008).

### 5.2.1. Usporedba kognitivnih evociranih potencijala između AB, BSP i kontrolne skupine ispitanika

U ovom istraživanju su uspoređene vrijednosti reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala (P300 i N200) između AB i BSP pacijenata i zdravih kontrola. Utvrđeno je da su vrijednosti latencije P300 potencijala značajno više u skupini bolesnika s AB u odnosu na pacijente s BSP i zdrave kontrole. Vrijednosti reakcijskog vremena su značajno više u skupini bolesnika s AB u odnosu na pacijente s BSP, ali nije uočena značajna razlika između AB pacijenata i zdravih kontrola (**Slike 20, 21 i 22**). Pomoću vrijednosti latencije P300 potencijala (brojanje) su se uspjeli razlikovati BSP pacijenti od zdravih kontrola (latencija P300 potencijala je bila značajno produžena kod pacijenata s BSP) (**Slike 20 i 22**). Uporabom podataka o latenciji P300 i N200 su se bolesnici s AB razlikovali od

zdravih kontrola s visokim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti (**Slika 23, Tablica 19**). Najviše vrijednosti osjetljivosti (90.9%) i specifičnosti (100%) su postignute uporabom latencije P300 potencijala (brojanje), što se podudara s istraživanjem Bennysa i suradnika (Bennys *i sur.*, 2007). S obzirom na uspješno razlikovanje svih triju skupina ispitanika, te visokih vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti, može se zaključiti da je latencija P300 potencijala (brojanje) kognitivni evocirani potencijal s najboljim dijagnostičkim potencijalom za AB. Budući da nisu određene brojčane vrijednosti amplitude P300, već samo opisni podaci o amplitudi (snižena, normalna, povišena), u ovom istraživanju nije bilo moguće provesti kvantitativnu usporedbu vrijednosti amplitude P300 potencijala između ispitivanih skupina. Ti rezultati se djelomično podudaraju s rezultatima meta-analize provedene 2014. godine (Howe, 2014), u kojoj je utvrđena čvrsta povezanost produljenja latencije P300 potencijala i poremećene aktivnosti moždane kore u osoba s BSP i AB. Iz te meta-analize su isključene studije u kojima: 1) su snimani vidni evocirani potencijali, 2) nije uključena kontrolna skupina, 3) su analize rađene na istim ispitanicima, 4) su statističke analize prikazane grafički ili kao p-vrijednosti. Meta-analizom je potvrđena statistički značajna razlika u vrijednosti latencije P300 potencijala između bolesnika s AB i kontrola te BSP pacijenata i kontrola. Tom meta-analizom nije potvrđena statistički značajna razlika u vrijednostima latencije P300 potencijala između AB i BSP pacijenata (Howe, 2014). Za razliku od toga, kod naših su ispitanika vrijednosti latencije P300 potencijala značajno povišene kod bolesnika s AB u odnosu na pacijente s BSP. Ipak, u dvije skupine ispitanika (koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije i kojima je mjerena latencija P300 potencijala (brojanje), koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije i kojima je mjerena latencija P300RV), nije utvrđena statistička razlika u vrijednostima latencije P300 potencijala između bolesnika s AB i BSP pacijenata.

Mnoge prijašnje studije su pokazale da je u AB latencija P300 potencijala produljena (Cecchi *i sur.*, 2015; Chang *i sur.*, 2014; van Deursen *i sur.*, 2009), a amplituda snižena (Cecchi *i sur.*, 2015; Chang *i sur.*, 2014; van Deursen *i sur.*, 2009; Lee *i sur.*, 2013). Dodatno je zabilježeno i produljenje latencije P300 potencijala kod BSP pacijenata u odnosu na zdrave kontrole (Bennys *i sur.*, 2011; Frodl *i sur.*, 2002; Papaliagkas *i sur.*, 2011). U nekim je studijama pokazano da se praćenjem P300 potencijala može s visokom sigurnošću predvidjeti progresija BSP u AB (van Deursen *i sur.*, 2009; Golob *i sur.*, 2009; Papaliagkas *i sur.*, 2008). Kod oboljelih od AB je dokazana i produljena latencija N200 (Bennys *i sur.*, 2007; Caravaglios *i sur.*, 2008; Cecchi *i sur.*, 2015; Chang *i sur.*, 2014; van Deursen *i sur.*, 2009;

Golob i Starr, 2000; Gungor *i sur.*, 2005; Howe, 2014; Masanaka *i sur.*, 2005; Missonnier *i sur.*, 2007; Muscoso *i sur.*, 2006; Saito *i sur.*, 2001; Sumi *i sur.*, 2001; Taguchi *i sur.*, 2003; Wang *i sur.*, 2013) te snižena amplituda N200 potencijala (Cecchi *i sur.*, 2015; Papaliagkas *i sur.*, 2011). Povrh toga je latencija N200 potencijala bila značajno produljena i kod BSP pacijenata u odnosu na zdrave kontrole (Gozke *i sur.*, 2016; Howe, 2014; Missonnier *i sur.*, 2007; Papaliagkas *i sur.*, 2009). U prijašnjim studijama je također utvrđeno produljenje latencije N200 potencijala kod bolesnika s AB u odnosu na pacijente s BSP (van Deursen *i sur.*, 2009; Lai *i sur.*, 2010; Missonnier *i sur.*, 2007; Wang *i sur.*, 2013), što je u suglasju s našim rezultatima.

Pokazano je da se i pomoću reakcijskog vremena bolesnici s AB mogu razlikovati od zdravih kontrola (Golob i Starr, 2000; Gordon i Carson, 1990; Levinoff *i sur.*, 2005; Storandt i Beaudreau, 2004), što u ovoj studiji nije potvrđeno. No, u našoj studiji su vrijednosti reakcijskog vremena bile značajno više kod bolesnika s AB u odnosu na BSP pacijente, kao što je i očekivano (van Deursen *i sur.*, 2009).

Glavno ograničenje ispitivanja dijagnostičkog potencijala kognitivnih evociranih potencijala u ranom otkrivanju AB koje je provedeno u ovom istraživanju (s obzirom na činjenicu da se sa starenjem latencija P300 potencijala produljuje, a amplituda smanjuje (Ashford *i sur.*, 2011; Clawson *i sur.*, 2017)) je to da su kontrolni ispitanici bili značajno mlađi od bolesnika s AB i BSP pacijenata (**Tablica 16, Tablica 18**). No, kako nije bilo značajne razlike u dobi bolesnika s AB i BSP pacijenata, a vrijednosti RV, P300 i N200 su se statistički značajno razlikovale između ove dvije skupine u gotovo svim usporedbama (**Slika 20-22, Tablica 18**), smatramo da je dokumentirano produljenje latencije P300 potencijala kod bolesnika s AB u ovom istraživanju ipak više posljedica patoloških procesa nego starenja.

Budući da je ovo istraživanje bilo orijentirano prema što točnijem ranom otkrivanju AB, naredna istraživanja bi se trebala temeljiti na ispitivanju potencijala kognitivnih evociranih potencijala u razlikovanju AB od drugih primarnih uzroka sindroma demencije. Vrijednost kognitivnih evociranih potencijala u diferencijalnoj dijagnozi demencije je naglašavana i u prijašnjim studijama. Tako je zapaženo da je latencija P300 potencijala značajno produljena, dočim je amplituda P300 potencijala značajno snižena kod bolesnika s VaD u odnosu na kontrolne ispitanike (Egerházi *i sur.*, 2008; Khedr *i sur.*, 2009; Xu *i sur.*, 2012; Yamaguchi *i sur.*, 2000). U istraživanju Yamaguchija i suradnika nije nađena razlika u vrijednosti latencije i amplitude P300 potencijala između skupina bolesnika s VaD i AB

(Yamaguchi *i sur.*, 2000). U okviru istog istraživanja su autori mjerili i amplitudu i latenciju P300 potencijala koji nastaje kao odgovor na ometajući podražaj, pri čemu su bolesnici s VaD imali značajno sniženu amplitudu u odnosu na bolesnike s AB i kontrolne ispitanike (Yamaguchi *i sur.*, 2000). U bolesnika s DLB je latencija P300 potencijala bila značajno produljena, a amplituda značajno snižena u odnosu na bolesnike s AB (Yamaguchi *i sur.*, 2000), a uz to je uočena i topografska razlika u latenciji P300 potencijala između tih dviju skupina bolesnika: bolesnici s DLB su imali maksimum latencije više sprijeda u odnosu na bolesnike s AB, kojima je maksimum latencije bio straga (uz uspješnost razlikovanja DLB od AB sa 70%-tnom osjetljivošću i 97%-tnom specifičnošću) (Bonanni *i sur.*, 2010). U studiji koju su proveli Jiménez-Escrig i suradnici je utvrđeno da su FTD pacijenti imali značajno kraće vrijednosti latencije P300 u odnosu na bolesnike s AB (iako nisu utvrdili razliku u latenciji P300 potencijala između bolesnika s FTD i kontrolnih ispitanika) (Jiménez-Escrig *i sur.*, 2002). Dvije novije studije u kojima je razmatran dijagnostički potencijal kognitivnih evociranih potencijala u razlikovanju bolesnika s FTD i AB rezultirale su oprečnim rezultatima. Chen i suradnici nisu zabilježili razliku u latenciji P300 potencijala između bolesnika s FTD i AB, ali je zato amplituda P300 potencijala bila značajno snižena kod bolesnika s FTD u odnosu na skupinu bolesnika s AB (Chen *i sur.*, 2015). Wang i suradnici su detektirali značajno produljenu latenciju P300 potencijala u bolesnika s FTD u odnosu na bolesnike s AB (Wang *i sur.*, 2016). Vjerojatni uzrok navedenim odstupanjima između studija je klinička i neuropatološka heterogenost FTD. Dok su Chen i suradnici te Wang i suradnici u svoje studije uključili bolesnike s bvFTD, Jiménez-Escrig i suradnici su uz bolesnike s bvFTD uključili i bolesnike sa SD i primarnom progresivnom afazijom (PPA) (Chen *i sur.*, 2015; Jiménez-Escrig *i sur.*, 2002; Wang *i sur.*, 2016).

Također je zabilježeno da je amplituda P300 potencijala bila snižena kod četvero pacijenata s PPA (neurološki sindrom koji može biti uzrokovan FTD ili AB) (Onofrij *i sur.*, 1995). Budući da je za nastanak P300 potencijala najvažnija kolinergička bazalna jezgra (Šimić *i sur.*, 1999), a kao odgovor na kolinergičku facilitaciju, P300 potencijal se generira u sljepoočnom režanju, tjemenom režanju i hipokampusu (Yamaguchi i Knight, 1991), Šimić i suradnici su povezali promijenjeni potencijal P300 u PPA (Onofrij *i sur.*, 1995) s oštećenjem kolinergičke bazalne jezgre u PPA (posebice subputaminalne jezgre koja je dio kolinergičke bazalne jezgre) te naglasili važnost istraživanja patoloških promjena subputaminalne jezgre u PPA (Šimić *i sur.*, 1999). Poremećaj evociranih potencijala u PPA je opisan i u prikazu slučaja bolesnika s PPA gdje su Giaquinto i Ranghi pokazali da je latencija N400 potencijala

produljena u odnosu na kontrolne ispitanike, s tim da je se produljenje N400 potencijala pogoršalo nakon jedne godine, a nakon dvije godine N400 potencijala kod bolesnika s PPA uopće više nije bilo (Giaquinto i Ranghi, 2009).

### 5.2.2. Usporedba kognitivnih evociranih potencijala s neuropsihološkim testiranjem

Uobičajeno je produljenje latencije P300 potencijala u negativnoj korelaciji s rezultatima neuropsiholoških testova kojima se kod bolesnika s AB ispituju kognitivne sposobnosti (Lee *i sur.*, 2013). U ovoj studiji je provedena usporedba vrijednosti reakcijskog vremena te latencije P300 i N200 s brojem bodova dobivenom pomoću MMSE. Vrijednosti N200RV, N200 brojanje i P300 brojanje su negativno korelirale s brojem MMSE bodova u svim ispitivanim skupinama (2 + 3 frekvencije, 2 frekvencije i 3 frekvencije). Vrijednosti reakcijskog vremena su negativno korelirale s vrijednostima MMSE u skupini svih ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s 2 i 3 frekvencije, dok je se ova korelacija nakon Bonferronijeve korekcije izgubila u skupini svih ispitanika i pacijenata s BSP koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s 3 frekvencije. Vrijednosti P300RV su negativno korelirale s vrijednostima MMSE u skupini svih ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s 2 i 3 frekvencije, dok je se ova korelacija nakon Bonferronijeve korekcije izgubila u skupini svih ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s 2 frekvencije i s 3 frekvencije (**Tablica 23**, **Slika 27**). Na temelju broja bodova dobivenih pomoću MMSE, bolesnici s AB su podijeljeni u dvije podskupine prema težini bolesti (blaga AB: MMSE 20-25 i umjerena i teška AB: MMSE 10-19). Nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala između te dvije skupine bolesnika (**Tablica 24**). Vjerojatno objašnjenje ovog neočekivanog rezultata je premala veličina skupine koja nije bila dovoljna da bi razlika dosegla statističku značajnost. Ovi rezultati podudarni su s rezultatima prijašnjih istraživanja u kojima je također pokazana negativna korelacija broja bodova prema MMSE s vrijednostima latencije P300 (Bennys *i sur.*, 2007; Bonanni *i sur.*, 2010; Braverman i Blum, 2003; Lee *i sur.*, 2013) i latencije N200 potencijala (Bennys *i sur.*, 2007; Papaliagkas *i sur.*, 2011). Potvrđena je i pozitivna korelacija vrijednosti amplitude P300 potencijala s brojem bodova prema MMSE (Bennys *i sur.*, 2007). Iako u nekim istraživanjima nije nađena korelacija između broja bodova prema MMSE i latencije P300 (Papaliagkas *i sur.*, 2008, 2011), amplitude P300 i N200 te latencije N200 potencijala (Papaliagkas *i sur.*, 2008), u većini su do sada objavljenih istraživanja vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala dobro

korelirale s vrijednostima drugih neuropsiholoških testova koji se koriste u ranoj dijagnostici demencija, kao što su testovi u kojima se ispituju kognitivne sposobnosti (npr. WAIS, *Wechsler Adult Intelligence Scale*, Wechslerov test inteligencije za odrasle osobe; ADAS-cog, *Alzheimer's Disease Assessment Scale – cognitive subscale*, ljestvica za ocjenjivanje AB, kognitivna podljestvica; CAF, *Clinician Assessment of Fluctuations*, test za kliničko ocjenjivanje fluktuacije kognicije) (Bonanni *i sur.*, 2010; van Deursen *i sur.*, 2009; Liu *i sur.*, 2007), testovi prepoznavanja liste riječi (npr. WLRcT, *word list recognition test*), testovi kratkoročnog i odgođenog prisjećanja (npr. CVLT, *California Verbal Learning Test*, kalifornijski test verbalnog učenja; CNSM, *Central Nervous System Vital Signs Memory Test*, test vitalnih znakova pamćenja središnjeg živčanog sustava; WMS-III, *Wechsler Memory Scale*, Wechslerova ljestvica za ispitivanje pamćenja), testovi konstrukcijske praksije (sposobnosti slaganja elemenata u cjelinu, uključujući i precrtavanje crteža trodimenzionalnih objekata), (Braverman *i sur.*, 2013, 2015; Lee *i sur.*, 2013; Parra *i sur.*, 2012), testovi organizacijskih (npr. planiranje, rješavanje problema, radno pamćenje, kognitivna fleksibilnost, apstraktno mišljenje, usvajanje pravila, usmjeravanje pažnje na relevantne osjetne informacije, itd.) i regulacijskih (npr. sposobnosti samokontrole, uvida u vanjske i unutarnje osjetne podražaje i njihovog nadzora, odgađanja trenutnih želja, iniciranja i odgađanja donošenja odluka na temelju procjene rizika, kako kontekstualnih tako i onih moralne naravi, itd.) izvršnih funkcija (test verbalne fluentnosti, *Trail Making Test part B* (test u kojemu treba spojiti u pravilnom slijedu 25 kružića na papiru ili monitoru označenih brojevima, A dio, ili naizmjenično brojevima i slovima, B dio), Stroop test (ispitanik treba pročitati naziv određene boje, za što je potrebno više vremena ako riječ koja označava navedenu boju nije i ispisana istom bojom; (Lovett, 2005)) (Bennys *i sur.*, 2007; Kim *i sur.*, 2003; Kindermann *i sur.*, 2000; Lee *i sur.*, 2013; Souza *i sur.*, 1995), pozornost (*Trail Making Test part A*, TOVA, *Test of Variables of Attention*, test varijabilnosti pozornosti) (Bennys *i sur.*, 2007; Braverman *i sur.*, 2013; Lee *i sur.*, 2013) te nekognitivne promjene u ponašanju (NPI, *Neuropsychiatry Inventory*, neuropsihijatrijski inventar) (Bonanni *i sur.*, 2010). Iako malobrojna dosadašnja istraživanja korelacije kognitivnih evociranih potencijala i broja bodova dobivenog pomoću MMSE ljestvice zbog relativno malog broja ispitanika nisu polučila značajne korelacije (Papaliagkas *i sur.*, 2008, 2011), dobiveni stupnjevi korelacije neuropsiholoških testova s kognitivnim evociranim potencijalima u ovom istraživanju upućuju kako bi se kognitivni evocirani potencijali osim u ranoj dijagnostici mogli rabiti i za određivanje podstadija BSP i AB, te pretkazivanje napredovanja BSP u AB.

### 5.2.3. Usporedba kognitivnih evociranih potencijala s biološkim biljezima AB

Dobro je poznata činjenica da su vrijednosti P300 potencijala promijenjene i u drugim primarnim uzrocima sindroma demencije (VaD, DLB, FTD) (Bonanni *i sur.*, 2010; Chen *i sur.*, 2015; Egerházi *i sur.*, 2008; Jiménez-Escrig *i sur.*, 2002; Khedr *i sur.*, 2009; Wang *i sur.*, 2016; Xu *i sur.*, 2012; Yamaguchi *i sur.*, 2000) te različitim neuropsihijatrijskim poremećajima, npr. depresiji (Vandoolaeghe *i sur.*, 1998) i shizofreniji (Jeon i Polich, 2003). Stoga su za poboljšavanje dijagnostičke specifičnosti kognitivnih evociranih potencijala potrebni dodatni biološki biljezi. U ovom istraživanju je provedena usporedba reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala s likvorskim proteinskim biološkim biljezima. U jednoj prijašnjoj studiji su vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala uspoređene s vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (Papaliagkas *i sur.*, 2010), ali još uvijek nije provedena usporedba reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala s likvorskim biljezima AB ukupnim tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1. U longitudinalnoj studiji koju su proveli Papaliagkas i suradnici utvrđeno je da se kombiniranim mjerenjem amplitude i latencije P300 potencijala te razine  $A\beta_{1-42}$  u likvoru može predvidjeti konverzija BSP pacijenata u AB s visokom dijagnostičkom osjetljivošću i specifičnošću (oboje iznad 80%) (Papaliagkas *i sur.*, 2010). Pokazano je također i da su pacijenti s BSP koji su imali patološke vrijednosti  $A\beta_{1-42}$  i p-tau<sub>181</sub> i veće amplitude potencijala P50 (Green *i sur.*, 2015), dok je kod bolesnika s AB uočena pozitivna korelacija amplitude P300 potencijala i razine 5-HIAA (5-hidroksiindol octena kiselina, *5-hydroxyindoleacetic acid*) u likvoru (vrijednosti 5-HIAA snižene su u likvoru oboljelih od AB) (Ito *i sur.*, 1990).

Ukoliko zajednički promatramo rezultate obje paradigme (paradigma RV i paradigma brojanje), kod skupine svih ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP i s dvije i s tri frekvencije su vrijednosti latencije P300 potencijala pozitivno korelirale s vrijednostima p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>. Korelacija latencije P300 potencijala s  $A\beta_{1-42}$  i VILIP-1 je izgubljena nakon primjene Bonferronijeve korekcije radi višestrukih usporedbi. Vrijednosti latencije potencijala N200 su negativno korelirale s vrijednostima  $A\beta_{1-42}$ , a pozitivno s vrijednostima p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>. Pozitivna korelacija s ukupnim tau i VILIP-1 je izgubljena nakon primjene Bonferronijeve korekcije (**Tablica 20, Slika 24**).

Kod skupine svih ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije su vrijednosti latencije P300 pozitivno korelirale s vrijednostima p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>231</sub>. Negativna korelacija s vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  i pozitivna korelacija s vrijednostima p-tau<sub>199</sub> je također

izgubljena nakon primjene Bonferronijeve korekcije. Vrijednosti latencije potencijala N200 su pozitivno korelirale s vrijednostima p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i VILIP-1, negativno korelirale s vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub>, a pozitivna korelacija s vrijednostima ukupnog tau je opet izgubljena nakon Bonferronijeve korekcije (**Tablica 21, Slika 25**).

Kod BSP pacijenata koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije su vrijednosti latencije P300 potencijala negativno korelirale s vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub>, dok su vrijednosti latencije N200 potencijala pozitivno korelirale s vrijednostima p-tau<sub>231</sub>. Negativna korelacija vrijednosti latencije potencijala N200 s vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub> i pozitivna korelacija vrijednosti latencije P300 s p-tau<sub>181</sub> i VILIP-1 kao i korelacija vrijednosti latencije N200 s p-tau<sub>181</sub>, izgubljene su nakon primjene Bonferronijeve korekcije (**Tablica 22, Slika 26**). Očekivano, s obzirom na nedostatak numeričkih vrijednosti amplitude P300, nije nađena razlika u vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega kod ispitanika sa sniženom, urednom i povišenom amplitudom P300 potencijala (**Tablica 25**).

Zaključno, vrijednosti latencije P300 su korelirale s vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>, a vrijednosti latencije N200 potencijala su korelirale s vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1.

U drugom dijelu usporedbe kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena s likvorskim proteinskim biološkim biljezima su vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena uspoređene između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima proteinskih likvorskih bioloških biljega.

U skupini pacijenata s BSP koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije su vrijednosti latencije P300 potencijala značajno povišene kod pacijenata s patološkim vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub> (IV = 500 pg/ml), dok su u skupini bolesnika s AB vrijednosti latencije P300 potencijala povišene kod pacijenata s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml). Kada se istovremeno analiziraju sve tri skupine ispitanika (AB + BSP + KONT), tada su vrijednosti latencije P300 potencijala povišene kod ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml), p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1, dok su vrijednosti latencije N200 potencijala povišene kod ispitanika s patološkim vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub> (IV = 669 pg/ml), ukupnog tau (IV=450 pg/ml), p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml), p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) i p-tau<sub>231</sub> (**Slika 30**).



U skupini ispitanika s BSP koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije frekvencije su vrijednosti latencije P300 i N200 potencijala značajno povišene kod ispitanika s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml) i  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml). Kod bolesnika s AB su vrijednosti latencije P300 značajno povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml), a vrijednosti latencije N200 potencijala u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima ukupnog tau (IV = 450 pg/ml), p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) i p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml). Ako se istovremeno analiziraju sve tri skupine ispitanika (AB + BSP + KONT), tada su vrijednosti latencije N200 potencijala povišene kod ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>231</sub>. Neobičan i donekle kontradiktoran nalaz je sniženje latencije P300 potencijala kod pacijenata s BSP koji imaju patološke razine VILIP-1 u likvoru (**Slika 31**). Dobiveni rezultat bi u svrhu razjašnjavanja povezanosti P300 potencijala i VILIP-1 biološkog biljega trebalo provjeriti na većoj skupini ispitanika.

Istovremena analiza sve tri skupine ispitanika (AB + BSP + KONT) koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije pokazuje da su vrijednosti latencije P300 povišene u skupini ispitanika s patološkim razinama p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml), a vrijednosti latencije N200 potencijala u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml). Neočekivan je rezultat dobiven u skupini bolesnika s AB gdje je reakcijsko vrijeme bilo sniženo kod onih ispitanika koji su imali patološke vrijednosti p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) (**Slika 32**). Taj bi rezultat stoga također trebalo provjeriti na većoj skupini ispitanika.

Zaključno, vrijednosti latencije P300 potencijala su povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$ , p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1. Vrijednosti latencije N200 potencijala su povišene u skupini ispitanika s patološkim razinama  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>231</sub>.

Sveukupno uzevši, ovo istraživanje je pokazalo dobru korelaciju kognitivnih evociranih potencijala sa svim ispitivanim likvorskim proteinskim biološkim biljezima, a osobito s  $A\beta_{1-42}$ , p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>. U tom su kontekstu pomalo kontradiktorni i neočekivani nalazi sniženja reakcijskog vremena kod ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> te sniženja latencije P300 potencijala kod ispitanika s patološkim vrijednostima VILIP-1 gotovo zanemarivi.

Vrijednosti kognitivnih evociranih potencijala su u prijašnjim studijama uspoređene i s genetskim biljezima AB. Latencija P300 je značajno produljena, a amplituda P300 potencijala značajno snižena kod nositelja rizičnog  $\epsilon 4$  alela *APOE* gena. Studija je provedena na zdravim

starijim ispitanicima (Irimajiri *i sur.*, 2010). U studiji u kojoj su vidni evocirani potencijali mjereni kod bolesnika s AB je utvrđeno da su latencije N75, P100, N135 i P180 potencijala produljene kod nositelja rizičnog  $\epsilon 4$  alela *APOE* gena (Rosengarten *i sur.*, 2010). Dodatno su nositelji rizičnog  $\epsilon 4$  alela *APOE* gena imali produljene vrijednosti mirisnih kognitivnih evociranih potencijala (Wetter i Murphy, 2001). Asimptomatski nositelji Glu280Ala mutacije u *PSEN1* genu povezane s nastankom obiteljskog oblika AB su u zadatku prepoznavanja vidnih objekata imali veći stupanj aktivacije moždane kore zatiljnog režnja, u odnosu na kontrolne ispitanika koji su imali veći stupanj aktivacije moždane kore čeonog režnja. Navedeni nalaz tumači se na način da se zdravi ispitanici u zadatku prepoznavanja pretežno oslanjaju na kognitivno procesiranje moždane kore čeonog režnja, dok osobe s genetičkom predisponiranošću za nastanak obiteljske AB u tom zadatku nastoje razlikovati objekte na temelju detalja samih objekata (pri tome se oslanjajući pretežno na aktivnost moždane kore zatiljnog režnja). Aktivnost mozga prilikom izvođenja zadatka je dobivena snimanjem vidnih evociranih potencijala (Quiroz *i sur.*, 2011). Pored toga su Golob i suradnici snimanjem slušnih evociranih potencijala kod asimptomatskih ispitanika s rizikom za razvoj obiteljske AB (Ala431Glu ili Leu235Val mutacija u *PSEN1* genu ili Val717Ile mutacija u *APP* genu) ustanovili da su latencije N100, P200, N200 i P300 potencijala produljene, a amplitude snižene u odnosu na kontrolne ispitanike (Golob *i sur.*, 2009). Prema toj studiji promjene u funkciji mozga koje se mogu detektirati mjerenjem kognitivnih evociranih potencijala započinju otprilike 10 godina prije pojave prvih simptoma kod ljudi s obiteljskim oblikom AB (Golob *i sur.*, 2009). Osobe s pozitivnom obiteljskom anamnezom za AB imaju produljenu latenciju i sniženu amplitudu P300 potencijala (Ally *i sur.*, 2006). Povrh toga, osobe s pozitivnom obiteljskom anamnezom za AB i nositelji rizičnog  $\epsilon 4$  alela *APOE* gena imaju produljene latencije P300 i N200 potencijala (Green i Levey, 1999).

Utvrđena je i povezanost neuroslikovnih bioloških biljega AB s kognitivnim evociranim potencijalima. Vrijednosti latencije P300 potencijala negativno koreliraju s kortikalnom aktivnošću u prekuneusu kod bolesnika s umjerenom AB (MMSE 20-24), indirektno određenom pomoću SPECT-a (Gungor *i sur.*, 2005). Uočena je i negativna korelacija latencije P300 potencijala i metaboličke aktivnosti tjemnog režnja te sljepoočnih i čeonih asocijativnih područja (određenom pomoću PET-a) (Marsh *i sur.*, 1990). Ti rezultati nisu potvrđeni u studiji provedenoj iste godine, već je utvrđena negativna korelacija latencije P300 potencijala s omjerom metaboličke aktivnosti mozga (dobivenim dijeljenjem vrijednosti metaboličke aktivnosti slabo aktivnih područja velikog mozga s normalno aktivnim

područjima velikog mozga u AB) (Szeliés *i sur.*, 1995). Latencija P300 je značajno produljena, a amplituda P300 potencijala značajno snižena kod osoba s kognitivnim urušavanjem i hipometabolizmom moždane kore napose u području tjemenog, a također i sljepoočnog režnja (utvrđenim pomoću FDG-PET) (Braverman *i sur.*, 2013). Usporedbom slušnih i vidnih kognitivnih evociranih potencijala sa stupnjem atrofije sive tvari pojedinih režnjeva moždane kore određenim pomoću MRI pokazano je da stupanj degeneracije moždane kore čeonog i sljepoočnog režnja korelira s većom latencijom P300 potencijala (što je duža latencija P300, to je veći stupanj atrofije), a slična je korelacija utvrđena i za stupanj demijelinizacije (veća amplituda P300 potencijala odražava niži stupanj demijelinizacije) (Braverman *i sur.*, 2015).

#### **5.2.4. Utjecaj inhibitora acetilkolinesteraze na kognitivne evocirane potencijale i reakcijsko vrijeme**

Vrijednosti reakcijskog vremena i latencije P300RV su značajno niže u skupini bolesnika s AB koji su liječeni inhibitorima acetilkolinesteraze (AChEI) (u skupini AB ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s 2 i 3 frekvencije) (**Tablica 26, Slika 28**). Iako nije postigla statističku značajnost, vrijednosti latencije N200RV (2 frekvencije, 2 + 3 frekvencije), P300RV, P300 brojanje (3 frekvencije) i reakcijskog vremena (2 frekvencije) su u prosjeku snižene kod bolesnika s AB koji su liječeni s AChEI u odnosu na bolesnike bez terapije s AChEI (**Tablica 26, Slika 29**). Ti rezultati su u skladu s rezultatima prijašnjih istraživanja u kojima je kod bolesnika koji su liječeni s AChEI uočeno skraćeno vrijeme latencije P300 potencijala (Chang *i sur.*, 2014; Katada *i sur.*, 2003; Onofrij *i sur.*, 2002; Paci *i sur.*, 2006; Reeves *i sur.*, 1999; Thomas *i sur.*, 2001; Werber *i sur.*, 2003), kao i skraćenje reakcijskog vremena (Vaitkevičius *i sur.*, 2015). Ni jedna od navedenih studija nije otkrila razlike u amplitudi P300 nakon tretmana s AChEI, a Vaitkevičius i suradnici nisu uočili niti razliku u latenciji P300 potencijala (Vaitkevičius *i sur.*, 2015). U nekim istraživanjima nije nađena promjena latencije N200 potencijala (Chang *i sur.*, 2014) ili je čak bila i produljena u bolesnika na terapiji s AChEI (Vaitkevičius *i sur.*, 2015). Iako nije dosegao statističku značajnost, naš rezultat prosječno snižene latencije N200 potencijala u skupini bolesnika nakon tretmana s AChEI oprečan je u odnosu na studiju Vaitkevičiusa i suradnika (Vaitkevičius *i sur.*, 2015). Kako je u našu studiju bilo uključeno 39 AB bolesnika koji nisu bili na terapiji s AChEI te 16 bolesnika s AB na terapiji s AChEI, a u istraživanju

Vaitkevičiusa i suradnika 22 AChEI+ i 22 AChEI- bolesnika s AB, rezultati našeg istraživanja imaju veću razinu značajnosti.

### 5.2.5. Faktorski skor kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena

Jednako kao i pri analizi likvorskih bioloških biljega AB, kombinacija kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena je u SPSS programskom paketu napravljena uporabom opcije redukcije dimenzija (*Dimension Reduction*), s ciljem dobivanja idealnog biološkog biljega AB („idealnim“ biljegom se smatra biljeg s osjetljivošću i specifičnošću većom od 85%). U skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s tri frekvencije dobivene su izrazito visoke vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti na sljedeće načine: kombinacijom svih ispitivanih kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena (83.3% i 100%), P300RV i potencijala P300 brojanje (81% i 100%), N200 brojanje i P300 brojanje (84.2% i 100%), N200RV, N200 brojanje, P300 brojanje i RV (83.3% i 100%) te P300RV, N200 brojanje, P300 brojanje i RV (83.3% i 100%) (**Tablica 37**). Izrazito visoke vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti su dobivene u skupini ispitanika koji su sudjelovali u paradigmi SPNP s dvije i tri frekvencije (iznad 90%) (**Tablica 38**). Dodatno su se, uz pomoć četiri dobivena FS, uspješno razlikovale sve tri skupine ispitanika (AB, BSP i KONT) (**Tablica 38**). Najveće ograničenje tog dijela istraživanja bio je vrlo mali broj kontrolnih ispitanika (samo četiri ispitanika) pa bi se svakako navedeni, u dijagnostičkom smislu obećavajući rezultati, trebali što prije provjeriti na većoj skupini zdravih ispitanika.

U drugom dijelu ispitivanja dijagnostičkog potencijala kognitivnih evociranih potencijala i RV se kombinacijom različitih bioloških biljega nastojala izračunati vjerojatnost AB kod skupine ispitanika s BSP. Po izvršenom postupku logističke regresije na FS dobivenim kombinacijom različitih kognitivnih evociranih potencijala i RV s najvišim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti (**Tablica 37**), napravljeno je osam regresijskih modela (**Tablica 39**). Iz tako dobivenih regresijskih modela su izrađene jednadžbe za procjenu vjerojatnosti nastanka AB kod ispitanika s BSP. Prema tim jednadžbama su se u najrizičnije skupine svrstali oni ispitanici s BSP za koje je pokazano da je vjerojatnost AB: 1) iznad 95% (31.3% od ukupnog broja ispitanika s BSP), 2) iznad 90% (kumulativno s prethodnom skupinom, sveukupno 43.8% ispitanika s BSP), te 3) iznad 85% (kumulativno s prethodne dvije skupine, sveukupno 56.3% ispitanika s BSP) (**Tablica 40**). Dobiveni postotci

se većinom dobro preklapaju s postotcima dobivenim na temelju analize likvorskih proteinskih bioloških biljega (odstupanja su bila u rasponu od  $\pm 5\%$ ). Dodatno je izračunata i srednja postotna vrijednost svih regresijskih modela u odnosu na likvorske biološke biljege i kognitivne evocirane potencijale. Prema tom izračunu je: 1) 7.1% ispitanika s BSP imalo vjerojatnost za nastanak AB iznad 95%, 2) kumulativno s prethodnom skupinom je sveukupno 28.5% ispitanika s BSP imalo vjerojatnost za nastanak AB iznad 90%, te 3) kumulativno s prethodne dvije skupine je sveukupno 49.9% ispitanika s BSP imalo vjerojatnost za nastanak AB iznad 85% (**Tablica 40**). Najveće ograničenje tog dijela istraživanja je relativno mali broj ispitanika s BSP (16 u prvoj analizi, a 14 u drugoj analizi) te bi se navedeni rezultati također trebali potvrditi i na većem broju ispitanika s BSP.

### **5.3. Makro- i mikroelementi u cerebrospinalnoj tekućini**

U ovom istraživanju je provedena usporedba razina makro- i mikroelemenata mjenjenih u likvoru oboljelih od AB, BSP i zdravih kontrola s likvorskim proteinskim biološkim biljezima i evociranim potencijalima. Do sada su vrijednosti makro- i mikroelemenata mjerene u likvoru uspoređivane s likvorskim proteinskim biološkim biljezima AB u malom broju studija, a dobiveni rezultati su bili nedostadni za stvaranje čvrstih zaključaka ili čak i oprečni (Gerhardsson *i sur.*, 2009; Hock *i sur.*, 1998; Squitti *i sur.*, 2006; Strozyk *i sur.*, 2009).

#### **5.3.1. Usporedba makro- i mikroelemenata između AB, BSP i kontrolne skupine ispitanika**

Vrijednosti Na, K, Ca, Zn, As i Se su bile povišene u skupini ispitanika s AB u odnosu na ispitanike s BSP, ali je statistička značajnost izgubljena nakon Bonferronijeve korekcije (**Tablica 29, Slika 33**). Prijašnje studije često su rezultirale oprečnim zaključcima vezanima za mjerenje makro- i mikroelemenata u likvoru (**Tablica 5**). Rezultati ove studije nisu pokazali statistički značajne razlike u razinama makro- i mikroelemenata u likvoru između ispitanika s AB i zdravih kontrola, što je u suglasnosti s nekim prijašnjim istraživanjima (Bucossi *i sur.*, 2011; Meseguer *i sur.*, 1999; Roberts *i sur.*, 2016; Tao *i sur.*, 2014; Ventriglia *i sur.*, 2015), ali i u suprotnosti s onima u kojima su zabilježene takve promjene (Basun *i sur.*,

1991; Gerhardsson *i sur.*, 2008; Hershey *i sur.*, 1983; Hozumi *i sur.*, 2011; Molina *i sur.*, 1998; Subhash *i sur.*, 1991). Posebnost ovog istraživanja je to što je uočeno povećanje koncentracije Na, K, Ca, Zn, As i Se kod bolesnika s AB u odnosu na ispitanike s BSP. Iako je nakon Bonferronijeve korekcije statistička značajnost izgubljena, i u studijama Hersheya i suradnika te Hozumija i suradnika uočeno je povećanje razina cinka u likvoru bolesnika s AB, ali naspram kontrolnih ispitanika (Hershey *i sur.*, 1983; Hozumi *i sur.*, 2011). Dokumentirano je da su vrijednosti kalcija u nekim prijašnjim studijama bile snižene u ispitanika s AB u odnosu na kontrolnu skupinu (Basun *i sur.*, 1991; Subhash *i sur.*, 1991), što je u suprotnosti s opaženim povećanjem razine kalcija kod AB ispitanika u ovom istraživanju. Izmjerene vrijednosti razine kalija nisu se razlikovale između skupina, što potvrđuje nedavne rezultate Roberta i suradnika (Roberts *i sur.*, 2016). U prijašnjim studijama također nije uočena promjena razina natrija, arsena i selena u likvoru oboljelih od AB.

U dosadašnjim istraživanjima su vrijednosti makro- i mikroelemenata mjerene prvenstveno u plazmi i serumu, a samo u manjoj mjeri i u likvoru oboljelih od AB (**Tablica 5**). Subhash i suradnici su zapazili snižene razine kalcija i fosfora u likvoru oboljelih od AB (Subhash *i sur.*, 1991). Basun i suradnici su u likvoru oboljelih od AB detektirali snižene razine kadmija i kalcija te povišene razine bakra, dok su u plazmi istih bolesnika s AB uočili povišene vrijednosti Al, Cd, Hg i Se, a snižene vrijednosti željeza i mangana (Basun *i sur.*, 1991). Gerhardsson i suradnici su zabilježili sniženje V, Mn, Rb, Sb, Cs i Pb u likvoru oboljelih od AB i bolesnicima s AB u komorbiditetu s VaD (AB + VaD, najčešći oblik miješane demencije). U plazmi bolesnika s AB i bolesnika s miješanom demencijom (AB + VaD) su Gerhardsson i suradnici uočili povišene koncentracije mangana i žive, a snižene koncentracije kobalta, selena i cezija (metali određivani u toj studiji bili su Mg, Ca, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs, Hg i Pb) (Gerhardsson *i sur.*, 2008). U dvije ranije studije su također uočene povišene vrijednosti žive u krvi oboljelih od AB (Hock *i sur.*, 1998; Mutter *i sur.*, 2004). Molina i suradnici su u likvoru i serumu oboljelih od AB mjerili razine Fe, Cu, Mn i Zn te jedino uočili snižene razine cinka u likvoru oboljelih od AB (Molina *i sur.*, 1998). Roberts i suradnici su u studiji u kojoj su mjerili razine kalija i rubidija u serumu i likvoru oboljelih od AB uočili povećanje razine kalija, a sniženje razine rubidija u serumu oboljelih od AB (Roberts *i sur.*, 2016). Nasuprot tome, navedeni autori u likvoru nisu zapazili značajnu razliku u razinama kalija i rubidija (Roberts *i sur.*, 2016). Hozumi i suradnici su u likvoru bolesnika s AB zabilježili povećanje bakra i cinka (određivani elementi bili su Cu, Fe, Mg, Mn i Zn) (Hozumi *i sur.*, 2011). Također je i u jednoj ranijoj studiji

Hersheya i suradnika zabilježeno povećanje razina silicija i cinka u likvoru oboljelih od AB (mjerene su razine Al, As, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Si, Sn, Ti, V i Zn) (Hershey *i sur.*, 1983) (**Tablica 5**).

Od svih ispitivanih makro- i mikroelemenata su razine bakra, cinka i željeza najčešće određivane u serumu i likvoru oboljelih od AB. Tako je meta-analiza Taoa i suradnika pokazala sniženje željeza u serumu, ali nepromijenjene razine željeza u likvoru oboljelih od AB (Tao *i sur.*, 2014). Nasuprot tome, meta-analiza Wang i suradnika nije pokazala promjene u razini željeza u serumu, dok su razine cinka bile snižene, a razine bakra povišene kod oboljelih od AB (Wang *i sur.*, 2015). Meta-analiza koju su proveli Bucossi i suradnici pokazala je povećanje razine bakra u serumu, ali nepromijenjene koncentracije bakra u likvoru oboljelih od AB (Bucossi *i sur.*, 2011). S obzirom da je isprva uočena razlika u vrijednostima makro- i mikroelemenata (Na, K, Ca, Zn, As i Se) između ispitivanih skupina (AB i BSP) izgubljena nakon Bonferronijeve korekcije, rezultati ovog istraživanja nisu potvrdili dijagnostički potencijal ispitivanih makro- i mikroelemenata u ranom otkrivanju AB. Ipak, to ne znači da promjena nema ili da se ne događaju, već prije kako samo mjerenje razine nekog elementa ne daje dovoljno podataka za zaključivanje ukoliko se ne poznaju (određuju) i ostali parametri njegovog metabolizma kao što su vezanje za albumine plazme i druge nosače u krvi, odlaganje u tkivu (npr. oko 25% željeza se u odraslih osoba nalazi u obliku tkivnih rezervi feritina i hemosiderina, a vežući se za SP ti se ioni također odlažu u moždanom tkivu) (Saito, 2014).

### **5.3.2. Usporedba makro- i mikroelemenata s biološkim biljezima AB**

Iako ni rezultati ovog istraživanja ne ukazuju pouzdano na promjene u razinama makro- i mikroelemenata između ispitivanih skupina (AB, BSP i KONT), neke su vrijednosti makro- i mikroelemenata dobro korelirale s vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega AB ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1). Tako su vrijednosti  $A\beta_{1-42}$  negativno korelirale s vrijednostima razine žive u kontrolnoj skupini ispitanika, a vrijednosti ukupnog tau proteina pozitivno s vrijednostima arsena u skupini ispitanika s BSP te seleni kad su sve skupine promatrane kao jedna. Vrijednosti p-tau<sub>181</sub> su pozitivno korelirale s vrijednostima B, K, Sr i Ba u skupini ispitanika s BSP, s vrijednostima Ca, Cr, Co i Ni kad su sve skupine promatrane zajednički, s vrijednostima Mg, S, Fe, Cu, Se, Tl i Hg u skupini

ispitanika s BSP i skupini svih ispitanika promatranih zajedno te s vrijednostima mangana u skupini bolesnika s AB i skupini svih ispitanika promatranih kao cjelina. Vrijednosti p-tau<sub>199</sub> su pozitivno korelirale s vrijednostima Mg, K, Cr, Fe, Co, Mn, Cd i Pb u skupini svih ispitanika promatranih zajedno, s vrijednostima S, Cu, Se i Tl u skupini bolesnika s AB i skupini svih ispitanika promatranih kao cjelina, s vrijednostima Ca, As i Ba u skupini ispitanika s BSP i svih skupina zajedno, s vrijednostima razine natrija u skupinama bolesnika s AB, BSP i svih ispitanika promatranih zajedno te razinom iona aluminija u kontrolnoj skupini. Vrijednosti p-tau<sub>231</sub> su pozitivno korelirale s vrijednostima bora, stroncija i barija u skupini ispitanika s BSP, s vrijednostima Mg, Ca, Cr, Fe, Ni, Zn i Mo u skupini svih ispitanika promatranih zajedno, s vrijednostima S, Cu, Se, Tl i Hg u skupini ispitanika BSP i svih ispitanika zajedno te kobalta i mangana u skupini bolesnika s AB i svih ispitanika promatranih zajedno. Vrijednosti VILIP-1 su pozitivno korelirale s vrijednostima B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Cu, As i Hg u AB, BSP i skupini svih ispitanika promatranih zajedno, kobalta, nikla i cinka u skupini bolesnika s AB i svih ispitanika zajedno, mangana i barija u skupini svih ispitanika, stroncija i molibdena u skupini ispitanika s BSP i svih ispitanika zajedno, talijska u kontrolnoj skupini i skupini svih ispitanika promatranih zajedno te selena u svim ispitivanim skupinama.

Zaključno, i nakon Bonferronijeve korekcije vrijednosti A $\beta$ <sub>1-42</sub> su negativno korelirale s vrijednostima Hg, vrijednosti ukupnog tau su pozitivno korelirale s vrijednostima arsena i selena, vrijednosti p-tau<sub>181</sub> su pozitivno korelirale s vrijednostima B, K, Sr, Ba, Ca, Cr, Co, Ni, Mg, S, Fe, Cu, Se, Tl, Hg i Mn. Vrijednosti p-tau<sub>199</sub> su pozitivno korelirale s vrijednostima Mg, K, Cr, Fe, Co, Mn, Cd, Pb, S, Cu, Se, Tl, Ca, As, Ba, Na i Al, vrijednosti p-tau<sub>231</sub> su pozitivno korelirale s vrijednostima B, Sr, Ba, Mg, Ca, Cr, Fe, Ni, Zn, Mo, S, Cu, Se, Tl, Hg, Co i Mn, a vrijednosti VILIP-1 su pozitivno korelirale s vrijednostima B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Cu, As, Hg, Co, Ni, Zn, Mn, Ba, Sr, Mo, Tl i Se (**Tablica 35**).

Povezanost makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima mjerenim u prethodnim istraživanjima je prikazana u **tablici 6**. Rezultati našeg istraživanja nisu potvrdili rezultate prijašnjih studija o korelaciji Cu, Zn, Fe, Mn, Cr i Cs s A $\beta$ <sub>1-42</sub> (Gerhardsson *i sur.*, 2009; Strozyk *i sur.*, 2009), te mangana s ukupnim tau i cezija s p-tau<sub>181</sub> (Gerhardsson *i sur.*, 2009). U našem istraživanju su otkrivene nove statistički značajne korelacije pojedinih makro- i mikroelemenata s vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupnog tau proteina i razine p-tau<sub>181</sub> u likvoru. Pregledom literature nije pronađen niti jedan rad u kojem su vrijednosti makro- i mikroelemenata iz likvora uspoređene s vrijednostima p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i



VILIP-1 pa stoga ovi rezultati predstavljaju vrijedno novo znanje o promjenama razine iona pojedinih metala i metaloida u AB.

U drugom dijelu usporedbe makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima su vrijednosti makro- i mikroelemenata uspoređene između skupina ispitanika s normalnim i patološkim vrijednostima proteinskih likvorskih bioloških biljega. U skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml), vrijednosti S, Co, Zn, Ba i Tl su bile značajno povišene. U skupini bolesnika s AB s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 500 pg/ml), vrijednosti aluminija su bile značajno povišene. U skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  (IV = 669 pg/ml) značajno su bile povišene vrijednosti S, Co, As, Ba i Tl. Ispitanici koji su imali patološke vrijednosti ukupnog tau (IV = 309.5 pg/ml) su u likvoru također imali i značajno povišene vrijednosti arsena i stroncija (skupina ispitanika s BSP) te litija i bora (skupina bolesnika s AB). Ispitanici koji su imali patološke vrijednosti p-tau<sub>181</sub> (IV = 60 pg/ml) imali su i povišene vrijednosti B, Na, Mg, K, Cr, Fe, Mn, Cu, As, Hg (skupina ispitanika s BSP) i selena (skupina bolesnika s AB i skupina ispitanika s BSP) u likvoru. Ispitanici s BSP koji su imali patološke vrijednosti p-tau<sub>181</sub> (IV = 46.83 pg/ml) su također imali i povišene vrijednosti Na, Fe, Cu, As, Se i Ba u likvoru. Ispitanici koji su imali patološke vrijednosti p-tau<sub>199</sub> (IV = 3.063 pg/ml) su imali povišene vrijednosti Na, S, K, Ca, Mn, Cu, As, Se, Ba (skupina bolesnika s AB i skupina ispitanika s BSP), Mg, Fe, Co, Zn, Tl (skupina bolesnika s AB) i stroncija (ispitanici s BSP) u likvoru. Ispitanici koji su imali patološke vrijednosti p-tau<sub>231</sub> (IV = 0.734 U/ml) su istovremeno u likvoru imali i povišene vrijednosti S, Mn, Cu, Zn, Se, Ba, Tl (skupina bolesnika s AB i ispitanici s BSP), olova (bolesnici s AB), te B, Mg, K, Ca, Fe, Co, Sr, Mo i Cd (ispitanici s BSP). Ispitanici koji su imali patološke vrijednosti VILIP-1 proteina (IV = 116.26 pg/ml) su imali i povišene vrijednosti B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl (skupina bolesnika s AB i ispitanici s BSP), cinka (bolesnici s AB), te nikla i žive (ispitanici s BSP) u likvoru (**Tablice 32-33, Slike 40-42**).

Zaključno, vrijednosti As, Al, S, Co, Zn, Ba i Tl su bile povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$ ; vrijednosti As, Sr, Li i B su bile povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima ukupnog tau proteina; vrijednosti B, Na, Mg, K, Cr, Fe, Mn, Cu, As, Hg, Se, Fe, i Ba su bile povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub>. U skupini ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> su bile povišene koncentracije iona Na, S, K, Ca, Mn, Cu, As, Se, Ba, Mg, Fe, Co, Zn, Tl i Sr. U skupini ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>231</sub> su bile povišene vrijednosti S, Mn, Cu, Zn, Se,

Ba, Tl, Pb, B, Mg, K, Ca, Fe, Co, Sr, Mo i Cd, a u skupini ispitanika s patološkim razinama VILIP-1 proteina su bile povišene vrijednosti B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl, Zn, Ni i Hg (**Tablica 35**).

Iz navedenoga je razvidno kako su koncentracije većine makro- i mikroelemenata koji su pokazali dobru korelaciju s likvorskim proteinskim biološkim biljezima AB, bile značajno povećane u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega (**Tablica 35**). Dodatno je za neke makro- i mikroelemente pokazana razlika između skupina ispitanika s patološkim vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega (As, Al, S, Co, Zn, Ba i Tl (u slučaju  $A\beta_{1-42}$ ), stroncija, litija i bora (u slučaju ukupnog tau), natrija i arsena (u slučaju p-tau<sub>181</sub>), cinka i stroncija (u slučaju p-tau<sub>199</sub>) te olova, kalija i kadmija (u slučaju p-tau<sub>231</sub>)) (**Tablica 35**). Sveukupno uzevši, istraživanje ukazuje na dobru korelaciju ispitivanih makro- i mikroelemenata s p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>, a osobito s razinom VILIP-1 proteina.

Na temelju dobivenih rezultata logično se nameće pitanje je li dobra povezanost ispitivanih makro- i mikroelemenata u likvoru (**Tablica 35**) posljedica interakcije makro- i mikroelemenata s ispitivanim proteinima (fosforilirani tau proteini i VILIP-1), rezultat patoloških procesa u AB ili posljedica oboje. Interakcija metala s VILIP-1 je moguća budući da je VILIP-1 neuronski protein ovisan o kalciju (Bernstein i Braunewell, 2009). Proteini koji vežu kalcij sadrže strukturalnu domenu, tzv. EF ruku (EF hand), koja ima svojstvo vezanja metalnih iona (Biekofsky i Feeney, 1998) poput kalcija, magnezija (Gifford *i sur.*, 2007; Li *i sur.*, 2011) i kadmija (Akke *i sur.*, 1993). Dokazan je i utjecaj metala na svojstva i ponašanje tau proteina. Tako metali poput željeza (Yamamoto *i sur.*, 2002), cinka (Mo *i sur.*, 2009), bakra (Zhou *i sur.*, 2007), žive (Yang *i sur.*, 2010), aluminijs (Scott *i sur.*, 1993), arsena (Vahidnia *i sur.*, 2007) i kadmija (Jiang *i sur.*, 2007) potiču agregaciju tau proteina dok olovo mijenja izraženost MAPT gena (Dash *i sur.*, 2016). Kako je ovim istraživanjem bilo nemoguće utvrditi je li opažena promjena u razinama makro- i mikroelemenata posljedica same interakcije s ispitivanim proteinima, a osobito s VILIP-1 proteinom, potrebna su daljnja istraživanja radi razjašnjavanja dobivenih rezultata. U slučaju tau proteina, povezanost makro- i mikroelemenata s p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub> je vjerojatno posljedica uznapredovalih patoloških procesa u AB (budući da je poznato kako fosforilirani oblici tau proteina u likvoru dobro odražavaju nastajanje NFT u mozgu; (Bürger *i sur.*, 2006)), a u istraživanju je uočena i značajna povezanost As, Se, Sr, Li i B s razinom ukupnog tau proteina.

Povezanost najčešće proučavanih metala poput Fe, Cu, Zn, Hg i Al s patogenezom AB je već općenito opisana u uvodnom dijelu ovog rada. No, iako su to najčešće povezivani metali s AB, ovo istraživanje je, pored navedenih, pokazalo značajnu povezanost i nekih drugih elemenata (posebice As, Cd, Pb, Mn, Co i Se) s proteinskim likvorskim biološkim biljezima AB, zbog čega i njih treba smatrati potencijalno značajnima za nastanak AB (a time i mogućim biološkim biljezima *per se*). Povišene razine kobalta već su i prije bile uočene u mozgu bolesnika s AB, osobito u bazalnoj Meynertovoj jezgri (Thompson *i sur.*, 1988), dok su u mozgu osobe koja je za života bila izložena visokim razinama mangana uočeni neuritički plakovi i NFT karakteristični za AB (Banta i Markesbery, 1977).

U plazmi oboljelih od AB su detektirane snižene razine selena (Cardoso *i sur.*, 2010). Poznato je kako selen može djelovati neuroprotektivno vezanjem divovalentne žive (Loef *i sur.*, 2011; Sedak *i sur.*, 2016). Zbog toga se oboljele od AB čak i pokušavalo liječiti selenom, ali još uvijek nedostaju dovoljni klinički dokazi o učinkovitosti takve terapije (Loef *i sur.*, 2011). Hoće li djelovanje selena u AB biti zaštitno ili toksično najviše ovisi o njegovoj koncentraciji, jer je selen u povećanim koncentracijama zasigurno toksičan (Wells *i sur.*, 2014) kada uzrokuje generalizirane neurodegenerativne promjene (Estevez *i sur.*, 2012).

Smatra se da i teški metali poput olova, kadmija i arsena mogu uzrokovati neurodegenerativne promjene (Ashok *i sur.*, 2015). Tako je u jednom epidemiološkom istraživanju nađena pozitivna korelacija između razina arsena izmjenjenog u tlu s prevalencijom i smrtnošću uzrokovanom AB (Dani, 2010). No, iako se arsen i njegovi spojevi još uvijek rabe u nekim pesticidima, još uvijek nema pouzdanih podataka o tome može li izlaganje zagađenoj vodi, hrani i zraku prouzročiti AB (Gharibzadeh i Hoseini, 2008).

Osim što potiče agregaciju tau proteina (Jiang *i sur.*, 2007), u nekim su istraživanjima u mozgu oboljelih od AB nađene visoke koncentracije kadmija (Ward i Mason, 1987). Izlaganje visokim koncentracijama kadmija povezano je i s neurološkim simptomima i poremećenim ponašanjem (Viaene *i sur.*, 2000).

Izlaganje anorganskom olovu je neurotoksično i dovodi do kognitivnog urušavanja (Bakulski *i sur.*, 2012). Pored toga je u štakora utvrđeno kako izloženost olovu u ranom razdoblju razvitka uzrokuje dugotrajnu povećanu izraženost *APP* gena i povećava proizvodnju A $\beta$  još kroz 20 mjeseci nakon prestanka izloženosti olovu (Basha *i sur.*, 2005).

Talij je također teški metal koji u atmosferu obično dospije iz industrijskih izvora (Karbowska, 2016). Dokazana je i neurotoksičnost talija (Nava-Ruíz i Méndez-Armenta, 2013) te razvoj demencije nakon kroničnog izlaganja tom elementu (Saddique i Peterson, 1983). Ipak, potrebne su dodatne studije za bolje razumijevanje moguće povezanosti talija s AB.

Zbog prisutnosti u zraku zagađenom ispušnim plinovima iz motora s unutarnjim izgaranjem i nikal se razmatra mogućim čimbenikom u nastanku AB. Tako je u mišjem modelu nakon izlaganja zagađivačima zraka koji sadrže nikal uočen veći stupanj patoloških promjena A $\beta$  (Kim *i sur.*, 2012). Calderón-Garcidueñas i suradnici su također pokazali povećanje stupnja upale i patologije karakteristične za AB kod osoba koje su bile izložene teškom trovanju onečišćenim zrakom (u kojemu su, između ostalog, bile i visoke koncentracije nikla) (Calderón-Garcidueñas *i sur.*, 2004).

U novije vrijeme postalo je sve dostupnije istraživati utjecaj epigenetičkih promjena na patogenezu AB (De Jager *i sur.*, 2014; Lunnon *i sur.*, 2014; Mastroeni *i sur.*, 2010; Onishchenko *i sur.*, 2008; Šimić *i sur.*, 2017). Tako je i na razini regulacije genske ekspresije pokazano kako izlaganje teškim metalima iz okoliša (poput olova, arsena, kroma, kadmija i nikla), može uzrokovati epigenetičke promjene (Bakulski *i sur.*, 2012; Salnikow i Zhitkovich, 2008). Stoga se otvara pitanje bi li epigenetičke promjene potaknute navedenim metalima mogle biti važan čimbenik koji prethodi pa možda i uzrokuje nastanak sporadičnog oblika AB? Zbog prethodno navedenih rezultata koji ukazuju na teške metale kao moguće toksikante iz okoliša koji mogu biti uključeni u patogenezu AB, navedeno pitanje potrebno je još detaljnije istražiti.

Jedna od najnovijih studija posvećenih navedenom pitanju provedena na više od 4,4 milijuna ljudi pokazala je kako je život u neposrednoj blizini velikih cesta s pojačanim prometom povezan s 7-11% većom incidencijom obolijevanja od demencije (ali ne od PB i ALS). Ljudi koji žive u područjima s velikom gustoćom prometa izloženi su visokim koncentracijama teških metala, dušikovog oksida, polinezasićenih aromatskih ugljikovodika, hlapljivih organskih spojeva, buci i drugim čimbenicima (Chen *i sur.*, 2017). Koliko od svih navedenih čimbenika sami teški metali utječu na povećanu pojavnost demencije i na koji način tek se treba utvrditi. Zagađivači zraka i udisanje ispušnih plinova nastalih izgaranjem pogotovo dizel goriva snažno utječu na središnji živčani sustav, a to se djelovanje povezuje s nizom negativnih posljedica kao što su izazivanje kroničnog upalnog stanja putem aktivacije

mikroglije, povećana razina oksidativnog stresa, povećana propusnost krvno-moždane barijere za organske i anorganske tvari i stanice iz plazme te nakupljanje A $\beta$  (Block *i sur.*, 2004; Calderón-Garcidueñas *i sur.*, 2008). Dodatni je negativan učinak i prekomjerna buka koja dovodi do fragmentacije sna, što je također povezano sa slabljenjem kognitivnih sposobnosti (Baumgart *i sur.*, 2015).

Od ostalih elemenata za koje je u ovom istraživanju pokazana dobra povezanost s proteinskim likvorskim biološkim biljezima AB u literaturi se također često spominju još i Mg, Cr, Li, B i S, pa se u tom smjeru i predlažu mogući terapijski postupci. Tako npr. neki znanstvenici misle da bi se davanjem magnezija (Xu *i sur.*, 2014b), kroma (Krikorian *i sur.*, 2010), litija (Nunes *i sur.*, 2013, 2015), bora (<https://chiefio.wordpress.com/2012/09/20/boron-aluminum-hypothesis/>) i sumpora (<http://www.acu-cell.com/dis-alz.html>) moglo pokušati liječiti AB.

Terapijski učinci magnezija su ispitivani na životinjskim modelima AB, primjerice netransgeničnim štakorima kojima je streptozotocinom izazvana AB. Tako je tretman magnezijevim sulfatom u tom modelu smanjio fosforilaciju tau proteina i utjecao na očuvanje kognitivnih funkcija i sinaptičke plastičnosti (Xu *i sur.*, 2014b). I kod ljudi je uočeno da nedostatak magnezija u prehrani oštećuje pamćenje (Bardgett *i sur.*, 2005), a tretman demenčnih bolesnika dodavanjem magnezija u prehranu može poboljšati pamćenje (Cherbuin *i sur.*, 2014; Glick, 1990; Ozturk i Cillier, 2006). Uz to je i u tkivima oboljelih od AB uočeno sniženje koncentracije magnezija (Andrási *i sur.*, 2000; Vural *i sur.*, 2010).

Budući da je litij relativno toksičan u uobičajenim dozama kakve se rabe u liječenju psihijatrijskih bolesnika, Nunes i suradnici su bolesnike s AB tretirali mikrodozama litija (300  $\mu$ g dnevno kroz 15 mjeseci) te zabilježili usporenje kognitivnog urušavanja (zabilježeno MMSE ljestvicom u odnosu na kontrolnu skupinu koja nije dobivala litij) (Nunes *i sur.*, 2013). Isto je dokazano i na transgeničnom modelu AB (Nunes *i sur.*, 2015). Na molekularnoj razini je uočena inhibicija GSK-3 $\beta$  i GSK-3 $\alpha$  (kinaza glikogen sintaze, *glycogen synthase kinase*) litijem (Lovestone *i sur.*, 1999; Ryves *i sur.*, 2002). Odgovor središnjeg živčanog sustava na davanje litija snažno ovisi o ustanovljenoj genetičkoj predispoziciji (Gao i Calabrese, 2016), koja bi se u skoroj budućnosti mogla ustanovljivati prije samog davanja litija.

U odnosu na sličnu skupinu od 11 ispitanika koji su bili na placebo, Krikorian i suradnici su na skupini od 15 zaboravljivih starijih osoba nakon tretmana s kromovim

pikolinatom (sadrži 1000 µg kroma) tijekom 12 tjedana uočili poboljšanje kognitivnih sposobnosti, uključujući i povećani stupanj aktivacije mjeren pomoću fMRI u zadatku radnog pamćenja (Krikorian *i sur.*, 2010).

Iako je još uvijek potrebno razjasniti stvarni učinak liječenja sumporom u AB (<http://www.acu-cell.com/dis-alz.html>), dokazano je da sumporovi spojevi poput Na-tiosulfata (koji se inače preporučuje kao lijek prvog izbora pri akutnom trovanju živom) mogu smanjiti upalu potaknutu glija stanicama u neurodegenerativnim bolestima (Lee *i sur.*, 2016).

Potencijalna terapijska primjena bora u AB (<https://chiefio.wordpress.com/2012/09/20/boron-aluminum-hypothesis/>) proizlazi iz pretpostavke da u nedostatku bora organizam koristi aluminij u borovim metaboličkim putovima. Ta hipoteza, a i sami potencijalni terapijski učinak bora u AB, tek bi se trebao provjeriti.

Poremećaj stanične signalizacije kalcija je evidentiran u brojnim neurodegenerativnim bolestima pa tako i AB (Woods i Padmanabhan, 2012). I dobro se poznati mehanizam ekscitotoksične smrti neurona (Olney, 1969) temelji na pretjeranom ulazu iona kalcija kroz ionotropne glutamatne receptore (Sattler i Tymianski, 2001). Regulacija koncentracije kalcija izuzetno je složena, što i ne čudi, budući da ioni kalcija u povećanoj koncentraciji unutar stanice dovode do aktivacije brojnih enzima poput proteaza, endonukleaza i fosfolipaza koji mogu oštetiti DNA, membrane i stanični skelet (Orrenius *i sur.*, 1996). Povećanje razine kalija u AB je i prije zabilježeno, ali samo u serumu (Roberts *i sur.*, 2016). Do sada u dostupnoj literaturi nije zabilježena povezanost elemenata barija i stroncija s AB.

### 5.3.3. Usporedba makro- i mikroelemenata s kognitivnim evociranim potencijalima

U ovom istraživanju je ustanovljeno kako vrijednosti reakcijskog vremena pozitivno koreliraju s izmjerenim vrijednostima arsena i magnezija (u skupini ispitanika s BSP), kalija (kad se svi ispitanici promatraju kao jedna skupina), molibdena, kalcija i natrija (skupina ispitanika s BSP i svi ispitanici promatrani zajedno) te nikla (u skupini kontrolnih ispitanika). Vrijednosti potencijala N200 brojanje su pozitivno korelirale s vrijednostima cinka u kontrolnoj skupini ispitanika, a vrijednosti potencijala P300 brojanje s izmjerenim vrijednostima kroma u skupini svih ispitanika promatranih zajedno. Ispitanici s patološkim vrijednostima reakcijskog vremena (IV = 397.5 ms) imali su u likvoru povišene vrijednosti Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Cu, As, Se, Sr, Mo (skupina ispitanika s BSP i svih ispitanika promatranih zajedno), te Ni, Zn, Cd i Tl (svi ispitanici promatrani kao jedna skupina) (**Tablica 34, Slika 43**). Ispitanici s patološkim vrijednostima potencijala N200 brojanje (IV = 245 ms) imali su u likvoru povišene vrijednosti natrija, magnezija i cinka, a ispitanici s patološkim vrijednostima potencijala P300 brojanje (IV = 341.5 ms) povišene vrijednosti barija (**Tablica 34**).

Pretraživanjem dostupne literature u velikim multidisciplinarnim međunarodnim bazama podataka Web of Science i PubMed (veljača 2017. godine) nisu pronađene studije u kojima su vrijednosti makro- i mikroelemenata uspoređivane s vrijednostima reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala kod ispitanika s demencijom, osim u dvije studije u kojima su vrijednosti razine bakra u serumu uspoređene s vrijednostima kortikalnih elektroencefalografskih ritmova (Babiloni *i sur.*, 2007; Zappasodi *i sur.*, 2008). U prvonavedenom istraživanju su vrijednosti bakra iz seruma korelirale s usporavanjem kortikalnih elektroencefalografskih ritmova kod bolesnika s AB (Babiloni *i sur.*, 2007), a u drugonavedenom je istraživanju kod nositelja rizičnog  $\epsilon 4$  alela *APOE* gena utvrđena visoka korelacija razine bakra iz seruma sa sljepoočnom  $\alpha 1$  aktivnošću (Zappasodi *i sur.*, 2008).

Rezultati ovog istraživanja o povezanosti makro- i mikroelemenata s reakcijskim vremenom u AB dodatno podupiru pretpostavku o povezanosti makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima (posebice p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) te ukazuju kako bi imalo smisla napraviti daljnja istraživanja opaženih promjena Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Cu, As, Se, Sr, Mo, Ni, Zn, Cd, Tl i Ba (uspoređivanjem s vrijednostima RV, potencijala N200 brojanje i P300 brojanje) na još većem broju ispitanika.

### 5.3.4. Usporedba makro- i mikroelemenata s neuropsihološkim testovima

U ovom istraživanju je nađena pozitivna korelacija izmjerenih razina molibdena i nikla u likvoru s vrijednostima MMSE u skupini svih ispitanika promatраниh zajedno, te molibdena kod oboljelih od AB i kod ispitanika s BSP. Korelacija ostalih makro- i mikroelemenata s ostvarenim bodovima na MMSE ljestvici nije pronađena. Budući da su vrijednosti nikla pozitivno korelirale s vrijednostima p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1, a vrijednosti molibdena s vrijednostima p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 (**Tablica 30**), dobivena pozitivna korelacija molibdena i nikla s vrijednostima MMSE je donekle kontradiktorna. Kako su vrijednosti proteinskih likvorskih bioloških biljega (osim A $\beta$ <sub>1-42</sub>) u negativnoj korelaciji s vrijednostima MMSE (s progresijom bolesti se pogoršavaju kognitivne sposobnosti koje se mjere pomoću MMSE), taj bi nalaz trebalo provjeriti na većoj skupini ispitanika.

Navedeni rezultati našeg istraživanja o povezanosti razina molibdena i nikla u likvoru s brojem bodova na MMSE ljestvici nisu u potpunom suglasju s ijednom od dosadašnjih studija u kojima su vrijednosti makro- i mikroelemenata uspoređivane s rezultatima neuropsiholoških testiranja. No, ni rezultati tih prijašnjih studija nisu konzistentni. Tako su npr. Baum i suradnici našli pozitivnu korelaciju vrijednosti arsena mjerenih u serumu s brojem MMSE bodova (Baum *i sur.*, 2010), a Squitti i suradnici su mjerenjem razine bakra u serumu predvidjeli kognitivno urušavanje praćeno MMSE ljestvicom (Squitti *i sur.*, 2009). Nasuprot tome, Hozumi i suradnici nisu uočili povezanost bakra mjerenog u likvoru s brojem MMSE bodova (Hozumi *i sur.*, 2011). Vrijednosti olova u serumu su negativno korelirale s neuropsihološkim testovima prepoznavanja i prisjećanja liste riječi (Park *i sur.*, 2014). Smorgon i suradnici su zabilježili pozitivnu korelaciju vrijednosti Se, Cr, Co i Fe iz seruma te negativnu korelaciju vrijednosti bakra i aluminija iz seruma s kognitivnim sposobnostima određenim pomoću skale cjelokupne procjene demencije (MODA, *Milan overall dementia assessment*) (Smorgon *i sur.*, 2004).



### 5.3.5. Faktorski skor makro- i mikroelemenata

Pojedina obilježja makro- i mikroelemenata mjerenih u likvoru su također analizirana uporabom opcije „redukcije dimenzija“ iz SPSS programskog paketa s ciljem grupiranja pojedinih makro- i mikroelemenata koji imaju sličan obrazac pojavljivanja u likvoru. Grupiranjem je dobiveno pet skupina makro- i mikroelemenata. Većina makro- i mikroelemenata se grupirala u jednu skupinu – FS1 (B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl i Hg), dok su se dva potencijalno toksična metala za koje se smatra da bi ulaskom iz okoliša kroz KMB u mozak mogli pridonijeti nastanku AB, kadmij i olovo, grupirali u istu dimenziju (FS2).

Prema literaturnim podacima su zasebno rađeni faktorski skorovi metala s potencijalno sličnim mehanizmom djelovanja u AB: metali normalno prisutni u organizmu, ali s poremećenom homeostazom u AB (željezo, bakar i cink) (Bush, 2013), metali i polumetali povezani s mogućim trovanjem iz okoliša (Al, As, Cd, Hg i Pb) (Ashok *i sur.*, 2015; Bhattacharjee *i sur.*, 2014; Loef *i sur.*, 2011) te toksična živa i neuroprotektivno djelovanje selena (veže toksične ione žive) (živa i selen) (Loef *i sur.*, 2011). Niti jedan od dobivenih faktorskih skorova nije uspio razlikovati sve tri skupine ispitanika (AB, BSP i KONT). Stoga je napravljena usporedba u vrijednostima FS između skupina s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega i kognitivnih evociranih potencijala. Kao i kod pojedinačno ispitivanih makro- i mikroelemenata, vrijednosti dobivenih faktorskih skorova su se uglavnom značajno razlikovale između skupina s normalnim i patološkim vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega. Vrijednosti FS (za B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl i Hg) su bile povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$  i p-tau<sub>181</sub> (BSP) te p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 (AB i BSP). Vrijednosti FS (za kadmij i olovo) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$ . Vrijednosti FS (za željezo, bakar i cink) su bile povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub> (BSP), p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 (AB i BSP) te p-tau<sub>199</sub> (AB). Vrijednosti FS (za arsen i živu) su bile povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> (BSP) i VILIP-1 (AB i BSP). Vrijednosti FS (za aluminij, kadmij i olovo) su bile povišene u skupini BSP ispitanika s patološkim vrijednostima  $A\beta_{1-42}$ , a vrijednosti FS (za arsen, kadmij i olovo) su bile povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>199</sub> (BSP i AB) i p-tau<sub>231</sub> (BSP).

Vrijednosti FS (za selen i živu) su bile povišene u skupini ispitanika s patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 (BSP) te p-tau<sub>199</sub> (AB).

Vrijednosti FS (za B, Na, Mg, S, K, Ca, Cr, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ba, Tl i Hg), FS (za željezo, bakar i cink), FS (za arsen i živu) i FS (za arsen, kadmij i olovo) su bile povišene u skupini ispitanika s BSP s patološkim vrijednostima reakcijskog vremena.

Navedeni rezultati nisu potvrdili priželjkivani dijagnostički potencijal ispitivanih makro- i mikroelemenata u ranom otkrivanju AB. Pored toga, nije pokazana niti povezanost makro- i mikroelemenata s kognitivnim urušavanjem u AB (mjereno MMSE ljestvicom). Ipak, rezultati ukazuju na neočekivano veliku povezanost pojedinih makro- i mikroelemenata s likvorskim proteinskim biološkim biljezima AB i reakcijskim vremenima kognitivnih evociranih potencijala. Tako je za razine Se, Tl, Zn, Cr i Ba uočena povezanost s čak šest različitih bioloških biljega. Izmjerene razine Cu, Fe, As, Co, Ca, Mg i S su bile povezane s pet bioloških biljega, a vrijednosti Hg, Mn, K, Sr i Na s četiri biološka biljega. Vrijednosti Cd, Ni, Mo i B su bile povezane s tri, vrijednosti aluminijska i olova s dva te razine litija s jednim biološkim biljegom AB. Zbog svega navedenog, ali i zbog činjenice da je povezanost navedenih elemenata s patogeneza AB dokumentirana i ranije (Basha *i sur.*, 2005; Jiang *i sur.*, 2007; Mantyh *i sur.*, 1993), ipak smatramo kako su potrebna daljnja istraživanja kako bi se razjasnila uočena povezanost makro- i mikroelemenata, napose Se, Tl, Zn, Cr, Ba, Cu, Fe, As, Co, Ca, Mg, S, Hg, Mn, K, Sr i Na s biološkim biljezima u AB, iako nije zanemariva ni povezanost aluminijska, olova i kadmija s ispitivanim biološkim biljezima.

## **6. ZAKLJUČCI**

Rezultatima proizišlim iz ovog istraživanja je odbačena nulta hipoteza istraživanja da se kombinacijom bioloških biljega iz likvora ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) ne može se pretkazati koje će osobe s BSP oboljeti od AB budući da se kombinacijom p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 proteina u likvoru značajno povećala specifičnost i osjetljivost temeljnih bioloških biljega AB ( $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau i p-tau<sub>181</sub>). Točnije, kombinacijom p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>231</sub> se postigla 80.1%-tna osjetljivost i 77.8%-tna specifičnost, a kombinacijom  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1 se postigla 80.1%-tna osjetljivost i 77.8%-tna specifičnost. Iako ispitivani makro- i mikroelementi nisu pokazali dijagnostički potencijal u AB, utvrđena je njihova dobra povezanost s likvorskim proteinskim biološkim biljezima i reakcijskim vremenom izmjerenim prilikom testiranja kognitivnih evociranih potencijala. Iako ispitivani neinvazivni biološki biljeg AB iz plazme neurokan nije pokazao neki veći dijagnostički potencijal, uporabom drugih ispitivanih neinvazivnih bioloških biljega AB, kognitivnih evociranih potencijala (latencije P300 i N200) i reakcijskog vremena se s visokim vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti uspjelo razlikovati tri skupine ispitanika (AB, BSP i KONT). Dodatno su i kognitivni evocirani potencijali pokazali jako dobru povezanost s likvorskim proteinskim biološkim biljezima. Na temelju likvorskih proteinskih bioloških biljega i kognitivnih evociranih potencijala izrađena su tri prediktivna modela za određivanje vjerojatnosti nastanka AB u osoba s BSP.

#### Zaključci:

1. Od triju ispitivanih potencijalnih likvorskih proteinskih bioloških biljega AB (p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1), najbolji pojedinačni dijagnostički potencijal imao je p-tau<sub>231</sub> (76.7%-tnu osjetljivost i 77.8%-tnu specifičnost), dok su se p-tau<sub>199</sub> i VILIP-1 pokazali vrijednim biološkim biljezima kojima se dodatno poboljšala dijagnostička točnost  $A\beta_{1-42}$ , ukupnog tau i p-tau<sub>181</sub>;
2. Od svih ispitivanih likvorskih proteinskih bioloških biljega za AB ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1), p-tau<sub>181</sub> je s postignutim vrijednostima osjetljivosti od 80.6% i specifičnosti od 73.7% bio najbolji proteinski biološki biljeg. Dodatno, kombinacije p-tau<sub>181</sub> i p-tau<sub>231</sub> (osjetljivost 80.1%, specifičnost 77.8%) i pet odabranih bioloških biljega ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) (osjetljivost 80.1%, specifičnost 77.8%) postigle su jako visoke vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti. To ipak nije bilo dovoljno za ispunjavanje kriterija

„idealnog“ biološkog biljega, koji bi po definiciji trebao imati i osjetljivost i specifičnost veću od 85%;

3. Mjerenje razine proteina neurokana u plazmi nije pokazalo dijagnostički potencijal za AB, iako je koncentracija tog proteina u plazmi dobro korelirala s vrijednostima ukupnog tau proteina, te fosfo-tau proteina p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>;
4. Prema dvama modelima za određivanje hoće li u osoba s BSP nastupiti AB izrađenima na temelju likvorskih proteinskih bioloških biljega, 22-39% ispitanika s BSP imalo je jako visoki rizik za razvoj AB, 40-50% ispitanika s BSP imalo je relativno visok rizik za razvoj AB, 35% ispitanika s BSP imalo je nizak rizik za razvoj AB, dok je 13-20% ispitanika s BSP bilo bez rizika za nastanak AB;
5. Ispitivani kognitivni evocirani potencijali N200 i P300 imali su dobar dijagnostički potencijal za rano otkrivanje AB. Osobito visoke vrijednosti osjetljivosti (90.9%) i specifičnosti (100%) su se postigle mjerenjem latencije P300 (brojanje). Taj biološki biljeg se može smatrati najboljim od neinvazivnih bioloških biljega ispitivanih u ovom istraživanju, budući da je postigao vrijednosti koje zadovoljavaju kriterije „idealnog“ biljega. Stoga njegovu vrijednost svakako treba potvrditi u budućim istraživanjima na većem uzorku ispitanika svih triju skupina;
6. S obzirom da su vrijednosti latencija P300 i N200 potencijala te reakcijskog vremena značajno negativno korelirale s brojem MMSE bodova, pomoću kognitivnih evociranih potencijala može se predvidjeti kognitivno urušavanje u bolesnika s AB;
7. Ispitivani kognitivni evocirani potencijali bili su jako dobro povezani s likvorskim proteinskim biološkim biljezima (u vidu visoke korelacije navedenih bioloških biljega i razlika između skupina ispitanika s patološkim i normalnim vrijednostima likvorskih proteinskih bioloških biljega). Preciznije rečeno, stupanj latencije P300 potencijala je značajno korelirao s razinama A $\beta$ <sub>1-42</sub>, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>, a stupanj latencije N200 potencijala s vrijednostima A $\beta$ <sub>1-42</sub>, ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1.
8. Vrijednosti reakcijskog vremena i stupnja latencije P300 potencijala su bile značajno niže u skupini bolesnika s AB koji su liječeni inhibitorima acetilkolinesteraze (AChEI) u odnosu na neliječene bolesnika s AB;
9. Prema prediktivnom modelu nastupa AB u osoba s BSP izrađenom na temelju kognitivnih evociranih potencijala i reakcijskog vremena, ukupno 31.3% osoba s BSP imalo je rizik za razvoj AB iznad 95%, 43.8% bolesnika s BSP imalo je rizik za razvoj AB iznad 90%, a 56.3% osoba s BSP rizik za razvoj AB iznad 85%. Navedeni model

je visoko podudaran s prediktivnim modelom izrađenim na temelju likvorskih proteinskih bioloških biljega (međusobna odstupanja ovih dvaju modela bila su u rasponu od  $\pm 5\%$ );

10. Izmjerene razine 24 makro- i mikroelementa nisu pokazale dijagnostički potencijal za rano otkrivanje AB, niti su korelirale s kognitivnim urušavanjem u osoba s AB (mjenim brojem MMSE bodova);
11. Nasuprot tome, razine većine ispitivanih makro- i mikroelemenata dobro su korelirale s likvorskim proteinskim biološkim biljezima AB i mjenim reakcijskim vremenima na podražaje davane tijekom ispitivanja kognitivnih evociranih potencijala. Također, vrijednosti većine makro- i mikroelemenata su bile značajno različite između skupina osoba s BSP s normalnim i patološkim vrijednostima p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub>, VILIP-1 i reakcijskog vremena na davane podražaje;
12. Izmjerene razine iona elemenata Se, Tl, Zn, Cr i Ba bile su značajno povezane s čak šest bioloških biljega, Cu, Fe, As, Co, Ca, Mg i S s pet bioloških biljega, Hg, Mn, K, Sr i Na s četiri biološka biljega, Cd, Ni, Mo i B s tri biološka biljega, Al i Pb s dva biološka biljega te je litij povezan s jednim biološkim biljegom.

## **LITERATURA**

- Adlard PA, Parncutt JM, Finkelstein DI, Bush AI (2010). Cognitive loss in zinc transporter-3 knock-out mice: a phenocopy for the synaptic and memory deficits of Alzheimer's disease? *J Neurosci* **30**: 1631–1636.
- Adlard PA, West AK, Vickers JC (1998). Increased Density of Metallothionein I/II-Immunopositive Cortical Glial Cells in the Early Stages of Alzheimer's Disease. *Neurobiol Dis* **5**: 349–356.
- Adler G, Rottunda SJ, Dysken MW, al. et (1996). The Driver With Dementia: A Review of the Literature. *Am J Geriatr Psychiatry* **4**: 110–120.
- Agarwal KN (2001). Iron and the brain: neurotransmitter receptors and magnetic resonance spectroscopy. *Br J Nutr* **85 Suppl 2**: S147-150.
- Aisen PS (2002). The potential of anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* **1**: 279–284.
- Akke M, Forsén S, Chazin WJ (1993). <sup>15</sup>N NMR assignments of (Cd<sup>2+</sup>)<sub>2</sub>-calbindin D9k and comparison with (Ca<sup>2+</sup>)<sub>2</sub>-calbindin D9k. Cadmium as a substitute for calcium in calcium-binding proteins. *Magn Reson Chem* **31**: S128–S132.
- Alimonti A, Ristori G, Giubilei F, Stazi MA, Pino A, Visconti A, *i sur.* (2007). Serum chemical elements and oxidative status in Alzheimer's disease, Parkinson disease and multiple sclerosis. *Neurotoxicology* **28**: 450–456.
- Ally BA, Jones GE, Cole JA, Budson AE (2006). The P300 component in patients with Alzheimer's disease and their biological children. *Biol Psychol* **72**: 180–187.
- Altmann A, Tian L, Henderson VW, Greicius MD, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative Investigators (2014). Sex modifies the *APOE* -related risk of developing Alzheimer disease. *Ann Neurol* **75**: 563–573.
- Aluise CD, Sowell RA, Butterfield DA (2008). Peptides and proteins in plasma and cerebrospinal fluid as biomarkers for the prediction, diagnosis, and monitoring of therapeutic efficacy of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* **1782**: 549–558.
- Alzheimer's Association (2013). 2013 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement* **9**: 208–245.
- Alzheimer's Association (2014). 2014 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimer's Dement* **10**: 1–75.
- American Psychiatric Association (Washington, DC, SAD, 2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed.)*.
- An W-L, Bjorkdahl C, Liu R, Cowburn RF, Winblad B, Pei J-J (2005). Mechanism of zinc-induced phosphorylation of p70 S6 kinase and glycogen synthase kinase 3beta in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *J Neurochem* **92**: 1104–1115.
- Andrási E, Igaz S, Molnár Z, Makó S (2000). Disturbances of magnesium concentrations in various brain areas in Alzheimer's disease. *Magnes Res* **13**: 189–196.
- Anstey KJ, Sanden C von, Salim A, O'Kearney R (2007). Smoking as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: A Meta-Analysis of Prospective Studies. *Am J Epidemiol* **166**: 367–378.
- APA (Washington, DC, 2000). *American Psychiatric Association: Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed.*



- Arai H, Ishiguro K, Ohno H, Moriyama M, Itoh N, Okamura N, *i sur.* (2000). CSF Phosphorylated Tau Protein and Mild Cognitive Impairment: A Prospective Study. *Exp Neurol* **166**: 201–203.
- Areosa SA, Sherriff F, McShane R (2005). Memantine for dementia. *Cochrane Database Syst Rev* CD003154doi:10.1002/14651858.CD003154.pub4.
- Ashford JW, Coburn KL, Rose TL, Bayley PJ (2011). P300 energy loss in aging and Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* **26**: 229–238.
- Ashok A, Rai NK, Tripathi S, Bandyopadhyay S (2015). Exposure to As-, Cd-, and Pb-Mixture Induces A $\beta$ , Amyloidogenic APP Processing and Cognitive Impairments via Oxidative Stress-Dependent Neuroinflammation in Young Rats. *Toxicol Sci* **143**: 64–80.
- Attems J, Jellinger KA (2014). The overlap between vascular disease and Alzheimer's disease - lessons from pathology. *BMC Med* **12**: 206.
- Attems J, Lintner F, Jellinger KA (2004). Amyloid beta peptide 1-42 highly correlates with capillary cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer disease pathology. *Acta Neuropathol* **107**: 479–480.
- Atwood CS, Bowen RL, Smith MA, Perry G (2003). Cerebrovascular requirement for sealant, anti-coagulant and remodeling molecules that allow for the maintenance of vascular integrity and blood supply. *Brain Res Brain Res Rev* **43**: 164–178.
- Augustinack JC, Schneider A, Mandelkow E-M, Hyman BT (2002). Specific tau phosphorylation sites correlate with severity of neuronal cytopathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* **103**: 26–35.
- Ayton S, Lei P, Bush AI (2013). Metallostasis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* **62**: 76–89.
- Babić M, Švob Štrac D, Mück-Šeler D, Pivac N, Stanić G, Hof PR, *i sur.* (2014). Update on the core and developing cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer disease. *Croat Med J* **55**: 347–365.
- Babić M, Vogrinc Z, Diana A, Klepac N, Borovečki F, Hof PR, *i sur.* (2013). Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays for cerebrospinal fluid measurement of amyloid  $\beta$ 1-42 and total tau. *Transl Neurosci* **4**: 234–240.
- Babić Leko M, Borovečki F, Dejanović N, Hof PR, Šimić G (2016). Predictive Value of Cerebrospinal Fluid Visinin-Like Protein-1 Levels for Alzheimer's Disease Early Detection and Differential Diagnosis in Patients with Mild Cognitive Impairment. *J Alzheimer's Dis* **50**: 765–778.
- Babiloni C, Squitti R, Percio C Del, Cassetta E, Ventriglia MC, Ferreri F, *i sur.* (2007). Free copper and resting temporal EEG rhythms correlate across healthy, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease subjects. *Clin Neurophysiol* **118**: 1244–1260.
- Bachmann-Harildstad G (2008). Diagnostic values of beta-2 transferrin and beta-trace protein as markers for cerebrospinal fluid fistula. *Rhinology* **46**: 82–85.
- Bakulski KM, Rozek LS, Dolinoy DC, Paulson HL, Hu H (2012). Alzheimer's disease and environmental exposure to lead: the epidemiologic evidence and potential role of epigenetics. *Curr Alzheimer Res* **9**: 563–573.
- Banta RG, Markesbery WR (1977). Elevated manganese levels associated with dementia and extrapyramidal signs. *Neurology* **27**: 213–216.

- Bardgett ME, Schultheis PJ, McGill DL, Richmond RE, Wagge JR (2005). Magnesium deficiency impairs fear conditioning in mice. *Brain Res* **1038**: 100–106.
- Bartzokis G, Lu PH, Mintz J (2007). Human brain myelination and amyloid beta deposition in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement* **3**: 122–125.
- Basha MR, Wei W, Bakheet SA, Benitez N, Siddiqi HK, Ge Y-W, *i sur.* (2005). The Fetal Basis of Amyloidogenesis: Exposure to Lead and Latent Overexpression of Amyloid Precursor Protein and  $\beta$ -Amyloid in the Aging Brain. *J Neurosci* **25**: 823–829.
- Bastard N Le, Aerts L, Slegers K, Martin J-J, Broeckhoven C Van, Deyn PP De, *i sur.* (2013). Longitudinal stability of cerebrospinal fluid biomarker levels: fulfilled requirement for pharmacodynamic markers in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* **33**: 807–822.
- Bastos-Leite AJ, Flier WM van der, Straaten ECW van, Staekenborg SS, Scheltens P, Barkhof F (2007). The contribution of medial temporal lobe atrophy and vascular pathology to cognitive impairment in vascular dementia. *Stroke* **38**: 3182–3185.
- Basun H, Forssell LG, Wetterberg L, Winblad B (1991). Metals and trace elements in plasma and cerebrospinal fluid in normal aging and Alzheimer's disease. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* **3**: 231–258.
- Baum L, Chan IHS, Cheung SK-K, Goggins WB, Mok V, Lam L, *i sur.* (2010). Serum zinc is decreased in Alzheimer's disease and serum arsenic correlates positively with cognitive ability. *Biometals* **23**: 173–179.
- Baumgart M, Snyder HM, Carrillo MC, Fazio S, Kim H, Johns H (2015). Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: A population-based perspective. *Alzheimer's Dement* **11**: 718–726.
- Beard J (2003). Iron deficiency alters brain development and functioning. *J Nutr* **133**: 1468S–1472S.
- Beim Graben P, Gerth S, Vasishth S (2008). Towards dynamical system models of language-related brain potentials. *Cogn Neurodyn* **2**: 229–255.
- Bennys K, Portet F, Touchon J, Rondouin G (2007). Diagnostic Value of Event-Related Evoked Potentials N200 and P300 Subcomponents in Early Diagnosis of Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *J Clin Neurophysiol* **24**: 405–412.
- Bennys K, Rondouin G, Benattar E, Gabelle A, Touchon J (2011). Can Event-Related Potential Predict the Progression of Mild Cognitive Impairment? *J Clin Neurophysiol* **28**: 625–632.
- Bernstein H-G, Braunewell K-H (2009). Some Notes on Visinin-Like Protein 1 and Alzheimer Disease. *Clin Chem* **55**: 1041–1043.
- Berrios GE (1990). Alzheimer's disease: A conceptual history. *Int J Geriatr Psychiatry* **5**: 355–365.
- Bhattacharjee S, Zhao Y, Hill JM, Percy ME, Lukiw WJ (2014). Aluminum and its potential contribution to Alzheimer's disease (AD). *Front Aging Neurosci* **6**: 62.
- Biekofsky RR, Feeney J (1998). Cooperative cyclic interactions involved in metal binding to pairs of sites in EF-hand proteins. *FEBS Lett* **439**: 101–106.
- Bierer LM, Hof PR, Purohit DP, Carlin L, Schmeidler J, Davis KL, *i sur.* (1995). Neocortical

- neurofibrillary tangles correlate with dementia severity in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* **52**: 81–88.
- Blennow K (2004). Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *NeuroRx* **1**: 213–225.
- Blennow K, Hampel H (2003). CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* **2**: 605–613.
- Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H (2010). Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* **6**: 131–144.
- Blennow K, Wallin A, Ågren H, Spenger C, Siegfried J, Vanmechelen E (1995). Tau protein in cerebrospinal fluid. *Mol Chem Neuropathol* **26**: 231–245.
- Blennow K, Zetterberg H, Minthon L, Lannfelt L, Strid S, Annas P, *i sur.* (2007). Longitudinal stability of CSF biomarkers in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* **419**: 18–22.
- Block ML, Wu X, Pei Z, Li G, Wang T, Qin L, *i sur.* (2004). Nanometer size diesel exhaust particles are selectively toxic to dopaminergic neurons: the role of microglia, phagocytosis, and NADPH oxidase. *FASEB J* **18**: 1618–1620.
- Boban M, Grbić K, Mladinov M, Hof PR, Süßmair C, Ackl N, *i sur.* (2008). Cerebrospinal Fluid Markers in Differential Diagnosis of Alzheimer's Disease and Vascular Dementia. *Coll Antropol* **32**: 31–36.
- Boban M, Malojčić B, Mimica N, Vuković S, Zrilić I, Hof PR, *i sur.* (2012). The reliability and validity of the mini-mental state examination in the elderly Croatian population. *Dement Geriatr Cogn Disord* **33**: 385–392.
- Boban M, Šarac H, Mimica N, Mladinov M, Süßmair C, Ackl N, *i sur.* (2010). CSF tau proteins in differential diagnosis of dementia. *Transl Neurosci* **1**: 43–48.
- Bocca B, Forte G, Petrucci F, Pino A, Marchione F, Bomboi G, *i sur.* (2005). Monitoring of chemical elements and oxidative damage in patients affected by Alzheimer's disease. *Ann Ist Super Sanita* **41**: 197–203.
- Bonanni L, Franciotti R, Onofrij V, Anzellotti F, Mancino E, Monaco D, *i sur.* (2010). Revisiting P300 cognitive studies for dementia diagnosis: Early dementia with Lewy bodies (DLB) and Alzheimer disease (AD). *Neurophysiol Clin Neurophysiol* **40**: 255–265.
- Bouwman FH, Flier WM van der, Schoonenboom NSM, Elk EJ van, Kok A, Rijmen F, *i sur.* (2007). Longitudinal changes of CSF biomarkers in memory clinic patients. *Neurology* **69**: 1006–1011.
- Braak H, Alafuzoff I, Arzberger T, Kretschmar H, Tredici K (2006). Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol* **112**: 389–404.
- Braak H, Braak E (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* **82**: 239–259.
- Braak H, Tredici K Del (2013). Amyloid- $\beta$  may be released from non-junctional varicosities of axons generated from abnormal tau-containing brainstem nuclei in sporadic Alzheimer's disease: a hypothesis. *Acta Neuropathol* **126**: 303–306.

- Braak H, Zetterberg H, Tredici K Del, Blennow K (2013). Intraneuronal tau aggregation precedes diffuse plaque deposition, but amyloid- $\beta$  changes occur before increases of tau in cerebrospinal fluid. *Acta Neuropathol* **126**: 631–641.
- Bramon E, McDonald C, Croft RJ, Landau S, Filbey F, Gruzelier JH, *i sur.* (2005). Is the P300 wave an endophenotype for schizophrenia? A meta-analysis and a family study. *Neuroimage* **27**: 960–968.
- Braverman ER, Blum K (2003). P300 (latency) event-related potential: an accurate predictor of memory impairment. *Clin Electroencephalogr* **34**: 124–139.
- Braverman ER, Blum K, Damle UJ, Kerner M, Dushaj K, Oscar-Berman M (2013). Evoked Potentials and Neuropsychological Tests Validate Positron Emission Topography (PET) Brain Metabolism in Cognitively Impaired Patients. *PLoS One* **8**: e55398.
- Braverman ER, Blum K, Hussman KL, Han D, Dushaj K, Li M, *i sur.* (2015). Evoked Potentials and Memory/Cognition Tests Validate Brain Atrophy as Measured by 3T MRI (NeuroQuant) in Cognitively Impaired Patients. *PLoS One* **10**: e0133609.
- Brewer GJ (2012). Copper excess, zinc deficiency, and cognition loss in Alzheimer's disease. *Biofactors* **38**: 107–113.
- Brewer GJ (2014). Alzheimer's disease causation by copper toxicity and treatment with zinc. *Front Aging Neurosci* **6**: 92.
- Brewer GJ, Kanzer SH, Zimmerman EA, Molho ES, Celmins DF, Heckman SM, *i sur.* (2010). Subclinical zinc deficiency in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen* **25**: 572–575.
- Brickell KL, Steinbart EJ, Rumbaugh M, Payami H, Schellenberg GD, Deerlin V Van, *i sur.* (2006). Early-Onset Alzheimer Disease in Families With Late-Onset Alzheimer Disease. *Arch Neurol* **63**: 1307.
- Broeckhoven C Van, Haan J, Bakker E, Hardy J, Hul W Van, Webnert A, *i sur.* (1990). Amyloid beta protein precursor gene and hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis (Dutch). *Science* **248**: 1120–1122.
- Brosseron F, Krauthausen M, Kummer M, Heneka MT (2014). Body fluid cytokine levels in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a comparative overview. *Mol Neurobiol* **50**: 534–544.
- Brys M, Pirraglia E, Rich K, Rolstad S, Mosconi L, Switalski R, *i sur.* (2009). Prediction and longitudinal study of CSF biomarkers in mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* **30**: 682–690.
- Buchhave P, Minthon L, Zetterberg H, Wallin AK, Blennow K, Hansson O (2012). Cerebrospinal fluid levels of  $\beta$ -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Arch Gen Psychiatry* **69**: 98–106.
- Bucossi S, Ventriglia M, Panetta V, Salustri C, Pasqualetti P, Mariani S, *i sur.* (2011). Copper in Alzheimer's disease: a meta-analysis of serum, plasma, and cerebrospinal fluid studies. *J Alzheimer's Dis* **24**: 175–185.
- Buée L, Bussiere T, Buee-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR (2000). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Rev* **33**: 95–130.
- Buée L, Delacourte A (1999). Comparative biochemistry of tau in progressive supranuclear palsy, corticobasal degeneration, FTDP-17 and Pick's disease. *Brain Pathol* **9**: 681–693.

- Bürger K, Alafuzoff I, Ewers M, Pirttilä T, Zinkowski R, Hampel H (2007). No correlation between CSF tau protein phosphorylated at threonine 181 with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain* **130**: e82.
- Bürger K, Ewers M, Pirttilä T, Zinkowski R, Alafuzoff I, Teipel SJ, *i sur.* (2006). CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain* **129**: 3035–3041.
- Bürger K, Teipel SJ, Zinkowski R, Blennow K, Arai H, Engel R, *i sur.* (2002a). CSF tau protein phosphorylated at threonine 231 correlates with cognitive decline in MCI subjects. *Neurology* **59**: 627–629.
- Bürger K, Teipel SJ, Zinkowski R, Sunderland T, Andreasen N, Blennow K, *i sur.* (2005). Increased levels of CSF phosphorylated tau in apolipoprotein E  $\epsilon$ 4 carriers with mild cognitive impairment. *Neurosci Lett* **391**: 48–50.
- Bürger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Arai H, DeBernardis J, Kerkman D, *i sur.* (2003). Differentiation of geriatric major depression from Alzheimer's disease with CSF tau protein phosphorylated at threonine 231. *Am J Psychiatry* **160**: 376–379.
- Bürger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Tapiola T, Arai H, Blennow K, *i sur.* (2002b). Differential diagnosis of Alzheimer disease with cerebrospinal fluid levels of tau protein phosphorylated at threonine 231. *Arch Neurol* **59**: 1267–1272.
- Bürger née Buch K, Padberg F, Nolde T, Teipel SJ, Stübner S, Haslinger A, *i sur.* (1999). Cerebrospinal fluid tau protein shows a better discrimination in young old (<70 years) than in old patients with Alzheimer's disease compared with controls. *Neurosci Lett* **277**: 21–24.
- Bush AI (2013). The metal theory of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **33 Suppl 1**: S277-281.
- Bush AI, Pettingell WH, Paradis M de, Tanzi RE, Wasco W (1994). The amyloid beta-protein precursor and its mammalian homologues. Evidence for a zinc-modulated heparin-binding superfamily. *J Biol Chem* **269**: 26618–26621.
- Caamaño-Isorna F, Corral M, Montes-Martínez A, Takkouche B (2006). Education and Dementia: A Meta-Analytic Study. *Neuroepidemiology* **26**: 226–232.
- Cai Z, Hussain MD, Yan L-J (2014). Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *Int J Neurosci* **124**: 307–321.
- Calderón-Garcidueñas L, Reed W, Maronpot RR, Henríquez-Roldán C, Delgado-Chavez R, Calderón-Garcidueñas A, *i sur.* (2004). Brain Inflammation and Alzheimer's-Like Pathology in Individuals Exposed to Severe Air Pollution. *Toxicol Pathol* **32**: 650–658.
- Calderón-Garcidueñas L, Solt A, Henríquez-Roldán C, Torres-Jardón R, Nuse B, Herritt L, *i sur.* (2008). Long-term air pollution exposure is associated with neuroinflammation, an altered innate immune response, disruption of the blood-brain barrier, ultrafine particulate deposition, and accumulation of amyloid beta-42 and alpha-synuclein in children and young. *Toxicol Pathol* **36**: 289–310.
- Caravaglios G, Costanzo E, Palermo F, Muscoso EG (2008). Decreased amplitude of auditory event-related delta responses in Alzheimer's disease. *Int J Psychophysiol* **70**: 23–32.
- Cardoso BR, Ong TP, Jacob-Filho W, Jaluul O, Freitas MI d'Ávila, Cozzolino SMF (2010). Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. *Br J Nutr* **103**: 803.

- Carrillo MC, Blennow K, Soares H, Lewczuk P, Mattsson N, Oberoi P, *i sur.* (2013). Global standardization measurement of cerebral spinal fluid for Alzheimer's disease: an update from the Alzheimer's Association Global Biomarkers Consortium. *Alzheimer's Dement* **9**: 137–140.
- Cecchi M, Moore DK, Sadowsky CH, Solomon PR, Doraiswamy PM, Smith CD, *i sur.* (2015). A clinical trial to validate event-related potential markers of Alzheimer's disease in outpatient settings. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit* **1**: 387–394.
- Chang Y-S, Chen H-L, Hsu C-Y, Tang S-H, Liu C-K (2014). Parallel Improvement of Cognitive Functions and P300 Latency Following Donepezil Treatment in Patients With Alzheimer's Disease. *J Clin Neurophysiol* **31**: 81–85.
- Chen H, Kwong JC, Copes R, Tu K, Villeneuve PJ, Donkelaar A van, *i sur.* (2017). Living near major roads and the incidence of dementia, Parkinson's disease, and multiple sclerosis: a population-based cohort study. *Lancet* **389**: 718–726.
- Chen L, Zhou Y, Liu L, Zhang X, Zhang H, Liu S (2015). Cortical event-related potentials in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *J Neurol Sci* **359**: 88–93.
- Cherbuin N, Kumar R, Sachdev PS, Anstey KJ (2014). Dietary Mineral Intake and Risk of Mild Cognitive Impairment: The PATH through Life Project. *Front Aging Neurosci* **6**: 4.
- Chouliaras L, Mastroeni D, Delvaux E, Grover A, Kenis G, Hof PR, *i sur.* (2013). Consistent decrease in global DNA methylation and hydroxymethylation in the hippocampus of Alzheimer's disease patients. *Neurobiol Aging* **34**: 2091–2099.
- Chui HC, Victoroff JJ, Margolin D, Jagust W, Shankle R, Katzman R (1992). Criteria for the diagnosis of ischemic vascular dementia proposed by the State of California Alzheimer's Disease Diagnostic and Treatment Centers. *Neurology* **42**: 473–473.
- Clawson A, Clayson PE, Keith CM, Catron C, Larson MJ (2017). Conflict and performance monitoring throughout the lifespan: An event-related potential (ERP) and temporospatial component analysis. *Biol Psychol* **124**: 87–99.
- Cleary JP, Walsh DM, Hofmeister JJ, Shankar GM, Kuskowski MA, Selkoe DJ, *i sur.* (2005). Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt cognitive function. *Nat Neurosci* **8**: 79–84.
- Connor JR, Menzies SL, St Martin SM, Mufson EJ (1992). A histochemical study of iron, transferrin, and ferritin in Alzheimer's diseased brains. *J Neurosci Res* **31**: 75–83.
- Connor JR, Tucker P, Johnson M, Snyder B (1993). Ceruloplasmin levels in the human superior temporal gyrus in aging and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* **159**: 88–90.
- Cook C, Carlomagno Y, Gendron TF, Dunmore J, Scheffel K, Stetler C, *i sur.* (2014). Acetylation of the KXGS motifs in tau is a critical determinant in modulation of tau aggregation and clearance. *Hum Mol Genet* **23**: 104–116.
- Coria F, Rubio I (1996). Cerebral amyloid angiopathies. *Neuropathol Appl Neurobiol* **22**: 216–227.
- Corona C, Masciopinto F, Silvestri E, Viscovo A Del, Lattanzio R, Sorda R La, *i sur.* (2010). Dietary zinc supplementation of 3xTg-AD mice increases BDNF levels and prevents cognitive deficits as well as mitochondrial dysfunction. *Cell Death Dis* **1**: e91.
- Corrigan FM, Reynolds GP, Ward NI (1993). Hippocampal tin, aluminum and zinc in Alzheimer's disease. *Biometals* **6**: 149–154.

- Craig-Schapiro R, Fagan AM, Holtzman DM (2009). Biomarkers of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* **35**: 128–140.
- Craig-Schapiro R, Kuhn M, Xiong C, Pickering EH, Liu J, Misko TP, *i sur.* (2011). Multiplexed immunoassay panel identifies novel CSF biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis and prognosis. *PLoS One* **6**: e18850.
- Craig-Schapiro R, Perrin RJ, Roe CM, Xiong C, Carter D, Cairns NJ, *i sur.* (2010). YKL-40: a novel prognostic fluid biomarker for preclinical Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* **68**: 903–912.
- Cruchaga C, Karch CM, Jin SC, Benitez B a, Cai Y, Guerreiro R, *i sur.* (2014). Rare coding variants in the phospholipase D3 gene confer risk for Alzheimer's disease. *Nature* **505**: 550–554.
- Cui L, Schoene NW, Zhu L, Fanzo JC, Alshatwi A, Lei KY (2002). Zinc depletion reduced Egr-1 and HNF-3beta expression and apolipoprotein A-I promoter activity in Hep G2 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* **283**: C623–630.
- Cullen KM, Kócsi Z, Stone J (2006). Microvascular pathology in the aging human brain: evidence that senile plaques are sites of microhaemorrhages. *Neurobiol Aging* **27**: 1786–1796.
- Cummings JL, Dubois B, Molinuevo JL, Scheltens P (2013). International Work Group criteria for the diagnosis of Alzheimer disease. *Med Clin North Am* **97**: 363–368.
- Damante CA, Osz K, Nagy Z, Pappalardo G, Grasso G, Impellizzeri G, *i sur.* (2009). Metal loading capacity of Aβeta N-terminus: a combined potentiometric and spectroscopic study of zinc(II) complexes with Aβeta(1-16), its short or mutated peptide fragments and its polyethylene glycol-ylated analogue. *Inorg Chem* **48**: 10405–10415.
- Danker HH, Brown PD, Praetorius J (2013). Cerebrospinal Fluid Secretion by the Choroid Plexus. *Physiol Rev* **93**: 1847–1892.
- Dani SU (2010). Arsenic for the fool: An exponential connection. *Sci Total Environ* **408**: 1842–1846.
- Dash M, Eid A, Subaiea G, Chang J, Deeb R, Masoud A, *i sur.* (2016). Developmental exposure to lead (Pb) alters the expression of the human tau gene and its products in a transgenic animal model. *Neurotoxicology* **55**: 154–159.
- Deibel MA, Ehmann WD, Markesbery WR (1996). Copper, iron, and zinc imbalances in severely degenerated brain regions in Alzheimer's disease: possible relation to oxidative stress. *J Neurol Sci* **143**: 137–142.
- DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, Boxer AL, Baker M, Rutherford NJ, *i sur.* (2011). Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* **72**: 245–256.
- Deursen JA van, Vuurman EFPM, Smits LL, Verhey FRJ, Riedel WJ (2009). Response speed, contingent negative variation and P300 in Alzheimer's disease and MCI. *Brain Cogn* **69**: 592–599.
- Diniz BSO, Pinto Júnior J a, Forlenza OV (2008). Do CSF total tau, phosphorylated tau, and beta-amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. *World J Biol Psychiatry* **9**: 172–182.

- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Cummings JL, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, *i sur.* (2010). Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol* **9**: 1118–1127.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, *i sur.* (2014). Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol* **13**: 614–629.
- Duce JA, Tsatsanis A, Cater MA, James SA, Robb E, Wikke K, *i sur.* (2010). Iron-Export Ferroxidase Activity of  $\beta$ -Amyloid Precursor Protein Is Inhibited by Zinc in Alzheimer's Disease. *Cell* **142**: 857–867.
- Egaña JT, Zambrano C, Nuñez MT, Gonzalez-Billault C, Maccioni RB (2003). Iron-induced oxidative stress modify tau phosphorylation patterns in hippocampal cell cultures. *Biometals* **16**: 215–223.
- Egerházi A, Glaub T, Balla P, Berecz R, Degrell I (2008). P300 in mild cognitive impairment and in dementia. *Psychiatr Hung* **23**: 349–357.
- Ellis RJ, Olichney JM, Thal LJ, Mirra SS, Morris JC, Beekly D, *i sur.* (1996). Cerebral amyloid angiopathy in the brains of patients with Alzheimer's disease: the CERAD experience, Part XV. *Neurology* **46**: 1592–1596.
- Elobeid A, Laurell K, Cesarini KG, Alafuzoff I (2015). Correlations Between Mini-Mental State Examination Score, Cerebrospinal Fluid Biomarkers, and Pathology Observed in Brain Biopsies of Patients With Normal-Pressure Hydrocephalus. *J Neuropathol Exp Neurol* **74**: 470–479.
- Estevez AO, Mueller CL, Morgan KL, Szewczyk NJ, Teece L, Miranda-Vizuete A, *i sur.* (2012). Selenium induces cholinergic motor neuron degeneration in *Caenorhabditis elegans*. *Neurotoxicology* **33**: 1021–1032.
- Ewers M, Bürger K, Teipel SJ, Scheltens P, Schröder J, Zinkowski RP, *i sur.* (2007). Multicenter assessment of CSF-phosphorylated tau for the prediction of conversion of MCI. *Neurology* **69**: 2205–2212.
- Fagan AM, Head D, Shah AR, Marcus D, Mintun M, Morris JC, *i sur.* (2009). Decreased cerebrospinal fluid A $\beta$ (42) correlates with brain atrophy in cognitively normal elderly. *Ann Neurol* **65**: 176–183.
- Fagan AM, Holtzman DM (2010). Cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *Biomark Med* **4**: 51–63.
- Fagan AM, Perrin RJ (2012). Upcoming candidate cerebrospinal fluid biomarkers of Alzheimer's disease. *Biomark Med* **6**: 455–476.
- Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM (2007). Cerebrospinal fluid tau/ $\beta$ -amyloid(42) ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch Neurol* **64**: 343–349.
- Fagan AM, Shaw LM, Xiong C, Vanderstichele H, Mintun M a, Trojanowski JQ, *i sur.* (2011). Comparison of analytical platforms for cerebrospinal fluid measures of  $\beta$ -amyloid 1-42, total tau, and p-tau181 for identifying Alzheimer disease amyloid plaque pathology. *Arch Neurol* **68**: 1137–1144.
- Falangola MF, Lee S-P, Nixon RA, Duff K, Helpem JA (2005). Histological co-localization of iron in A $\beta$  plaques of PS/APP transgenic mice. *Neurochem Res* **30**: 201–205.



- Filipović SR, Kostić VS (1995). Utility of auditory P300 in detection of presenile dementia. *J Neurol Sci* **131**: 150–155.
- Flood DG, Marek GJ, Williams M (2011). Developing predictive CSF biomarkers—A challenge critical to success in Alzheimer’s disease and neuropsychiatric translational medicine. *Biochem Pharmacol* **81**: 1422–1434.
- Fox NC, Scahill RI, Crum WR, Rossor MN (1999). Correlation between rates of brain atrophy and cognitive decline in AD. *Neurology* **52**: 1687–1689.
- Fox NC, Schott JM (2004). Imaging cerebral atrophy: normal ageing to Alzheimer’s disease. *Lancet* **363**: 392–394.
- Frackowiak J, Mazur-Kolecka B, Wisniewski HM, Potempska A, Carroll RT, Emmerling MR, *i sur.* (1995). Secretion and accumulation of Alzheimer’s beta-protein by cultured vascular smooth muscle cells from old and young dogs. *Brain Res* **676**: 225–230.
- Fratiglioni L, Wang HX (2000). Smoking and Parkinson’s and Alzheimer’s disease: review of the epidemiological studies. *Behav Brain Res* **113**: 117–120.
- Frederickson CJ (1989). Neurobiology of Zinc and Zinc-Containing Neurons. *Int Rev Neurobiol* **31**: 145–238.
- Freeman SH, Raju S, Hyman BT, Frosch MP, Irizarry MC (2007). Plasma Abeta levels do not reflect brain Abeta levels. *J Neuropathol Exp Neurol* **66**: 264–271.
- Frodl T, Hampel H, Juckel G, Bürger K, Padberg F, Engel RR, *i sur.* (2002). Value of event-related P300 subcomponents in the clinical diagnosis of mild cognitive impairment and Alzheimer’s Disease. *Psychophysiology* **39**: 175–181.
- Furuya TK, Silva PNO da, Payão SLM, Rasmussen LT, Labio RW de, Bertolucci PHF, *i sur.* (2012). SORL1 and SIRT1 mRNA expression and promoter methylation levels in aging and Alzheimer’s Disease. *Neurochem Int* **61**: 973–975.
- Galasko D, Golde TE (2013). Biomarkers for Alzheimer’s disease in plasma, serum and blood - conceptual and practical problems. *Alzheimers Res Ther* **5**: 10.
- Gao K, Calabrese JR (2016). Pharmacogenetics of lithium response: close to clinical practice? *Lancet* **387**: 1034–1036.
- Gerhardsson L, Blennow K, Lundh T, Londos E, Minthon L (2009). Concentrations of metals, beta-amyloid and tau-markers in cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer’s disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* **28**: 88–94.
- Gerhardsson L, Lundh T, Minthon L, Londos E (2008). Metal concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in patients with Alzheimer’s disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* **25**: 508–515.
- Gharibzadeh S, Hoseini SS (2008). Arsenic Exposure May Be a Risk Factor for Alzheimer’s Disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* **20**: 501–501.
- Giaquinto S, Ranghi F (2009). Slowing of Event-Related Potentials in Primary Progressive Aphasia. A case report. *Sci World J* **9**: 633–638.
- Gibson GE, Huang H-M (2005). Oxidative stress in Alzheimer’s disease. *Neurobiol Aging* **26**: 575–578.
- Gifford JL, Walsh MP, Vogel HJ (2007). Structures and metal-ion-binding properties of the Ca<sup>2+</sup>-binding helix–loop–helix EF-hand motifs. *Biochem J* **405**: 199–221.

- Glenner GG, Wong CW (1984). Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* **120**: 885–890.
- Glick J (1990). Use of magnesium in the management of dementias. *Med Sci Res* .
- Goker-Alpan O, Stubblefield BK, Giasson BI, Sidransky E (2010). Glucocerebrosidase is present in  $\alpha$ -synuclein inclusions in Lewy body disorders. *Acta Neuropathol* **120**: 641–649.
- Golob EJ, Ringman JM, Irimajiri R, Bright S, Schaffer B, Medina LD, *i sur.* (2009). Cortical event-related potentials in preclinical familial Alzheimer disease. *Neurology* **73**: 1649–1655.
- Golob EJ, Starr A (2000). Effects of stimulus sequence on event-related potentials and reaction time during target detection in Alzheimer's disease. *Clin Neurophysiol* **111**: 1438–1449.
- Golomb J, Wisoff J, Miller DC, Boksay I, Kluger A, Weiner H, *i sur.* (2000). Alzheimer's disease comorbidity in normal pressure hydrocephalus: prevalence and shunt response. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **68**: 778–781.
- González-Domínguez R, García-Barrera T, Gómez-Ariza JL (2014). Characterization of metal profiles in serum during the progression of Alzheimer's disease. *Metallomics* **6**: 292–300.
- Gordon B, Carson K (1990). The basis for choice reaction time slowing in Alzheimer's disease. *Brain Cogn* **13**: 148–166.
- Gozke E, Tomrukcu S, Erdal N (2016). Visual Event-Related Potentials in Patients with Mild Cognitive Impairment. *Int J Gerontol* **10**: 190–192.
- Graff-Radford NR, Crook JE, Lucas J, Boeve BF, Knopman DS, Ivnik RJ, *i sur.* (2007). Association of low plasma A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 ratios with increased imminent risk for mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol* **64**: 354–362.
- Green DL, Payne L, Polikar R, Moberg PJ, Wolk DA, Kounios J (2015). P50: A candidate ERP biomarker of prodromal Alzheimer's disease. *Brain Res* **1624**: 390–397.
- Green J, Levey AI (1999). Event-related potential changes in groups at increased risk for Alzheimer disease. *Arch Neurol* **56**: 1398–1403.
- Greenough MA, Camakaris J, Bush AI (2013). Metal dyshomeostasis and oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurochem Int* **62**: 540–555.
- Grimmer T, Riemenschneider M, Förstl H, Henriksen G, Klunk WE, Mathis CA, *i sur.* (2009). Beta amyloid in Alzheimer's disease: increased deposition in brain is reflected in reduced concentration in cerebrospinal fluid. *Biol Psychiatry* **65**: 927–934.
- Groot AJ, Habets R, Yahyanejad S, Hodin CM, Reiss K, Saftig P, *i sur.* (2014). Regulated Proteolysis of NOTCH2 and NOTCH3 Receptors by ADAM10 and Presenilins. *Mol Cell Biol* **34**: 2822–2832.
- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung YC, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI (1986). Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* **83**: 4913–4917.
- Gungor HA, Yildiz A, Aydin F, Gungor F, Boz A, Ozkaynak S (2005). Tc-99m HMPAO

- brain SPECT findings in mild and moderate Alzheimer's disease: Correlation with event related potentials. *J Neurol Sci* **234**: 47–53.
- Gustaw KA, Garrett MR, Lee H-G, Castellani RJ, Zagorski MG, Prakasam A, *i sur.* (2008). Antigen-antibody dissociation in Alzheimer disease: a novel approach to diagnosis. *J Neurochem* **106**: 1350–1356.
- Haass C, Kaether C, Thinakaran G, Sisodia S (2012). Trafficking and Proteolytic Processing of APP. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2**: a006270–a006270.
- Hachinski VC, Iliff LD, Zilhka E, Boulay GH Du, McAllister VL, Marshall J, *i sur.* (1975). Cerebral blood flow in dementia. *Arch Neurol* **32**: 632–637.
- Hampel H, Bürger K, Zinkowski R, Teipel SJ, Goernitz A, Andreasen N, *i sur.* (2004). Measurement of Phosphorylated Tau Epitopes in the Differential Diagnosis of Alzheimer Disease. *Arch Gen Psychiatry* **61**: 95.
- Hampel H, Frank R, Broich K, Teipel SJ, Katz RG, Hardy J, *i sur.* (2010a). Biomarkers for Alzheimer's disease: academic, industry and regulatory perspectives. *Nat Rev Drug Discov* **9**: 560–574.
- Hampel H, Goernitz A, Bürger K (2003). Advances in the development of biomarkers for Alzheimer's disease: from CSF total tau and A $\beta$ 1–42 proteins to phosphorylated tau protein. *Brain Res Bull* **61**: 243–253.
- Hampel H, Shen Y, Walsh DM, Aisen P, Shaw LM, Zetterberg H, *i sur.* (2010b). Biological markers of amyloid beta-related mechanisms in Alzheimer's disease. *Exp Neurol* **223**: 334–346.
- Hancock SM, Finkelstein DI, Adlard PA (2014). Glia and zinc in ageing and Alzheimer's disease: a mechanism for cognitive decline? *Front Aging Neurosci* **6**: 137.
- 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.
- Hardy JA, Higgins GA (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* **256**: 184–185.
- Hardy J, Allsop D (1991). Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* **12**: 383–388.
- Hardy J, Bogdanovic N, Winblad B, Portelius E, Andreasen N, Cedazo-Minguez A, *i sur.* (2014). Pathways to Alzheimer's disease. *J Intern Med* **275**: 296–303.
- Hardy J, Selkoe DJ (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* **297**: 353–356.
- Hasselmo ME (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* **16**: 710–715.
- Hayashi H (2011). Lipid metabolism and glial lipoproteins in the central nervous system. *Biol Pharm Bull* **34**: 453–461.
- Heimer L (2000). Basal forebrain in the context of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev* **31**: 205–235.
- Herholz K, Salmon E, Perani D, Baron JC, Holthoff V, Frölich L, *i sur.* (2002). Discrimination between Alzheimer dementia and controls by automated analysis of

- multicenter FDG PET. *Neuroimage* **17**: 302–316.
- Hershey CO, Hershey LA, Varnes A, Vibhakar SD, Lavin P, Strain WH (1983). Cerebrospinal fluid trace element content in dementia: clinical, radiologic, and pathologic correlations. *Neurology* **33**: 1350–1353.
- Hershey LA, Hershey CO, Varnes A, Songmongkolrit T, Strain WH (1984). Quantitation, localization and variations of brain zinc with aging by instrumental neutron activation analysis. *Neurobiol Zinc Part B Defic Toxic Pathol* 325–334.
- Heslegrave A, Heywood W, Paterson R, Magdalinou N, Svensson J, Johansson P, *i sur.* (2016). Increased cerebrospinal fluid soluble TREM2 concentration in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* **11**: 3.
- Hesse C, Rosengren L, Andreasen N, Davidsson P, Vanderstichele H, Vanmechelen E, *i sur.* (2001). Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neurosci Lett* **297**: 187–190.
- Hock C, Drasch G, Golombowski S, Müller-Spahn F, Willershausen-Zönnchen B, Schwarz P, *i sur.* (1998). Increased blood mercury levels in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm* **105**: 59–68.
- Holmberg B, Johnels B, Blennow K, Rosengren L (2003). Cerebrospinal fluid Abeta42 is reduced in multiple system atrophy but normal in Parkinson's disease and progressive supranuclear palsy. *Mov Disord* **18**: 186–190.
- Honda K, Casadesus G, Petersen RB, Perry G, Smith MA (2004). Oxidative stress and redox-active iron in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* **1012**: 179–182.
- Hort J, O'Brien JT, Gainotti G, Pirttila T, Popescu BO, Rektorova I, *i sur.* (2010). EFNS guidelines for the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* **17**: 1236–1248.
- Horvath S (2013). DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol* **14**: R115.
- Howe AS (2014). Meta-analysis of the endogenous N200 latency event-related potential subcomponent in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Clin Neurophysiol* **125**: 1145–1151.
- Hozumi I, Hasegawa T, Honda A, Ozawa K, Hayashi Y, Hashimoto K, *i sur.* (2011). Patterns of levels of biological metals in CSF differ among neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci* **303**: 95–99.
- Hu WT, Watts KD, Tailor P, Nguyen TP, Howell JC, Lee RC, *i sur.* (2016). CSF complement 3 and factor H are staging biomarkers in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun* **4**: 14.
- Hu YY, He SS, Wang X, Duan QH, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, *i sur.* (2002). Levels of nonphosphorylated and phosphorylated tau in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients : an ultrasensitive bienzyme-substrate-recycle enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Pathol* **160**: 1269–1278.
- Humpel C (2011). Identifying and validating biomarkers for Alzheimer's disease. *Trends Biotechnol* **29**: 26–32.
- Hye A, Lynham S, Thambisetty M, Causevic M, Campbell J, Byers HL, *i sur.* (2006). Proteome-based plasma biomarkers for Alzheimer's disease. *Brain* **129**: 3042–3050.

- Hyman BT, Trojanowski JQ (1997). Consensus recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer disease from the National Institute on Aging and the Reagan Institute Working Group on diagnostic criteria for the neuropathological assessment of Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* **56**: 1095–1097.
- Igarashi H, Suzuki Y, Kwee IL, Nakada T (2014). Water influx into cerebrospinal fluid is significantly reduced in senile plaque bearing transgenic mice, supporting beta-amyloid clearance hypothesis of Alzheimer's disease. *Neurol Res* **36**: 1094–1098.
- Iloff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, *i sur.* (2012). A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid. *Sci Transl Med* **4**: 147ra111-147ra111.
- Iqbal K, Alonso A del C, Chen S, Chohan MO, El-Akkad E, Gong C-X, *i sur.* (2005). Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochim Biophys Acta* **1739**: 198–210.
- Iqbal K, Liu F, Gong C-X, Grundke-Iqbal I (2010). Tau in Alzheimer disease and related tauopathies. *Curr Alzheimer Res* **7**: 656–664.
- Irimajiri R, Golob EJ, Starr A (2010). ApoE genotype and abnormal auditory cortical potentials in healthy older females. *Neurobiol Aging* **31**: 1799–1804.
- Irizarry MC (2004). Biomarkers of Alzheimer disease in plasma. *NeuroRx* **1**: 226–234.
- Ishiguro K, Ohno H, Arai H, Yamaguchi H, Urakami K, Park JM, *i sur.* (1999). Phosphorylated tau in human cerebrospinal fluid is a diagnostic marker for Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* **270**: 91–94.
- Işoğlu-alkaç U, Kedzior K, Karamürsel S, Ermutlu N (2007). Event-related potentials during auditory oddball, and combined auditory oddball-visual paradigms. *Int J Neurosci* **117**: 487–506.
- Itagaki S, McGeer PL, Akiyama H, Zhu S, Selkoe D (1989). Relationship of microglia and astrocytes to amyloid deposits of Alzheimer disease. *J Neuroimmunol* **24**: 173–182.
- Ito J, Yamao S, Fukuda H, Mimori Y, Nakamura S (1990). The P300 event-related potentials in dementia of the Alzheimer type. Correlations between P300 and monoamine metabolites. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **77**: 174–178.
- Itoh N, Arai H, Urakami K, Ishiguro K, Ohno H, Hampel H, *i sur.* (2001). Large-scale, multicenter study of cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at serine 199 for the antemortem diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann Neurol* **50**: 150–156.
- Jack CR, Barrio JR, Kepe V (2013a). Cerebral amyloid PET imaging in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* **126**: 643–657.
- Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, *i sur.* (2013b). Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol* **12**: 207–216.
- Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Shaw LM, Aisen PS, Weiner MW, *i sur.* (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol* **9**: 119–128.
- Jager PL De, Srivastava G, Lunnon K, Burgess J, Schalkwyk LC, Yu L, *i sur.* (2014). Alzheimer's disease: early alterations in brain DNA methylation at ANK1, BIN1, RHBDF2 and other loci. *Nat Neurosci* **17**: 1156–1163.

- Jagust W (2006). Positron emission tomography and magnetic resonance imaging in the diagnosis and prediction of dementia. *Alzheimer's Dement* **2**: 36–42.
- Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT (1993). The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry* **32**: 4693–4697.
- Jauhiainen AM, Pihlajamäki M, Tervo S, Niskanen E, Tanila H, Hänninen T, *i sur.* (2009). Discriminating accuracy of medial temporal lobe volumetry and fMRI in mild cognitive impairment. *Hippocampus* **19**: 166–175.
- Jellinger KA (2002). Alzheimer disease and cerebrovascular pathology: an update. *J Neural Transm* **109**: 813–836.
- Jeon Y-W, Polich J (2003). Meta-analysis of P300 and schizophrenia: Patients, paradigms, and practical implications. *Psychophysiology* **40**: 684–701.
- Jiang L-F, Yao T-M, Zhu Z-L, Wang C, Ji L-N (2007). Impacts of Cd(II) on the conformation and self-aggregation of Alzheimer's tau fragment corresponding to the third repeat of microtubule-binding domain. *Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics* **1774**: 1414–1421.
- Jiang Y, Zhang H, Sun T, Wang J, Sun W, Gong H, *i sur.* (2012). The comprehensive effects of hyperlipidemia and hyperhomocysteinemia on pathogenesis of atherosclerosis and DNA hypomethylation in ApoE<sup>-/-</sup> mice. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* **44**: 866–875.
- Jiao Y, Han D, Yang P (2005). Molecular modeling of the inhibitory mechanism of copper(II) on aggregation of amyloid  $\beta$ -peptide. *Sci China Ser B* **48**: 580.
- Jiménez-Escrig A, Fernandez-Lorente J, Herrero A, Baron M, Lousa M, Blas G de, *i sur.* (2002). Event-related evoked potential P300 in frontotemporal dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* **13**: 27–32.
- Johnson G V, Jenkins SM (1999). Tau protein in normal and Alzheimer's disease brain. *J Alzheimers Dis* **1**: 307–328.
- Johnson GVW, Stoothoff WH (2004). Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *J Cell Sci* **117**: 5721–5729.
- Jong D de, Jansen RWMM, Pijnenburg YAL, Geel WJA van, Borm GF, Kremer HPH, *i sur.* (2007). CSF neurofilament proteins in the differential diagnosis of dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **78**: 936–938.
- Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, Snaedal J, Jonsson P V., Bjornsson S, *i sur.* (2012). A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature* **488**: 96–99.
- Jonsson T, Stefansson H, Steinberg S, Jonsdottir I, Jonsson P V, Snaedal J, *i sur.* (2013). Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *N Engl J Med* **368**: 107–116.
- Jovanov-Milošević N, Petrović D, Sedmak G, Vukšić M, Hof PR, Šimić G (2012). Human fetal tau protein isoform: Possibilities for Alzheimer's disease treatment. *Int J Biochem Cell Biol* **44**: 1290–1294.
- Kandel E, Schwartz J, Jessell T, Siegelbaum S, Hudspeth A (McGraw-Hill Education / Medical; 5th edition: 2013). *Principles of neural science*.

- Kanemaru K, Kameda N, Yamanouchi H (2000). Decreased CSF amyloid beta42 and normal tau levels in dementia with Lewy bodies. *Neurology* **54**: 1875–1876.
- Kanti Das T, Wati MR, Fatima-Shad K (2015). Oxidative Stress Gated by Fenton and Haber Weiss Reactions and Its Association With Alzheimer's Disease. *Arch Neurosci* **2**: e20078.
- Kapaki EN, Paraskevas GP, Tzerakis NG, Sfagos C, Seretis A, Kararizou E, *i sur.* (2007). Cerebrospinal fluid tau, phospho-tau181 and beta-amyloid1-42 in idiopathic normal pressure hydrocephalus: a discrimination from Alzheimer's disease. *Eur J Neurol* **14**: 168–173.
- Karbowska B (2016). Presence of thallium in the environment: sources of contaminations, distribution and monitoring methods. *Environ Monit Assess* **188**: 640.
- Katada E, Sato K, Ojika K, Ueda R (2004). Cognitive event-related potentials: useful clinical information in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* **1**: 63–69.
- Katada E, Sato K, Sawaki A, Dohi Y, Ueda R, Ojika K (2003). Long-Term Effects of Donepezil on P300 Auditory Event-Related Potentials in Patients with Alzheimer's Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* **16**: 39–43.
- Kawahara M, Kato-Negishi M (2011). Link between Aluminum and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease: The Integration of the Aluminum and Amyloid Cascade Hypotheses. *Int J Alzheimers Dis* **2011**: 276393.
- Kawai M, Kalaria RN, Harik SI, Perry G (1990). The relationship of amyloid plaques to cerebral capillaries in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* **137**: 1435–1446.
- Kero M, Paetau A, Polvikoski T, Tanskanen M, Sulkava R, Jansson L, *i sur.* (2013). Amyloid precursor protein (APP) A673T mutation in the elderly Finnish population. *Neurobiol Aging* **34**: 1518.e1-1518.e3.
- Kester MI, Teunissen CE, Sutphen C, Herries EM, Ladenson JH, Xiong C, *i sur.* (2015). Cerebrospinal fluid VILIP-1 and YKL-40, candidate biomarkers to diagnose, predict and monitor Alzheimer's disease in a memory clinic cohort. *Alzheimers Res Ther* **7**: 59.
- Kettenmann H, Hanisch U-K, Noda M, Verkhratsky A (2011). Physiology of Microglia. *Physiol Rev* **91**: 461–553.
- Khedr EM, Hamed SA, El-Shereef HK, Shawky OA, Mohamed KA, Awad EM, *i sur.* (2009). Cognitive impairment after cerebrovascular stroke: Relationship to vascular risk factors. *Neuropsychiatr Dis Treat* **5**: 103–116.
- Kim M-S, Kang S-S, Youn T, Kang D-H, Kim J-J, Kwon JS (2003). Neuropsychological correlates of P300 abnormalities in patients with schizophrenia and obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res* **123**: 109–123.
- Kim SH, Knight EM, Saunders EL, Cuevas AK, Popovech M, Chen L-C, *i sur.* (2012). Rapid doubling of Alzheimer's amyloid- $\beta$ 40 and 42 levels in brains of mice exposed to a nickel nanoparticle model of air pollution. *F1000Research* **1**: 70.
- Kindermann SS, Kalayam B, Brown GG, Burdick KE, Alexopoulos GS (2000). Executive functions and P300 latency in elderly depressed patients and control subjects. *Am J Geriatr Psychiatry* **8**: 57–65.
- Kitazawa M, Cheng D, Laferla FM (2009). Chronic copper exposure exacerbates both amyloid and tau pathology and selectively dysregulates cdk5 in a mouse model of AD. *J*

- Neurochem* **108**: 1550–1560.
- Klunk W (2011). Amyloid imaging as a biomarker for cerebral beta-amyloidosis and risk prediction for Alzheimer dementia. *Neurobiol Aging* **35**: S20–S36.
- Koç ER, İlhan A, Zübeyde Aytürk, Acar B, Gürler M, Altuntaş A, *i sur.* (2015). A comparison of hair and serum trace elements in patients with Alzheimer disease and healthy participants. *Turkish J Med Sci* **45**: 1034–1039.
- Kodama H, Murata Y, Kobayashi M (1999). Clinical manifestations and treatment of Menkes disease and its variants. *Pediatr Int* **41**: 423–429.
- Koedam ELGE, Vlies AE van der, Flier WM van der, Verwey NA, Koene T, Scheltens P, *i sur.* (2013). Cognitive correlates of cerebrospinal fluid biomarkers in frontotemporal dementia. *Alzheimer's Dement* **9**: 269–275.
- Koepsell TD, Kurland BF, Harel O, Johnson EA, Zhou X-H, Kukull WA (2008). Education, cognitive function, and severity of neuropathology in Alzheimer disease. *Neurology* **70**: 1732–1739.
- Kohnken R, Bürger K, Zinkowski R, Miller C, Kerkman D, DeBernardis J, *i sur.* (2000). Detection of tau phosphorylated at threonine 231 in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett* **287**: 187–190.
- Košiček M, Zetterberg H, Andreasen N, Peter-Katalinic J, Hecimovic S (2012). Elevated cerebrospinal fluid sphingomyelin levels in prodromal Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* **516**: 302–305.
- Kraus N, Nicol T (2008). Auditory Evoked Potentials. *Encycl Neurosci* 214–218doi:10.1007/978-3-540-29678-2\_433.
- Krikorian R, Eliassen JC, Boespflug EL, Nash TA, Shidler MD (2010). Improved cognitive-cerebral function in older adults with chromium supplementation. *Nutr Neurosci* **13**: 116–122.
- Kumar-Singh S, Pirici D, McGowan E, Serneels S, Ceuterick C, Hardy J, *i sur.* (2005). Dense-Core Plaques in Tg2576 and PSAPP Mouse Models of Alzheimer's Disease Are Centered on Vessel Walls. *Am J Pathol* **167**: 527–543.
- Lai C-L, Lin R-T, Liou L-M, Liu C-K (2010). The role of event-related potentials in cognitive decline in Alzheimer's disease. *Clin Neurophysiol* **121**: 194–199.
- Landschulz W, Thesleff I, Ekblom P (1984). A lipophilic iron chelator can replace transferrin as a stimulator of cell proliferation and differentiation. *J Cell Biol* **98**: 596–601.
- Lashley T, Rohrer JD, Mead S, Revesz T (2015). Review: An update on clinical, genetic and pathological aspects of frontotemporal lobar degenerations. *Neuropathol Appl Neurobiol* **41**: 858–881.
- Laterza OF, Modur VR, Crimmins DL, Olander J V, Landt Y, Lee J-M, *i sur.* (2006). Identification of Novel Brain Biomarkers. *Clin Chem* **52**: 1713–1721.
- Lee J-M, Blennow K, Andreasen N, Laterza O, Modur V, Olander J, *i sur.* (2008). The Brain Injury Biomarker VLP-1 Is Increased in the Cerebrospinal Fluid of Alzheimer Disease Patients. *Clin Chem* **54**: 1617–1623.
- Lee M-S, Lee S-H, Moon E-O, Moon Y-J, Kim S, Kim S-H, *i sur.* (2013). Neuropsychological correlates of the P300 in patients with Alzheimer's disease. *Prog*



- Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **40**: 62–69.
- Lee M, McGeer EG, McGeer PL (2016). Sodium thiosulfate attenuates glial-mediated neuroinflammation in degenerative neurological diseases. *J Neuroinflammation* **13**: 32.
- Lei P, Ayton S, Bush AI, Adlard PA (2011). GSK-3 in Neurodegenerative Diseases. *Int J Alzheimers Dis* **2011**: 189246.
- Leoni V, Shafaati M, Salomon A, Kivipelto M, Björkhem I, Wahlund L-O (2006). Are the CSF levels of 24S-hydroxycholesterol a sensitive biomarker for mild cognitive impairment? *Neurosci Lett* **397**: 83–87.
- Levinoff EJ, Saumier D, Chertkow H (2005). Focused attention deficits in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Brain Cogn* **57**: 127–130.
- Levy E, Carman M, Fernandez-Madrid I (1990). Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. *Science* **248**: 1124–1126.
- Li C, Pan W, Braunewell KH, Ames JB (2011). Structural Analysis of Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> Binding, Myristoylation, and Dimerization of the Neuronal Calcium Sensor and Visinin-like Protein 1 (VILIP-1). *J Biol Chem* **286**: 6354–6366.
- Li C, Wang J, Zhou B (2010). The metal chelating and chaperoning effects of clioquinol: insights from yeast studies. *J Alzheimer's Dis* **21**: 1249–1262.
- Liddel SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, *i sur.* (2017). Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature* **541**: 481–487.
- Lidsky TI (2014). Is the Aluminum Hypothesis dead? *J Occup Environ Med* **56**: S73-79.
- Liu Y-Q, Zhang L-L, Zhao X-H, Liu Z-L, Mei Z-H (2007). [Relationship between P300 and intelligence quotient in severe head injury patients]. *Fa Yi Xue Za Zhi* **23**: 108–109, 113.
- Llorens F, Schmitz M, Ferrer I, Zerr I (2016). CSF biomarkers in neurodegenerative and vascular dementias. *Prog Neurobiol* **138–140**: 36–53.
- Loef M, Mendoza LF, Walach H (2011). Lead (Pb) and the Risk of Alzheimer's disease or cognitive decline: A systematic review. *Toxin Rev* **30**: 103–114.
- Loeffler DA, Connor JR, Juneau PL, Snyder BS, Kanaley L, DeMaggio AJ, *i sur.* (1995). Transferrin and iron in normal, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease brain regions. *J Neurochem* **65**: 710–724.
- Lovell MA, Robertson JD, Teesdale WJ, Campbell JL, Markesbery WR (1998). Copper, iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques. *J Neurol Sci* **158**: 47–52.
- Lovell MA, Smith JL, Xiong S, Markesbery WR (2005). Alterations in zinc transporter protein-1 (ZnT-1) in the brain of subjects with mild cognitive impairment, early, and late-stage Alzheimer's disease. *Neurotox Res* **7**: 265–271.
- Lovell MA, Xiong S, Xie C, Davies P, Markesbery WR (2004). Induction of hyperphosphorylated tau in primary rat cortical neuron cultures mediated by oxidative stress and glycogen synthase kinase-3. *J Alzheimer's Dis* **6**: 659-671-681.
- Lovestone S, Davis DR, Webster MT, Kaech S, Brion JP, Matus A, *i sur.* (1999). Lithium reduces tau phosphorylation: effects in living cells and in neurons at therapeutic concentrations. *Biol Psychiatry* **45**: 995–1003.
- Lovett MC (2005). A Strategy-Based Interpretation of Stroop. *Cogn Sci* **29**: 493–524.

- Luchsinger JA, Mayeux R (2004). Dietary factors and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* **3**: 579–587.
- Lunnon K, Smith R, Hannon E, Jager PL De, Srivastava G, Volta M, *i sur.* (2014). Methylomic profiling implicates cortical deregulation of ANK1 in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* **17**: 1164–1170.
- Luo X, Hou L, Shi H, Zhong X, Zhang Y, Zheng D, *i sur.* (2013). CSF levels of the neuronal injury biomarker visinin-like protein-1 in Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *J Neurochem* **127**: 681–690.
- Malkin R, Rabinowitz JC (1967). Nonheme Iron Electron-Transfer Proteins. *Annu Rev Biochem* **36**: 113–148.
- Mandelkow EM, Mandelkow E (1998). Tau in Alzheimer's disease. *Trends Cell Biol* **8**: 425–427.
- Mangialasche F, Solomon A, Winblad B, Mecocci P, Kivipelto M (2010). Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurol* **9**: 702–716.
- Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S (2002). The Protein Kinase Complement of the Human Genome. *Science* **298**: 1912–1934.
- Mantyh PW, Ghilardi JR, Rogers S, DeMaster E, Allen CJ, Stimson ER, *i sur.* (1993). Aluminum, iron, and zinc ions promote aggregation of physiological concentrations of beta-amyloid peptide. *J Neurochem* **61**: 1171–1174.
- Manzine PR, França Bram JM de, Barham EJ, Vale F de AC do, Selistre-de-Araújo HS, Cominetti MR, *i sur.* (2013). ADAM10 as a biomarker for Alzheimer's disease: a study with Brazilian elderly. *Dement Geriatr Cogn Disord* **35**: 58–66.
- Mao P (2012). Recent progress and concerns in dementia: Distinguishing Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies via biochemical markers in the cerebrospinal fluid. *Adv Biol Chem* **2**: 176–190.
- Mariani E, Monastero R, Mecocci P (2007). Mild Cognitive Impairment: A Systematic Review. *J Alzheimer's Dis* **12**: 23–35.
- Markesbery WR, Schmitt FA, Kryscio RJ, Davis DG, Smith CD, Wekstein DR (2006). Neuropathologic Substrate of Mild Cognitive Impairment. *Arch Neurol* **63**: 38.
- Marsh JT, Schubarth G, Brown WS, Riege W, Strandburg R, Dorsey D, *i sur.* (1990). PET and P300 relationships in early Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **11**: 471–476.
- Martyn CN, Barker DJ, Osmond C, Harris EC, Edwardson JA, Lacey RF (1989). Geographical relation between Alzheimer's disease and aluminum in drinking water. *Lancet* **1**: 59–62.
- Maruyama M, Higuchi M, Takaki Y, Matsuba Y, Tanji H, Nemoto M, *i sur.* (2005). Cerebrospinal fluid neprilysin is reduced in prodromal Alzheimer's disease. *Ann Neurol* **57**: 832–842.
- Masanaka T, Hisao T, Keita K, Yasunobu K, Hiroo Y, Bungo O (2005). Multi-modal evoked potentials in corticobasal degeneration, progressive supranuclear palsy and Alzheimer disease. *Int Congr Ser* **1278**: 145–148.
- Masters CL, Beyreuther K (2006). Pathways to the discovery of the neuronal origin and proteolytic biogenesis of A $\beta$  amyloid of Alzheimer's disease. *Alzheimer 100 Years*

*Beyond* 143–149doi:10.1007/978-3-540-37652-1\_14.

- Masters CL, Simms G, Weinman NA, Multhaup G, McDonald BL, Beyreuther K (1985). Amyloid plaque core protein in Alzheimer disease and Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* **82**: 4245–4249.
- Mastroeni D, Grover A, Delvaux E, Whiteside C, Coleman PD, Rogers J (2010). Epigenetic changes in Alzheimer's disease: Decrements in DNA methylation. *Neurobiol Aging* **31**: 2025–2037.
- Mattsson N, Andreasson U, Persson S, Arai H, Batish SD, Bernardini S, *i sur.* (2011). The Alzheimer's Association external quality control program for cerebrospinal fluid biomarkers. *Alzheimer's Dement* **7**: 386–395.
- Mattsson N, Portelius E, Rolstad S, Gustavsson M, Andreasson U, Stridsberg M, *i sur.* (2012). Longitudinal cerebrospinal fluid biomarkers over four years in mild cognitive impairment. *J Alzheimer's Dis* **30**: 767–778.
- Maurer K, Volk S, Gerbaldo H (1997). Auguste D and Alzheimer's disease. *Lancet* **349**: 1546–1549.
- Mawuenyega KG, Sigurdson W, Ovod V, Munsell L, Kasten T, Morris JC, *i sur.* (2010). Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Science* **330**: 1774.
- Mayeux R (2004). Biomarkers: potential uses and limitations. *NeuroRx* **1**: 182–188.
- McAleese KE, Alafuzoff I, Charidimou A, Reuck J De, Grinberg LT, Hainsworth AH, *i sur.* (2016). Post-mortem assessment in vascular dementia: advances and aspirations. *BMC Med* **14**: 129.
- McCann H, Stevens CH, Cartwright H, Halliday GM (2014).  $\alpha$ -Synucleinopathy phenotypes. *Parkinsonism Relat Disord* **20 Suppl 1**: S62–67.
- McKeith I, Mintzer J, Aarsland D, Burn D, Chiu H, Cohen-Mansfield J, *i sur.* (2004). Dementia with Lewy bodies. *Lancet Neurol* **3**: 19–28.
- McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, Emre M, O'Brien JT, Feldman H, *i sur.* (2005). Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. *Neurology* **65**: 1863–1872.
- McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* **34**: 939–944.
- Merched A, Xia Y, Visvikis S, Serot JM, Siest G (2000). Decreased high-density lipoprotein cholesterol and serum apolipoprotein AI concentrations are highly correlated with the severity of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **21**: 27–30.
- Merdes AR, Hansen LA, Jeste D V, Galasko D, Hofstetter CR, Ho GJ, *i sur.* (2003). Influence of Alzheimer pathology on clinical diagnostic accuracy in dementia with Lewy bodies. *Neurology* **60**: 1586–1590.
- Merle U, Schaefer M, Ferenci P, Stremmel W (2007). Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study. *Gut* **56**: 115–120.
- Meseguer I, Molina JA, Jiménez-Jiménez FJ, Aguilar M V., Mateos-Vega CJ, González-Muñoz MJ, *i sur.* (1999). Cerebrospinal fluid levels of selenium in patients with

- Alzheimer's disease. *J Neural Transm* **106**: 309–315.
- Mijajlović MD, Pavlović A, Brainin M, Heiss W-D, Quinn TJ, Ihle-Hansen HB, *i sur.* (2017). Post-stroke dementia - a comprehensive review. *BMC Med* **15**: 11.
- Milanesi L, Petrillo M, Sepe L, Boccia A, D'Agostino N, Passamano M, *i sur.* (2005). Systematic analysis of human kinase genes: a large number of genes and alternative splicing events result in functional and structural diversity. *BMC Bioinformatics* **6 Suppl 4**: S20.
- Mills CD (2012). M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease. *Crit Rev Immunol* **32**: 463–488.
- Mimica N (2016). Croatia and Alzheimer's disease – review of the past two years. *Neurol Croat* **74**.
- Missonnier P, Deiber M-P, Gold G, Herrmann FR, Millet P, Michon A, *i sur.* (2007). Working memory load–related electroencephalographic parameters can differentiate progressive from stable mild cognitive impairment. *Neuroscience* **150**: 346–356.
- Mitchell A, Brindle N (2003). CSF phosphorylated tau--does it constitute an accurate biological test for Alzheimer's disease? *Int J Geriatr Psychiatry* **18**: 407–411.
- Mitchell AJ (2009). CSF phosphorylated tau in the diagnosis and prognosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a meta-analysis of 51 studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **80**: 966–975.
- Mitchell AJ, Shiri-Feshki M (2009). Rate of progression of mild cognitive impairment to dementia - meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. *Acta Psychiatr Scand* **119**: 252–265.
- Miyakawa T, Shimoji A, Kuramoto R, Higuchi Y (1982). The relationship between senile plaques and cerebral blood vessels in Alzheimer's disease and senile dementia. Morphological mechanism of senile plaque production. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* **40**: 121–129.
- Miyata M, Smith JD (1996). Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet* **14**: 55–61.
- Mo Z-Y, Zhu Y-Z, Zhu H-L, Fan J-B, Chen J, Liang Y (2009). Low micromolar zinc accelerates the fibrillization of human tau via bridging of Cys-291 and Cys-322. *J Biol Chem* **284**: 34648–34657.
- Mohandas E, Rajmohan V (2009). Frontotemporal dementia: An updated overview. *Indian J Psychiatry* **51 Suppl 1**: S65-69.
- Moir RD, Atwood CS, Romano DM, Laurans MH, Huang X, Bush AI, *i sur.* (1999). Differential effects of apolipoprotein E isoforms on metal-induced aggregation of A beta using physiological concentrations. *Biochemistry* **38**: 4595–4603.
- Molina JA, Jiménez-Jiménez FJ, Aguilar M V., Meseguer I, Mateos-Vega CJ, González-Muñoz MJ, *i sur.* (1998). Cerebrospinal fluid levels of transition metals in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm* **105**: 479–488.
- Mollenhauer B, Bibl M, Trenkwalder C, Stiens G, Cepek L, Steinacker P, *i sur.* (2005). Follow-up investigations in cerebrospinal fluid of patients with dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *J Neural Transm* **112**: 933–948.

- Mondragón-Rodríguez S, Perry G, Luna-Muñoz J, Acevedo-Aquino MC, Williams S (2014). Phosphorylation of tau protein at sites Ser<sup>396-404</sup> is one of the earliest events in Alzheimer's disease and Down syndrome. *Neuropathol Appl Neurobiol* **40**: 121–135.
- Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD, Halliday MR, Sagare AP, Zhao Z, *i sur.* (2015). Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron* **85**: 296–302.
- Montine TJ, Montine KS, McMahan W, Markesbery WR, Quinn JF, Morrow JD (2005). F<sub>2</sub> - Isoprostanes in Alzheimer and Other Neurodegenerative Diseases. *Antioxid Redox Signal* **7**: 269–275.
- Morris MC, Brockman J, Schneider JA, Wang Y, Bennett DA, Tangney CC, *i sur.* (2016). Association of Seafood Consumption, Brain Mercury Level, and APOE ε4 Status With Brain Neuropathology in Older Adults. *JAMA* **315**: 489–497.
- Mroczek B, Groblewska M, Zboch M, Muszyński P, Zajkowska A, Borawska R, *i sur.* (2015). Evaluation of visinin-like protein 1 concentrations in the cerebrospinal fluid of patients with mild cognitive impairment as a dynamic biomarker of Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* **43**: 1031–1037.
- Mufson EJ, Counts SE, Perez SE, Ginsberg SD (2008). Cholinergic system during the progression of Alzheimer's disease: therapeutic implications. *Expert Rev Neurother* **8**: 1703–1718.
- Münte T, Urbach T, Düzel E, Kutas M (2000). Event-related brain potentials in the study of human cognition and neuropsychology. *Handb Neuropsychol* 1–97.
- Muscuso EG, Costanzo E, Daniele O, Maugeri D, Natale E, Caravaglios G (2006). Auditory event-related potentials in subcortical vascular cognitive impairment and in Alzheimer's disease. *J Neural Transm* **113**: 1779–1786.
- Mutter J, Curth A, Naumann J, Deth R, Walach H (2010). Does inorganic mercury play a role in Alzheimer's disease? A systematic review and an integrated molecular mechanism. *J Alzheimer's Dis* **22**: 357–374.
- Mutter J, Naumann J, Sadaghiani C, Schneider R, Walach H (2004). Alzheimer disease: mercury as pathogenetic factor and apolipoprotein E as a moderator. *Neuroendocrinol Lett* **25**: 331–339.
- Namgaladze D, Hofer HW, Ullrich V (2002). Redox Control of Calcineurin by Targeting the Binuclear Fe<sup>2+</sup>-Zn<sup>2+</sup> Center at the Enzyme Active Site. *J Biol Chem* **277**: 5962–5969.
- Nava-Ruiz C, Méndez-Armenta M (2013). Cadmium, Lead, Thallium: Occurrence, Neurotoxicity and Histopathological Changes of the Nervous System. 321–349doi:10.1007/978-3-319-02387-8\_6.
- Neary D, Snowden J, Mann D (2005). Frontotemporal dementia. *Lancet Neurol* **4**: 771–780.
- Neary D, Snowden JS, Gustafson L, Passant U, Stuss D, Black S, *i sur.* (1998). Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* **51**: 1546–1554.
- Negahdar H, Hosseini SR, Parsian H, Kheirkhah F, Mosapour A, Khafri S, *i sur.* (2015). Homocysteine, trace elements and oxidant/antioxidant status in mild cognitively impaired elderly persons: a cross-sectional study. *Rom J Intern Med* **53**: 336–342.
- Nelson PT, Jicha G a, Schmitt F a, Liu H, Davis DG, Mendiondo MS, *i sur.* (2007). Clinicopathologic correlations in a large Alzheimer disease center autopsy cohort:

- neuritic plaques and neurofibrillary tangles “do count” when staging disease severity. *J Neuropathol Exp Neurol* **66**: 1136–1146.
- Noemann M, Rademakers R, Roeber S, Baker M, Kretschmar HA, Mackenzie IRA (2009). A new subtype of frontotemporal lobar degeneration with FUS pathology. *Brain* **132**: 2922–2931.
- Nostrand WE Van, Broze GJ, Kueppers F, Seaman FS, Blankstein KB, Chung R, *i sur.* (1995). Zinc (II) selectively enhances the inhibition of coagulation factor XIa by protease nexin-2/amyloid beta-protein precursor. *Thromb Res* **78**: 43–53.
- Nostrand WE Van, Wagner SL, Suzuki M, Choi BH, Farrow JS, Geddes JW, *i sur.* (1989). Protease nexin-II, a potent anti-chymotrypsin, shows identity to amyloid  $\beta$ -protein precursor. *Nature* **341**: 546–549.
- Nourhashemi F, Gillette-Guyonnet S, Andrieu S, Ghisolfi A, Ousset PJ, Grandjean H, *i sur.* (2000). Alzheimer disease: protective factors. *Am J Clin Nutr* **71**: 643S–649S.
- Nunes MA, Schöwe NM, Monteiro-Silva KC, Baraldi-Tornisielo T, Souza SIG, Balthazar J, *i sur.* (2015). Chronic Microdose Lithium Treatment Prevented Memory Loss and Neurohistopathological Changes in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *PLoS One* **10**: e0142267.
- Nunes MA, Viel TA, Buck HS (2013). Microdose lithium treatment stabilized cognitive impairment in patients with Alzheimer’s disease. *Curr Alzheimer Res* **10**: 104–107.
- Oijen M van, Hofman A, Soares HD, Koudstaal PJ, Breteler MMB (2006). Plasma Abeta(1-40) and Abeta(1-42) and the risk of dementia: a prospective case-cohort study. *Lancet Neurol* **5**: 655–660.
- Olichney JM, Taylor JR, Gatherwright J, Salmon DP, Bressler AJ, Kutas M, *i sur.* (2008). Patients with MCI and N400 or P600 abnormalities are at very high risk for conversion to dementia. *Neurology* **70**: 1763–1770.
- Olney JW (1969). Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* **164**: 719–721.
- Onishchenko N, Karpova N, Sabri F, Castrn E, Ceccatelli S (2008). Long-lasting depression-like behavior and epigenetic changes of BDNF gene expression induced by perinatal exposure to methylmercury. *J Neurochem* **106**: 1378–1387.
- Onofrij M, Fulgente T, Thomas A, Locatelli T, Comi G (1995). P300 asymmetries in focal brain lesions are reference dependent. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **94**: 432–439.
- Onofrij M, Thomas A, Luciano AL, Iacono D, Rollo A Di, D’Andreamatteo G, *i sur.* (2002). Donepezil versus vitamin E in Alzheimer’s disease: Part 2: mild versus moderate-severe Alzheimer’s disease. *Clin Neuropharmacol* **25**: 207–215.
- Orešković D, Radoš M, Klarica M (2016). Cerebrospinal fluid secretion by the choroid plexus? *Physiol Rev* **96**: 1661–1662.
- Orrenius S, Ankarcróna M, Nicotera P (1996). Mechanisms of calcium-related cell death. *Adv Neurol* **71**: 137-149-151.
- Otto M, Esselmann H, Schulz-Shaeffer W, Noemann M, Schröter A, Ratzka P, *i sur.* (2000). Decreased beta-amyloid1-42 in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* **54**: 1099–1102.

- Ozturk S, Cillier AE (2006). Magnesium supplementation in the treatment of dementia patients. *Med Hypotheses* **67**: 1223–1225.
- Paci C, Gobbato R, Carboni T, Sanguigni S, Santone A, Curatola L (2006). P300 auditory event-related potentials and neuropsychological study during donepezil treatment in vascular dementia. *Neurol Sci* **26**: 435–437.
- Pacyna EG, Pacyna JM, Sundseth K, Munthe J, Kindbom K, Wilson S, *i sur.* (2010). Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. *Atmos Environ* **44**: 2487–2499.
- Paglia G, Miedico O, Cristofano A, Vitale M, Angiolillo A, Chiaravalle AE, *i sur.* (2016). Distinctive Pattern of Serum Elements During the Progression of Alzheimer's Disease. *Sci Rep* **6**: 22769.
- Pamphlett R, Kum Jew S (2015). Different Populations of Human Locus Ceruleus Neurons Contain Heavy Metals or Hyperphosphorylated Tau: Implications for Amyloid- $\beta$  and Tau Pathology in Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis* **45**: 437–447.
- Pamphlett R, Kum Jew S (2016). Locus ceruleus neurons in people with autism contain no histochemically-detectable mercury. *BioMetals* **29**: 171–175.
- Panayi AE, Spyrou NM, Iversen BS, White MA, Part P (2002). Determination of cadmium and zinc in Alzheimer's brain tissue using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J Neurol Sci* **195**: 1–10.
- Pantoni L, Inzitari D (1993). Hachinski's ischemic score and the diagnosis of vascular dementia: A review. *Ital J Neurol Sci* **14**: 539–546.
- Papaliagkas V, Kimiskidis V, Tsolaki M, Anogianakis G (2008). Usefulness of event-related potentials in the assessment of mild cognitive impairment. *BMC Neurosci* **9**: 107.
- Papaliagkas VT, Anogianakis G, Tsolaki MN, Koliakos G, Kimiskidis VK (2009). Prediction of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease by CSF cytochrome c levels and N200 latency. *Curr Alzheimer Res* **6**: 279–284.
- Papaliagkas VT, Anogianakis G, Tsolaki MN, Koliakos G, Kimiskidis VK (2010). Combination of P300 and CSF  $\beta$ -amyloid(1-42) assays may provide a potential tool in the early diagnosis of Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* **7**: 295–299.
- Papaliagkas VT, Kimiskidis VK, Tsolaki MN, Anogianakis G (2011). Cognitive event-related potentials: Longitudinal changes in mild cognitive impairment. *Clin Neurophysiol* **122**: 1322–1326.
- Park J-H, Lee D-W, Park KS, Joung H (2014). Serum Trace Metal Levels in Alzheimer's Disease and Normal Control Groups. *Am J Alzheimer's Dis Other Dementias* **29**: 76–83.
- Parra MA, Ascencio LL, Urquina HF, Manes F, Ibáñez AM (2012). P300 and neuropsychological assessment in mild cognitive impairment and Alzheimer dementia. *Front Neurol* **3**: 172.
- Paterson RW, Heywood WE, Heslegrave AJ, Magdalinou NK, Andreasson U, Sirka E, *i sur.* (2016). A targeted proteomic multiplex CSF assay identifies increased malate dehydrogenase and other neurodegenerative biomarkers in individuals with Alzheimer's disease pathology. *Transl Psychiatry* **6**: e952.
- Patrick CJ, Bernat EM, Malone SM, Iacono WG, Krueger RF, McGue M (2006). P300 amplitude as an indicator of externalizing in adolescent males. *Psychophysiology* **43**: 84–

- Pei J-J, An W-L, Zhou X-W, Nishimura T, Norberg J, Benedikz E, *i sur.* (2006). P70 S6 kinase mediates tau phosphorylation and synthesis. *FEBS Lett* **580**: 107–114.
- Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM (2009). Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature* **461**: 916–922.
- Peters R, Poulter R, Warner J, Beckett N, Burch L, Bulpitt C (2008). Smoking, dementia and cognitive decline in the elderly, a systematic review. *BMC Geriatr* **8**: 36.
- Petersen RC (2004). Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J Intern Med* **256**: 183–194.
- 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.
- Pezzi JC, Ens CMB, Borba EM, Schumacher-Schuh AF, Andrade FM de, Chaves MLF, *i sur.* (2014). DNA methyltransferase haplotype is associated with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* **579**: 70–74.
- Pfeifer M, Boncristiano S, Bondolfi L, Stalder A, Deller T, Staufenbiel M, *i sur.* (2002). Cerebral Hemorrhage After Passive Anti-Abeta Immunotherapy. *Science* **298**: 1379–1379.
- Pick A (1892). Ueber die Beziehungen der senilen Hirnatrophie zur Aphasie. *Prager med Wschr* **17**: 165–167.
- Pijnenburg YAL, Janssen JC, Schoonenboom NSM, Petzold A, Mulder C, Stigbrand T, *i sur.* (2007). CSF Neurofilaments in Frontotemporal Dementia Compared with Early Onset Alzheimer's Disease and Controls. *Dement Geriatr Cogn Disord* **23**: 225–230.
- Pillai JA, Cummings JL (2013). Clinical trials in predementia stages of Alzheimer disease. *Med Clin North Am* **97**: 439–457.
- Pol LA van de, Hensel A, Flier WM van der, Visser P-J, Pijnenburg YAL, Barkhof F, *i sur.* (2006). Hippocampal atrophy on MRI in frontotemporal lobar degeneration and Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **77**: 439–442.
- Polich J (1999). P300 in clinical applications. *Electroencephalogr basic Princ Clin Appl Relat fields* 1073–1091.
- Polich J (2007). Updating P300: an integrative theory of P3a and P3b. *Clin Neurophysiol* **118**: 2128–2148.
- Pomeraniec IJ, Bond AE, Lopes MB, Jane JA (2016). Concurrent Alzheimer's pathology in patients with clinical normal pressure hydrocephalus: correlation of high-volume lumbar puncture results, cortical brain biopsies, and outcomes. *J Neurosurg* **124**: 382–388.
- Povova J, Ambroz P, Bar M, Pavukova V, Sery O, Tomaskova H, *i sur.* (2012). Epidemiological of and risk factors for Alzheimer's disease: a review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* **156**: 108–114.
- Preston SD, Steart P V, Wilkinson A, Nicoll JAR, Weller RO (2003). Capillary and arterial cerebral amyloid angiopathy in Alzheimer's disease: defining the perivascular route for the elimination of amyloid beta from the human brain. *Neuropathol Appl Neurobiol* **29**: 106–117.
- Price JL, Morris JC (1999). Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical"



- Alzheimer's disease. *Ann Neurol* **45**: 358–368.
- Qin W, Ho L, Wang J, Peskind E, Pasinetti GM (2009). S100A7, a novel Alzheimer's disease biomarker with non-amyloidogenic alpha-secretase activity acts via selective promotion of ADAM-10. *PLoS One* **4**: e4183.
- Quiroz YT, Ally BA, Celone K, McKeever J, Ruiz-Rizzo AL, Lopera F, *i sur.* (2011). Event-related potential markers of brain changes in preclinical familial Alzheimer disease. *Neurology* **77**: 469–475.
- Racke MM, Boone LI, Hepburn DL, Parsadainian M, Bryan MT, Ness DK, *i sur.* (2005). Exacerbation of Cerebral Amyloid Angiopathy-Associated Microhemorrhage in Amyloid Precursor Protein Transgenic Mice by Immunotherapy Is Dependent on Antibody Recognition of Deposited Forms of Amyloid. *J Neurosci* **25**: 629–636.
- Raedler TJ, Wiedemann K (2006). CSF-studies in neuropsychiatric disorders. *Neuro Endocrinol Lett* **27**: 297–305.
- Raha AA, Vaishnav RA, Friedland RP, Bomford A, Raha-Chowdhury R (2013). The systemic iron-regulatory proteins hepcidin and ferroportin are reduced in the brain in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun* **1**: 55.
- Ransohoff RM, Perry VH (2009). Microglial Physiology: Unique Stimuli, Specialized Responses. *Annu Rev Immunol* **27**: 119–145.
- Rascovsky K, Hodges JR, Knopman D, Mendez MF, Kramer JH, Neuhaus J, *i sur.* (2011). Sensitivity of revised diagnostic criteria for the behavioural variant of frontotemporal dementia. *Brain* **134**: 2456–2477.
- Ratnavalli E, Brayne C, Dawson K, Hodges JR (2002). The prevalence of frontotemporal dementia. *Neurology* **58**: 1615–1621.
- Reaves SK, Wu JY, Wu Y, Fanzo JC, Wang YR, Lei PP, *i sur.* (2000). Regulation of intestinal apolipoprotein B mRNA editing levels by a zinc-deficient diet and cDNA cloning of editing protein in hamsters. *J Nutr* **130**: 2166–2173.
- Reddy PH, Beal MF (2005). Are mitochondria critical in the pathogenesis of Alzheimer's disease? *Brain Res Brain Res Rev* **49**: 618–632.
- Reeves RR, Struve FA, Patrick G, Booker JG, Nave DW (1999). The effects of donepezil on the P300 auditory and visual cognitive evoked potentials of patients with Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatry* **7**: 349–352.
- Regan RF, Rogers B (2003). Delayed Treatment of Hemoglobin Neurotoxicity. *J Neurotrauma* **20**: 111–120.
- Regeniter A, Kuhle J, Baumann T, Sollberger M, Herdener M, Kunze U, *i sur.* (2012). Biomarkers of dementia: Comparison of electrochemiluminescence results and reference ranges with conventional ELISA. *Methods* **56**: 494–499.
- Renton AE, Majounie E, Waite A, Simón-Sánchez J, Rollinson S, Gibbs JR, *i sur.* (2011). A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* **72**: 257–268.
- Riemenschneider M, Wagenpfeil S, Vanderstichele H, Otto M, Wiltfang J, Kretzschmar H, *i sur.* (2003). Phospho-tau/total tau ratio in cerebrospinal fluid discriminates Creutzfeldt-Jakob disease from other dementias. *Mol Psychiatry* **8**: 343–347.

- Ritchie CW, Bush AI, Mackinnon A, Macfarlane S, Mastwyk M, MacGregor L, *i sur.* (2003). Metal-protein attenuation with iodochlorhydroxyquin (clioquinol) targeting Abeta amyloid deposition and toxicity in Alzheimer disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Arch Neurol* **60**: 1685–1691.
- Ritter W, Simson R, Vaughan HG, Macht M (1982). Manipulation of event-related potential manifestations of information processing stages. *Science* **218**: 909–911.
- Roberts BR, Doecke JD, Rembach A, Yévenes LF, Fowler CJ, McLean CA, *i sur.* (2016). Rubidium and potassium levels are altered in Alzheimer’s disease brain and blood but not in cerebrospinal fluid. *Acta Neuropathol Commun* **4**: 119.
- Rogers JT, Randall JD, Cahill CM, Eder PS, Huang X, Gunshin H, *i sur.* (2002). An iron-responsive element type II in the 5’-untranslated region of the Alzheimer’s amyloid precursor protein transcript. *J Biol Chem* **277**: 45518–45528.
- Rohrer JD (2012). Structural brain imaging in frontotemporal dementia. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis* **1822**: 325–332.
- Rohrer JD, Nicholas JM, Cash DM, Swieten J van, Dopper E, Jiskoot L, *i sur.* (2015). Presymptomatic cognitive and neuroanatomical changes in genetic frontotemporal dementia in the Genetic Frontotemporal dementia Initiative (GENFI) study: a cross-sectional analysis. *Lancet Neurol* **14**: 253–262.
- Román GC (2002). Vascular dementia revisited: diagnosis, pathogenesis, treatment, and prevention. *Med Clin North Am* **86**: 477–499.
- Román GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T, Cummings JL, Masdeu JC, Garcia JH, *i sur.* (1993). Vascular dementia. *Neurology* **43**: 250–250.
- Rosén C, Andersson C-H, Andreasson U, Molinuevo JL, Bjerke M, Rami L, *i sur.* (2014). Increased Levels of Chitotriosidase and YKL-40 in Cerebrospinal Fluid from Patients with Alzheimer’s Disease. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra* **4**: 297–304.
- Rosengarten B, Paulsen S, Burr O, Kaps M (2010). Effect of ApoE 4 Allele on Visual Evoked Potentials and Resultant Flow Coupling in Patients With Alzheimer. *J Geriatr Psychiatry Neurol* **23**: 165–170.
- Rovelet-Lecrux A, Hannequin D, Raux G, Meur N Le, Laquerrière A, Vital A, *i sur.* (2006). APP locus duplication causes autosomal dominant early-onset Alzheimer disease with cerebral amyloid angiopathy. *Nat Genet* **38**: 24–26.
- Rüb U, Tredici K Del, Schultz C, Thal DR, Braak E, Braak H, *i sur.* (2000). The evolution of Alzheimer’s disease-related cytoskeletal pathology in the human raphe nuclei. *Neuropathol Appl Neurobiol* 553–567doi:10.1046/j.0305-1846.2000.00291.x.
- Rumble B, Retallack R, Hilbich C, Simms G, Multhaup G, Martins R, *i sur.* (1989). Amyloid A4 Protein and Its Precursor in Down’s Syndrome and Alzheimer’s Disease. *N Engl J Med* **320**: 1446–1452.
- Ryves WJ, Dajani R, Pearl L, Harwood AJ (2002). Glycogen Synthase Kinase-3 Inhibition by Lithium and Beryllium Suggests the Presence of Two Magnesium Binding Sites. *Biochem Biophys Res Commun* **290**: 967–972.
- Saddique A, Peterson CD (1983). Thallium poisoning: a review. *Vet Hum Toxicol* **25**: 16–22.
- Saito H (2014). Metabolism of iron stores. *Nagoya J Med Sci* **76**: 235–254.

- Saito H, Yamazaki H, Matsuoka H, Matsumoto K, Numachi Y, Yoshida S, *i sur.* (2001). Visual event-related potential in mild dementia of the Alzheimer's type. *Psychiatry Clin Neurosci* **55**: 365–371.
- Salnikow K, Zhitkovich A (2008). Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. *Chem Res Toxicol* **21**: 28–44.
- Sanders-Loehr J (1988). Involvement of oxo-bridged binuclear iron centers in oxygen transport, oxygen reduction, and oxygenation. *Prog Clin Biol Res* **274**: 193–209.
- Santos CY, Snyder PJ, Wu W-C, Zhang M, Echeverria A, Alber J (2017). Pathophysiologic relationship between Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and cardiovascular risk: A review and synthesis. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit* **7**: 69–87.
- Sastre M, Ritchie CW, Hajji N (2015). JSM Alzheimer's Disease and Related Dementia Metal Ions in Alzheimer's Disease Brain. *JSM Alzheimer's Dis Relat Dement* **2**: 1014.
- Sattler R, Tymianski M (2001). Molecular Mechanisms of Glutamate Receptor-Mediated Excitotoxic Neuronal Cell Death. *Mol Neurobiol* **24**: 107–130.
- Savolainen S, Paljärvi L, Vapalahti M (1999). Prevalence of Alzheimer's disease in patients investigated for presumed normal pressure hydrocephalus: a clinical and neuropathological study. *Acta Neurochir* **141**: 849–853.
- Schulz K, Kroner A, David S (2012). Iron efflux from astrocytes plays a role in remyelination. *J Neurosci* **32**: 4841–4847.
- Scott CW, Fieles A, Sygowski LA, Caputo CB (1993). Aggregation of tau protein by aluminum. *Brain Res* **628**: 77–84.
- Sedak M, Bilandžić N, Čalopek B, Đokić M, Solomun Kolanović B, Varenina I, *i sur.* (2016). Toksični metali - bioindikator i zagađenja u morskom okolišu - II. dio: arsen i živa. *Vet stanica* **47**: 35–49.
- Seppälä TT, Koivisto AM, Hartikainen P, Helisalmi S, Soininen H, Herukka S-K (2011). Longitudinal changes of CSF biomarkers in Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* **25**: 583–594.
- Seress L, Gallyas F (2000). The use of a sodium tungstate developer markedly improves the electron microscopic localization of zinc by the Timm method. *J Neurosci Methods* **100**: 33–39.
- Seshadri S (2006). Elevated plasma homocysteine levels: risk factor or risk marker for the development of dementia and Alzheimer's disease? *J Alzheimer's Dis* **9**: 393–398.
- Silverberg GD, Mayo M, Saul T, Rubenstein E, McGuire D (2003). Alzheimer's disease, normal-pressure hydrocephalus, and senescent changes in CSF circulatory physiology: a hypothesis. *Lancet Neurol* **2**: 506–511.
- Simpkins JW, Perez E, Xiaofei Wang X, ShaoHua Yang S, Yi Wen Y, Singh M (2009). Review: The potential for estrogens in preventing Alzheimer's disease and vascular dementia. *Ther Adv Neurol Disord* **2**: 31–49.
- Sjögren H (1950). Twenty-four cases of Alzheimer's disease; a clinical analysis. *Acta Med Scand Suppl* **246**: 225–233.
- Sjögren M, Davidsson P, Wallin A, Granérus A-K, Grundström E, Askmark H, *i sur.* (2002).

- Decreased CSF-beta-amyloid 42 in Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis may reflect mismetabolism of beta-amyloid induced by disparate mechanisms. *Dement Geriatr Cogn Disord* **13**: 112–118.
- Sjögren M, Minthon L, Davidsson P, Granérus A-K, Clarberg A, Vanderstichele H, *i sur.* (2000). CSF levels of tau, beta-amyloid(1-42) and GAP-43 in frontotemporal dementia, other types of dementia and normal aging. *J Neural Transm* **107**: 563–579.
- Skrabana R, Kontsek P, Mederlyova A, Iqbal K, Novak M (2004). Folding of Alzheimer's core PHF subunit revealed by monoclonal antibody 423. *FEBS Lett* **568**: 178–182.
- Slegers K, Cruts M, Broeckhoven C Van (2010). Molecular pathways of frontotemporal lobar degeneration. *Annu Rev Neurosci* **33**: 71–88.
- Smith MA, Harris PL, Sayre LM, Perry G (1997). Iron accumulation in Alzheimer disease is a source of redox-generated free radicals. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**: 9866–9868.
- Smorgon C, Mari E, Atti AR, Dalla Nora E, Zamboni PF, Calzoni F, *i sur.* (2004). Trace elements and cognitive impairment: an elderly cohort study. *Arch Gerontol Geriatr* **38**: 393–402.
- Sofroniew M V. (2015). Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nat Rev Neurosci* **16**: 249–263.
- Sonnen JA, Larson EB, Crane PK, Haneuse S, Li G, Schellenberg GD, *i sur.* (2007). Pathological correlates of dementia in a longitudinal, population-based sample of aging. *Ann Neurol* **62**: 406–413.
- Souza VBN, Muir WJ, Walker MT, Glabus MF, Roxborough HM, Sharp CW, *i sur.* (1995). Auditory P300 event-related potentials and neuropsychological performance in schizophrenia and bipolar affective disorder. *Biol Psychiatry* **37**: 300–310.
- Sperling RA, Jack CR, Aisen PS (2011). Testing the right target and right drug at the right stage. *Sci Transl Med* **3**: 111.
- Spiegel J, Pirraglia E, Osorio RS, Glodzik L, Li Y, Tsui W, *i sur.* (2015). Greater Specificity for Cerebrospinal Fluid P-tau231 over P-tau181 in the Differentiation of Healthy Controls from Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis* **49**: 93–100.
- Spillantini MG, Goedert M (1998). Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* **21**: 428–433.
- Squitti R, Barbati G, Rossi L, Ventriglia M, Dal Forno G, Cesaretti S, *i sur.* (2006). Excess of nonceruloplasmin serum copper in AD correlates with MMSE, CSF beta-amyloid, and h-tau. *Neurology* **67**: 76–82.
- Squitti R, Bressi F, Pasqualetti P, Bonomini C, Ghidoni R, Binetti G, *i sur.* (2009). Longitudinal prognostic value of serum “free” copper in patients with Alzheimer disease. *Neurology* **72**: 50–55.
- Squitti R, Pasqualetti P, Dal Forno G, Moffa F, Cassetta E, Lupoi D, *i sur.* (2005). Excess of serum copper not related to ceruloplasmin in Alzheimer disease. *Neurology* **64**: 1040–1046.
- Storandt M, Beaudreau S (2004). Do reaction time measures enhance diagnosis of early-stage dementia of the Alzheimer type. *Arch Clin Neuropsychol* **19**: 119–124.
- Strittmatter WJ (2012). Medicine. Old drug, new hope for Alzheimer's disease. *Science* **335**:

1447–1448.

- Strong MJ, Grace GM, Freedman M, Lomen-Hoerth C, Woolley S, Goldstein LH, *i sur.* (2009). Consensus criteria for the diagnosis of frontotemporal cognitive and behavioural syndromes in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler* **10**: 131–146.
- Strooper B De, Iwatsubo T, Wolfe MS (2012). Presenilins and  $\gamma$ -secretase: structure, function, and role in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2**: a006304.
- Strozyk D, Launer LJ, Adlard PA, Cherny RA, Tsatsanis A, Volitakis I, *i sur.* (2009). Zinc and copper modulate Alzheimer Abeta levels in human cerebrospinal fluid. *Neurobiol Aging* **30**: 1069–1077.
- Su GC, Arendash GW, Kalaria RN, Bjugstad KB, Mullan M (1999). Intravascular infusions of soluble beta-amyloid compromise the blood-brain barrier, activate CNS glial cells and induce peripheral hemorrhage. *Brain Res* **818**: 105–117.
- Subhash MN, Padmashree TS, Srinivas KN, Subbakrishna DK, Shankar SK (1991). Calcium and phosphorus levels in serum and CSF in dementia. *Neurobiol Aging* **12**: 267–269.
- Sumi N, Harada K, Fujimoto O, Taguchi S, Ohta Y, Nan-no H, *i sur.* (2001). Inter-peak Latency of Auditory Event-related Potentials (P300) in Cases of Aged Schizophrenia and Alzheimer-type Dementia. *Psychogeriatrics* **1**: 64–68.
- Sumi N, Nan’no H, Fujimoto O, Ohta Y, Takeda M (2000). Interpeak latency of auditory event-related potentials (P300) in senile depression and dementia of the Alzheimer type. *Psychiatry Clin Neurosci* **54**: 679–684.
- Sundelöf J, Arnlöv J, Ingelsson E, Sundström J, Basu S, Zethelius B, *i sur.* (2008). Serum cystatin C and the risk of Alzheimer disease in elderly men. *Neurology* **71**: 1072–1079.
- Sur S, Sinha VK (2009). Event-related potential: An overview. *Ind Psychiatry J* **18**: 70–73.
- Sutphen CL, Jasielec MS, Shah AR, Macy EM, Xiong C, Vlassenko AG, *i sur.* (2015). Longitudinal Cerebrospinal Fluid Biomarker Changes in Preclinical Alzheimer Disease During Middle Age. *JAMA Neurol* **72**: 1029–1042.
- Szelies B, Mielke R, Grond M, Heiss W-D (1995). P300 in Alzheimer’s disease: relationships to dementia severity and glucose metabolism. *J Neurol Sci* **130**: 77–81.
- Šarac H, Hajnšek S, Basić S, Henigsberg N, Radoš M, Šimić G (2008). Magnetic resonance spectroscopy and measurement of tau epitopes of autopsy proven sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in a patient with non-specific initial EEG, MRI and negative 14-3-3 immunoblot. *Coll Antropol* **32**: 199–204.
- Šimić G (2006). Neurobiologija demencija. *Biološke osnove i terapija ponašanja* 187–211.
- Šimić G, Babić M, Borovečki F, Hof PR (2014). Early failure of the default-mode network and the pathogenesis of Alzheimer’s disease. *CNS Neurosci Ther* **20**: 692–698.
- Šimić G, Babić Leko M, Wray S, Harrington C, Delalle I, Jovanov-Milošević N, *i sur.* (2016). Tau Protein Hyperphosphorylation and Aggregation in Alzheimer’s Disease and Other Tauopathies, and Possible Neuroprotective Strategies. *Biomolecules* **6**: 6.
- Šimić G, Babić Leko M, Wray S, Harrington CR, Delalle I, Jovanov-Milošević N, *i sur.* (2017). Monoaminergic neuropathology in Alzheimer’s disease. *Prog Neurobiol* **151**: 101–138.
- Šimić G, Boban M, Hof P (2008). Cerebrospinal fluid phosphorylated tau proteins as

- predictors of Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment. *Period Biol* **110**: 27–30.
- Šimić G, Boban M, Šarac H, Grbić K, Hof P, Hamann C, *i sur.* (2007). CSF tau proteins in evaluation of patients with suspected dementia. *Neurodegener Dis* **4**: 135–136.
- Šimić G, Diana A, Hof PR (2003). Phosphorylation pattern of tau associated with distinct changes of the growth cone cytoskeleton. *Prog Mol Subcell Biol* **32**: 33–48.
- Šimić G, Gnjidić M, Kostović I (1998). Cytoskeletal changes as an alternative view on pathogenesis of Alzheimer's disease. *Period Biol* **100**: 165–173.
- Šimić G, Kostović I, Winblad B, Bogdanović N (1997). Volume and number of neurons of the human hippocampal formation in normal aging and Alzheimer's disease. *J Comp Neurol* **379**: 482–494.
- Šimić G, Mrzljak L, Fucić A, Winblad B, Lovrić H, Kostović I (1999). Nucleus subputaminalis (Ayala): the still disregarded magnocellular component of the basal forebrain may be human specific and connected with the cortical speech area. *Neuroscience* **89**: 73–89.
- Šimić G, Stanić G, Mladinov M, Jovanov-Milošević N, Kostović I, Hof P (2009). Does Alzheimer's disease begin in the brainstem?: Annotation. *Neuropathol Appl Neurobiol* **35**: 532–554.
- Taguchi S, Fujimoto O, Takamori N, Hanatani T, Sumi N, Nan'no H, *i sur.* (2003). Neurophysiological evaluation of late paraphrenia: Comparison with chronic schizophrenia and dementia of the Alzheimer type. *Psychogeriatrics* **3**: 29–38.
- Takahashi RH, Milner TA, Li F, Nam EE, Edgar MA, Yamaguchi H, *i sur.* (2002). Intraneuronal Alzheimer abeta42 accumulates in multivesicular bodies and is associated with synaptic pathology. *Am J Pathol* **161**: 1869–1879.
- Takeda A, Takada S, Ando M, Itagaki K, Tamano H, Suzuki M, *i sur.* (2010). Impairment of recognition memory and hippocampal long-term potentiation after acute exposure to clioquinol. *Neuroscience* **171**: 443–450.
- Tang Y, Le W (2016). Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol* **53**: 1181–1194.
- Tao Y, Wang Y, Rogers JT, Wang F (2014). Perturbed iron distribution in Alzheimer's disease serum, cerebrospinal fluid, and selected brain regions: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimer's Dis* **42**: 679–690.
- Tarawneh R, D'Angelo G, Macy E, Xiong C, Carter D, Cairns NJ, *i sur.* (2011). Visinin-like protein-1: diagnostic and prognostic biomarker in Alzheimer disease. *Ann Neurol* **70**: 274–285.
- Tarawneh R, Lee J-M, Ladenson JH, Morris JC, Holtzman DM (2012). CSF VILIP-1 predicts rates of cognitive decline in early Alzheimer disease. *Neurology* **78**: 709–719.
- Teipel SJ, Schapiro MB, Alexander GE, Krasuski JS, Horwitz B, Hoehne C, *i sur.* (2003). Relation of corpus callosum and hippocampal size to age in nondemented adults with Down's syndrome. *Am J Psychiatry* **160**: 1870–1878.
- Teter B, Ashford JW (2002). Neuroplasticity in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* **70**: 402–437.

- Teunissen CE, Verwey NA, Kester MI, Uffelen K van, Blankenstein MA (2010). Standardization of Assay Procedures for Analysis of the CSF Biomarkers Amyloid  $\beta$ ((1-42)), Tau, and Phosphorylated Tau in Alzheimer's Disease: Report of an International Workshop. *Int J Alzheimers Dis* **2010**: 1–6.
- Thal DR, Rub U, Orantes M, Braak H (2002). Phases of A $\beta$ -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* **58**: 1791–1800.
- The Ronald and Nancy Reagan Research Institute of the Alzheimer's Association and the National Institute on Aging Working Group (1998). Consensus report of the Working Group on: "Molecular and Biochemical Markers of Alzheimer's Disease". *Neurobiol Aging* **19**: 109–116.
- Thomas A, Iacono D, Bonanni L, D'Andreamatteo G, Onofrij M (2001). Donepezil, rivastigmine, and vitamin E in Alzheimer disease: a combined P300 event-related potentials/neuropsychologic evaluation over 6 months. *Clin Neuropharmacol* **24**: 31–42.
- Thomas NJ, Morris CM, Scaravilli F, Johansson J, Rossor M, Lange R De, *i sur.* (2000). Hereditary vascular dementia linked to notch 3 mutations. CADASIL in British families. *Ann N Y Acad Sci* **903**: 293–298.
- Thomas T, Thomas G, McLendon C, Sutton T, Mullan M (1996).  $\beta$ -Amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature* **380**: 168–171.
- Thompson CM, Markesbery WR, Ehmann WD, Mao YX, Vance DE (1988). Regional brain trace-element studies in Alzheimer's disease. *Neurotoxicology* **9**: 1–7.
- Tian J, Shi J, Bailey K, Mann DMA (2003). Negative association between amyloid plaques and cerebral amyloid angiopathy in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* **352**: 137–140.
- Tian J, Shi J, Bailey K, Mann DMA (2004). Relationships between arteriosclerosis, cerebral amyloid angiopathy and myelin loss from cerebral cortical white matter in Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* **30**: 46–56.
- Tolboom N, Flier WM van der, Yaqub M, Boellaard R, Verwey NA, Blankenstein MA, *i sur.* (2009). Relationship of cerebrospinal fluid markers to 11C-PiB and 18F-FDDNP binding. *J Nucl Med* **50**: 1464–1470.
- Toledo-Morrell L de, Stoub TR, Bulgakova M, Wilson RS, Bennett DA, Leurgans S, *i sur.* (2004). MRI-derived entorhinal volume is a good predictor of conversion from MCI to AD. *Neurobiol Aging* **25**: 1197–1203.
- Toledo JB, Brettschneider J, Grossman M, Arnold SE, Hu WT, Xie SX, *i sur.* (2012). CSF biomarkers cutoffs: the importance of coincident neuropathological diseases. *Acta Neuropathol* **124**: 23–35.
- Toledo JB, Xie SX, Trojanowski JQ, Shaw LM (2013). Longitudinal change in CSF Tau and A $\beta$  biomarkers for up to 48 months in ADNI. *Acta Neuropathol* **126**: 659–670.
- Tolnay M, Probst A (2008). Argyrophilic grain disease. *Handb Clin Neurol* **89**: 553–563.
- Tomljenovic L (2011). Aluminum and Alzheimer's disease: after a century of controversy, is there a plausible link? *J Alzheimer's Dis* **23**: 567–598.
- Torsdottir G, Kristinsson J, Snaedal J, Sveinbjörnsdóttir S, Gudmundsson G, Hreidarsson S, *i sur.* (2010). Case-control studies on ceruloplasmin and superoxide dismutase (SOD1) in neurodegenerative diseases: a short review. *J Neurol Sci* **299**: 51–54.

- Trapp GA, Miner GD, Zimmerman RL, Mastri AR, Heston LL (1978). Aluminum levels in brain in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* **13**: 709–718.
- Trollor JN, Sachdev PS, Haindl W, Brodaty H, Wen W, Walker BM (2005). Regional cerebral blood flow deficits in mild Alzheimer's disease using high resolution single photon emission computerized tomography. *Psychiatry Clin Neurosci* **59**: 280–290.
- Twomey DM, Murphy PR, Kelly SP, O'Connell RG (2015). The classic P300 encodes a build-to-threshold decision variable. *Eur J Neurosci* **42**: 1636–1643.
- Ueda K, Kawano H, Hasuo Y, Fujishima M (1992). Prevalence and etiology of dementia in a Japanese community. *Stroke* **23**: 798–803.
- Urakami K (2006). Mild cognitive impairment: biological diagnostic markers for early stages of Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics* **6**: S26–S29.
- Vahidnia A, Voet GB van der, Wolff FA de (2007). Arsenic neurotoxicity - A review. *Hum Exp Toxicol* **26**: 823–832.
- Vaitkevičius A, Kaubrys G, Audronytė E (2015). Distinctive Effect of Donepezil Treatment on P300 and N200 Subcomponents of Auditory Event-Related Evoked Potentials in Alzheimer Disease Patients. *Med Sci Monit* **21**: 1920–1927.
- Vanderstichele H, Bibl M, Engelborghs S, Bastard N Le, Lewczuk P, Molinuevo JL, *i sur.* (2012). Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimer's Dement* **8**: 65–73.
- Vandoolaeghe E, Hunsel F van, Nuyten D, Maes M (1998). Auditory event related potentials in major depression: prolonged P300 latency and increased P200 amplitude. *J Affect Disord* **48**: 105–113.
- Veld BA in 't, Ruitenbergh A, Hofman A, Launer LJ, Duijn CM van, Stijnen T, *i sur.* (2001). Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs and the Risk of Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* **345**: 1515–1521.
- Ventriglia M, Brewer GJ, Simonelli I, Mariani S, Siotto M, Bucossi S, *i sur.* (2015). Zinc in Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis of Serum, Plasma, and Cerebrospinal Fluid Studies. *J Alzheimer's Dis* **46**: 75–87.
- Verger C, Imbenotte J (1982). Decreased heme content and cessation of cell growth in cultured chick embryo fibroblasts in the presence of horse serum: stimulation of heme synthesis and cell growth by iron. *J Cell Physiol* **113**: 193–196.
- Viaene MK, Masschelein R, Leenders J, Groof M De, Swerts LJ, Roels HA (2000). Neurobehavioural effects of occupational exposure to cadmium: a cross sectional epidemiological study. *Occup Environ Med* **57**: 19–27.
- Villemagne VL, Fodero-Tavoletti MT, Masters CL, Rowe CC (2015). Tau imaging: early progress and future directions. *Lancet Neurol* **14**: 114–124.
- Vincent I, Zheng JH, Dickson DW, Kress Y, Davies P (1998). Mitotic phosphoepitopes precede paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **19**: 287–296.
- Vonsattel JPG, Myers RH, Tessa Hedley-Whyte E, Ropper AH, Bird ED, Richardson EP (1991). Cerebral amyloid angiopathy without and with cerebral hemorrhages: A comparative histological study. *Ann Neurol* **30**: 637–649.



- Vural H, Demirin H, Kara Y, Eren I, Delibas N (2010). Alterations of plasma magnesium, copper, zinc, iron and selenium concentrations and some related erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with Alzheimer's disease. *J Trace Elem Med Biol* **24**: 169–173.
- Wagner KR, Sharp FR, Ardizzone TD, Lu A, Clark JF (2003). Heme and Iron Metabolism: Role in Cerebral Hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* **23**: 629–652.
- Waite LM (2015). Treatment for Alzheimer's disease: has anything changed? *Aust Prescr* **38**: 60–63.
- Walsh P, Kane N, Butler S (2005). The clinical role of evoked potentials. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **76**: ii16-ii22.
- Wang P, Zhang H, Han L, Zhou Y (2016). Cortical function in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Transl Neurosci* **7**: 116–125.
- Wang P, Zhang X, Liu Y, Liu S, Zhou B, Zhang Z, *i sur.* (2013). Perceptual and response interference in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Clin Neurophysiol* **124**: 2389–2396.
- Wang Z-X, Tan L, Wang H-F, Ma J, Liu J, Tan M-S, *i sur.* (2015). Serum Iron, Zinc, and Copper Levels in Patients with Alzheimer's Disease: A Replication Study and Meta-Analyses. *J Alzheimer's Dis* **47**: 565–581.
- Ward NI, Mason JA (1987). Neutron activation analysis techniques for identifying elemental status in Alzheimer's disease. *J Radioanal Nucl Chem Artic* **113**: 515–526.
- Watson CT, Roussos P, Garg P, Ho DJ, Azam N, Katsel PL, *i sur.* (2016). Genome-wide DNA methylation profiling in the superior temporal gyrus reveals epigenetic signatures associated with Alzheimer's disease. *Genome Med* **8**: 5.
- Weintraub S, Wicklund AH, Salmon DP (2012). The neuropsychological profile of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2**: a006171.
- Wells EM, Navas-Acien A, Apelberg BJ, Herbstman JB, Jarrett JM, Lin YH, *i sur.* (2014). Association of selenium and copper with lipids in umbilical cord blood. *J Dev Orig Health Dis* **5**: 281–287.
- Werber EA, Gandelman-Marton R, Klein C, Rabey JM (2003). The clinical use of P300 event related potentials for the evaluation of cholinesterase inhibitors treatment in demented patients. *J Neural Transm* **110**: 659–669.
- West RL, Lee JM, Maroun LE (1995). Hypomethylation of the amyloid precursor protein gene in the brain of an alzheimer's disease patient. *J Mol Neurosci* **6**: 141–146.
- Wetter S, Murphy C (2001). Apolipoprotein E epsilon4 positive individuals demonstrate delayed olfactory event-related potentials. *Neurobiol Aging* **22**: 439–447.
- Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, Coyle JT, DeLong MR (1981). Alzheimer disease: Evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol* **10**: 122–126.
- WHO (World health organization: Genova, 2010). *World health organisation: International statistical classification of diseases and related health problems, 10th revision (ICD 10)*.
- Wilcock GK (2003). Memantine for the treatment of dementia. *Lancet Neurol* **2**: 503–505.
- Wiltfang J, Esselmann H, Bibl M, Smirnov A, Otto M, Paul S, *i sur.* (2002). Highly

- conserved and disease-specific patterns of carboxyterminally truncated Abeta peptides 1-37/38/39 in addition to 1-40/42 in Alzheimer's disease and in patients with chronic neuroinflammation. *J Neurochem* **81**: 481–496.
- Wiśniewski H, Karczewski W, Wiśniewska K (1966). Neurofibrillary degeneration of nerve cells after intracerebral injection of aluminium cream. *Acta Neuropathol* **6**: 211–219.
- Woods NK, Padmanabhan J (2012). Neuronal Calcium Signaling and Alzheimer's Disease. *Adv Exp Med Biol* **740**: 1193–1217.
- Xu H, Finkelstein DI, Adlard PA (2014a). Interactions of metals and Apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci* **6**: 121.
- Xu J, Sheng H, Lou W, Zhao S (2012). Approximate Entropy Analysis of Event-Related Potentials in Patients With Early Vascular Dementia. *J Clin Neurophysiol* **29**: 230–236.
- Xu Z-P, Li L, Bao J, Wang Z-H, Zeng J, Liu E-J, *i sur.* (2014b). Magnesium Protects Cognitive Functions and Synaptic Plasticity in Streptozotocin-Induced Sporadic Alzheimer's Model. *PLoS One* **9**: e108645.
- Xue J, Dong J-H, Huang G-D, Qu X-F, Wu G, Dong X-R (2014). NF- $\kappa$ B signaling modulates radiation-induced microglial activation. *Oncol Rep* **31**: 2555–2560.
- Yamaguchi S, Knight RT (1991). P300 generation by novel somatosensory stimuli. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **78**: 50–55.
- Yamaguchi S, Tsuchiya H, Yamagata S, Toyoda G, Kobayashi S (2000). Event-related brain potentials in response to novel sounds in dementia. *Clin Neurophysiol* **111**: 195–203.
- Yamamoto A, Shin R-W, Hasegawa K, Naiki H, Sato H, Yoshimasu F, *i sur.* (2002). Iron (III) induces aggregation of hyperphosphorylated tau and its reduction to iron (II) reverses the aggregation: implications in the formation of neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *J Neurochem* **82**: 1137–1147.
- Yamamoto T, Hirano A (1985). Nucleus raphe dorsalis in parkinsonism-dementia complex of Guam. *Acta Neuropathol* **67**: 296–299.
- Yang D-J, Shi S, Zheng L-F, Yao T-M, Ji L-N (2010). Mercury(II) promotes the in vitro aggregation of tau fragment corresponding to the second repeat of microtubule-binding domain: Coordination and conformational transition. *Biopolymers* **93**: 1100–1107.
- Yiannopoulou KG, Papageorgiou SG (2013). Current and future treatments for Alzheimer's disease. *Ther Adv Neurol Disord* **6**: 19–33.
- Yin GN, Lee HW, Cho J-Y, Suk K (2009). Neuronal pentraxin receptor in cerebrospinal fluid as a potential biomarker for neurodegenerative diseases. *Brain Res* **1265**: 158–170.
- You H, Tsutsui S, Hameed S, Kannanayakal TJ, Chen L, Xia P, *i sur.* (2012). A $\beta$  neurotoxicity depends on interactions between copper ions, prion protein, and N-methyl-D-aspartate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**: 1737–1742.
- Yu L, Chibnik LB, Srivastava GP, Pochet N, Yang J, Xu J, *i sur.* (2015). Association of Brain DNA Methylation in SORL1, ABCA7, HLA-DRB5, SLC24A4, and BIN1 With Pathological Diagnosis of Alzheimer Disease. *JAMA Neurol* **72**: 15.
- Yu WH, Lukiw WJ, Bergeron C, Niznik HB, Fraser PE (2001). Metallothionein III is reduced in Alzheimer's disease. *Brain Res* **894**: 37–45.

- Zappasodi F, Salustri C, Babiloni C, Cassetta E, Percio C Del, Ercolani M, *i sur.* (2008). An observational study on the influence of the APOE- $\epsilon$ 4 allele on the correlation between “free” copper toxicosis and EEG activity in Alzheimer disease. *Brain Res* **1215**: 183–189.
- Zekry D, Duyckaerts C, Belmin J, Geoffre C, Moulias R, Hauw J-J (2003). Cerebral amyloid angiopathy in the elderly: vessel walls changes and relationship with dementia. *Acta Neuropathol* **106**: 367–373.
- Zhang J, Mattison H a, Liu C, Gingham C, Auinger P, McDermott MP, *i sur.* (2013). Longitudinal assessment of tau and amyloid beta in cerebrospinal fluid of Parkinson disease. *Acta Neuropathol* **126**: 671–682.
- Zheng W, Xin N, Chi Z-H, Zhao B-L, Zhang J, Li J-Y, *i sur.* (2009). Divalent metal transporter 1 is involved in amyloid precursor protein processing and Abeta generation. *FASEB J* **23**: 4207–4217.
- Zhou L-X, Du J-T, Zeng Z-Y, Wu W-H, Zhao Y-F, Kanazawa K, *i sur.* (2007). Copper (II) modulates in vitro aggregation of a tau peptide. *Peptides* **28**: 2229–2234.
- Zlokovic B V (2005). Neurovascular mechanisms of Alzheimer’s neurodegeneration. *Trends Neurosci* **28**: 202–208.

## **SAŽETAK**

Pretpostavlja se da patološki procesi u mozgu oboljelih od sporadične Alzheimerove bolesti (AB) započinju otprilike 20 godina prije pojave prvih simptoma. Stoga je pronalazak biološkog biljega koji bi što ranije potvrdio da patološki proces u osoba s blagim spoznajnim poremećajem (BSP) ima obilježja AB od ključne važnosti. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi prediktivne vrijednosti novih potencijalnih likvorskih biljega AB (koncentracija VILIP-1 proteina, razine makro- i mikroelemenata), dijagnostički potencijal neinvazivnih bioloških biljega iz plazme (protein neurokan) i evociranih potencijala mjerenih elektroencefalografijom te kombinacijom navedenih bioloških biljega s likvorskim proteinskim biološkim biljezima ( $A\beta_{1-42}$ , ukupni tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> i VILIP-1) odrediti vjerojatnost napredovanja BSP u AB. Istraživanje je provedeno na sveukupno 156 bolesnika s AB, 63 osobe s BSP i 20 kontrolnih ispitanika. Izrađena su tri prediktivna modela za određivanje vjerojatnosti AB kod osoba s BSP: dva se zasnivaju na proteinskim likvorskim biološkim biljezima AB, dok se treći temelji na kognitivnim evociranim potencijalima. Prema tim različitim modelima koji su se pokazali visoko podudarnima je 22-39% ispitanika s BSP imalo jako visoki rizik za razvoj AB, 40-50% ispitanika s BSP imalo je relativno visok rizik za razvoj AB, 35% ispitanika s BSP imalo je nizak rizik za razvoj AB, dok je 13-20% ispitanika s BSP bilo bez rizika za nastanak AB. Od svih ispitivanih biljega su najviše vrijednosti osjetljivosti (90.9%) i specifičnosti (100%) postignute mjerenjem latencije P300 potencijala (brojanje), čime je taj biološki biljeg zadovoljio kriterije „idealnog“ biološkog biljega AB (osjetljivost i specifičnost veću od 85%). Vrijednosti reakcijskog vremena i kognitivnih evociranih potencijala N200 i P300 bile su u dobroj korelaciji s likvorskim proteinskim biološkim biljezima. Neinvazivni biološki biljeg neurokan mjeren u plazmi nije pokazalo dijagnostički potencijal za AB iako su vrijednosti neurokana umjereno dobro korelirale s vrijednostima ukupnog tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> i p-tau<sub>231</sub>. Dijagnostički potencijal u AB nije potvrđen ni za makro- i mikroelemente, ali su vrijednosti makro- i mikroelemenata bile u dobroj korelaciji s vrijednostima likvorskih proteinskih biljega i reakcijskog vremena izmjerenog prilikom testiranja kognitivnih evociranih potencijala. Tako su vrijednosti Se, Tl, Zn, Cr i Ba bile značajno povezane sa šest bioloških biljega, Cu, Fe, As, Co, Ca, Mg i S s pet bioloških biljega, Hg, Mn, K, Sr i Na s četiri biološka biljega, a vrijednosti Cd, Ni, Mo i B s tri biološka biljega. Zaključno, ovo je istraživanje ponudilo rješenja za unaprjeđenje rane dijagnostike AB pomoću bioloških biljega, te dalo bolji uvid o mogućoj ulozi pojedinih makro- i mikroelemenata, pogotovo metala, u razvoju AB.

## **SUMMARY**

It is assumed that pathological processes in the brain of the patients with sporadic Alzheimer's disease (AD) start 20 years before the occurrence of the first symptoms. Detection of biomarker that could early confirm the AD pathological process in subjects with mild cognitive impairment (MCI) is therefore crucial. The overall purpose of this study was to determine predictive values of new potential cerebrospinal fluid (CSF) AD biomarkers (concentration of VILIP-1, levels of macro- and microelements), diagnostic potential of non-invasive biomarkers from plasma (protein neurocan) and evoked potentials measured by electroencephalography. By using the combination of the aforementioned biomarkers with protein CSF biomarkers ( $A\beta_{1-42}$ , total tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub>, p-tau<sub>231</sub> and VILIP-1), the aim was to determine the probability of MCI progression to AD. The study involved 156 AD patients, 63 MCI patients and 20 control subjects. It resulted in three predictive models for the determination of the probability of patients with MCI converting to AD: two of these models were based on protein CSF biomarkers, while the third was based on cognitive evoked potentials. According to these three highly congruent predictive models, 22-39% of MCI patients had very high risk for AD development, 40-50% MCI patients had high risk for AD, 35% MCI patients had low risk for AD whereas 13-20% MCI patients were without the risk for AD. The biomarker which provided the best predictive capacity was latency of P300 potential with values of 90.9% sensitivity and 100% specificity, thus largely satisfying the criteria for the "ideal" AD biomarker (both sensitivity and specificity being higher than 85%). The values of reaction time and cognitive evoked potentials N200 and P300 showed good relationship with protein CSF biomarkers. Non-invasive plasma biomarker neurocan showed no diagnostic potential for diagnosing AD although it was in good positive correlation with the values of total tau, p-tau<sub>181</sub>, p-tau<sub>199</sub> and p-tau<sub>231</sub>. Although macro- and microelements measured in CSF had no diagnostic potential in AD, their levels correlated well with the CSF protein biomarkers and cognitive evoked potentials' reaction time. The levels of Se, Tl, Zn, Cr and Ba were significantly associated with six biomarkers, the levels of Cu, Fe, As, Co, Ca, Mg and S were associated with five biomarkers, the levels of Hg, Mn, K, Sr and Na were associated with four biomarkers, and the levels of Cd, Ni, Mo and B were associated with three biomarkers. In conclusion, this research offers the solutions for the improvement of the early AD diagnosis, and also gives the better insight into the role of macro- and microelements, especially metals, in the development of AD.

## **POPIS KRATICA**



AB	Alzheimerova bolest
A $\beta$	Amiloid $\beta$
AChEI	Inhibitori acetilkolinesteraze
ADAM10	<i>A disintegrin and metalloprotease 10</i>
ADAS	<i>Alzheimer's Disease Assessment Scale</i>
ADAS-cog	<i>Alzheimer's Disease Assessment Scale – cognitive subscale</i>
ADDTC	Dijagnostički i terapijski centar za Alzheimerovu bolest ( <i>Alzheimer's Disease Diagnostic and Treatment Centers</i> )
ADL	Svakodnevne životne aktivnosti ( <i>activities of daily living</i> )
AGD	Bolest argirofilnih tjelešaca ( <i>argyrophilic grain disease</i> )
AIDS	Stečeni sindrom imunodeficijencije ( <i>acquired immunodeficiency syndrome</i> )
ak	aminokiselina
ALS	Amiotrofična lateralna skleroza
ANOVA	Jednosmjerna analiza varijance
APH-1	<i>Anterior pharynx defective-1</i> protein
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Prekursorni protein amiloida ( <i>amyloid precursor protein</i> )
AUC	Površina ispod krivulje ( <i>area under curve</i> )
BACE	$\beta$ -sekretaza ( <i>beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme</i> )
BPSD	Rani nekognitivni, ponašajni i psihološki simptomi demencije ( <i>behavioral and psychological symptoms of dementia</i> )
BSP	Blagi kognitivni (spoznajni) poremećaj ( <i>mild cognitive impairment</i> )
BSP-AB	Osobe s BSP čije je stanje progrediralo u AB
bvFTD	Frontalna varijanta frontotemporalne demencije s poremećenim ponašanjem ( <i>behavioral variant FTD</i> )
[ <sup>11</sup> C]- PBB3	<i>Phenyl/pyridinyl-butadienyl-benzothiazoles/benzothiazolium</i>
C3	Komponenta komplementa 3 ( <i>complement component 3</i> )
CAA	Cerebralna amiloidna angiopatija
CADASIL	Cerebralna autosomno dominantna arteriopatija sa subkortikalnim infarktima i encefalopatijom ( <i>cerebral</i>

	<i>autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and encephalopathy)</i>
CAF	Test za kliničko ocjenjivanje fluktuacije kognicije ( <i>Clinician Assessment of Fluctuations</i> )
CapCAA	Perikapilarno odlaganje A $\beta$ <sub>1-42</sub> ( <i>capillary CAA</i> )
CART	Kokainom i amfetaminom regulirani transkript ( <i>cocaine- and amphetamine-regulated transcript</i> )
CBD	Kortikobazalna degeneracija ( <i>corticobasal degeneration</i> )
CDR	<i>Clinical Dementia Rating</i>
CDT	Test crtanja sata ( <i>Clock Drawing Test</i> )
CJB	Creutzfeldt-Jakobova bolest
CNSM	Test vitalnih znakova pamćenja središnjeg živčanog sustava ( <i>Central Nervous System Vital Signs Memory Test</i> )
CT	Kompjutorizirana tomografija
CVLT	Kalifornijski test verbalnog učenja ( <i>California Verbal Learning Test</i> )
DLB	Demencija s Lewyjevim tjelešcima ( <i>dementia with Lewy bodies</i> )
DLBD	<i>Diffuse Lewy-body disease</i>
DMN	Mreža stalne aktivnosti ( <i>default mode network</i> )
DMT1	Transporter dvovalentnih iona metala 1 ( <i>divalent metal transporter 1</i> )
DNMT1	DNA metil-transferaza 1
DS	Downov sindrom
DSM	Dijagnostički i statistički priručnik mentalnih bolesti i poremećaja ( <i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i> )
EEG	Elektroencefalografija
EKG	Elektrokardiogram
ELISA	Enzimski povezana imunoapsorpcijska analiza ( <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> )
EOAD	AB s ranim početkom ( <i>early-onset AD</i> )
ERP	Potencijali vezani za događaj ( <i>event related potentials</i> )

[ <sup>18</sup> F]FDDNP	2- (1- {6- [(2- [ <sup>18</sup> F] fluoroetil (metil) amino]- 2-naftil} etilidin) malononitril) (2- (1- {6- [(2- [ <sup>18</sup> F] fluoroethyl) (methyl) amino]- 2-naphthyl} ethylidene) malononitrile
fAD	Obiteljska AB ( <i>familial AD</i> )
FDG	<sup>18</sup> F-fluorodeoksiglukoz
fMRI	Funkcionalna magnetska rezonancija
FS	Faktorski skor
FTD	Frontotemporalna demencija
FTD-MND	Frontotemporalna demencija s bolešću motoneurona (MND, <i>motor neuron disease</i> )
FTDP-17	Frontotemporalna demencija s parkinsonizmom zbog mutacije <i>MAPT</i> gena na kromosomu 17
FTLD	Frontotemporalna lobarna degeneracija
FUS	<i>Fused in sarcoma</i>
GAP43	<i>Growth associated protein 43</i>
GGT	Globularna glijalna tauopatija
GSK	Kinaza glikogen sintaze ( <i>glycogen synthase kinase</i> )
GSS	Gerstmann-Sträussler-Scheinkerov sindrom
5-HIAA	5-hidroksiindol octena kiselina ( <i>5-hydroxyindoleacetic acid</i> )
HIS	<i>Hachinski ischemic score</i>
HRP	Peroksidaza iz hrena ( <i>horseradish peroxidase</i> )
ICP-AES	Emisijska spektrometrija pomoću induktivno spregnute plazme ( <i>inductively coupled plasma atomic emission spectrometry</i> )
ICP-MS	Spektrometrija masa pomoću induktivno spregnute plazme ( <i>inductively coupled plasma mass spectroscopy</i> )
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
iNPH	Idiopatski hidrocefalus s normalnim tlakom likvora ( <i>idiopathic normal-pressure hydrocephalus</i> )
IV	Izlučne vrijednosti
KMB	Krvno-moždana barijera
KONT	Kontrola

KW	Kruskal-Wallis test
LBD	Bolest Lewyjevih tjelešaca ( <i>Lewy body disease</i> )
LC	<i>locus coeruleus</i>
LC-MS/MS	<i>Liquid chromatography tandem-mass spectrometry</i>
LOAD	AB s kasnim početkom ( <i>late-onset AD</i> )
LPA	Logopenička afazija
MAP	Obitelj s mikrotubulima povezanih proteina ( <i>microtubule-associated protein</i> )
MID	Demencija s višestrukim žarištima ( <i>multi-infarct dementia</i> )
MKB-10	Međunarodna klasifikacija bolesti
MMSE	Mala skala mentalnog stanja ( <i>Mini-Mental State Examination</i> )
MND	Bolest motoneurona ( <i>motor neuron disease</i> )
MODA	Skala cjelokupne procjene demencije ( <i>Milan overall dementia assessment</i> )
MRI	Magnetska rezonancija ( <i>magnetic resonance imaging</i> )
MS	Multipla skleroza
MSA	Multipla sistemska atrofija
MT	Proteini koji kontroliraju koncentraciju cinka u citosolu ( <i>metallothioneins</i> )
MW	Mann-Whitney test
N	Broj pacijenata
NCAM-120	Prekursor adhezijske molekule neurona 1 ( <i>neural cell adhesion molecule 120</i> )
NFT	Neurofibrilarni snopići (NFT, <i>neurofibrillary tangles</i> )
NINCDS-ADRDA	Nacionalni institut za neurološke i komunikacijske poremećaje te moždani udar-Asocijacija za Alzheimerovu bolest i srodne poremećaje ( <i>National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke-the Alzheimer's disease and Related Disorders Association</i> )
NINDS-AIREN	Nacionalni institut neuroloških poremećaja i moždanog udara - Međunarodna udruga za istraživanja i obrazovanje u neuroznanosti ( <i>National Institute for Neurological Disorders</i>

*and Stroke - Association Internationale pour la Recherche et l'Enseignement en Neurosciences)*

NMDA	<i>N</i> -metil-D-aspartat
NP	Neuritički plakovi
NPI	Neuropsihijatrijski inventar ( <i>Neuropsychiatry Inventory</i> )
NT	Neuropilne niti ( <i>neuropil threads</i> )
27OHC	27-hidroksikolesterol
PB	Parkinsonova bolest
PBD	Demencija u Parkinsonovoj bolesti
PEN-2	<i>presenilin enhancer-2</i> protein
PET	Pozitronska emisijska tomografija ( <i>positron emission tomography</i> )
PH SCHEFFÉ	<i>Post-hoc</i> Scheffé test
PiB	<i>Pittsburgh Compound-B</i>
PICK	Pickova bolest
PK	Pearsonova korelacija
PNFA	Progresivna netečna afazija ( <i>progressive nonfluent aphasia</i> )
Pov	Povišena amplituda P300
PPA	Primarna progresivna afazija
PrP	Prionski protein
PSD	Demencija nakon moždanog udara ( <i>post-stroke dementia</i> )
PSEN1	presenilin 1
PSEN2	presenilin 2
PSP	Progresivna supranuklearna paraliza
p-tau	Fosforilirani tau protein ( <i>phosphorylated tau</i> )
p-tau <sub>181</sub>	Tau protein fosforiliran na epitopu Thr 181
p-tau <sub>199</sub>	Tau protein fosforiliran na epitopu Ser 199
p-tau <sub>231</sub>	Tau protein fosforiliran na epitopu Thr 231
REM	<i>Rapid eye movement</i>
ROC krivulja	Krivulja osjetljivosti dijagnostičkog testa ( <i>Receiver Operating Characteristic</i> )
rpm	Rotacija u minuti ( <i>rotations per minute</i> )
RV	Reakcijsko vrijeme

S100A	S100 kalcij-vežući protein A7
SD	Semantička demencija
SEP	Osjetni evocirani potencijali ( <i>sensory evoked potentials</i> )
SK	Spearmanova korelacija
Sn	Snižena amplituda P300
SP	Senilni plakovi
SPECT	Jednofotonska emisijska kompjutorizirana tomografija ( <i>single photon emission computerized tomography</i> )
SPNP	Paradigma slijeda prekinutog neuobičajenim podražajem (slušna <i>oddball</i> paradigma)
SSP	Subjektivne smetnje u pamćenju
SSRI	Selektivni inhibitori ponovnog unosa serotonina ( <i>selective serotonin reuptake inhibitors</i> )
ST	Sobna temperatura
st.sl.	Stupnjevi slobode (df, <i>degrees of freedom</i> )
TDP-43	TAR DNA-binding protein 43
TGF- $\beta$	Transformirajući čimbenik rasta $\beta$ ( <i>transforming growth factor <math>\beta</math></i> )
TMB	3,3',5,5-tetrametilbenzidin
TNF	Čimbenik nekroze tumora ( <i>tumor necrosis factor</i> )
TOVA	Test varijabilnosti pozornosti ( <i>Test of Variables of Attention</i> )
TPHA esej	<i>Treponema pallidum</i> hemagglutination assay
TREM2	Receptor pokretanja izražen na mijeloidnim stanicama 2 ( <i>triggering receptor expressed on myeloid cells 2</i> )
TT	Studentov t-test
t-tau	Ukupni tau protein ( <i>total tau</i> )
Ur	Uredna amplituda P300
VaD	Vaskularna demencija
VCI	Vaskularno kognitivno urušavanje ( <i>vascular cognitive impairment</i> )
VDRL test	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i> test
VILIP-1	Vizininu-sličan protein 1 ( <i>visinin-like protein 1</i> )
WAIS	Wechslerov test inteligencije za odrasle osobe ( <i>Wechsler</i>

	<i>Adult Intelligence Scale)</i>
WLRcT	Test prepoznavanja liste riječi ( <i>word list recognition test</i> )
WMS-III	Wechslerova ljestvica za ispitivanje pamćenja ( <i>Wechsler Memory Scale</i> )
YKL-40	Hitinazi-3-slični protein 1 ( <i>chitinase-3-like protein 1</i> )
ZnT	Proteini koji izbacuju cink iz stanice ( <i>Zn<sup>2+</sup> transporter proteins</i> )
ZIP	Proteini koji unose cink u stanicu ( <i>Zrt-Irt like proteins</i> )

## **ŽIVOTOPIS**



## Osobni podatci

Ime i prezime Mirjana Babić Leko  
Titula mag. biol. mol.  
Adresa Šalata 12  
Telefon 385 1 4596 820  
E-adresa mbabic@hiim.hr  
Državljanstvo Hrvatsko  
Datum i mjesto rođenja 23.08.1987. Mostar, Bosna i Hercegovina

## Obrazovanje

2012. - danas Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Poslijediplomski interdisciplinarni sveučilišni studij Molekularne bioznanosti  
2009. – 2011. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Diplomski studij molekularne biologije  
2006. – 2009. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Prediplomski studij molekularne biologije  
2002. - 2006. "Opća gimnazija dr. Mate Ujević, Imotski  
1994. – 2001. Osnovna škola Runović

## Radno iskustvo

2015. - danas Hrvatski institut za istraživanje mozga, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, asistent Zavoda za neuroznanost  
2012. – 2015. Hrvatski institut za istraživanje mozga, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, suradnik na projektu Hrvatske zaklade za znanost

## Sudjelovanje na projektima

2015. – 2018. Hiperfosforilacija, agregacija i transsinaptički prijenos tau proteina u Alzheimerovoj bolesti: analiza cerebrospinalne tekućine i ispitivanje potencijalnih neuroprotektivnih spojeva, HRZZ, voditelj Goran Šimić  
2015. – danas Testiranje prostorne orijentacije za rano otkrivanje Alzheimerove bolesti, HAMAG-BICRO projekt, voditelj Goran Šimić  
2015. Biološki biljezi Alzheimerove bolesti u cerebrospinalnoj tekućini, sveučilišna kratkoročna financijska potpora istraživanju, voditelj Goran Šimić  
2012. – 2014. Otkrivanje i praćenje bioloških biljega radi rane terapijske intervencije u sporadičnoj Alzheimerovoj bolesti, HRZZ, voditelj Goran Šimić

## Nastavna djelatnost

2015. – danas Temelji neuroznanosti, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
2012. – danas Fundamentals of Neuroscience, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
2012. – danas Neurobiologija starenja, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
2012. - danas Učenje i pamćenje, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

## Usavršavanja

2014. Wolfson Centre for Inherited Neuromuscular Disease Oswestry, UK  
2013. Laboratory of Neurogenesis and Neurogenesis, Monserrato (Cagliari), Italija  
2011. Hannover Biomedical Research School, Hannover, Njemačka

## **Nagrade i priznanja**

- 2016. ADRIS stipendija studentima na doktorskom studiju
- 2016. Nagrada za najbolji poster iz područja temeljnih znanosti - Croatian Congress on Alzheimer's Disease CROCAD-16, Tučepi 2016.
- 2015. Potpora Sveučilišta u Zagrebu doktorandima i asistentima u umjetničkom području za 2015. godinu
- 2014. Nagrada za najbolji poster iz područja temeljnih znanosti - Croatian Congress on Alzheimer's Disease CROCAD-14, Brela 2014.
- 2014. Donacija Hrvatske elektroprivrede 2014. godine za projekt "Utjecaj flavonoida epigalokatehin-3-galata na fosforilaciju tau proteina - ispitivanje neuroprotektivnog djelovanja u Alzheimerovoj bolesti"
- 2014. FEBS Short-term fellowship
- 2013. Stipendija COST CM1103 akcije
- 2013. Stipendija vlade Republike Italije

## **Članstva u znanstvenim organizacijama**

Mediterranean Neuroscience Society  
Hrvatsko društvo za biokemiju i molekularnu biologiju  
Hrvatsko društvo za neuroznanost  
International Brain Research Organization  
Federation of European Neuroscience Societies

- Poglavlja u knjizi (2)
- Izvorni znanstveni i pregledni radovi u CC časopisima (5)
- Znanstveni radovi u drugim časopisima (5)
- Ostali radovi u drugim časopisima (1)
- Kongresno priopćenje (sažeci) u CC časopisu (2)
- Kongresno priopćenje (sažeci) u ostalim časopisima (5)
- Znanstveni radovi u zbornicima skupova s međunarodnom recenzijom (1)
- Sažeci u zbornicima skupova (15)
- Neobjavljena sudjelovanja na skupovima (3)
- Diplomski radovi (1)
- Druge vrste radova (1)

### Poglavlja u knjizi

1. **Babić Leko, Mirjana**; Bažadona, Danira; Šimić, Goran. Metode rane dijagnostike Alzheimerove bolesti. Alzheimerova bolest i druge demencije: rano otkrivanje i zaštita zdravlja. Tomek Rokсандić, Spomenka; Mimica, Ninoslav; Kušan Jukić, Marija (ur.). Zagreb: Medicinska naklada, 2017. Str. 56-62.
2. Jazvinščak Jembrek, Maja; **Babić, Mirjana**; Pivac, Nela; Šimić, Goran. Interplay between A $\beta$ , Ceramides and Hyperphosphorylated Tau in Alzheimer's Disease. Sphingomyelin and Ceramides: Occurrence, Biosynthesis and Role in Disease. Watkins, Cecilia L. (ur.). New York: Nova Science Publishers, Inc., 2015. Str. 53-84.

### Izvorni znanstveni i pregledni radovi u CC časopisima

1. Šimić, Goran; **Babić Leko, Mirjana**; Wray, Selina; Harrington, Charles; Delalle, Ivana; Jovanov Milošević, Nataša; Bažadona, Danira; Buée, Luc; de Silva, Rohan; Di Giovanni, Giuseppe; Wischik, Claude; Hof, Patrick R. Monoaminergic Neuropathology in Alzheimer's disease. *Progress in neurobiology*. 151 (2017); 101-138.
2. Fuller, Heidi R.; Slade, Robert; Jovanov Milošević, Nataša; **Babić, Mirjana**; Sedmak, Goran; Šimić, Goran; Fuszard, Matthew A.; Shirran, Sally L.; Botting, Catherine H.; Gates, Monte A. Stathmin is enriched in the developing corticospinal tract. *Molecular and cellular neuroscience*. 69 (2015); 12-21.
3. **Babić, Mirjana**; Švob Štrac, Dubravka; Muck Šeler, Dorotea; Pivac, Nela; Stanić, Gabrijela; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Update on the core and developing cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer disease. *Croatian medical journal*. 55 (2014); 347-365.
4. Šimić, Goran; **Babić, Mirjana**; Borovečki, Fran; Hof, Patrick R. Early failure of the default mode network and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *CNS neuroscience and therapeutics*. 20 (2014); 692-698.
5. **Babić, Mirjana**; Nedić, Gordana; Muck Šeler, Dorotea; Borovečki, Fran; Pivac, Nela. Lack of association between dopamine receptor D4 variable numbers of tandem repeats gene polymorphism and smoking. *Neuroscience letters*. 520 (2012); 67-70.

### Znanstveni radovi u drugim časopisima

1. **Babić Leko, Mirjana**; Borovečki, Fran; Dejanović, Nenad; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Predictive value of cerebrospinal fluid visinin like protein-1 levels for Alzheimer's disease early detection and differential diagnosis in patients with mild cognitive impairment. *Journal of Alzheimer's disease*. 50 (2016); 765-778.

2. Mladinov, Mihovil; Sedmak, Goran; Fuller, Heidi R.; **Babić Leko, Mirjana**; Mayer, Davor; Kirincich, Jason; Štajduhar, Andrija; Borovečki, Fran; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Gene expression profiling of the dorsolateral and medial orbitofrontal cortex in schizophrenia. *Translational neuroscience*. 7 (2016); 139-150.
3. Šimić, Goran; **Babić Leko, Mirjana**; Wray, Selina; Harrington, Charles; Delalle, Ivana; Jovanov Milošević, Nataša; Bažadona, Danira; Buée, Luc; de Silva, Rohan; Di Giovanni, Giuseppe; Wischik, Claude; Hof, Patrick R. Tau Protein Hyperphosphorylation and Aggregation in Alzheimer's Disease and Other Tauopathies, and Possible Neuroprotective Strategies. *Biomolecules*. 6 (2016); 1-28.
4. **Babić, Mirjana**; Vogrinc, Željka; Diana, Andrea; Klepac, Nataša; Borovečki, Fran; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Comparison of two commercial enzyme linked immunosorbent assays for cerebrospinal fluid measurement of amyloid beta1-42 and total tau. *Translational neuroscience*. 4 (2013); 234-240.
5. Jazvinščak Jembrek, Maja; **Babić, Mirjana**; Pivac, Nela; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Hyperphosphorylation of tau by GSK3 $\beta$  in Alzheimer's disease: the interaction of A $\beta$  and sphingolipid mediators as a therapeutic target. *Translational neuroscience*. 4 (2013); 466-476.

#### Ostali radovi u drugim časopisima

1. **Babić, Mirjana**; Šimić, Goran. Proteomska analiza cerebrospinalne tekućine u Alzheimerovoj bolesti. *Medix: specijalizirani medicinski dvomjesečnik*. 101 (2012); 25-29.

#### Kongresno priopćenje (sažeci) u CC časopisu

1. **Babić Leko, Mirjana**; Borovečki, Fran; Jurasović, Jasna; Orct, Tatjana; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Macro and microelements and Alzheimer's disease protein biomarkers in cerebrospinal fluid. *Journal of trace elements in medicine and biology*. Jurasović, Jasna; Aschner, Michael (ur.). Elsevier GmbH, 2015. 77.
2. **Babić Leko, Mirjana**; Borovečki, Fran; Jurasović, Jasna; Orct, Tatjana; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Macro and microelements as biomarkers of mild cognitive impairment. *Journal of trace elements in medicine and biology*. Jurasović, Jasna; Aschner, Michael (ur.). Elsevier GmbH, 2015. 77.

#### Kongresno priopćenje (sažeci) u ostalim časopisima

1. **Babić Leko, Mirjana**; Borovečki, Fran; Dejanović, Nenad; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Value of cerebrospinal fluid visinin like protein-1 (VILIP-1) for prediction of mild cognitive impairment progression to Alzheimer's disease. *Neurologia Croatica*. Šimić, Goran; Mimica, Ninoslav (ur.). Tučepi: Denona d.o.o., 2016. 94-94.
2. **Babić Leko, Mirjana**; Jurasović, Jasna; Nikolac Perković, Matea; Orct, Tatjana; Pivac, Nela; Klepac, Nataša; Borovečki, Fran; Klarica, Marijan; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Relationships of zinc and copper CSF levels and APOE genotype in Alzheimer's disease. *Neurologia Croatica*. Šimić, Goran; Mimica, Ninoslav (ur.). Tučepi: Denona d.o.o., 2016. 87-88.
3. **Babić Leko, Mirjana**; Nikolac Perković, Matea; Klepac, Nataša; Borovečki, Fran; Pivac, Nela; Šimić, Goran. Combination of CSF protein biomarkers and BDNF, IL10, and IL6 genotypes in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurologia Croatica*. Šimić, Goran; Mimica, Ninoslav (ur.). Tučepi: Denona d.o.o., 2016. 95-95.
4. **Babić, Mirjana**; Krbot Skorić, Magdalena; Klepac, Nataša; Palac, Natalia; Langer, Lea; Vogrinc, Željka; Borovečki, Fran; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Combination of event related potentials and cerebrospinal fluid biomarkers in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Neurologia Croatica*. Šimić, Goran; Mimica, Ninoslav (ur.). Zagreb: Denona d.o.o., 2014. 83-84.

5. **Babić, Mirjana**; Kuštek, Ivana; Kidemet Piskač, Spomenka; Dejanović, Nenad; Klepac, Nataša; Gotovac, Kristina; Borovečki, Fran; Šimić, Goran. Proteomic analysis of cerebrospinal fluid in mild cognitive impairment. *Neurologia Croatica 2012; 61 (Suppl. 4): 93-94*. Šimić, Goran; Mimica, Ninoslav (ur.). Denona d.o.o., 2012. 93-94.

#### Znanstveni radovi u zbornicima skupova s međunarodnom recenzijom

1. **Babić, Mirjana**; Švob Štrac, Dubravka; Mück Šeler, Dorotea; Pivac, Nela; Šimić, Goran. Pathogenesis and early diagnosis of Alzheimer's disease: involvement of the monoaminergic system. *Xjenja. Di Giovanni, Giuseppe (ur.). Msida, Malta: Malta Chamber of Scientists, 2014. 78-81*.

#### Sažeci u zbornicima skupova

1. Boban, Mirta; **Babić Leko, Mirjana**; Langer Horvat, Lea; Šimić, Goran. SH-SY5Y neuroblastoma cells treated with phosphatase inhibitor okadaic acid express high molecular weight tau species. *Ist EuroTauMeeting, Lille. 2017*.
2. Kafka, Anja; **Babić Leko, Mirjana**; Njirić, Niko; Logara, Monika; Mrak, Goran; Pećina Šlaus, Nives. A concomitant reciprocal expression of p53 and betacatenin in meningiomas. *EACR Conference: A matter of life or death. 2016*.
3. Šimić, Goran; **Babić Leko, Mirjana**; Bažadona, Danira; Benković, Vesna; Boban, Mirta; Borovečki, Fran; Čirko, Antonela; Đikić, Domagoj; Jazvinščak Jembrek, Maja; Klepac, Nataša; Oršolić, Nada; Petelin Gadže, Željka; Hof, Patrick R. Acetylation of tau protein at Lys274 in argyrophilic grain disease and Alzheimer's disease. *Book of abstracts of the 10th FENS Forum of Neuroscience. 2016*.
4. **Babić Leko, Mirjana**; Borovečki, Fran; Jurasović, Jasna; Orct, Tatjana; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Correlation of macro and microelements and Alzheimer's disease protein biomarkers measured in cerebrospinal fluid. *Book of abstracts of the 5th Croatian Neuroscience Congress. 2015*.
5. **Babić, Mirjana**; Vogrinc, Željka; Dejanović, Nenad; Borovečki, Fran; Šimić, Goran. Phospho tau proteins in cerebrospinal fluid as markers of therapeutic progress in Alzheimer's disease. *GlowBrain Workshop "Visualization of molecular markers in the brain". 2015*.
6. **Babić Leko, Mirjana**; Borovečki, Fran; Jurasović, Jasna; Orct, Tatjana; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Levels of cerebrospinal fluid macro and microelements in mild cognitive impairment patients with and without pathological levels of six Alzheimer's disease protein biomarkers. *Book of abstracts of the 5th Croatian Neuroscience Congress. 2015. 71-72*.
7. **Babić Leko, Mirjana**; Krbot Skorić, Magdalena; Klepac, Nataša; Palac, Natalia; Langer, Lea; Vogrinc, Željka; Borovečki, Fran; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Improved early detection of Alzheimer's disease by combination of eventrelated potentials and cerebrospinal fluid biomarkers. *Book of abstracts of the 5th Croatian Neuroscience Congress. 2015. 70-70*.
8. **Babić, Mirjana**; Jazvinščak Jembrek, Maja; Knezović, Ana; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. The effect of ASS234 on tau phosphorylation in vitro. *Book of abstracts of the 5th Mediterranean Neuroscience Society Meeting. 2015. 365-365*.
9. Fuller, Heidi R.; Slade, Robert; Jovanov Milošević, Nataša; **Babić, Mirjana**; Sedmak, Goran; Šimić, Goran; Fuszard, Matthew A.; Shirran, Sally L.; Botting, Catherine H.; Gates, Monte A. Quantitative proteomics reveals that stathmin a microtubule destabilizing protein – is highly enriched in the developing corticospinal system. *Book of abstracts of the FENS Featured Regional Meeting 2015. 2015. 52-52*.
10. Stručić, Marko; Kirincich, Jason; Mlinac Jerković, Kristina; Ilić, Katarina; Fabris, Dragana; Vukelić, Željka; **Babić Leko, Mirjana**; Šimić, Goran; Kazazić, Saša; Kalanj Bogнар, Svetlana. Gangliosides in

cerebrospinal fluid: tackling the optimal method of extraction, purification and characterization of gangliosides as potential diagnostic biomarkers in neurological disorders. *Book of abstracts of the 5<sup>th</sup> Croatian Neuroscience Congress*. 2015. 61-61.

11. **Babić, Mirjana**; Vogrinc, Željka; Dejanović, Nenad; Borovečki, Fran; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. Improved early diagnosis of Alzheimer's disease by combination of cerebrospinal fluid biomarkers. *9<sup>th</sup> FENS Forum of Neuroscience*. FENS (ur.). Milano : FENS, 2014. 100-100.
12. Šimić, Goran; **Babić, Mirjana**; Bažadona, Danira; Borovečki, Fran; Čerimagić, Denis; Dejanović, Nenad; Hajnšek, Sanja; Henigsberg, Neven; Jazvinščak Jembrek, Maja; Jovanov Milošević, Nataša; Kalanj Bognar, Svjetlana; Kidemet Piskač, Spomenka; Mustapić, Maja; Mimica, Ninoslav; Muck Šeler, Dorotea; Nedić Erjavec, Gordana; Nikolac Perković, Matea; Petrović, Ratimir; Pivac, Nela; Presečki, Paola; Radoš, Milan; Stanić, Gabrijela; Švob Štrac, Dubravka; Vogrinc, Željka; Vukelić, Željka; Hof, Patrick R. Early diagnosis of Alzheimer's disease by combination of cerebrospinal fluid core biomarkers and visinin like protein-1 (VILIP-1). *The 2014 Alzheimer's disease congress*. The 2014 Alzheimer's disease congress (ur.). London: Euroscicon Ltd UK, 2014. 89.
13. **Babić, Mirjana**; Kuštek, Ivana; Klepac, Nataša; Borovečki, Fran; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. CSF tau proteins phosphorylated at threonine 231 as a potential biomarker of early stage Alzheimer's disease. *Alzheimer Association International Conference*. Boston: Alzheimer Association, 2013. 15-15.
14. **Babić, Mirjana**; Kuštek, Ivana; Klepac, Nataša; Borovečki, Fran; Hof, Patrick R.; Šimić, Goran. CSF tau proteins phosphorylated at threonine 231 as a potential biomarker of Early stage Alzheimer's disease. *Book of abstracts of the 4<sup>th</sup> Croatian Neuroscience Congress*. 2013. 54-54.
15. Šimić, Goran; **Babić, Mirjana**; Bažadona, Danira; Borovečki, Fran; Hajnšek, Sanja; Henigsberg, Neven; Jazvinščak Jembrek, Maja; Jovanov Milošević, Nataša; Kalanj Bognar, Svjetlana; Mustapić, Maja; Mimica, Ninoslav; Mueck Šeler, Dorotea; Nedić, Gordana; Nikolac, Matea; Petrović, Ratimir; Pivac, Nela; Presečki, Paola; Radoš, Milan; Stanić, Gabrijela; Švob Štrac, Dubravka; Vukelić, Željka; Hof, Patrick. Croatian project on early detection of Alzheimer's disease: Preliminary findings. *8<sup>th</sup> FENS Forum of Neuroscience; u: FENS Abstract 6 (2012)*. FENS (ur.). Barcelona : FENS, 2012. 31-31.

#### Neobjavljena sudjelovanja na skupovima

1. **Babić Leko, Mirjana**. Inhibition of tau protein hyperphosphorylation as a therapeutic target in Alzheimer's disease. *5<sup>th</sup> Mediterranean Neuroscience Society Meeting*. 2015.
2. **Babić, Mirjana**. Tau proteini u cerebrospinalnoj tekućini kao biološki biljezi Alzheimerove bolesti. *Stručni sastanak Društva za kliničku genetiku Hrvatske*. 2014.
3. **Babić, Mirjana**; Šimić, Goran. Biomarkers of Alzheimer's disease. *COST CM1103 Training School*. 2013.

#### Diplomski radovi

1. **Babić, Mirjana**. Uloga polimorfizma gena DRD4 i aktivnosti enzima MAO u razvoju ovisnosti o nikotinu. Završni rad diplomski/ integralni studij. Zagreb: Prirodoslovno–matematički fakultet, 19.12. 2011., 59 str. Voditelj: Pivac, Nela.

#### Druge vrste radova

1. **Babić, Mirjana**. Projekt EyeWire – pomognite razriješiti misterij ljudskog mozga igranjem računalne igre, 2014. *Mef.hr*.