ROZPRAWA DOKTORSKA

lek. Karoliny Wilczyńskiej

Ocena przydatności oznaczeń markerów amyloidowych, białka tau i YKL-40 we krwi w różnicowaniu i monitorowaniu przebiegu otępień.

Promotor pracy

prof. dr hab. Napoleon Waszkiewicz

Klinika Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Spis treści

1. Wykaz publikacji stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej

Praca doktorska w formie cyklu publikacji została przygotowana w oparciu o:

pracę przeglądową:

Wilczyńska Karolina, Waszkiewicz Napoleon.

Diagnostic utility of selected serum dementia biomarkers: amyloid ß-40, amyloid ß-42, tau protein, and YKL-40: a review.

Journal of Clinical Medicine: 2020: 9, 26 pp, Article ID 3452;

IF 4,242 MNiSW 140,00

oraz pracę oryginalną:

Wilczyńska Karolina, Maciejczyk Mateusz, Zalewska Anna, Waszkiewicz Napoleon.

Serum amyloid biomarkers, tau protein and YKL-40 utility in detection, differential diagnosing, and monitoring of dementia.

Frontiers in Psychiatry: 2021: 12, 11 pp., Article ID: 725511.

IF 4,157 MNiSW 100,00

2. **Zestawienie publikacji doktorantki**

Rodzaj publikacji	**Liczba**	**Impact Factor**	**Punktacja MNiSW**
Prace włączone do rozprawy doktorskiej	2	8,399	240,00
Prace, które nie zostały włączone do rozprawy doktorskiej	35	14,918	609,00
Streszczenia zjazdowe	15	-	-
Razem	**52**	**23,317**	**849,00**

\

3. Wstęp

3.1 Charakterystyka kliniczna otępień

Otępienie jest heterogennym zespołem zaburzeń funkcji poznawczych powodujących postępujące upośledzenie funkcjonowania. Obok dysfunkcji poznawczych obserwuje się także objawy psychopatologiczne, behawioralne i neurologiczne. Otępienie występuje u co piątej kobiety i co dziesiątego mężczyzny i stanowi siódmą najczęstszą przyczynę zgonów.

Czynniki ryzyka to niski poziom wykształcenia, dysfunkcja narządu słuchu, nadciśnienie, cukrzyca, palenie tytoniu, nadużywanie alkoholu, urazy mózgu, otyłość, niewłaściwa dieta, ograniczona aktywność poznawcza, fizyczna i społeczna, czynniki toksyczne (ołów, pestycydy, zanieczyszczenia powietrza) oraz czynniki genetyczne takie jak polimorfizm apolipoproteiny E (ApoE) [1-5].

Najczęstszą przyczyną otępienia jest choroba Alzheimera (AD) stanowiąca 60-80% przypadków. W AD stwierdzane są mikroskopowo złogi amyloidu na zewnątrz oraz splątki białka tau wewnątrz neuronów, a makroskopowo - zanik mózgu, szczególnie płatów skroniowych. Choroba charakteryzuje się stopniową, powolną utratą pamięci autobiograficznej i epizodycznej, anomią, zaburzeniami funkcji wzrokowo-przestrzennych, utratą zdolności uczenia się oraz apatią.
Od rozpoznania do zgonu mija 4-8 lat, natomiast proces chorobowy rozpoczyna się nawet 20 lat wcześniej. U połowy chorych stwierdza się współwystępowanie innych otępień, najczęściej otępienia naczyniowego (VaD) [2, 5].

W VaD występują ogniska niedokrwienia i atrofii mózgu, zmiany miażdżycowe naczyń oraz cechy gliozy w istocie białej. „Czyste” VaD występuje u około 5-10% chorych z demencją. Zmiany naczyniowe częściej występują jako element otępienia mieszanego i są obecne u około 40% chorych z otępieniem. Częstość występowania VaD rośnie z wiekiem i jest najwyższa wśród osób obciążonych czynnikami ryzyka naczyniowego, a początek zaburzeń jest często związany z incydentem naczyniowo-mózgowym. Przebieg choroby jest skokowy. Objawy są zależne od lokalizacji uszkodzeń i obejmują najczęściej zaburzenia uwagi, przetwarzania informacji, funkcji wykonawczych oraz objawy neurologiczne [2, 5, 6, 7].

Otępienie mieszane (MxD) występuje u około połowy chorych z demencją, szczególnie po 85. roku życia [5]. Etiologię stanowi najczęściej AD i VaD. W pierwotnym VaD niedokrwienie prowadzi do przeciekania bariery krew-mózg (BBB), dysfunkcji śródbłonka, niedotlenienia i nasilenia stresu oksydacyjnego, co pobudza produkcję amyloidu beta (Aβ) i białka tau. Z kolei w pierwotnym AD odkładający się w ścianach naczyń Aβ powoduje angiopatię amyloidową (CAA) – zwężenie światła naczynia i dysfunkcję śródbłonka [8].

Do rzadziej występujących otępień należą:

- otępienie z ciałami Lewy'ego (LBD) wywołane obecnością złogów α-synukleiny w korze mózgu. Charakterystyczne są omamy wzrokowe, zaburzenia funkcji wzrokowo-przestrzennych oraz parkinsonizm przy początkowo względnie sprawnej pamięci. Przebieg jest powolny, falujący.

- otępienia czołowo-skroniowe (FTD), najczęstsze przed 60. rokiem życia, wywołane przez wtręty fosforylowanego białka tau, TDP-43 i białka FUS, powodujące zanik kory czołowej i/lub skroniowej. Objawy to zmiany zachowania oraz afazja z późniejszą utratą pamięci. Przebieg zazwyczaj jest stopniowy, powolny. [2, 5].

- otępienie w chorobie Parkinsona (PDD) związane z odkładaniem się złogów α -synukleiny w istocie czarnej, a następnie także w korze, z objawami jak w LBD.

Otępienie bywa wywołane również przez odwracalne przyczyny takie jak depresja, niedoczynność tarczycy, niedobory witamin i nadużywanie alkoholu [5].

Przebieg otępień ma zwykle charakter przewlekły i postępujący, a rodzaj i nasilenie objawów różni się w zależności od zaawansowania procesu chorobowego. W przebiegu AD wyróżnia się następujące stadia:

- faza przedkliniczna, w której można stwierdzić obecność biomarkerów otępienia bez objawów klinicznych choroby.

- łagodne zaburzenia poznawcze (MCI) zauważalne dla chorego i rodziny, ale nie dla dalszego otoczenia, nie zaburzające aktywności dnia codziennego.

- otępienie łagodne, w którym zachowana jest możliwość względnie niezależnego funkcjonowania przy zapewnieniu pomocy innych osób.

- otępienie umiarkowane, stanowiące często najdłuższą fazę choroby, charakteryzujące się zaburzeniami komunikacji i wykonywania rutynowych czynności, zmianami zachowania, podejrzliwością i pobudzeniem.

- chorzy z **otępieniem ciężkim** wymagają stałej całodobowej opieki, tracą zdolność poruszania się, pobierania płynów i pokarmów [5].

Rozpoznanie prawdopodobnego otępienia ustala się na podstawie wywiadu, badania neuropsychologicznego, badań laboratoryjnych i neuroobrazowych. W przypadkach wątpliwych może być wskazane wykonanie badania pozytronowej tomografii emisyjnej (PET) lub badania płynu mózgowo-rdzeniowego [2].

3.2 Rola amyloidu beta w otępieniach

Amyloid to włókienkowe złogi białka barwiące się czerwienią Kongo i dające żółto-zieloną dwójłomność. Znanych jest 36 białek amyloidowych powodujących choroby różnych układów i narządów nazywane amyloidozami [9, 10].

Aβ powstaje w wyniku modyfikacji białka prekursorowego amyloidu (APP) przez sekretazy. C-koniec jest odcinany zawsze przez γ-sekretazę. Przecięcie N-końca przy udziale α-sekretazy powoduje powstawanie rozpuszczalnego białka prekursorowego (sAPPα), natomiast pod wpływem β-sekretazy powstaje nierozpuszczalny Aβ. γ-sekretaza składa się z czterech białek: preseniliny przecinającej łańcuch APP oraz trzech innych białek regulujących jej aktywność.

Oligomery Aβ zawierają 37-49 reszt aminokwasowych. Najważniejsze z nich to hydrofilny Aβ1-40 oraz mniej rozpuszczalny Aβ1-42 [11, 12]. Iloczyn Aβ1-42/Aβ1-40 może służyć jako wskaźnik nasilenia amyloidopatii [13].

Aβ jest wydzielany do przestrzeni zewnątrzkomórkowej lub pozostaje związany z błoną komórkową. Po związaniu Aβ z ApoE może dochodzić do jego endocytozy, co powoduje uszkodzenie i śmierć komórki. Rozpuszczalne formy Aβ mogą też indukować zaburzenia metabolizmu glukozy, funkcji mitochondriów i nasilać stres oksydacyjny [11, 12]. Oligopeptydy Aβ mogą osadzać się w postaci nierozpuszczalnych agregatów, być aktywnie transportowane poza BBB lub ulegać degradacji proteolitycznej. Agregacja Aβ zaburza funkcjonowanie synaps i mitochondriów, uruchamia odpowiedź zapalną, nasila fosforylację białka tau oraz generuje reaktywne formy tlenu, wskutek czego dochodzi do utleniania lipidów i powstawania związków toksycznych takich jak 4-hydroksynonenal (HNE) [11]. HNE promuje syntezę Aβ zmniejszając aktywność katalityczną neprylizyny oraz zwiększając aktywność γ-sekretazy [14].

W AD o wczesnym początku występują mutacje genów APP i preseniliny powodujące zwiększenie proporcji Aβ1-42 do Aβ1-40, zaś w późnych postaciach główną rolę odgrywają czynniki prozapalne oraz czynniki wpływające na wzrost produkcji i agregacji oraz hamowanie eliminacji i rozkładu Aβ [11, 15].

Amyloidopatię stwierdzano badaniem PET również w LBD, FTD i VaD [16-20]. W VaD odkładanie się Aβ w naczyniach powoduje krwawienie i stan zapalny. W CAA przeważają zmiany w ścianach naczyń krwionośnych, w przeciwieństwie do AD, gdzie złogi Aβ lokują się głównie międzykomórkowo [21, 22].

Nadprodukcja lub upośledzona eliminacja Aβ może występować także w nowotworach, szczególnie wątroby, niewydolności nerek i wątroby, chorobie Parkinsona, otyłości i insulinooporności, zespole Downa, hipoksji i zaburzeniach psychicznych (schizofrenii, depresji i chorobie afektywnej dwubiegunowej) [23-30]. Stanowi to poważne ograniczenie przydatności Aβ jako biomarkera szczególnie u osób starszych i schorowanych [31].

3.3 Białko tau w otępieniach

Białko tau, nazywane też białkiem związanym z mikrotubulami (MAPT) ulega alternatywnemu składaniu tworząc 6 izoform: 3R0N, 3R1N, 3R2N, 4R0N, 4R1N, 4R2N. Stosunek izoform 3R do 4R u osób zdrowych wynosi 1:1, a jego zaburzenie występuje w stanach chorobowych – tauopatiach [32].

Mikrotubule tworzą szkielet komórek nerwowych oraz transportują organelle i cząsteczki sygnałowe wzdłuż aksonu. Białko tau bierze udział m. in. w stabilizacji mikrotubul, plastyczności synaptycznej, regulacji cyklu komórkowego oraz wpływa na przekaźnictwo glutaminergiczne [33-35].

Funkcje białka tau są regulowane przez modyfikacje potranslacyjne, z których najistotniejszą jest fosforylacja, zachodząca w odpowiedzi na stresory takie jak zaburzenia gospodarki insulinowej, głód, hipotermia, glikokortykoidy, czy alkohol [32, 33]. Nadmierna fosforylacja (hiperfosforylacja) powoduje zmianę konformacji i ładunku białka, co umożliwia jego agregację i oligomeryzację [32].

Zmiany wywoływane przez hiperfosforylowane białko tau (p-tau) wynikają z:

1. utraty jego właściwości fizjologicznych: zaburzenie funkcji cytoszkieletu, podatność na stres oksydacyjny, zaburzenia struktury i funkcji mitochondriów;

2. działania toksycznego nieprawidłowego białka: aktywacja procesów zapalnych, zaburzenie przekaźnictwa poprzez gromadzenie się p-tau w kolcach postsynaptycznych, zaburzenia degradacji białek i autofagii [33, 36].

Agregacja białka tau powoduje choroby neurozwyrodnieniowe zwane tauopatiami, może też występować w starzeniu bez otępienia [34, 35]. Do tauopatii pierwotnych należą między innymi podtypy FTD oraz atypowe zespoły parkinsonowskie. Ze względu na złożoną, zależną również od Aβ etiopatogenezę AD zalicza się do tauopatii wtórnych. W AD Aβ aktywuje kinazy oraz pośredniczy w wywołaniu stresu oksydacyjnego promując w ten sposób hiperfosforylację i agregację tau. Inne tauopatie wtórne to m. in. zespół Downa, choroby prionowe, encefalopatia pourazowa i stwardnienie zanikowe boczne [20, 33, 37].

Uważa się, że stężenie białka tau w CSF odzwierciedla stopień uszkodzenia neuronów [38]. Białko tau przenika przez BBB i ziarnistości opony pajęczej, dzięki czemu może być też wykrywane we krwi obwodowej [39]. Stężenia całkowitego białka tau (t-tau) w osoczu korelują z jego zawartością w tkance mózgowej ocenianą badaniem PET [40, 41].

3.4 YKL-40 jako marker zapalny otępienia

Neurozapalenie stanowi trzeci kluczowy element patofizjologii AD. Rozwój stanu zapalnego przypisuje się aktywności mikrogleju i uwalnianiu cytokin w odpowiedzi na utratę neuronów w przebiegu choroby. Odpowiedź zapalna promuje dalszą syntezę APP i fosforylację białka tau [42].

YKL-40 należy do rodziny hydrolaz glikozydowych. Jest nazywane również białkiem 1 podobnym do chitynazy 3 (CHI3L1), ludzką glikoproteiną chrząstkową 39 (HC-gp39) lub białkiem regresji gruczołu sutkowego (BRP-39).

Białko to jest wytwarzane przez różne komórki tkanki łącznej, komórki nowotworowe, śródbłonek i mięśnie gładkich ścian naczyń, a jego produkcję regulują cytokiny, czynniki wzrostu i stres. YKL-40 bierze udział w odpowiedzi immunologicznej oraz procesach zapalnych. Stymuluje wzrost i proliferację komórek, bierze udział w procesach naprawy tkanek, hamuje apoptozę, aktywuje układ odpornościowy, reguluje syntezę i degradację składników macierzy zewnątrzkomórkowej [43].

Do dowodów na związek YKL-40 z AD należy występowanie obszarów zwiększonej jego ekspresji wokół blaszek amyloidowych oraz w naczyniach krwionośnych z cechami CAA [44], zależność między genotypem APOE4 a stężeniem YKL-40 w CSF [45] oraz zmniejszenie ekspresji APP i poprawę funkcji poznawczych gryzoni po podaniu substancji hamującej aktywność YKL-40 [46].

Nadekspresja YKL-40 występuje w chorobach zapalnych, nowotworach, [43], po udarach niedokrwiennych mózgu [47], w tauopatiach [48, 49], chorobach neurozwyrodnieniowych [50] i niektórych zaburzeniach psychicznych [51, 52]. Obniżone stężenie YKL-40 w CSF obserwowano w zaburzeniu afektywnym dwubiegunowym przed wystąpieniem epizodu manii lub hipomanii [53].

3.5 Biomarkery otępienia

Biomarker to zdefiniowana cecha (molekularna, histologiczna, radiologiczna, fizjologiczna) mierzona jako wskaźnik normalnych procesów biologicznych, procesów patologicznych lub odpowiedzi na ekspozycję bądź interwencję. Biomarkery mogą być stosowane do oceny ryzyka zachorowania, diagnostyki, monitorowania, prognozowania przebiegu choroby oraz oceny bezpieczeństwa i skuteczności terapii [54]. Umożliwiają optymalizację diagnostyki i leczenia, ułatwiają prowadzenie badań klinicznych i poznawczych [49].

Marker diagnostyczny powinien charakteryzować się przynajmniej umiarkowaną czułością i wysoką specyficznością (>85%), łatwością pozyskania materiału, prostym sposobem oznaczenia, powtarzalnością oraz niską ceną. Powinien również posiadać zdolność wczesnego wykrywania i różnicowania choroby, być powiązany z podstawową patofizjologią schorzenia i odpowiednio zwalidowany. Jego stężenie nie powinno ulegać zmianom pod wpływem objawowo stosowanego leczenia [17, 55].

Aktualnie uznane za diagnostyczne biomarkery AD przedstawiono w Tabeli 1 [56]. Do markerów kandydujących należą m. in. neurogranina i YKL-40 w CSF oraz peptydy Aβ i p-tau w surowicy [57].

Do biomarkerów VaD zalicza się p-tau, Aβ, metaloproteazy macierzy, sulfatydy, albuminę i białko C-reaktywne (CRP) w CSF i surowicy. Są to markery czułe, jednak mało specyficzne [58].

	Markery amyloidowe	Markery tau	Markery zapalenia
CSF	↓Aβ1-42 ↓Aβ1-42/Aβ1-40	↑t-tau ↑p-tau	↑NFL
surowica	kontrowersyjne	↑t-tau	↑NFL
neuroobrazowanie	Amyloid PET (Pittsburgh Compound B, 18F-florbetapir)	Tau PET (18F-flortaucipir, 18F-RO-948)	FDG-PET (hipometabolizm) MRI (atrofia)

Tabela 1. Biomarkery AD. NFL – łańcuchy lekkie neurofilamentów; MRI – rezonans magnetyczny; FDG-PET – badanie PET ze znakowaniem fluorodeoksyglukozą [56].

4. Cele pracy

Otępienie stanowi aktualnie jeden z najważniejszych problemów zdrowia publicznego na świecie. W większości przypadków otępienie jest chorobą przewlekłą, postępującą i nieuleczalną, a konieczność opieki nad chorymi generuje olbrzymie koszty społeczne i ekonomiczne. Ze względu na ograniczoną dostępność opieki specjalistycznej oraz niedostateczne możliwości diagnostyczne w warunkach podstawowej opieki zdrowotnej wielu chorych pozostaje nie zdiagnozowanych i nie leczonych aż do późnych stadiów choroby.

Celem przeprowadzonych badań była ocena przydatności oznaczeń w surowicy stężeń wybranych białek związanych z patogenezą otępień jako prostych, niedrogich badań przesiewowych, które mogłyby być zlecane przez lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej pacjentom z grup ryzyka, w celu identyfikowania osób wymagających dalszej specjalistycznej diagnostyki.

W przeprowadzonym badaniu oznaczono stężenia potencjalnych biomarkerów w surowicy chorych z najczęściej występującymi otępieniami – AD, VaD i MxD oraz zdrowych osób po 60. roku życia.

Cele szczegółowe pracy obejmowały:

1. Ocenę przydatności Aβ1-40, Aβ1-42, t-tau i YKL-40 w diagnostyce występowania otępienia.

2. Ocenę przydatności Aβ1-40, Aβ1-42, t-tau i YKL-40 w różnicowaniu otępienia alzheimerowskiego, naczyniopochodnego i mieszanego.

3. Ocenę korelacji stężeń Aβ1-40, Aβ1-42, t-tau i YKL-40 ze stopniem zaawansowania otępienia.

4. Ocenę zmian stężeń Aβ1-40, Aβ1-42, t-tau i YKL-40 po czterech tygodniach hospitalizacji.

5. Materiał i metody

5.1 Uczestnicy

Badaniem objęto 60 spośród wstępnie zakwalifikowanych 100 pacjentów z otępieniem (20 z AD, 20 z VaD, 20 z MxD) oraz 20 zdrowych ochotników powyżej 60 roku życia. Uczestnicy lub opiekunowie wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu. Badanie przeprowadzono zgodnie z zasadami Deklaracji Helsińskiej. Protokół badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną przy Uniwersytecie Medycznym w Białymstoku (R-I-002/62/2016).

Grupy badane

Do badania wstępnie zakwalifikowano 100 pacjentów Oddziału Psychogeriatrii Samodzielnego Publicznego Psychiatrycznego Zakładu Opieki Zdrowotnej w Choroszczy. Badani byli hospitalizowani z przyczyn psychiatrycznych. Przyczyną hospitalizacji pacjentów z umiarkowanym i ciężkim otępieniem były zwykle zaburzenia zachowania w przebiegu choroby podstawowej, natomiast pacjenci z otępieniem lekkim byli hospitalizowani w celu przeprowadzenia diagnostyki różnicowej lub z powodu łagodnych, innych niż otępienie zaburzeń psychicznych, na przykład zaburzeń lękowych.

Pacjenci byli przy przyjęciu badani Krótką Skalą Oceny Stanu Psychicznego (MMSE), według podręcznika PAR MMSE Clinical Guide Reorder #RO-4922. Wstępnie zakwalifikowano 100 badanych z wynikiem poniżej 23 punktów w skali MMSE i bez towarzyszących chorób zapalnych, nowotworowych i autoimmunologicznych w wywiadzie.

W kolejnym etapie u wszystkich pacjentów wykonano panel badań dodatkowych służący do wykluczenia innych przyczyn otępienia oraz współwystępowania chorób przyjętych za kryteria wyłączenia z badania, tj. przewlekłych chorób zapalnych, autoimmunologicznych i nowotworowych. Panel badań obejmował tomografię komputerową głowy, morfologię krwi obwodowej, stężenie elektrolitów – sodu, potasu i chlorków, poziom wapnia całkowitego w surowicy, stężenie mocznika i kreatyniny, aktywność transaminaz wątrobowych, stężenie białka C-reaktywnego (CRP), stężenie hormonu

tyreotropowego, stężenie kwasu foliowego i witaminy B12 oraz ocenę Geriatryczną Skalą Depresji (GDS).

W trakcie diagnostyki różnicowej wykonano również badania neuropsychologiczne przy zastosowaniu zestawu testów dobieranego przez psychologa indywidualnie, w zależności od możliwości poznawczych badanego. Stosowano między innymi: ACE-R, badanie fluencji słownej, test do badania funkcji czołowych Frontal Assessment Battery, test Stroopa, test figury złożonej Rey'a, test 15 słów Rey'a, test łączenia punktów, montrealski test funkcji poznawczych (MoCA), zeszyty Łuckiego. Rozpoznanie ustalono zgodnie z kryteriami ICD-10 przedstawionymi w Tabeli 2.

Do badania zakwalifikowano 20 osób z AD, 20 z VaD i 20 z MxD. Spośród przebadanych wstępnie 100 pacjentów wybrano chorych bez współistniejących chorób autoimmunologicznych, zapalnych i nowotworowych, z prawidłowymi wynikami badań laboratoryjnych i jak najmniej obciążonych somatycznie. Do grupy z AD zakwalifikowano wyłącznie pacjentów bez zmian patologicznych w badaniu TK głowy, za wyjątkiem zmian zanikowych kory mózgu.

Po czterech tygodniach hospitalizacji ponownie pobrano krew do oznaczeń biomarkerów oraz oceniono funkcjonowanie poznawcze przy zastosowaniu skali MMSE. W celu wykluczenia wpływu wieku i wykształcenia wyliczono skorygowaną wartość MMSE według wzoru: **skorygowany MMSE = surowy MMSE – (0.471 × [lata nauki-12]) + (0.131 × [wiek-70])** [59].

W celu oceny związku nasilenia otępienia ze stężeniami biomarkerów dokonano podziału badanych na dwie grupy: chorych z otępieniem łagodnym (MD) i umiarkowanym do ciężkiego (MSD). Za punkt odcięcia przyjęto skorygowany wynik badania skalą MMSE równy 20 punktów. W grupie z otępieniem łagodnym znalazło się 17 pacjentów (4 z AD, 7 VaD, 6 z MxD), zaś w grupie ciężej chorych – 43 osoby, w tym 16 z AD, 13 z VaD i 14 z MxD.

Grupa kontrolna

Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 20 słuchaczy Uniwersytetu Zdrowego Seniora bez otępienia (wynik MMSE powyżej 27 pkt.) i bez towarzyszących chorób zapalnych, nowotworowych i autoimmunologicznych w wywiadzie. U osób z grupy kontrolnej pobrano krew do oznaczeń, wykonano identyczny

jak w grupie badanej panel badań laboratoryjnych oraz wykluczono obecność depresji skalą GDS.

<table>
<tr><th colspan="3">Otępienie</th></tr>
<tr><td colspan="3">G1. Stwierdzenie wszystkich następujących:
(1) Osłabienie pamięci najwyraźniejsze w zakresie uczenia się nowych informacji, chociaż w cięższych przypadkach odtwarzanie wcześniej nabytych wiadomości może być również zaburzone. Uszkodzenie przejawia się w odniesieniu do materiału zarówno słownego, jak i bezsłownego. Spadek należy potwierdzić obiektywnie, uzyskując rzetelny wywiad od otoczenia i uzupełniając go, jeśli można, testami neuropsychologicznymi i ilościowymi metodami oceny procesów poznawczych.
(2) Spadek innych zdolności poznawczych cechujący się pogorszeniem sądzenia i myślenia, w zakresie planowania i organizowania oraz ogólnego przetwarzania informacji. Najlepiej byłoby uzyskać potwierdzenie tego stanu rzeczy od osób z otoczenia i uzupełnić, jeśli to możliwe, za pomocą testów neuropsychologicznych lub obiektywnych metod ilościowych. Należy stwierdzić pogorszenie w stosunku do wcześniejszego wyższego poziomu funkcjonowania.
G2. Zachowana świadomość otoczenia (tj. brak przymglenia świadomości) przez czas wystarczająco długi dla jednoczesnego ujawnienia objawów kryterium G1. W przypadku nawarstwienia się epizodów zaburzeń świadomości (delirium) rozpoznanie należy odroczyć.
G3. Spadek emocjonalnej kontroli nad motywacją albo zmiana zachowań społecznych przejawiająca się co najmniej jednym z następujących:
(1) chwiejność emocjonalna,
(2) drażliwość,
(3) apatia,
(4) prymitywizacja zachowań społecznych.
G4. Wiarygodne rozpoznanie kliniczne wymaga występowania objawów kryterium G1 przez co najmniej 6 miesięcy. Jeżeli okres od ich ujawnienia się jest krótszy, rozpoznanie może być tylko przypuszczalne.</td></tr>
<tr><th>AD (F00)</th><th>VaD (F01)</th><th>MxD (F00.2)</th></tr>
<tr><td>A. Spełnione kryteria otępienia (G1-G4)
B. W wywiadzie, badaniu stanu somatycznego i badaniach dodatkowych brak potwierdzenia wszelkich innych przyczyn otępienia (np. choroby naczyniowej mózgu, nabytego upośledzenia odporności, choroby Parkinsona, choroby Huntingtona, wodogłowia normotensyjnego), choroby ogólnoustrojowej (np. niedoczynności tarczycy, niedoboru witaminy B12 lub kwasu foliowego, hiperkalcemii), albo nadużywania alkoholu czy substancji psychoaktywnych.</td><td>G1. Spełnione ogólne kryteria otępienia (G1-G4).
G2. Nierównomierne deficyty wyższych czynności korowych, z wyraźnym zajęciem pewnych funkcji i względnym zaoszczędzeniem innych. Przykładowo, pamięć może być zaburzona całkiem wyraźnie, podczas gdy myślenie, rozumowanie czy przetwarzanie informacji może wykazywać jedynie łagodny spadek.
G3. Przesłanki kliniczne organicznego uszkodzenia mózgu, przejawiające się co najmniej jednym z następujących:
(1) jednostronny niedowład spastyczny kończyn,
(2) jednostronne wzmożenie odruchów ścięgnistych,
(3) dodatni odruch podeszwowy,
(4) porażenie rzekomoopuszkowe.
G4. Wywiad, badanie lub testy potwierdzają wyraźnie chorobę naczyniową mózgu, którą można zasadnie uważać za powiązaną z otępieniem (np. udar w wywiadzie, stwierdzenie zawału mózgu).</td><td>1. Spełnione kryteria otępienia w chorobie Alzheimera (F00), wiek wystąpienia – 65 rok życia lub później.
2. Dodatkowo, spełniony co najmniej jeden z wymogów:
(a) potwierdzenie bardzo powolnego, stopniowego początku i progresji (szybkość tej ostatniej można ocenić tylko retrospektywnie, po przebiegu obejmującym okres 3 lat lub dłuższy),
(b) zaburzenia pamięci G1(1) dominują nad ogólnym uszkodzeniem intelektu G2(2) – patrz ogólne kryteria dla otępienia.</td></tr>
</table>

Tabela 2. Kryteria ICD-10 rozpoznawania otępienia [60].

5.2 Oznaczenia laboratoryjne

Stężenia badanych biomarkerów oznaczano we krwi żylnej pobranej z żyły łokciowej, odwirowanej i zamrożonej w temperaturze -80 stopni Celsjusza. W grupach badanych stężenia biomarkerów oznaczano w dwóch próbkach pobieranych w odstępie 4 tygodni, a w grupie kontrolnej w pojedynczych próbkach.

Stężenie YKL-40, t-tau, Aβ1-42 i Aβ1-40 oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA z zastosowaniem gotowych zestawów laboratoryjnych USCN Life Science (Wuhan, Chiny), użytych zgodnie z zaleceniami producenta. Absorbancję mierzono czytnikiem mikropłytek Infinite M200 PRO Multimode Microplate Reader (Tecan). Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w podwójnych próbach.

5.3 Analiza statystyczna

Analizy statystycznej dokonano przy użyciu programu GraphPad Prism 7.0 for MacOS (GraphPad Software, La Jolla, USA).

Normalność rozkładu oceniano testem D`Agostino-Pearsona i Shapiro-Wilka. Jednorodność wariancji badano testem Levene'a. Do porównań między grupami użyto ANOVA i testu Tukey'a, a w przypadku braku rozkładu normalnego - testu Kruskala-Wallisa i testu ANOVA Dunna. Korelacje między stężeniami biomarkerów oceniano przy zastosowaniu współczynnika korelacji Pearsona.

Użyteczność diagnostyczną badanych markerów oceniono z zastosowaniem krzywej ROC. Przedziały ufności dla czułości i specyficzności obliczono metodą Wilsona/Browna.

Analizę wpływu wielu zmiennych niezależnych (wieku, płci, punktacji w skali MMSE) na zmienną zależną przeprowadzono za pomocą regresji liniowej. Płeć, wiek i punktację w skali MMSE potraktowano jako zmienne niezależne.

Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p \leq 0,05$.

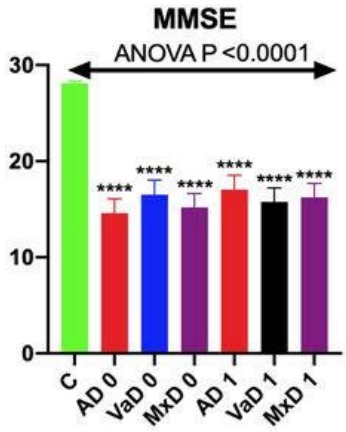
6. Wyniki

6.1 Analiza demograficzna

Analiza wariancji nie wykazała istotnych statystycznie różnic wieku i poziomu wykształcenia pomiędzy grupami. Badaniem objęto 60 kobiet i 20 mężczyzn (w tym 6 mężczyzn z AD, 4 z VaD, 5 z MxD i 5 z grupy kontrolnej).

Wyniki badań dodatkowych u wszystkich osób z grup badanych i grupy kontrolnej mieściły się w granicach normy lub wykazywały minimalne, nieistotne klinicznie odchylenia. Wszyscy pacjenci z grup badanych mieli wykonaną tomografię komputerową głowy. U żadnego z badanych nie uwidoczniono zmian mogących sugerować wtórną etiologię otępienia, takich jak ostre zmiany niedokrwienne lub krwotoczne czy guzy. Do grupy AD kwalifikowano wyłącznie chorych bez uwidocznionych badaniem obrazowym zmian naczyniopochodnych mózgu. W skali GDS badani uzyskali wyniki poniżej 6 punktów, co pozwoliło wykluczyć występowanie depresji.

Wyniki badania skalą MMSE były porównywalne we wszystkich grupach z otępieniem i statystycznie istotnie różniły się od wyników w grupie kontrolnej, co ilustruje Rycina 1. W grupach badanych ocenę skalą MMSE przeprowadzano dwukrotnie. Wyniki na początku hospitalizacji i po 4 tygodniach jej trwania nie różniły się istotnie statystycznie.



Ryc. 1. Punktacja w skali MMSE przy przyjęciu (0) i po 4 tygodniach hospitalizacji (1). **** p vs. C <0,0001.

6.2 Analiza korelacji stężeń biomarkerów z parametrami laboratoryjnymi i punktacją w skali MMSE

Stężenie YKL-40 korelowało ze stężeniami t-tau, Aβ1-42/Aβ1-40, nasileniem otępienia mierzonym skalą MMSE oraz stężeniem CRP.

Stężenie t-tau korelowało ze stężeniem YKL-40 i punktacją w MMSE.

Zaobserwowano również odwrotną korelację pomiędzy stężeniem CRP a punktacją w skali MMSE. Najważniejsze korelacje przedstawiono w Tabeli 3.

Badane parametry	R	95% CI	P value
YKL-40 1 & t-tau 1	0.36	0.1163 do 0.5622	0.005
YKL-40 0 & Aβ1-42/Aβ1-40 0	0.288	0.03707 do 0.5052	0.026
YKL-40 0 & MMSE 0	-0.614	-0.7507 do -0.4263	<0.0001
YKL-40 1 & MMSE 1	-0.563	-0.7145 do -0.3601	<0.0001
YKL-40 1 & CRP	0.29	-0.2512 do 0.2566	0.025
t-tau 0 & MMSE 0	-0.287	-0.5041 do -0.03550	0.026
t-tau 1 & MMSE 1	-0.287	-0.5041 do -0.03551	0.026
MMSE 0 & CRP	-0.407	-0.5992 do -0.1710	0.001

Tabela 3. Istotne statystycznie korelacje między biomarkerami, MMSE i parametrami zapalnymi. R – współczynnik korelacji; CI – przedział ufności; Neu - neutrofile; YKL-40 0 - YKL-40 przy przyjęciu; YKL-40 1 - stężenie YKL-40 po 4 tygodniach itd.

6.3 Stężenia biomarkerów w poszczególnych rodzajach otępienia

Stężenia biomarkerów w poszczególnych grupach przedstawia zamieszczona na kolejnej stronie Rycina 2. Stężenia YKL-40 u pacjentów ze wszystkimi podtypami otępienia, były istotnie statystycznie wyższe niż w grupie kontrolnej. Stężenia t-tau były wyższe w AD i MxD, a Aβ1-40 i Aβ1-42 - w AD i VaD. Wartość ilorazu Aβ1-42/Aβ1-40 nie różniła się istotnie pomiędzy grupami.

Analiza ROC wskazuje na wysoką czułość i swoistość YKL-40 w różnicowaniu między otępieniem a kontrolą. Najważniejsze spośród uzyskanych parametrów ROC przedstawiono w Tabeli 4. YKL-40 jest najbardziej diagnostyczny dla AD i VaD, nieco mniej dla MxD.

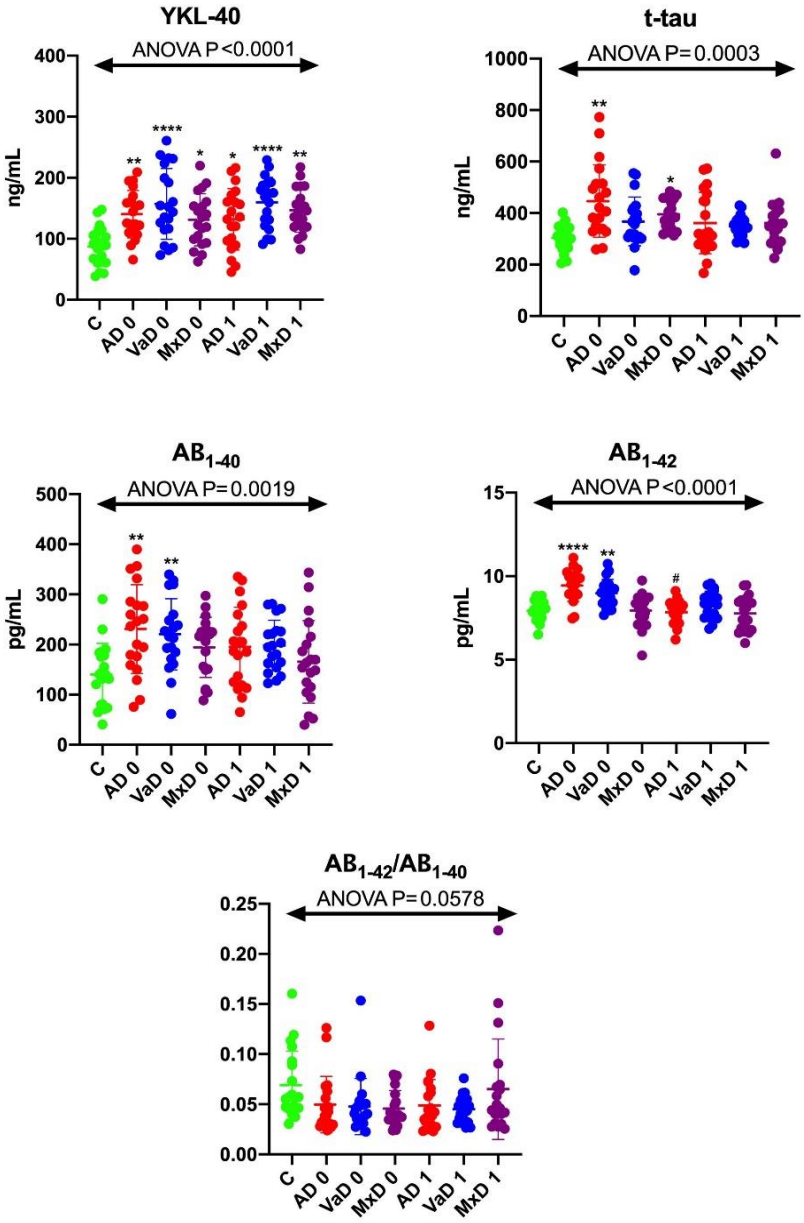
Białko tau wykrywało występowanie AD i MxD z czułością 75% i specyficznością 70%. T-tau okazało się nieprzydatne w diagnostyce VaD.

Analiza ROC nie potwierdziła przydatności diagnostycznej Aβ1-40 i Aβ1-42.

Uzyskane wyniki nie wskazują, by którykolwiek z biomarkerów mógł być przydatny w różnicowaniu między AD, VaD i MxD. W analizie ROC dla porównań między grupami z otępieniem uzyskiwano czułość i specyficzność rzędu 50-65%.

	AUC	P value	Punkt odcięcia	Czułość	Specyficzność
			t-tau		
C vs AD 0	0.845	0.0002	>338.4	75	70
C vs VaD 0	0.7175	0.0186	>318.3	60	55
C vs MxD 0	0.8825	<0.0001	>341.4	75	70
			YKL-40		
C vs AD 0	0.8625	<0.0001	>106.3	85	75
C vs VaD 0	0.8525	0.0001	>113.0	80	80
C vs MxD 0	0.7975	0.0013	>103.9	70	70

Tabela 4. Analiza ROC przydatności diagnostycznej biomarkerów w poszczególnych rodzajach otępienia.



Ryc. 2. Stężenia biomarkerów u pacjentów z otępieniem i w grupie kontrolnej przy przyjęciu i po 4 tygodniach hospitalizacji. Wyniki przedstawiono jako średnią, odchylenie standardowe (SD) oraz wartości w poszczególnych próbach. C – grupa kontrolna (n = 20); AD 0 – pacjenci z chorobą Alzheimera, próbki pobrane przy przyjęciu (n = 20); VaD 0- pacjenci z otępieniem naczyniowym, próbki pobrane przy przyjęciu (n = 20); MxD - pacjenci z otępieniem mieszanym, próbki pobrane przy przyjęciu (n = 20); AD 1 - pacjenci z chorobą Alzheimera, próbki pobrane po 4 tygodniach (n = 20); VaD 1 - pacjenci z otępieniem naczyniowym, próbki pobrane po 4 tygodniach (n = 20); MxD 1 - pacjenci z otępieniem mieszanym, próbki pobrane po 4 tygodniach (n = 20). *p < 0.05 vs. C, **p < 0.005 vs. C, ****p < 0.0001 vs. C, #p < 0.05 vs. AD 0.

6.4 Ocena zmian stężeń biomarkerów w czasie

Stężenia biomarkerów na początku hospitalizacji i po 4 tygodniach jej trwania przedstawiono na Ryc. 2. Jedynie stężenia Aβ1-42 u chorych z AD istotnie statystycznie zmniejszyły się po 4 tygodniach hospitalizacji.

6.5 Analiza przydatności biomarkerów w ocenie progresji otępienia

YKL-40 okazał się czułym i specyficznym markerem rozróżniającym zdrową grupę kontrolą z otępieniem wczesnym (MD). Umiarkowaną przydatność w wykrywaniu wczesnych otępień wykazuje również t-tau (Tabela 5).

W porównaniu pomiędzy grupami z MD i MSD diagnostyczny okazał się jedynie YKL-40 wykazując czułość i specyficzność powyżej 76%.

Analiza ROC nie potwierdziła przydatności markerów amyloidowych w monitorowaniu nasilenia otępienia.

	AUC	P value	Punkt odcięcia	Czułość	Specyficzność
			t-tau		
C vs MD	0.8488	<0.0001	>341.1	72.09	70
MD vs MSD	0.6607	0.0539	<377.9	58.82	58.14
			YKL-40		
C vs MD	0.9128	<0.0001	>115.8	86.05	85
MD vs MSD	0.8263	<0.0001	<123.3	76.47	76.74

Tabela 5. Analiza ROC przydatności diagnostycznej biomarkerów w ocenie zaawansowania otępienia.

6.6 Analiza regresji wieloczynnikowej

W celu oceny wpływu wieku, płci i głębokości otępienia mierzonej skalą MMSE na uzyskane stężenia t-tau i YKL-40 przeprowadzono analizę regresji wieloczynnikowej. Uzyskane wartości p value przedstawiono w Tabeli 6.

Wiek i płeć badanych nie miały wpływu na stężenia biomarkerów. Stężenia YKL-40 i t-tau były zależne od nasilenia otępienia ocenianego na podstawie wyniku MMSE.

Zmienna zależna	Wartości p wpływu zmiennych niezależnych		
	wiek	płeć	MMSE
t-tau	0.6261	0.1003	0.0252
YKL-40	0.7948	0.3831	<0.0001

Tabela 6. Wartości p dla wpływu zmiennych niezależnych na stężenia biomarkerów uzyskane metodą regresji liniowej.

7. Dyskusja

7.1 YKL-40 jako czuły i specyficzny marker otępienia

Białko YKL-40 jest dość niespecyficznym markerem stanu zapalnego, stanowiącego trzecią obok amyloidopatii i tauopatii składową patofizjologii otępienia. Główną przyczyną aktywacji procesów zapalnych w AD jest neurozwyrodnienie, a w VaD – niedokrwienie. Dotychczas przeprowadzono niewiele badań dotyczących możliwej przydatności oznaczania YKL-40 w surowicy chorych z otępieniem.

Stężenia YKL-40 we wszystkich badanych grupach było istotnie statystycznie wyższe, niż w grupie kontrolnej, a analiza ROC potwierdziła jego użyteczność diagnostyczną w różnicowaniu między osobami zdrowymi a chorymi ze wszystkimi rodzajami otępienia – uzyskane wartości AUC wynosiły od 0,8 dla MxD do 0,86 dla AD. YKL-40 nie jest markerem zdolnym do różnicowania etiologii otępienia.

Analiza ROC pomiędzy stężeniami YKL-40 w grupie z otępieniem łagodnym, umiarkowanym do ciężkiego i grupą kontrolną wskazuje na przydatność tego białka w wykrywaniu wczesnego otępienia z czułością 86,05% i specyficznością 85%. YKL-40 może być również przydatne w monitorowaniu progresji otępienia.

Stężenie YKL-40 nie zmieniało się istotnie po 4 tygodniach hospitalizacji, co potwierdziło stabilność jego stężeń wobec stosowanych czynników leczniczych takich jak leki prokognitywne, leczenie współwystępujących chorób somatycznych i zaburzeń psychicznych oraz oddziaływania terapeutyczne.

Najpoważniejszym ograniczeniem przydatności diagnostycznej YKL-40 jest wzrost jego stężenia w chorobach zapalnych oraz nowotworowych, które stanowią częstą współchorobowość u osób starszych. Zastosowanie tego biomarkera wymagałoby zatem wykluczenia innych schorzeń mogących powodować wzrost stężenia YKL-40. Pomocnym mogłoby być dokładne zebranie wywiadu i/lub jednoczesne oznaczenie nieswoistego markera zapalnego takiego jak CRP. Zasadnym mogłoby też być zastosowanie kombinacji YKL-40 z mniej wrażliwym na występowanie współchorobowości markerem, takim jak t-tau.

Uzyskane wyniki wskazują na korelacje stężeń YKL-40 ze stężeniami białka tau, nasileniem stanu zapalnego odzwierciedlonym przez stężenie CRP oraz nasileniem otępienia mierzonym punktacją w skali MMSE, co potwierdza spójność uzyskanych wyników. Na podstawie wyników analizy regresji wykluczono wpływ płci i wieku na stężenia tego biomarkera.

Idealny biomarker powinien być powiązany z neuropatologią choroby, nie ulegać zmianom pod wpływem leczenia objawowego oraz wykazywać przynajmniej umiarkowaną czułość i wysoką (>85%) specyficzność [17]. Istotna jest również łatwość pozyskania materiału do oznaczeń, prosta metoda i niski koszt oznaczenia, oraz powtarzalność uzyskiwanych wyników [55]. Wyniki badania wskazują, że YKL-40 w surowicy jako biomarker do wykrywania otępienia we wczesnym stadium spełnia wszystkie powyższe warunki.

7.2 Białko tau jako marker wczesnych otępień alzheimerowskich

Kolejnym istotnym elementem patofizjologii AD jest gromadzenie się splątków białka tau. Podwyższone stężenia t-tau obserwuje się w tauopatiach, z których większość stanowią choroby rzadkie. Niektóre tauopatie, między innymi FTD również przebiegają z otępieniem. Powoduje to, że t-tau jest dość swoistym markerem chorób neurozwyrodnieniowych. Stężenia t-tau w surowicy korelują z jego zawartością w mózgu ocenianą badaniem PET [35].

W przeprowadzonym badaniu stężenia t-tau korelowały ze stężeniami YKL-40 oraz nasileniem otępienia w skali MMSE. Nie zaobserwowano związku stężenia t-tau ze stężeniem biomarkerów amyloidowych ani CRP.

Stężenia t-tau były istotnie statystycznie wyższe w grupach z AD i MxD niż w VaD, co wynika z patogenezy poszczególnych typów otępień. Analiza ROC nie potwierdziła przydatności t-tau w różnicowaniu etiologii otępienia, jest ono jednak czułym i specyficznym markerem do różnicowania między otępieniem w AD i MxD a osobami zdrowymi. Wartości AUC wyniosły 0,85 dla AD vs grupa kontrolna i 0,88 dla MxD vs kontrola.

T-tau wydaje się być wartościowym markerem pomimo nieprzydatności w wykrywaniu VaD. Otępienie alzheimerowskie występuje pojedynczo lub jako składnik złożonej patofizjologii u 60-80% ogółu chorych z otępieniem [5]. Tauopatia występuje również w otępieniu z ciałami Lewy'ego [38], stanowiącym kolejne 5% chorych [5], a także otępieniach czołowo-skroniowych [35] występujących u 10% chorych z otępieniem przed 65. rokiem życia i u 3% po 65 roku życia [5]. Wynika stąd, że t-tau może być markerem zdolnym do wykrywania przeważającej większości chorych z otępieniem.

Białko tau może być też przydatne w diagnostyce wczesnego otępienia niezależnie od etiologii, jednak z czułością i swoistością mniejszą niż YKL-40. Ze względu na opisane wyżej ograniczenia zastosowania YKL-40, t-tau może pełnić rolę markera dodatkowego lub zastępczego. Nie potwierdzono przydatności diagnostycznej białka tau w ocenie progresji otępienia do stadiów cięższych.

Stężenia t-tau nie zmieniły się istotnie po 4 tygodniach stosowania oddziaływań leczniczych i terapeutycznych, co potwierdza stabilność i niepodatność biomarkera na wpływ nieswoistego leczenia.

Wyniki analizy regresji wskazują, że stężenia t-tau były niezależne od płci i wieku badanych.

7.3 Markery amyloidowe

W przeprowadzonym badaniu stężenia Aβ1-40 i Aβ1-42 były istotnie statystycznie wyższe w grupie z AD i VaD niż w grupie kontrolnej, jednak analiza ROC nie potwierdziła ich przydatności w diagnostyce ani różnicowaniu otępień.

Aβ1-42 był jedynym parametrem, którego istotny statystycznie spadek odnotowano po 4 tygodniach hospitalizacji. Spadek ten nie wiązał się jednak z poprawą funkcji poznawczych w skali MMSE. Stężenia Aβ1-42 nie korelowały ze stężeniem innych biomarkerów, a analiza ROC nie potwierdziła jego przydatności w diagnostyce, różnicowaniu i ocenie progresji otępienia. Spadek stężenia Aβ1-42 miał najpewniej charakter nieswoisty i mógł wynikać z ogólnej poprawy zdrowia psychicznego i/lub somatycznego w trakcie hospitalizacji.

W niniejszym badaniu nie uzyskano wyników wskazujących na przydatność diagnostyczną markerów amyloidowych, co nie dziwi w kontekście danych z pracy przeglądowej, w której wyniki kilkudziesięciu analizowanych badan markerów amyloidowych w surowicy były w znacznym stopniu niespójne. Brak przydatności diagnostycznej Aβ w surowicy przy jego potwierdzonej użyteczności diagnostycznej w CSF może wynikać ze zmiennej osobniczo przenikalności Aβ przez BBB, zmiennej szybkości eliminacji z krwi i/lub obecności we krwi Aβ powstałego w tkankach i narządach innych niż mózg.

7.4 Ograniczenia badania

Do najważniejszych ograniczeń badania należą: mała liczebność próby oraz kwalifikacja do badania pacjentów z prawdopodobną, a nie potwierdzoną etiologią otępienia.

Najdokładniejszymi możliwymi do wykonania przyżyciowo badaniami potwierdzającymi alzheimerowską etiologię otępienia są oznaczenia biomarkerów choroby w płynie mózgowo rdzeniowym lub badanie PET. Wykonanie nakłucia lędźwiowego wymagałoby zaangażowania osoby przeszkolonej w pobieraniu płynu mózgowo-rdzeniowego, wiązałoby się też ze zbyt dużym ryzykiem dla badanych. Z kolei PET jest badaniem kosztownym i niedostępnym w placówce, w której leczeni byli badani pacjenci. Z powyższych względów za kryteria włączenia do badania przyjęto badawcze kryteria diagnostyczne według ICD-10, przedstawione we wstępie.

Kolejnym ograniczeniem badania jest oparcie go na teście MMSE. Jest to prosty test przesiewowy, badający głównie pamięć, w mniejszym stopniu inne funkcje poznawcze. Do zalet MMSE należy szybkość wykonania, powtarzalność i dostępność wielu zwalidowanych wersji językowych, co umożliwia porównywanie badań prowadzonych w różnych ośrodkach. W procedurach diagnostycznych niniejszego badania test MMSE służył głównie za narzędzie przesiewowe. W grupach badanych wykonano wiele innych testów neuropsychologicznych, które nie mogły być jednak użyte jako narzędzie porównawcze ze względu na różny zestaw użytych testów w zależności od głębokości otępienia. MMSE był testem możliwym do wykonania u wszystkich badanych, zatem jego skorygowaną wartość przyjęto jako miarę nasilenia otępienia.

Niewielka liczebność próby stanowi niewątpliwie istotne ograniczenie wartości badania. Wydaje się jednak, że mała liczba badanych umożliwiła niejako ich bardziej rygorystyczną selekcję, gdyż pacjenci byli kwalifikowani do badania przez lekarza prowadzącego ich diagnostykę i leczenie. Posiadana wiedza na temat stanu zdrowia badanych najprawdopodobniej zmniejszyła ryzyko

pomyłek diagnostycznych oraz kwalifikacji osób z występującymi, lecz nie ujawnionymi kryteriami wyłączenia.

7.5 Znaczenie uzyskanych wyników

Skalę niedoszacowania przypadków otępienia dobrze obrazuje fakt, że u 52 spośród 60 uczestników badania rozpoznanie zostało postawione po raz pierwszy w życiu. Wiele spośród nich stanowiły osoby z otępieniem w stopniu umiarkowanym i głębokim. Do tego stanu rzeczy przyczynia się niska świadomość faktu, że zaburzenia pamięci w wieku starszym stanowią chorobę, a nie nieodzowny element starzenia się, w związku z czym obserwowane zaburzenia poznawcze rzadko są zgłaszane lekarzowi pierwszego kontaktu lub skłaniają do wizyty u specjalisty psychiatry czy neurologa. W warunkach podstawowej opieki zdrowotnej główny problem stanowi ograniczony czas wizyty oraz niewystarczające przeszkolenie i doświadczenie personelu w zakresie przesiewowej diagnostyki funkcji poznawczych. Dostępność diagnostyki specjalistycznej jest z kolei ograniczona czasem oczekiwania na wizytę, a często także odległym od miejsca zamieszkania położeniem placówki specjalistycznej, co w połączeniu z ograniczoną mobilnością chorego stanowi istotną barierę. W praktyce specjalistycznej bardzo często spotyka się z prośbami opiekunów o przyjazd na wizytę domową bądź udzielenie porady za pośrednictwem środków komunikacji zdalnej.

Rozwiązaniem wyżej opisanych problemów mogłoby być zastosowanie w podstawowej opiece zdrowotnej prostego testu przesiewowego pod postacią oznaczenia biomarkera lub biomarkerów otępienia we krwi i kierowanie do diagnostyki specjalistycznej pacjentów z dodatnim wynikiem testu [61].

Uzyskane w niniejszym badaniu wyniki, jak również potrzeba stworzenia prostego testu przesiewowego do diagnostyki otępienia w warunkach podstawowej opieki zdrowotnej uzasadniają prowadzenie dalszych badań nad zastosowaniem oznaczeń YKL-40 i t-tau we krwi jako biomarkerów otępienia.

8. Wnioski

1. Stężenia YKL-40 korelowały ze stężeniami innych markerów, CRP i punktacją w skali MMSE. Stężenia YKL-40 i t-tau były niezależne od płci i wieku.

2. YKL-40 może być przydatny w diagnostyce wszystkich rodzajów otępień, natomiast t-tau - w diagnostyce otępień z komponentą alzheimerowską.

3. Nie wykazano przydatności żadnego z biomarkerów w różnicowaniu otępień.

4. YKL-40 może być przydatne w wykrywaniu otępień wczesnych i monitorowaniu progresji otępienia.

5. T-tau może być przydatne w diagnostyce wczesnego otępienia, szczególnie gdy zastosowanie YKL-40 będzie ograniczone przez współchorobowość.

6. Po czterech tygodniach hospitalizacji zaobserwowano istotny statystycznie spadek stężeń Aβ1-42 w grupie z AD, mający najprawdopodobniej charakter nieswoisty, wtórny do poprawy ogólnego stanu zdrowia.

9. Kopia pracy przeglądowej

Journal of
Clinical Medicine

MDPI

Review

Diagnostic Utility of Selected Serum Dementia Biomarkers: Amyloid β-40, Amyloid β-42, Tau Protein, and YKL-40: A Review

Karolina Wilczyńska * and Napoleon Waszkiewicz

Department of Psychiatry, Bialystok Medical University, 16-070 Choroszcz, Poland; napwas@wp.pl
* Correspondence: karolinawilczynska88@gmail.com or psych@umb.edu.pl

Received: 16 August 2020; Accepted: 16 October 2020; Published: 27 October 2020

check for updates

Abstract: Introduction: Dementia is a group of disorders that causes dysfunctions in human cognitive and operating functions. Currently, it is not possible to conduct a fast, low-invasive dementia diagnostic process with the use of peripheral blood biomarkers, however, there is a great deal of research in progress covering this subject. Research on dementia biomarkers in serum validates anticipated health and economic benefits from early screening tests. Biomarkers are also essential for improving the process of developing new drugs. Methods: The result analysis, of current studies on selected biomarker concentrations (Aβ40, Aβ42, t-tau, and YKL-40) and their combination in the serum of patients with dementia and mild cognitive disorders, involved a search for papers available in Medline, PubMed, and Web of Science databases published from 2000 to 2020. Results: The results of conducted cross-sectional studies comparing Aβ40, Aβ42, and Aβ42/Aβ40 among people with cognitive disorders and a control group are incoherent. Most of the analyzed papers showed an increase in t-tau concentration in diagnosed Alzheimer's disease (AD) patients' serum, whereas results of mild cognitive impairment (MCI) groups did not differ from the control groups. In several papers on the concentration of YKL-40 and t-tau/Aβ42 ratio, the results were promising. To date, several studies have only covered the field of biomarker concentrations in dementia disorders other than AD. Conclusions: Insufficient amyloid marker test repeatability may result either from imperfection of the used laboratorial techniques or inadequate selection of control groups with their comorbidities. On the basis of current knowledge, t-tau, t-tau/Aβ42, and YKL-40 seem to be promising candidates as biomarkers of cognitive disorders in serum. YKL-40 seems to be a more useful biomarker in early MCI diagnostics, whereas t-tau can be used as a marker of progress of prodromal states in mild AD. Due to the insignificant number of studies conducted to date among patients with dementia disorders other than AD, it is not possible to make a sound assessment of their usefulness in dementia differential diagnostics.

Keywords: Alzheimer's disease; vascular dementia; mixed dementia; serum; biomarkers; amyloid beta; tau protein; YKL-40

1. Introduction

1.1. Dementia

Dementia is a group of multiple etiology cognitive disorders that result in daily life impediments. The most common cause of dementia is Alzheimer's disease (AD) which is chronic, progressive, and leads to death of the neurodegenerative process [1].

There are two main groups of pathologies that cause dementia, i.e., neurodegenerative diseases and secondary dementias [1]. The cause of neurodegenerative diseases (proteinopathies) is accumulation

and aggregation of proteins with abnormal conformation [2], which results in death of neurons and supporting cells, leading to cognitive and motor dysfunctions [3]. Death of cells results in activation of glial cells and secretion of cytokine and chemokine by them, which leads to the chronic inflammatory process interfering with brain tissue homeostasis. Moreover, neurotoxicity of some inflammatory response products intensifies the neurodegenerative process [4]. Neurodegenerative dementia includes the following: dementia in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies (DLB), frontotemporal dementia (FTD), dementia in Parkinson's disease (PDD), Huntington's disease (HD), and dementia in prion diseases.

The most common secondary dementia is vascular dementia. Approximately 10–15% of patients are only diagnosed with vascular-only dementia (VD). VD consists of subtypes of different etiology and clinical features, such as multi-infarct dementia, small vessel disease, strategic infarct dementia, hypoperfusion dementia, haemorrhagic dementia, hereditary cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarction, and leukoencephalopathy (CADASIL) [1,5].

The observed symptoms of dementia such as depression, delirium, thyroid hormone abnormalities, vitamin deficiencies, or normotensive hydrocephalus are in potentially reversible states [1]. Chronic alcohol use is also a very common cause of dementia. In contrast to Wernicke–Korsakoff syndrome associated primarily with memory impairment, in alcoholic dementia, there are disorders in many other cognitive functions. Alcoholic dementia constitutes approximately 10% of early-onset cases and slightly more than 1% of late-onset dementia cases [6].

Dementia can be of mixed etiology, in up to half of patients, especially in senior age groups [1]. Vascular lesions occur in 40% of demented patients and usually coexist with other dementia causes. Changes caused by microinfarcts were found in around half of the patients with AD [7]. Contrary to previous diagnostic recommendations considering cerebral vascular lesions as an exclusion criterion of AD, the American Alzheimer's Association currently takes the view that dementia often results from both neurodegenerative and vascular pathologies and suggests classifying such conditions as mixed dementias [1]. An autopsy study by Schneider et al. revealed that subjects with multifactorial etiology of dementia found in the autopsy were more frequently diagnosed with dementia during life as compared to those with only one type of neuropathological change [8]. It suggests that mixed dementia (despite its heterogeneous etiology) may be a category for underdiagnosed cases, and it also has an important clinical and prognostic value. Other relatively common forms of mixed dementia include the coexistence of AD and DLB or PDD [8].

1.2. Amyloid Beta and Its Role in Dementia Process

Amyloid is a group of insoluble beta-sheet proteins that form filamentous structures. They may play a role in the pathogenesis of various diseases when accumulating as deposits in the extracellular space. Each amyloid type is formed from its specific precursor protein-like amylin, derived from the precursor islet amyloid polypeptide (IAPP), involved in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes, or AL and AH proteins composed of light and heavy chains of immunoglobulin, resulting in primary systemic amyloidosis [9]. Except for brain tissue, the amyloid precursor protein (APP) has been identified in the thymus, heart, lungs, kidneys, muscles, adipose tissue, liver, spleen, skin, and the intestine [10].

Amyloid beta (Aβ) refers to oligopeptides composed of 40–42 amino acid residues, originating from the amyloid precursor protein (APP). The APP protein family includes two similar peptides, i.e., amyloid precursor-like proteins 1 and 2 (APLP1 and APLP2) [11]. The APP protein encoding gene is located on chromosome 21q21. Most of the many APP mutations exist around sequences encoding secretase splitting sites and they are responsible for early-onset, familial forms of the disease [12]. The amyloid precursor protein is transformed to oligopeptides by three enzymes, i.e., α-, β- and γ-secretase. The C-terminal fragment of APP is always cut off by γ-secretase, but the forming of Aβ is determined by enzyme activity cutting off the N-terminus of either α- or β-secretase precursor peptides. Formation of Aβ happens when an N-terminus fragment is cleaved by β-secretase, while the

activity of secretase α results in making a so-called secreted form of APP (s-AAPα) [13], a signal protein which is a neuron growth factor that promotes synaptogenesis and has a positive role in memory and learning processes [10]. Another factor contributing to Aβ formation are mutations of the γ-secretase subunits, i.e., presenilins. On the one hand, presenilins of correct structure regulate intracellular calcium balance, lysosome, and proteasome activity and counteract the effects of oxidative stress. On the other hand, presenilin mutations contribute to the formation of longer Aβ chains, which are more prone to aggregate into insoluble Aβ forms [14].

Aβ oligopeptides vary in the number of amino acids in the molecule. Most scientific research has focused on the fragment with 42 amino acid residues, i.e., Aβ42. It is the main component of amyloid plaques found in the brain of patients with AD. A second dominant isoform of Aβ is peptide with a length of 40 amino acid residues. Aβ40 is a less amyloidogenic form. Researchers have also suggested their role in preventing formation of Aβ deposits. Calculation of the Aβ42/Aβ40 ratio can be found in many scientific papers. A high value of this ratio is used as a predictor of cerebral amyloidopathy. Other forms of Aβ were also considered to be potential biomarkers, mainly Aβ38 [15].

In addition to previously described overproduction, accumulation, and aggregation of Aβ in the brain tissue, the impaired pathological protein degradation also contributes to dementia pathogenesis. Peroxidation of the cell membrane lipids under oxidative stress results in 4-hydroxynonenal (HNE) secretion, which has an ability to modify protein structure and function. HNE lowers the catalytic activity of neprilysin, a metallopeptidase preventing the deposition of Aβ through degradation of mono- and oligomeric Aβ forms [16]. Apolipoproteins E2 and E3 (but not E4 which is one of the main AD risk factors) are capable of binding HNE through cysteine, lysine, and histidine residue, preventing the damage of other proteins [17]. HNE also increases the synthesis of Aβ by its binding with nicastrin, part of the gamma-secretase complex, increasing activity of this enzyme [18].

The role of Aβ in AD pathogenesis is described in the so-called amyloid cascade hypothesis. This theory suggests that the disease process begins with overproduction and accumulation of Aβ as amyloid plaques. Their presence leads to mitochondrial and synaptic damage, disrupting the homeostasis of brain tissue. This process is accompanied by microglia and astrocytes activation, which results in inflammation and oxidative stress, eventually causing the death of neurons. Furthermore, Aβ is considered to be a factor that activates hyperphosphorylation of tau proteins. In addition to the amyloid cascade hypothesis, there are other possible explanations of the AD pathogenesis, such as the "prion-like" action of the Aβ hypothesis [19]. More and more reports have shown that the amyloid cascade hypothesis has not fully explained the pathogenesis of AD. It has recently been demonstrated that amyloid-dependent memory and synaptic plasticity impairments could occur without tau [20].

On the basis of current knowledge, pathologies tied with Aβ are not specific for AD dementia. The existence of amyloid deposits have also been identified by PET scan in dementias other than AD, especially among seniors who have been carriers of the APOE4 allele. Ossenkoppele et al. obtained positive amyloid-PET results in as many as 83% of 80-year-old APOE4 gene carriers with DLB, 43% with FTD and 64% with VD. Among a younger group of people (around 60 years old), who were not carriers of APOE4, those percentages were respectively 29%, 5%, and 7% [21]. It is not easy to state whether those observations might result from incorrectly established clinical diagnosis or rather amyloid deposition is secondary to neuropathology of other dementia types [22]. Among non-AD dementias, the clearest relationship occurs between Aβ and VD. It is known that apart from the predominant atherosclerotic etiology, other angiopathies such as congophilic amyloid angiopathy (CAA) can initiate the disease process [5]. Contrary to AD, where amyloid deposits locate mainly (but not exclusively) into intercellular space, in CAA subjects, the lesions are predominately in the blood vessel walls [3]. It has been proven that the density of congophilic vascular lesions increased with the severity of cognitive impairment [7]. On the one hand, overproduction or impaired elimination of Aβ can also occur in other diseases. Increased amyloid peptide concentrations were found in patients diagnosed with liver tumors [23], kidney [24] and liver [25] failure, Parkinson's disease [26], obesity

and insulin resistance [27], or Down Syndrome [28]. On the other hand, a decrease in Aβ42 levels in the serum has been observed in depression [29]. An increased level of Aβ in many conditions results in serious limitations of its use as a biomarker, especially in a multimorbid old age group. Meta-analysis published by Zhang et al. indicated that the lack of proper screening for comorbidities among the control group resulted in minor differences in the amyloid marker concentrations among groups in studies [30].

1.3. Tau Protein and Its Role in Dementia

Tau protein is a product of the MAPT gene, located on chromosome 17. It is expressed predominantly in the central nervous system [31]. This protein is found mainly inside neurons (especially in microtubule-rich axons), but also, to a lesser extent, in glial cells (astocytes and oligodendrocytes) [32], as well as in extracellular space [33]. It locates primarily in the cytoskeletal structures of the cell, but it has also been identified in the nuclei and centrosomes [32]. The MAPT gene product undergoes alternative splicing into six different, tissue-specific tau proteins. Depending on the number of 29-amino acid inserts (0, 1 or 2), there are three isoforms, i.e., 0 N, 1 N, and 2 N. Each isoform contains three or four microglobulin binding domain repeats (3R or 4R) [32,33]. In normal conditions, the tau protein is soluble and unfolded [33].

The physiological functions of the tau protein include stabilization and polymerization of microtubules, regulation of axonal transport, neuron polarization, axon growth and elongation, protection of DNA and RNA integrity, formation of cytoskeleton actin filaments, regulation of synaptic plasticity (dendritic tau protein), as well as cell cycle regulation via tyrosine kinase, membrane interactions, synaptic transmission, and regulation of NMDA transmission through interactions with the Fyn protein [32–34]. The tau protein undergoes post-translational modifications such as phosphorylation, O-glycosylation, advanced glycation, Maillard reaction, ubiquitination, nitration, sumoylation, proline isomerization, acetylation, and truncation. The most important one of the above is the kinase-induced phosphorylation process regulating tau distribution within the cell, the transport of organelles to the somatodendritic compartment, and enabling interactions with neurotransmitters and enzymes. Under physiological conditions, tau phosphorylation occurs in response to stressors such as insulin imbalance, hunger, hypothermia, anesthesia, glucocorticoids, opiates, or alcohol [32].

Phosphorylation also enables the tau protein to aggregate [31]. Excessive aggregation of the tau protein leads to formation of neurofibrillary tangles and it occurs in medical conditions called tauopathies and in the physiological aging process [32]. The presence of tau protein inclusions in neurons or glia causes tauopathies-progressive diseases associated with cognitive, behavioral, and motor impairment. Hyperphosphorylated tau protein and its isoforms, such as p-tau-217, measured in the peripheral blood are also promising AD biomarker candidates [35].

The pathological changes caused by the hyperphosphorylated tau protein (p-tau) can be divided into the following:

1. Resulting from the loss of its physiological properties:
    a. Axonal transport disturbance;
    b. Actin cytoskeleton abnormalities leading to increased susceptibility of the cell to oxidative stress;
    c. Disturbed structure and function of mitochondria, disrupting their metabolism and increasing susceptibility to oxidative stress, which leads to the death of the cell.
2. Resulting from the toxic effect of the abnormal isoform:
    a. Activation of astrocytes and microglia to secrete proinflammatory mediators;
    b. Disruption of synaptic transmission through the accumulation of pathological tau in postsynaptic spines;
    c. Disturbances in proteasome degradation and autophagy [30,32].

Formation of tau protein deposits is the key pathophysiological process in primary tauopathies, while in secondary tauopathies, its origin is from other pathologies. Primary tauopathies include the subtypes of frontotemporal dementia, atypical parkinsonian syndromes, argyrophilic grain disease, and globular glial tauopathy. Considering complex (dependent also from amyloid beta) aetiopathogenesis, AD is qualified as a secondary tauopathy [36]. Other conditions, secondary to the tau protein pathology are the aging process (primary tauopathy related to age, astriogliopathy related to age), Down syndrome, prion diseases, post-traumatic encephalopathy (dementia pugilistica), amyotrophic lateral sclerosis, parkinsonism-dementia complex, postencephalitic parkinsonism, and some rare diseases such as progressive subcortical gliosis, diffuse neurofibrillary tangles with calcification, "tangle-only dementia", Hallervorden–Spatz disease, Niemann–Pick type C disease, subacute sclerosing panencephalitis, myotonic dystrophy, non-guanamian motor neuron disease with neurofibrillary tangles, meningioangiomatosis, and tuberous sclerosis [32]. Neurofibrillary changes have also been identified post mortem in subjects without any dementia characteristics. There is an assumption that in such cases the disease was present in an asymptomatic state [7].

It is believed that the concentration of tau protein in CSF relates to the degree of brain cells damage [37]. Tau protein is secreted from neurons to the cerebrospinal fluid, where it penetrates through the blood-brain barrier and the arachnoid granules to the bloodstream, which is why it can be identified in peripheral blood [38]. Results of studies show the correlation between total tau protein (t-tau) concentration in serum and its brain tissue levels assessed by PET scan [39,40].

1.4. YKL-40: An Inflammatory Marker in Dementia

More and more data show the key role of the inflammatory process (neuroinflammation) in AD pathogenesis. Most of all, microglia cells and astrocytes are present in the CNS inflammatory response. These cells are activated by proinflammatory cytokines, as well as Aβ and APP, causing the release of neurotoxic proinflammatory cytokines and reactive oxygen forms, and resulting in intensification of the inflammatory process and oxidative stress [41]. This knowledge resulted in taking the interest of inflammatory mediators as potential AD biomarkers.

Chitinase 3-like protein 1 (CHI3L1), also named YKL-40, human cartilage glycoprotein-39 (hcgp-39), or breast regression protein (BRP-39), is ranked among the chitinase family (glycosidic hydrolases). It is an acute-phase protein secreted into extracellular matrix through connective tissue cells (neutrophils, monocytes, macrophages, coming from monocytes, dendritic cells, osteoclasts, chondrocytes, synovial cells), vascular smooth muscle cells, glandular epithelium, and also thru other cells within an inflammatory state in response to inflammatory cytokines such as TNF-alpha, INF-gamma, IL-1beta, and IL-6 [42,43]. Some cancerous cells also have the ability of YKL-40 secretion [44].

In the inflammatory process, YKL-40 acts as an acute-phase protein that regulate proliferation, adhesion, migration, and cells differentiation. To date, the known functions of YKL-40 are the following:

- connective tissue repair process, i.e., connective tissue growth stimulation, bonding and fibrillogenesis of collagen, modulating of inflammatory cytokines impact on fibroblasts;
- stimulation of epithelial cells migration;
- modulation, adhesion, and migration of vascular smooth muscle cells;
- stimulation of alveoli macrophages to metalloproteinases and chemokines secretion;
- increase in auxiliary lymphocytes Th2 response caused by antigens;
- regulation of oxidative stress response;
- regulation of apoptosis process (i.e., prevention of epithelial cells apoptosis);
- stimulation of M2 macrophages differentiation;
- suppression of mammary gland epithelial cells differentiation [42,43,45].

Studies have described the relationship between YKL-40 and AD (occurrence of increased YKL-40 expression areas, concentrating mainly on astrocytes surface, around amyloid plaques and blood vessels, with amyloid angiopathy in patients with AD brain [46]), and the relationship between APOE4

genotype and YKL-40 concentration in cerebrospinal fluid (CSF) [47]. This was also supported by an experiment conducted by Choi et al., who found, in mice disease model, decreased APP expression and an improvement of rodents' cognitive functions after administration of substance suppressing CHI3L1 activity [48]. The relationship between neuroinflammation and described biomarkers in AD are shown on Figure 1.

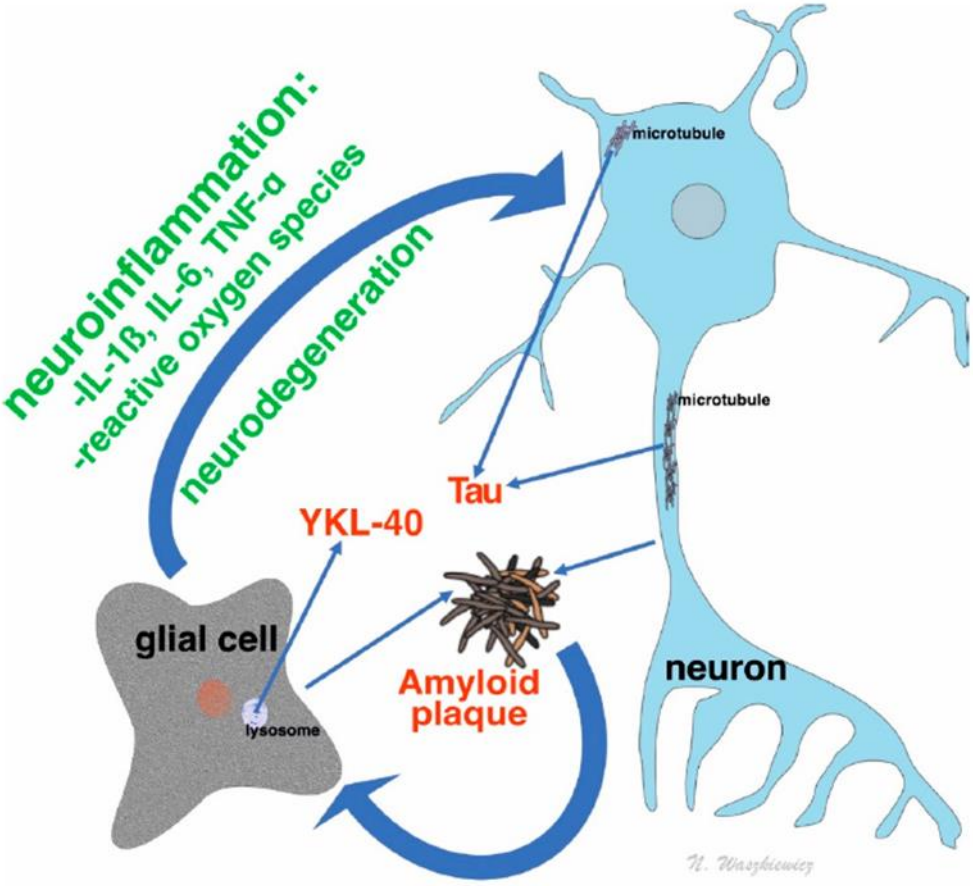


Figure 1. The role of neuroinflammation and neurodegeneration processes in the formation of dementia protein biomarkers, i.e., amyloid, tau, and YKL-40. IL-1b, interleukin 1 beta; IL-6, interleukin 6; TNF-a, tumor necrosis factor alpha.

YKL-40 diagnostic utility is limited by its non-specificity. An increased concentration of this protein was found in various types of cancer, inflammatory and autoimmune diseases [43], bacterial, viral, and parasitic infections [44]. An increase in serum YKL-40 concentration was also documented in VD and mixed dementia with vascular risk factors, such as metabolic syndrome [49], coronary heart disease [50], atrial fibrillation [51], and obstructive sleep apnea [52]. Xu et al. concluded, in a group of patients with prehypertensive state, that the disease could be preceded by an increase in YKL-40 concentration [53]. In the first days after an ischaemic stroke, an increase in this marker was proportional to the volume of the stroke site and the severity of symptoms [54].

An increase in YKL-40 expression was observed in tissues and bodily fluids other than serum, for example, in motor cortex and spinal cord of patients with atrophic lateral sclerosis [55], in hippocampus of schizophrenia patients [56], or in CSF of elderly woman with suicidal thoughts [57]. On the one hand, increased YKL-40 immunoreactivity in brain, correlating with tau protein, was observed in tauopathies other than AD [58]. On the other hand, studies conducted by Isgren et al. have shown that decreased concentration of YKL-40 in CSF of patients with bipolar disorders was preceded by episodes of mania or hypomania [59].

1.5. Practical Aspects of Using Dementia Biomarkers

Many studies conducted, to date, have proven that brain lesions precede the occurrence of clinical symptoms of disease even by 20 years [1], which gives hope to use these observations for development of early detection and prevention methods. Efforts that have been undertaken to use proteins involved in disease pathogenesis as biomarkers have proven that they can inform about disease existence even in the asymptomatic stage and they also correlate with disease intensification when neuropathological changes buildup [60].

Considering potential application, the following can be singled out:

- predictive biomarkers for estimating disease in the preclinical stage, and for estimating clinical prognosis;
- diagnostic biomarkers in precise differential diagnosis;
- biomarkers for healing response and assessing the effectiveness of therapy;
- surrogate markers for estimating the influence of therapeutic intervention on selected pathophysiological processes;
- trait markers, strictly tied to disease characteristics (e.g., mutations);
- condition markers (e.g., enzymes) for monitoring progression of disease [22].

Diagnosis and monitoring of dementia are carried out mainly by clinical assessment and neuropsychological tests. It is only possible to diagnose the disease in the symptomatic stage, and the given diagnosis is considered to be probable [22]. Regular neuropsychological assessment, which is recommended as an early dementia diagnosis tool, is not fulfilling its role. The main causes of this situation are (among others) the long waiting time for an appointment and very short duration of visits. In standard healthcare, a common problem is also inaccurate screening performance and interpretation of cognitive functioning of patients. This results from insufficient training and experience of primary care staff. The key step is the referral of a patient to a specialist by a general medical practitioner. Adequate biochemical markers could be an inestimable tool in the hands of family physicians, facilitating selection of patients in need of specialist treatment [61]. Regardless of health benefits, early AD diagnosis could significantly reduce treatment and care costs generated by patients [1].

Usage of biomarkers in dementia diagnostics could aid early diagnosis, monitoring of disease severity, and recovery prognosis. It could also help in the development of more personalized pharmacotherapy by adequate recruiting and grouping of subjects, as well as assessment, in clinical trials, of test drug effectiveness and dosage [15]. The role of biomarkers in the development process of new drugs is crucial because of verification of patients included in clinical trials, for example, the PET amyloid test showed that many of the patients were falsely classified as AD patients [62]. In the future, proper selection and use of biomarkers may enable the development of personalized therapy for every individual patient, such as in modern oncological treatment standards [15,61]. However, the current goal, in studies on AD biomarkers, is to achieve a cost-efficient screening test with high negative (not necessarily high positive) predictive value, which should have the ability to identify AD cases on a large scale [61].

An ideal diagnostic marker should be characterized by at least moderate sensitivity and high specificity (>85% [22]), ease of obtaining research material, easy determination method, repeatability, and low cost [60]. It should also have the ability to identify disease in the early stage and differentiate it from other dementias, reflecting the neuropathology of the examined disease. Another important characteristic of a valuable biomarker is the absence of concentration changes due to the influence of the used symptomatic treatment [22]. Currently, on the one hand, biomarker identification in cerebrospinal fluid (Aβ42, t-tau, p-tau) requires qualified personnel that can use a more invasive, expensive, and often non-refundable procedure for material extraction [60,63]. Use of the CSF extraction procedure is limited to a wide-range population and its repeatability, which calls in to question its usability in standard healthcare or in clinical trials [15]. Survival assessment of the occurrence of Aβ deposits

with the PET method is very costly and often non-refundable, moreover it is associated with exposure to a radioactive substance [63]. On the other hand, collecting a blood sample and its analysis is a routine procedure that does not require additional personnel training and it is repeatable and possible to perform in various conditions [61].

Imprecise measurement of the concentration of marker in peripheral blood due to its low blood-brain barrier (BBB) permeability [60], possible proteolysis of tested protein in peripheral blood, and its fast elimination by liver or kidneys are the main elements that limit the capability of using biomarkers from peripheral blood. Moreover, blood is a fluid with a high concentration of various proteins, posing a risk of obtaining false-positive results with insufficient specificity of applied tests [61,64]. Therefore, imperfections of available markers may be minimalized by application of several different test panels [60].

The aim of this review is to gather and summarize studies conducted to date, on using selected proteins that can act as dementia biomarkers in blood material, for example, Aβ40 and Aβ42 amyloids, tau protein, as well as its phosphorylation products (p-tau) and YKL-40 protein.

2. Experimental Section

For the analysis of acquired studies and their results on concentrations of selected biomarkers in the blood of dementia patients, the search for works about human research published in English scientific journals in Medline, Pubmed, and Web of Science databases was conducted with the use of keywords such as "amyloid beta", "tau protein", "YKL-40 OR CHI3L1" AND "dementia OR alzheimer*" AND "plasma OR serum or blood". Considering the possibility of outdated laboratory techniques influencing results, the search was limited only to studies from 2000 to 2020. Among the acquired search results, only cross-sectional studies with a control group and a test group with dementia and mild cognitive impairments (MCI) were qualified for comparison. Review articles and prospective studies were excluded. Studies on biomarkers in other than plasma or serum biological material, as well as studies on specific isoforms of the markers, were excluded. We also did not qualify research made on specific groups, i.e., corpses, children, patients with concomitant diseases (e.g., Down syndrome), or patients with undefined dementia etiology. Some groups of patients were investigated in more than one article, in such cases, only one methodologically best study was taken into account. Papers with no significance level "p" value for comparison among groups and in which test or control groups consisted of less than 10 people were also excluded. The results obtained in groups other than dementia and MCI were not included in the tables. The number of search results in each database is listed in the Table 1.

Table 1. Search results in each database.

Biomarker	Database	Found	Qualified	Qualified Total
Amyloid beta	Medline	1698	41	50
	PubMed	1709	40	
	Web of Science	7133	48	
T-tau	Medline	405	15	20
	PubMed	397	16	
	Web of Science	1547	14	
YKL-40	Medline	14	4	5
	PubMed	11	3	
	Web of Science	38	5	
Amyloid beta and t-tau combination	Medline	281	5	4
	PubMed	255	5	
	Web of Science	960	5	

3. Results

3.1. Amyloid Markers Aβ40, Aβ42, and Aβ40/42 Ratio

According to the adopted criteria, 50 studies comparing concentrations of Aβ40, Aβ42, and their ratio were selected from the search results. A total number of 7303 patients with dementia or MCI and people from control groups without any cognitive disorders were examined in these studies. In 31 studies, the ELISA method was used for identification; in eight studies, the immunomagnetic reduction method (IMR) was used; in six studies, the fluorescence in multiplex immunology test method (xMAP) was used; and in two studies, the single molecular array method (Simoa) was used. In one study, identification was made using the immunoblot method [65]. The most recent from the covered studies [66] was conducted by carbon nanotubes array (CNT).

The Aβ40 concentration was tested in 43 trials, listed in Table 2. The obtained results are highly incoherent. Statistically significant differences among groups were found in only 24 trials, whereas, in 10 of the trails, the concentrations of Aβ40 were (contrary to general trend) higher in the control group. In 39 trials, AD patients were investigated. Twenty trials compared MCI subjects to cognitively normal controls. The inconsistency of results did not depend on the method used. A large part of research gave statistically not significant results (12 out of 20 for ELISA, three out of eight for IMR, two out of five for xMAP).

In 48 of the selected studies, there was a comparison of Aβ42 among groups. In 32 of them, the results were statistically significant. In most of the comparisons, the Aβ42 concentrations were higher in control groups, but in as many as 13 cases higher concentrations of Aβ42 were identified in patients with dementia or MCI rather than in the control group. Among the methods repeated in several studies, it was noteworthy that, in all seven studies conducted using the IMR method, the Aβ42 levels were significantly higher in the AD or MCI groups than in the controls. In addition, studies based on ELISA or xMAP method gave very inconsistent results.

Table 2. Studies on Aβ40, Aβ42, and Aβ40/Aβ42 in serum.

Study	N	Groups (n)	Aβ40 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	p	Aβ42 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	p	Aβ42/Aβ40 (SD or CI)	p	Method
Mehta et al., 2000 [67]	65	AD (36), HC (29)	AD 272 (100–770) HC 219 (35–490)	0.005	AD 73 (25–880) HC 81 (25–905)	>0.05	-	-	ELISA
Sobów et al., 2005 [68]	158	AD (54), MCI (39), HC (35)	AD 168.7 (32.2) MCI 160.1 (20.2) HC 160.1 (15.2)	>0.05	AD 37.8 (10.3) MCI 56.8 (9.3) HC 36.3 (6.3)	<0.001 (MCI vs. AD + HC)	AD 4.6 (0.9) MCI 2.9 (0.6) HC 4.5 (0.6)	<0.001 (MCI vs. AD + HC)	ELISA
Pesaresi et al., 2006 [69]	324	AD (146), MCI (89), HC (89)	-	-	AD 38 MCI 52 HC 54	<0.01 (AD vs. MCI + HC)	-	-	ELISA
Fagan et al., 2007 [70]	114	AD CDR1 (16), AD CDR0.5 (33), HC-CDR0 (65)	AD CDR 1 AD CDR 0.5 CDR 0 191 (61.3)	0.51	AD CDR1 36 (37.2) AD CDR0.5 41 (38.9) CDR0 36 (29.4)	0.76	Aβ40/42 AD CDR1 9.25 (7.0) AD CDR0.5 7.78 (6.5) CDR0 8.64 (8.9)	0.82	ELISA
Abdullah et al., 2007 [71]	213	AD (67), HC (146)	Serum AD 183.01 (6.23) HC 134.33 (2.79) Plasma AD 103.38 (4.27) HC 80.66 ± 1.86	<0.05 <0.01	Serum AD 9.87 (0.82) HC 9.02 (0.40) Plasma AD 4.53 (0.52) HC 5.66 (0.31)	>0.05 >0.05	Serum AD 0.064 (0.011) HC 0.076 (0.005) Plasma AD 0.053 (0.008) HC 0.061 (0.006)	<0.05 >0.05	ELISA
Baranowska-Bik et al., 2008 [72]	124	mildAD (29), m-sAD (28), HC (67)	-	-	HC > mildAD > mod-sevAD	<0.05 (mild vs. m-sAD) <0.01 (HC vs. mildAD)	-	-	ELISA
Xu et al., 2008 [73]	268	AD (113), HC (155)	AD 112 (39.51) pmol/L HC 95.38 (32.30)	<0.0002	AD 10.29 (13.80) pmol/L HC 12.13 (12.29)	<0.0001	Aβ40/42 AD 14.42 (10.00) HC 8.34 (3.83)	<0.0001	ELISA
Ait-ghezala et al., 2008 [74]	175	AD (73), HC (102)	AD 91.99 (5.02) HC 81.04 (2.94)	<0.05	AD 1.91 (0.14, 6.84) HC 2.82 (0.59, 5.38)	>0.05	AD 0.015 (0.002, 0.097) HC 0.032 (0.008, 0.065)	>0.05	ELISA
Roher et al., 2009 [75]	38	AD (17, HC (21)	AD 424.06 (147.73) HC 344.41 (132.43)	0.088	AD 139.91 (77.82) HC 124.71 (42.34)	0.448	AD 0.35 (0.16) HC 0.44 (0.30)	0.292	ELISA
Sedaghat et al., 2009 [76]	35	AD (29), HC (16)	-	-	AD 16.2 (2.6) HC 13.4 (1.4)	>0.05	-	-	ELISA
Luis et al., 2009 [77]	78	AD (25), MCI (13), HC (40)	AD 181 (13.78) MCI 158 (17.55) HC 158 (7.65)	>0.05	AD 13.89 (2.00) MCI 23 (5.93 pg/mL) HC 10 (1.84)	0.015 0.02 (MCI vs. HC)	AD 0.086 (0.013) MCI 0.161 (0.045) HC 0.071 (0.014)	0.021	ELISA
Cammarata et al., 2009 [78]	293	MCI (191), HC (102)	MCI 294.7 (20.86) HC 315.6 (23.64)	>0.05	MCI 26.62 (2.68) HC 16.46 (1.46)	<0.01	MCI 0.12 (0.02) HC 0.09 (0.01)	<0.01	ELISA
Lui et al., 2010 [79]	1032	AD (186), MCI (122), HC (724)	AD 155.1 (44.2) MCI 152.9 (51.5) HC 153.4 (40.2)	0.877	AD 30.0 (10.2) MCI 30.2 (11.9) HC 32.4 (9.7)	<0.001	AD 0.199 (0.056) MCI 0.216 (0.120) HC 0.221 (0.097)	0.001	ELISA

Table 2. *Cont.*

Study	N	Groups (n)	Aβ40 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	p	Aβ42 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	p	Aβ42/Aβ40 (SD or CI)	p	Method
Konno et al., 2011 [80]	49	AD (39), HC (21)	AD 378 (113) HC 254 (63)	<0.0001	-	-	-	-	ELISA
Han et al., 2012 [81]	343	AD (112), VD (85), other dementias—OD (30), HC (116)	AD 90.7 (8.7) VD 93.6 (12.3) OD 93.1 (11.0) HC 92.4 (13.0)	>0.05	AD 32.1 (3.0) VD 37.3 (7.5) OD 37.2 (5.5) HC 37.7 (7.6)	<0.001	AD 0.29 (0.07) VD 0.4 (0.09) OD 0.4 (0.08) HC 0.41 (0.09)	<0.001	ELISA
Zhang et al., 2013 [82]	326	AD (153), VD (53), HC (120)	AD 97.7 (30.6) VD 98.2 (20.5) HC 92.6 (26.7)	>0.05	AD 11.5 (2.9) VD 13.2 (3.1) HC 13.3 (3.7)	<0.001 (AD vs. HC) <0.01 (AD vs. VD)	AD 0.12 (0.03) VD 0.14 (0.02) HC 0.14 (0.01)	<0.001 (AD vs. HC, AD vs. VD)	ELISA
Huang et al., 2013 [83]	34	AD (18), MCI + HC (16)	-	-	AD 17.19 (21.9) MCI + HC 7.31 (5.3)	0.079	-	-	ELISA
Ruiz et al., 2013 [84]	140	AD (51), MCI (36), HC (53)	AD 51 (16) MCI 58.9 (16) HC 44.4 (14)	<0.002	AD 10.8 (7.5) MCI 14 (18) HC 13 (12)	<0.002 (n/s)	-	-	ELISA
Wang et al., 2014 [85]	273	AD 97 MCI 54 HC 122	AD 59.10 (20.30) MCI 51.66 (26.03) HC 43.14 (22.57)	MCI vs. HC 0.027 MCI vs. AD 0.063 AD vs. HC <0.001	AD 47.10 (2.29) MCI 47.49 (0.93) HC 47.53 (1.97)	0.944 MCI vs. HC 0.474 MCI vs. AD 0.468 AD vs. HC	-	-	ELISA
Tzikas et al., 2014 [86]	55	AD (28), HC (27)	AD 39.65 (8.08) HC 36.30 (6.68)	0.171	AD 3.38 (2.34) HC 3.39 (2.64)	0.849	-	-	ELISA
Krishnan et al., 2014 [87]	105	AD (30), VD (35), HC (40)	-	-	AD 164.66 (66.76) VD 148.17 (60.24) HC 86.10 (43.75)	<0.001 (AD vs. HC, VD vs. HC) >0.05 (AD vs. VD)	-	-	ELISA
Kleinschmidt et al., 2015 [88]	94	AD (15), MCI (14), HC 18–30 years (13), HC 40–65 (13), HC 66–85 (19)	HC 66–85 > AD > HC 40–65 > MCI > HC 18–30	<0.05 for AD vs. MCI <0.01 for MCI vs. HC 66–85	HC 66–85 > HC 18-30 > HC 40–65 > AD > MCI	<0.05 for AD vs. HC 66-85 and MCI vs. HC 66-85	HC 18-30 > HC 40–65 > HC 66–85 > MCI > AD	<0.01 (AD vs. HC 66–85) <0.05 (MCI vs. HC 66–85)	ELISA
Jiao et al., 2015 [89]	285	AD (156), HC (129)	AD 86.2 (55.5) HC 60.2 (34.7)	<0.001	AD 68.4 (61.9) HC 49.3 (27.7)	0.001	-	-	ELISA

Table 2. *Cont.*

Study	N	Groups (*n*)	Aβ40 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	*p*	Aβ42 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	*p*	Aβ42/Aβ40 (SD or CI)	*p*	Method
Igarashi et al., 2015 [90]	153	AD (70), MCI (50), HC (33)	Median AD 51.0 pmol/L MCI 50.0 HC 51.4	>0.05	Median AD 6.4 pmol/L MCI 6.2 HC 6.9	>0.05	Median Aβ40/42 AD 8.2 MCI 7.8 HC 6.9	0.01 (AD vs. HC) <0.05 (MCI vs. HC)	ELISA
Kim et al., 2015 [91]	146	AD (100), HC (46)	AD 58.7 (20.2) HC 54.2(25.0)	0.371	AD 9.0 (4.0) HC 10.4 (3.5)	0.003	Aβ40/42 AD 6.8 (2.1) HC 5.0 (1.7)	0.000	ELISA
Poljak et al., 2016 [92]	251	AD (39), MCI (93), HC (129)	AD 155.82 (75.11) MCI 233.64 (100.56) HC 254.85 (145.72)	AD vs. HC $p < 0.001$ MCI vs. HC $p = 0.14$	AD 18.34 (32.10) MCI 37.58 (74.38) HC 65.63 (217.04)	<0.001 (AD vs. HC) 0.005 (MCI vs. HC)	AD 0.20 (0.64) MCI 0.23 (0.49) HC 0.26 (0.59)	<0.001 (AD vs. HC) 0.019 (MCI vs. HC)	ELISA
Grewal et al., 2016 [93]	75	3 groups of 15 (aMCI) and 10 (HC) women of different races	LA aMCI 127.63 (23.76) CA aMCI 160.51 (25.91) AA aMCI 106.28 (9.57) LA HC 104.81 (18.66) CA HC 96.02 (20.24) AA HC 103.33 (14.77)	LA $p < 0.05$ CA $p = 0.0001$ all groups $p = 0.0001$	LA aMCI 40.38 (4.76) CA aMCI 33.21 (2.81) AA aMCI 26.48 (2.61) LA HC 23.69 (2.34) C HC 34.82 (4.00) AA HC 26.95 (4.05)	<0.005 (LA) >0.05 (CA, AA)	LA aMCI 0.3 (0.05) C aMCI 0.16 (0.01) AA aMCI 0.41 (0.19) LA HC 0.4 (0.31) C HC 0.46 (0.09) AA HC 0.3 (0.05)	>0.05	ELISA
Yamashita et al., 2016 [94]	36	AD (18), HC (18)	AD 103.6 (11.8) fmol/mL HC 81.2 (9.8)	>0.05	AD 25.0 (5.3) HC 18.5 (2.8)	>0.05	AD 0.3 (0.1) HC 0.3 (0.0)	>0.05	ELISA
Rani et al., 2017 [95]	90	AD (45), HC (45)	-	-	AD 174.87 (62.15) HC 90.62 (42.35)	<0.001	-	-	ELISA
Sun et al., 2018 [96]	137	AD (76), HC (61)	AD 215.25 (54.26) HC 144.62 (47.20)	<0.001	AD 123.48 (45.89) HC 91.35 (36.39)	<0.001	-	-	ELISA
Chen et al., 2018 [97]	126	AD (96), HC (30)	AD 649.68 (132.21) HC 423.52 (100.99)	<0.001	AD 322.25 (76.04) HC 219.21 (62.51)	<0.001	Aβ40/42 AD 2.13 (0.66) HC 2.15 (0.95)	>0.05	ELISA
Bibl et al., 2007 [65]	85	AD (15), AD-CVD (20), VD (15), PD/PDD (20), HC (15)	AD 0.199 (0.099) AD-CVD 0.197 (0.083) VD 0.270 (0.103) PD/PDD 0.185 (0.069) HC 0.209 (0.087)	<0.05 (VD vs. HC) remaining $p > 0.05$	AD 0.022 (0.007) AD-CVD 0.023 (0.013) VD 0.022 (0.008) PD/PDD 0.023 (0.007) HC 0.025 (0.007)	>0.05	-	-	immunoblot

Table 2. *Cont.*

Study	N	Groups (*n*)	Aβ40 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	*p*	Aβ42 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	*p*	Aβ42/Aβ40 (SD or CI)	*p*	Method
Le Bastard et al., 2009 [98]	162	AD (48), non-AD (46), MCI (39), HC (29)	-	-	AD 40.5 (32.8–50.9) non-AD 42.1 (33.1–48.6) MCI 44.3 (38.3–55.8) HC 38.9 (31.0–46.1)	0.174	-	-	xMAP
Le Bastard et al., 2010 [99]	147	AD (50), non-AD (50), HC (47)	AD 306.8 (268.7–336.8) non-AD 292.7 (238.9–334.9) HC 284.8 (240.6–333.6)	0.347	AD 40.4 (32.1–50.8) non-AD 41.7 (33.4–48.0) HC 39.4 (29.4–46.7)	0.506	AD 0.135 (0.110–0.160) non-AD 0.152 (0.122–0.185) HC 0.137 (0.111–0.153)	0.056	xMAP
Sundelöf et al., 2010 [100]	213	AD (101), MCI (84), HC (28)	AD 145.9 (64.3) MCI 166.8 (57.1) HC 91.9 (28.5)	<0.05 (AD vs. HC and MCI vs. HC)	AD 28.5 (10.7 MCI 36.9 (11.7) HC 22.0 (9.2)	<0.05 (AD vs. HC and MCI vs. HC)	-	-	xMAP
Chou et al., 2016 [101]	781	AD (592), MCI (119), HC (170)	AD 173.1 (79.3) MCI 178.7 (54.6) HC 171.6 (64.3)	0.807 (AD vs. MCI) 0.318 (AD vs. HC)	AD 23.8 (15.1) MCI 23.6 (12.5) HC 23.7 (12.6)	0.899 (AD vs. MCI) 0.969 (MCI vs. HC)	AD 0.15 (0.25) MCI 0.14 (0.07) HC 0.15 (0.08)	0.904 (AD vs. HC) 0.189 (MCI vs. HC)	xMAP
Hsu et al., 2017 [102]	335	AD (177), MCI (60), HC (108)	AD 170.3 (63.9) MCI 171.1 (54.5) HC 143.7 (34.9)	0.0001 (AD vs. HC) 0.0013 (MCI vs. HC)	AD 37.2 (14.1) MCI 34.9 (9.5) HC 33.6 (10.2)	0.025 (AD vs. HC) 0.38 (MCI vs. HC)	AD 0.232 (0.095) MCI 0.210 (0.06) HC 0.239 (0.064)	0.14 (AD vs. HC) 0.0032 (MCI vs. HC)	xMAP
Hanon et al., 2018 [103]	1040	AD (501), aMCI (417), naMCI (122)	AD 263 (80) aMCI 269 (68) naMCI 272 (52)	0.04	AD 36.9 (11.7) aMCI 38.2 (11.9) naMCI 39.7 (10.5)	0.01	-	-	xMAP
Uslu et al., 2012 [104]	60	AD (18), MCI (16), HC (26)	AD 53.21 (34.69) MCI 47.98 (16.20) HC 65.84 (13.47)	>0.05	AD 34.22 (31.62) MCI 22.66 (20.83) HC 15.79 (0.56)	0.001 (AD vs. HC)	AD 0.6906 (0.3363) MCI 0.4502 (0.1864) HC 0.2464 (0.0370)	<0.001 (AD vs. HC and MCI vs. HC)	IMR
Chiu et al., 2012 [105]	60	AD (18), MCI (16), HC (26)	AD 53.21 (34.69) MCI 47.98 ± 16.20 HC 65.84 (13.47)	>0.05	AD 34.22 (31.62) MCI 22.66 (20.83) HC 15.79 (0.56)	0.001 (AD vs. HC)	AD 0.6906 (0.3363) MCI 0.4502 (0.1864) HC 0.2464 (0.0370)	AD vs. MCI $p < 0.001$ MCI vs. HC $p < 0.0001$	IMR
Tzen et al., 2014 [106]	45	AD (14), MCI (11), HC (20)	AD 36.9 (1.6) MCI 41.4 (1.8) HC 60.9 (6.4)	<0.001	AD 18.9 (0.3) MCI 17.2 (0.3) HC 15.9 (0.3)	<0.001	AD 0.52 (0.07) MCI 0.42 (0.07) HC 0.26 (0.03)	<0.001	IMR
Lee et al., 2017 [107]	140	AD (62), HC (78)	AD 43.9 (22.1) HC 61.1 (6.3) and 60.7 (6.9)	<0.001	AD 23.2 (18.4) HC 15.8 (0.3) and 16.0 (0.5)	<0.001	AD 0.55 (0.23) HC 0.26 (0.03) and 0.27 (0.04)	<0.001	IMR

Table 2. *Cont.*

Study	N	Groups (*n*)	Aβ40 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	*p*	Aβ42 Concentration [pg/mL] (SD or CI)	*p*	Aβ42/Aβ40 (SD or CI)	*p*	Method
Teunissen et al., 2018 [108]	106	AD 63 HC 43	AD 17.9 (4.3) HC 15.5 (2.1)	<0.001	-	-	-	-	IMR
Tang et al., 2018 [109]	79	AD (21), VD (34), HC (24)	HC > VD > AD	0.01 (AD vs. HC) <0.01 (VD vs. HC)	AD > VD > HC	<0.05 (AD vs. HC) <0.01 (AD vs. VD) <0.05 (VD vs. HC)	-	-	IMR
Fan et al., 2018 [110]	80	AD (16), MCI (25), HC (39)	AD 39.5 (5.8) MCI 41.5 (3.9) HC 59.2 (11.1)	<0.001 (AD vs. HC, MCI vs. HC)	AD 19.0 (2.7) MCI 17.0 (2.0) HC 16.1 (1.8)	<0.001 (AD vs. MCI, MCI vs. HC)	-	-	IMR
Tsai et al., 2019 [111]	90	AD (37), MCI (40), HC (13)	AD 51.7 (3.7) MCI 51.9 (4.9) HC 51.8 (5.1)	>0.05	AD 17.4 (1.0) MCI 17.0 (0.7) HC 16.7 (0.7)	<0.05 (AD + MCI vs. HC)	AD 0.338 (0.032) MCI 0.330 (0.035) HC 0.326 (0.035)	>0.05	IMR
Startin et al., 2019 [28]	54	AD (27), HC (27)	AD 160.80 (43.60–420.00) HC 144.40 (26.88–355.60)	0.506	AD 13.32 (4.28–18.84) HC 14.76 (2.00–45.62)	0.710	AD 0.08 (0.04–0.11) HC 0.10 (0.07–0.17)	<0.001	Simoa
Janelidze et al., 2016 [112]		AD (57), MCI (214), HC (274)	AD 244.3 (105.8) MCI 287.6 (77.0) HC 276.7 (66.1)	<0.001 (AD vs. HC) <0.0001 (AD vs. MCI)	AD 13.2 (7.3) MCI 18.8 (6.1) HC 19.6 (5.2)	<0.0001 (AD vs. HC) <0.0001 (AD vs. MCI)	AD 0.057 (0.022) MCI 0.066 (0.015) HC 0.073 (0.023)	0.0001 (AD vs. HC) 0.002 (MCI vs. HC) 0.003 (AD vs. MCI)	Simoa
Shi et al., 2009 [113]	155	MCI (68), HC (87)	MCI 157.65 (64.50) HC 183.76 (61.87)	0.011	MCI 5.95 (2.60) HC 8.14 (3.12)	0.000	-	-	Simoa
Kim et al., 2020 [66]	40	AD (20), HC (20)	AD 184 (67.8) HC 159 (78.0)	0.26	AD 6.49 (5.02) HC 19.3 (15.5)	<0.001	AD median approx. 0.1 HC median approx. 0.05 (from the graph)	<0.000001	CNT

SD, standard deviation; CI, confidence interval; AD, Alzheimer's disease; MCI, mild cognitive impairments; HC, control group; CDR, clinical dementia rating; VD, vascular dementia; PD, Parkinson's disease; mildAD, AD in mild level; m-sAD, moderate and severe AD; non-AD, dementia of etiology other than AD; aMCI, amnestic MCI subtype; naMCI, non-amnestic MCI subtype; ELISA, immunoenzymatic method; IMR, immunomagnetic reduction method; CNT, carbon nanotube array.

The amyloid peptide concentration ratio was assessed in 29 studies. In nine cases, the results were not statistically significant. Among the comparisons that were statistically significant, in 11 cases, the Aβ42/Aβ40 concentration ratio was higher in the control groups and, in seven cases, it was higher in the study groups. In two of the studies, the Aβ42/Aβ40 ratio was similar in the AD and control groups and significantly higher than in the MCI groups [68,102]. The results varied depending on laboratory methods use. None of the three studies using xMAP gave statistically significant results, while, in four out of five IMR studies, the Aβ42/Aβ40 ratio was significantly higher in the AD or MCI groups than in the controls. The results obtained in ELISA studies were highly inconsistent.

3.2. Tau Protein

Twenty cross-sectional tests, conducted to date, on t-tau concentration in patients with dementias and MCI serum, and which meet the search criteria, are listed in Table 3. One work included two separately examined cohorts [114]; 16 patients with AD and 12 patients with MCI were examined. Single tests referred to FTD (t-tau significantly higher than in control group [115]) and VD (t-tau significantly lower than in AD and higher than control group [87,109]). The identification of tau protein was conducted in seven studies by the Simoa method, in six studies by the ELISA method, in six studies by the IMR method, and in one study by CNT. The absolute values of t-tau concentration identified by the single molecule array (Simoa) method were lower by one to two orders of magnitude than values acquired by other methods.

Table 3. Studies on t-tau concentration in serum.

Study	N	Groups (*n*)	Tau Concentration in Serum (SD or CI) [pg/mL]	*p*	Method
Chiu et al., 2014 [116]	60	AD (10), MCI (20), HC (30)	AD 53.9 (11.7) MCI 32.7 (5.8) HC 15.6 (6.9)	<0.01 (MCI vs. AD) >0.05 (MCI vs. HC)	IMR
Tzen et al., 2014 [106]	45	AD (14), MCI (11), HC (20)	AD 46.7 (2.0) MCI 33.5 (2.2) HC 13.5 (5.5)	<0.001	IMR
Lee et al., 2017 [107]	140	AD (62), HC (78)	AD 47.5 (18.9) HC 15.0 (7.3) and 14.9 (5.5)	<0.001	IMR
Tang et al., 2018 [109]	79	AD (21), VD (34), HC (24)	AD > VD > HC	<0.001 (AD vs. HC) <0.01 (AD vs. VD) <0.05 (VD vs. HC)	IMR
Yang et al., 2018 [117]	73	AD (21), MCI (29), HC (23)	AD 37.54 (12.29) MCI 32.98 (10.18) HC 18.85 (10.16)	< 0.001 (AD vs. HC + MCI) >0.05 (MCI vs. HC)	IMR
Tsai et al., 2019 [111]	90	AD (37), MCI (40), HC (13)	AD 27.1 (4.8) MCI 24.5 (4.0) HC 22.5 (3.4)	<0.05	IMR
Wang et al., 2014 [85]	273	AD (97), MCI (54), HC (122)	AD 213.95 (44.57) MCI 209.61 (39.65) HC 214.94 (43.23)	0.457 (MCI vs. HC) remaining comparisons $p > 0.05$	ELISA
Krishnan et al., 2014 [87]	105	AD (30), VD (35), HC (40)	AD 458.62 (253.82) VD 718.3 (326.24) HC 879.19 (389.53)	<0.05 (AD vs. VD) <0.001 (AD vs. HC)	ELISA
Jiao et al., 2015 [89]	285	AD (156), HC (129)	AD 227.1 (102.2) HC 181.0 (103.2)	<0.001	ELISA
Shekhar et al., 2016 [118]	113	AD (39), MCI (37), HC (37)	AD 47.49 (9.00) MCI 39.26 (7.78) HC 34.92 (6.58)	<0.001 (AD vs. HC) <0.001 (AD vs. MCI) 0.059 (MCI vs. HC)	ELISA
Rani et al., 2017 [95]	90	AD (45), HC (45)	AD 451.76 (240.82) HC 836.93 (369.31)	<0.001	ELISA

Table 3. *Cont.*

Study	N	Groups (*n*)	Tau Concentration in Serum (SD or CI) [pg/mL]	*p*	Method
Jiang et al., 2019 [119]	238	AD (110), HC (128)	AD 26.14 (11.52) HC 15.02 (9.04)	<0.001	ELISA
Dage et al., 2016 [120]	439	MCI (161), HC (378)	MCI 4.34 HC 4.14	0.078	Simoa
Mattson et al., 2016 [114]	563 + 547 (two cohorts)	I: AD (179), MCI (195), HC (189), II: AD (61), MCI (212), HC (274)	AD 3.12 (1.50) and 5.37 (2.56) MCI 2.71 (1.32) and 5.46 (2.71) HC 2.58 (1.19) and 5.58 (2.51)	0.0017 and 0.58 (AD vs. MCI + HC)	Simoa
Mielke et al., 2017 [121]	458	MCI (123) HC (335)	MCI 4.5 (1.8) HC 4.2 (1.5)	0.28	Simoa
Deters et al., 2017 [122]	508	AD (168), MCI (174), HC (166)	AD 3.13 (1.3) MCI 2.81 (1.2) HC 2.71 (1)	0.002 (AD vs. MCI + HC)	Simoa
Mielke et al., 2018 [39]	267	AD (40), MCI (57), HC (172)	AD 7.2 (2.8) MCI 5.9 (2.8) HC 5.9 (1.9)	0.029 (AD vs. MCI) 0.001 (AD vs. HC) >0.05 (MCI vs. HC)	Simoa
Foiani et al., 2018 [115]	176	BvFTD (71), PPA (83), HC (22)	BvFTD 1.96 (1.07) PPA 2.65 (2.15) HC 1.67 (0.50)	<0.05 (FTD vs. HC)	Simoa
Shi et al., 2019 [113]	155	MCI (68), HC (87)	MCI 3.71 (2.3) HC 3.56 (1.84)	0.865	Simoa
Kim et al., 2020 [66]	40	AD (20), HC (20)	AD 32.2 (16.4) HC 13.4 (13.2)	<0.001	CNT

SD, standard deviation; CI, confidence interval; AD, Alzheimer's disease; MCI, mild cognitive impairments; HC, control group.

In 14 studies, t-tau concentration was higher as compared with a control group; in five studies, there was no significant difference; and in two studies [87,95], t-tau concentration was higher in the control group. A significantly higher concentration of t-tau protein in AD as compared with a control group was identified in 13 out of 16 studies, and AD as comparing with MCI in eight of nine studies. In addition, in studies comparing t-tau concentration between MCI and the control group, results indicating diagnostic usability of this marker were achieved in only two out of 12 comparisons.

In all six studies using the IMR method and in five out of six studies performed with ELISA determination, tau levels were significantly higher in AD/MCI patients. Simoa gave less consistent results, i.e., in three out of eight cohorts the differences among groups did not reach the statistical significance.

3.3. Amyloid Markers and Total Tau Protein Combinations

In database searches, there were four studies on t-tau/Aβ42 ratio as a dementia biomarker in serum. The results are listed in Table 4. In three studies, the t-tau/Aβ42 concentration ratio was higher in the control group than in the AD group, but, in one of them, this difference was not statistically relevant. The age gap between the AD groups and control groups could have influenced the obtained results from this study [28]. In the Krishnan et al. study, the combination of both markers was characterized by significantly higher diagnostic sensitivity in differentiation of AD from healthy subjects (90.3%, AUC 0.991), than each separate marker (80.6%), but specificity for t-tau, Aβ42, and markers ratio hovered around 67% [87]. Kim et al. acquired a higher t-tau to Aβ42 concentration ratio level in the test group, using a new identification technique [66]. Assessment of t-tau/Aβ42 in serum was also conducted by Park et al. Authors of this study did not provide a comparison among groups (AD, MCI, HC), but they were searching for a correlation of acquired biomarkers ratio to existence or non-existence of tau protein deposits by the use of PET. The researchers managed to show a relation between biomarkers concentration ratio and occurrence of tauopathy within cingulate gyrus, temporal, prefrontal, and orbitofrontal cortex [40].

Table 4. T-tau/Aβ42 diagnostic usability studies.

Study	N	Groups (*n*)	T-tau/Aβ42 (SD/CI)	*p*	Method
Krishnan et al., 2014 [87]	105	AD (30), VD (35), HC (40)	AD 3.42 (2.66) VD 5.76 (3.84) HC 15.06 (10.64)	<0.05 (AD vs. VD) <0.001 (AD vs. HC and VD vs. HC)	ELISA
Rani et al., 2017 [95]	90	AD (45), HC (45)	AD 3.08 (2.35) HC 13.36 (4.42)	<0.001	ELISA
Startin et al., 2019 [28]	54	AD (27), HC (27)	AD 10.23 (0.77-52) HC 10.59 (1.14–82.25)	>0.05	Simoa
Kim et al., 2020 [66]	40	AD (20), HC (20)	AD median about 5.5 HC median 2 (read from the figure)	<0.000001	CNT

SD, standard deviation; CI, confidence interval; AD, Alzheimer's disease; MCI, mild cognitive impairments; HC, control group.

Moreover, diagnostic usability of the t-tau/Aβ42 ratio identified by IMR method was assessed in two other studies. The results obtained by Chiu et al. pointed to 80% sensitivity and 82% specificity of the biomarker ratio in AD as compared with MCI, as well as 96% sensitivity and 97% specificity for the cognitive impairments group (AD and MCI) as compared with healthy subjects. The authors did not provide the *p* value for comparisons among groups [123]. In the Tsai et al. study, the difference between a cognitively impaired group and a control group was statistically relevant ($p < 0.05$), but in the AD and MCI groups the acquired values of the biomarker ratio overlapped (respectively 473.2 ± 107.4 and 418.3 ± 80.3) [111].

3.4. YKL-40

The adopted search criteria were met by five studies that focused on diagnostic and prognostic usability assessment of YKL-40 in MCI and dementia in serum of patients. Their results are listed in Table 5.

Table 5. YKL-40 concentration in serum studies.

Study	N	Groups (*n*)	YKL-40 Concentration in Serum (SD or CI) [ng/mL]	*p*	Method
Craig-Schapiro et al., 2010 [45]	237	AD (CDR1 and CDR0.5), HC	AD (CDR1): 91.9 (15) AD (CDR 0.5): 81.1 (8) HC (CDR 0): 62.5 (3.4)	0.031 (AD CDR1 vs. HC) 0.046 (AD CDR0.5 vs. AD)	ELISA
Choi et al., 2011 [124]	141	AD (61), MCI (41), HC (35)	AD: 376.86 (54.1) MCI:176.49 (25.69) HC: 96.91 (11.02)	0.014 (AD vs. HC) 0.008 (AD vs. MCI)	ELISA
Grewal et al., 2016 [93]	75	15 (aMCI) and 10 (HC) women of white race (CA), Afro-Americans (AA) and people of Latino origin (LA)	LA aMCI 114.08 (30.02) CA aMCI 93.39 (12.70) AA aMCI 54.26 (10.12) LA HC 54.2 (8.37) CA HC 70.92 (15.96) AA HC 54.66 (14.42)	0.033 (LA) 0.418 (CA) 0.988 (AA)	ELISA
Surendranatan et al., 2018 [125]	35	DLB (19), HC (16)	DLB 64.150 (46.616) HC 43.034 (28.357)	0.115	ELISA
Villar-Pique et al., 2019 [126]	315	CJD (78), AD (50), DLB (34), FTD (17), VD (22), ND (44), HC (70)	DLB: 167 (157) CJD: 189 (167) FTD: 125 (108) VD: 140 (150) AD: 133 (110) ND: 95 (61) HC: 84 (84)	<0.001 (CJD vs. HC) remaining $p > 0.05$	ELISA

SD, standard deviation; CI, confidence interval; AD, Alzheimer's disease; MCI, mild cognitive impairments; HC, control group; CDR, clinical dementia rating; CA, Caucasian race; AA, African American race; LA, Latino-American race; aMCI, amnestic MCI subtype; VD, vascular dementia; CJD, Creutzfeld–Jakob disease; DLB, dementia with Lewy bodies; FTD, frontotemporal dementia; ND, neurological diseases other than dementia.

Briefly, the findings of these five studies were the following:

1. Craig-Schapiro et al. found a statistically relevant increase in YKL-40 concentration in serum with disease progress which corresponded with results from CSF [45].
2. Choi et al. suggested that YKL-40 could be highly useful in the diagnostic of MCI progression to mild AD. This was supported by the highest marker increase among these groups and the correlation of acquired results with patient functioning, measured by the CDR scale at this stage of disease progression diagnosis [127]. The results of this study do not clearly reinforce the prognostic value of YKL-40 in serum, but they suggest its diagnostic usability in combination with other markers (Aβ42, tau, and p-tau) [124].
3. Grewal et al. examined women with amnestic MCI subtype from various ethnicity groups. Statistically significant concentration differences of YKL-40 among subgroups were identified only in the Latin American group. In addition, other measured biomarkers showed the differences of sensitivity among ethnic groups [93]. Amnestic type MCI is a state highly predisposing to AD, contrary to non-amnestic types which are the bases for developing other dementias. The results of prospective studies show that, every year, dementia is developed in 10–15% of patients with MCI [128].
4. Surendranathan et al. did not shown any statistically significant YKL-40 concentration differences between patients with DLB and a control group [125].
5. Villar-Pique et al. did not obtain any statistically relevant differences between AD patients and a control group. The acquired results were significantly divergent across groups. Among the tested groups, highly increased YKL-40 concentrations were observed in patients with CJD ($p < 0.001$) and to a lesser degree in patients with LBD ($p < 0.05$). The authors hypothesized that the crucial factor influencing the concentration of the marker in peripheral blood may be the damage level of the blood-brain barrier in the course of primary disease [126].

4. Discussion

In dozens of studies, conducted to date, comparing the concentrations of Aβ40, Aβ42, and Aβ42/Aβ40 in blood of dementia and MCI patients, the results have been incoherent. This constitutes a fairly surprising observation regarding the crucial role of Aβ in AD pathogenesis and proven diagnostic value of amyloid markers in CSF. The incoherence of the observed results suggest that Aβ concentration in serum does not reflect its level in brain tissue and CSF. It is equally probable that not enough restrictive selection of a control group regarding comorbidities or imprecision of used laboratorial methods could have had an influence on these results.

Tau protein is characterized by higher specificity than other markers. In common, typically for the elderly somatic disorders, there was no increase in its concentration. The concentration of tau protein increases mainly in tauopathies, from which many of them are rare diseases. Therefore, t-tau may be the preferred marker in patients with somatic ailments. The most common tauopathy, other than AD, is FTD. The t-tau concentration in serum is increased in both of these diseases, however it seems that regarding specific FTD symptoms (behavioral problems preceding dementia and distinctive aphasia) differentiation of these diseases may not be a major diagnostic problem. According to many experts, tau protein hyperphosphorylation and its accumulation in the form of neurofiber tangles is secondary to amyloidopathy. The results of studies have highlighted that the lack of an increase in t-tau, in patients with MCI, could possibly be confirmation of this theory. T-tau may, thus, serve as a marker of progression from MCI to AD. However, it seems useless in asymptomatic stages and MCI diagnostics.

The past failure to identify a single, sensitive, and specific dementia serum marker implies attempts using combinations of more than one biomarker. In several studies, conducted to date, comparing values of t-tau and Aβ indicator, the acquired results were promising, and therefore this seems to be a good reason for further studies.

There are not many works on using YKL-40 in dementia diagnostics. Studies by Craig-Schapiro et al. [45], Choi et al. [124], and Grewal et al. [93] have given hope for its use in diagnostics of early stage dementias (MCI and mild stage AD). Less promising results were acquired by Villar-Pique et al. [126]. Due to the increase in this marker in many other diseases, there is an assumption that its usage may be limited only to the patients without any somatic comorbidity.

Considering the results of amyloid markers separately for individual laboratory methods, we noticed some differences. In the case of amyloid markers, on the one hand, almost all tests performed with the IMR method gave consistent, statistically significant results, in contrast to the determinations by ELISA or xMAP. On the other hand, the Simoa method, often used for the determination of tau protein concentrations, in the analyzed works, gave much less consistent results as compared with ELISA and IMR. Therefore, it seems that the laboratory method used may influence the obtained results.

Author Contributions: Conceptualization, N.W. and K.W.; methodology, K.W. and N.W.; software—not applicable; validation—not applicable; formal analysis, K.W.; investigation, K.W.; resources, K.W.; data curation, K.W.; writing—original draft preparation, K.W.; writing—review and editing, K.W. and N.W.; visualization, K.W and N.W.; supervision, N.W.; project administration, K.W. and N.W.; funding acquisition–not applicable. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Alzheimer's Association. 2018 Alzheimer's Disease Facts and Figures. *Alzheimers Dement.* **2018**, *14*, 367–429. [CrossRef]
2. Katsnelson, A.; De Strooper, B.; Zoghbi, H.Y. Neurodegeneration: From cellular concepts to clinical applications. *Sci. Transl. Med.* **2016**, *8*, 364ps18. [CrossRef] [PubMed]
3. Smith, E.E. Cerebral amyloid angiopathy as a cause of neurodegeneration. *J. Neurochem.* **2018**, *144*, 651–658. [CrossRef] [PubMed]
4. Dichev, V.; Kazakova, M.; Sarafian, V. YKL-40 and neuron-specific enolase in neurodegeneration and neuroinflammation [published online ahead of print, 2020 Feb 11]. *Rev. Neurosci.* **2020**. [CrossRef]
5. O'Brien, J.T.; Thomas, A. Vascular dementia. *Lancet* **2015**, *386*, 1698–1706. [CrossRef]
6. Cheng, C.; Huang, C.L.; Tsai, C.J.; Chou, P.H.; Lin, C.C.; Chang, C.K. Alcohol-related dementia: A systemic review of epidemiological studies. *Psychosomatics* **2017**, *58*, 331–342. [CrossRef]
7. Fernando, M.S.; Ince, P.G.; MRC Cognitive Function and Ageing Neuropathology Study Group. Vascular pathologies and cognition in a population-based cohort of elderly people. *J. Neurol. Sci.* **2004**, *226*, 13–17. [CrossRef]
8. Schneider, J.A.; Arvanitakis, Z.; Bang, W.; Bennett, D.A. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology* **2007**, *69*, 2197–2204. [CrossRef]
9. Rambaran, R.N.; Serpell, L.C. Amyloid fibrils: Abnormal protein assembly. *Prion* **2008**, *2*, 112–117. [CrossRef]
10. Puig, K.L.; Combs, C.K. Expression and function of APP and its metabolites outside the central nervous system. *Exp. Gerontol.* **2013**, *48*, 608–611. [CrossRef]
11. van der Kant, R.; Goldstein, L.S. Cellular functions of the amyloid precursor protein from development to dementia. *Dev. Cell* **2015**, *32*, 502–515. [CrossRef]
12. Bekris, L.M.; Yu, C.E.; Bird, T.D.; Tsuang, D.W. Genetics of Alzheimer disease. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* **2010**, *23*, 213–227. [CrossRef] [PubMed]
13. Nigam, S.M.; Xu, S.; Kritikou, J.S.; Marosi, K.; Brodin, L.; Mattson, M.P. Exercise and BDNF reduce Aβ production by enhancing α-secretase processing of APP. *J. Neurochem.* **2017**, *142*, 286–296. [CrossRef] [PubMed]
14. Duncan, R.S.; Song, B.; Koulen, P. Presenilins as drug targets for Alzheimer's disease-recent insights from cell biology and electrophysiology as novel opportunities in drug development. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 1621. [CrossRef] [PubMed]

15. Molinuevo, J.L.; Ayton, S.; Batrla, R.; Bednar, M.M.; Bittner, T.; Cummings, J.; Fagan, A.M.; Hampel, H.; Mielke, M.M.; O'bryant, S.; et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers. *Acta Neuropathol.* **2018**, *136*, 821–853. [CrossRef]
16. Wang, R.; Wang, S.; Malter, J.S.; Wang, D.S. Effects of HNE-modification induced by Abeta on neprilysin expression and activity in SH-SY5Y cells. *J. Neurochem.* **2009**, *108*, 1072–1082. [CrossRef] [PubMed]
17. Butterfield, D.; Mattson, M. Apolipoprotein E and oxidative stress in brain with relevance to Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.* **2020**, *138*, 104795. [CrossRef]
18. Gwon, A.R.; Park, J.S.; Arumugam, T.V.; Kwon, Y.K.; Chan, S.L.; Kim, S.H.; Baik, S.H.; Yang, S.; Yun, Y.K.; Kim, S.; et al. Oxidative lipid modification of nicastrin enhances amyloidogenic γ-secretase activity in Alzheimer's disease. *Aging Cell* **2012**, *11*, 559–568. [CrossRef]
19. Fan, L.; Mao, C.; Hu, X.; Zhang, S.; Yang, Z.; Hu, Z.; Sun, H.; Fan, Y.; Dong, Y.; Yang, J.; et al. New insights into the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Front. Neurol.* **2020**, *10*, 1312. [CrossRef]
20. Puzzo, D.; Argyrousi, E.K.; Staniszewski, A.; Zhang, H.; Calcagno, E.; Zuccarello, E.; Acquarone, E.; Fa', M.; Puma, D.D.L.; Grassi, C.; et al. Tau is not necessary for amyloid-beta-induced synaptic and memory impairments. *J. Clin. Investig.* **2020**, *130*, 4831–4844. [CrossRef]
21. Ossenkoppele, R.; Jansen, W.J.; Rabinovici, G.D.; Knol, D.L.; van der Flier, W.M.; van Berckel, B.N.M.; Scheltens, P.; Visser, P.J. Prevalence of amyloid PET positivity in dementia syndromes: A meta-analysis. *JAMA* **2015**, *313*, 1939–1949. [CrossRef] [PubMed]
22. Lewczuk, P.; Riederer, P.; O'Bryant, S.E.; Verbeek, M.M.; Dubois, B.; Visser, P.J.; Jellinger, K.A.; Engelborghs, S.; Ramirez, A.; Parnetti, L.; et al. Cerebrospinal fluid and blood biomarkers for neurodegenerative dementias: An update of the Consensus of the Task Force on Biological Markers in Psychiatry of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry. *World J. Biol. Psychiatry* **2018**, *19*, 244–328. [CrossRef] [PubMed]
23. Jin, W.S.; Bu, X.L.; Liu, Y.H.; Shen, L.L.; Zhuang, Z.Q.; Jiao, S.S.; Zhu, C.; Wang, Q.H.; Zhou, H.D.; Zhang, T.; et al. Plasma amyloid-beta levels in patients with different types of cancer. *Neurotox. Res.* **2017**, *31*, 283–288. [CrossRef]
24. Gronewold, J.; Klafki, H.W.; Baldelli, E.; Kaltwasser, B.; Seidel, U.K.; Todica, O.; Volsek, M.; Haussmann, U.; Wiltfang, J.; Kribben, A.; et al. Factors responsible for plasma β-amyloid accumulation in chronic kidney disease. *Mol. Neurobiol.* **2016**, *53*, 3136–3145. [CrossRef]
25. Wang, Y.R.; Wang, Q.H.; Zhang, T.; Liu, Y.H.; Yao, X.Q.; Zeng, F.; Li, J.; Zhou, F.Y.; Wang, L.; Yan, J.C.; et al. Associations between hepatic functions and plasma amyloid-beta levels-implications for the capacity of liver in peripheral amyloid-beta clearance. *Mol. Neurobiol.* **2017**, *54*, 2338–2344. [CrossRef] [PubMed]
26. Chojdak-Łukasiewicz, J.; Małodobra-Mazur, M.; Zimny, A.; Noga, L.; Paradowski, B. Plasma tau protein and Aβ42 level as markers of cognitive impairment in patients with Parkinson's disease. *Adv. Clin. Exp. Med. Off. Organ Wroc. Med Univ.* **2020**, *29*, 115–121. [CrossRef] [PubMed]
27. Lee, Y.H.; Martin, J.M.; Maple, R.L.; Tharp, W.G.; Pratley, R.E. Plasma amyloid-beta peptide levels correlate with adipocyte amyloid precursor protein gene expression in obese individuals. *Neuroendocrinology* **2009**, *90*, 383–390. [CrossRef]
28. Startin, C.M.; Ashton, N.J.; Hamburg, S.; Hithersay, R.; Wiseman, F.K.; Mok, K.Y.; Hardy, J.; Lleó, A.; Lovestone, S.; Parnetti, L. Plasma biomarkers for amyloid, tau, and cytokines in Down syndrome and sporadic Alzheimer's disease. *Alzheimers Res. Ther.* **2019**, *11*, 26. [CrossRef]
29. Yasuda, S.; Baba, H.; Maeshima, H.; Shimano, T.; Inoue, M.; Ichikawa, T.; Shukuzawa, H.; Suzuku, T.; Arai, H. Serum levels and mutual correlations of amyloid β in patients with depression. *Geriatr. Gerontol. Int.* **2020**, *20*, 125–129. [CrossRef]
30. Zhang, S.; Huang, S.Y.; An, X.B.; Zeng, L.; Ai, J. Medical histories of control subjects influence the biomarker potential of plasma Aβ in Alzheimer's disease: A meta-analysis. *J. Mol. Neurosci.* **2020**, *70*, 861–870. [CrossRef]
31. Zhang, C.C.; Xing, A.; Tan, M.S.; Tan, L.; Yu, J.T. The role of MAPT in neurodegenerative diseases: Genetics, mechanisms and therapy. *Mol. Neurobiol.* **2016**, *53*, 4893–4904. [CrossRef] [PubMed]
32. Castellani, R.J.; Perry, G. Tau Biology, Tauopathy, Traumatic Brain Injury, and Diagnostic Challenges. *J. Alzheimers Dis.* **2019**, *67*, 447–467. [CrossRef] [PubMed]
33. Wu, X.L.; Piña-Crespo, J.; Zhang, Y.W.; Chen, X.C.; Xu, H.X. Tau-mediated neurodegeneration and potential implications in diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chin. Med. J.* **2017**, *130*, 2978–2990. [CrossRef]

34. Tapia-Rojas, C.; Cabezas-Opazo, F.; Deaton, C.A.; Vergara, E.H.; Johnson, G.V.W.; Quintanilla, R.A. It's all about tau. *Prog. Neurobiol.* **2019**, *175*, 54–76. [CrossRef]
35. Barthélemy, N.R.; Horie, K.; Sato, C.; Bateman, R.J. Blood plasma phosphorylated-tau isoforms track CNS change in Alzheimer's disease. *J. Exp. Med.* **2020**, *217*, e20200861. [CrossRef]
36. Irwin, D.J. Tauopathies as clinicopathological entities. *Parkinsonism Relat. Disord.* **2016**, *22* (Suppl. 1), S29–S33. [CrossRef]
37. Llorens, F.; Villar-Piqué, A.; Candelise, N.; Ferrer, I.; Zerr, I. Tau protein as a biological fluid biomarker in neurodegenerative dementias. In *Cognitive Disorders*; Foyaca Sibat, H., Ed.; IntechOpen: London, UK, 2019. [CrossRef]
38. Bateman, R.J.; Barthélemy, N.R.; Horie, K. Another step forward in blood-based diagnostics for Alzheimer's disease. *Nat. Med.* **2020**, *26*, 314–316. [CrossRef] [PubMed]
39. Mielke, M.M.; Hagen, C.E.; Xu, J.; Chai, X.; Vemuri, P.; Lowe, V.J.; Airey, D.C.; Knopman, D.S.; Roberts, R.O.; Machulda, M.M. Plasma phospho-tau181 increases with Alzheimer's disease clinical severity and is associated with tau- and amyloid-positron emission tomography. *Alzheimers Dement.* **2018**, *14*, 989–997. [CrossRef]
40. Park, J.C.; Han, S.H.; Yi, D.; Byun, M.S.; Lee, J.H.; Jang, S.; Ko, K.; Jeon, S.Y.; Lee, Y.S.; Kim, Y.K.; et al. Plasma tau/amyloid-β1-42 ratio predicts brain tau deposition and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Brain* **2019**, *142*, 771–786. [CrossRef]
41. Calsolaro, V.; Edison, P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. *Alzheimers Dement.* **2016**, *12*, 719–732. [CrossRef]
42. Di Rosa, M.; Malaguarnera, L. Chitinase 3 like-1: An emerging molecule involved in diabetes and diabetic complications. *Pathobiology* **2016**, *83*, 228–242. [CrossRef] [PubMed]
43. Yeo, I.J.; Lee, C.K.; Han, S.B.; Yun, J.; Hong, J.T. Roles of chitinase 3-like 1 in the development of cancer, neurodegenerative diseases, and inflammatory diseases. *Pharmacol. Ther.* **2019**, *203*, 107394. [CrossRef] [PubMed]
44. Prakash, M.; Bodas, M.; Prakash, D.; Nawani, N.; Khetmalas, M.; Mandal, A.; Eriksson, C. Diverse pathological implications of YKL-40: Answers may lie in 'outside-in' signaling. *Cell Signal.* **2013**, *25*, 1567–1573. [CrossRef] [PubMed]
45. Craig-Schapiro, R.; Perrin, R.J.; Roe, C.M.; Xiong, C.; Carter, D.; Cairns, N.J.; Mintun, M.A.; Peskind, E.R.; Li, G.; Galasko, D.R. YKL-40: A novel prognostic fluid biomarker for preclinical Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry* **2010**, *68*, 903–912. [CrossRef]
46. Llorens, F.; Thüne, K.; Tahir, W.; Kanata, E.; Diaz-Lucena, D.; Xanthopoulos, K.; Kovatsi, E.; Pleschka, C.; Garcia-Esparcia, P.; Schmitz, M.; et al. YKL-40 in the brain and cerebrospinal fluid of neurodegenerative dementias. *Mol. Neurodegener.* **2017**, *12*, 83. [CrossRef] [PubMed]
47. Gispert, J.D.; Monté, G.C.; Suárez-Calvet, M.; Falcon, C.; Tucholka, A.; Rojas, S.; Rami, L.; Sánchez-Valle, R.; Lladó, A.; Kleinberger, G. The *APOE* ε4 genotype modulates CSF YKL-40 levels and their structural brain correlates in the continuum of Alzheimer's disease but not those of sTREM2. *Alzheimers Dement.* **2016**, *6*, 50–59. [CrossRef] [PubMed]
48. Choi, J.Y.; Yeo, I.J.; Kim, K.C.; Choi, W.R.; Jung, J.K.; Han, S.B.; Hong, J.T. K284-6111 prevents the amyloid beta-induced neuroinflammation and impairment of recognition memory through inhibition of NF-κB-mediated CHI3L1 expression. *J. Neuroinflamm.* **2018**, *15*, 224. [CrossRef]
49. Akboğa, M.K.; Yalçın, R.; Şahinarslan, A.; Yılmaz Demirtaş, C.; Paşaoğlu, H.; Abacı, A. Increased serum YKL-40 level is associated with the presence and severity of metabolic syndrome. *Anatol. J. Cardiol.* **2016**, *16*, 953–958. [CrossRef] [PubMed]
50. Jin, Y.; Cao, J.N.; Wang, C.X.; Feng, Q.T.; Ye, X.H.; Xu, X.; Yang, C.J. High serum YKL-40 level positively correlates with coronary artery disease. *Biomark. Med.* **2017**, *11*, 133–139. [CrossRef] [PubMed]
51. Marott, S.C.; Benn, M.; Johansen, J.S.; Jensen, G.B.; Tybjærg-Hansen, A.; Nordestgaard, B.G. YKL-40 levels and atrial fibrillation in the general population. *Int. J. Cardiol.* **2013**, *167*, 1354–1359. [CrossRef]
52. Mutlu, L.C.; Tülübaş, F.; Alp, R.; Kaplan, G.; Yildiz, Z.D.; Gürel, A. Serum YKL-40 level is correlated with apnea hypopnea index in patients with obstructive sleep apnea sindrome. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2017**, *21*, 4161–4166. [PubMed]
53. Xu, T.; Zhong, C.; Wang, A.; Gou, Z.; Bu, X.; Zhou, Y.; Tian, Y.; HuangFu, X.; Zhu, Z.; Zhang, Y. YKL-40 is a novel biomarker for predicting hypertension incidence among prehypertensive subjects: A population-based nested case-control study in China. *Clin. Chim. Acta* **2017**, *472*, 146–150. [CrossRef] [PubMed]

54. Park, H.Y.; Jun, C.D.; Jeon, S.J.; Choi, S.S.; Kim, H.R.; Choi, D.B.; Kwak, S.; Lee, H.S.; Cheong, J.S.; So, H.S. Serum YKL-40 levels correlate with infarct volume, stroke severity, and functional outcome in acute ischemic stroke patients. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e51722. [CrossRef] [PubMed]
55. Sanfilippo, C.; Longo, A.; Lazzara, F.; Cambria, D.; Distefano, G.; Palumbo, M.; Cantarella, A.; Malaguarnera, L.; Di Rosa, M. CHI3L1 and CHI3L2 overexpression in motor cortex and spinal cord of sALS patients. *Mol. Cell. Neurosci.* **2017**, *85*, 162–169. [CrossRef] [PubMed]
56. Chung, C.; Tallerico, T.; Seeman, P. Schizophrenia hippocampus has elevated expression of chondrex glycoprotein gene. *Synapse* **2003**, *50*, 29–34. [CrossRef]
57. Rymo, I.; Kern, S.; Bjerke, M.; Zetterberg, H.; Marlow, T.; Blennow, K.; Gudmundsson, P.; Skoog, I.; Waern, M. CSF YKL-40 and GAP-43 are related to suicidal ideation in older women. *Acta Psychiatr. Scand.* **2017**, *135*, 351–357. [CrossRef] [PubMed]
58. Querol-Vilaseca, M.; Colom-Cadena, M.; Pegueroles, J.; San Martín-Paniello, C.; Clarimon, J.; Belbin, O.; Fortea, J.; Lleó, A. YKL-40 (Chitinase 3-like I) is expressed in a subset of astrocytes in Alzheimer's disease and other tauopathies. *J. Neuroinflamm.* **2017**, *14*, 118. [CrossRef]
59. Isgren, A.; Sellgren, C.; Ekman, C.J.; Holmén-Larsson, J.; Blennow, K.; Zetterberg, H.; Jakobson, J.; Landén, M. Markers of neuroinflammation and neuronal injury in bipolar disorder: Relation to prospective clinical outcomes. *Brain Behav. Immun.* **2017**, *65*, 195–201. [CrossRef]
60. Keshavan, A.; Heslegrave, A.; Zetterberg, H.; Schott, J.M. Blood biomarkers for Alzheimer's disease: Much promise, cautious progress. *Mol. Diagn. Ther.* **2017**, *21*, 13–22. [CrossRef]
61. Hampel, H.; O'Bryant, S.E.; Molinuevo, J.L.; Zetterberg, H.; Masters, C.L.; Lista, S.; Kiddle, S.J.; Batrla, R.; Blennow, K. Blood-based biomarkers for Alzheimer disease: Mapping the road to the clinic. *Nat. Rev. Neurol.* **2018**, *14*, 639–652. [CrossRef]
62. Olsson, B.; Lautner, R.; Andreasson, U.; Öhrfelt, A.; Portelius, E.; Bjerke, M.; Hölttä, M.; Rosén, C.; Olsson, C.; Strobel, G.; et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* **2016**, *15*, 673–684. [CrossRef]
63. Thijssen, E.H.; La Joie, R.; Wolf, A.; Strom, A.; Wang, P.; Iacarrino, L.; Bourakova, V.; Cobigo, Y.; Heuer, H.; Spina, S.; et al. Diagnostic value of plasma phosphorylated tau181 in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration. *Nat. Med.* **2020**, *26*, 387–397. [CrossRef] [PubMed]
64. Blennow, K.; Zetterberg, H. Biomarkers for Alzheimer's disease: Current status and prospects for the future (Review). *J. Intern. Med.* **2018**, *284*, 643–663. [CrossRef] [PubMed]
65. Bibl, M.; Esselmann, H.; Mollenhauer, B.; Weniger, G.; Welge, V.; Liess, M.; Lewczuk, P.; Otto, M.; Schulz, J.B.; Trenkwalder, C.; et al. Blood-based neurochemical diagnosis of vascular dementia: A pilot study. *J. Neurochem.* **2007**, *103*, 467–474. [CrossRef]
66. Kim, K.; Kim, M.J.; Kim, D.W.; Kim, S.Y.; Park, S.; Park, C.B. Clinically accurate diagnosis of Alzheimer's disease via multiplexed sensing of core biomarkers in human plasma. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 119. [CrossRef]
67. Mehta, P.D.; Pirttilä, T.; Mehta, S.P.; Sersen, E.A.; Aisen, P.S.; Wisniewski, H.M. Plasma and cerebrospinal fluid levels of amyloid beta proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **2000**, *57*, 100–105. [CrossRef]
68. Sobów, T.; Flirski, M.; Kłoszewska, I.; Liberski, P.P. Plasma levels of Aβ peptides are altered in amnestic mild cognitive impairment but not in Alzheimer's disease. *Acta Neurobiol. Exp.* **2005**, *65*, 117–124.
69. Pesaresi, M.; Lovati, C.; Bertora, P.; Mailland, E.; Galimberti, D.; Scarpini, E.; Quadri, P.; Forloni, G.; Mariani, C. Plasma levels of beta-amyloid (1-42) in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging* **2006**, *27*, 904–905. [CrossRef]
70. Fagan, A.M.; Roe, C.M.; Xiong, C.; Mintun, M.A.; Morris, J.C.; Holtzman, D.M. Cerebrospinal fluid tau/beta-amyloid(42) ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch. Neurol.* **2007**, *64*, 343–349. [CrossRef]
71. Abdullah, L.; Paris, D.; Luis, C.; Quadros, A.; Parrish, J.; Valdes, L.; Keegan, A.P.; Mathura, V.; Crawford, F.; Mullan, M. The influence of diagnosis, intra- and inter-person variability on serum and plasma Abeta levels. *Neurosci. Lett.* **2007**, *428*, 53–58. [CrossRef]
72. Baranowska-Bik, A.; Bik, W.; Wolinska-Witort, E.; Martynska, L.; Chmielowska, M.; Barcikowska, M.; Baranowska, B. Plasma beta amyloid and cytokine profile in women with Alzheimer's disease. *Neuroendocrinol. Lett.* **2008**, *29*, 75–79. [PubMed]

73. Xu, W.; Kawarabayashi, T.; Matsubara, E.; Deguchi, K.; Murakami, T.; Harigaya, Y.; Ikeda, M.; Amari, M.; Kuwano, R.; Abe, K.; et al. Plasma antibodies to Abeta40 and Abeta42 in patients with Alzheimer's disease and normal controls. *Brain Res.* **2008**, *1219*, 169–179. [CrossRef] [PubMed]
74. Ait-ghezala, G.; Abdullah, L.; Volmar, C.H.; Paris, D.; Luis, C.A.; Quadros, A.; Mouzon, B.; Mullan, M.A.; Keegan, A.P.; Parrish, J.; et al. Diagnostic utility of APOE, soluble CD40, CD40L, and Abeta1-40 levels in plasma in Alzheimer's disease. *Cytokine* **2008**, *44*, 283–287. [CrossRef] [PubMed]
75. Roher, A.E.; Esh, C.L.; Kokjohn, T.A.; Castaño, E.M.; Van Vickle, G.D.; Kalback, W.M.; Patton, L.; Luehrs, D.C.; Daugs, I.D.; Kuo, Y.M.; et al. Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and their significance for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* **2009**, *5*, 18–29. [CrossRef] [PubMed]
76. Sedaghat, F.; Dedousi, E.; Costa, V.; Dimitriadis, A.S.; Baloyannis, S.J. Plasma levels of amyloid beta1-42 are independent of neuronal function in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **2009**, *17*, 343–348. [CrossRef] [PubMed]
77. Luis, C.A.; Abdullah, L.; Paris, D.; Quadros, A.; Mullan, M.; Mouzon, M.; Ait-Ghezala, G.; Crawford, F.; Mullan, M. Serum beta-amyloid correlates with neuropsychological impairment. *Neuropsychol. Dev. Cogn. B Aging Neuropsychol. Cogn.* **2009**, *16*, 203–218. [CrossRef]
78. Cammarata, S.; Borghi, R.; Giliberto, L.; Pardini, M.; Pollero, V.; Novello, C.; Fornato, M.; Vitali, A.; Bracco, L.; Caltagirone, C.; et al. Amyloid-beta42 plasma levels are elevated in amnestic mild cognitive impairment. *J. Alzheimers Dis.* **2009**, *18*, 267–271. [CrossRef]
79. Lui, J.K.; Laws, S.M.; Li, Q.X.; Villemagne, V.L. Plasma amyloid-beta as a biomarker in Alzheimer's disease: The AIBL study of aging. *J. Alzheimers Dis.* **2010**, *20*, 1233–1242. [CrossRef]
80. Konno, T.; Hata, S.; Hamada, Y.; Horikoshi-Sakuraba, Y.; Nakaya, T.; Saito, Y.; Yamamoto, T.; Yamamoto, T.; Maeda, M.; Ikeuchi, T.; et al. Coordinated increase of γ-secretase reaction products in the plasma of some female Japanese sporadic Alzheimer's disease patients: Quantitative analysis of p3-Alcα with a new ELISA system. *Mol. Neurodegener.* **2011**, *6*, 76. [CrossRef]
81. Han, Y.; Jia, J.; Jia, X.F.; Qin, W.; Wang, S. Combination of plasma biomarkers and clinical data for the detection of sporadic Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* **2012**, *516*, 232–236. [CrossRef]
82. Zhang, J.; Jia, J.; Qin, W.; Wang, S. Combination of plasma tumor necrosis factor receptors signaling proteins, beta-amyloid and apolipoprotein E for the detection of Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* **2013**, *541*, 99–104. [CrossRef]
83. Huang, C.W.; Wang, S.J.; Wu, S.J.; Yang, C.C.; Huang, M.W.; Lin, C.H.; Cheng, I.H. Potential blood biomarker for disease severity in the Taiwanese population with Alzheimer's disease. *Am. J. Alzheimers Dis. Other Dement.* **2013**, *28*, 75–83. [CrossRef] [PubMed]
84. Ruiz, A.; Pesini, P.; Espinosa, A.; Pérez-Grijalba, V.; Valero, S.; Sotolongo-Grau, O.; Alegret, M.; Monleón, I.; Laufente, A.; Buendia, M.; et al. Blood amyloid beta levels in healthy, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease individuals: Replication of diastolic blood pressure correlations and analysis of critical covariates. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e81334.
85. Wang, T.; Xiao, S.; Liu, Y.; Lin, Z.; Su, N.; Li, X.; Li, G.; Zhang, M.; Fang, Y. The efficacy of plasma biomarkers in early diagnosis of Alzheimer's disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **2014**, *29*, 713–719. [CrossRef]
86. Tzikas, S.; Schlak, D.; Sopova, K.; Gatsiou, A.; Stakos, D.; Stamatelopoulos, K.; Stellos, K.; Laske, C. Increased myeloperoxidase plasma levels in patients with Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **2014**, *39*, 557–564. [CrossRef] [PubMed]
87. Krishnan, S.; Rani, P. Evaluation of selenium, redox status and their association with plasma amyloid/tau in Alzheimer's disease. *Biol. Trace Elem. Res.* **2014**, *158*, 158–165. [CrossRef] [PubMed]
88. Kleinschmidt, M.; Schoenfeld, R.; Göttlich, C.; Bittner, D.; Metzner, J.E.; Leplow, B.; Demuth, H.U. Characterizing aging, mild cognitive impairment, and dementia with blood-based biomarkers and neuropsychology. *J. Alzheimers Dis.* **2016**, *50*, 111–126. [CrossRef] [PubMed]
89. Jiao, S.; Bu, X.; Liu, Y.; Wang, Q.H.; Liu, C.H.; Yao, X.Q.; Zhou, X.F.; Wang, Y.J. Differential levels of p75NTR ectodomain in CSF and blood in patients with Alzheimer's disease: A novel diagnostic marker. *Transl. Psychiatry* **2015**, *5*, e650. [CrossRef]
90. Igarashi, K.; Yoshida, M.; Waragai, M.; Kashiwagi, K. Evaluation of dementia by acrolein, amyloid-β and creatinine. *Clin. Chim. Acta* **2015**, *450*, 56–63. [CrossRef]

91. Kim, H.J.; Park, K.W.; Kim, T.E.; Im, J.Y.; Shin, H.S.; Kim, S.; Lee, D.H.; Ye, B.H.; Kim, J.H.; Kim, E.J.; et al. Elevation of the plasma Aβ40/Aβ42 ratio as a diagnostic marker of sporadic early-onset Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **2015**, *48*, 1043–1050. [CrossRef]
92. Poljak, A.; Crawford, J.D.; Smythe, G.A.; Brodaty, H.; Slavin, M.J.; Kochan, N.A.; Trollor, J.N.; Wen, W.; Mather, K.A.; Assareh, A.A.; et al. The relationship between plasma Aβ levels, cognitive function and brain volumetrics: Sydney memory and ageing study. *Curr. Alzheimer Res.* **2016**, *13*, 243–255. [CrossRef] [PubMed]
93. Grewal, R.; Haghighi, M.; Huang, S.; Smith, A.G.; Cao, C.; Lin, X.; Lee, D.C.; Teten, N.; Hill, A.M.; Selenica, M.L.B. Identifying biomarkers of dementia prevalent among amnestic mild cognitively impaired ethnic female patients. *Alzheimers Res. Ther.* **2016**, *8*, 43. [CrossRef] [PubMed]
94. Yamashita, S.; Kiko, T.; Fujiwara, H.; Hashimoto, M.; Nakagawa, K.; Kinoshita, M.; Furukawa, K.; Arai, H.; Miyazawa, T. Alterations in the levels of amyloid-β, phospholipid hydroperoxide, and plasmalogen in the blood of patients with Alzheimer's disease: Possible interactions between amyloid-β and these lipids. *J. Alzheimers Dis.* **2016**, *50*, 527–537. [CrossRef] [PubMed]
95. Rani, P.; Krishnan, S.; Rani Cathrine, C. Study on analysis of peripheral biomarkers for Alzheimer's disease diagnosis. *Front. Neurol.* **2017**, *8*, 328. [CrossRef]
96. Sun, H.L.; Li, W.W.; Zhu, C.; Jin, W.S.; Liu, Y.H.; Zeng, F.; Wang, Y.J.; Bu, X.L. The correlations of plasma and cerebrospinal fluid amyloid-beta levels with platelet count in patients with Alzheimer's disease. *BioMed Res. Int.* **2018**, 1–7. [CrossRef]
97. Chen, K.; Gao, T.; Bai, Z.; Yuan, Z. Circulating APP, NCAM and Aβ serve as biomarkers for Alzheimer's disease. *Brain Res.* **2018**, *1699*, 117–120. [CrossRef] [PubMed]
98. Le Bastard, N.; Aerts, L.; Leurs, J.; Blomme, W.; De Deyn, P.P.; Engelborghs, S. No correlation between time-linked plasma and CSF Aβ levels. *Neurochem. Int.* **2009**, *55*, 820–825. [CrossRef]
99. Le Bastard, N.; Leurs, J.; Blomme, W.; De Deyn, P.P.; Engelborghs, S. Plasma amyloid-beta forms in Alzheimer's disease and non-Alzheimer's disease patients. *J. Alzheimers Dis.* **2010**, *21*, 291–301. [CrossRef]
100. Sundelöf, J.; Sundström, J.; Hansson, O.; Eriksdotter-Jönhagen, M.; Giedraitis, V.; Larsson, A.; Degerman-Gunnarsson, M.; Ingelsson, M.; Minthon, L.; Blennow, K.; et al. Higher cathepsin B levels in plasma in Alzheimer's disease compared to healthy controls. *J. Alzheimers Dis.* **2010**, *22*, 1223–1230. [CrossRef]
101. Chou, C.T.; Liao, Y.C.; Lee, W.J.; Wang, S.J.; Fuh, J.L. SORL1 gene, plasma biomarkers, and the risk of Alzheimer's disease for the Han Chinese population in Taiwan. *Alzheimers Res. Ther.* **2016**, *8*, 53. [CrossRef]
102. Hsu, J.L.; Lee, W.J.; Liao, Y.C.; Lirng, J.F.; Wang, S.J.; Fuh, J.L. Plasma biomarkers are associated with agitation and regional brain atrophy in Alzheimer's disease. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 5035. [CrossRef]
103. Hanon, O.; Vidal, J.S.; Lehmann, S.; Bombois, S.; Allinquant, B.; Tréluyer, J.M.; Gelé, P.; Delmaire, C.; Blanc, F.; Mangin, J.F.; et al. Plasma amyloid levels within the Alzheimer's process and correlations with central biomarkers. *Alzheimers Dement.* **2018**, *14*, 858–868. [CrossRef] [PubMed]
104. Uslu, S.; Akarkarasu, Z.E.; Ozbabalik, D.; Ozkan, S.; Çolak, O.; Demirkan, E.S.; Ozkiris, A.; Demirustu, C.; Alatas, O. Levels of amyloid beta-42, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Neurochem. Res.* **2012**, *37*, 1554–1559. [CrossRef]
105. Chiu, M.J.; Yang, S.Y.; Chen, T.F.; Chieh, J.J.; Huang, T.Z.; Yip, P.K.; Yang, H.C.; Cheng, T.W.; Chen, Y.F.; Hua, M.S.; et al. New assay for old markers-plasma beta amyloid of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res.* **2012**, *9*, 1142–1148. [CrossRef] [PubMed]
106. Tzen, K.Y.; Yang, S.Y.; Chen, T.F.; Cheng, T.W.; Horng, H.E.; Wen, H.P.; Huang, Y.Y.; Shiue, C.Y.; Chiu, M.J. Plasma Aβ but not tau is related to brain PiB retention in early Alzheimer's disease. *ACS Chem. Neurosci.* **2014**, *5*, 830–836. [CrossRef]
107. Lee, N.C.; Yang, S.Y.; Chieh, J.J.; Huang, P.T.; Chang, L.M.; Chiu, Y.N.; Huang, A.C.; Chien, Y.H.; Hwu, W.L.; Chiu, M.J. Blood beta-amyloid and tau in Down syndrome: A comparison with Alzheimer's disease. *Front. Aging Neurosci.* **2016**, *8*, 316. [CrossRef] [PubMed]
108. Teunissen, C.E.; Chiu, M.J.; Yang, C.C.; Yang, S.H.; Scheltens, P.; Zetterberg, H.; Blennow, K. plasma amyloid-β (Aβ42) correlates with cerebrospinal fluid Aβ42 in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **2018**, *62*, 1857–1863. [CrossRef]
109. Tang, S.C.; Yang, K.C.; Chen, C.H.; Yang, S.Y.; Chiu, M.J.; Wu, C.C.; Jeng, J.S. Plasma β-amyloids and tau proteins in patients with vascular cognitive impairment. *Neuromol. Med.* **2018**, *20*, 498–503. [CrossRef]

110. Fan, L.Y.; Tzen, K.Y.; Chen, Y.F.; Chen, T.F.; Lai, Y.M.; Yen, R.F.; Huang, Y.Y.; Shiue, C.Y.; Yang, S.Y.; Chiu, M.J. The relation between brain amyloid deposition, cortical atrophy, and plasma biomarkers in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Front. Aging Neurosci.* **2018**, *10*, 175. [CrossRef]
111. Tsai, C.L.; Liang, C.S.; Lee, J.T.; Su, M.W.; Lin, C.C.; Chu, H.T.; Tsai, C.K.; Lin, G.Y.; Lin, Y.K.; Yang, F.C. Associations between plasma biomarkers and cognition in patients with Alzheimer's disease and amnestic mild cognitive impairment: A cross-sectional and longitudinal study. *J. Clin. Med.* **2019**, *8*, 1893. [CrossRef]
112. Janelidze, S.; Stomrud, E.; Palmqvist, S.; Zetterberg, H.; van Westen, D.; Jeromin, A.; Song, L.; Hanlon, D.; Tan Hehir, C.A.; Baker, D.; et al. Plasma β-amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 26801. [CrossRef] [PubMed]
113. Shi, Y.; Lu, X.; Zhang, L.; Shu, H.; Gu, L.; Wang, Z.; Gao, L.; Zhu, J.; Zhang, H.; Zhou, D.; et al. Potential value of plasma amyloid-β, total tau, and neurofilament light for identification of early Alzheimer's disease. *ACS Chem. Neurosci.* **2019**, *10*, 3479–3485. [CrossRef] [PubMed]
114. Mattsson, N.; Zetterberg, H.; Janelidze, S.; Insel, P.S.; Andreasson, U.; Stomrud, E.; Palmqvist, S.; Baker, D.; Tan Hehir, C.A.; Jeromin, A.; et al. Plasma tau in Alzheimer disease. *Neurology* **2016**, *87*, 1827–1835. [CrossRef] [PubMed]
115. Foiani, M.S.; Woollacott, I.O.; Heller, C.; Bocchetta, M.; Heslegrave, A.; Dick, K.M.; Russell, L.L.; Marshall, C.R.; Mead, S.; Schott, J.M.; et al. Plasma tau is increased in frontotemporal dementia. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **2018**, *89*, 804–807. [CrossRef] [PubMed]
116. Chiu, M.J.; Chen, Y.F.; Chen, T.F.; Yang, S.H.; Yang, F.P.G.; Tseng, T.W.; Chieh, J.J.; Rare Chen, J.C.; Tzen, K.Y.; Hua, M.S.; et al. Plasma tau as a window to the brain-negative associations with brain volume and memory function in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Hum. Brain Mapp.* **2014**, *35*, 3132–3142. [CrossRef] [PubMed]
117. Yang, C.C.; Chiu, M.J.; Chen, T.F.; Chang, H.L.; Liu, B.H.; Yang, S.Y. Assay of plasma phosphorylated tau protein (threonine 181) and total tau protein in early-stage Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **2018**, *61*, 1323–1332. [CrossRef] [PubMed]
118. Shekhar, S.; Kumar, R.; Rai, N.; Kumar, V.; Singh, K.; Upadhay, A.D.; Tripathi, M.; Dwivedi, S.; Dey, A.B.; Dey, S. Estimation of tau and phosphorylated tau181 in serum of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment patients. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0159099. [CrossRef]
119. Jiang, T.; Gong, P.Y.; Tan, M.S.; Xue, X.; Huang, S.; Zhou, J.S.; Tan, L.; Zhang, Y.D. Soluble TREM1 concentrations are increased and positively correlated with total tau levels in the plasma of patients with Alzheimer's disease. *Aging Clin. Exp. Res.* **2019**, *31*, 1801–1805. [CrossRef]
120. Dage, J.L.; Wennberg, A.M.V.; Airey, D.C.; Hagen, C.E.; Knopman, D.S.; Machulda, M.M.; Roberts, R.O.; Jack, C.R., Jr.; Petersen, R.C.; Mielke, M.M. Levels of tau protein in plasma are associated with neurodegeneration and cognitive function in a population-based elderly cohort. *Alzheimers Dement.* **2016**, *12*, 1226–1234. [CrossRef]
121. Mielke, M.M.; Hagen, C.E.; Wennberg, A.M.V.; Airey, D.C.; Savica, R.; Knopman, D.S.; Machulda, M.M.; Roberts, R.O.; Jack, C.R., Jr.; Petersen, R.C.; et al. Association of plasma total tau level with cognitive decline and risk of mild cognitive impairment or dementia in the Mayo Clinic study on aging. *JAMA Neurol.* **2017**, *74*, 1073–1080. [CrossRef]
122. Deters, K.D.; Risacher, S.L.; Kim, S.; Nho, K.; West, J.D.; Blennow, K.; Zetterberg, H.; Shaw, L.M.; Trojanowski, J.Q.; Weiner, M.W.; et al. Plasma tau association with brain atrophy in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **2017**, *58*, 1245–1254. [CrossRef] [PubMed]
123. Chiu, M.J.; Yang, S.Y.; Horng, H.E.; Yang, C.C.; Chen, T.F.; Chieh, J.J.; Chen, H.H.; Chen, T.C.; Ho, C.S.; Chang, S.F.; et al. Combined plasma biomarkers for diagnosing mild cognition impairment and Alzheimer's disease. *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 1530–1536. [CrossRef] [PubMed]
124. Choi, J.; Lee, H.W.; Suk, K. Plasma level of chitinase 3-like 1 protein increases in patients with early Alzheimer's disease. *J. Neurol.* **2011**, *258*, 2181–2185. [CrossRef]
125. Surendranathan, A.; Su, L.; Mak, E.; Passamonti, L.; Hong, Y.T.; Arnold, R.; Rodriguez, P.V.; Bevan-Jones, W.R.; Brain, S.A.E.; Fryer, T.; et al. Early microglial activation and peripheral inflammation in dementia with Lewy bodies. *Brain* **2018**, *141*, 3415–3427. [CrossRef] [PubMed]
126. Villar-Piqué, A.; Schmitz, M.; Hermann, P.; Goebel, S.; Bunck, T.; Varges, D.; Ferrer, I.; Riggert, J.; Llorens, F.; Zerr, I. Plasma YKL-40 in the spectrum of neurodegenerative dementia. *J. Neuroinflamm.* **2019**, *16*, 145. [CrossRef]

127. Kim, J.W.; Byun, M.S.; Sohn, B.K.; Yi, D.; Seo, E.H.; Choe, Y.M.; Kim, S.G.; Choi, H.J.; Lee, J.H.; Chee, I.S.; et al. Clinical dementia rating orientation score as an excellent predictor of the progression to Alzheimer's disease in mild cognitive impairment. *Psychiatry Investig.* **2017**, *14*, 420–426. [CrossRef]
128. Roberts, R.; Knopman, D.S. Classification and epidemiology of MCI. *Clin. Geriatr. Med.* **2013**, *29*, 753–772. [CrossRef]

10. Kopia publikacji oryginalnej

frontiers in Psychiatry

ORIGINAL RESEARCH
published: 13 September 2021
doi: 10.3389/fpsyt.2021.725511

Serum Amyloid Biomarkers, Tau Protein and YKL-40 Utility in Detection, Differential Diagnosing, and Monitoring of Dementia

Karolina Wilczyńska[1]*, *Mateusz Maciejczyk*[2], *Anna Zalewska*[3] and *Napoleon Waszkiewicz*[1]

[1] Department of Psychiatry, Medical University of Białystok, Białystok, Poland, [2] Department of Hygiene, Epidemiology and Ergonomics, Medical University of Białystok, Białystok, Poland, [3] Experimental Dentistry Laboratory, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

OPEN ACCESS

Edited by:
Fabrizio Piras,
Santa Lucia Foundation (IRCCS), Italy

Reviewed by:
Matthias Schmitz,
University Medical Center Göttingen, Germany
Ram J. Bishnoi,
Augusta University, United States

***Correspondence:**
Karolina Wilczyńska
karolinawilczynska88@gmail.com

Specialty section:
This article was submitted to Aging Psychiatry, a section of the journal Frontiers in Psychiatry

Received: *15 June 2021*
Accepted: *23 August 2021*
Published: *13 September 2021*

Citation:
Wilczyńska K, Maciejczyk M, Zalewska A and Waszkiewicz N (2021) Serum Amyloid Biomarkers, Tau Protein and YKL-40 Utility in Detection, Differential Diagnosing, and Monitoring of Dementia. Front. Psychiatry 12:725511. doi: 10.3389/fpsyt.2021.725511

Introduction: The diagnosis and treatment of dementia is one of the greatest challenges in contemporary health care. The widespread use of dementia biomarkers would improve the quality of life of patients and reduce the economic costs of the disease. The aim of the study was to evaluate the usefulness of proteins related to the Alzheimer's disease pathogenesis—amyloid beta isoform (Aβ) and total tau protein (t-tau), as well as the quite recently discovered marker YKL-40 in the most common types of dementia.

Methods: 60 dementia (AD—Alzheimer's disease, VaD—vascular dementia, MxD—mixed dementia) and 20 cognitively normal subjects over 60 years old were examined. Subjects with dementia of etiology different than AD or VaD and with neoplastic or chronic inflammatory diseases were excluded. Concentrations of Aβ40, Aβ42, t-tau, and YKL-40 were measured in serum using ELISA kits on admission and after 4 weeks of inpatient treatment. ANOVA and Tukey's test or Dunn's test were used to perform comparison tests between groups. Correlations were measured using Pearson's coefficient. Biomarker diagnostic utility was assessed with ROC analysis.

Results: YKL-40 differentiates between cognitively normal and mild dementia patients with 85% sensitivity and specificity and t-tau with 72% sensitivity and 70% specificity. YKL-40 and t-tau concentrations correlate with each other and with the severity of clinically observed cognitive decline.

Conclusions: YKL-40 is a sensitive and specific biomarker of early dementia and, to a lesser extent, of dementia progression, however, many comorbidities may influence its levels. In such conditions, less specific but still reliable t-tau may serve as an alternative marker. Obtained results did not confirm the diagnostic utility of amyloid biomarkers.

Keywords: Alzheimer's dementia (AD), vascular dementia (VaD), mixed dementia, amyloid beta, tau protein, YKL-40 (chitinase 3-like 1), serum

INTRODUCTION

Dementia is a group of diseases causing cognitive dysfunction and disturbing functioning in everyday life (1). According to World Health Organization, around 50 million people in the world have dementia and every year there are nearly 10 million new cases (2).

The most common cause of dementia is Alzheimer's disease (AD), found in 60–80% of dementia cases. AD is a primary degenerative disease resulting from the accumulation of amyloid beta (Aβ) plaques in the perineural spaces and fibrillary tangles composed of tau protein inside neurons, leading to nerve cell damage and death. In about half of AD patients, another predominantly vascular cause of dementia coexists, which is classified as mixed dementia (MxD). Vascular dementia (VaD) is the second most common cause of dementia and it accounts for 10% of total dementia cases, while in another 30% it is a component of MxD (1).

The diagnosis of dementia is often made too late due to the insufficient availability of specialistic healthcare and lack of training of personnel (3). To date, the use of AD biomarkers is limited by their high cost, low availability, and invasiveness of the CSF collection procedure (3). A diagnostic test based on a serum biomarker could be widely used, as blood collection is cheaper, faster, less invasive, and more acceptable for the patient (4). An ideal biomarker should give reliable and reproducible results, be inexpensive and easy to use (5), and be related to the neuropathology of the disease, and validated in neuropathologically confirmed cases. It should also be detectable in the early stages of dementia and not be affected by applied treatment. It has been considered that an acceptable level of sensitivity and specificity of the AD biomarker is >85% (4). Biomarkers may also be used to assess the likelihood of preclinical disease occurrence and further prognosis, differential diagnosis, therapeutic response, or disease progression (4). In the process of drug development, biomarkers could help in subject selection and group assignment, as well as in the study drug evaluation (5).

Due to their key role in the pathogenesis of AD, amyloid markers and tau protein are considered as potential biomarkers of dementia in serum. Aβ1-42 is the major component of amyloid plaques, negatively correlating with the burden of amyloid deposits in the brain tissue, while Aβ1-40 is a more soluble, less amyloidogenic form which may even protect against Aβ deposition (5). Amyloidopathy also occurs in VaD as cerebral amyloid angiopathy (6). Some studies have yet confirmed the correlation between blood Aβ1-42 and Aβ1-40 concentrations and the presence of AD (7–9), while the results of other studies contradicted this thesis (10–12). The concentrations of amyloid markers in vascular dementia have been also investigated (13).

The second key element of AD pathogenesis is tauopathy (5). Some studies have confirmed the increase of total tau protein (t-tau) in the serum of AD (14–16) and FTD subjects (17). In a study including a VaD group, the highest t-tau concentrations were obtained in AD, an intermediate in VaD, and the lowest in controls (13).

An inflammatory marker YKL-40 is also considered as a potential biomarker of dementia (18), neoplastic diseases, and chronic inflammation (19). The increase in YKL-40 concentration in AD results from the activation of proinflammatory cells due to cell death caused by the accumulation of beta amyloid (20). Therefore far, the increase in the concentration of this marker in AD has been confirmed in two cross-sectional studies (21, 22).

MATERIALS AND METHODS

Participants

Subjects with dementia were recruited among patients of the psychiatric hospital in Choroszcz, Poland. All subjects gave their informed consent before participation in the study. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Ethics Committee of Medical University of Białystok (R-I-002/62/2016).

Examined subjects were hospitalized for psychiatric reasons. Patients with more severe cognitive decline were hospitalized for disorders associated with dementia (e.g., behavioral symptoms), while those with mild dementia—for in-depth neurocognitive diagnosis or for other mental disorders (e.g., anxiety disorders). First, they were prescreened with Mini Mental State Examination (MMSE) according to the PAR MMSE Clinical Guide Reorder #RO-4922. The cut-off MMSE score was set on 23 points. After prescreening, 100 demented patients without inflammatory and neoplastic comorbidities were included.

Subsequently, to exclude secondary dementia, all of them underwent: brain computed tomography and blood tests: morphology, sodium, potassium, chloride, total calcium, urea, creatinine, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), C-reactive protein, thyroid stimulating hormone, folic acid, and vitamin B12. In all subjects, laboratory test results were either within the normal range or showed slight, clinically insignificant deviations from the reference values (**Supplementary Table 1**). Due to the possibility of a decrease in cognitive functioning secondary to depression, the presence of depression was excluded using the Geriatric Depression Scale (GDS).

The diagnosis of dementia subtypes was established clinically by experienced clinical psychologists and psychiatrists based on the case history, observation, computed tomography (presence or absence of vascular lesions in the central nervous system) and a battery of neuropsychological tests selected individually for each patient. The tests were matched to the individual level of cognitive functioning and included tools such as ACE-R, Verbal Fluency Test, Frontal Assessment Battery, Stroop test, Rey Complex Figure Test, Rey Auditory Verbal Learning Test, Trail Marking Test. Patients with clinical features of primary dementia other than AD, such as Lewy body dementia or FTD, were not eligible for the study. The final diagnosis was made based on ICD-10 research criteria [**Table 1**; (23)].

Of the 100 prescreened subjects, 60 patients with dementia were finally qualified for biomarker determinations, including 20 with AD, 20 with VaD, and 20 with MxD with Alzheimer's and vascular features. The subjects chosen from prescreened group had the lowest burden of comorbidities in order to minimize

TABLE 1 | ICD-10 dementia research diagnostic criteria used in the study (23).

DEMENTIA		
G1. Evidence of each of the following: (1) A decline in memory, which is most evident in the learning of new information, although in more severe cases, the recall of previously learned information may be also affected. The impairment applies to both verbal and non-verbal material. The decline should be objectively verified by obtaining a reliable history from an informant, supplemented, if possible, by neuropsychological tests or quantified cognitive assessments. For example, the individual has difficulty in registering, storing and recalling elements in daily living, such as where belongings have been put, social arrangements, or information recently imparted by family members. (2) A decline in other cognitive abilities characterized by deterioration in judgement and thinking, such as planning and organizing, and in the general processing of information. Evidence for this should be obtained when possible from interviewing an informant, supplemented, if possible, by neuropsychological tests or quantified objective assessments. Deterioration from a previously higher level of performance should be established. Activities are increasingly restricted and poorly sustained. G2. Preserved awareness of the environment [i.e., absence of clouding of consciousness (as defined in F05, criterion A)] during a period of time long enough to enable the unequivocal demonstration of G1. G3 A decline in emotional control or motivation, or a change in social behavior, manifest as at least one of the following: (1) emotional lability; (2) irritability; (3) apathy; (4) coarsening of social behavior. G4. For a confident clinical diagnosis, G1 should have been present for at least 6 months; if the period since the manifest onset is shorter, the diagnosis can only be tentative.		
AD (F00)	**VaD (F01)**	**MxD (F00.2)**
A. The general criteria for dementia (G1 to G4) must be met. B. There is no evidence from the history, physical examination, or special investigations for any other possible cause of dementia (e.g., cerebrovascular disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, normal pressure hydrocephalus), a systemic disorder (e.g., hypothyroidism, vit. B12 or folic acid deficiency, hypercalcaemia), or alcohol- or drug-abuse.	G1. The general criteria for dementia (G1 to G4) must be met. G2. Unequal distribution of deficits in higher cognitive functions, with some affected and others relatively spared. Thus memory may be quite markedly affected while thinking, reasoning and information processing may show only mild decline. G3. There is clinical evidence of focal brain damage, manifest as at least one of the following: (1) unilateral spastic weakness of the limbs; (2) unilaterally increased tendon reflexes; (3) an extensor plantar response; (4) pseudobulbar palsy. G4. There is evidence from the history, examination, or tests, of a significant cerebrovascular disease, which may reasonably be judged to be etiologically related to the dementia (e.g., a history of stroke; evidence of cerebral infarction).	A. All of the AD criteria, except from the absence of cerebrovascular disease met. B. VaD criteria met.

the possible impact of these diseases and their treatment on the study results. Assessment of the MMSE scale was performed by the same investigator twice (at the beginning and after 4 weeks of treatment) in the study group. Raw MMSE results were adjusted for age and education level of examined subjects using the formula: adjusted MMSE = raw MMSE − (0.471 × [Education-12]) + (0.131 × [Age-70]) (24). The blood for biomarker determination was collected twice—on admission and after 4 weeks of inpatient treatment.

To assess the impact of dementia severity on biomarker concentrations, we also divided the subjects with dementia into two groups. Patients with an adjusted MMSE score ≥20 points were qualified for the mild dementia group (MD) and those with lower MMSE scores for the moderate to severe dementia group (MSD). The MD group contained 17 subjects (4 AD, 7 VaD, and 6 MxD) and the MSD group-−43 subjects (16 AD, 13 VaD, 14 MxD). The demographic characteristics of the groups are shown in **Supplementary Table 2**.

The control group was consisted of 20 cognitively normal attenders of the Healthy Senior University at the Faculty of Health Sciences of the Medical University of Bialystok. The healthy volunteers had adjusted Mini Mental State Examination (MMSE) test results within the normal range (27 points or more). In the control group, the occurrence of chronic inflammatory and neoplastic diseases was excluded using the medical history and a panel of laboratory tests. As in the study groups, depression was excluded using the GDS scale.

All participants were over 60 years of age.

Biomarker Determination

Blood was collected from the ulnar vein, centrifuged, and then frozen at −80°C until the biomarker determination was performed. In the study groups, blood was taken twice—on admission and after 4 weeks of hospitalization, to assess the possible impact of the treatment on the concentration of biomarkers. The concentration of YKL-40, t-tau, Aβ1-40, and Aβ1-42 in serum was determined by enzyme immunoassay ELISA using ready-made diagnostic kits from USCN Life Science, Wuhan, China. The manufacturer's instructions were followed. The absorbance of the samples was measured using an Infinite M200 PRO Multimode Microplate Reader (Tecan). All determinations were made in duplicate tests.

Statistical Analysis

Statistical analysis of the results was performed with GraphPad Prism 7.0 for MacOS (GraphPad Software, La Jolla, USA). The D'Agostino-Pearson test and the Shapiro-Wilk test were used to assess the normality of the distribution, and the Leven test to assess the homogeneity of variance. All data are presented in graphs or tables as mean and standard deviation (SD).

For comparisons between groups, ANOVA and Tukey's test were used, and in the absence of normal distribution—the Kruskal-Wallis and Dunn's test ANOVA. Multiplicity adjusted *p*-value was also calculated. Correlations between biomarkers were assessed using the Pearson correlation coefficient. Multivariate analysis of the simultaneous impacts of many independent variables on one quantitative dependent variable was made by means of linear regression. Gender, age, and MMSE were included as independent variables; 95% confidence intervals (CI) were reported along with regression parameters. The diagnostic usefulness analysis of biomarkers was assessed using Receiver Operating Curve (ROC) analysis. The confidence intervals of sensitivity and specificity were calculated using Wilson/Brown method. The level of statistical significance was set at $p \leq 0.05$.

RESULTS

Demographics and Diagnostic Tests

The analysis of variance showed no statistically significant differences in the age and education of the respondents between the groups (**Supplementary Table 1**). The groups were consisted of 60 women and 20 men (AD - 6; VaD - 4; MxD - 5; C - 5 men).

The results of basic examinations and studies aimed at excluding secondary causes of dementia were within the normal range. The only statistically significant differences between the groups were observed in the concentrations of sodium, chloride, MCV, platelecrit, aspartate aminotransferase, and blood glucose (**Supplementary Table 1**). All subjects of the study group had brain CT scan. Only those without CNS vascular changes were qualified to the AD group. None of the subjects had acute brain hemorrhage or ischemia, tumors, or other lesions that might indicate a cause of dementia other than AD or VaD. The GDS test ruled out depression in all participants. The obtained GDS results ranged 0–6 points. Assessment of the MMSE scale was performed once in the control group and twice (at the beginning and after 4 weeks of treatment) in the study group. The obtained results were comparable in all groups with dementia and statistically significantly lower than in the control group. There were no significant differences in the adjusted MMSE score before and after 4 weeks of inpatient treatment (**Figure 1**).

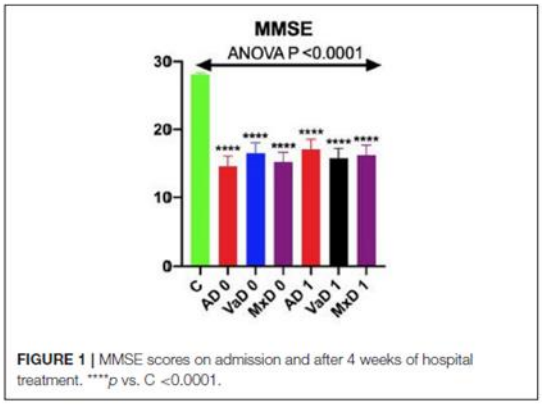


FIGURE 1 | MMSE scores on admission and after 4 weeks of hospital treatment. ****p vs. C <0.0001.

TABLE 2 | Statistically significant correlations found between MMSE, inflammatory parameters and analyzed biomarkers.

Parameters	*R*	95% CI	*p*
YKL-40 0 and YKL-40 1	0.461	0.2342 to 0.6398	< 0.0001
YKL-40 0 and Aβ1-42/Aβ1-40 0	0.288	0.03707 to 0.5052	0.026
YKL-40 0 and MMSE 0	−0.614	−0.7507 to −0.4263	< 0.0001
YKL-40 1 and t-tau 1	0.36	0.1163 to 0.5622	0.005
YKL-40 1 and MMSE 1	−0.563	−0.7145 to −0.3601	< 0.0001
YKL-40 1 and CRP	0.29	−0.2512 to 0.2566	0.025
YKL-40 1 and Neu	0.507	0.2861 to 0.6767	< 0.0001
t-tau 0 and MMSE 0	−0.287	−0.5041 to −0.03550	0.026
t-tau 1 and MMSE 1	−0.287	−0.5041 to −0.03551	0.026
t-tau 1 and Neu	0.269	0.01127 to 0.4929	0.041
Aβ1-40 0 and Aβ1-40 1	0.323	0.07473 to 0.5328	0.012
Aβ1-40 0 and Aβ1-40/Aβ1-42 0	−0.819	−0.8881 to −0.7131	< 0.0001
Aβ1-40/AB1-42 1 and Aβ1-40 1	−0.778	−0.2503 to 0.2575	< 0.0001
MMSE 0 and CRP	−0.407	−0.5992 to −0.1710	0.001
MMSE 0 and Neu	−0.674	−0.7937 to −0.5027	< 0.0001

MMSE, Mini Mental State Examination; CRP, C-reactive protein; Neu, neutrophils; Leu, leucocytes; YKL-40 0, YKL-40 concentration on admission; YKL-40 1, YKL-40 concentration after 4 weeks of treatment; MMSE 0, MMSE on admission etc.

Correlation of Biomarker Concentrations With the Assessed Parameters

YKL-40 correlated with the concentrations of other markers (t-tau and Aβ1-42/Aβ1-40), the severity of dementia as reflected by the MMSE score, and the parameters of inflammation (C-reactive protein and percentage of neutrophils). A negative correlation with ALT activity was also observed.

T-tau correlated positively with YKL-40 and dementia severity (negative correlation with the MMSE score). Among the laboratory parameters, the correlation with the percentage of neutrophils and the concentrations of sodium, calcium, and creatinine achieved the level of statistical significance.

Correlations between the values of the Aβ1-42/Aβ1-40 index and the concentrations of YKL-40 and Aβ1-40 were also observed. There was no relationship between amyloid markers and t-tau concentrations. The concentrations of Aβ1-40 and Aβ1-42 also correlated with the concentration of chloride and the values of some blood count parameters. Statistically significant correlations between biomarkers, MMSE, inflammatory parameters and obtained in statistical analysis are summarized in **Table 2**. All other statistically significant correlations were put in **Supplementary Table 3**.

Differences in Biomarker Concentrations in Various Types of Dementia

Figure 2 shows the biomarker concentrations in controls and in demented subjects on admission and after 4 weeks of treatment. YKL-40 concentrations in all dementia types, both on admission and after 4 weeks, were statistically significantly higher than in the control group. The concentrations of other biomarkers were higher only on admission. Significantly higher concentrations of t-tau were observed in AD and MxD.

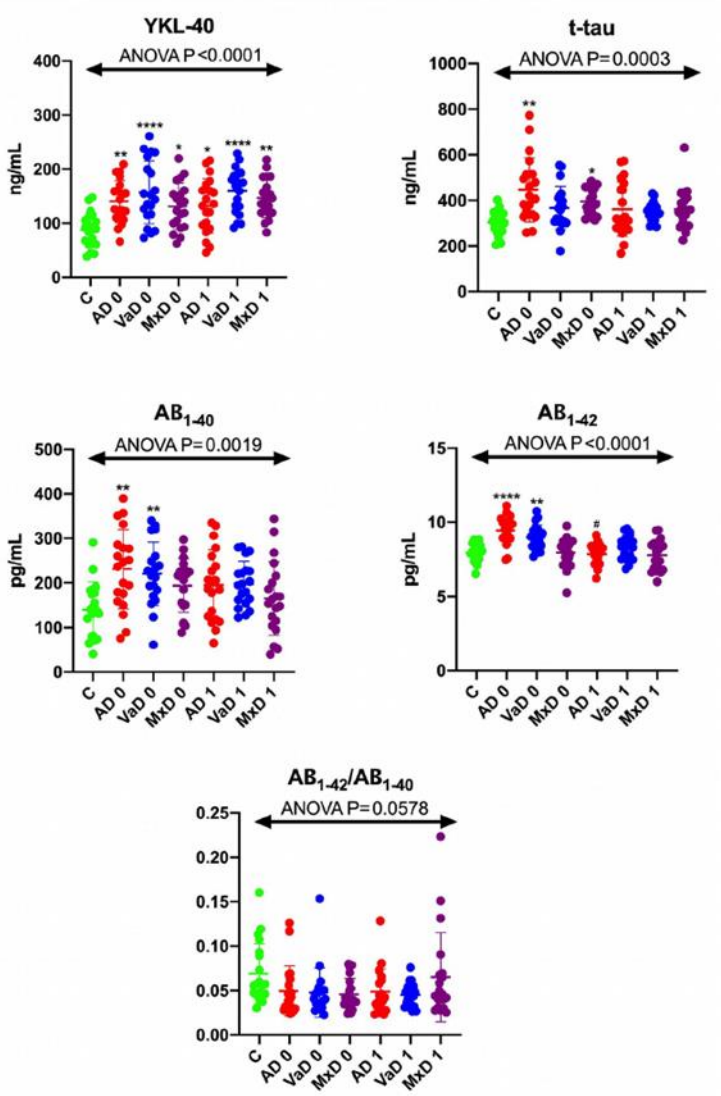


FIGURE 2 | Biomarker concentrations in control and dementia patients on admission and after 4 weeks of treatment. Results are presented as mean, standard deviation (SD) and individual values. C, control group ($n = 20$); AD 0, patients with Alzheimer's dementia on admission ($n = 20$); VaD 0, patients with vascular dementia on admission ($n = 20$); MxD, patients with mixed dementia on admission ($n = 20$); AD 1, patients with Alzheimer's dementia after 4 weeks of treatment ($n = 20$); VaD 0, patients with vascular dementia after 4 weeks of treatment ($n = 20$); MxD, patients with mixed dementia after 4 weeks of treatment ($n = 20$). $^{*}p < 0.05$ vs. C, $^{**}p < 0.005$ vs. C, $^{****}p < 0.0001$ vs. C, $^{\#}p < 0.05$ vs. AD 0.

Aβ1-40 and Aβ1-42 were increased in AD and VaD, which is not surprising considering that amyloidopathy occurs in both dementia types. The Aβ1-42/Aβ1-40 ratio did not differ significantly between the groups.

The ROC analysis (**Table 3**) indicates a high sensitivity and specificity (70–85%) of YKL-40 in the differentiation between dementia and the control group, however, it does not confirm the utility of YKL-40 in differentiating dementias of various

TABLE 3 | ROC analysis of serum YKL-40 in different types of dementia.

	AUC	95% CI	*P*	Cut-off	Sensitivity%	95% CI	Specificity%	95% CI
t-tau								
C vs. AD 0	0.845	0.7188–0.9712	0.0002	>338.4	75	53.13–88.81%	70	48.10–85.45%
C vs. VaD 0	0.7175	0.5561–0.8789	0.0186	>318.3	60	38.66–78.12%	55	34.21–74.18%
C vs. MxD 0	0.8825	0.7825–0.9825	<0.0001	>341.4	75	53.13–88.81%	70	48.10–85.45%
AD 0 vs. VaD 0	0.675	0.5060–0.8440	0.0583	<380.4	65	43.29–81.88%	65	43.29–81.88%
AD 0 vs. MxD 0	0.5975	0.4131–0.7819	0.2914	<394.4	55	34.21–74.18%	55	34.21–74.18%
VaD 0 vs. MxD 0	0.645	0.4675–0.8225	0.1167	>375.1	60	38.66–78.12%	60	38.66–78.12%
YKL-40								
C vs. AD 0	0.8625	0.7510–0.9740	<0.0001	>106.3	85	63.96–94.76%	75	53.13–88.81%
C vs. VaD 0	0.8525	0.7352–0.9698	0.0001	>113.0	80	58.40–91.93%	80	58.40–91.93%
C vs. MxD 0	0.7975	0.6621–0.9329	0.0013	>103.9	70	48.10–85.45%	70	48.10–85.45%
AD 0 vs. VaD 0	0.5750	0.3926–0.7574	0.4171	>139.8	55	34.21–74.18%	50	29.93–70.07%
AD 0 vs. MxD 0	0.5775	0.3984–0.7566	0.4017	<130.7	50	29.93–70.07%	50	29.93–70.07%
VaD 0 vs. MxD 0	0.6200	0.4436–0.7964	0.1941	<137.9	55	34.21–74.18%	55	34.21–74.18%

TABLE 4 | ROC analysis of serum t-tau and YKL-40 compared between mild dementia (MD), moderate to severe dementia (MSD), and control group.

Comparison	AUC	95% CI	*P*	Cut-off	Sensitivity%	95% CI	Specificity%	95% CI
t-tau								
C vs. MD	0.8488	0.7553–0.9423	<0.0001	>341.4	72.09	57.31–83.25%	70	48.10–85.45%
C vs. MSD	0.7294	0.5613–0.8975	0.0174	>324.8	64.71	41.30–82.69%	65	43.29–81.88%
MD vs. MSD	0.6607	0.5114–0.8101	0.0539	<377.9	58.82	36.01–78.39%	58.14	43.33–71.62%
YKL-40								
C vs. MD	0.9128	0.8412–0.9843	<0.0001	>115.8	86.05	72.74–93.44%	85	63.96–94.76%
C vs. MSD	0.6471	0.4692–0.8249	0.1276	>90.60	52.94	30.96–73.83%	55	34.21–74.18%
MD vs. MSD	0.8263	0.7067–0.9458	<0.0001	<123.3	76.47	52.74–90.44%	76.74	62.26–86.85%

etiologies. YKL-40 is the most diagnostic for AD (sensitivity 85%, specificity 75%, AUC 0.8625) and VaD (sensitivity and specificity more than 80%, AUC 0.8525), for MxD (sensitivity and specificity ~70% each, AUC 0.7975).

T-tau was diagnostic for AD and MxD with 75% sensitivity and 70% specificity (AUC 0.845 and 0.8825, respectively), while its diagnostic value in VaD turned out to be poor.

Changes in Biomarker Concentration Over Time

The distribution of concentrations of individual biomarkers determined at the beginning of hospitalization and after 4 weeks of its duration is presented in **Figure 2**. Aβ1-42 concentrations in patients with AD declined after 4 weeks of treatment. In the remaining cases, the concentrations of biomarkers did not change significantly over time.

Biomarkers in the Assessment of Dementia Progression

All subjects, regardless of the etiology of dementia, were divided into mild dementia (MD) and moderate to severe dementia (MSD) groups, taking the MMSE score of 20 as the cut-off point. The results of ROC analysis for individual markers are summarized in **Table 4** (t-tau and YKL-40) and **Supplementary Table 4** (amyloid markers). The highest sensitivity and specificity in differentiating between healthy subjects and patients with mild dementia was obtained for YKL-40 (sensitivity 86.05%, specificity 85%, AUC 0.9128) and slightly lower for t-tau (72.09%, 70% and 0.8488, respectively). The differences between the concentrations of amyloid markers were also statistically significant, while their sensitivity and specificity were lower than for YKL-40 and t-tau, and the AUC values were below 0.8.

In the comparison between MD and MSD, only YKL-40 proved to be diagnostic for dementia progression. At the cut-off point of 123.3 ng/ml, the sensitivity was 76.47%, specificity—76.74%, and the AUC was 0.8263. The sensitivity and specificity in differentiating the stages of dementia for the remaining biomarkers ranged from 50 to 60%, and the areas under the curve were below 0.7.

Aβ1-40 has shown the ability to differentiate between controls and subjects with more severe dementia, however, its ROC parameters do not show its utility in discrimination between cognitively normal and subjects with mild dementia, as well as between dementia stages (**Table 4**).

Multifactorial Regression on the Assessed Biomarkers

The results of regression analysis are presented in **Table 5** for t-tau and YKL-40 and in **Supplementary Table 5** for amyloid

TABLE 5 | Multifactorial regression of YKL-40 and t-tau.

Dependent variable		Independent variable		
		Age	Sex	MMSE
YKL-40	EE	0.2469	9.532	−4.376
	95%CI	−1.645 to 2.139	−12.19 to 31.25	−5.895 to −2.857
	P-value	0.7948	0.3831	<0.0001
t-tau	EE	1.229	−48.13	−4.631
	95%CI	−3.797 to 6.256	−105.8 to 9.569	−8.666 to −0.5963
	P-value	0.6261	0.1003	0.0252

markers. We did not show the influence of age and gender on the evaluated biomarkers.

Ykl-40 and t-tau, but not amyloid levels, were dependent on dementia severity assessed with MMSE score.

DISCUSSION

Clinicians' Expectations Regarding Dementia Biomarkers

Undoubtedly, the significant value of our study is the fact that the qualification of patients and diagnostic procedures were conducted by a clinician treating patients during hospitalization for several weeks, having extensive knowledge about the patient's medical history and staying in touch with their caregivers. In everyday medical practice, the benefits of developing and disseminating easy-to-use diagnostic tests have been recognized many times.

Fifty two out of the 60 patients we studied were diagnosed with dementia for the first time in their lives. Patients with mild dementia were often hospitalized because of other psychopathological symptoms (e.g., anxiety) and subjectively regarded their cognitive functioning as normal. Memory disorders were also sometimes unnoticed by caregivers or considered as a physiological element of the aging process. Dementia was also often not diagnosed and not treated by other specialists taking care of the patient, for example, by primary care doctors. As previously mentioned, this may result from both limited access to health services (count and duration of visits) and insufficient training in diagnosing dementia of the medical staff (3). It also seems that, in the opinion of many physicians, the diagnosis and treatment of dementia makes little sense due to the low effectiveness of the applied therapies and the predicted short survival time. A cheap and readily available screening test would allow the early identification of patients with a high probability of dementia requiring further specialistic diagnosis (3).

In addition to the direct benefits for patients of early detection of dementia and accurate diagnosis of dementia, new biomarkers could also facilitate clinical trials of novel medications. The diagnostic difficulties described above may contribute to the incorrect qualification of some patients for examination and consequently obtaining unreliable results. It is also difficult to properly quantify the severity of dementia in the investigated subjects (5).

The biomarkers currently used in the diagnosis of dementia are amyloid peptides and tau protein in the cerebrospinal fluid or amyloid beta identified in the brain *in vivo* by PET. These tests are expensive, available only in highly specialized centers. Performing a lumbar puncture to collect CSF is associated with the risk of complications (4). The development of diagnostic tests with the use of biomarkers measurable in biological material that can be collected in a simple and minimally invasive way (such as blood) would significantly improve the effectiveness of diagnosis and treatment of dementia.

YKL-40 as a Marker Identificating Dementia and Determining Its Severity

Thus far, only a few studies of YKL-40 as a dementia biomarker have been conducted (21, 22). The obtained results indicate its potential diagnostic usefulness and encourage further research. The activation of the inflammatory process due to damage to nerve cells by neurodegeneration (AD) or ischemia (VaD) seems to be responsible for the increase in YKL-40 concentrations in dementia (20).

The obtained YKL-40 concentrations were statistically significantly higher in all study groups compared to the control group, and the high diagnostic value was confirmed by the ROC analysis (AUC from 0.8 for MxD to 0.86 for AD). This indicates the potential usefulness of this marker in screening for dementia. We also observed a correlation of YKL-40 concentrations with the level of cognitive functioning measured with the MMSE scale and with t-tau concentrations, which confirms the cohesion of the obtained results.

Sensitivity and specificity at the level of at least 85% suggests that the diagnostic test can be used as a dementia biomarker (4). These criteria were met for the differentiation of the control group from mild dementia. Slightly lower (>76%), but still satisfactory values of those parameters were also obtained when trying to differentiate between mild and moderate to severe dementia with the use of YKL-40 protein. Those results indicate its higher sensitivity and specificity both in the early detection and in monitoring the progression of dementia than amyloid and t-tau.

The most serious limitation of the use of YKL-40 as a biomarker seems to be its non-specificity. Its concentration increases during many diseases, especially inflammatory diseases (including neuroinflammatory processes) and neoplastic

diseases, which are quite common comorbidities in the elderly population (19, 20). Therefore, when using YKL-40 as a diagnostic test, it would be necessary to obtain at least an in-depth medical history regarding comorbidities to avoid misinterpretation of the biomarker levels. It might also be useful to determine the concentration of another non-specific marker of the inflammatory response simultaneously. Such a marker could be, for example, the C-reactive protein or the percentage of neutrophils, which showed a positive correlation with the concentration of YKL-40 in our study.

Due to the low serum concentrations (nanograms/milliliter), the accuracy of the quantification of YKL-40 protein may be highly dependent on the laboratory methods used. We decided to determine the concentrations of YKL-40 using the ELISA method due to its relatively low cost and the large number of experienced laboratory diagnosticians.

T-Tau as an Alternative Dementia Diagnostic Marker

The tau protein, despite its lower sensitivity and specificity, may be an alternative marker to YKL-40 in the diagnosis of early stages of dementia, especially for patients in whom the concentration of YKL-40 is elevated for other reasons, such as chronic inflammatory diseases. The tau protein is a marker that is a characteristic of a group of diseases called tauopathies, most of which are rare diseases or may be easily recognized by their specific symptoms [e.g., Down syndrome; (25)]. It follows that the risk of a falsely positive result due to a coexisting disease is low for t-tau.

The t-tau protein concentrations were the highest in the AD group, a slightly smaller increase was observed in MxD, and the marker concentration in the VaD group did not differ from that observed in the control group, which reflects the role of t-tau in the etiology of individual types of dementia. The sensitivity of 72.09% and the specificity of 70% in the diagnosis of early dementia is lower than YKL-40, but still higher than that of amyloid markers, and may be sufficient for t-tau use in brief screening. The reliability of t-tau as a marker of dementia is also supported by the correlation of its concentrations with the results of the MMSE test and YKL-40. It might be surprising that the diagnostic accuracy of t-tau, as well as YKL-40 was better in differentiating between control and mild dementia than between controls and MSD. This may be explained by the results of a study by Llibre-Guerra et al. analyzing the longitudinal changes in AD CSF biomarkers. In this study, the t-tau CSF levels in AD subjects did not increase and p-tau-181 even decreased after the disease onset. The observed biomarker trajectories were consistent with the degree of brain atrophy observed in MRI. No further increase of biomarkers in the later disease stages may be explained by a lesser extent of cellular stress and inflammation and the less number of neuronal tissue and neuronal substrates to produce tau (26).

Due to the common morbidity in geriatric patients, it is important to have a diagnostic test not significantly affected by concomitant diseases. This suggests a possible diagnostic usefulness of t-tau in patients with diagnosed or suspected conditions that may cause an increase of YKL-40 concentration in serum. However, the obtained results indicate the risk of a fairly high percentage of false-positive and false-negative results when using this biomarker. A solution might be to use a combination of two or more biomarkers playing different roles in the pathophysiology of dementia. The results of our study show that t-tau may be a quite reliable marker of AD and MxD with Alzheimer's features, but not necessarily for VaD.

Serum Amyloid Markers Cannot Be Used as Dementia Markers

Serum amyloid biomarkers, especially Aβ1-42 and Aβ1-40 in serum, were initially considered as potential markers of dementia at the end of the last century (20). This resulted mostly from a previously confirmed increase in the "amyloidogenic" Aβ1-42 isoform at the expense of a decrease in the amount of more soluble Aβ1-40 in the CSF (5). It was expected that similar amyloid isoform concentration changes might be observed in peripheral blood.

In serum, amyloid markers do not correlate with the presence or severity of dementia as measured by the MMSE scale. It may result from the limited and individually variable permeability of amyloid peptides across the blood-brain barrier, as well as from originating some portion of serum Aβ from tissues other than the brain.

We also found no significant differences between the levels of amyloid markers in different types of dementia. This seems understandable due to the presence of amyloidopathy not only in AD, but also in VaD (amyloid angiopathy) (6).

Biomarkers in the Differential Diagnosis of Dementia

Dementia is a group of diseases of various etiologies, pathophysiology, and prognosis. The effectiveness of the used pharmacological treatment methods is also different depending on the dementia subtype. On the other hand, the pivotal clinical signs are largely common to all types of dementia. Some additional symptoms are specific to particular types of dementia, for example, impaired motor function may indicate vascular dementia, hallucinations, and parkinsonism speak for dementia with Lewy bodies, and aphasia as well as personality changes make frontotemporal dementia plausible (1). However, it is not possible to reliably establish the etiology of dementia on the basis of clinical symptomatology alone (3, 4). The changes observed in brain neuroimaging also do not allow for a clear determination of the type of dementia. For example, in a patient with numerous cerebral vascular lesions, Alzheimer's etiology of dementia cannot be ruled out, firstly because of the possibility of coexistence of both pathophysiological processes, and secondly because of the possibility of vascular pathology secondary to amyloid deposition in the blood vessels. Such a patient could be unjustly disqualified from treatment with a preparation used exclusively in Alzheimer's dementia, losing the potential benefits of pharmacotherapy.

Our results do not indicate the usefulness of any of the studied biomarkers in the differential diagnosis between different types of dementia. The greatest differences were observed in the case of t-tau, the concentration was statistically significantly higher in the AD group, a slightly smaller increase was observed in MxD, and the marker concentration in the VD group did not differ from that observed in the control group, which in a way reflects the role of t- tau in the etiology of those types of dementia. Amyloid beta and YKL-40 are not dementia specific markers, and the increase in their concentrations occurs in many neurinflammatory processes of various etiologies. These observations are consistent with the results of previous studies, which found a quantitatively non-specific increase in the concentration of amyloid and t-tau markers for the type of dementia (18).

Biomarkers in Monitoring of Treatment Response

The possibility of quantifying the severity of the disease using a biomarker could facilitate the effectiveness assessment of the applied pharmacotherapy, which is particularly important in clinical trials (4). The clinical scales currently used for this purpose may give unreliable results for reasons such as learning questions and tasks repeated at each visit or mental and somatic complaints (e.g., anxiety or concentration on pain). The results may also be inconclusive due to sensory dysfunctions common in old age, such as uncorrected or uncorrectable seeing and hearing defects. The possibility of repeatable, minimally invasive determination of the disease biomarker would also allow for a more precise assessment of the effects of the therapy.

We found a statistically significant decline in the concentration of Aβ1-42 in AD after 4 weeks of treatment. These results are understandable considering the role of amyloid a in dementia/aging/inflammation (5), but were difficult to interpret in the context of the lack of changes in other marker's concentrations. We suspect that Aβ1-42 decline might have occurred due to a general improvement of mental and/or general health after treatment. The lack of improvement in cognitive functioning as measured by the MMSE scale after 4 weeks seems to support this thesis.

Study Limitations

Clinical diagnoses of dementia subtypes established on the basis of an interview, observation, neuropsychological diagnosis, and exclusion of the most common secondary causes of dementia are uncertain to at some extent. Diagnostics based on the examination of amyloid markers and/or tau protein in the cerebrospinal fluid or the use of PET examination would be much more reliable, but at the same time a costly method of qualifying patients with AD. Moreover, for economic reasons, the subjects underwent brain imaging using computed tomography, instead of the more accurate and more recommended magnetic resonance imaging.

The method of assessing the severity of dementia that we have adopted may also have some limitations. We based it on the MMSE test results adjusted for the age and education level of the respondents. MMSE is a quick and easy test, and the availability of its validated language version makes it possible to compare the results of studies conducted on different populations in various languages. On the other hand, its serious disadvantage is the fact that it primarily assesses the efficiency of memory, and to a lesser extent other cognitive functions, but does not take into account other symptoms accompanying cognitive deficits. In practice, it is often observed that patients with similar results of cognitive tests may present diametrically different levels of functioning, which makes it difficult to quantify the severity of dementia. The refinement of methods to quantify dementia progression could improve the quality of future research on this clinical syndrome.

As mentioned above, in our study there is a lack of validated biomarkers (e.g., amyloid PET, CSF, and/or FDG-PET) to support the diagnosis of different types of dementia and the lack of a comparable neuropsychological evaluation to assess cognitive impairment. However, the selection of neuropsychological tests and the diagnosis of individual patients were based on the profound clinical experience of a neuropsychologist who evaluated all patients.

Another important limitation of our study is the sample size. Due to the promising results we obtained, we believe that the study is worth to be repeated on a larger group of respondents.

Future Directions

More research is needed to enable long-term follow-up in dementia patients. We are convinced that long-term prospective study on serum dementia biomarkers would bring valuable data that might contribute to the development of dementia screening and follow-up markers.

Finally, there is also a need to look for new biomarkers, especially those that would contribute to a non-invasive diagnosis of dementia. Especially promising are salivary redox parameters, which with high sensitivity and specificity differentiate patients with mild dementia from severe dementia as well as AD from VaD and MxD (27, 28). Saliva can be a promising, easily accessible, and non-expensive diagnostic material used in patients with neuropsychiatric disorders (29, 30). There are also some promising blood biomarkers some tau isoforms, such as p-tau-217 (18). Nevertheless, further studies are required on a large population of patients.

CONCLUSIONS

YKL-40 is a highly sensitive and specific marker that differentiates healthy individuals from patients with Alzheimer's, vascular or mixed dementia. It is particularly sensitive and specific in the diagnosis of dementia onset, and slightly less in the assessment of progression to more advanced stages of the disease. The possibilities of using YKL-40 as a biomarker are limited by its non-specificity. T-tau shows a slightly lower but still satisfactory sensitivity and specificity in differentiating between mild AD, MxD, and the control group. T-tau may be a marker particularly useful for the diagnosis of patients with coexisting diseases associated with an increase of YKL-40 concentrations in serum.

Our study results do not indicate the diagnostic usefulness of amyloid markers (Aβ1-40, Aβ1-42, and Aβ1-42/Aβ1-40). The results do not indicate the usefulness of any of the examined biomarkers in the differential diagnosis between dementias of different etiologies. Decreased concentrations of Aβ1-42 in AD after 4 weeks of inpatient treatment might be due to the improved general and/or mental health while treatment/hospitalization.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

ETHICS STATEMENT

The studies involving human participants were reviewed and approved by Ethics Committee of Medical University of Białystok. The patients/participants provided their written informed consent to participate in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

NW and KW: conceptualization, resources, writing—review and editing, project administration, and funding acquisition. NW, AZ, MM, and KW: methodology. MM: software. MM and AZ: validation. KW, MM, and NW: formal Analysis. KW and MM: investigation, data curation, and visualization. KW: writing—original draft preparation. NW and AZ: supervision. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

MM was supported by the Foundation for Polish Science (FNP).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpsyt.2021.725511/full#supplementary-material

REFERENCES

1. Alzheimer's Association. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* (2018) 14:367–429. doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.001
2. World Health Organisation (2020). Available online at: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia (accessed November 17, 2020).
3. Hampel H, O'Bryant SE, Molinuevo JL, Zetterberg H, Masters CL, Lista S, et al.. Blood-based biomarkers for Alzheimer disease: mapping the road to the clinic. *Nat Rev Neurol.* (2018) 14:639–52. doi: 10.1038/s41582-018-0079-7
4. Lewczuk P, Riederer P, O'Bryant SE, Verbeek MM, Dubois B, Visser PJ, et al.. Cerebrospinal fluid and blood biomarkers for neurodegenerative dementias: an update of the consensus of the task force on biological markers in psychiatry of the world federation of societies of biological psychiatry. *World J Biol Psychiatry.* (2018) 19:244–328. doi: 10.1080/15622975.2017.1375556
5. Molinuevo JL, Ayton S, Batrla R, Bednar MM, Bittnet T, Cummings J, et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers. *Acta Neuropathol.* (2018) 136:821–53. doi: 10.1007/s00401-018-1932-x
6. Smith EE. Cerebral amyloid angiopathy as a cause of neurodegeneration. *J Neurochem.* (2018) 144:651–8. doi: 10.1111/jnc.14157
7. Hanon O, Vidal JS, Lehmann S, Bombois S, Allinquant B, Tréluyer JM, et al. Plasma amyloid levels within the Alzheimer's process and correlations with central biomarkers. *Alzheimers Dement.* (2018) 14:858–68. doi: 10.1016/j.jalz.2018.01.004
8. Janelidze S, Stomrud E, Palmqvist S, Zetterberg H, van Westen D, Jeromin A, et al. Plasma β-amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease. *Sci Rep.* (2016) 6:26801. doi: 10.1038/srep26801
9. Hsu JL, Lee WJ, Liao YC, Lirng JF, Wang SJ, Fuh JL. Plasma biomarkers are associated with agitation and regional brain atrophy in Alzheimer's disease. *Sci Rep.* (2017) 7:5035. doi: 10.1038/s41598-017-05390-1
10. Chou CT, Liao YC, Lee WJ, Wang SJ, Fuh JL. SORL1 gene, plasma biomarkers, and the risk of Alzheimer's disease for the Han Chinese population in Taiwan. *Alzheimers Res Ther.* (2016) 8:53. doi: 10.1186/s13195-016-0222-x
11. Igarashi K, Yoshida M, Waragai M, and Kashiwagi K. Evaluation of dementia by acrolein, amyloid-β and creatinine. *Clin Chim Acta.* (2015) 450:56–63. doi: 10.1016/j.cca.2015.07.017
12. Le Bastard N, Leurs J, Blomme W, De Deyn PP, Engelborghs S. Plasma amyloid-beta forms in Alzheimer's disease and non-Alzheimer's disease patients. *J Alzheimers Dis.* (2010) 21:291–301. doi: 10.3233/JAD-2010-091501
13. Tang SC, Yang KC, Chen CH, Yang SY, Chiu MJ, Wu CC, et al. Plasma β-amyloids and tau proteins in patients with vascular cognitive impairment. *Neuromolecular Med.* (2018) 20:498–503. doi: 10.1007/s12017-018-8513-y
14. Kim K, Kim MJ, Kim DW, Kim SY, Park S, Park CB. Clinically accurate diagnosis of Alzheimer's disease via multiplexed sensing of core biomarkers in human plasma. *Nat Commun.* (2020) 11:119. doi: 10.1038/s41467-019-13901-z
15. Tsai CL, Liang CS, Lee JT, Su MW, Lin CC, Chu HT, et al. Associations between plasma biomarkers and cognition in patients with Alzheimer's disease and amnestic mild cognitive impairment: a cross-sectional and longitudinal study. *J Clin Med.* (2019) 8:1893. doi: 10.3390/jcm8111893
16. Jiang T, Gong PY, Tan MS, Xue X, Huang S, Zhou JS, et al. Soluble TREM1 concentrations are increased and positively correlated with total tau levels in the plasma of patients with Alzheimer's disease. *Aging Clin Exp Res.* (2019) 31:1801–5. doi: 10.1007/s40520-019-01122-9
17. Foiani MS, Woollacott IO, Heller C, Bocchetta M, Heslegrave A, Dick KM, et al. Plasma tau is increased in frontotemporal dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* (2018) 89:804–7. doi: 10.1136/jnnp-2017-317260
18. Wilczyńska K, Waszkiewicz N. Diagnostic utility of selected serum dementia biomarkers: amyloid β-40, amyloid β-42, tau protein, and YKL-40: a review. *J Clin Med.* (2020) 9:3452. doi: 10.3390/jcm9113452
19. Zhao T, Su Z, Li Y, Zhang X, You Q. Chitinase-3 like-protein-1 function and its role in diseases. *Sig Transduct Target Ther.* (2020) 5:201. doi: 10.1038/s41392-020-00303-7
20. Yeo IJ, Lee CK, Han SB, Yun J, Hong JT. Roles of chitinase 3-like 1 in the development of cancer, neurodegenerative diseases, and inflammatory diseases. *Pharmacol Ther.* (2019) 203:107394. doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.107394
21. Craig-Schapiro R, Perrin RJ, Roe CM, Xiong C, Carter D, Cairns NJ, et al. YKL-40: a novel prognostic fluid biomarker for preclinical Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.* (2010) 68:903–12. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.08.025
22. Choi J, Lee HW, Suk K. Plasma level of chitinase 3-like 1 protein increases in patients with early Alzheimer's disease. *J Neurol.* (2011) 258:2181–5. doi: 10.1007/s00415-011-6087-9
23. World Health Organization. *The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders: Diagnostic Criteria for Research.* Geneva: World Health Organization (1993).
24. Mungas D, Marshall SC, Weldon M, Haan M, Reed BR. Age and education correction of mini-mental state examination for English and Spanish-speaking elderly. *Neurology.* (1996) 46:700–6. doi: 10.1212/WNL.46.3.700

25. Castellani RJ, Perry G. Tau biology, tauopathy, traumatic brain injury, and diagnostic challenges. *J Alzheimers Dis.* (2019) 67:447–67. doi: 10.3233/JAD-180721
26. Llibre-Guerra JJ, Li Y, Schindler SE, Gordon BA, Fagan AM, Morris JC, et al. Association of longitudinal changes in cerebrospinal fluid total tau and phosphorylated tau 181 and brain atrophy with disease progression in patients with Alzheimer disease. *JAMA Netw Open.* (2019) 2:e1917126. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.17126
27. Klimiuk A, Maciejczyk M, Choromańska M, Fejfer K, Waszkiewicz N, Zalewska A. Salivary redox biomarkers in different stages of dementia severity. *J Clin Med.* (2019) 8:840. doi: 10.3390/jcm8060840
28. Choromańska M, Klimiuk A, Kostecka-Socho,ń P., Wilczyńska K, Kwiatkowski M, Okuniewska N, et al. Antioxidant defence, oxidative stress and oxidative damage in saliva, plasma and erythrocytes of dementia patients. Can salivary AGE be a marker of dementia? *Int J Mol Sci.* (2017) 18:2205. doi: 10.3390/ijms18102205
29. Maciejczyk M, Zalewska A, Gerreth K. Salivary redox biomarkers in selected neurodegenerative diseases. *J Clin Med.* (2020) 9:497. doi: 10.3390/jcm9020497
30. Kułak-Bejda A,Waszkiewicz N, Bejda G, Zalewska A, Maciejczyk M. Diagnostic value of salivary markers in neuropsychiatric disorders. *Dis Mark.* (2019) 2019:4360612. doi: 10.1155/2019/4360612

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

11. Streszczenie w języku polskim

Otępienia to grupa przewlekłych, postępujących schorzeń upośledzających funkcjonowanie człowieka i generujących wysokie koszty ekonomiczne. Na otępienie cierpi obecnie około 50 mln osób na świecie, a w związku ze starzeniem się populacji prognozuje się dalszy wzrost liczby chorych. Wielu chorych pozostaje nie zdiagnozowanych i nie leczonych, a konieczne do postawienia rozpoznania badania są czasochłonne, kosztowne i/lub nie zawsze dostępne. Zastosowanie biomarkerów pozwoliłoby na wcześniejszą interwencję w stosunku do osób z rozpoczynającym się procesem otępiennym.

Celem pracy było oznaczenie stężeń biomarkerów: amyloidu beta 1-40 (Aβ1-40), amyloidu beta 1-42 (Aβ1-42), ilorazu Aβ1-42/ Aβ1-40, białka tau (t-tau) i YKL-40 w surowicy chorych z otępieniem alzheimerowskim (AD), naczyniopochodnym (VaD) i mieszanym (MxD) celem oceny:

- przydatności diagnostycznej badanych markerów w diagnostyce otępienia,
- przydatności biomarkerów w różnicowaniu otępień,
- korelacji stężeń biomarkerów ze stopniem zaawansowania otępienia,
- zmian stężeń markerów po 4 tygodniach hospitalizacji.

Do badania wstępnie zakwalifikowano 100 pacjentów Oddziału Psychogeriatrii bez chorób zapalnych, nowotworowych i autoimmunologicznych, które przyjęto za kryteria wyłączenia. Wykonano u nich badanie neuroobrazowe, panel badań laboratoryjnych, badanie neuropsychologiczne oraz badanie Geriatryczną Skalą Depresji (GDS). Rozpoznanie i prawdopodobną etiologię otępienia ustalono na podstawie kryteriów ICD10. Ostatecznie do badania zakwalifikowano 20 osób z AD, 20 z VaD i 20 z MxD. Przy przyjęciu oraz po czterech tygodniach hospitalizacji pobrano krew do oznaczenia biomarkerów oraz wykonano badanie skalą Krótką Skalą Oceny Stanu Psychicznego (MMSE). W celu wykluczenia wpływu wieku i wykształcenia wyliczono skorygowaną wartość MMSE. Pacjentów ze wszystkimi rodzajami otępienia podzielono również na grupy z otępieniem łagodnym (MD) oraz umiarkowanym do ciężkiego (MSD). Grupę kontrolną stanowiło 20 osób po 60. roku życia bez otępienia.

Stężenia biomarkerów w surowicy krwi oceniano metodą ELISA w podwójnych próbkach. Korelacje pomiędzy uzyskanymi danymi oceniano przy zastosowaniu współczynnika korelacji Pearsona. Do porównań między grupami użyto ANOVA i testu Tukey'a, a w przypadku braku rozkładu normalnego – testu Kruskala-

Wallisa i ANOVA Dunna. Analizę wpływu zmiennych niezależnych na zmienną zależną przeprowadzono metodą regresji liniowej. Użyteczność diagnostyczną biomarkerów oceniano przy użyciu krzywej ROC. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p \leq 0,05$.

Stężenie YKL-40 korelowało ze stężeniami t-tau, Aβ1-42/Aβ1-40, nasileniem otępienia mierzonym przy pomocy skali MMSE oraz białka C-reaktywnego (CRP), z kolei stężenie t-tau korelowało ze stężeniem YKL-40 i punktacją w MMSE.

Analiza ROC wykazała przydatność YKL-40 w diagnostyce AD, VaD i MxD oraz przydatność t-tau w diagnostyce AD i MxD, lecz nie VaD.

Po 4 tygodniach hospitalizacji jedynie stężenie Aβ1-42 u chorych z AD istotnie zmniejszyło się w stosunku do wartości wyjściowych po 4 tygodniach hospitalizacji.

Analiza ROC z podziałem na stopnie zaawansowania otępienia (MD oraz MSD) wykazała wysoką przydatność YKL-40 i umiarkowaną t-tau w różnicowaniu między osobami zdrowymi a pacjentami z MD. YKL-40 okazało się też przydatne w różnicowaniu między MD a MSD.

Analiza regresji wykluczyła wpływ płci i wieku na stężenia biomarkerów, potwierdziła natomiast wpływ ciężkości otępienia (punktacji MMSE) na stężenia YKL-40 i t-tau.

Na podstawie wyników badania wyciągnięto następujące wnioski:

1. Stężenia YKL-40 korelowały ze stężeniem innych markerów, CRP i punktacją w skali MMSE. T-tau korelowało z YKL-40 i MMSE. Stężenia YKL-40 i t-tau były niezależne od płci i wieku.
2. YKL-40 może być przydatny w diagnostyce wszystkich rodzajów otępień, natomiast t-tau - w diagnostyce otępień z komponentą alzheimerowską.
3. Nie wykazano przydatności żadnego z biomarkerów w różnicowaniu otępień.
4. YKL-40 może być przydatny w wykrywaniu otępień wczesnych i monitorowaniu progresji otępienia.
5. T-tau może być przydatne w diagnostyce wczesnego otępienia, szczególnie gdy zastosowanie YKL-40 będzie ograniczone przez współchorobowość.
6. Po czterech tygodniach hospitalizacji zaobserwowano istotny statystycznie spadek stężeń Aβ1-42, mający najprawdopodobniej charakter nieswoisty, wtórny do poprawy ogólnego stanu zdrowia.

12. Streszczenie w języku angielskim

Dementia is a group of chronic, progressive diseases that significantly impair human functioning and generate high economic costs. Approximately 50 million people worldwide currently suffer from dementia, and a further increase in the number of patients due to the aging of the population is forecasted. Many patients remain undiagnosed and untreated while the diagnostic tests are time-consuming, costly, and / or not always available. The use of biomarkers would enable earlier intervention for patients with the onset of dementia.

The aim of the study was to determine the concentration of biomarkers: amyloid beta 1-40 (Aβ1-40), amyloid beta 1-42 (Aβ1-42), Aβ1-42/ Aβ1-40 ratio, tau protein (t-tau) and YKL-40 in the serum of patients with Alzheimer's (AD), vascular (VaD) and mixed dementia (MxD) to evaluate:

- the usefulness of the examined markers in the diagnosis of dementia,
- the usefulness of biomarkers in the differential diagnosis of dementia,
- the correlation of biomarker concentrations with the severity of dementia,
- the changes in marker levels after 4 weeks of hospitalization.

100 patients of the Department of Psychogeriatry without comorbid inflammatory, neoplastic and autoimmune diseases, which were considered as exclusion criteria, were initially qualified for the study. They underwent a neuroimaging examination, a panel of laboratory tests, a neuropsychological examination and a Geriatric Depression Scale (GDS) examination. The diagnosis and probable etiology of dementia was established based on the ICD-10 criteria. Ultimately, 20 patients with AD, 20 with VaD and 20 with MxD were qualified for the study. The blood collection for biomarker testing and the Mini Mental State Examination (MMSE) were performed on admission and after four weeks of hospitalization. In order to exclude the influence of age and education, the adjusted MMSE was calculated. Patients with all types of dementia were further divided into two groups: mild (MD) and moderate to severe (MSD) dementia. 20 people aged over 60 without dementia were qualified for the control group.

Serum biomarker concentrations were determined by ELISA method in duplicate tests. The correlations were assessed using the Pearson’s correlation coefficient. ANOVA and Tukey's test, and in the absence of normal distribution - Kruskal-Wallis and Dunn's ANOVA were used for comparisons between groups. The analysis of the influence of independent variables on the dependent variable

was performed using the linear regression. The diagnostic utility of the biomarkers was assessed using the ROC curve. The level of statistical significance was set at $p \leq 0.05$.

The concentration of YKL-40 correlated with t-tau, Aβ1-42/Aβ1-40 and C-rective protein (CRP) concentrations, as well as with the severity of dementia reflected by MMSE score, while t-tau correlated with YKL-40 and MMSE score.

The ROC analysis showed the usefulness of YKL-40 in the diagnosis of AD, VaD and MxD, and the usefulness of t-tau in the diagnosis of AD and MxD, but not VaD.

Only the concentration of Aβ1-42 in patients with AD significantly decreased compared to the baseline values after 4 weeks of hospitalization.

The ROC analysis for groups divided by dementia stage (MD and MSD) showed a high usefulness of YKL-40 and moderate usefulness of t-tau in differentiating between healthy control and patients with MD. YKL-40 was also proven useful in differentiating between MD and MSD.

The regression analysis excluded the influence of sex and age on the biomarker levels, while confirmed the influence of the severity of dementia measured as MMSE score on the levels of YKL-40 and t-tau.

Based on the results of the study, the following conclusions were drawn:

1. The concentration of YKL-40 correlated with other markers, CRP and the MMSE score. T-tau correlated with YKL-40 and MMSE. YKL-40 and t-tau concentrations were independent of sex and age.

2. YKL-40 may be useful in the diagnosis of all types of dementia, while t-tau - in the diagnosis of dementias with Alzheimer's component.

3. None of the biomarkers have shown to be useful in differential diagnosis of dementia.

4. YKL-40 may be useful in early detection and monitoring of dementia progression.

5. T-tau may be useful in the diagnosis of early dementia, especially when the use of YKL-40 is limited by comorbidities.

6. After four weeks of hospitalization, a statistically significant decrease in Aβ1-42 concentrations in AD patients was observed, which was most likely non-specific, secondary to general health improvement.

13. Uchwała komisji bioetycznej

KOMISJA BIOETYCZNA
UNIWERSYTETU MEDYCZNEGO w BIAŁYMSTOKU
ul. Jana Kilińskiego 1
15-089 Białystok
tel. (085) 748 54 07, fax. (085) 748 55 08
prorektorkl@umb.edu.pl

Białystok, 25-02-2016

Uchwała nr: R-I-002/62/2016

Komisja Bioetyczna Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, po zapoznaniu się z projektem badania zgodnie z zasadami GCP/ Guidelines for Good Clinical Practice /- **w y r a ż a z g o d ę** na prowadzenie tematu badawczego: „Badanie aktywności stresu oksydacyjnego, czynników zapalnych, enzymów lizosomalnych oraz procesów de/glikozylacji u pacjentów z objawami otępienia o typie alzheimerowskim i naczyniowym" przez dr hab. Napoleona Waszkiewicza wraz z zespołem badawczym z UMB.

Z-ca Przewodniczącej Komisji Bioetycznej UMB
dr n. farm. Krzysztof Chrzanowski

Pani lek. Karolina Dzikowska jest członkiem zespołu badawczego w powyższym temacie (badawczym

UNIWERSYTET MEDYCZNY
w Białymstoku
KOMISJA BIOETYCZNA
15-089 Białystok, ul. Jana Kilińskiego 1

D. Jankowska

14. Informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu każdego z nich

Praca przeglądowa

Wilczyńska K, Waszkiewicz N. Diagnostic utility of selected serum dementia biomarkers: amyloid ß-40, amyloid ß-42, tau protein, and YKL-40: a review. Journal of Clinical Medicine: 2020: 9, 26		
Autor	**Udział w przygotowaniu pracy**	**Udział procentowy**
Karolina Wilczyńska	Koncepcja pracy, analiza piśmiennictwa, przeszukanie baz danych i selekcji prac do przeprowadzenia przeglądu systematycznego, analiza wyników, przygotowanie manuskryptu do publikacji	90%
Napoleon Waszkiewicz	Koncepcja i metodyka pracy, nadzór nad ostatecznym kształtem manuskryptu	10%

Praca oryginalna

Wilczyńska K, Maciejczyk M, Zalewska A, Waszkiewicz N. Serum amyloid biomarkers, tau protein and YKL-40 utility in detection, differential diagnosing, and monitoring of dementia. Frontiers in Psychiatry: 2021: 12, 11		
Autor	**Udział w przygotowaniu pracy**	**Udział procentowy**
Karolina Wilczyńska	Wstępu teoretyczny, koncepcja i metodyki pracy, rekrutacja i selekcja osób badanych, przygotowanie bazy danych, badanie testami psychometrycznymi, przygotowaniu materiału do oznaczeń, oznaczenia laboratoryjne, analiza wyników, przygotowanie manuskryptu do publikacji	70%
Mateusz Maciejczyk	Koncepcja i metodyka pracy, pomoc przy wykonaniu oznaczeń laboratoryjnych, opracowanie statystyczne danych, interpretacja wyników, pomoc w przygotowaniu manuskryptu do publikacji	15%
Anna Zalewska	Metodyka, nadzór nad ostatecznym kształtem manuskryptu	5%
Napoleon Waszkiewicz	Koncepcja i metodyka pracy, interpretacja wyników oraz nadzór nad ostatecznym kształtem manuskryptu	10%

15. Oświadczenia o zgodzie na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej

Białystok, 09.02.2022

Karolina Wilczyńska
doktorant w Klinice Psychiatrii
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Oświadczenie autora

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

1. *Wilczyńska Karolina, Waszkiewicz Napoleon.*
Diagnostic utility of selected serum dementia biomarkers: amyloid ß-40, amyloid ß-42, tau protein, and YKL-40: a review.
Journal of Clinical Medicine: 2020: 9, 26 pp, Article ID 3452

wchodzącej w skład mojej rozprawy doktorskiej polegał na ustaleniu koncepcji pracy, wyszukaniu i analizie piśmiennictwa dotyczącego badanych biomarkerów, przeszukaniu baz danych i selekcji prac naukowych do przeprowadzenia przeglądu systematycznego, analizie uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do publikacji, co określam jako 90% udziału w przygotowaniu wyżej wymienionej publikacji.

2. *Wilczyńska Karolina, Maciejczyk Mateusz, Zalewska Anna, Waszkiewicz Napoleon.*
Serum amyloid biomarkers, tau protein and YKL-40 utility in detection, differential diagnosing, and monitoring of dementia.
Frontiers in Psychiatry: 2021: 12, 11 pp., Article ID: 725511

wchodzącej w skład mojej rozprawy doktorskiej polegał na opracowaniu wstępu teoretycznego, współudziale w opracowaniu koncepcji i metodyki pracy, rekrutacji i wstępnej selekcji osób badanych, przygotowaniu bazy danych demograficznych i medycznych, badaniu testami psychometrycznymi, przygotowaniu materiału do oznaczeń laboratoryjnych, współuczestnictwie w wykonaniu oznaczeń laboratoryjnych i analizie uzyskanych wyników oraz przygotowaniu manuskryptu do publikacji, co określam jako 70% udziału w przygotowaniu wyżej wymienionej publikacji.

Karolina Wilczyńska
Podpis autora rozprawy doktorskiej (czytelny)

Prof. dr hab. n. med. Napoleon Waszkiewicz
lekarz medycyny
specjalista psychiatra
1754124
Podpis promotora (czytelny)

Prof. dr hab. n. med Napoleon Waszkiewicz
Klinika Psychiatrii
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Białystok, 09.02.2022

Oświadczenie współautora

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

1. *Wilczyńska Karolina, Waszkiewicz Napoleon.*
   Diagnostic utility of selected serum dementia biomarkers: amyloid ß-40, amyloid ß-42, tau protein, and YKL-40: a review.
   Journal of Clinical Medicine: 2020: 9, 26 pp, Article ID 3452

wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Karoliny Wilczyńskiej polegał na pomocy w przygotowaniu koncepcji pracy, metodyki, oraz nadzorze nad ostatecznym kształtem manuskryptu, co określam jako 10% udziału w przygotowaniu wyżej wymienionej publikacji.

2. *Wilczyńska Karolina, Maciejczyk Mateusz, Zalewska Anna, Waszkiewicz Napoleon.*
   Serum amyloid biomarkers, tau protein and YKL-40 utility in detection, differential diagnosing, and monitoring of dementia.
   Frontiers in Psychiatry: 2021: 12, 11 pp., Article ID: 725511

wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Karoliny Wilczyńskiej polegał na pomocy w ustaleniu koncepcji i metodyki pracy, analizie uzyskanych wyników oraz nadzorze nad ostatecznym kształtem manuskryptu, co określam jako 10 % udziału w przygotowaniu wyżej wymienionej publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie wyżej wymienionych prac przez lek. Karolinę Wilczyńską jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie cyklu prac opublikowanych w czasopismach naukowych.

Prof. dr hab. n. med. Napoleon Waszkiewicz
lekarz medycyny
specjalista psychiatra
[illegible]

.....
Podpis (czytelny)

Białystok, 16.02.2022

Mateusz Maciejczyk
Zakład Higieny, Epidemiologii i Ergonomii
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Oświadczenie współautora

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

1. *Wilczyńska Karolina, Maciejczyk Mateusz, Zalewska Anna, Waszkiewicz Napoleon. Serum amyloid biomarkers, tau protein and YKL-40 utility in detection, differential diagnosing, and monitoring of dementia.*
   Frontiers in Psychiatry: 2021: 12, 11 pp., Article ID: 725511

   wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Karoliny Wilczyńskiej polegał na pomocy w ustaleniu koncepcji i metodyki pracy, pomocy przy wykonaniu oznaczeń laboratoryjnych, opracowaniu statystycznym uzyskanych danych, pomocy w analizie wyników oraz uczestnictwie w przygotowaniu manuskryptu do publikacji, co określam jako 15 % udziału w przygotowaniu wyżej wymienionej publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie wyżej wymienionej pracy/prac przez lek. Karolinę Wilczyńską jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie cyklu prac opublikowanych w czasopismach naukowych.

M. Maciejczyk
Podpis (czytelny)

Białystok, dn. 01.02.2022.....

Prof. dr hab. Anna Zalewska
Zakład Stomatologii Zachowawczej
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Oświadczenie współautora

Oświadczam, iż mój udział w przygotowaniu publikacji:

1. *Wilczyńska Karolina, Maciejczyk Mateusz, Zalewska Anna, Waszkiewicz Napoleon. Serum amyloid biomarkers, tau protein and YKL-40 utility in detection, differential diagnosing, and monitoring of dementia. Frontiers in Psychiatry: 2021: 12, 11 pp., Article ID: 725511*

wchodzącej w skład rozprawy doktorskiej lek. Karoliny Wilczyńskiej polegał na pomocy w przygotowaniu metodyki oraz nadzorze nad ostatecznym kształtem publikacji co określam jako 5 % udziału w przygotowaniu wyżej wymienionej publikacji.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie wyżej wymienionej pracy/prac przez lek. Karolinę Wilczyńską, jako część rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie cyklu prac opublikowanych w czasopismach naukowych.

Prof. dr hab. Anna Zalewska
specjalista stomatologii dziecięcej
8897157
Podpis (czytelny)

16. Piśmiennictwo

[1] Światowa Organizacja Zdrowia, 2021. Strona www: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia (dostęp 27.11.2021).
[2] Arvanitakis Z, Shah RC, Bennett DA. Diagnosis and Management of Dementia: Review. JAMA. 2019 Oct 22;322(16):1589-1599. doi: 10.1001/jama.2019.4782
[3] Cao Q, Tan CC, Xu W, Hu H, Cao XP, Dong Q, Tan L, Yu JT. The Prevalence of Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Alzheimers Dis. 2020;73(3):1157-1166. doi: 10.3233/JAD-191092
[4] Livingston G, Huntley J, Sommerlad A, Ames D, Ballard C, Banerjee S. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. Lancet. 2020;396(10248):413-446. doi:10.1016/S0140-6736(20)30367-6
[5] 2021 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimers Dement. 2021 Mar;17(3):327-406. doi: 10.1002/alz.12328
[6] O'Brien JT, Thomas A. Vascular dementia. Lancet. 2015 Oct 24;386(10004):1698-706. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00463-8
[7] Fernando MS, Ince PG. MRC Cognitive Function and Ageing Neuropathology Study Group. Vascular pathologies and cognition in a population-based cohort of elderly people. J Neurol Sci. 2004 Nov 15;226(1-2):13-7. doi: 10.1016/j.jns.2004.09.004
[8] Fierini F. Mixed dementia: Neglected clinical entity or nosographic artifice? J Neurol Sci. 2020 Mar 15;410:116662. doi: 10.1016/j.jns.2019.116662
[9] Benson MD, Buxbaum JN, Eisenberg DS, Merlini G, Saraiva MJM, Sekijima Y, Sipe JD, Westermark P. Amyloid nomenclature 2018: recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA) nomenclature committee. Amyloid. 2018 Dec;25(4):215-219. doi: 10.1080/13506129.2018.1549825
[10] Nienhuis HL, Bijzet J, Hazenberg BP. The Prevalence and Management of Systemic Amyloidosis in Western Countries. Kidney Dis (Basel). 2016 Apr;2(1):10-9. doi: 10.1159/000444206
[11] Chen GF, Xu TH, Yan Y, Zhou YR, Jiang Y, Melcher K, Xu HE. Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. Acta Pharmacol Sin. 2017;38(9):1205-1235. doi:10.1038/aps.2017.28
[12] Guo Y, Wang Q, Chen S, Xu C. Functions of amyloid precursor protein in metabolic diseases. Metabolism. 2021 Feb;115:154454. doi: 10.1016/j.metabol.2020.154454
[13] Molinuevo JL, Ayton S, Batrla R, Bednar MM, Bittner T, Cummings J, Fagan AM, Hampel H, Mielke MM, Mikulskis A et al. Current state of Alzheimer's fluid biomarkers. Acta Neuropathol. 2018 Dec;136(6):821-853. doi: 10.1007/s00401-018-1932-x

[14] Gwon AR, Park JS, Arumugam TV, Kwon YK, Chan SL, Kim SH, Baik SH, Yang S, Yun YK, Choi Y et al. Oxidative lipid modification of nicastrin enhances amyloidogenic γ-secretase activity in Alzheimer's disease. Aging Cell. 2012 Aug;11(4):559-68. doi: 10.1111/j.1474-9726.2012.00817.x
[15] Duncan RS, Song B, Koulen P. Presenilins as Drug Targets for Alzheimer's Disease-Recent Insights from Cell Biology and Electrophysiology as Novel Opportunities in Drug Development. Int J Mol Sci. 2018 May 31;19(6):1621. doi: 10.3390/ijms19061621
[16] Ossenkoppele R, Jansen WJ, Rabinovici GD, Knol DL, van der Flier WM, van Berckel BN, Scheltens P, Visser PJ and the Amyloid PET Study Group. Prevalence of amyloid PET positivity in dementia syndromes: a meta-analysis. JAMA. 2015 May 19;313(19):1939-49. doi: 10.1001/jama.2015.4669
[17] Lewczuk P, Riederer P, O'Bryant SE, Verbeek MM, Dubois B, Visser PJ, Jellinger KA, Engelborghs S, Ramirez A, Parnetti L et al. Cerebrospinal fluid and blood biomarkers for neurodegenerative dementias: An update of the Consensus of the Task Force on Biological Markers in Psychiatry of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry. World J Biol Psychiatry. 2018 Jun;19(4):244-328. doi: 10.1080/15622975.2017.1375556
[18] Biundo R, Weis L, Fiorenzato E, Pistonesi F, Cagnin A, Bertoldo A, Anglani M, Cecchin D, Antonini A. The contribution of beta-amyloid to dementia in Lewy body diseases: a 1-year follow-up study. Brain Commun. 2021 Aug 19;3(3):fcab180. doi: 10.1093/braincomms/fcab180
[19] van Steenoven I, van der Flier WM, Scheltens P, Teunissen CE, Lemstra AW. Amyloid-β peptides in cerebrospinal fluid of patients with dementia with Lewy bodies. Alzheimers Res Ther. 2019 Oct 10;11(1):83. doi: 10.1186/s13195-019-0537-5
[20] Tan RH, Kril JJ, Yang Y, Tom N, Hodges JR, Villemagne VL, Rowe CC, Leyton CE, Kwok JBJ, Ittner LM, Halliday GM. Assessment of amyloid β in pathologically confirmed frontotemporal dementia syndromes. Alzheimers Dement (Amst). 2017 May 29;9:10-20. doi: 10.1016/j.dadm.2017.05.005
[21] Chwalisz BK. Cerebral amyloid angiopathy and related inflammatory disorders. J Neurol Sci. 2021 May 15;424:117425. doi: 10.1016/j.jns.2021.117425
[22] Smith EE. Cerebral amyloid angiopathy as a cause of neurodegeneration. J Neurochem. 2018 Mar;144(5):651-658. doi: 10.1111/jnc.14157
[23] Jin WS, Bu XL, Liu YH, Shen LL, Zhuang ZQ, Jiao SS, Zhu C, Wang QH, Zhou HD, Zhang T, Wang YJ. Plasma Amyloid-Beta Levels in Patients with Different Types of Cancer. Neurotox Res. 2017 Feb;31(2):283-288. doi: 10.1007/s12640-016-9682-9
[24] Gronewold J, Klafki HW, Baldelli E, Kaltwasser B, Seidel UK, Todica O, Volsek M, Haußmann U, Wiltfang J, Kribben A, Bruck H, Hermann DM. Factors Responsible for

Plasma β-Amyloid Accumulation in Chronic Kidney Disease. Mol Neurobiol. 2016 Jul;53(5):3136-3145. doi: 10.1007/s12035-015-9218-y
[25] Wang YR, Wang QH, Zhang T, Liu YH, Yao XQ, Zeng F, Li J, Zhou FY, Wang L, Yan JC, Zhou HD, Wang YJ. Associations Between Hepatic Functions and Plasma Amyloid-Beta Levels-Implications for the Capacity of Liver in Peripheral Amyloid-Beta Clearance. Mol Neurobiol. 2017 Apr;54(3):2338-2344. doi: 10.1007/s12035-016-9826-1
[26] Chojdak-Łukasiewicz J, Małodobra-Mazur M, Zimny A, Noga L, Paradowski B. Plasma tau protein and Aβ42 level as markers of cognitive impairment in patients with Parkinson's disease. Adv Clin Exp Med. 2020 Jan;29(1):115-121. doi: 10.17219/acem/112058
[27] Startin CM, Ashton NJ, Hamburg S, Hithersay R, Wiseman FK, Mok KY, Hardy J, Lleó A, Lovestone S, Parnetti L, Zetterberg H, Hye A; LonDownS Consortium, Strydom A. Plasma biomarkers for amyloid, tau, and cytokines in Down syndrome and sporadic Alzheimer's disease. Alzheimers Res Ther. 2019 Mar 21;11(1):26. doi: 10.1186/s13195-019-0477-0
[29] Bu XL, Liu YH, Wang QH, Jiao SS, Zeng F, Yao XQ, Gao D, Chen JC, Wang YJ. Serum amyloid-beta levels are increased in patients with obstructive sleep apnea syndrome. Sci Rep. 2015 Sep 9;5:13917. doi: 10.1038/srep13917
[30] Pandolfo G, Iannuzzo F, Genovese G, Bruno A, Pioggia G, Baldari S, Gangemi S. Mental Illness and Amyloid: A Scoping Review of Scientific Evidence over the Last 10 Years (2011 to 2021). Brain Sci. 2021 Oct 14;11(10):1352. doi: 10.3390/brainsci11101352
[31] Zhang S, Huang SY, An XB, Zeng L, Ai J. Medical Histories of Control Subjects Influence the Biomarker Potential of Plasma Aβ in Alzheimer's Disease: a Meta-analysis. J Mol Neurosci. 2020 Jun;70(6):861-870. doi: 10.1007/s12031-020-01510-1
[32] Muralidar S, Ambi SV, Sekaran S, Thirumalai D, Palaniappan B. Role of tau protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player. Int J Biol Macromol. 2020 Nov 15;163:1599-1617. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.327
[33] Castellani RJ, Perry G. Tau Biology, Tauopathy, Traumatic Brain Injury, and Diagnostic Challenges. J Alzheimers Dis. 2019;67(2):447-467. doi: 10.3233/JAD-180721
[34] Wu XL, Piña-Crespo J, Zhang YW, Chen XC, Xu HX. Tau-mediated Neurodegeneration and Potential Implications in Diagnosis and Treatment of Alzheimer's Disease. Chin Med J (Engl). 2017 Dec 20;130(24):2978-2990. doi: 10.4103/0366-6999.220313
[35] Tapia-Rojas C, Cabezas-Opazo F, Deaton CA, Vergara EH, Johnson GVW, Quintanilla RA. It's all about tau. Prog Neurobiol. 2019 Apr;175:54-76. doi: 10.1016/j.pneurobio.2018.12.005 [36] Zhang CC, Xing A, Tan MS, Tan L, Yu JT. The

Role of MAPT in Neurodegenerative Diseases: Genetics, Mechanisms and Therapy. Mol Neurobiol. 2016 Sep;53(7):4893-904. doi: 10.1007/s12035-015-9415-8
[37] Liu Z, Li T, Li P, Wei N, Zhao Z, Liang H, Ji X, Chen W, Xue M, Wei J. The Ambiguous Relationship of Oxidative Stress, Tau Hyperphosphorylation, and Autophagy Dysfunction in Alzheimer's Disease. Oxid Med Cell Longev. 2015;2015:352723. doi: 10.1155/2015/352723
[38] Llorens F, Villar-Piqué A, Candelise N, Ferrer I, Zerr I. Tau protein as a biological fluid biomarker in neurodegenerative dementias. In Cognitive Disorders; Foyaca Sibat, H., Ed.; IntechOpen: London, UK, 2019 10.5772/intechopen.73528
[39] Bateman RJ, Barthélemy NR, Horie K. Another step forward in blood-based diagnostics for Alzheimer's disease. Nat Med. 2020 Mar;26(3):314-316. doi: 10.1038/s41591-020-0797-4
[40] Mielke MM, Hagen CE, Xu J, Chai X, Vemuri P, Lowe VJ, Airey DC, Knopman DS, Roberts RO, Machulda MM et al. Plasma phospho-tau181 increases with Alzheimer's disease clinical severity and is associated with tau- and amyloid-positron emission tomography. Alzheimers Dement. 2018 Aug;14(8):989-997. doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.013
[41] Park JC, Han SH, Yi D, Byun MS, Lee JH, Jang S, Ko K, Jeon SY, Lee YS, Kim YK, Lee DY, Mook-Jung I. Plasma tau/amyloid-β1-42 ratio predicts brain tau deposition and neurodegeneration in Alzheimer's disease. Brain. 2019 Mar 1;142(3):771-786. doi: 10.1093/brain/awy347
[42] Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. Alzheimers Dement (N Y). 2018 Sep 6;4:575-590. doi: 10.1016/j.trci.2018.06.014
[43] Zhao T, Su Z, Li Y, Zhang X, You Q. Chitinase-3 like-protein-1 function and its role in diseases. Signal Transduct Target Ther. 2020 Sep 14;5(1):201. doi: 10.1038/s41392-020-00303-7
[44] Llorens F, Thüne K, Tahir W, Kanata E, Diaz-Lucena D, Xanthopoulos K, Kovatsi E, Pleschka C, Garcia-Esparcia P, Schmitz M et al. YKL-40 in the brain and cerebrospinal fluid of neurodegenerative dementias. Mol Neurodegener. 2017 Nov 10;12(1):83. doi: 10.1186/s13024-017-0226-4
[45] Gispert JD, Monté GC, Suárez-Calvet M, Falcon C, Tucholka A, Rojas S, Rami L, Sánchez-Valle R, Lladó A, Kleinberger G et al. The *APOE* ε4 genotype modulates CSF YKL-40 levels and their structural brain correlates in the continuum of Alzheimer's disease but not those of sTREM2. Alzheimers Dement (Amst). 2016 Dec 22;6:50-59. doi: 10.1016/j.dadm.2016.12.002
[46] Choi JY, Yeo IJ, Kim KC, Choi WR, Jung JK, Han SB, Hong JT. K284-6111 prevents the amyloid beta-induced neuroinflammation and impairment of recognition

memory through inhibition of NF-κB-mediated CHI3L1 expression. J Neuroinflammation. 2018 Aug 11;15(1):224. doi: 10.1186/s12974-018-1269-3
[47] Park HY, Jun CD, Jeon SJ, Choi SS, Kim HR, Choi DB, Kwak S, Lee HS, Cheong JS, So HS, Lee YJ, Park DS. Serum YKL-40 levels correlate with infarct volume, stroke severity, and functional outcome in acute ischemic stroke patients. PLoS One. 2012;7(12):e51722. doi: 10.1371/journal.pone.0051722
[48] Sanfilippo C, Longo A, Lazzara F, Cambria D, Distefano G, Palumbo M, Cantarella A, Malaguarnera L, Di Rosa M. CHI3L1 and CHI3L2 overexpression in motor cortex and spinal cord of sALS patients. Mol Cell Neurosci. 2017 Dec;85:162-169. doi: 0.1016/j.mcn.2017.10.001
[49] Hansson O. Biomarkers for neurodegenerative diseases. Nat Med. 2021 Jun;27(6):954-963. doi: 10.1038/s41591-021-01382-x
[50] Querol-Vilaseca M, Colom-Cadena M, Pegueroles J, San Martín-Paniello C, Clarimon J, Belbin O, Fortea J, Lleó A. YKL-40 (Chitinase 3-like I) is expressed in a subset of astrocytes in Alzheimer's disease and other tauopathies. J Neuroinflammation. 2017 Jun 9;14(1):118. doi: 10.1186/s12974-017-0893-7
[51] Chung C, Tallerico T, Seeman P. Schizophrenia hippocampus has elevated expression of chondrex glycoprotein gene. Synapse. 2003 Oct;50(1):29-34. doi: 10.1002/syn.10228
[52] Rymo I, Kern S, Bjerke M, Zetterberg H, Marlow T, Blennow K, Gudmundsson P, Skoog I, Waern M. CSF YKL-40 and GAP-43 are related to suicidal ideation in older women. Acta Psychiatr Scand. 2017 Apr;135(4):351-357. doi: 10.1111/acps.12701
[53] Isgren A, Sellgren C, Ekman CJ, Holmén-Larsson J, Blennow K, Zetterberg H, Jakobsson J, Landén M. Markers of neuroinflammation and neuronal injury in bipolar disorder: Relation to prospective clinical outcomes. Brain Behav Immun. 2017 Oct;65:195-201. doi: 10.1016/j.bbi.2017.05.002
[54] Califf RM. Biomarker definitions and their applications. Exp Biol Med (Maywood). 2018 Feb;243(3):213-221. doi: 10.1177/1535370217750088
[55] Keshavan A, Heslegrave A, Zetterberg H, Schott JM. Blood Biomarkers for Alzheimer's Disease: Much Promise, Cautious Progress. Mol Diagn Ther. 2017 Feb;21(1):13-22. doi: 10.1007/s40291-016-0241-0
[56] Janeiro M, Ardanaz C, Sola-Sevilla N, Dong J, Cortés M, Solas Maite, Puerta E, Ramírez María. Biomarkers in Alzheimer’s disease. Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio 2020. -1. 10.1515/almed-2020-0090.
[57] Del Prete E, Beatino MF, Campese N, Giampietri L, Siciliano G, Ceravolo R, Baldacci F. Fluid Candidate Biomarkers for Alzheimer's Disease: A Precision Medicine Approach. J Pers Med. 2020 Nov 11;10(4):221. doi: 10.3390/jpm10040221

[58] Jagtap A, Gawande S, Sharma. Biomarkers in vascular dementia: A Recent Update. Biomarkers and Genomic Medicine 2014. 7. 10.1016/j.bgm.2014.11.001
[59] Mungas D, Marshall SC, Weldon M, Haan M, Reed BR. Age and education correction of Mini-Mental State Examination for English and Spanish-speaking elderly. Neurology. 1996 Mar;46(3):700-6. doi: 10.1212/wnl.46.3.700
[60] Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych. Rewizja dziesiąta. Klasyfikacja zaburzeń psychicznych i zachowania w ICD-10. Badawcze kryteria diagnostyczne. Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne „Vesalius” Instytut Psychiatrii i Neurologii Kraków-Warszawa 1998
[61] Hampel H, O'Bryant SE, Molinuevo JL, Zetterberg H, Masters CL, Lista S, Kiddle SJ, Batrla R, Blennow K. Blood-based biomarkers for Alzheimer disease: mapping the road to the clinic. Nat Rev Neurol. 2018 Nov;14(11):639-652. doi: 10.1038/s41582-018-0079-7