

ПРОТЕОМНЫЕ МАРКЕРЫ И РАННЕЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Обзор

© 2022 Н.В. Захарова^{1*}, А.Е. Бугрова¹, М.И. Индейкина¹, Я.Б. Федорова²,
И.В. Колыхалов², С.И. Гаврилова², Е.Н. Николаев³, А.С. Кононихин^{3*}

¹ ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 Москва, Россия; электронная почта: NVZakharova@yandex.ru

² ФГБНУ Научный центр психического здоровья, 115522 Москва, Россия

³ Сколковский институт науки и технологий,
121205 Москва, Россия; электронная почта: a.kononikhin@skoltech.ru

Поступила в редакцию 14.04.2022

После доработки 06.06.2022

Принята к публикации 07.06.2022

Болезнь Альцгеймера (БА) является самой распространённой социально-значимой нейродегенеративной патологией, которая в настоящее время касается более 30 млн пожилых людей по всему миру. Поскольку число пациентов постоянно растёт и к 2050 г. может превысить 115 млн, а также ввиду отсутствия методов эффективного лечения, раннее прогнозирование риска развития БА остаётся глобальной задачей, решение которой может способствовать своевременному назначению превентивной терапии для предотвращения необратимых изменений в мозге. На сегодняшний день разработаны методы клинического анализа маркеров амилоидоза в спинномозговой жидкости (СМЖ), которые совместно с исследованиями мозга методами МРТ и ПЭТ используются либо для подтверждения диагноза, поставленного на основе облигатных клинических критериев, либо для прогнозирования риска развития БА на стадии мягкого когнитивного снижения. Тем не менее проблема прогнозирования БА на бессимптомной стадии остаётся нерешённой. В этой связи поиск новых белковых маркеров и исследования протеомных изменений СМЖ и плазмы крови представляют особый интерес и, кроме прочего, могут прояснить роль конкретных биологических процессов в патогенезе БА. Исследования характерных протеомных изменений плазмы заслуживают особого внимания ввиду существенно менее травматичного способа сбора образцов по сравнению со СМЖ, что является немаловажным при выборе объекта для широкомасштабного скрининга. В данном обзоре кратко обобщены текущие знания о белковых маркерах БА и рассмотрены перспективы создания надёжных методов раннего выявления риска БА на основе протеомного профиля.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь Альцгеймера, белковые маркеры, протеомика, ранняя диагностика.

DOI: 10.31857/S0320972522080097, **EDN:** AYLEXO

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространённая социально значимая нейродегенеративная патология пожилых людей,

связанная с изменениями поведения вследствие постепенной утраты памяти и умственной активности. БА диагностируют в 60–80% всех случаев деменции [1]; количество больных заметно растёт с каждым годом, и к 2050 г.

Принятые сокращения: АПФ – ангиотензинпревращающий фермент; Апо – аполипопротеин; БПА – белок-предшественник амилоида; ВПБ-1 – визин-подобный белок-1; ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; Ил – интерлейкин; КБ – кандидаты в биомаркеры; ЛВД – лобно-височная деменция; МКС – мягкое когнитивное снижение; МС – масс-спектрометрия; НФЛ – лёгкая цепь нейрофиламента; НФС – нейрофибрилярные сплетения; о-тау и ф-тау – общий и фосфорилированный тау-белок соответственно; РК1 – рецептор комплемента 1; рПРЭМ2 – растворимая форма экспрессируемого на миеоидных клетках пускового рецептора 2; СМЖ – спинномозговая жидкость; СРБ – С-реактивный белок; ФДГ- и РiВ-ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с ¹⁸фтордезоксиглюкозой и контрастным соединением-В Питсбурга соответственно; ФНО – фактор некроза опухоли; β2М – β-2-микроглобулин; YKL-40 – хитиназа-3-подобный белок 1.

* Адресат для корреспонденции.

ождается 4-кратное увеличение с общим числом больных – более 115 млн [2]. Проблема усугубляется фактическим отсутствием эффективного лечения заболевания, а начальные признаки деменции обычно связаны с уже произошедшими необратимыми изменениями в головном мозге, первые признаки которых могут появляться за 15–20 лет до постановки диагноза БА, и даже задолго до возникновения предшествующего альцгеймеровской деменции синдрома мягкого когнитивного снижения (МКС) [3–6]. В связи с этим раннее выявление потенциального риска развития БА является глобальной задачей, требующей создания эффективных методов анализа, применимых для широкомасштабного скрининга.

Основными патофизиологическими признаками БА являются ассоциированные с атрофией отделов мозга внеклеточные отложения из агрегатов β -амилоидных пептидов ($A\beta$), а также внутринейронные нейрофибриллярные сплетения (НФС) из агрегатов гиперфосфорилированного белка тау [7, 8]. Следовательно, некоторые характерные изменения могут быть выявлены при исследовании головного мозга: например, с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) можно детектировать такие факторы риска развития деменции, обусловленной БА, как атрофия гиппокампа [4, 9], истончение коры [10], а также изменения в энторинальной коре, верхней височной борозде и передней поясной извилине [11, 12]. Тем не менее информативности МРТ недостаточно для прогнозирования фатальных изменений даже на стадии МКС, в то время как лишь у половины пациентов с этим синдромом в действительности есть риск развития БА [13, 14]. Позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) с 18 фтордезоксиглюкозой (18 ФДГ-ПЭТ) может выявить характерное для БА снижение метаболизма в височно-теменной коре и с довольно высокой точностью предсказать переход МКС в БА [4, 12, 15, 16]. Ещё одним прогрессивным методом исследования головного мозга является ПЭТ с контрастным соединением-В Питсбурга (Pittsburg compound B, PiB-ПЭТ). Этот метод не только позволяет измерить количество отложений $A\beta$ и белка тау, но также может дифференцировать доклиническую, продромальную и клиническую стадии БА и прогнозировать скорость снижения когнитивных функций [5, 16–18]. Тем не менее и методы ПЭТ не являются эффективными на бессимптомной стадии до начала амилоидоза. Кроме того, низкая доступность и дороговизна исследований амилоид- и тау-ПЭТ являются существенным ограничением их использования для

обязательного скрининга в широкой медицинской практике [19].

Спинномозговая жидкость (СМЖ) из-за её прямого контакта с центральной нервной системой (ЦНС) содержит около 20% белков, происходящих из тканей мозга [20, 21], и является богатым источником маркеров БА, список которых продолжает пополняться [5, 22–24]. До сих пор наибольшее внимание уделяли исследованию различных форм $A\beta$ и тау, которые считают главными маркерами БА, поскольку они непосредственно участвуют в патогенезе. В настоящее время анализы общего тау (о-тау), фосфорилированного тау (ф-тау) и пептида $A\beta_{1-42}$ в СМЖ уже имеют клиническое применение [13, 25, 26] и даже включены в перечень диагностических критериев [27, 28]. В целом, комплексный анализ этих маркеров в СМЖ совместно с МРТ и/или ПЭТ действительно может выявить риск развития БА у пациентов с МКС в течение нескольких последующих лет [5, 9, 11, 12]. Тем не менее подобные исследования СМЖ и головного мозга используют лишь для подтверждения характерных для БА патофизиологических и нейропатологических изменений, в то время как для постановки диагноза БА облигатными остаются основные клинические критерии, такие как наличие деменции, прогрессирующее ухудшение памяти и других когнитивных функций, отсутствие нарушений сознания, отсутствие других заболеваний мозга и пр. [26]. Кроме того, главные биомаркеры в СМЖ не позволяют достоверно отличить БА от других форм деменции, таких как деменция с тельцами Леви (ДТЛ), лобно-височная деменция (ЛВД) и сосудистая деменция (СД) [25, 29, 30].

Плазма крови является наиболее обогащённой различными классами аналитов физиологической жидкостью, которую, в отличие от СМЖ, очень широко используют для клинических анализов благодаря малоинвазивному способу получения. Концентрации главных биомаркеров БА в крови значительно ниже, чем в СМЖ, однако их также исследуют в плазме для подтверждения диагноза БА [19, 31–35]. Тем не менее приемлемая диагностическая точность была получена только при оценке уровней $A\beta_{1-42}$ и $A\beta_{1-40}$ и снижения их соотношения [19, 31, 32], хотя метаанализ выявил существенные разногласия между разными исследованиями [28]. Современные высокочувствительные методы также позволяют анализировать в плазме соотношение о-тау/ф-тау [33, 34]. Тем не менее в целом текущие исследования, касающиеся ассоциированных с БА белковых маркеров крови и СМЖ, уже

выходят далеко за рамки биомаркеров главных патологических изменений. И высокая актуальность таких исследований, прежде всего, продиктована необходимостью поиска ранних прогностических маркеров БА, которые могут проявляться ещё на бессимптомной стадии. Использование передовых протеомных технологий, основанных на методах иммуноанализа и масс-спектрометрии (МС) позволило идентифицировать десятки новых потенциальных белковых маркеров, а анализ протеомных профилей методами многомерной статистики и машинного обучения позволил предложить несколько классификаторов для определения повышенного риска БА на бессимптомной стадии. Выявление новых потенциальных маркеров также может способствовать получению новой информации, касающейся патогенеза БА. В данном обзоре обобщены современные знания о белковых маркерах БА в СМЖ и крови, а также рассмотрены перспективы их применения для ранней диагностики БА.

БЕЛКИ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ КАК МАРКЕРЫ БА В СМЖ И КРОВИ

Главные белковые маркеры БА. Аβ-пептиды, о-тау и ф-тау, являются общепризнанными главными маркерами, подтверждающими диагноз БА [12, 14], и непосредственными участниками патогенеза: агрегация Аβ может быть ключевым событием, инициирующим образование внеклеточных нейритных бляшек, тогда как внутриклеточное накопление тау в процессе нейровоспаления может быть основным модулятором развития нейродегенерации [6]. Их возможное использование в качестве ранних маркеров БА было предметом очень многих исследований на протяжении более 20 лет [14, 28].

β-амилоидные пептиды (Аβ). Полноразмерные формы Аβ, преимущественно Аβ₁₋₄₀ и Аβ₁₋₄₂, образуются из присутствующего во многих тканях белка-предшественника амилоида (БПА) путём его процессинга по амилоидогенному пути с участием β- и γ-секретаз [36, 37]. Эти пептиды обладают крайне высокой способностью к агрегации благодаря наличию амилоидного участка, склонного к перестройке с образованием β-тяжей, которые, в свою очередь, могут укладываться слоями, образуя амилоидные складки [38]. Аβ может играть важную физиологическую роль в регуляции когнитивных функций головного мозга, ангиогенеза, нейрогенеза, в устране-

нии утечек через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), способствует посттравматическому восстановлению, а также может обладать антимикробным действием и выступать в качестве супрессора опухолей [39]. Однако нарушения равновесия между образованием полноразмерных форм Аβ и их удалением из тканей мозга [40, 41], а также дальнейший патологический процессинг накопленного Аβ [42, 43] могут способствовать образованию нейротоксических олигомеров и устойчивых к деградации агрегатов.

Обнаруженная при БА корреляция между снижением уровня Аβ₁₋₄₂ в СМЖ и характерным увеличением амилоидных отложений в головном мозге [5, 12, 24] подтверждает, что транспорт Аβ из мозга в СМЖ является важным путём его утилизации, а также обосновывает уместность клинических анализов содержания Аβ в СМЖ [22–28]. Недавно предложенная оценка соотношения Аβ₁₋₄₂/Аβ₁₋₄₀ существенно повышает диагностическую точность анализа и даже может предсказать появление амилоидоза у пациентов с отрицательными результатами ПЭТ [33, 44]. Однако примерно 25% растворимых форм Аβ могут напрямую транспортироваться из мозга в кровь через ГЭБ, а ещё 25% попадают в кровь путём реабсорбции из СМЖ [45]. Таким образом, снижение концентрации Аβ₁₋₄₂ и соотношения Аβ₁₋₄₂/Аβ₁₋₄₀ в плазме также рассматривают в качестве маркеров БА [31]. Однако в крови главными источниками различных форм БПА являются тромбоциты и лейкоциты, которые также могут секретировать Аβ-пептиды [46, 47]. БПА в действительности представлен различными изоформами длиной 695–770 аминокислотных остатков, кодируемыми общим геном на 21 хромосоме и являющимися продуктами альтернативного сплайсинга [48]. Секретируемая в крови изоформа БПА, протеаза нексин-2, содержащая домен ингибитора протеаз Кунитца, является важным ингибитором факторов свёртывания крови XIa, IXa, Xa и VIIa в комплексе с тканевым фактором [47, 49], а также участвует в воспалительных и иммунных реакциях [46, 50]. При БА отмечены значительные изменения в активности α- и β-секретаз тромбоцитов, что сопровождается параллельным изменением соотношения форм БПА [51], которое также обнаруживается у пациентов с МКС по крайней мере за 2 года до начала БА [47]. В целом до 90% Аβ крови может иметь тромбоцитарное происхождение [52, 53]. Однако, поскольку тромбоциты производят преимущественно форму Аβ₁₋₄₀ [52, 54], изменение концентрации формы Аβ₁₋₄₂ в плазме все-таки

может быть связано с патологическими изменениями в мозге. Например, снижение соотношения $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ может прогнозировать церебральный амилоидоз на бессимптомной стадии при отрицательных результатах ПЭТ [55]. Тем не менее патологическое снижение $A\beta_{1-42}$ в плазме достигает лишь 14–20% по сравнению с 50% – в СМЖ [33]. Также важно отметить, что суммарные концентрации форм $A\beta$ в плазме ($\sim 0,27$ нг/мл $A\beta_{1-40}$ и $\sim 0,03$ нг/мл $A\beta_{1-42}$ при амилоидозе) на порядок ниже, чем в СМЖ (5 ± 3 и $0,2 \pm 0,2$ нг/мл соответственно) [31, 56], что требует использования более чувствительных методов анализа для крови. И, кроме того, большой разброс концентраций $A\beta$ у представителей одной диагностической группы, как в плазме, так и в СМЖ, предполагает, что лишь индивидуальные изменения в динамике подлежат корректной интерпретации.

Тау-белок. Тау является ассоциированным с микротрубочками белком, который в высокой степени экспрессируется в нейронах коры [39] и участвует в сборке и стабилизации микротрубочек, тем самым играя важную роль в поддержании сложной клеточной микроархитектуры [57]. Кроме того, тау принимает участие в миелинизации, метаболизме глюкозы, аксональном транспорте, динамике микротрубочек, гомеостазе железа, нейрогенезе, двигательной функции, обучении и памяти, возбудимости нейронов и защите ДНК [39]. В мозге человека он представлен шестью изоформами размером 352–441 аминокислот, продуктами альтернативного сплайсинга экзонов 2, 3 и 10 гена *MAPT* [57, 58]. Активность тау регулируется степенью его фосфорилирования. В норме тау содержит 2–3 фосфорилированных сайта, тогда как при БА он становится аномально гиперфосфорилированным – в 3–4 раза выше нормы [59]. Это приводит к разрушению микротрубочек и формированию нейротоксичных НФС, состоящих в основном из смеси прямых и самособирающихся парных спиральных филаментов тау [59]. В целом лишь одной аномалии тау достаточно для развития нейродегенерации и деменции. Кроме БА, отложения тау характерны и для ряда других заболеваний-таупатий [58].

В качестве маркера БА в СМЖ повышенный уровень о-тау указывает на деградацию нейронов коры, в то время как высокие концентрации ф-тау отображают присутствие в коре НФС [28, 57, 59–61]. В целом, увеличение уровней о-тау и ф-тау в СМЖ может происходить вследствие повышенного фосфорилирования и секреции тау нейронами в ответ на воздействие $A\beta$ [33]. Среди фосфорили-

рованных маркеров рассматривают три формы, фосфорилированные по треонинам 181, 217 и 231 [33]. Ф-тау181 и ф-тау231 являются классическими маркерами БА [12], тогда как, согласно последним данным, ф-тау217 может указывать на амилоидоз даже на бессимптомной стадии [34, 62, 63].

Как и в случае $A\beta$, концентрация тау в плазме значительно ниже, чем в СМЖ ($0,2$ – $40,0$ пг/мл [64] – в плазме против 263 ± 164 пг/мл – в СМЖ [65]), в связи с чем для его анализа необходимо использование сверхчувствительных методов и специальной обогатительной пробоподготовки. Тем не менее в ряде исследований было показано достоверное увеличение ф-тау181 и/или ф-тау217 в плазме при БА [33, 34, 61, 66–68], а также показана ассоциация ф-тау181 со степенью тяжести заболевания [67]. В то же время уровень о-тау оказался непоказательным, что может быть связано с его значительно более быстрой протеолитической деградацией в плазме по сравнению со СМЖ [33, 69, 70].

Помимо СМЖ и крови, при БА было показано значительное увеличение соотношения ф-тау181/о-тау в слюне [71]. Таким образом, слюна тоже может представлять интерес в качестве потенциального объекта для анализа с неинвазивным способом получения.

Другие белковые маркеры, происходящие из ЦНС. Поиск других белковых маркеров, происходящих из тканей мозга, остаётся актуальным, так как их присутствие в СМЖ и крови может прямо указывать на характерное поражение нейронов. В частности, было показано, что ряд синаптических белков секретируется в СМЖ [72] и может отражать нестабильность и дегенерацию дендритов из-за потери синапсов, что является ключевым признаком патогенеза БА [14]. Значительное увеличение нейрогранина в СМЖ было выявлено при БА и МКС [73–75]. Оно коррелирует с гипометаболизмом ^{18}F ДГ и со скоростью последующей атрофии гиппокампа [75] и считается специфичным для БА [76]. Также в СМЖ пациентов с БА и МКС было обнаружено значительное повышение концентрации белка пресинаптических везикул синаптотагмина-1 [77], хотя его уровень в крови, напротив, оказался сниженным [78]. Ассоциированный с синаптосомами белок 25 является ещё одним возможным маркером в СМЖ, так как его уровень значительно увеличивается, начиная с самых ранних стадий БА [79].

В СМЖ также можно измерить ряд белковых маркеров активации глии и дегенерации аксонов [80]. Уровень экспрессируемого астро-

цитами хитиназа-3-подобного белка 1 (YKL-40) повышается при БА и ЛВД, но не в случаях болезни Паркинсона, ДТЛ или СД [28, 30, 81, 82]. Растворимая форма экспрессируемого на миелоидных клетках пускового рецептора 2 (рПРЭМ2), который может играть важную роль в утилизации агрегатов тау, является ещё одним перспективным маркером БА. Повышенный уровень рПРЭМ2 может указывать на очень ранние бессимптомные стадии нейродегенерации [83]. Также, при БА было показано увеличение уровней хитотриозидазы, CD14 и СС-хемокинового лиганда 2 [81, 84]. Представитель семейства сенсорных кальциевых белков, визин-подобный белок-1 (ВПБ-1), является ещё одним перспективным маркером, хотя и менее специфичным для БА, чем синаптические белки: его уровень и соотношение ВПБ-1/ $A\beta_{1-42}$ увеличиваются в СМЖ при БА и коррелируют с изменениями о-тау, ф-тау [81] и результатами РiВ-ПЭТ [30, 85].

Уровень нейрофиламентных белков повышается как в СМЖ, так и в крови при любом повреждении аксонов, и эти белки могут быть перспективными альтернативными маркерами, хотя и менее специфичными для БА, чем некоторые из упомянутых выше [86]. В частности, была показана очень высокая корреляция между уровнями лёгкой цепи нейрофиламента (НФЛ) в СМЖ и плазме, хотя концентрация в плазме оказалась на ~ 2 порядка ниже [87]. Использование современных иммунологических методов анализа позволяет достоверно детектировать НФЛ в широком диапазоне концентраций, даже в образцах крови здоровых людей [14, 86, 87]. Заметное увеличение НФЛ в плазме оказалось сравнимым по диагностической эффективности с главными биомаркерами БА в СМЖ: уровни НФЛ были наиболее высокими у пациентов с положительными результатами РiВ-ПЭТ и коррелировали с ухудшением когнитивных функций, высокой скоростью последующей атрофии мозга и гипометаболизмом ^{18}F ДГ-ПЭТ [88].

Нейротрофин – нейротрофический фактор мозга, наиболее распространённый в ЦНС, может проходить через ГЭБ, и его концентрация в крови даже выше, чем в СМЖ [89]. Было показано, что БА и МКС сопровождаются снижением уровня этого белка в крови [90], хотя в случае МКС это изменение скорее может быть связано с изменением когнитивной стимуляции, чем с когнитивными функциями [91]. Кроме того, изменение уровня этого белка может быть ассоциировано с другими психиатрическими расстройствами, такими как депрессия и шизофрения [89, 92].

Обобщая данные о белках-маркерах, происходящих из ЦНС, можно допустить, что комплексный анализ нескольких уже известных маркеров БА в крови может стать приемлемой альтернативой анализу маркеров в СМЖ, а динамическое увеличение ф-тау и рПРЭМ2 в плазме с одновременным снижением соотношения $A\beta_{1-42}/A\beta_{1-40}$ может указывать на начало амилоидоза ещё на бессимптомной стадии (таблица). Тем не менее проведённый Olsson et al. [28] метаанализ 231 статьи за 1984–2014 гг. показал, что только главные биомаркеры БА (о-тау, ф-тау и $A\beta_{1-42}$ – в СМЖ и о-тау – в плазме) и НФЛ в СМЖ имели высокую ассоциацию с риском БА. Тогда как для других белков СМЖ была показана лишь умеренная связь, и никаких ассоциаций не было выявлено для $A\beta$ в плазме. Таким образом, отсутствие убедительных результатов с другими маркерами, кроме главных, а также существенный разброс измеряемых концентраций всех перечисленных маркеров подчёркивают необходимость продолжения поиска новых маркеров, которые не обязательно должны иметь прямое отношение к ЦНС и амилоидозу.

БЕЛКИ С НАРУШЕННОЙ РЕГУЛЯЦИЕЙ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ

Высокая актуальность поиска новых маркеров БА в плазме крови способствовала увеличению числа работ по анализу протеома плазмы или сыворотки с целью выявления потенциальных маркеров, не связанных непосредственно с патологическими процессами в мозге. В целом протеомный профиль может отражать системные изменения метаболических путей, связанные с патогенезом БА. Важно отметить, что нейродегенерация при БА может иметь комплексные причины, ассоциированные с перманентным нейровоспалением, сосудистой дисфункцией и повышенной проницаемостью ГЭБ, что, несомненно, оказывает влияние на протеомный профиль плазмы [92]. Из-за существенной роли воспаления в патогенезе БА наибольшее количество исследований было посвящено поиску потенциальных маркеров БА среди уже известных маркеров других заболеваний, в основном с использованием иммунологических методов и панелей, разработанных для диагностики патологий, связанных с воспалением [19, 92]. Также было уделено особое внимание возможному нарушению регуляции белков, относящихся к генетическим факторам риска БА. Кроме того, в последнее время всё большую популярность

Белковые маркеры БА, выявляемые в СМЖ и плазме крови при синдроме МКС и на бессимптомной стадии

Белок-маркер	Объект анализа	Изменения на стадии [Ссылка]:			Комментарии
		БА	МКС и ПЭТ ^а	ПЭТ ^б	
Aβ ₁₋₄₂ (↓)	СМЖ	[5, 12, 22–28]	[12, 22–28]	не показано	объект клинических анализов; большой разброс концентраций [56]; недостаточная специфичность [24, 28, 29] патологическое снижение – лишь 14–20% [33]; только индивидуальный прогноз по динамике результатов [32]
	плазма	[31, 32]	[31]	не показано	
Aβ ₁₋₄₂ /Aβ ₁₋₄₀ (↓)	СМЖ	[33, 44]	[33, 44]	[33, 44]	объект клинических анализов; повышенная диагностическая точность, по сравнению с Aβ ₁₋₄₂ разногласия между исследованиями [28]; только индивидуальный прогноз по динамике результатов [32]
	плазма	[31, 32, 55]	[31, 32]	[32, 55]	
БПА	тромбоциты	[47, 51]	[47]	не показано	изменение соотношения продуктов процессинга БПА α- и β-секретазами [47]
о-тау (↑)	СМЖ	[28, 57, 59–61]	[28, 57, 59–61]	[28]	объект клинических анализов; большой разброс концентраций [65]; недостаточная специфичность [58, 59]
ф-тау (↑)	СМЖ	[12, 28, 33, 34]	[12, 28, 33, 34]	[28, 34, 62, 63]	объект клинических анализов; ф-тау181, -217 и -231 отличают БА от других таупатий очень низкие концентрации в плазме; большой разброс значений [64]
	плазма	[33, 34, 61, 66–68]	[33]	[33]	
НФЛ (↑)	СМЖ, плазма	[14, 86, 87]	[14, 86, 87]	не показано	объект клинических анализов; недостаточная специфичность [86]; очень низкие концентрации в плазме [87]
Нейрогранин (↑)	СМЖ	[73–75]	[73–75]	не показано	специфичен для БА [76]; нет данных для плазмы
Синаптогмин-1 (↑)	СМЖ	[77]	[77]	не показано	нет согласованности с результатами для плазмы [78]
ΥKL-40 (↑)	СМЖ	[28, 30, 81, 82, 93]	[93]	не показано	маркер воспаления; может указывать на ЛВД; нет данных для плазмы
pPP2M2 (↑)	СМЖ	[83, 93]	[83, 93]	[83]	маркер воспаления; недостаточная специфичность
	плазма	[93]	[93]	не показано	
ВПБ-1 (↑)	СМЖ	[30, 85, 93]	[93]	не показано	маркер воспаления; также увеличивается соотношение ВПБ-1/Aβ ₁₋₄₂ [85]; нет данных для плазмы
Нейротрофический фактор мозга (↓)	плазма	[90]	[90]	не показано	концентрация в крови выше, чем в СМЖ [89]; недостаточная специфичность [92]
β-секретаза 1 (↑)	плазма	[19, 94, 95]	[19]	не показано	активность в СМЖ при МКС выше, чем при БА [95]
Ил-6 (↑)	плазма	[93]	[93]	не показано	маркер воспаления; низкая специфичность

Примечание. ^а – «ПЭТ+» – положительные результаты исследований мозга ПЭТ; ^б – «ПЭТ–» – бессимптомная стадия с отрицательными результатами исследований мозга ПЭТ и/или без признаков когнитивных отклонений. Сокращения: БПА – белок-предшественник амилоида; НФЛ – лёгкая цепь нейрофиламента; pPP2M2 – растворимая форма экспрессируемого на миелоидных клетках пушкового рецептора 2; ВПБ-1 – визин-подобный белок-1; Ил-6 – интерлейкин-6; ΥKL-40 – хитиназа-3-подобный белок 1.

приобретает нецелевой поиск потенциальных маркеров, для которого используют самые современные сверхчувствительные иммунологические и МС-методы.

Нарушение регуляции белков, относящихся к генетическим факторам риска БА. Внушительный список из уже более 40 генов/локусов, связанных с генетическим риском развития БА [96, 97], помимо непосредственных участников путей трансформации А β и тау, включает ряд участников холестерина и липидного обмена, а также белки, задействованные в воспалении, иммунном ответе, эндоцитозе и пр. [98]. Для некоторых идентифицированных генетических факторов, имеющих отношение к протеому плазмы и/или СМЖ, также была исследована возможность нарушения их уровня регуляции вне зависимости от их генетического полиморфизма. Помимо отмеченных выше характерных изменений соотношения форм БПА в крови [47, 51] и уровня рПРЭМ2 в СМЖ [83], были выявлены нарушения в регуляции β -секретазы 1, аполипопротеина Е (АпоЕ), кластерина, рецептора комплемента 1 (РК1) и ангиотензинпревращающего фермента (АПФ).

β -Секретазы 1 является одним из основных участников амилоидогенного процессинга БПА [19], и его экспрессия мононуклеарными клетками может быть повышена при БА [94]. Было показано, что активность β -секретазы 1 в плазме значительно повышается при БА и у пациентов с МКС за 3 года до перехода в БА [19]. Кроме того, было показано, что её уровень и активность в СМЖ значительно выше у пациентов с МКС по сравнению не только с контрольной группой, но и с группой БА [95].

АпоЕ является одним из наиболее изученных генетических факторов БА. Носители аллеля $\epsilon 4$, особенно гомозиготы, имеют значительно более высокий риск развития деменции [98]. АпоЕ играет важную роль в метаболизме липопротеинов/холестерина, участвует в транспорте липидов в ЦНС и может косвенно регулировать метаболизм А β , а также напрямую с ним взаимодействовать, влияя на его утилизацию [92, 98, 99]. Помимо генетических исследований, АпоЕ также является широко исследуемой мишенью в протеоме крови; однако результаты различных исследований противоречивы в отношении направления изменения уровня его регуляции [100–103].

Кластерин также относится к аполипопротеинам; однако как шаперон он участвует в апоптозе, регуляции каскада комплемента и т.д. [96]. Указания на его возможную роль в патогенезе БА были получены ещё до выявления характерных однонуклеотидных полимор-

физмов [104]. Присутствие его мРНК в амилоидных бляшках [104] и снижение образования А β -фибрилл у трансгенных по БПА мышей с дефицитом кластерина [105] предполагают его существенную роль в прогрессировании амилоидоза в головном мозге, где он может высвобождаться активированной микроглией вместе с рПРЭМ2 и YKL-40 [92]. Повышение уровня кластерина в плазме и СМЖ также может иметь связь с атрофическими изменениями в головном мозге, а также степенью тяжести и прогрессированием БА [96, 106, 107].

РК1 является компонентом каскада комплемента, повышенная активация которого может усугубить амилоидоз в головном мозге и прогрессирование БА [92, 96]. Однако РК1 может действовать как негативный регулятор этого каскада, опосредуя фагоцитоз иммунных комплексов [96]. Было показано, что его уровень в плазме снижается при БА по сравнению с контролем, в то время как при МКС снижение не обнаружено [108].

АПФ является ключевым компонентом регулирующего кровяное давление ренин-ангиотензинового пути, который в норме экспрессируется эндотелием, эпителием и нейронами. Он отщепляет сосудосуживающий октапептид ангиотензин II из предшественника декапептида ангиотензина I, инактивирует сосудорасширяющий брадикинин и, кроме того, способен опосредовать расщепление А β [109]. Связь полиморфизма АПФ с риском БА требует дальнейших исследований [94, 95]. Тем не менее было показано, что более высокая активность АПФ связана с более поздним началом БА, в то время как при БА его уровень в СМЖ снижен [110, 111].

Нарушение уровня регуляции белков воспаления и белковые маркеры, выявленные в нецелевых исследованиях. Воспаление, сосудистая дисфункция, активация иммунной системы, системы комплемента и свёртывания крови имеют множество перекрывающихся регуляторных путей и играют важную роль в патогенезе БА. Специфический цитокиновый сигналинг в тканях головного мозга с участием про- и противовоспалительных белков [112] также имеет отражение в протеомных профилях крови и СМЖ. Парное сравнение групп БА, МКС и контролей по 46 маркерам воспаления было проведено при анализе результатов 170 оригинальных исследований [93]. В крови были выявлены существенные изменения в концентрациях интерлейкинов (Ил-1 β , Ил-6 и Ил-8), растворимых рецепторов факторов некроза опухоли (рФНО1 и рФНО2), $\alpha 1$ -антихимотрипсина ($\alpha 1$ -АХТ), растворимого лиганда

CD40, высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ) и хемоаттрактантного белка моноцитов 1 (ХБМ-1). В СМЖ существенно менялись ХБМ-1, рПРЭМ2, YKL-40, α1-АХТ, фактор роста нервов, ВПБ-1 и Ил-10. Из перечисленных белков следует особенно отметить рПРЭМ2, YKL-40, ВПБ-1 и Ил-6, поскольку

увеличение их уровней было отмечено ещё на стадии синдрома МКС [93] (таблица).

Однако нецелевые протеомные исследования имеют особое значение, поскольку они могут непредвзято выявлять новые потенциальные маркеры и прояснять другие важные процессы, связанные с патогенезом БА.

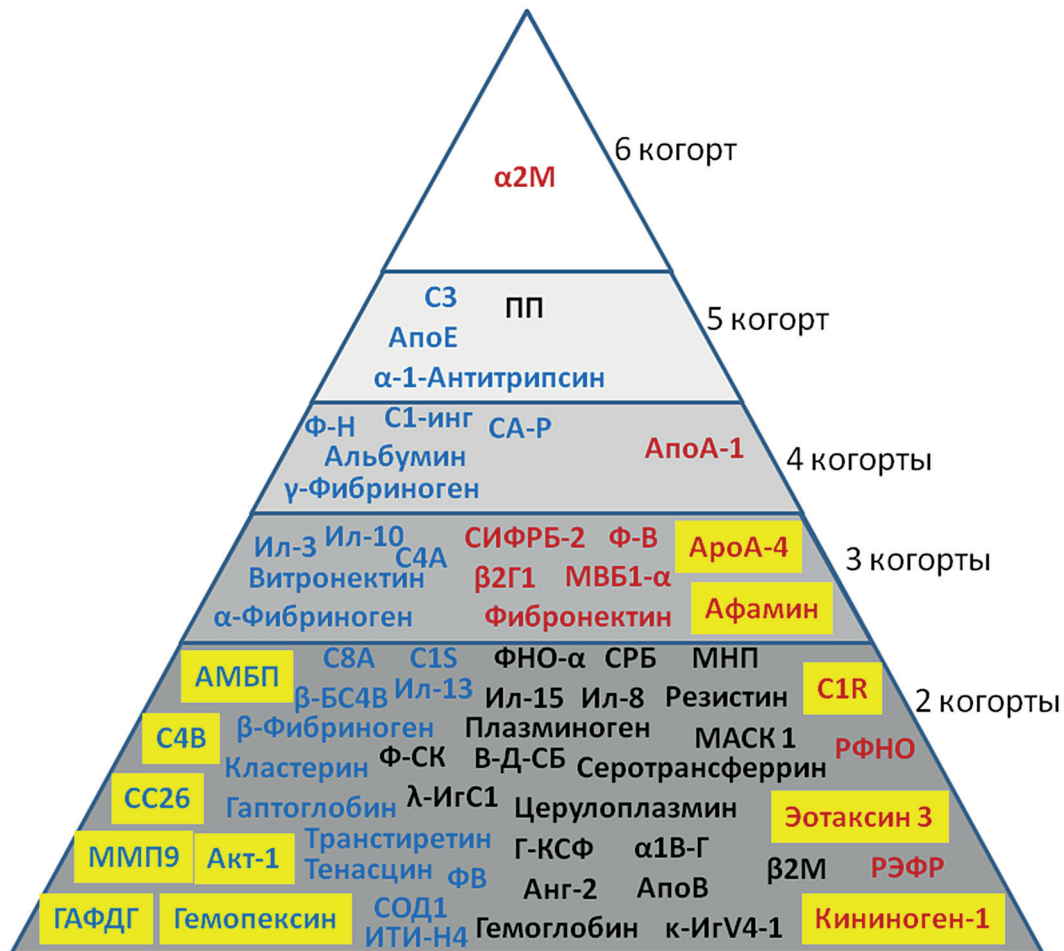


Рис. 1. Наиболее воспроизводимые потенциальные белковые маркеры болезни Альцгеймера в плазме крови. Названия, выделенные чёрным цветом, соответствуют кандидатам в биомаркеры (КБ), для которых количество когорт было одинаковым в метаанализах Kiddle et al. [113] и Rehiman et al. [100]. Названия, выделенные синим цветом, соответствуют максимальному количеству когорт совпадающих КБ, согласно первому исследованию; названия, выделенные красным цветом, соответствуют максимальному количеству когорт совпадающих КБ, согласно второму исследованию. Жёлтый фон указывает КБ, выявленные только в одном из исследований. Сокращения см. в таблице. Сокращения: α2М – α-2-макроглобулин; α1В-Г – α-1В-гликопротеин; β2Г1 – β-2-гликопротеин 1; β2М – β-2-мкроглобулин; β-БС4В – β-цепь белка, связывающего С4b; λ-ИгС1 – С регион λ-1 цепи иммуноглобулина; κ-ИгV4-1 – V–IV область Len цепи каппа иммуноглобулина; Акт-1 – актин цитоплазматический 1; АМБП – белок АМБП; Анг-2 – ангиопоэтин-2; АпоА-1 – аполипопротеин А-1; АпоА-4 – аполипопротеин А-4; АпоВ – аполипопротеин В-100; В-Д-СБ – белок, связывающий витамин Д; ГАФДГ – глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; ИТИ-Н4 – тяжёлая цепь Н4 интер-альфа-трипсинового ингибитора; МВБ1-α – макрофагальный воспалительный белок-1α; ММП9 – матриксная металлопротеиназа-9; МНП – мозговой натрийуретический пептид; МАСК1 – молекула адгезии сосудистых клеток 1; ПП – панкреатический прогормон; РЭФР – рецептор эпидермального фактора роста; РФНО – член суперсемейства рецептора фактора некроза опухоли 6; СА-Р – Р-компонент сывороточного амилоида; С1-инг – С1 ингибитор протеаз плазмы; С3 – комплемент С3; С4 – комплемент С4; С8А – α-цепь компонента комплемента С8; С1R – субкомпонент комплемента С1r; С1S – субкомпонент комплемента С1s; СС26 – С-С мотив хемокин 26; СИФРБ-2 – связывающий инсулиноподобный фактор роста белок 2; СРБ – С-реактивный белок; СОД1 – супероксиддисмутаза [Cu-Zn]; Ф-В – фактор В комплемента; Ф-Н – фактор Н комплемента; ФНО-α – фактор некроза опухолей-α; Ф-СК – фактор стволовых клеток; ФВ – фактор вон Виллебранда

Kiddle et al. [113] провели метаанализ 21 нецелевого поискового исследования, включая ряд исследований с использованием панелей для количественной оценки не менее 100 белков (считая их условно нецелевыми) и выявили в общей сложности 163 кандидата в биомаркеры (КБ) БА, из которых только 57 были воспроизведены по крайней мере в двух независимых исследовательских когортах, а 16 воспроизводились более, чем в трёх когортах; хотя направление изменения уровня их регуляции и возможная несогласованность разных исследований не были приняты во внимание. Недавно Rehiman et al. [100] провели более обширный метаанализ 1651 работы за 1984–2019 гг., в результате которого для сравнения были отобраны лишь 22 нецелевых исследования, только 8 из которых пересекались с обзором Kiddle et al. [113]. Новый метаанализ идентифицировал в общей сложности 207 КБ для БА и МКС, включая 160 белков, 46 из которых воспроизводились более, чем в двух из 17 независимых когорт. Тем не менее оба системных обзора в значительной степени согласуются друг с другом в списках белков и в общей сложности идентифицировали 97 общих КБ, 67 из которых были воспроизведены более, чем в двух когортах, согласно хотя бы одному из метаанализов (рис. 1). Анализ биологических функций общих КБ показывает, что

около половины из них вовлечены в процессы воспаления, иммунных ответов активации и регуляции комплемента (многие КБ вовлечены во все эти процессы), а также принимают участие в свёртывании крови и фибринолизе (рис. 2). Остальные КБ имеют отношение к процессам ангиогенеза, клеточного ответа и адгезии, гормональной регуляции, апоптоза, а также связаны с транспортом липидов, витаминов и ионов. Присутствие в этом списке нескольких аполипопротеинов, включая 2 фактора генетического риска (АпоЕ и кластерин (АпоJ)), а также белка, связывающего витамин Д, подчёркивает важность метаболизма липидов и липопротеинов в патогенезе БА. Кроме того, АпоЕ, кластерин, комплемент С3, β -2-микроглобулин (β 2М) и Ил-13 напрямую вовлечены в метаболизм А β . Тем не менее одним из важных выводов нецелевых исследований является прояснение существенной роли в патогенезе БА сосудистых изменений, которые комплексно влияют на регуляцию систем свёртывания/фибринолиза, комплемента и иммунного ответа. Таким образом, поиск потенциальных маркеров БА среди участников этих процессов представляется вполне уместным.

Из выявленных в нецелевых исследованиях КБ только СРБ, ФНО- α , Ил-8, Ил-10, ангиопэтин-2, Г-КСФ и МАСК1 перекрываются с потенциальными маркерами БА, рассмотрен-

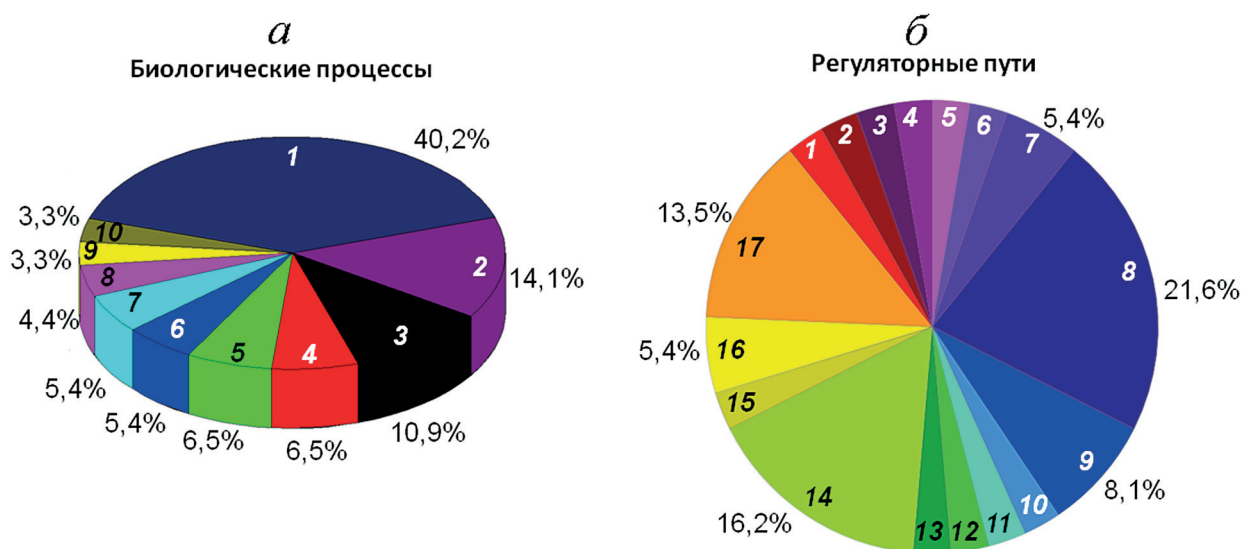


Рис. 2 Анализ биологических процессов (согласно <https://www.uniprot.org/>) и регуляторных путей (согласно <http://www.pantherdb.org/> [114]) с участием 67 потенциальных маркеров БА (рис. 1) при помощи круговых диаграмм. *а* – Биологические процессы: 1 – воспаление, иммунный ответ, активация комплемента; 2 – свёртывание крови, фибринолиз; 3 – клеточная адгезия; 4 – липидный транспорт; 5 – гормональная регуляция; 6 – ангиогенез; 7 – метаболизм А β ; 8 – гомеостаз железа; 9 – клеточный иммунный ответ; 10 – апоптоз. *б* – Регуляторные пути: 1 – активация Т-клеток; 2 – метаболизм витамина Д; 3 – сигнальный путь (СП) Wnt; 4 – путь p53; 5 – БА-пресенилин; 6 – ангиогенез; 7 – СП апоптоза; 8 – свёртывание крови; 9 – сигнальная карта рецептора холецистокинина (ССКР); 10 – СП кадгерина; 11 – СП РЭФР; 12 – СП РФНО; 13 – гормональные рецепторы; 14 – СП воспаления и иммунного ответа; 15 – СП интегринов; 16 – СП интерлейкинов; 17 – каскад активации плазминогена

ными в упомянутом выше целевом метаанализе маркеров воспаления [93]. Также важно отметить, что ни один из маркеров церебрального происхождения (таблица) не оказался среди ~270 нецелевых КБ, выявленных хотя бы в одном из исследований [110, 113], что может дополнительно указывать на крайне низкие относительные концентрации большинства из них и подчёркивает сложность их достоверного анализа. Тем не менее текущий список потенциальных маркеров БА уже достаточно внушительный и продолжает пополняться с каждым новым нецелевым поисковым исследованием. Конечно, важно осознавать, что ни один из кандидатов в отдельности не может претендовать на роль полноценного маркера БА как из-за недостаточной специфичности, так и из-за незначительности изменений уровней регуляции. Однако комплексный анализ комбинации этих КБ должен способствовать лучшему разделению групп пациентов и контролей, чем отдельные биомаркеры [19]. Таким образом, создание панелей белковых маркеров и разработка классификаторов приобретают всё большую актуальность и представляется перспективным направлением для создания доступных методов раннего скрининга риска БА на основе индивидуального протеомного профиля.

КЛАССИФИКАТОРЫ НА ОСНОВЕ ПРОТЕОМНЫХ МАРКЕРНЫХ ПАНЕЛЕЙ КАК ПЕРСПЕКТИВА НА БУДУЩЕЕ

Использование методов многомерной статистики и машинного обучения для анализа протеомных данных открывает большие возможности для разработки классификаторов, способных на основе индивидуального протеомного профиля прогнозировать вероятность развития БА на ранних этапах. В последние годы было разработано несколько дифференцирующих панелей и/или классификаторов, хотя в подавляющем большинстве работ классификаторы строили на основе панелей воспалительных маркеров или уникальных панелей, предложенных в тех же самых работах. Многие из них были получены с использованием иммунологических подходов, включая твердофазный иммуноферментный анализ [107, 115], мульти-панельные иммунологические исследования [116], мультиплексные флуоресцентные и электрохемилюминисцентные микромассивы [117, 118], иммуноанализы на основе микросфер (Luminex xMAP) [119–121] и прогрессивные подходы для мультиплексного анализа тысяч белков, такие как протеомная технология

на основе аптамеров (SomaScan™) [122, 123] и протеомика Olink™ [124, 125]. Жидкостная хроматография в сочетании с тандемной МС (ЖХ-МС/МС) и использование изобарических или тандемных масс-меток (iTRAQ, TMT) для относительного и абсолютного количественного определения белков также становятся всё более популярными для нецелевого поиска новых потенциальных маркеров среди тысяч белков и для разработки маркерных панелей и классификаторов [126–131].

Самая первая подготовленная для клинических испытаний панель из 21 белка включала в себя 10 из наиболее воспроизводимых КБ ($\alpha 2M$, $\beta 2M$, СРБ, эотаксин 3, Ил-10, МВП1- α , ПП, МАСК1, тенасцин и ФНО- α) и на этапе предварительной валидации показала положительную прогностическую величину ППВ = 0,85 и отрицательную прогностическую величину ОПВ = 0,94 [118]. В целом был достигнут определённый успех в создании ряда маркерных панелей с хорошими диагностическими характеристиками [115, 122, 132–134]. Однако состав выбранных для разных панелей белковых маркеров очень сильно варьируется даже при использовании схожих аналитических подходов для выявления значимых белков. С одной стороны, это ставит под сомнение как обоснованность их возможного дальнейшего широкого применения, так и в целом перспективы применения панелей белковых маркеров для диагностики БА. Однако, с другой стороны, использование консолидированной маркерной панели может способствовать успешному разрешению возникших противоречий.

Для достижения большей согласованности между исследованиями представляется весьма целесообразным использование в качестве основы для разработки классификаторов некой согласованной расширенной панели потенциальных белковых маркеров БА. В частности, в согласованный список могут входить воспроизводимые КБ, рассмотренные выше (рис. 1). Тем не менее расширенная панель все-таки должна включать в себя большее количество КБ и, кроме того, может включать в себя ряд потенциально важных для дифференциации БА белков, важность которых может проявиться только при совместном анализе с другими белками методами многомерной статистики [129]. В этом контексте остаются весьма актуальными новые нецелевые поисковые работы, а также исследования с новыми независимыми когортами.

Ещё одним важным моментом, на который стоит обратить внимание в контексте повышения согласованности результатов, является разнообразие методов пробоподготовки.

В частности, удаление 10–22 доминирующих белков крови и СМЖ, применяемое во многих исследованиях для уменьшения динамического диапазона концентраций и облегчения анализа тысяч других белков [126, 128–130], может иметь неопределённое влияние на конечный результат, поскольку при этом исключаются из рассмотрения некоторые потенциальные маркеры, такие как фибриноген и сывороточный альбумин. Кроме того, нельзя исключить по крайней мере частичное со-удаление других белков, состав которых тоже может варьироваться в зависимости от использованных для удаления методов. Использование для анализа сыворотки крови вместо плазмы также исключает из рассмотрения фибриноген и некоторые белки, связанные с фибриновым сгустком и/или расщепляемые сериновыми протеазами каскада свёртывания. В этой связи во избежание потери важной информации и для уменьшения противоречивости разных исследований наиболее рациональным представляется анализ нативной плазмы. В частности, использование стратегии сбора данных независимой от данных (data independent acquisition, DIA) при проведении поисковых протеомных исследований с помощью МС высокого разрешения (таких как Orbitrap qTOF) позволяет получать большие объёмы данных при анализе нативных образцов [135]. Также в подобных комплексных МС-исследованиях представляется уместным использование двумерного хроматографического разделения образцов [127].

В то же время объём накопленных данных представляется уже достаточным для их использования в целевых мультиплексных МС-исследованиях для валидации уже известных КБ. Это могло бы способствовать созданию консолидированной расширенной панели потенциальных маркеров БА. Технология целевого МС-мониторинга множественных реакций (multiple reaction monitoring, MRM) с использованием внутренних меченных стабильными изотопами стандартов позволяет быстро разрабатывать методы количественного анализа с высокой специфичностью, точностью и надёжностью [136]. В частности, при использовании целевого МС с MRM удалось подтвердить повышение при БА уровней 10 белков острой фазы в СМЖ, в том числе 8 воспроизводимых КБ (α 1-антитрипсина, церулоплазмина, комплемента С3, α -, β - и γ -цепей фибриногена, гаптоглобина и гемопексина) [137]. Подобные исследования с плазмой также представляются многообещающими и очень актуальными для прогресса в создании согласованной панели маркеров с последую-

щим созданием классификаторов для раннего прогноза БА на бессимптомной стадии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На текущий момент для постановки диагноза БА облигатными остаются основные клинические критерии, такие как прогрессирующее ухудшение памяти и других когнитивных функций при отсутствии нарушений сознания и пр. Исследования мозга методами МРТ и/или ПЭТ и анализы протеоформ β -амилоида (А β) и белка тау в спинномозговой жидкости используют лишь для подтверждения диагноза и выявления риска развития БА на стадии мягкого когнитивного снижения, однако не являются эффективными для выявления патологических изменений на бессимптомной стадии, которая может длиться много лет до появления первых признаков деменции. Тем не менее прогнозирование вероятного прогрессирования случаев МКС в БА, а также раннее выявление прогностических маркеров БА у людей без когнитивных отклонений имеют очень большое значение, поскольку своевременное назначение терапии может предотвратить или по крайней мере существенно затормозить начало необратимых изменений в головном мозге. Несмотря на то что общепризнанные главные маркеры БА, А β -пептиды и белок тау, уже прошли валидацию для клинического анализа в СМЖ, поиск других маркеров БА остаётся актуальным. В отличие от СМЖ, кровь является традиционным объектом клинического анализа с минимально инвазивным способом сбора образцов. Поэтому поиск маркеров БА в крови представляется особенно актуальным для создания широкодоступных методов раннего выявления и оценки риска по БА. Особые надежды возлагаются на дальнейшие протеомные исследования, на продолжение нецелевого поиска новых потенциальных белковых маркеров и на создание классификаторов на основе согласованных протеомных маркерных панелей. На текущий момент список воспроизводимых потенциальных маркеров БА уже насчитывает десятки белков, что позволяет рассматривать их как предварительную базовую маркерную панель, которая может быть использована в качестве основы для создания классификаторов, прогнозирующих риск БА по индивидуальному протеомному профилю.

Вклад авторов. Концептуализация – Н.В.З., А.С.К., С.И.Г. и Е.Н.Н; анализ публикаций, подбор материала – Н.В.З., А.Е.Б., М.И.И., Я.Б.Ф. и

И.В.К.; анализ данных, подготовка иллюстраций и таблиц – Н.В.З., А.Е.Б., М.И.И. и А.С.К.; написание разделов обзора – Н.В.З., А.Е.Б., М.И.И. и Я.Б.Ф.; обзор и редактирование – А.С.К., И.В.К., С.И.Г. и Е.Н.Н. Все авторы прочитали и согласны с финальной версией рукописи.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке мегагранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

(Соглашение со Сколковским институтом науки и технологий № 075-10-2022-090 (075-10-2019-083)).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alzheimer's Association (2021) 2021 Alzheimer's disease facts and figures, *Alzheimer's Dement.*, **17**, 327-406, doi: 10.1002/alz.12328.
2. Prince, M., Bryce, R., Albanese, E., Wimo, A., Ribeiro, W., et al. (2013) The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis, *Alzheimer's Dement.*, **9**, 63-75, doi: 10.1016/j.jalz.2012.11.007.
3. Jack, Jr. C. R., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Petersen, R. C., Weiner, M. W., et al. (2013) Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers, *Lancet Neurol.*, **12**, 207-216, doi: 10.1016/S1474-4422(12)70291-0.
4. Galluzzi, S., Geroldi, C., Amicucci, G., Bocchio-Chiavetto, L., Bonetti, M., et al. (2013) Supporting evidence for using biomarkers in the diagnosis of MCI due to AD, *J. Neurol.*, **260**, 640-650, doi: 10.1007/s00415-012-6694-0.
5. Perrin, R. J., Fagan, A. M., and Holtzman, D. M. (2009) Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease, *Nature*, **461**, 916-922, doi: 10.1038/nature08538.
6. Long, J. M., and Holtzman, D. M. (2019) Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies, *Cell*, **179**, 312-339, doi: 10.1016/j.cell.2019.09.001.
7. Duyckaerts, C., Delatour, B., and Potier, M. C. (2009) Classification and basic pathology of Alzheimer disease, *Acta Neuropathol.*, **118**, 5-36, doi: 10.1007/s00401-009-0532-1.
8. Jack, Jr. C. R., Bennett, D. A., Blennow, K., Carrillo, M. C., Dunn, B., et al. (2018) NIA-AA research framework: toward a biological definition of Alzheimer's disease, *Alzheimer's Dement.*, **14**, 535-562, doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.018.
9. Jack, C. R., Petersen, R. C., Xu, Y. C., O'Brien, P. C., Smith, G. E., et al. (1999) Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment, *Neurology*, **52**, 1397-1397, doi: 10.1212/wnl.52.7.1397.
10. Dickerson, B. C., and Wolk, D. A. (2012) MRI cortical thickness biomarker predicts AD-like CSF and cognitive decline in normal adults, *Neurology*, **78**, 84-90, doi: 10.1212/WNL.0b013e31823efc6c.
11. Killiany, R. J., Gomez-Isla, T., Moss, M., Kikinis, R., Sandor, T., et al. (2000) Use of structural magnetic resonance imaging to predict who will get Alzheimer's disease, *Ann. Neurol.*, **47**, 430-439.
12. Hampel, H., Bürger, K., Teipel, S. J., Bokde, A. L., Zetterberg, H., et al. (2008) Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease, *Alzheimer's Dement.*, **4**, 38-48, doi: 10.1016/j.jalz.2007.08.006.
13. Petersen, R. C. (2003) *Mild Cognitive Impairment: Aging to Alzheimer's Disease*, Oxford University Press.
14. Blennow, K. (2017) A review of fluid biomarkers for Alzheimer's disease: moving from CSF to blood, *Neurol. Ther.*, **6**, 15-24, doi: 10.1007/s40120-017-0073-9.
15. Modrego, P. J. (2006) Predictors of conversion to dementia of probable Alzheimer type in patients with mild cognitive impairment, *Curr. Alzheimer Res.*, **3**, 161-170, doi: 10.2174/156720506776383103.
16. Zhang, S., Han, D., Tan, X., Feng, J., Guo, Y., et al. (2012) Diagnostic accuracy of 18 F-FDG and 11 C-PIB-PET for prediction of short-term conversion to Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment, *Int. J. Clin. Pract.*, **66**, 185-198, doi: 10.1111/j.1742-1241.2011.02845.x.
17. Rowe, C. C., Ng, S., Ackermann, U., Gong, S. J., Pike, K., et al. (2007) Imaging β -amyloid burden in aging and dementia, *Neurology*, **68**, 1718-1725, doi: 10.1212/01.wnl.0000261919.22630.ea.
18. Rice, L., and Bisdas, S. (2017) The diagnostic value of FDG and amyloid PET in Alzheimer's disease – A systematic review, *Eur. J. Radiol.*, **94**, 16-24, doi: 10.1016/j.ejrad.2017.07.014.
19. Hampel, H., O'Bryant, S. E., Molinuevo, J. L., Zetterberg, H., Masters, C., et al. (2018) Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: mapping the road to the clinic, *Nat. Rev. Neurol.*, **14**, 639-652, doi: 10.1038/s41582-018-0079-7.
20. Roche, S., Gabelle, A., and Lehmann, S. (2008) Clinical proteomics of the cerebrospinal fluid: towards the discovery of new biomarkers, *Proteomics Clin. Appl.*, **2**, 428-436, doi: 10.1002/prca.200780040.
21. Kroksveen, A. C., Opsahl, J. A., Aye, T. T., Ulvik, R. J., and Berven, F. S. (2011) Proteomics of human cerebrospinal fluid: discovery and verification of biomarker candidates in neurodegenerative diseases using quantitative proteomics, *J. Proteomics*, **74**, 371-388, doi: 10.1016/j.jprot.2010.11.010.
22. Tapiola, T., Alafuzoff, I., Herukka, S. K., Parkkinen, L., Hartikainen, P., et al. (2009) Cerebrospinal fluid β -amyloid 42 and tau proteins as

- biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the brain, *Arch. Neurol.*, **66**, 382-389, doi: 10.1001/archneurol.2008.596.
23. Ritchie, C., Smailagic, N., Ladds, E. C., Noel-Storr, A. H., Ukoumunne, O., et al. (2013) CSF tau and the CSF tau/ABeta ratio for the diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI), *Cochrane Database Syst. Rev.*, **3**, CD10803, doi: 10.1002/14651858.CD010803.
 24. Grimmer, T., Riemenschneider, M., Fors, H., Henriksen, G., Klunk, W. E., et al. (2009) Beta amyloid in Alzheimer's disease: increased deposition in brain is reflected in reduced concentration in cerebrospinal fluid, *Biol. Psychiatry*, **65**, 927-934, doi: 10.1016/j.biopsych.2009.01.027.
 25. Ferreira, D., Perestelo-Pérez, L., Westman, E., Wahlund, L. O., Sarría, A., et al. (2014) Meta-review of CSF core biomarkers in Alzheimer's disease: the state-of-the-art after the new revised diagnostic criteria, *Front. Aging Neurosci.*, **6**, 47, doi: 10.3389/fnagi.2014.00047.
 26. McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, H., Hyman, B. T., Jack, Jr. C. R., et al. (2011) The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease, *Alzheimer's Dement.*, **7**, 263-269, doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005.
 27. Schott, J. M., and Petersen, R. C. (2015) New criteria for Alzheimer's disease: which, when and why? *Brain*, **138**, 1134-1137, doi: 10.1093/brain/awv055.
 28. Olsson, B., Lautner, R., Andreasson, U., Öhrfelt, A., Portelius, E., et al. (2016) CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis, *Lancet Neurol.*, **15**, 673-684, doi: 10.1016/S1474-4422(16)00070-3.
 29. Rosén, C., Hansson, O., Blennow, K., and Zetterberg, H. (2013) Fluid biomarkers in Alzheimer's disease – current concepts, *Mol. Neurodegener.*, **8**, 20, doi: 10.1186/1750-1326-8-20.
 30. Huynh, R. A., and Mohan, C. (2017) Alzheimer's disease: biomarkers in the genome, blood, and cerebrospinal fluid, *Fron. Neurol.*, **8**, 102, doi: 10.3389/fneur.2017.00102.
 31. Ovod, V., Ramsey, K. N., Mawuenyega, K. G., Bollinger, J. G., Hicks, T., et al. (2017) Amyloid β concentrations and stable isotope labeling kinetics of human plasma specific to central nervous system amyloidosis, *Alzheimer's Dement.*, **13**, 841-849, doi: 10.1016/j.jalz.2017.06.2266.
 32. Nakamura, A., Kaneko, N., Villemagne, V. L., Kato, T., Doecke, J., et al. (2018) High performance plasma amyloid-beta biomarkers for Alzheimer's disease, *Nature*, **554**, 249-254, doi: 10.1038/nature25456.
 33. Zetterberg, H., and Blennow, K. (2021) Moving fluid biomarkers for Alzheimer's disease from research tools to routine clinical diagnostics, *Mol. Neurodegener.*, **16**, 10, doi: 10.1186/s13024-021-00430-x.
 34. Barthelemy, N. R., Horie, K., Sato, C., and Bateman, R. J. (2020) Blood plasma phosphorylated-tau isoforms track CNS change in Alzheimer's disease, *J. Exp. Med.*, **217**, e20200861, doi: 10.1084/jem.20200861.
 35. Zakharova, N. V., Kononikhin, A. S., Indeykina, M. I., Bugrova, A. E., Strelnikova, P., et al. (2022) Mass spectrometric studies of the variety of beta-amyloid proteoforms in Alzheimer's disease, *Mass Spectrom. Rev.*, e21775, doi: 10.1002/mas.21775.
 36. Evin, G., Zhu, A., Holsinger, R. M. D., Masters, C. L., and Li, Q. X. (2003) Proteolytic processing of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein in brain and platelets, *J. Neurosci. Res.*, **74**, 386-392, doi: 10.1002/jnr.10745.
 37. Galozzi, S., Marcus, K., and Barkovits, K. (2015) Amyloid- β as a biomarker for Alzheimer's disease: quantification methods in body fluids, *Expert. Rev. Proteomics*, **12**, 343-354, doi: 10.1586/14789450.2015.1065183.
 38. Gallardo, R., Ranson, N. A., and Radford, S. E. (2020) Amyloid structures: much more than just a cross- β fold, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **60**, 7-16, doi: 10.1016/j.sbi.2019.09.001.
 39. Kent, S. A., Spires-Jones, T. L., and Durrant, C. S. (2020) The physiological roles of tau and A β : implications for Alzheimer's disease pathology and therapeutics, *Acta Neuropathol.*, **140**, 417-447, doi: 10.1007/s00401-020-02196-w.
 40. Rogers, J., Strohmeyer, R., Kovelowski, C. J., and Li, R. (2002) Microglia and inflammatory mechanisms in the clearance of amyloid β peptide, *Glia*, **40**, 260-269, doi: 10.1002/glia.10153.
 41. Wang, J., Gu, B. J., Masters, C. L., and Wang, Y. J. (2017) A systemic view of Alzheimer disease – Insights from amyloid- β metabolism beyond the brain, *Nat. Rev. Neurol.*, **13**, 612-623, doi: 10.1038/nrneuro.2017.111.
 42. Kummer, M. P., and Heneka, M. T. (2014) Truncated and modified amyloid-beta species, *Alzheimer's Res. Ther.*, **6**, 28, doi: 10.1186/alzrt258.
 43. Roher, A. E., Kokjohn, T. A., Clarke, S. G., Sierks, M. R., Maarouf, C. L., et al. (2017) APP/A β structural diversity and Alzheimer's disease pathogenesis, *Neurochem. Int.*, **110**, 1-13, doi: 10.1016/j.neuint.2017.08.007.
 44. Hansson, O., Lehmann, S., Otto, M., Zetterberg, H., and Lewczuk, P. (2019) Advantages and disadvantages of the use of the CSF Amyloid β (A β) 42/40 ratio in the diagnosis of Alzheimer's disease, *Alzheimers Res. Ther.*, **11**, 1-15, doi: 10.1186/s13195-019-0485-0.
 45. Roberts, K. F., Elbert, D. L., Kasten, T. P., Patterson, B. W., Sigurdson, W. C., et al. (2014) Amyloid- β efflux from the central nervous system into the plasma, *Ann. Neurol.*, **76**, 837-844, doi: 10.1002/ana.24270.
 46. Li, Q. X., Fuller, S. J., Beyreuther, K., and Masters, C. L. (1999) The amyloid precursor protein of Alzheimer disease in human brain and blood, *J. Leukoc. Biol.*, **66**, 567-574, doi: 10.1002/jlb.66.4.567.

47. Borroni, B., Agosti, C., Marcello, E., Di Luca, M., and Padovani, A. (2010) Blood cell markers in Alzheimer disease: amyloid precursor protein form ratio in platelets, *Exp. Gerontol.*, **45**, 53-56, doi: 10.1016/j.exger.2009.08.004.
48. Di Luca, M., Colciaghi, F., Pastorino, L., Borroni, B., Padovani, A., et al. (2000) Platelets as a peripheral district where to study pathogenetic mechanisms of Alzheimer disease: the case of amyloid precursor protein, *Eur. J. Pharmacol.*, **405**, 277-283, doi: 10.1016/S0014-2999(00)00559-8.
49. Xu, F., Davis, J., Miao, J., Previti, M. L., Romanov, G., et al. (2005) Protease nexin-2/amyloid β -protein precursor limits cerebral thrombosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 18135-18140, doi: 10.1073/pnas.0507798102.
50. Eltringham-Smith, L. J., Bhakta, V., and Sheffield, W. P. (2021) Selection and in vitro and in vivo characterization of a Kunitz protease inhibitor domain of protease nexin 2 variant that inhibits factor XIa without inhibiting plasmin, *J. Biotechnol.*, **330**, 61-69, doi: 10.1016/j.jbiotec.2021.02.016.
51. Colciaghi, F., Marcello, E., Borroni, B., Zimmermann, M., Caltagirone, C., et al. (2004) Platelet APP, ADAM 10 and BACE alterations in the early stages of Alzheimer's disease, *Neurology*, **62**, 498-501, doi: 10.1212/01.wnl.0000106953.49802.9c.
52. Chen, M., Inestrosa, N. C., Ross, G. S., and Fernandez, H. L. (1995) Platelets are the primary source of amyloid β -peptide in human blood, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **213**, 96-103, doi: 10.1006/bbrc.1995.2103.
53. Inyushin, M. Y., Sanabria, P., Rojas, L., Kucheryavykh, Y., and Kucheryavykh, L. (2017) A β peptide originated from platelets promises new strategy in anti-Alzheimer's drug development, *Biomed. Res. Int.*, **2017**, 3948360, doi: 10.1155/2017/3948360.
54. Casoli, T., Di Stefano, G., Giorgetti, B., Grossi, Y., Balialetti, M., et al. (2007) Release of β -amyloid from high-density platelets: implications for Alzheimer's disease pathology, *Ann. N Y Acad. Sci.*, **1096**, 170-178, doi: 10.1196/annals.1397.082.
55. Schindler, S. E., Bollinger, J. G., Ovod, V., Mawuenyega, K. G., Li, Y., et al. (2019) High-precision plasma β -amyloid 42/40 predicts current and future brain amyloidosis, *Neurology*, **93**, e1647-e1659, doi: 10.1212/WNL.00000000000008081.
56. Portelius, E., Tran, A. J., Andreasson, U., Persson, R., Brinkmalm, G., et al. (2007) Characterization of amyloid β peptides in cerebrospinal fluid by an automated immunoprecipitation procedure followed by mass spectrometry, *J. Proteome Res.*, **6**, 4433-4439, doi: 10.1021/pr0703627.
57. Gao, Y., Tan, L., Yu, J. T., and Tan, L. (2018) Tau in Alzheimer's disease: Mechanisms and therapeutic strategies, *Curr. Alzheimer Res.*, **15**, 283-300, doi: 10.2174/1567205014666170417111859.
58. Gong, C. X., Liu, F., Grundke-Iqbal, I., and Iqbal, K. (2005) Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease, *J. Neural Transm.*, **112**, 813-838, doi: 10.1007/s00702-004-0221-0.
59. Iqbal, K., Liu, F., Gong, C. X., and Grundke-Iqbal, I. (2010) Tau in Alzheimer disease and related tauopathies, *Curr. Alzheimer Res.*, **7**, 656-664, doi: 10.2174/156720510793611592.
60. De Souza, L. C., Chupin, M., Lamari, F., Jardel, C., Leclercq, D., et al. (2012) CSF tau markers are correlated with hippocampal volume in Alzheimer's disease, *Neurobiol. Aging*, **33**, 1253-1257, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2011.02.022.
61. Seppälä, T. T., Nerg, O., Koivisto, A. M., Rummukainen, J., Pulil, L., et al. (2012) CSF biomarkers for Alzheimer disease correlate with cortical brain biopsy findings, *Neurology*, **78**, 1568-1575, doi: 10.1212/WNL.0b013e3182563bd0.
62. Barthélemy, N. R., Li, Y., Joseph-Mathurin, N., Gordon, B. A., Hassenstab, J., et al. (2020) A soluble phosphorylated tau signature links tau, amyloid and the evolution of stages of dominantly inherited Alzheimer's disease, *Nat. Med.*, **26**, 398-407, doi: 10.1038/s41591-020-0781-z.
63. Janelidze, S., Stomrud, E., Smith, R., Palmqvist, S., Mattsson, N., et al. (2020) Cerebrospinal fluid p-tau217 performs better than p-tau181 as a biomarker of Alzheimer's disease, *Nat. Commun.*, **11**, 1-12, doi: 10.1038/s41467-020-15436-0.
64. Zetterberg, H., Wilson, D., Andreasson, U., Minthon, L., Blennow, K., et al. (2013) Plasma tau levels in Alzheimer's disease, *Alzheimers Res. Ther.*, **5**, 1-3, doi: 10.1186/alzrt163.
65. Sjogren, M., Vanderstichele, H., Ågren, H., Zachrisson, O., Edsbacke, M., et al. (2001) Tau and A β 42 in cerebrospinal fluid from healthy adults 21-93 years of age: establishment of reference values, *Clin. Chem.*, **47**, 1776-1781, doi: 10.1093/clinchem/47.10.1776.
66. Mielke, M. M., Hagen, C. E., Xu, J., Chai, X., Vemuri, P., et al. (2018) Plasma phospho-tau181 increases with Alzheimer's disease clinical severity and is associated with tau-and amyloid-positron emission tomography, *Alzheimer's Dement.*, **14**, 989-997, doi: 10.1016/j.jalz.2018.02.013.
67. Karikari, T. K., Pascoal, T. A., Ashton, N. J., Janelidze, S., Benedet, A. L., et al. (2020) Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts, *Lancet Neurol.*, **19**, 422-433, doi: 10.1016/S1474-4422(20)30071-5.
68. Palmqvist, S., Janelidze, S., Quiroz, Y. T., Zetterberg, H., Lopera, F., et al. (2020) Discriminative accuracy of plasma phospho-tau217 for Alzheimer's disease vs other neurodegenerative disorders, *JAMA*, **324**, 772-781, doi: 10.1001/jama.2020.12134.
69. Sato, C., Barthélemy, N. R., Mawuenyega, K. G., Patterson, B. W., Gordon, B. A., et al. (2018) Tau kinetics in neurons and the human central nervous system, *Neuron*, **97**, 1284-1298, doi: 10.1016/j.neuron.2018.02.015.
70. Randall, J., Mörtberg, E., Provuncher, G. K., Fournier, D. R., Duffy, D. C., et al. (2013) Tau

- proteins in serum predict neurological outcome after hypoxic brain injury from cardiac arrest: results of a pilot study, *Resuscitation*, **84**, 351-356, doi: 10.1016/j.resuscitation.2012.07.027.
71. Shi, M., Sui, Y. T., Peskind, E. R., Li, G., Hwang, H., et al. (2011) Salivary tau species are potential biomarkers of Alzheimer's disease, *J. Alzheimer's Dis.*, **27**, 299-305, doi: 10.3233/JAD-2011-110731.
 72. Davidsson, P., and Blennow, K. (1998) Neurochemical dissection of synaptic pathology in Alzheimer's disease, *Int. Psychogeriatr.*, **10**, 11-23, doi: 10.1017/s1041610298005110.
 73. Kvartsberg, H., Duits, F. H., Ingelsson, M., Andreasen, N., Öhrfelt, A., et al. (2015) Cerebrospinal fluid levels of the synaptic protein neurogranin correlates with cognitive decline in prodromal Alzheimer's disease, *Alzheimer's Dement.*, **11**, 1180-1190, doi: 10.1016/j.jalz.2014.10.009.
 74. Hellwig, K., Kvartsberg, H., Portelius, E., Andreasson, U., Oberstein, T. J., et al. (2015) Neurogranin and YKL-40: independent markers of synaptic degeneration and neuroinflammation in Alzheimer's disease, *Alzheimer's Res. Ther.*, **7**, 1-8, doi: 10.1186/s13195-015-0161-y.
 75. Portelius, E., Zetterberg, H., Skillbäck, T., Törnqvist, U., Andreasson, U., et al. (2015) Cerebrospinal fluid neurogranin: relation to cognition and neurodegeneration in Alzheimer's disease, *Brain*, **138**, 3373-3385, doi: 10.1093/brain/awv267.
 76. Wellington, H., Paterson, R. W., Portelius, E., Törnqvist, U., Magdalinou, N., et al. (2016) Increased CSF neurogranin concentration is specific to Alzheimer's disease, *Neurology*, **86**, 829-835, doi: 10.1212/WNL.0000000000002423.
 77. Öhrfelt, A., Brinkmalm, A., Dumurgier, J., Brinkmalm, G., Hansson, O., et al. (2016) The pre-synaptic vesicle protein synaptotagmin is a novel biomarker for Alzheimer's disease, *Alzheimer's Res. Ther.*, **8**, 1-10, doi: 10.1186/s13195-016-0208-8.
 78. Goetzl, E. J., Kapogiannis, D., Schwartz, J. B., Lobach, I. V., Goetzl, L., et al. (2016) Decreased synaptic proteins in neuronal exosomes of frontotemporal dementia and Alzheimer's disease, *FASEB J.*, **30**, 4141-4148, doi: 10.1096/fj.201600816R.
 79. Brinkmalm, A., Brinkmalm, G., Honer, W. G., Frölich, L., Hausner, L., et al. (2014) SNAP-25 is a promising novel cerebrospinal fluid biomarker for synapse degeneration in Alzheimer's disease, *Mol. Neurodegener.*, **9**, 1-13, doi: 10.1186/1750-1326-9-53.
 80. Lashley, T., Schott, J. M., Weston, P., Murray, C. E., Wellington, H., et al. (2018) Molecular biomarkers of Alzheimer's disease: progress and prospect, *Dis. Model. Mech.*, **11**, dmm031781, doi: 10.1242/dmm.031781.
 81. Wennström, M., Surova, Y., Hall, S., Nilsson, C., Minthon, L., et al. (2015) The inflammatory marker YKL-40 is elevated in cerebrospinal fluid from patients with Alzheimer's but not Parkinson's disease or dementia with Lewy bodies, *PLoS One*, **10**, e0135458, doi: 10.1371/journal.pone.0135458.
 82. Janelidze, S., Hertze, J., Zetterberg, H., Landqvist Waldö, M., Santillo, A., et al. (2016) Cerebrospinal fluid neurogranin and YKL-40 as biomarkers of Alzheimer's disease, *Ann. Clin. Transl. Neurol.*, **3**, 12-20, doi: 10.1002/acn3.266.
 83. Morenas-Rodriguez, E., Li, Y., Nuscher, B., Franzmeier, N., Xiong, C., et al. (2022) Soluble TREM2 in CSF and its association with other biomarkers and cognition in autosomal-dominant Alzheimer's disease: a longitudinal observational study, *Lancet Neurol.*, **21**, 329-341, doi: 10.1016/S1474-4422(22)00027-8.
 84. Mattsson, N., Tabatabaei, S., Johansson, P., Hansson, O., Andreasson, U., et al. (2011) Cerebrospinal fluid microglial markers in Alzheimer's disease: elevated chitotriosidase activity but lack of diagnostic utility, *Neuromolecular Med.*, **13**, 151-159, doi: 10.1007/s12017-011-8147-9.
 85. Tarawneh, R., D'Angelo, G., Macy, E., Xiong, C., Carter, D., et al. (2011) Visinin-like protein-1: diagnostic and prognostic biomarker in Alzheimer's disease, *Ann. Neurol.*, **70**, 274-285, doi: 10.1002/ana.22448.
 86. Khalil, M., Teunissen, C. E., Otto, M., Piehl, F., Sormani, M. P., et al. (2018) Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders, *Nat. Rev. Neurol.*, **14**, 577-589, doi: 10.1038/s41582-018-0058-z.
 87. Gisslén, M., Price, R. W., Andreasson, U., Norgren, N., Nilsson, S., et al. (2016) Plasma concentration of the neurofilament light protein (NFL) is a biomarker of CNS injury in HIV infection: a cross-sectional study, *EBioMedicine*, **3**, 135-140, doi: 10.1016/j.ebiom.2015.11.036.
 88. Mattsson, N., Andreasson, U., Zetterberg, H., Blennow, K., and Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2017) Association of plasma neurofilament light with neurodegeneration in patients with Alzheimer's disease, *JAMA Neurol.*, **74**, 557-566, doi: 10.1001/jamaneurol.2016.6117.
 89. Fernandes, B. S., Steiner, J., Berk, M., Molendijk, M. L., Gonzalez-Pinto, A., et al. (2015) Peripheral brain-derived neurotrophic factor in schizophrenia and the role of antipsychotics: meta-analysis and implications, *Mol. Psychiatry*, **20**, 1108-1119, doi: 10.1038/mp.2014.117.
 90. Qin, X. Y., Cao, C., Cawley, N. X., Liu, T. T., Yuan, J., et al. (2017) Decreased peripheral brain-derived neurotrophic factor levels in Alzheimer's disease: a meta-analysis study (N = 7277), *Mol. Psychiatry*, **22**, 312-320, doi: 10.1038/mp.2016.62.
 91. Balialetti, M., Giuli, C., Casoli, T., Fabbietti, P., and Conti, F. (2020) Is blood brain-derived neurotrophic factor a useful biomarker to monitor mild cognitive impairment patients? *Rejuvenation Res.*, **23**, 411-419, doi: 10.1089/rej.2020.2307.
 92. Morozova, A., Zorkina, Y., Abramova, O., Pavlova, O., Pavlov, K., et al. (2022) Neurobiological highlights of cognitive impairment in psychiatric disorders, *Int. J. Mol. Sci.*, **23**, 1217, doi: 10.3390/jms23031217.

93. Shen, X. N., Niu, L. D., Wang, Y. J., Cao, X. P., Liu, Q., et al. (2019) Inflammatory markers in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a meta-analysis and systematic review of 170 studies, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **90**, 590-598, doi: 10.1136/jnnp-2018-319148.
94. Marques, S. C. F., Lemos, R., Ferreira, E., Martins, M., De Mendonca, A., et al. (2012) Epigenetic regulation of BACE1 in Alzheimer's disease patients and in transgenic mice, *Neuroscience*, **220**, 256-266, doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.06.029.
95. Zhong, Z., Ewers, M., Teipel, S., Bürger, K., Wallin, A., et al. (2007) Levels of β -secretase (BACE1) in cerebrospinal fluid as a predictor of risk in mild cognitive impairment, *Arch. Gen. Psychiatry*, **64**, 718-726, doi: 10.1001/archpsyc.64.6.718.
96. Bellenguez, C., Grenier-Boley, B., and Lambert, J. C. (2020) Genetics of Alzheimer's disease: where we are, and where we are going, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **61**, 40-48, doi: 10.1016/j.conb.2019.11.024.
97. Kunkle, B. W., Grenier-Boley, B., Sims, R., Bis, J. C., Damotte, V., et al. (2019) Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing, *Nat. Genet.*, **51**, 414-430, doi: 10.1038/s41588-019-0358-2.
98. Karch, C. M., and Goate, A. M. (2015) Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis, *Biol. Psychiatry*, **77**, 43-51, doi:10.1016/j.biopsych.2014.05.006.
99. Kim, J., Basak, J. M., and Holtzman, D. M. (2009) The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease, *Neuron*, **63**, 287-303, doi: 10.1016/j.neuron.2009.06.026.
100. Rehiman, S. H., Lim, S. M., Neoh, C. F., Majeed, A. B. A., Chin, A. V., et al. (2020) Proteomics as a reliable approach for discovery of blood-based Alzheimer's disease biomarkers: a systematic review and meta-analysis, *Ageing Res. Rev.*, **60**, 101066, doi: 10.1016/j.arr.2020.101066.
101. Nazeri, A., Ganjgahi, H., Roostaei, T., Nichols, T., Zarei, M., et al. (2014) Imaging proteomics for diagnosis, monitoring and prediction of Alzheimer's disease, *Neuroimage*, **102**, 657-665, doi: 10.1016/j.neuroimage.2014.08.041.
102. Guo, L. H., Alexopoulos, P., Wagenpfeil, S., Kurz, A., Perneczky, R., et al. (2013) Plasma proteomics for the identification of Alzheimer's disease, *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.*, **27**, 337-342, doi: 10.1097/WAD.0b013e31827b60d2.
103. Mancera-Páez, O., Estrada-Orozco, K., Mahecha, M. F., Cruz, F., Bonilla-Vargas, K., et al. (2019) Differential methylation in APOE (Chr19; Exon four; from 44,909,188 to 44,909,373/hg38) and increased apolipoprotein E plasma levels in subjects with mild cognitive impairment, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 1394, doi: 10.3390/ijms20061394.
104. Calero, M., Rostagno, A., Matsubara, E., Zlokov, B., Frangione, B., et al. (2000) Apolipoprotein J (clusterin) and Alzheimer's disease, *Microsc. Res. Tech.*, **50**, 305-315, doi: 10.1002/1097-0029(20000815)50:4<305::AID-JEMT10>3.0.CO;2-L.
105. DeMattos, R. B., O'dell, M. A., Parsadanian, M., Taylor, J. W., Harmony, J. A., et al. (2002) Clusterin promotes amyloid plaque formation and is critical for neuritic toxicity in a mouse model of Alzheimer's disease, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **99**, 10843-10848, doi: 10.1073/pnas.162228299.
106. Thambisetty, M., Simmons, A., Velayudhan, L., Hye, A., Campbell, J., et al. (2010) Association of plasma clusterin concentration with severity, pathology, and progression in Alzheimer's disease, *Arch. Gen. Psychiatry*, **67**, 739-748, doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.78.
107. Yu, J. T., and Tan, L. (2012) The role of clusterin in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis, and therapy, *Mol. Neurobiol.*, **45**, 314-326, doi: 10.1007/s12035-012-8237-1.
108. Morgan, A. R., Touchard, S., Leckey, C., O'Hagan, C., Nevado-Holgado, A. J., et al. (2019) Inflammatory biomarkers in Alzheimer's disease plasma, *Alzheimer's Dement.*, **15**, 776-787, doi: 10.1016/j.jalz.2019.03.007.
109. Toropygin, I. Y., Kugaevskaya, E. V., Mirgorodskaya, O. A., Elisseeva, Y. E., Kozmin, Y. P., et al. (2008) The N-domain of angiotensin-converting enzyme specifically hydrolyzes the Arg-5-His-6 bond of Alzheimer's A β -(1-16) peptide and its isoAsp-7 analogue with different efficiency as evidenced by quantitative matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22**, 231-239, doi: 10.1002/rcm.3357.
110. Akatsu, H., Ogawa, N., Kanesaka, T., Hori, A., Yamamoto, T., et al. (2011) Higher activity of peripheral blood angiotensin-converting enzyme is associated with later-onset of Alzheimer's disease, *J. Neurol. Sci.*, **300**, 67-73, doi: 10.1016/j.jns.2010.09.030.
111. Miners, S., Ashby, E., Baig, S., Harrison, R., Tayler, H., et al. (2009) Angiotensin-converting enzyme levels and activity in Alzheimer's disease: differences in brain and CSF ACE and association with ACE1 genotypes, *Am. J. Transl. Res.*, **1**, 163-177.
112. Kinney, J. W., Bemiller, S. M., Murtishaw, A. S., Leisgang, A. M., Salazar, A. M., et al. (2018) Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease, *Alzheimer's Dement.*, **4**, 575-590, doi: 10.1016/j.trci.2018.06.014.
113. Kiddle, S. J., Sattlecker, M., Proitsi, P., Simmons, A., Westman, E., et al. (2014) Candidate blood proteome markers of Alzheimer's disease onset and progression: a systematic review and replication study, *J. Alzheimer's Dis.*, **38**, 515-531, doi: 10.3233/JAD-130380.
114. Mi, H., Ebert, D., Muruganujan, A., Mills, C., Albou, L. P., et al. (2021) PANTHER version 16: a revised family classification, tree-based classification tool, enhancer regions and extensive API, *Nucleic Acids Res.*, **49**, D394-D403, doi: 10.1093/nar/gkaa1106.

115. Ray, S., Britschgi, M., Herbert, C., Takeda-Uchimura, Y., Boxer, A., et al. (2007) Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins, *Nat. Med.*, **13**, 1359-1362, doi: 10.1038/nm1653.
116. Doecke, J. D., Laws, S. M., Faux, N. G., Wilson, W., Burnham, S. C., et al. (2012) Blood-based protein biomarkers for diagnosis of Alzheimer's disease, *Arch. Neurol.*, **69**, 1318-1325, doi: 10.1001/archneurol.2012.1282.
117. O'Bryant, S. E., Xiao, G., Barber, R., Reisch, J., Doody, R., et al. (2010) A serum protein-based algorithm for the detection of Alzheimer disease, *Arch. Neurol.*, **67**, 1077-1081, doi: 10.1001/archneurol.2010.215.
118. O'Bryant, S. E., Edwards, M., Johnson, L., Hall, J., Villarreal, A. E., et al. (2016) A blood screening test for Alzheimer's disease, *Alzheimer's Dement.*, **3**, 83-90, doi: 10.1016/j.dadm.2016.06.004.
119. Hye, A., Riddoch-Contreras, J., Baird, A. L., Ashton, N. J., Bazenet, C., et al. (2014) Plasma proteins predict conversion to dementia from prodromal disease, *Alzheimer's Dement.*, **10**, 799-807, doi: 10.1016/j.jalz.2014.05.1749.
120. Yu, S., Liu, Y. P., Liu, H. L., Li, J., Xiang, Y., et al. (2018) Serum protein-based profiles as novel biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease, *Mol. Neurobiol.*, **55**, 3999-4008, doi: 10.1007/s12035-017-0609-0.
121. Shi, L., Buckley, N.J., Bos, I., Engelborghs, S., Sleegers, K., et al. (2021) Plasma proteomic biomarkers relating to Alzheimer's disease: a meta-analysis based on our own studies, *Front. Aging Neurosci.*, **13**, 712545, doi: 10.3389/fnagi.2021.712545.
122. Henkel, A. W., Muller, K., Lewczuk, P., Muller, T., Marcus, K., et al. (2012) Multidimensional plasma protein separation technique for identification of potential Alzheimer's disease plasma biomarkers: A pilot study, *J. Neural. Transm.*, **119**, 779-788, doi: 10.1007/s00702-012-0781-3.
123. Walke, K. A., Chen, J., Zhang, J., Fornage, M., Yang, Y., et al. (2021) Large-scale plasma proteomic analysis identifies proteins and pathways associated with dementia risk, *Nat. Aging*, **1**, 473-489, doi: 10.1038/s43587-021-00064-0.
124. Whelan, C. D., Mattsson, N., Nagle, M. W., Vijayaraghavan, S., Hyde, C., et al. (2019) Multiplex proteomics identifies novel CSF and plasma biomarkers of early Alzheimer's disease, *Acta Neuropathol. Commun.*, **7**, 169, doi: 10.1186/s40478-019-0795-2.
125. Jiang, Y., Zhou, X., Ip, F. C., Chan, P., Chen, Y., et al. (2021) Large-scale proteomic profiling identifies a high-performance biomarker panel for Alzheimer's disease screening and staging, *Alzheimer's Dement.*, **18**, 88-102, doi: 10.1002/alz.12369.
126. Dayon, L., Wojcik, J., Galindo, N., Cortesy, J., Cominetti, O., et al. (2017) Plasma proteomic profiles of cerebrospinal fluid-defined Alzheimer's disease pathology in older adults, *J. Alzheimer's Dis.*, **60**, 1641-1652, doi: 10.3233/JAD-170426.
127. Dey, K.K., Wang, H., Niu, M., Bai, B., Wang, X., et al. (2019) Deep undepleted human serum proteome profiling toward biomarker discovery for Alzheimer's disease, *Clin. Proteomics*, **16**, 16, doi: 10.1186/s12014-019-9237-1.
128. Park, J. C., Han, S.H., Lee, H., Jeong, H., Byun, M. S., et al. (2019) Prognostic plasma protein panel for A β deposition in the brain in Alzheimer's disease, *Prog. Neurobiol.*, **183**, 101690, doi: 10.1016/j.pneurobio.2019.101690.
129. Ashton, N. J., Nevado-Holgado, A. J., Barber, I. S., Lynham, S., Gupta, V., et al. (2019) A plasma protein classifier for predicting amyloid burden for pre-clinical Alzheimer's disease, *Sci. Adv.*, **5**, eaau7220, doi: 10.1126/sciadv.aau7220.
130. Chen, M., and Xia, W. (2020) Proteomic profiling of plasma and brain tissue from Alzheimer's disease patients reveals candidate network of plasma biomarkers, *J. Alzheimer's Dis.*, **76**, 349-368, doi: 10.3233/JAD-200110.
131. Jain, A. P., and Sathe, G. (2021) Proteomics landscape of Alzheimer's disease, *Proteomes*, **9**, 13, doi: 10.3390/proteomes9010013.
132. Kitamura, Y., Usami, R., Ichichara, S., Kida, H., Satoh, M., et al. (2017) Plasma protein profiling for potential biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer's disease, *Neurol. Res.*, **39**, 231-238, doi: 10.1080/01616412.2017.1281195.
133. Kumar, A., Singh, S., Verma, A., and Mishra, V. N. (2018) Proteomics based identification of differential plasma proteins and changes in white matter integrity as markers in early detection of mild cognitive impaired subjects at high risk of Alzheimer's disease, *Neurosci. Lett.*, **676**, 71-77, doi: 10.1016/j.neulet.2018.04.015.
134. Zhao, X., Lejnine, S., Spond, J., Zhang, C., Ramaraj, T. C., et al. (2015) A candidate plasma protein classifier to identify Alzheimer's disease, *J. Alzheimer's Dis.*, **43**, 549-563, doi: 10.3233/JAD-141149.
135. Bader, J. M., Geyer, P. E., Müller, J. B., Strauss, M. T., Koch, M., et al. (2020) Proteome profiling in cerebrospinal fluid reveals novel biomarkers of Alzheimer's disease, *Mol. Syst. Biol.*, **16**, e9356, doi: 10.15252/msb.20199356.
136. Gaither, C., Popp, R., Mohammed, Y., and Borchers, C. H. (2020) Determination of the concentration range for 267 proteins from 21 lots of commercial human plasma using highly multiplexed multiple reaction monitoring mass spectrometry, *Analyst*, **145**, 3634-3644, doi: 10.1039/c9an01893j.
137. Ayton, S., Janelidze, S., Roberts, B., Palmqvist, S., Kalinowski, P., et al. (2021) Acute phase markers in CSF reveal inflammatory changes in Alzheimer's disease that intersect with pathology, APOE ϵ 4, sex and age, *Prog. Neurobiol.*, **198**, 101904, doi: 10.1016/j.pneurobio.2020.101904.

**PROTEOMIC MARKERS AND EARLY PREDICTION
OF ALZHEIMER'S DISEASE****Review**

**N. V. Zakharova^{1*}, A. E. Bugrova¹, M. I. Indeykina¹, Y. B. Fedorova²,
I. V. Kolykhalov², S. I. Gavrilova², E. N. Nikolaev³, and A. S. Kononikhin^{3*}**

¹ *Emanuel Institute for Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
119334 Moscow, Russia; e-mail: NVZakharova@yandex.ru*

² *Mental Health Research Center, 115522 Moscow, Russia*

³ *Skolkovo Institute of Science and Technology,
121205 Moscow, Russia; E-mail: a.kononikhin@skoltech.ru*

Alzheimer's disease (AD) is the most common socially significant neurodegenerative pathology, which currently affects more than 30 million elderly people worldwide. Since the number of patients grows every year and may exceed 115 million by 2050, and due to the lack of effective therapies, the early prediction of AD remains a global challenge, the solution of which can contribute to the timely appointment of a preventive therapy in order to avoid irreversible changes in the brain. To date, clinical assays for markers of amyloidosis in cerebrospinal fluid (CSF) have been developed, which, in conjunction with brain MRI and PET studies, are used either to confirm the diagnosis based on obligate clinical criteria or to predict the risk of developing AD at the stage of mild cognitive decline (MCI). However, the problem of predicting AD at the asymptomatic stage remains unresolved. In this regard, the search for new protein markers and studies of proteomic changes in CSF and blood plasma are of particular interest and, among other things, may clarify particular pathways involved in the pathogenesis of AD. Studies of specific proteomic changes in blood plasma deserve special attention and are of increasing interest due to the much less invasive method of sample collection as compared to CSF, which is important when choosing an object for large-scale screening. This review briefly summarizes the current knowledge on proteomic markers of AD and considers the prospects for developing reliable methods for early identification of AD risk factors basing on the proteomic profile.

Keywords: Alzheimer's disease, protein makers, proteomics, early diagnosis