



电子、语音版

·论著·

血浆中 tau 蛋白磷酸化表达在多奈哌齐治疗 阿尔茨海默病中的机制研究

付晶, 张成发, 安春贺, 吴诗卉, 于慧

齐齐哈尔市第一医院(南方医科大学附属齐齐哈尔医院)神经内四科, 黑龙江 齐齐哈尔 161000

摘要:目的 基于血浆中 tau 蛋白磷酸化探讨多奈哌齐对阿尔茨海默病(AD)的保护机制。方法 2019 年 1 月至 2022 年 7 月从齐齐哈尔市第一医院神经内科招募了两组参与者作为样本。在第一组样本中包括 58 名轻度至重度 AD 患者和 20 名健康老年对照组;另一组样本包括 37 名轻度至中度 AD 患者的样本,其中 18 名患者接受了 24 周的多奈哌齐治疗,19 名患者接受了 24 周安慰剂治疗。从患者的血液标本中提取神经元衍生的细胞外囊泡(EV),采用酶联免疫吸附分析试剂盒对 β 淀粉样蛋白 42 ($A\beta_{42}$)、P-T181-tau、P-S396-tau、总 tau 蛋白(t-tau)、神经颗粒蛋白(NRGN)水平进行分析。结果 与对照组相比,AD 患者的 EV 中 $A\beta_{42}$ 、t-tau、P-T181-tau、P-S396-tau 水平显著升高($P<0.05$),NRGN 水平显著降低($P<0.05$)。在 AD 患者中,t-tau、NRGN 和沉默转录因子(REST)的 EV 水平与简易智力状态检查量表(MMSE)和阿尔茨海默病合作研究-日常生活活动量表(ADCS-ADL)评分呈负相关($P<0.05$),并与阿尔茨海默病评估量表-认知子量表的 14 项扩展版本(ADAS-cog+)评分呈正相关($P<0.05$)。在为期 24 周的治疗期间,与安慰剂组患者相比,多奈哌齐组患者血浆中 $A\beta_{42}$ 、t-tau、P-T181-tau 和 P-S396-tau 的表达水平(EV 水平)从基线水平到第 24 周结束时均呈显著降低趋势($P<0.05$)。结论 轻中度 AD 患者血浆 EV 中 $A\beta_{42}$ 、t-tau、P-T181-tau 和 P-S396-tau 水平升高。t-tau、NRGN 和 REST 的水平增加与认知功能和生活能力的下降相关。多奈哌齐治疗可使轻中度 AD 患者血浆中 t-tau、P-T181-tau 和 P-S396-tau 的表达水平降低。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2024, 51(4): 23-27]

关键词:阿尔茨海默病;tau 蛋白;磷酸化;多奈哌齐;神经元衍生的细胞外囊泡

中图分类号:R741

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2024.04.004

Mechanism of the expression of phosphorylated tau protein in plasma in the treatment of Alzheimer's disease with donepezil

FU Jing, ZHANG Chengfa, AN Chunhe, WU Shihui, YU Hui

Fourth Department of Neurology, First Hospital of Qiqihar (Qiqihar Hospital Affiliated to Southern Medical University), Qiqihar, Heilongjiang 161000, China

Corresponding author: FU Jing, Email: eskkst04@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the protective mechanism of donepezil against Alzheimer's disease (AD) based on tau protein phosphorylation in plasma. **Methods** From January 2019 to July 2022, the samples of two groups of participants were collected from Department of Neurology, The First Hospital of Qiqihar. The first group of samples were collected from 58 patients with mild to severe AD and 20 healthy elderly controls, while the other group of samples were collected from 37 patients with mild to moderate AD, among whom 18 patients received donepezil treatment for 24 weeks and 19 patients received placebo treatment for 24 weeks. Extracellular vesicles (EVs) derived from neurons were extracted from the blood samples of the patients, and ELISA kits were used to measure the levels of β -amyloid 42 ($A\beta_{42}$), P-T181-tau, P-S396-tau, t-tau, and NRGN. **Results** Compared with the control group, the patients with AD had significant increases in the levels of $A\beta_{42}$, t-tau, P-T181-tau, and P-S396-tau ($P<0.05$) and a significant reduction in the level of

基金项目:黑龙江省卫生健康委员会科研课题(ZYW2021-561)。

收稿日期:2023-12-09;修回日期:2024-08-05

通信作者:付晶(1982—),女,副主任医师,主要从事脑血管病的研究。Email:eskkst04@163.com。

NRGN in EVs ($P<0.05$). In the patients with AD, the levels of t-tau, NRGN, and REST in EVs were negatively correlated with the scores of Mini-Mental State Examination and Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activity of Daily Living ($P<0.05$) and was positively correlated with the score of Alzheimer's Disease Assessment Scale - cognitive subscale ($P<0.05$). During the 24-week treatment, compared with the placebo group, the donepezil group showed significant reductions in the levels of $A\beta_{42}$, t-tau, P-T181-tau, and P-S396-tau in EVs from baseline to week 24 ($P<0.05$).

Conclusions There are increases in the levels of $A\beta_{42}$, t-tau, P-T181-tau, and P-S393-tau in plasma EVs of patients with mild to moderate AD, and the increases in the levels of t-tau, NRGN, and REST may be associated with the decline in cognitive function and activities of daily living. Donepezil treatment can reduce the expression levels of t-tau, P-T181-tau, and P-S396-tau in patients with mild to moderate AD.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2024, 51(4): 23–27]

Keywords: Alzheimer's disease; tau protein; phosphorylation; donepezil; extracellular vesicles derived from neurons

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的痴呆症,主要是由预期寿命的平行增加引起的,迫切需要开发合适和有效的治疗药物^[1]。多奈哌齐是目前治疗轻中度AD的一线药物,是一种选择性和可逆性乙酰胆碱酯酶抑制剂,对乙酰胆碱酯酶表现出高度的特异性^[2]。在双盲、安慰剂对照试验中,多奈哌齐显示出轻度,但具有统计学意义的认知、行为和功能改善,但是关于其神经保护机制仍有待进一步研究^[3-4]。大脑和脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)中 β 淀粉样蛋白(β -protein, $A\beta$)、tau病理性增加和突触元件缺失是监测AD发病和药物治疗过程中的有用生物标志物^[5]。这些生物标志物的检测涉及复杂、昂贵和(或)侵入性手段,限制了其作为常规检测手段使用。因此,寻找可靠的外周生物标志物是当前AD研究的重点。

神经元衍生的细胞外囊泡(extracellular vesicles, EV)是由中枢神经系统神经元释放的核内体来源的细胞EV,能够穿过血脑屏障^[6]。对AD的研究表明,循环中的EV含有病理分子,如 $A\beta_{42}$ 、总tau蛋白(t-tau)蛋白和磷酸化tau蛋白突触蛋白,这可能成为有效的生物标志物^[7]。因此,本研究旨在考察这些血浆EV标记物随AD严重程度的变化及其与认知能力测量的相关性,同时还在接受多奈哌齐治疗的AD患者中评估了血浆EV标记物的变化情况。

1 对象与方法

1.1 一般资料

2019年1月至2022年7月从齐齐哈尔市第一医院神经内科招募了两组参与者作为样本。

纳入标准:①符合AD诊断^[8];②简易智力状态检查量表(Mini-Mental State Examination, MMSE)得分12~25分;③进行了需要支持临床诊断的脑部CT和(或)MRI检查;④参与者在采血前至少1个月未服用全身性皮质类固醇、抗帕金森病药、麻醉药或胆碱酯酶抑制剂。

排除标准:①患有任何其他重大神经或精神疾病、过敏性过敏、不稳定医疗状况或具有临床意义的实验室异

常的受试者;②在医学评估中表现出有临床意义的抑郁症和(或)汉密尔顿抑郁量表17项子量表得分高于15分的患者。

在第一组样本中,纳入了58名轻度至重度AD患者(19名轻度、21名中度和18名重度AD病例)和20名健康老年对照组(15名女性)。

在第二组样本中,纳入了37名轻度至中度AD患者的样本,其中18名(轻度9例和中度9例)患者接受了24周多奈哌齐治疗(第1~4周:每日1次,每次5 mg;在第5~24周:每日1次,每次10 mg),另外19名(轻度9例和中度10例)患者则接受了24周安慰剂治疗。

在开始研究前,所有参与者签署了书面知情同意书。

1.2 L1细胞黏附分子阳性EV标志物的测定

在AD和对照病例的基线,以及在多奈哌齐治疗AD患者的基线和第24周(研究终点)时获得用于EV蛋白测定的血液样本,并对这些患者的血浆神经元衍生的EV进行处理,以测定EV中 $A\beta_{42}$ 、总tau蛋白(t-tau)、苏氨酸181磷酸化的tau(P-T181-tau)、丝氨酸396磷酸化的tau(P-S396-tau)、神经颗粒蛋白(neurogranin, NRGN)和阻遏物元件1-沉默转录因子(repressor element 1 - silencing transcription, REST)的水平。

根据Winston等^[9]描述的程序方法,从血浆中分离和鉴定L1细胞黏附分子(L1 cell adhesion molecule, L1CAM)阳性EV。使用磁性免疫捕获方法(EXOFLOW;美国System Biosciences公司)从2.5 mL的人血浆中捕获和分离EV,并使用荧光激活细胞分选术(FACS)辅助分选。

对提取的EV进行L1CAM富集。纳米粒子跟踪分析术用于EV的尺寸分布表征分析。使用二辛可宁酸蛋白质测定试剂盒(美国Pierce Biotechnology公司)测定EV的蛋白质浓度。

通过人特异性酶联免疫吸附分析(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法对 $A\beta_{42}$ (英国Fujirebio公

司)、P-T181-tau、P-S396-tau、t-tau(美国 Life Technologies/Invitrogen 公司)、NRGN、REST(美国 Research Products-Katy 公司)进行定量分析。

1.3 量表和其他临床评估

使用MMSE和阿尔茨海默病评估量表-认知子量表的14项扩展版本(Alzheimer’s Disease Assessment Scale-cognitive subscale, ADAS-cog+)评估AD患者的认知功能。ADAS-cog+在检测AD患者认知功能变化方面较ADAS-cog具有更高灵敏度^[10]。在ADAS-cog+中,较低的得分或负得分表明AD患者认知功能较好或认知功能改善。

采用阿尔茨海默病合作研究-日常生活活动量表(Alzheimer’s Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living, ADCS-ADL)对AD患者的日常生活能力进行评估。ADL的得分较高表明AD患者认知功能较好。

AD的严重程度根据基于7项临床访谈的严重程度印象和护理人员输入量表(Clinical Interview Based

Impression of Severity, CIBIS)进行分级,CIBIS评分为3~5分(3=轻度AD;4=中度AD;5=重度AD)^[11]。

1.4 统计学方法

采用SPSS 16.0进行统计学分析。正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用成组t检验,多组间比较采用单因素方差分析。计数资料以例数和百分率[n(%)]表示,组间比较使用卡方检验或Fisher精确检验。采用皮尔逊相关系数分析不同变量之间的相关性。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 AD组和对照组患者的血浆EV标志物水平比较

对照组和AD组患者的平均年龄和性别分布相似。两组患者的MMSE和ADAS-cog+评分比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组相比,AD患者的EV中Aβ₄₂、t-tau、P-T181-tau、P-S396-tau水平显著升高($P < 0.05$),NRGN水平显著降低($P < 0.05$)。见表1。

表1 AD组和对照组患者的血浆EV生物标志物等指标的比较

项目	对照组(n=20)	AD组(n=58)	t/χ ² 值	P值
平均年龄/岁; $(\bar{x} \pm s)$	74.42±5.64	74.77±7.46	0.084	0.774
性别(女)[n(%)]	15(75.0)	46(79.3)	0.280	0.603
MMSE评分/分; $(\bar{x} \pm s)$	28.10±0.91	17.59±4.70	85.613	<0.001
ADAS-cog+评分/分; $(\bar{x} \pm s)$	17.07±4.71	41.10±17.54	22.756	<0.001
Aβ ₄₂ /(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	1.25±0.38	1.85±0.50	5.582	0.020
t-tau/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	3.39±0.88	4.26±0.98	10.937	<0.001
P-T181-tau/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	2.28±1.12	3.40±0.81	27.865	<0.001
P-S396-tau/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	2.64±0.15	2.93±0.16	15.217	<0.001
NRGN/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	5.52±0.73	4.83±0.46	11.953	<0.001
REST/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	6.08±0.58	5.69±0.89	3.056	0.082

注:MMSE=简易智力状态检查量表;ADAS-cog+=阿尔茨海默病评估量表-认知子量表的14项扩展版本;Aβ=β淀粉样蛋白;t-tau=总tau蛋白;NRGN=神经颗粒蛋白;REST=阻遏物元件1-沉默转录因子。

2.2 AD患者血浆EV标志物水平与疾病严重程度的关系

与对照组比较,轻中度AD组和重度AD组患者的EV中Aβ₄₂水平增高($P < 0.05$)。与对照组比较,轻中度AD组和重度AD组患者的EV中t-tau水平增高,重度AD组患者高于轻中度AD组患者($P < 0.05$)。与对照组比较,EV

的P-T181-tau水平轻中度和重度AD患者增高($P < 0.05$)。轻中度AD组患者的P-S396-tau的EV水平高于对照组和重度AD组($P < 0.05$)。与对照组和重度AD组比较,轻中度AD患者的EV中NRGN和REST水平均降低($P < 0.05$)。见表2。

表2 对照组、轻中度AD组和重度AD组患者的血浆EV标记物与疾病严重程度的关系

项目	对照组(n=20)	轻中度AD组(n=40)	重度AD组(n=18)	F值	P值
Aβ ₄₂ /(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	1.25±0.38	1.54±0.21*	1.90±0.64*	10.380	0.001
t-tau/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	3.39±0.88	3.86±0.48*	4.43±0.36**	28.720	<0.001
P-T181-tau/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	2.28±1.12	2.99±0.88*	3.59±0.66*	14.560	<0.001
P-S396-tau/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	2.64±0.15	2.96±0.15*	2.75±0.15**	22.750	<0.001
NRGN/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	5.52±0.73	4.86±0.43*	5.24±0.51**	11.300	<0.001
REST/(pg/mL); $(\bar{x} \pm s)$	6.08±0.58	5.71±0.15*	5.88±0.17**	7.755	0.001

注:*为与对照组相比, $P < 0.05$;#为与轻中度AD组相比, $P < 0.05$ 。Aβ=β淀粉样蛋白;t-tau=总tau蛋白;NRGN=神经颗粒蛋白;REST=阻遏物元件1-沉默转录因子。

2.3 AD患者血浆EV标记物与认知功能的相关性

在AD患者中, EV中t-tau、NRGN和REST的水平与MMSE评分和ADCS-ADL评分呈负相关($P<0.05$), 与ADAS-cog+评分呈正相关($P<0.05$)。见表3。

表3 AD患者血浆EV标记物与认知功能的相关性

项目	t-tau		NRGN		REST	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
MMSE评分	-0.267	<0.01	-0.262	<0.01	-0.194	<0.05
ADCS-ADL评分	-0.226	<0.05	-0.257	<0.01	-0.269	<0.01
ADAS-cog+评分	0.237	<0.05	0.293	<0.01	0.225	<0.05

注:MMSE=简易智力状态检查量表;ADCS-ADL=阿尔茨海默病合作研究-日常生活活动量表;ADAS-cog+=阿尔茨海默病评估量表-认知子量表的14项扩展版本;t-tau=总tau蛋白;NRGN=神经颗粒蛋白;REST=阻遏物元件1-沉默转录因子。

2.4 多奈哌齐对AD患者血浆EV标志物的影响

多奈哌齐组和安慰剂组的临床特征和EV标志物的基线水平相似。治疗24周后与安慰剂组相比,多奈哌齐组诱导EV中的 $A\beta_{42}$ 、t-tau、P-T181-tau和P-S396-tau水平显著降低($P<0.05$)。治疗24周后与安慰剂组相比,多奈哌齐组的EV中的NRGN和REST水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表4。

表4 多奈哌齐对AD患者血浆EV标志物的影响 (pg/mL); ($\bar{x}\pm s$)

项目	安慰剂组 (n=19)	多奈哌齐 组(n=18)	t值	P值
$A\beta_{42}$				
基线	1.87 \pm 0.63	1.84 \pm 0.56	0.109	0.902
治疗24周	1.74 \pm 0.53	1.08 \pm 0.34	2.040	0.045
t-tau				
基线	4.21 \pm 0.97	4.18 \pm 1.18	0.077	0.926
治疗24周	4.41 \pm 0.92	3.86 \pm 1.01	2.824	0.034
P-T181-tau				
基线	3.41 \pm 0.97	3.60 \pm 0.85	0.301	0.876
治疗24周	3.26 \pm 0.82	3.23 \pm 0.78	4.900	0.009
P-S396-tau				
基线	2.83 \pm 0.87	2.92 \pm 0.86	0.444	0.643
治疗24周	2.75 \pm 0.85	2.65 \pm 0.86	2.770	0.037
NRGN				
基线	5.09 \pm 1.05	5.20 \pm 0.90	0.811	0.447
治疗24周	5.14 \pm 1.13	4.97 \pm 1.35	1.340	0.266
REST				
基线	5.74 \pm 0.91	5.78 \pm 1.06	0.376	0.833
治疗24周	5.71 \pm 0.88	5.40 \pm 0.91	1.497	0.207

注:t-tau=总tau蛋白;NRGN=神经颗粒蛋白;REST=阻遏物元件1-沉默转录因子。

3 讨论

有荟萃分析显示,血浆EV中 $A\beta_{42}$ 、t-tau、P-T181-tau、P-S396-tau和NRGN水平的测定可作为有效诊断AD的血

液生物标志物^[6]。研究表明,血浆EV中 $A\beta_{42}$ 、P-T181-tau和P-S396-tau的升高,以及NRGN和REST水平的降低可将对照受试者与轻中度AD患者区分开来^[12]。有研究发现,P-T181-tau、P-S396-tau和 $A\beta_{42}$ 在EV中的水平增加可预测AD的发展,并且EV中 $A\beta_{42}$ 水平增加使轻度认知障碍受试者发展为AD痴呆的风险增加8.5倍^[13]。其他研究报道,血浆EV的 $A\beta_{42}$ 、t-tau、P-T181-tau和NRGN水平在区分AD患者和对照组方面具有与CSF标志物相似的诊断能力^[7]。此外,在临床前和痴呆AD阶段也可观察到NRGN和REST在EV中的水平较对照组降低^[14]。然而,所有这些研究主要包括轻度AD患者,并没有评估这些血液生物标志物水平的变化与AD痴呆临床过程中认知的相关性。因此,本研究的第1个目标是确定EV中6种标志物的水平与AD患者认知功能的相关性。本研究结果显示,除了REST之外,所有血液指标在对照组和AD组之间都有显著差异,轻中度AD患者的血浆EV中 $A\beta_{42}$ 、t-tau、P-T181-tau和P-S393-tau水平高于对照组, NRGN和REST低于对照组。在AD患者人群中,除P-S396-tau外,所有EV标志物都随病情严重程度进行性增加。这与多数研究报道^[10-12]的结果一致。

本研究结果表明, $A\beta_{42}$ 和P-T181-tau的主要变化发生在AD的早期。这一结论得到了以下发现的支持:在AD的临床前和痴呆阶段,这两个指标在EV和CSF中的水平的变化是相似的^[15]。在轻中度AD病例中, $A\beta_{42}$ 和P-T181-tau的EV水平与血清脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)水平成负相关,但与AD患者的认知功能指标无显著相关性。BDNF与 $A\beta_{42}$ 和P-T181-tau的负相关提示神经营养因子可以对抗AD的致病因子^[15]。相较于正常对照组,在临床前AD和AD痴呆女性中血清BDNF降低^[15]。其他学者也发现, EV中的 $A\beta_{42}$ 和P-T181-tau水平与MMSE和ADAS-cog指数之间缺乏相关性^[16]。

一项为期20周的临床试验结果显示,在轻度认知障碍受试者中, $A\beta_{42}$ 、NRGN和其他突触标记物在血浆EV中的水平不受生长激素的调节^[17]。另一项研究发现,与安慰剂干预相比,以正念为基础的压力减轻干预增加了具有AD风险因素老年人的血浆REST水平,而REST水平的增加与压力和AD风险相关的精神症状的减少相关^[14]。在本研究中,我们发现多奈哌齐降低了轻中度AD患者t-tau、P-T181-tau和P-S396-tau在EV中的水平。这些标志物表达的变化表明多奈哌齐治疗可减少神经元中 $A\beta_{42}$ 和tau的产生和tau的磷酸化,最终减少神经元的损失。其他学者也观察到,循环中t-tau水平升高的轻度AD患者病情恶化更快^[13]。因此, EV中的t-tau水平降低将有助于改善AD患者的认知缺陷。

目前,多奈哌齐如何影响AD患者血浆EV中 $A\beta_{42}$ 和

tau水平及tau磷酸化的机制尚不清楚。但有研究证实,多奈哌齐治疗可使血清中BDNF水平增加和TNF- α 水平减少^[18]。此外,研究发现,血清BDNF水平和脑脊液A β_{42} 水平之间呈正相关,这一发现提示,血清BDNF水平的升高可能代表了对A β 病理的适应性或保护性反应^[15]。因此,多奈哌齐治疗可使血清BDNF水平增加,从而降低EV中A β_{42} 和P-T181-tau水平。研究还发现,多奈哌齐治疗可降低AD患者循环中的TNF- α 水平,在EV中t-tau水平与血浆中TNF- α 水平呈正相关^[19]。因此,在接受多奈哌齐治疗的患者中,血浆中TNF- α 水平减少的同时血浆EV中t-tau水平也会减少,这种相互作用值得进一步研究。

总之,本研究发现,轻中度AD患者血浆EV中A β_{42} 、t-tau、P-T181-tau和P-S393-tau水平升高,而EV中t-tau、NRGN和REST水平的增加与认知功能和生活能力的下降相关。此外,多奈哌齐治疗使轻中度AD患者的血浆EV中t-tau、P-T181-tau和P-S396-tau水平降低。因此,采用神经元衍生的细胞EV可作为监测多奈哌齐治疗AD疗效的有效工具。

由于本研究纳入的样本量较少,本研究的结论需要在未来更大样本量的前瞻性研究中进行验证。

参 考 文 献

- [1] 刘志安,林燕玲,韩爱东. A β 寡聚体与阿尔茨海默病[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2022, 61(3): 1-10.
- [2] 唐雄林,唐海丹,蒋柳艳,等. 吡拉西坦联合盐酸多奈哌齐对阿尔茨海默病大鼠海马区小胶质细胞活化的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(4): 328-332.
- [3] HORSAGER J, ANDERSEN KB, KNUDSEN K, et al. Brain - first versus body-first Parkinson's disease: a multimodal imaging case-control study[J]. Brain, 2020, 143(10): 3077-3088.
- [4] PISANI S, MUELLER C, HUNTLEY J, et al. A meta-analysis of randomised controlled trials of physical activity in people with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment with a comparison to donepezil[J]. Int J Geriatr Psychiatry, 2021, 36(10): 1471-1487.
- [5] CHOI HJ, PARK JH, JEONG YJ, et al. Donepezil ameliorates A β pathology but not tau pathology in 5xFAD mice[J]. Mol Brain, 2022, 15(1): 63.
- [6] KIM KY, SHIN KY, CHANG KA. Brain - derived exosomal proteins as effective biomarkers for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Biomolecules, 2021, 11(7): 980.
- [7] DELGADO-PERAZA F, NOGUERAS-ORTIZ CJ, VOLPERT O, et al. Neuronal and astrocytic extracellular vesicle biomarkers in blood reflect brain pathology in mouse models of Alzheimer's disease[J]. Cells, 2021, 10(5): 993.
- [8] MA F. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders -5 (DSM-5)[M]//Gu DN, Dupre ME. Encyclopedia of Gerontology and Population Aging. Cham: Springer International Publishing, 2021: 1414-1425.
- [9] WINSTON CN, ROMERO HK, ELLISMAN M, et al. Assessing neuronal and astrocyte derived exosomes from individuals with mild traumatic brain injury for markers of neurodegeneration and cytotoxic activity[J]. Front Neurosci, 2019, 13: 1005.
- [10] HAMMERS DB, KOSTADINOVA RV, SPENCER RJ, et al. Sensitivity of memory subtests and learning slopes from the ADAS-cog to distinguish along the continuum of the NIA - AA research framework for Alzheimer's disease[J]. Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn, 2023, 30(6): 866-884.
- [11] Samara M, Levine SZ, Yoshida K, et al. Linking the clinical dementia rating scale - sum of boxes, the clinician's interview - based impression plus caregiver input, and the clinical global impression scale: evidence based on individual participant data from five randomized clinical trials of donepezil[J]. J Alzheimers Dis, 2021, 82(3): 1075-1084.
- [12] WINSTON CN, GOETZL EJ, SCHWARTZ JB, et al. Complement protein levels in plasma astrocyte - derived exosomes are abnormal in conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease dementia[J]. Alzheimers Dement (Amst), 2019, 11: 61-66.
- [13] ZHAO AN, LI YY, YAN Y, et al. Increased prediction value of biomarker combinations for the conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer's dementia[J]. Transl Neurodegener, 2020, 9(1): 30.
- [14] JIA LF, ZHU M, KONG CJ, et al. Blood neuro - exosomal synaptic proteins predict Alzheimer's disease at the asymptomatic stage[J]. Alzheimers Dement, 2021, 17(1): 49-60.
- [15] MORI Y, TSUJI M, OGUCHI T, et al. Serum BDNF as a potential biomarker of Alzheimer's disease: verification through assessment of serum, cerebrospinal fluid, and medial temporal lobe atrophy[J]. Front Neurol, 2021, 12: 653267.
- [16] ARIQZ BI, TUFEKCI KU, OLCUM M, et al. Proteome profiling of neuron - derived exosomes in Alzheimer's disease reveals hemoglobin as a potential biomarker[J]. Neurosci Lett, 2021, 755: 135914.
- [17] VANDENDRIESSCHE C, KAPOGIANNIS D, VANDENBROUCKE RE. Biomarker and therapeutic potential of peripheral extracellular vesicles in Alzheimer's disease[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2022, 190: 114486.
- [18] GHOLAMI J, NEGAH SS, RAJABIAN A, et al. The effect of combination pretreatment of donepezil and environmental enrichment on memory deficits in amyloid - beta - induced Alzheimer-like rat model[J]. Biochem Biophys Rep, 2022, 32: 101392.
- [19] SHPAK A, GUEKHT A, DRUZHKOVA T, et al. Increased ciliary neurotrophic factor in blood serum and lacrimal fluid as a potential biomarkers of focal epilepsy[J]. Neurol Sci, 2022, 43(1): 493-498.

责任编辑:龚学民