

BIOMARKER miRNA-146a SEBAGAI DETEKSI DINI YANG EFEKTIF UNTUK ALZHEIMER

Hidayatun Nisa¹, Rano K. Sinuraya²

¹Program Studi Sarjana, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia

²Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia

Abstrak

Angka kejadian Alzheimer terus meningkat dari tahun ke tahun dan diproyeksikan meningkat hampir dua kali lipat setiap 20 tahun. Pemerintah Indonesia terus berusaha untuk menurunkan angka kejadian Alzheimer, salah satunya dengan melakukan pendeteksian. Akan tetapi pendeteksian alzheimer saat ini masih terbatas karena tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang rendah. Untuk itu dicari metode pendeteksian yang terbaik di berbagai literature. Deteksi dini dapat dilakukan dengan pemeriksaan serum darah menggunakan penanda biologi (*biomarker*). Penelitian mengenai *biomarker* menunjukkan efektivitas dan efisiensi yang cukup baik dalam pendeteksian dini alzheimer. Biomarker yang dapat digunakan yaitu N-acetyl aspartate acid (NAA), Serum $\alpha 1$ – antikomotripsin (ACT), β -Amyloid, Tau-protein, dan miRNA-146a. Biomarker miRNA-146a dinilai memiliki potensi untuk digunakan karena memiliki sensitivitas 90% dan spesifisitas 100%.

Kata kunci: Alzheimer, Deteksi Dini, Biomarker, miRNA-146a

Abstract

Alzheimer's incidence rate continues to increase year by year and is projected to nearly double every 20 years. The Indonesian government continues to try to reduce the incidence of Alzheimer's, one of them by doing the detection. However, current detection of Alzheimer's is still limited due to its low sensitivity and specificity. Because of that, search the best detection method in various literature. Early detection can be done by blood serum examination using biomarker marker (biomarker). Research on biomarkers has shown considerable effectiveness and efficiency in early detection of Alzheimer's. Biomarkers that used are N-acetyl aspartate acid (NAA), Serum $\alpha 1$ - antikomotripsin (ACT), β -Amyloid, Tau-protein, and miRNA-146a. The miRNA-146a biomarker is assessed as having potential for use because it has a 90% sensitivity and a specificity of 100.

Keywords: Alzheimer's, Early Detection, Biomarker, miRNA-146a

Pendahuluan

Penyakit Alzheimer (AD) ditandai dengan demensia yang biasanya dimulai dengan penurunan daya ingat, penurunan kemampuan mengenali sesuatu yang perlahan menjadi semakin parah akibat gangguan di dalam otak yang sifatnya progresif atau perlahan-lahan hingga akhirnya penderita menjadi tidak mampu mengingat dan mengenali sesuatu. Tanda lainnya yaitu kebingungan, penilaian yang buruk, gangguan berbicara, agitasi, penarikan diri, dan halusinasi (Aguila, et al., 2015).

Patofisiologi AD terkait dengan cedera dan kematian neuron, dimulai di daerah otak hippocampus yang melibatkan ingatan dan pembelajaran, maka atrofi mempengaruhi seluruh otak. Beta Amyloid, yang juga ditulis $A\beta$, adalah peptida pendek yang merupakan produk samping proteolitik abnormal dari protein prekursor amyloid protein transmembran (APP), yang fungsinya tidak jelas namun dianggap terlibat dalam perkembangan neuron. Monomer beta amyloid larut dan mengandung *short region* dari *beta sheet* yang memiliki konsentrasi cukup tinggi, mereka mengalami perubahan untuk membentuk struktur tersier kaya akan *beta sheet* yang kemudian digabungkan membentuk fibril amiloid. Endapan fibril ini berada di luar neuron dalam formasi padat yang dikenal sebagai plak neuritis, dan kemudian membentuk amyloid

angiopathy atau congophilic angiopathie. Pada kelompok Alzheimer abnormal agregasi dari protein tau, protein yang terkait mikrotubulus yang diekspresikan dalam neuron juga diamati. Protein Tau berfungsi untuk menstabilkan mikrotubulus di sitoskeleton sel. Seperti kebanyakan protein terkait mikrotubulus, tau biasanya diatur oleh fosforilasi. Pada pasien AD, hiperfosforilasi tau P-tau terakumulasi sebagai filamen heliks berpasangan yang kemudian beragregasi menjadi massa di dalam badan sel saraf yang dikenal sebagai *neurofibrillary tangles* dan sebagai neuron distrofi yang terkait dengan plak amyloid (Shaffer, et al., 2013; Swardfager, et al., 2012; Revett, et al., 2013).

Pada tahun 2007 1 dari 85 orang di seluruh dunia hidup dengan memiliki penyakit alzheimer². Jumlah penderita alzheimer diproyeksikan meningkat hampir dua kali lipat setiap 20 tahun, menjadi 65,7 juta pada tahun 2030 dan 115,4 juta pada tahun 2050. Sebagian besar kenaikan tersebut disebabkan oleh peningkatan jumlah penderita Alzheimer di negara berpendapatan menengah dan rendah. Pada tahun 2010, 57,7% penderita alzheimer tinggal di Indonesia yang termasuk ke dalam negara berpendapatan menengah dan rendah, proporsi ini diperkirakan meningkat menjadi 63,4% pada tahun 2030 dan 70,5% pada tahun 2050. Proyeksi ini terutama didorong oleh

pertumbuhan populasi dan penuaan demografis (Brookmeyer, et al., 2007; Mayeux, R and Yaakov Stern, 2012; Tanna, 2015)

Tingginya angka kejadian AD di dunia maupun di Indonesia juga dipengaruhi oleh beberapa hal termasuk populasi penduduk yang memiliki factor risiko yang tinggi, sedangkan penduduk yang memiliki factor risiko tinggi tersebut tidak memiliki pemahaman mengenai harus dilakukannya pendeteksian dini terhadap gejala-gejala penyakit AD yang dialaminya sehingga progresifitas penyakit AD tersebut tidak terus berkembang dan menyebabkan peningkatan mortalitas pada penderita AD. Disamping itu hal ini juga disebabkan karena metode pemeriksaan yang terbatas hingga tidak ditemukannya metode pendeteksian yang tepat dalam penyakit AD. Metode yang dikembangkan selama ini masih memiliki beberapa kekurangan dalam hal spesifisitas dan sensitifitas, untuk itu perlu dilakukan pengkajian terhadap metode baru yang lebih spesifik dan sensitif sehingga dapat menurunkan mortalitas pada penderita AD.

Dalam beberapa tahun terakhir, ada seruan untuk melakukan perubahan budaya dalam mendiagnosis AD pada tahap awal, sebelum pasien melewati ambang batas ke dalam demensia. Penilaian Alzheimer Cooperative Valuation in Europe (ALCOVE) telah mengusulkan agar diagnosis pada umumnya terjadi lebih awal

daripada praktik umum saat ini, pada saat pasien dan keluarga mereka melihat perubahan fungsi kognitif dan dapat menggunakan informasi tersebut untuk memahami apa yang sedang terjadi. Membuat perubahan gaya hidup, dan melakukan pendeteksian dini (Benerje, 2010; Brooker, et al., 2014). Hal tersebut dapat mengurangi insidensi dan mortalitas penyakit AD yang terjadi di Indonesia maupun dunia.

Metode

Metode yang digunakan dalam review ini adalah mencari dan mengumpulkan jurnal-jurnal yang relevan yang berkaitan dengan Alzheimer pada google scholar, pubmed, medline, biomed central, ncbi, nature dengan kata kunci seperti AD, *biomarker* dan *early detection* yang digunakan untuk membahas bagaimana status pendeteksian yang ada saat ini dan pentingnya pendeteksian dini dengan beberapa metode yang ada saat ini dan serta dapat diimplementasikan terhadap pengobatan dini pada pasien Alzheimer.

Hasil

Dalam World Alzheimer Report, ADI menerbitkan perkiraan prevalensi AD global berdasarkan tinjauan sistematis terhadap 154 studi yang dilakukan di seluruh dunia sejak tahun 1980, dengan perkiraan prevalensi yang diterapkan pada proyeksi populasi Perserikatan Bangsa-Bangsa sampai tahun 2050. Diperkirakan bahwa 36 juta orang hidup dengan

demensia pada tahun 2010, mengalami peningkatan hampir dua kali lipat setiap 20 tahun menjadi 66 juta pada tahun 2030 dan menjadi 115 juta pada tahun 2050 (ADI, 2009; WHO, 2012).

Sekitar 473.000 orang berusia 65 atau lebih akan memiliki penyakit Alzheimer di Amerika Serikat pada tahun 2015. Jumlah kasus baru Alzheimer meningkat secara dramatis seiring bertambahnya usia: pada tahun 2015, akan ada sekitar 61.000 kasus baru di antara orang berusia 65 sampai 74 tahun, 172.000 baru Kasus di antara orang-orang berusia 75 sampai 84 tahun, dan 240.000 kasus baru di antara orang-orang berusia 85 dan lebih tua (yang tertua). Hal ini berarti kira-kira terjadi dua kasus baru per 1.000 orang berusia 65 sampai 74, 13 kasus baru per 1.000 orang berusia 75 sampai 84, dan 39 kasus baru per 1.000 orang berusia 85 dan lebih tua (hebert, 2010; Honea, 2012; Yaffe, et al., 2013; Clark, 2012; Schrijvers, et al., 2012; Qiu, et al., 2013).

Karena lebih banyak orang hidup di usia yang lebih tua, jumlah penderita dan mortalitas yang disebabkan karena AD meningkat dari tahu ke tahun. Untuk itu, menurut penelitian Wimo, et al., (2013) AD telah menjadi area prioritas untuk tindakan terkoordinasi di tingkat global. Banyak negara sekarang memiliki strategi untuk mencegah AD nasional dan kebijakan pemerintah yang bertujuan untuk menegakkan diagnosis dan pendeteksian

dini (Dubois, et al., 2010, Alzheimer's Association, 2011; Wimo, Jonsson L et al., 2013; Wimo, Reed CC, et al, 2013; Banerjee, 2010).

Dalam beberapa tahun terakhir, ada seruan untuk melakukan perubahan budaya dalam mendiagnosis AD pada tahap awal, sebelum pasien melewati ambang batas ke dalam demensia. Penilaian Alzheimer Cooperative Valuation in Europe (ALCOVE) telah mengusulkan agar diagnosis pada umumnya terjadi lebih awal daripada praktik umum saat ini, pada saat pasien dan keluarga mereka melihat perubahan fungsi kognitif dan dapat menggunakan informasi tersebut untuk memahami apa yang sedang terjadi. Membuat perubahan gaya hidup, dan melakukan pendeteksian dini (Banerjee, 2010; Brooker, et al., 2014; De Lepeleire, et al., 2008; Dubois et al., 2007).

International Working Group (IWG) telah mengusulkan sebuah konsep baru AD dengan kriteria diagnostik baru berdasarkan pada kehadiran biomarker, yang memungkinkan identifikasi tahap prodromal dan keadaan praklinis untuk AD. Berdasarkan kriteria ini, AD sekarang dianggap sebagai entitas klinis-biologis yang dapat diidentifikasi secara in vivo. Pendeteksian dini ini memerlukan bukti fitur klinis yang spesifik dan bukti biologis in vivo dari patologi abnormal yang mendasarinya yang didefinisikan dengan baik dan terdeteksi menggunakan

biomarker. Biomarker memiliki sensitifitas dan spesifisitas yang baik dan layak untuk digunakan dalam diagnosis AD (Dubois, et al., 2014; Albert, et al., 2011; McKhann, et al., 2011; Cummings, et al., 2013; Molinuevo, et al., 2013; Morris, et al., 2014).

Jenis-jenis biomarker yang telah ada selama ini dan dapat digunakan yaitu N-acetyl aspartate acid (NAA), Serum $\alpha 1$ – antikomotripsin (ACT), β -Amyloid, Tau-protein, dan miRNA-146

Tabel 1. Kelebihan dan Kekurangan Berbagai Jenis *Biomarker*

Jenis Biomarker	Kelebihan	Kekurangan
N-acetyl aspartate acid (NAA)	1. Sensitifitas dengan sensitifitas 83% 2. Metode pemeriksaan sederhana (Moffet, et al., 2007; Makesbery, et al., 2007; Leon, et al., 2010).	1. Ditemukannya bias pada proses pendeteksian 2. Memiliki negative palsu yang tinggi 25 – 30% 3. Spesifisitasnya hanya 70% (Moffet, et al., 2007; Makesbery, et al., 2007; Leon, et al., 2010).
Serum $\alpha 1$ – antikomotripsin (ACT)	1. Memiliki sensitifitas yaitu 84% dan spesifisitas ACT 89% (Lieberman, et al., 2011).	1. Membutuhkan <i>brain imaging</i> 2. Membutuhkan harga yang tinggi (Lieberman, et al., 2011).
β -Amyloid	1. Memiliki sensitivitas yang tinggi yaitu 83% (Yamada, et al., 2009; Britschgi, et al., 2009; Morris, et al., 2010; Gomperts, et al.,	1. Berpotensi menimbulkan respon imun yang tidak diinginkan 2. Membutuhkan biaya yang tinggi

	2008; Tapiola, et al., 2009).	3. Spesifisitas rendah, hanya 71% (Yamada, et al., 2009; Britschgi, et al., 2009; Morris, et al., 2010; Gomperts, et al., 2008; Tapiola, et al., 2009).
Tau protein	1. memiliki spesifisitas dan sensitifitas yang tinggi, yaitu 80% dan 90% (Anoo, et al., 2010).	1. Harus dikombinasikan dengan biomarker yang lain (Anoo, et al., 2010).
miRNA-146a	1. memiliki spesifisitas yang tinggi yaitu 100% dan sensitifitas 90% 2. non invasive 3. harganya terjangkau (Wang, et al., 2016).	1. belum pernah dicobakan di Indonesia (Wang, et al., 2016).

N-acetyl aspartate acid (NAA) merupakan salah satu jenis biomarker yang dapat digunakan disebabkan karena NAA akan mengalami *down regulated* pada pasien yang mengalami AD. Menurut penelitian Moffet, et al., (2007) NAA memiliki spesifisitas yang tinggi karena fisiologi NAA yang berfungsi untuk mendeteksi disfungsi dan kehilangan fungsi neuronal, oleh karena itu NAA disebut juga sebagai marker yang unik yang biasa digunakan pada penderita AD. Akan tetapi menurut penelitian Markesbery, et al (2007) produksi NAA bersamaan dengan produksi sintesis ATP sehingga kemungkinan negative palsu di

yang ditimbulkan lebih besar sekitar 25-30%. Metabolisme penurunan NAA yang terjadi diketahui pada kondisi awal NAA, sehingga dapat diketahui bahwa penurunan fungsional mendahului kerusakan structural. Naa juga dapat menyebabkan bias karena gliosis reaktif yang menyertai atrofi dapat mengurangi tingkat kerugian neuronal yang sebenarnya yang menyebabkan fBPV (fractional brain parenchyma volume). Karena sel glial tidak mengandung NAA . oleh sebab itu maka NAA tidak dapat digunakan sendiri dan harus dikombinasikan dengan penanda biologis lainnya. Karena ketika digunakan sendiri sensitifitas NAA hanya 83%

spesifisitasnya 70%. Metode pemeriksaan pendeteksian AD pada NAA dapat dilakukan secara sederhana dan tidak harus menggunakan *brain imaging* (Moffet, et al., 2007; Makesbery, et al., 2007; Leon, et al., 2010).

Serum $\alpha 1$ – antikomiotripsin (ACT) juga dapat digunakan untuk membedakan penderita yang mengalami AD dan yang tidak mengalami AD karena Serum $\alpha 1$ – antikomiotripsin (ACT) akan mengalami *up regulated* penderita AD. sensitifitas ACT yaitu 84% dan spesifisitas ACT 89%. ACT harus dilakukan bersamaan dengan *brain imaging* oleh sebab itu maka ACT membutuhkan biaya yang tinggi (Lieberman, et al., 2011).

Biomarker selanjutnya yaitu β -Amyloid yang mengalami *down regulated* pada pasien yang mengalami AD. Menurut penelitian Yamada K, et al., (2009) $A\beta$ membutuhkan biaya yang terjangkau, akan tetapi berpotensi menimbulkan respons imun yang tidak diinginkan, terutama pada orang tua yang sitokin proinflamasi sudah berada di atas kadar normal. Akan tetapi menurut penelitian Gompert, et al., (2008) ketika $A\beta$ digunakan tanpa instrument yang canggih, sensitifitas dan spesifisitasnya sangat rendah, untuk itu saat ini biomarker menggunakan $A\beta$ digunakan bersamaan dengan PET (Positron Emission Tomography) dan oleh sebab itu akan membutuhkan biaya yang tinggi untuk 1 kali pengecekan pada tiap

individu, akan tetapi spesifisitasnya yang semula hanya 71% dan sensitivitasnya 83% akan meningkat hingga 15% dari sebelumnya dan metode ini dapat menimbulkan efek samping lainnya pada pasien (Yamada, et al., 2009; Britschgi, et al., 2009; Morris, et al., 2010; Gomperts, et al., 2008; Tapiola, et al., 2009).

Tau protein merupakan jenis lain dari biomarker yang dapat digunakan. Hiperfosforilasi dari tau protein dapat digunakan sebagai penanda untuk mendeteksi Alzheimer secara dini dengan melihat adanya peningkatan kadar dari tau protein. Menurut penelitian Anoo et al., (2010) Tau protein memiliki spesifisitas 80% dan sensitifitas 90%. Akan tetapi penggunaan tau protein tanpa dikombinasikan akan menimbulkan bias pada hasil pemeriksaan dan juga menimbulkan positif palsu yang tinggi. Untuk itu tau protein harus dikombinasikan dengan biomarker lainnya untuk mendapatkan hasil yang diinginkan (Anoo, et al., 2010).

Menurut penelitian Wang, et al., (2016) miRNA-146a merupakan biomarker lainnya yang dapat digunakan. miRNA-146a mengalami *up regulated* pada pasien AD. miRNA ini memiliki spesifisitas yang tinggi yaitu 100% dan sensitifitas 90%. miRNA 146-a ini tidak harus dikombinasikan dengan biomarker lainnya, karena *up regulated* dari miRNA ini dapat dijadikan penanda yang jelas

untuk mendeteksi kerusakan yang terjadi pada penderita AD. miRNA-146 ini dalam pengambilan sampelnya non-invasif, sehingga tidak terjadi kesakitan pada pasien dan tidak menimbulkan efek samping lainnya, serta harga yang dibutuhkan terjangkau (Wang, et al., 2016). Akan tetapi metode ini belum pernah dilakukan di Indonesia

Pembahasan

Biomarker atau disebut juga *biological marker* merupakan subkategori dari penanda medis yang digunakan untuk mengindikasikan suatu kondisi medis yang diamati dari luar tubuh pasien. *Biomarker* dapat berupa gen dan protein (Ahn and Current., 2013; Strimbu and Jorge, 2010). Menurut penelitian Strimbu dan Jorge (2010), pengukuran dengan *biomarker* ini memiliki kelebihan, yaitu sangat spesifik dan sensitif³¹⁻³². Jenis-jenis biomarker yang telah ada selama ini dan dapat digunakan yaitu N-acetyl aspartate acid (NAA), Serum $\alpha 1$ – antikomiotripsin (ACT), β -Amyloid, Tau-protein, dan miRNA-146a. biomarker tersebut memiliki prinsip dan regulasi yang berbeda-beda ketika digunakan sebagai penanda.

N-acetyl aspartate acid (NAA)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Patel et al., (2013) N-acetyl aspartic acid (NAA), merupakan sebuah derivatif metabolit spesifik dari asam aspartat pada sistem syaraf pusat yang

merupakan biomarker yang sangat menjanjikan dalam uji klinik pada penyakit syaraf. NAA disintesis oleh asam aspartat dan asetil koenzim A di mitokondria syaraf, lalu hasilnya diatur pada kadar konsentrasi yang sangat tinggi pada sistem syaraf pusat baik pada manusia ataupun hewan. NAA diperbaharui setiap harinya melalui daerah recycling jaringan syaraf antara cairan ekstraselular neuron, astrocytes dan oligodendrocytes. Umumnya, klirens NAA ditransfer dari neuron ke oligodendrocytes. Ketika terjadi perubahan patologis, pembebasan NAA akan meningkat pada neuron yang terluka, NAA pertama-tama mengalir ke astrocytes dan kemudian masuk ke dalam sirkulasi darah. Disamping itu, NAA diekspresikan dalam kadar yang sangat tinggi di sel saraf, sehingga dapat digunakan sebagai biomarker untuk mendiagnosis dan pengobatan penyakit syaraf, seperti Alzheimer. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan kadar NAA dalam otak menurun pada pasien penderita Alzheimer, terutama pada tahap awal penyakit Alzheimer, maka pengukuran kadar NAA dalam otak dapat digunakan sebagai metode yang efektif untuk skrinning awal penyakit Alzheimer (Patel, et al., 2014; Paslakis, et al., 2014; Moffet, et al., 2014, Wootla, et al., 2015; Abdallah, et al., 2013; Calderón, et al., 2015; Murray, et al., 2014; Bittner et al., 2014).

Serum $\alpha 1$ – antikomotripsin (ACT)

Menurut penelitian Kamboh, et al., (2008) Alfa 1 – Antikomotripsin (ACT) atau dapat dikenal dengan serine proteinase inhibitor A3 yang merupakan protein reaktan fase akut yang diyakini termasuk ke dalam patogenesis penyakit AD. ACT merupakan komponen utama dari neuritic plaques dan mempromosikan perakitan amyloid beta peptida ($A\beta$) menjadi filamen dan mengendap di otak sehingga mempengaruhi kerusakan kognitif. Kadar ACT dalam cairan serebrospinal pada pasien AD meningkat seiring dengan tingkat keparahannya dibandingkan dengan control (Kamboh, et al., 2008).

Pada dasarnya ACT diproduksi oleh bagian otak yang memproduksi IL-1. Inflamasi yang terjadi akan menyebabkan terjadinya upregulated dari IL-1 yang mengekspresikan gen transkripsi ACT secara berlebihan sehingga di hasilkan ACT yang berlebihan pula. ACT terbukti memiliki kontribusi dalam pembentukan plak amyloid yang menyebabkan timbulnya penyakit Alzheimer. Berdasarkan penelitian potter dalam penelitiannya *The inflammation-induced pathological chaperones ACT and apo-E are necessary catalysts of Alzheimer amyloid formation*, menyatakan bahwa ACT menstimulasi pembentukan amyloid yang menyebabkan terjadinya polimerisasi

$A\beta$ protein menjadi filament amyloid yang bersifat toksik untuk sel saraf. ACT juga terbukti mempercepat proses pembentukan filament amyloid dengan mengkatalis proses agregasi konformasi β -sheet dari $A\beta$ protein sehingga terbentuk kumpulan amyloid yang disebut dengan plak. Identifikasi dari ACT yang telah berikatan dengan amyloid dapat dijadikan tanda khusus berupa inflamasi sitokin untuk menentukan daerah spesifik terbentuknya plak pada penderita Alzheimern (Kamboh, et al., 2008; Potter, et al., 2010).

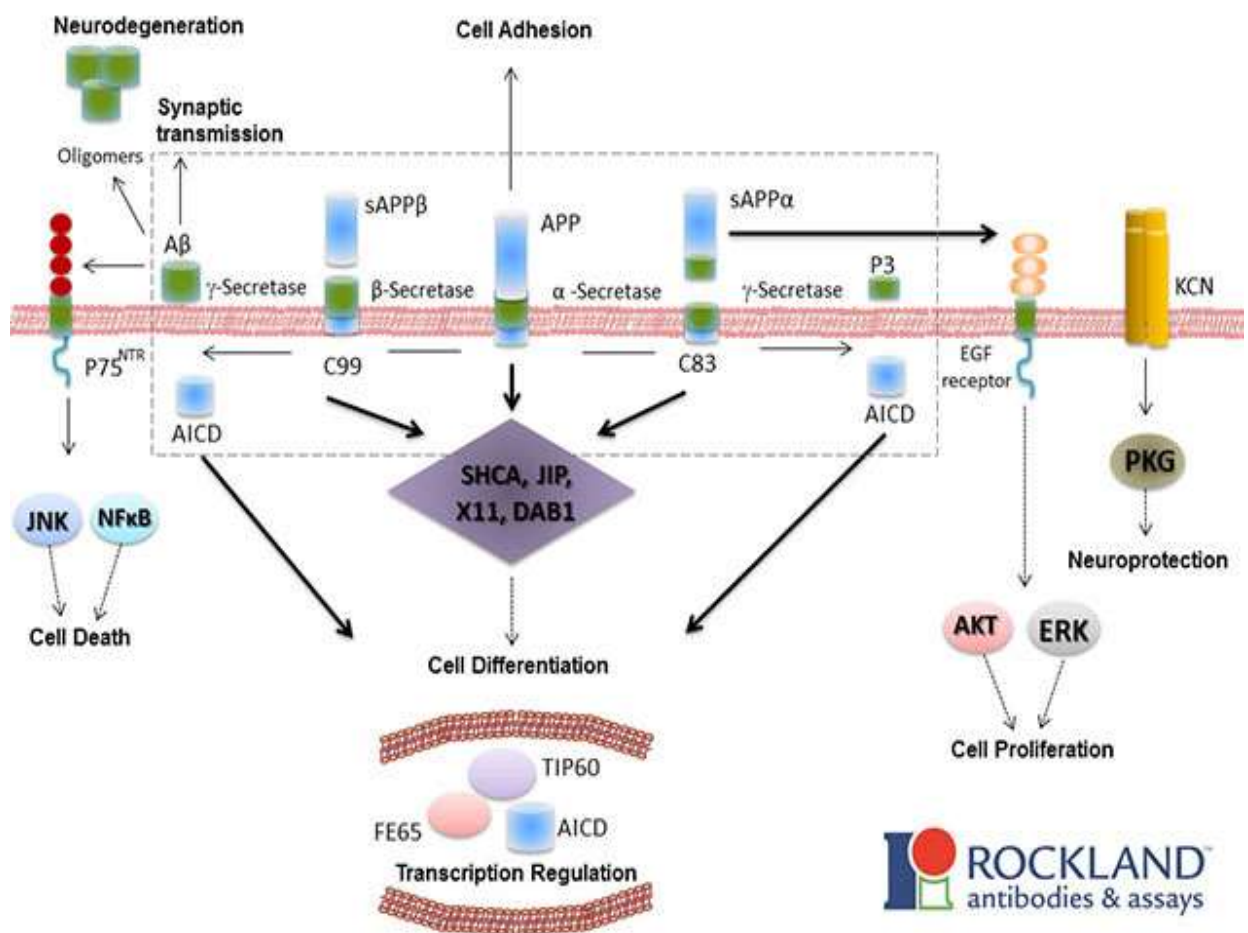
Menurut penelitian Scacchi, et al., (2010) dinyatakan bahwa semakin tinggi kadar ACT maka dapat digunakan untuk membedakan AD dari kondisi non-AD inflamasi, karena kadar ACT akan kembali normal dengan adanya terapi atau seiring waktu (Scacchi, et al., 2010).

Pada keadaan inflamasi, trauma maupun operasi, kadar ACT dalam plasma dapat meningkat hingga 4 kali dari kadar basalnya dalam 8 jam dan terjadi pada cairan serebrospinal dan plasma pasien AD. Secara umum, tes serum ACT normal memiliki nilai lebih untuk memprediksi tidak adanya AD (96%) daripada tes positif untuk memprediksi ada atau tidaknya. sensitifitas ACT yaitu 84% dan spesifisitas ACT 89% (Lieberman, et al., 2011).

β -Amyloid

Protein Amyloid- β ($A\beta$) 42 ($A\beta$ 42) dan 40 aa ($A\beta$ 40) terakumulasi sebagai plak pikun (SP) dan deposit protein amiloid serebrovaskular yang menentukan ciri diagnostik penyakit Alzheimer (AD). Sejumlah mutasi langka yang terkait dengan familial AD (FAD) pada protein prekursor $A\beta$ (APP), Presenilin-1 (PS1), Presenilin-2 (PS2), Adamalysin10, dan faktor risiko genetik lainnya untuk AD sporadis seperti alel ϵ 4 Apolipoprotein E (ApoE- ϵ 4) mendorong akumulasi $A\beta$ dan juga menginduksi keseluruhan spektrum patologi yang terkait dengan penyakit ini. Akumulasi $A\beta$ merupakan peristiwa patologis penting dan target utama untuk pencegahan dan pengobatan AD. APP diproses secara berurutan oleh enzim pembongkaran APP β -site (BACE1) dan γ -

secretase, protease membran integral PS1 / PS2 yang multisubunit, untuk menghasilkan $A\beta$. Meskipun $A\beta$ terakumulasi dalam semua bentuk AD, satu-satunya jalur yang diketahui terpengaruh oleh FAD meningkatkan produksi $A\beta$ dengan duplikasi gen APP atau melalui substitusi dasar pada subunit APP dan γ -secretase PS1 dan PS2 yang secara khusus meningkatkan hasil $A\beta$ 42 atau yang lebih lama. Keduanya $A\beta$ 40 dan $A\beta$ 42. Namun, sebagian besar pasien AD mengakumulasi $A\beta$ tanpa mutasi yang diketahui ini. Hal ini menyebabkan penurunan degradasi $A\beta$ atau clearance mungkin sebagai peran kunci dalam patogenesis AD. Menurut penelitian Borroni., (2010) Biomarker ini memiliki sensitivitas 83% dan spesifisitas 71% (Baranello, et al., 2015; Tang, 2009; Borroni, 2010).



Gambar 1. Mekanisme Aβ (Baranello, et al., 2015)

Tau-protein

Tau protein merupakan mikrotubulus yang berasosiasi dengan protein (MAP) yang berada di sel saraf dewasa. Tau protein ditemukan berupa 6 bentuk molekul isoform di dalam otak manusia. Isoform ini dikode oleh single gen yaitu kromosom no 17 dan dapat juga dihasilkan dalam proses *splicing* dari m-RNA. Dalam bentuk phosphoprotein, tau memiliki fungsi dalam merubah tubulin menjadi mikrotubulus dan menstabilkan strukturnya (Andresan, et al., 2010).

Pada otak manusia, *splicing* alternatif dari pre – mRNA dihasilkan dalam 6 bentuk isoform protein. Enam isoform tau ini dibedakan berdasarkan kandungan tiga (3R tau) atau empat (4R tau) ikatan mikrotubulus yang berulang dari 31 – 32 asam amino dalam setengah terminal karboksi dan satu (1N), dua (2N), atau nol (0N) terminal amino yang masing – masing disisipkan 29 asam amino. Pengulangan ekstra di 4R tau adalah pengulangan kedua (R2) dari 4R tau (Ariyannur, et al., 2008).

Pada penyakit alzheimer terjadi proses patologi yang disebut dengan tauopathies. Pada tauopathies ini, tau protein secara abnormal mengalami hiperphosphorilasi dan beragregasi menjadi kumpulan filamen sehingga jumlah tau proteinnya meningkat. Umumnya pada penyakit alzheimer

kumpulan filamen ini menjadi intraneuronal neurofibrillary tangles yang mengelilingi β -amyloid 58 (Pike, et al., 2007).

Menurut penelitian Kaj Blennow, et al., (2014) penentuan jumlah tau protein dalam diagnosis penyakit alzheimer memiliki sensitivitas yang cukup tinggi. Dengan demikian, tau protein dapat dijadikan biomarker dalam mendiagnosa penyakit Alzheimer (Pike, et al., 2007) Tau Protein memiliki spesifisitas 80% dan sensitifitas 90% (Maccioni, et al., 2010; Dubois, et al., 2015).

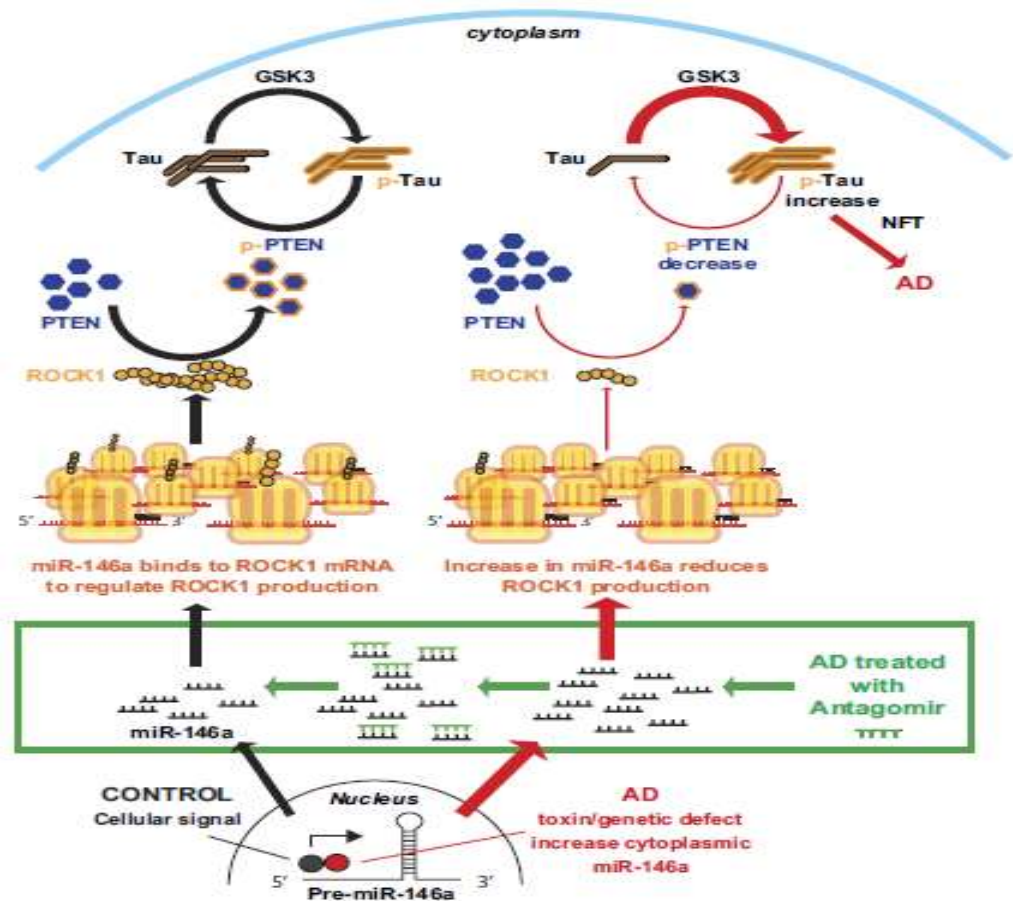
miRNA 146

Menurut penelitian Duan, et al., (2012) pada *Alzheimer Disease* (AD) ditemukan beberapa disregulasi miRNA, tetapi terdapat satu miRNA yang menonjol pada stage awal yang dapat dijadikan sebagai *early detection* yaitu miRNA 146-a. MicroRNA-146a paling dikenal karena perannya dalam respon imun bawaan. Meskipun miRNA 146-a melimpah di otak manusia, miRNA ini diekspresikan dalam mikroglia dan neuron yang penting. Upregulasi microRNA-146a dapat dilihat pada AD di tahap awal/ AD praklinis didalam serum dan di daerah hippocampus (wilayah otak dimana terdapat neuron paling terpengaruh pada tahap awal AD), dan juga pada diagnosis pada cairan serebrospinal dan daerah otak yang terkena, namun kadarnya miRNA 146a

akan berkurang pada tahap akhir ketika kehilangan neuron dan kerusakan jaringan ditandai. Analisis bioinformatika terbaru jalur microRNA pada AD mengidentifikasi microRNA-146a sebagai pemain sentral di delapan dari sembilan jalur peraturan aktif yang mendasari penyakit (Duan, et al., 2012; Obulesu, et al., 2011; Li and Kowdley, 2012).

Menurut penelitian Wang et al., (2016) pada sistem sel perifer, microRNA-146a menekan gen yang terkait dengan *rho*, *coiled-coil containing protein kinase 1* (ROCK1) dan ROCK1 berikatan dengan *protein phosphatase and tensin homolog* (PTEN) yang merupakan langkah penting untuk fosforilasi PTEN yang mempromosikan tau dephosphorylation. Penurunan fosforilasi PTEN dan PTEN immunoreactive temporal lobus piramidal neuron merupakan hal yang diperhatikan pada AD. Data ini menunjukkan bahwa upregulasi microRNA-146a dapat

menyebabkan mitosis fosforilasi tau abnormal di neuron dengan mengatur jalur sinyal ROCK1-PTEN di neuron. Dalam pengujian secara sistematis dapat diamati bahwa ROCK1 adalah target microRNA-146a pada sel saraf, bahwa overekspresi microRNA-146a pada sel saraf menginduksi tau hyperphosphorylation melalui regulasi ROCK1 melalui PTEN, bahwa ada penurunan kadar ROCK1 dan Sebuah *colocalisation* dengan *hyperphosphorylated* tau di *neurofibrillary tangles* di otak pasien dengan AD, dan penghambatan microRNA-146a pada tikus yang memiliki AD terjadi pengurangan tau hyperphosphorylation dan meningkatkan fungsi memori. Percobaan ini mendukung proposisi bahwa microRNA-146a memainkan peran penting dalam patofisiologi AD dengan mengatur fosforilasi tau (Wang, et al., 2016; Li and Kowdley, 2012; Jiang, et al., 2013; Saba, et al., 2014; Lukiw, et al., 2011)



Gambar 2. Mekanisme miRNA-146a (Wang, et al., 2016)

Gambar 2 menunjukkan regulasi miRNA-146a didalam tubuh. miRNA-146a ini memiliki spesifitas 100% dan sensitivitas 90% (Wang, et al., 2016). Dari mekanisme dan regulasi berbagai biomarker tersebut dapat terlihat bahwa beberapa biomarker akan mengalami *upregulated* dan *downregulated*.

Mekanisme regulasi spesifik dari setiap biomarker tersebut dapat menentukan spesifikasi dan sensitifitas dari setiap biomarker. Keberagaman spesifikasi dan sensitifitas dari setiap biomarker tersebut menjadi bahan pertimbangan untuk pemilihan biomarker yang digunakan sebagai *early detection*. Serta proses regulasi dari setiap biomarker tersebut ikut berperah dalam menentukan apakah biomarker tersebut dapat digunakan secara single atau mesti dikombinasikan dengan biomarker lainnya atau mesti dilakukan dengan melakukan *brain imaging* untuk melihat pengaruh biomarker tersebut dalam menentukan progresifitas penyakit AD. Oleh karena itu miRNA-146a merupakan biomarker yang dapat digunakan dalam deteksi AD.

Simpulan

Dari hasil studi dapat dilihat bahwa Alzheimer dapat dideteksi menggunakan biomarker dan biomarker yang berpotensi digunakan yaitu miRNA-146a dengan spesifitas 100% dan sensitifitas 90%.

Daftar pustaka

- Abdallah CG, Coplan JD, Jackowski A, Sato JR, Mao X, Shungu DC, et al. 2013. A pilot study of hippocampal volume and N-acetylaspartate (NAA) as response biomarkers in riluzole-treated patients with GAD. *Eur Neuropsychopharmacol*.23: 276-284.
- Aguila JL, Koboldt DC, Black K, Chasse R, Norton J, Wilson RK, et al. 2015. Alzheimer's disease: rare variants with large effect sizes. *Curr Opin Genet Dev*. 33:49–55
- Ahn, J. M. and Je, Y.C. 2013. Current Serum Lung Cancer Biomarkers. *J Mol Biomark Diagn*. Vol. 20(01): 1-7.
- Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, et al. 2011. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations for the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 7:270–279.
- Alexandrov, P. N. et al. 2013. microRNA (miRNA) speciation in Alzheimer's disease (AD) cerebrospinal fluid (CSF) and extracellular fluid (ECF). *Int J Biochem Mol Biol*. 3, 365–373
- Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2009. *Alzheimer's Disease International*. London.
- Alzheimer's Association. 2011 Alzheimer's Association Report. 2011 Alzheimer's diseases facts and figures. *Alzheimers Dement*. 7:208–244.
- Andreasen, Niels., Lennart Minthon., Pia Davidsson.,et al. 2010. Evaluation of CSF -tau and CSF-A β 42 as Diagnostic Markers for Alzheimer Disease in Clinical Practice. *American Medical Association*. Vol 58, pp 373-379.
- Anoop, Pradeep K, Singh, Reeba S. Jacob, et al. 2010. CSF Biomarkers for Alzheimer's Disease Diagnosis. *Alzheimer*. Vol 12(3). 606802. doi: 10.4061/2010/606802

- Ariyannur PS, Madhavarao CN, Namboodiri AM. 2008. N-acetylaspartate synthesis in the brain: Mitochondria vs. microsomes. *Brain Res.* 1227: 34-41.
- Banerjee S. 2010. Living well with dementia – development of the national dementia strategy for England. *Int J Geriatr Psychiatry.* 25:917–922
- Baranello, R.J., Bharani, K.L., Padmaraju, V., Chopra, N., Lahiri, D.K., Greig, N.H., et al. 2015. Amyloid-beta protein clearance and degradation (ABCD) pathways and their role in Alzheimer's disease. *Curr. Alzheimer Res.* 12, 32–46
- Banerjee S. 2010. Living well with dementia – development of the national dementia strategy for England. *Int J Geriatr Psychiatry.* 25:917–922
- Bittner D, Heinze HJ, Kaufmann J. 2013. Association of 1H-MR spectroscopy and cerebrospinal fluid biomarkers in alzheimer's disease: diverging behavior at three different brain regions. *J Alzheimers Dis.* 36: 155-163.
- Borroni B. 2010. Blood cell markers in Alzheimer's disease: amyloid precursor protein form ratio in platelets. *Exp. Gerontol.* 45:53–56.
- Brooker D, Fontaine JL, Evans S, Bray J, Saad K. 2014. Public health guidance to facilitate timely diagnosis of dementia: ALzheimer's cooperative valuation in Europe recommendations. *Int J Geriatr Psychiatry.* 29:682–693.
- Brookmeyera, R., Elizabeth Johnsona, Kathryn Ziegler-Grahamb, H. Michael Arrigh. 2007. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 3.186–191. doi:10.1016/j.jalz.2007.04.381
- Britschgi M, et al. 2009. Neuroprotective natural antibodies to assemblies of amyloidogenic peptides decrease with normal aging and advancing Alzheimer's disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 106:12145–12150
- Calderón L, Mora-Tiscareño A, Melo-Sánchez G, Rodríguez-Díaz J, TorresJardón R, Styner M, et al. 2015. A Critical Proton MR Spectroscopy Marker of Alzheimer's Disease Early Neurodegenerative Change: Low Hippocampal NAA/ Cr Ratio Impacts APOE ε4 Mexico City Children and Their Parents. *J Alzheimers Dis.* 48: 1065-75.
- Clark PC, Kutner NG, Goldstein FC, Peterson-Hazen S, Garner V, Zhang R, et al. 2010. Impediments to timely diagnosis of Alzheimer's disease in African Americans. *J Am Geriatr Soc.* 53(11):2012–7.
- Cummings JL, Dubois B, Molineuvo JL, Scheltens P. 2013. International work group criteria for the diagnosis of Alzheimer disease. *Med Clin North Am.* 97:363–368.
- de Leon MJ, Convit A, Wolf OT, Tarshish CY, De Santi S, Rusinek H, et al. 2010. Prediction of cognitive decline in normal elderly subjects with 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose/positron-emission tomography (FDG/PET). *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 10966-10971
- De Lepeleire J, Wind AW, Iliffe S, Moniz-Cook ED, Wilcock J, Gonzalez VM, et al. 2008. nterdem Group The primary care diagnosis of dementia in Europe: An analysis using multidisciplinary, multinational expert groups. *Aging Ment Health.* 12:568–576.
- Denk, J. et al. 2011. MicroRNA Profiling of CSF Reveals Potential Biomarkers to Detect Alzheimer's Disease. *PLoS One.* 10, e0126423, doi 0.1371/journal.pone.0126423
- Duan, Y., Dong, S., Gu, F., Hu, Y. & Zhao, Z. 2012. Advances in the pathogenesis of Alzheimer's disease: focusing on tau-mediated neurodegeneration. *Transl Neurodegener.* 1, 24, doi: 10.1186/2047-9158-1-24
- Dubois, Anne M. Fagan, Piotr Lewczuk, Mony J. de Leon, and Harald Hampel. 2015. Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the

- diagnosis of early Alzheimer's disease. *Alzheimer*. 11(1): 58–69.: DOI. 10.1016/j.jalz.2014.02.004
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, et al. . 2007. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: Revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*. 6:734–746.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Cummings JL, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, et al. 2010. Revising the definition of Alzheimer's disease: A new lexicon. *Lancet Neurol*. 9:1118–1127.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, et al. 2014. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: The IWG-2 criteria. *Lancet Neurol*. 13:614–629.
- Gomperts SN, Rentz DM, Moran E, Becker JA, Locascio JJ, Klunk WE, et al. 2008. Imaging amyloid deposition in Lewy body diseases. *Neurology*. 71:903–10.
- Hebert LE, Weuve J, Scherr PA, Evans DA. 2013. Alzheimer disease in the United States (2010–2050) estimated using the 2010 Census. *Neurology*. 80(19):1778–83.
- Honea RA, Vidoni ED, Swerdlow RH, Burns JM. 2012. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Maternal family history is associated with Alzheimer's disease biomarkers. *J Alzheimers Dis*. 31(3):659–68.
- Jiang, W. et al. 2013. Identification of active transcription factor and miRNA regulatory pathways in Alzheimer's disease. *Bioinformatics*. 29, 2596–2602, doi: 10.1093/bioinformatics/btt423
- Kamboh, et al. 2008. Alpha-1-antichymotrypsin (ACT or SERPINA3) Polymorphism May Affect Age-At-Onset and Disease Duration of Alzheimer's Disease. *Neurobiology of Aging*. 27: 1435–1439.
- Lieberman, et al. 2011. Serum α 1-Antichymotrypsin Level as a Marker for Alzheimer-Type Dementia. *Neurobiology of Aging*. 16(5): 747–753.
- Li, Y. & Kowdley, K. V. 2012. MicroRNAs in common human diseases. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 10, 246–253, doi: 10.1016/j.gpb.2012.07.005
- Lukiw, W. J., Dua, P., Pogue, A. I., Eicken, C. & Hill, J. M. 2011. Upregulation of micro RNA-146a (miRNA-146a), a marker for inflammatory neurodegeneration, in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease (sCJD) and Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS) syndrome. *J Toxicol Environ Health A*. 74, 1460–1468, doi: 10.1080/15287394.2011.618973
- Maccioni, R.B, J. P. Muñoz, and L. Barbeito. 2010. The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Archives of Medical Research*. Vol. 32 (5), pp. 367–381.
- Majer, A. et al. 2012. Early mechanisms of pathobiology are revealed by transcriptional temporal dynamics in hippocampal CA1 neurons of prion infected mice. *PLoS Pathog*. 8, e1003002, doi: 10.1371/journal.ppat.1003002
- Markesbery WR, Schmitt FA, Kryscio RJ, Davis DG, Smith CD, Wekstein DR. 2006. Neuropathologic substrate of mild cognitive impairment. *Arch Neurol*. 63, 38–46.
- Mayeux, R and Yaakov Stern. 2012. Epidemiology of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2:a006239
- McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Jr, Kawas CH, et al. 2011. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute of Aging-Alzheimer Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 7:263–269.

- Moffett JR, Ariyannur P, Arun P, Namboodiri AM. 2014. Chapter 2.1-N -Acetylaspartate and N-Acetylaspartylglutamate in Central Nervous System Health and Disease. *Magnetic Resonance Spectroscopy*.71-90.
- Moffett RJ, Ross B, Arun P, Madhavarao CN, Namboodiri AMA. 2007. N-Acetylaspartate in the CNS: From neurodiagnostics to neurobiology. *Prog Neurobiol* 81, 89-131.
- Molinuevo JL and Rami L. 2013. Applying the IWG research criteria in clinical practice: Feasibility and ethical issues. *Med Clin North Am*. 97:477–484.
- Morris JC, Roe CM, Xiong C, Fagan AM, Goate AM, Holtzman DM, et al. 2010. APOE predicts amyloid-beta but not tau Alzheimer pathology in cognitively normal aging. *Ann Neurol*. 67:122–31
- Morris JC, Blennow K, Froelich L, Nordberg A, Soininen H, Waldemar G, et al. 2014. Harmonized diagnostic criteria for Alzheimer's disease: Recommendations. *J Intern Med*. 275:204–213.
- Muller, M., Kuiperij, H. B., Claassen, J. A., Kusters, B. & Verbeek, M. 2014.M. MicroRNAs in Alzheimer's disease: differential expression in hippocampus and cell-free cerebrospinal fluid. *Neurobiol Aging*. 35, 152–158, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.07.005
- Murray ME, Przybelski SA, Lesnick TG, Liesinger AM, Anthony S, Bing Z, et al. 2014. Early Alzheimer's Disease Neuropathology Detected by Proton MR Spectroscopy. *J Neurosci*.34: 16247-16255.
- Obulesu, M., Venu, R. & Somashekhar, R. 2011. Tau mediated neurodegeneration: an insight into Alzheimer's disease pathology. *Neurochem Res*. 36, 1329–1335, doi: 10.1007/s11064-011-0475-5
- Patel T, Blyth JC, Griffiths G, Kelly D, Talcott JB. 2014. Moderate relationships between NAA and cog- Assessment of plasma NAA *Front Hum Neurosci*. 9(12):23568-23575
- Paslakis G, Träber F, Roberz J, Block W, Jessen F. 2014. N-acetyl-aspartate (NAA) as a correlate of pharmacological treatment in psychiatric disorders: A systematic review. *Eur Neuropsychopharmacol*.24: 1659-1675.
- Pike KE, Savage G, Villemagne VL, Ng S, Moss SA, Maruff P, et al. 2007. Beta-amyloid imaging and memory in non-demented individuals: evidence for preclinical Alzheimer's disease. *Brain*. 130, 2837-2844.
- Potter, Huntington, et al. 2010. The inflammation-induced pathological chaperones ACT and apo-E are necessary catalysts of Alzheimer amyloid formation. *Neurobiology of Aging*. 22 p: 923-930.
- Qiu C, von Strauss E, Backman L, Winblad B, Fratiglioni L. 2013. Twenty-year changes in dementia occurrence suggest decreasing incidence in central Stockholm, Sweden. *Neurology*. 80(20):1888–94
- Revett TJ, Baker GB, Jhamandas J, Kar S. 2013 . Glutamate system, amyloid β peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. *J Psychiatry Neurosci*. 38(1):6-23. doi: 10.1503/jpn.110190
- Saba, R., Sorensen, D. L. & Booth, S. A. 2014. MicroRNA-146a: A Dominant, Negative Regulator of the Innate Immune Response. *Front Immunol*. 5, 578, doi: 10.3389/fimmu.2014.00578
- Scacchi, et al. 2010. Plasma α 1-antichymotrypsin in Alzheimer's Disease; Relationship With APOE Genotypes. *Neurobiology of Aging*.22: 413-416.
- Schrijvers EM, Verhaaren BF, Koudstaal PJ, Hofman A, Ikram MA, Breteler MM. 2012. Is dementia incidence declining? Trends in dementia incidence since 1990 in the Rotterdam Study. *Neurology*. 78(19):1456–63.

- Shaffer JL, Petrella JR, Sheldon FC, Choudhury KR, Calhoun VD, Coleman RE, et al. 2013. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Predicting Cognitive Decline in Subjects at Risk for Alzheimer Disease by Using Combined Cerebrospinal Fluid, MR Imaging, and PET Biomarkers. *Radiology*. Feb;266(2):583-91. doi: 10.1148/radiol.12120010.
- Sofie Solvten S, Ann-Britt Nygaard and Thomas Christeen. 2016. miRNA expression profiles in cerebrospinal fluid and blood of patients with Alzheimer's disease and other types of dementia-an exploratory study. *Translational Neurodegeneration*. 5:6. Doi 10.1186/s40035-016-0053-5
- Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. 2012. "A meta-analysis of cytokines in Alzheimer disease". *Biol Psychiat* 68 (10): 930-941.
- Strimbu, K and Jorge, A. T. 2010. What are Biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 5(6): 463-466.
- Tang K. . 2009. Platelet amyloid precursor protein processing: a bio-marker for Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci*. 240:53–58.
- Tanna, S. 2015. A Public Health Approach to Innovation. WHO.
- Wang, G. et al. 2016. MicroRNA-146a suppresses ROCK1 allowing hyperphosphorylation of tau in Alzheimer's disease. *Nature*. Vol 6: 1-12
- Weuve J, Hebert LE, Scherr PA, Evans DA. 2015. Prevalence of Alzheimer disease in U.S. states. *Epidemiology*. 26(1):e4-e6.
- Wimo A, Jonsson L, Bond J, Prince M, Winblad B. 2010. Alzheimer Disease International The worldwide economic impact of dementia. *Alzheimers Dement*. 9:1–11.
- Wimo A, Reed CC, Dodel R, Belger M, Jones RW, Happich M, et al. 2013. The GERAS study: A prospective observational study of costs and resource use in community dwellers with Alzheimer's disease in three European countries – study design and baseline findings. *J Alzheimers Dis*. 36:385–399.
- Wootla B, Denic A, Watzlawik JO, Warrington AE, Rodriguez M. 2015. A single dose of a neuronbinding human monoclonal antibody improves brainstem NAA concentrations, a biomarker for density of spinal cord axons, in a model of progressive multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*. 12: 1-6.
- World Health Organization. 2012. *Dementia: a public health priority*. Geneva: World Health Organization.
- Yaffe K, Falvey C, Harris TB, Newman A, Satterfield S, Koster A, et al. 2013. Effect of socioeconomic disparities on incidence of dementia among biracial older adults: Prospective study. *BMJ*. 347:f7051.
- Yamada K, et al. 2009. Aβ immunotherapy: intracerebral sequestration of Aβ by an anti-Aβ monoclonal antibody 266 with high affinity to soluble Aβ. *J. eurosci*. 29:11393–11398.