

Praktické zkušenosti s laboratorní diagnostikou Alzheimerovy nemoci pomocí tau proteinu, fosfo-tau proteinu a beta amyloidu v likvoru

MUDr. Martina Koudelková

Laboratoř pro likvorologii a neuroimunologii – Topelex s.r.o.,
expertní pracoviště SEKK, Ústřední vojenská nemocnice, Praha

Cílem článku je seznámit neurology, psychiatry, geriatry a další specialisty s možnostmi a praktickými zkušenostmi s laboratorním stanovením tau proteinu, fosfo-tau proteinu a beta-amyloidu v mozkomíšním moku především u Alzheimerovy nemoci.

Je podána stručná souhrnná informace o podstatě biomarkerů tzv. likvorového tripletu a dále je podrobněji vysvětlen princip a metodika vyšetření likvoru, včetně zhodnocení vlastní skupiny pacientů a jsou zdůrazněny požadavky na správnou techniku odběru vzorku.

Při současném vyhodnocení tripletu u Alzheimerovy nemoci se zvýší senzitivita na 85–94% a specifita na 83–100%. Proto velký profit vyšetření AD biomarkerů je možno očekávat pro pacienty s minimálním kognitivním deficitem, kteří jsou ve vyšším riziku rozvoje Alzheimerovy nemoci.

Klíčová slova: Alzheimerova nemoc, tau protein, fosfo-tau protein, beta-amyloid, mozkomíšní mok.

Practical experience with laboratory diagnosis of Alzheimer's disease using tau protein, phospho-tau protein, and beta amyloid in cerebrospinal fluid

The aim of the paper is to acquaint neurologists, psychiatrists, geriatricians, and other specialists with the options of and practical experience with the laboratory assessment of tau protein, phospho-tau protein, and beta-amyloid in the cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease in particular.

The rationale for the use of the three cerebrospinal fluid biomarkers is briefly summarized, the principle and the methodology of the cerebrospinal fluid test are explained in detail, including an evaluation of an own group of patients, and requirements for a proper sample collection technique are emphasized.

When evaluating the three cerebrospinal fluid AD biomarkers in Alzheimer's disease, the sensitivity and specificity increase to 85–94% and 83–100%, respectively. Thus, patients with minimal cognitive deficit who are at a higher risk of developing Alzheimer's disease can be expected to benefit greatly from an evaluation of AD biomarkers.

Key words: Alzheimer's disease, tau protein, phospho-tau protein, beta-amyloid, cerebrospinal fluid.

Neurol. pro praxi 2009; 10(5): 290–293

Seznam zkratk

AD – z anglického Alzheimer's Disease – tj. Alzheimerova nemoc.

Úvod

Mozkomíšní mok jako tekutina v těsném kontaktu s centrálním nervovým systémem odráží metabolické změny mozku. Zjištění biochemické podstaty typických histopatologických znaků Alzheimerovy nemoci (Koukolík a Jiráček, 2004) logicky vyústilo v detekci příslušných bílkovin v mozkomíšním moku u pacientů.

Patogeneze Alzheimerovy nemoci (Koukolík a Jiráček 2004)

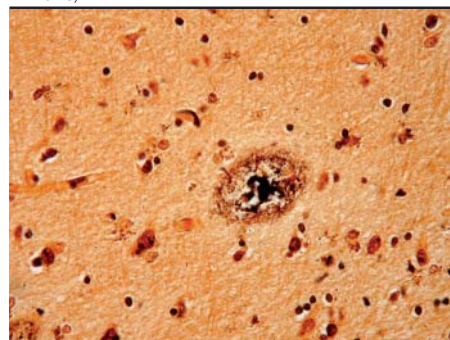
1. Neuritické plaky (obrázek 1) – amyloidová kaskáda

Za fyziologických podmínek je amyloidový prekurzorový protein (APP) štěpen α -sekretázou. Produktem je protein označovaný

jako sAPP α , který je solubilní a má neuroprotektivní charakter.

Za patologických podmínek je amyloidový prekurzorový protein štěpen β -sekretázou (β -amyloid štěpícím enzymem) a v následujícím kroku γ -sekretázou. Produktem štěpení je

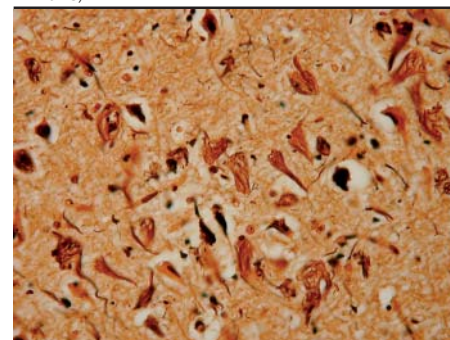
Obrázek 1. Alzheimerovská plaka (obrázek poskytl MUDr. František Koukolík, DrSc., primář patologického oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze)



β -amyloid₄₀ a β -amyloid₄₂ (A β 42), který přestává být solubilní a po agregaci tvoří jádro neuritických plak. Následuje kaskáda dalších procesů, např. oxidativní stres, excitotoxické jevy a zánětlivá odpověď. Výsledkem je zánik neuronů a demence.

2. Neurofibrilární klubka (obrázek 2)

Obrázek 2. Neurofibrilární klubka (obrázek poskytl MUDr. František Koukolík, DrSc., primář patologického oddělení Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze)



Za fyziologických podmínek tau protein spojuje mikrotubuly v axonech. Podporuje polymeraci a podílí se na uspořádání a stabilitě mikrotubulů. Tau proteiny mají též důležitou funkci v axonálním transportu.

Za patologických podmínek je tau protein nadměrně fosforylován prostřednictvím kinázy 3-glykogensyntázy, tau-protein agreguje (ztráta stability, porušení transportu v axonu, rozpad cytoskeletu) a vytváří neurofibrilární klubka. Výsledkem je zánik neuronů a demence.

V mozkomíšním moku můžeme ve vztahu k Alzheimerově nemoci prokazovat následující biomarkery – označované též jako likvorový triplet:

1. fosfo-tau protein (P-tau) podílející se na vzniku neurofibrilárních klubek
2. β -amyloid ($A\beta$ 42) podílející se na vzniku neuritických plak
3. celkový tau protein (H-tau) podílející se na výstavbě cytoskeletu, tj. jedná se o specifický destrukční marker, není však specifický pouze pro Alzheimerovu nemoc.

The National Institute of Neurologic, Communicative Disorders and Stroke – Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) doporučil při podezření na AD celkové vyšetření mozkomíšního moku k vyloučení jiného onemocnění, např. demence způsobené zánětlivou chorobou, vaskulitidou nebo demyelinizací (Mc Khann et al., 1984).

Od publikování tohoto doporučení proběhla řada výzkumů ohledně specifických AD-biomarkerů, které odrážejí hlavní patogenetický proces od agregace beta-amyloidu a hyperfos-

forylace tau proteinu (Vandermeeren et al., 1993; Mottem et al., 1995; Hu et al., 2002).

Podle poslední revize NINCDS-ADRDA kritérií z roku 2007 proto došlo k zařazení specifických AD-biomarkerů mezi podpurná diagnostická kritéria pro Alzheimerovu nemoc: nízká koncentrace beta-amyloidu, zvýšená koncentrace celkového tau proteinu nebo zvýšená koncentrace fosfo-tau proteinu, nebo kombinace všech tří markerů (Dubois et al., 2007).

Na základě metaanalytického zhodnocení většiny studií (11 studií s 800 pacienty a 370 kontrolami), P-tau protein měl senzitivitu 80% a specificitu 92% (Blennow et al., 2003). Při současném vyhodnocení koncentrací $A\beta$ 42 proteinu, P-tau a H-tau proteinu u Alzheimerovy nemoci vzhledem ke kontrolám, se zvýšila senzitivita na 85–94% a specificita na 83–100% (Dubois et al., 2007).

Vlastní praktické zkušenosti a výsledky

Použité normy vyšetřovaných proteinů jsou uvedeny v tabulce 1. V literatuře není plná shoda v obecně platných normách pro jednotlivá vyšetření. Výsledky v různých pracích se liší. Pro náš soubor jsem použila norem doporučených výrobcem, zahraničními autory i některými českými autory (Sjögren et al., 2001; Glosová et al., 2004). Lze též využít normy upravené pro Českou republiku (Hort et al., 2007).

Užitá metodika laboratorního stanovení: INNOTEST hTau Ag protilátky AT120, HT7 a BT2, INNOTEST PHOSTHO-Tau_{181P} Ag protilátky HT7, AT270bio a INNOTEST β -AMYLOID_{(1–42)}} protilátky

21F12,3D6 firmy INNOGENETICS (ELISA). Důležitá je již preanalytická fáze, která může výrazným způsobem ovlivnit výsledek vyšetření. Je definována jako postupy a operace od požadování analýzy po zahájení analyzování vzorku, tj. skládá se z přípravy nemocného na odběr, odběru biologického materiálu, jeho uchování a transportu do laboratoře (Zima et al., 2002). Do této fáze se zahrnuje také co nejpřesnější vyplnění žádanky s vypsáním epikrízy. Čím více informací na žádance bude napsáno, tím přesněji můžeme vyhodnotit naše laboratorní výsledky a napomoci klinickým lékařům ke zodpovězení jejich klinické otázky (pokud ji uvedou do své epikrízy). Preanalytická fáze zahrnuje netraumatický odběr 2 ml mozkomíšního moku do polypropylenové zkumavky. $A\beta$ 42 není solubilní (viz výše) a pokud není odebrán do správné zkumavky, dojde k jeho vychytání na stěny a k falešně pozitivnímu výsledku. Dále následuje co nejrychlejší transport likvoru do příslušné laboratoře (do dvou dnů od odběru moku, likvor při transportu vždy chladit). Bohužel tato fáze bývá velmi podceňovaná. Pokud to není možné, likvor by měl být zamražen a v tomto stavu následně dopraven do laboratoře.

Vlastní zkušenosti vychází z rutinního zavedení vyšetřování AD-biomarkerů do laboratorní

Tabulka 1. Normy vyšetřovaných proteinů (Sjögren, et al., 2001; Glosová, et al., 2004)

H-tau	21–50 let	< 300 pg/ml
	51–70 let	< 450 pg/ml
	71–93 let	< 500 pg/ml
P-tau		< 60 pg/ml
β - amyloid		> 500 pg/ml

Tabulka 2. Přehled výsledků v závislosti na uvedené diagnóze

	\uparrow H-tau+ \uparrow P-tau+ \downarrow $A\beta$ 42	\uparrow H-tau+ \uparrow P-tau	\uparrow H-tau+ \downarrow $A\beta$ 42	\uparrow Ptau+ \downarrow $A\beta$ 42	\downarrow $A\beta$	\uparrow P-tau	\uparrow H-tau	Norm. nález
Alzheimerova nemoc	9	7	1	1	4	1	0	6
Neurčená demence	0	2	0	0	1	0	0	1
Neurodegenerativní onemocnění	0	0	0	0	1	2	0	4
Vaskulární demence	1	0	0	0	0	0	0	0
Obtížná chůze	0	0	0	0	0	0	0	1
Mozková mrtvice	0	0	0	0	0	0	1	0
Vnitřní a zevní hydrocefalus, progredující demence	0	0	0	0	0	0	0	1
Duševní porucha	0	0	0	0	0	0	0	1
Jiná porucha nervové soustavy	0	0	0	0	0	1	0	0
Virová neuroinfekce	1	1	0	0	0	1	0	7
Nádorová infiltrace mening	0	0	1	0	0	0	2	3
Bakteriální neuroinfekce	0	0	0	0	1	0	1	1
Roztroušená skleróza	0	0	0	0	1	0	0	7
Pravděpodobná sporadická forma Creutzfeldtovy-Jakobovy nemoci	0	1	0	0	0	0	0	0

praxe v Centrálních laboratořích Nemocnice České Budějovice a.s.

Celkově bylo vyšetřeno 74 vzorků (tabulka 2) s požadovaným vyšetřením H-tau proteinu, P-tau proteinu a A β 42. Z toho 29 vzorků mělo na žádance uvedenou **diagnózu Alzheimerovy nemoci nebo podezření na ní**. Devět pacientů mělo pozitivní výsledky všech 3 testů, devět pacientů mělo pozitivní 2 markery (z toho sedm zvýšenou koncentraci H-tau proteinu a P-tau proteinu, jeden zvýšenou koncentraci P-tau proteinu a sníženou koncentraci A β 42 a jeden zvýšenou koncentraci H-tau proteinu a sníženou koncentraci A β 42). Pět pacientů mělo pozitivní jeden specifický marker, z toho čtyři snížený A β 42 a jeden zvýšený P-tau protein. Šest pacientů mělo nálezy v normě.

S diagnózou neurčená demence byli vyšetřeni čtyři pacienti. Z toho dva pacienti měli zvýšenou koncentraci H-tau proteinu a P-tau proteinu, jeden sníženou koncentraci A β 42. Jeden pacient měl normální nálezy.

S podezřením na neurodegenerativní onemocnění bylo vyšetřeno sedm pacientů, jeden pacient měl sníženou koncentraci A β 42, dva pacienti měli zvýšenou koncentraci P-tau proteinu a čtyři pacienti měli normální nálezy.

S diagnózou vaskulární demence byl vyšetřen jeden pacient, který měl pozitivní hodnoty všech 3 markerů.

S diagnózou obtížná chůze, nezařazená jinde, byl vyšetřen jeden pacient s negativním nálezem.

S diagnózou mozková mrtvice neurčená jako krvácení nebo infarkt byl vyšetřen jeden pacient, který měl zvýšenou koncentraci pouze H-tau proteinu.

S diagnózou porucha mozku, pozn. progredující demence, vnitřní a zevní hydrocefalus byl vyšetřen jeden pacient s normálním nálezem.

S diagnózou duševní poruchy, jinak neurčené byl vyšetřen jeden pacient s negativním nálezem.

S diagnózou jiné poruchy nervové soustavy nezařazené jinde byl vyšetřen jeden pacient se zvýšenou koncentrací P-tau proteinu.

S diagnózou virová neuroinfekce bylo vyšetřeno 10 pacientů, jeden pacient měl pozitivní všechny 3 markery, jeden pacient měl pozitivní 2 markery, a to zvýšenou koncentraci H-tau proteinu a zvýšenou koncentraci P-tau proteinu a jeden pacient měl zvýšenou koncentraci pouze P-tau proteinu. Další sedm pacientů mělo normální nálezy.

S diagnózou nádorová infiltrace mening bylo vyšetřeno šest pacientů, jeden pacient měl

zvýšenou koncentraci H-tau proteinu a sníženou koncentraci A β 42, dva pacienti měli zvýšenou koncentraci H-tau proteinu a tři měli nálezy v normě.

S diagnózou bakteriální neuroinfekce byli vyšetřeni 3 pacienti, jeden pacient měl sníženou koncentraci A β 42, jeden zvýšenou koncentraci H-tau proteinu a jeden pacient měl normální nálezy.

S diagnózou roztroušené sklerózy bylo vyšetřeno 8 pacientů, jeden pacient měl sníženou koncentraci A β 42, ostatních 7 mělo normální nálezy.

Jeden pacient byl vyšetřen **s diagnózou pravděpodobná sporadická forma Creutzfeldtovy-Jakobovy nemoci**, kde první mok měl normální nálezy všech 3 biomarkerů. V dalším vzorku likvoru odebraném s třítydenním odstupem byla velmi zvýšená koncentrace P-tau proteinu a i velmi zvýšená koncentrace A β 42.

Diskuze

Podle poslední revize NINCDS-ADRDA kritérií z roku 2007 došlo k zařazení specifických AD-biomarkerů mezi podpůrná diagnostická kritéria pro Alzheimerovu nemoc v tomto znění: nízká koncentrace beta-amyloidu, zvýšená koncentrace H-tau proteinu nebo zvýšená koncentrace fosfo-tau proteinu, nebo kombinace všech tří markerů (Dubois et al., 2007).

Z vyšetřované skupiny, ze 41 pacientů s uvedenou **diagnózou Alzheimerovy nemoci, neurčené demence, neurodegenerativní onemocnění, vaskulární demencí a jinou poruchou nervové soustavy** přesvědčivě splňuje 3 nebo 2 parametry NINCDS-ADRDA kritérií 21 pacientů. U 6 pacientů je pouze snížena koncentrace A β 42. Zde je třeba vzít v úvahu nemoc s Lewyho tělísky, frontotemporální demenci či vaskulární demenci (Blennow et al., 2003). Tento nedostatek specifity není plně vysvětlený, ale může souviset s nedostatkem histopatologického ověření nebo přítomnosti komorbid Alzheimerovy nemoci (Dubois et al., 2007). Dále u 4 pacientů byla nalezena zvýšená koncentrace P-tau proteinu, konkrétně P-tau 181, který je vysoce specifický pro Alzheimerovu nemoc (Wiltfang et al., 2005). Zajímavé je, že u diagnózy vaskulární demence byly pozitivní všechny tři biomarkery, ačkoli při této diagnóze by měla být hladina především P-tau proteinu a A β 42 bez nálezu (Paraskevas et al., 2009; De Jong et al., 2007).

U jednoho pacienta **s diagnózou mozková mrtvice, dvou pacientů s nádorovou infiltrací mening a jednoho pacienta s bakteriální neuroinfekcí** byla izolovaně zvýšena koncentrace H-tau proteinu. H-tau protein bývá mírně zvýšen u demence s Lewyho tělísky a fronto-

temporální lobární degenerace. Velmi zvýšen bývá tau-protein u Creutzfeldtovy-Jakobovy choroby (Blennow et al., 2003; Andreasen et al., 2005) i úrazu hlavy či při iktu. Celkový tau protein v CSF tak pravděpodobně odráží míru neuronálního poškození a degenerace obecně (Bartoš a Řípková, 2007).

Samostatnou kapitolu tvoří vyšetření 10 vzorků mozkomíšního moku **s diagnózou virová neuroinfekce**, kde došlo k záchytu výrazné positivity všech tří markerů u jednoho pacienta, u druhého pacienta byly pozitivní 2 markery (zvýšené koncentrace H-tau proteinu a P-tau proteinu), u třetího pacienta byla zjištěna pouze zvýšená koncentrace P-tau proteinu. U ostatních sedmi pacientů byly koncentrace sledovaných parametrů v CSF na normální úrovni.

V NINCDS-ADRDA postupech je při podezření na AD zcela správně doporučováno komplexní vyšetření mozkomíšního moku k vyloučení jiného onemocnění, např. demence způsobené zánětlivou chorobou, vaskulitidou nebo demyelinizací. Vždyť popsané nálezy (jeden pacient s diagnózou nádorová infiltrace mening a tři pacienti s diagnózou virová neuroinfekce) ukazují na možnost souběhu více onemocnění.

U jednoho pacienta **s roztroušenou sklerózou** a dalšího **s bakteriální neuroinfekcí** bylo nalezena pouze snížená koncentrace A β 42. U těchto dvou pacientů došlo k chybě již v preanalytické fázi. Mozkomíšní moky nebyly odebrány do polypropylenové zkumavky. Uvedená snížení koncentrací můžeme v těchto případech přičíst na vrub špatných odběrů materiálu (viz výše).

U posledního popisovaného vzorku byla stanovena **diagnóza pravděpodobné sporadické formy Creutzfeldtovy-Jakobovy nemoci**. Biomarkery byly vyšetřeny dvakrát, poprvé dosahovaly normální úrovně, při druhém vyšetření byl pozorován nárůst koncentrací celkového tau proteinu, ale především fosfo-tau proteinu a zvýšení beta-amyloidu v mozkomíšním moku. Hladiny H-tau proteinu v mozkomíšním moku byly zvýšeny, ale nedosahovaly očekávaných vysokých hladin (Blennow et al., 2003; Andreasen et al., 2005). Dále byla překvapivě velmi zvýšena koncentrace P-tau proteinu. U pacientky nebyly pitvou nalezeny jednoznačné změny kompatibilní s diagnózou prionového onemocnění. Byla pouze zjištěna nejasná taupatie fronto-temporálního typu (WHO, Edinburgh).

Význam laboratorní diagnostiky Alzheimerovy demence

Vyšetření AD biomarkerů patří do oblasti speciální likvorologie. V rámci případně širší di-

ferenciální diagnostiky je velmi přínosné mozkomíšní mok před vyšetřením AD biomarkerů podrobit i základnímu vyšetření (1. určení permeability hemato-likvorové bariéry především výpočtem albuminového kvocientu, 2. stanovení koncentrací glukózy a laktátu v likvoru a v krvi a vypočtení koeficientu energetické bilance, 3. stanovení buněčnosti a zhodnocení cytologického obrazu likvoru) a rozšířenému základnímu vyšetření (vyšetření imunoglobulinů s výpočtem intratekální syntézy imunoglobulinů, vyšetření zánětlivých a destrukčních parametrů, vyšetření komplementu) k odhalení jiných příčin demence (viz neuroinfekce, maligní infiltrace mening atd.) (Kelbich et al., 2007). Samozřejmě je pouze na klinickém lékaři, zda se pro toto vyšetření rozhodne.

Případné zavedení vyšetřování celkového tau proteinu, fosfo-tau proteinu a beta amyloidu v mozkomíšním moku do běžné laboratorní praxe jistě přinese nález neočekávaných záchytů pozitivit (viz souběh více onemocnění) jak u seniorů, tak i u pacientů středního věku.

Velký profit vyšetření AD biomarkerů je možno očekávat pro pacienty s minimálním kognitivním deficitem, který je definován jako přechodná fáze mezi kognitivními změnami normálního stárnutí a časnou demencí. Osoby s minimálním kognitivním deficitem jsou ve vyšším riziku rozvoje Alzheimerovy nemoci.

Několik nedávných studií se konkrétně zabývalo hodnotami biomarkerů v mozkomíšním moku při identifikaci minimálního kognitivního deficitu. Kombinace abnormálních markerů (nízká koncentrace A β 42, vysoká koncentrace celkového tau proteinu, vysoká koncentrace P-tau proteinu 181) zvyšuje riziko vzniku Alzheimerovy nemoci na 17–20ti násobek v následujících 4–6 letech (Hansson et al., 2006). Senzitivita a specifita v této studii byla více než 90% a 85%, respektive byla ve shodě s podobnou, mnohem kratší studií (1 rok), která po ní následovala (Parnetti et al., 2006).

Tato vysoká diagnostická užitečnost vyšetření biomarkerů v mozkomíšním moku u minimálního kognitivního deficitu je důvodem k zařazení popsanych vyšetření mozkomíšního moku mezi diagnostická kritéria (Dubois et al., 2007).

Ačkoli se naše pracoviště zabývá kompletní likvorovou diagnostikou, včetně speciální (stanovení IEF IgG, FLC, IgA a IgM, paraneoplastických protilátek, cytokinů atd.), t. č. nemá vyšetřování předmětných parametrů ve svém repertoáru, a to především proto, že v České republice není vyšetření H-tau proteinu, P-tau proteinu a A β 42 zařazeno v seznamu zdravotních výkonů hrazených zdravotními pojišťovnami.

Závěr

Syndrom demence představuje závažnou pandemii přelomu tisíciletí s kombinací zdravotních, sociálních a ekonomických aspektů.

Cílem článku bylo širší klinické veřejnosti poskytnout ve stručnosti jednak obecné, ale i praktické informace a vlastní zkušenosti s laboratorním stanovením u nás doposud ne plně doceněných biomarkerů Alzheimerovy nemoci.

Vyšetření tzv. likvorového tripletu nám může významně pomoci vložit další důležitý střípek do složité diagnostiky Alzheimerovy nemoci a tím i zahájit časnou léčbu ještě před plnou manifestací klinických příznaků.

Literatura

1. Andreasen M, Blennow K. CSF biomarkers for mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg* 2005; 107(3): 165–173.
2. Bartoš A, Řípková D. Pokroky v diagnostice Alzheimerovy nemoci. *Psychiatr pro praxi* 2007; 1: 17–21.
3. Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003; 2(10): 605–613.
4. de Jong D, Jansen RW, Kremer BP, Verbeek MM. Cerebrospinal fluid amyloid beta42/phosphorylated tau ratio discriminates between Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2007; 62(8): 923–924.
5. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Dekosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, Meguro K, O'Brien J, Pasquier F, Robert P, Rossor M, Salloway S, Stern Y, Visser PJ, Scheltens P. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ARDA criteria. *Lancet Neurol* 2007; 6(8): 734–746.
6. Glosová L, Hort J, Bojar M, Škoda D. Vyšetřování celkového tau proteinu, fosfo-tau proteinu a beta-amyloidu v mozkomíšním moku – naše první zkušenosti. *Klin. Biochem. Metab.* 2004; 12(33), No 2: 113–116.
7. Hansson O, Zetterberg H, Buchhave P, Londos E, Blennow K, Minthon L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. *Lancet Neurol* 2006; 5(3): 228–234.
8. Hort J, Glosová L, Vyhňálek M, Bojar M, Škoda D, Hladíková

M. Tau protein a beta amyloid v likvoru u Alzheimerovy choroby. *Česk Slov Neurol* No 2007; 70/103(1): 30–36.

9. Hu YY, He SS, Wang XC, Duan QH, Khatoon S, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Wang JZ. Elevated levels of phosphorylated neurofilament proteins in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett* 2002; 320(3): 156–160.

10. Kelbich P, Koudelková M, Machová H, Tomašovič M, Vachata P, Kotalíková P, Chmelíková V, Hanuljaková E. Význam urgentního vyšetření pro včasnou diagnostiku neuroinfekcí. *Klin Mikrobiol inf lék* 2007; 13(1): 9–20.

11. Koukolík F, Jiráček R. Demence, Galén, 2004: 107–139.

12. Mc Khann G, Drachman DA, Folstein M, Katzman R, Price DL, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ARDA work group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's disease. *Neurology* 1984; 34: 939–944.

13. Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, Chang L, Miller B, Clark C, Green R. Reduction of beta-amyloid peptide42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1995; 38: 643–648.

14. Parnetti L, Lanari A, Silvestrelli G, Saggese E, Reboldi P. Diagnosing prodromal Alzheimer's disease: role of CSF biochemical markers. *Mech Ageing Dev* 2006; 127(2): 129–132.

15. Paraskevas GP, Kapaki E, Papageorgiou SG, Kalfakis N, Andreadou E, Zalonis I, Vassilopoulos D. CSF biomarker profile and diagnostic value in vascular dementia. *Eur J Neurol* 2009; 16(2): 205–211.

16. Sjögren M, Davidsson P, Tullberg M, Minthon L, Wallin A, Wikkelso C, Granérus AK, Vanderstichele H, Vanmechelen E, Blennow K. Both total and phosphorylated tau are increased in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; 70(5): 624–630.

17. Vandermeeren M, Mercken M, Vanmechelen E, Six J, van de Voorde A, Martin JJ, Cras P. Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J Neurochem* 1993; 61(5): 1828–1834.

18. Wiltfang J, Lewczuk P, Riederer P, Grünblatt E, Hock C, Scheltens P, Hampel H, Vanderstichele H, Iqbal K, Galasko D, Lannfelt L, Otto M, Esselmann H, Henkel AW, Kornhuber J, Blennow K. Consensus paper of the WFSBP Task Force on Biological Markers of Dementia: the role of CSF and blood analysis in the early and differential diagnosis of dementia. *World J Biol Psychiatry* 2005; 6(2): 69–84.

19. Zima T. Laboratorní diagnostika, Galén, 2002: 2–3.

MUDr. Martina Koudelková

Laboratoř pro likvorologii
a neuroimunologii
U Vojenské nemocnice 1 200,
162 00 Praha 6
martina.koudelkova@volny.cz

