

Diagnostika Alzheimerovy nemoci a ostatních neurodegenerativních onemocnění pomocí biomarkerů z mozkomíšního moku a krve

doc. MUDr. Martin Vyhnálek, Ph.D., RNDr. Kateřina Veverová, Ph.D.

Kognitivní centrum, Neurologická klinika 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Biologické markery v mozkomíšním moku jsou již ověřenou součástí diagnostického procesu Alzheimerovy nemoci (AN). Rozvoj ultrasenzitivních technologií v nedávné době umožnil vývoj krevních biomarkerů, které mají sloužit k identifikaci jedinců v preklinických i klinických stádiích, náboru do klinických studií, stanovení prognózy onemocnění a v budoucnosti jako nástroj populačního screeningu AN. Vedle standardních biomarkerů AN, amyloidové a tau patologie, jsou v ohnisku zájmu biomarkery nespecifických procesů doprovázející neurodegenerativní onemocnění jako hodnocení stupně neurodegenerace, synaptické dysfunkce nebo zánětu. Článek shrnuje poznatky o standardních i experimentálních biomarkerech neurodegenerativních onemocnění a preanalytické faktory, které ovlivňují jejich stanovení.

Klíčová slova: biomarkery, mozkomíšní mok, krevní biomarkery, Alzheimerova nemoc, frontotemporální lobární degenerace.

Diagnosis of Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases using cerebrospinal fluid and blood-based biomarkers

Cerebrospinal fluid biomarkers have become a standard part of diagnostic process in Alzheimer's disease (AD). The recent development of ultrasensitive technologies has enabled the development of blood-based biomarkers to be used for identifying individuals in the preclinical and clinical stages of the disease, recruitment for clinical trials, disease prognosis, and, in the future, as an AD population screening tool. In addition to the standard biomarkers of AD, amyloid, and tau pathology, biomarkers of non-specific processes accompanying neurodegenerative diseases, such as the degree of neurodegeneration, synaptic dysfunction, or inflammation, are of interest. This article summarizes the knowledge on standard and experimental biomarkers of neurodegenerative diseases and the preanalytical factors influencing their assessment.

Key words: biomarkers, cerebrospinal fluid, blood-based biomarkers, Alzheimer's disease, frontotemporal lobar degeneration.

Úvod

V souvislosti s rozvojem nových léků specificky zasahujících do patofyziologických změn při Alzheimerově nemoci (AN) stoupá význam její časné diagnostiky a odlišení od ostatních neurodegenerativních onemocnění. Je prokázáno, že neuropatologické změny AN předchází klinicky detekovatelný deficit kog-

nitivních funkcí o cca 15–20 let a amyloidová patologie je detekovatelná u cca 1/4 kognitivně zdravých sedmdesátníků a 1/3 kognitivně zdravých 80letých dobrovolníků (Jansen et al., 2015). Biomarkery měřitelné v mozkomíšním moku dokážou s vysokou senzitivitou a specifitou potvrdit alzheimerovskou patologii. Jejich použití však limituje invazivita lumbální

DECLARATIONS:

Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18th WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

Conflict of interest:

Not applicable.

Consent for publication:

Not applicable.

Authors' contributions:

MV – writing – original draft, review and editing, conceptualization; KV – writing – original draft, review and editing

Cit. zkr: *Neurol. praxi.* 2024;25(2):90-95

<https://doi.org/10.36290/neu.2023.065>

Článek přijat redakcí: 30. 6. 2023

Článek přijat k publikaci: 29. 9. 2023

doc. MUDr. Martin Vyhnálek, Ph.D.

martin.vyhnalek@fnmotol.cz

punkce. V popředí zájmu je snaha stanovovat markery neurodegenerace z krve a nalezení a validizace markerů ostatních neurodegenerativních onemocnění. Kromě markerů specifických pro daný neuropatologický proces jsou ve výzkumu i klinické praxi měřeny látky kvantifikující neurodegeneraci, zánět, poruchu metabolických drah či mitochondriální dysfunkci (Delaby et al., 2023).

Následující text shrnuje praktické poznatky o aktuálně dostupných a o nových biomarkerech, které se používají ve výzkumu, a je předpoklad jejich uvedení do klinické praxe.

Krevní biomarkery a nové metody měření

Výzkum biomarkerů se dlouho zaměřoval na analýzu z mozkomíšního moku, důvodem je anatomická a funkční souvislost s procesy odehrávajícími se v mozkové tkáni a s tím spojená vyšší koncentrace specifických proteinů v porovnání s krví (Delaby et al., 2023). Dosavadní výzkum potvrdil výraznou klinickou užitečností markerů amyloidové a tau patologie. Širokému rozšíření a eventuálnímu nasazení v rámci populačního screeningu brání invazivita lumbální punkce. To vedlo ke snaze o validizaci markerů neurodegenerace v krvi (Delaby et al., 2023).

I když se proteiny z mozkomíšního moku dostávají do krevního oběhu, stanovení a interpretace jejich hladin je mnohdy obtížná. Důvodem je nízká koncentrace způsobená naředěním proteinu či jeho rychlou degradací krevními enzymy, vazba analytů na proteiny plazmy znemožňující přesné měření standardními metodami ELISA, a také interakce analytických metod se sérovými protilátkami. Část proteinů jako například amyloid prekurzorový protein jsou navíc syntetizovány i mimo centrální nervový systém, což dále komplikuje interpretaci (Toombs et Zetterberg, 2020). Průlom ve validizaci krevních biomarkerů přineslo zavedení ultrasenzitivních metod umožňujících detekci analytů na úrovni několika málo molekul, jako například metoda Simoa (z angl. single molecule array) či imunoprecipitace a hmotnostní spektrometrie (Toombs et Zetterberg, 2020). Rozšíření těchto metod omezuje jejich přístrojová náročnost, vysoká pořizovací cena a potřeba adaptace stávajících laboratorních postupů.

Biomarkery specifické pro Alzheimerovu nemoc

Na neuropatologické úrovni je AN definována hromaděním beta amyloidu 42 (**Aβ42**) s tvorbou beta amyloidových plaků, následovaných po několika letech intracelulární akumulací hyperfosforylovaného tau proteinu (**p-tau**). Tyto změny postupně vedoucí k odumírání neuronů a následné mozkové atrofii manifestující se kognitivním deficitem začínají již mnoho let před klinickou manifestací. K potvrzení AN je vyžadováno ověření amyloidové i tau patologie za pomoci biomarkerů z mozkomíšního moku (alternativně pozitronovou emisní tomografií; PET) (Jack et al., 2018). V pokročilé fázi výzkumu je množství biomarkerů z krve, které však čeka-

jí na definitivní ověření klinické užitečnosti. Kromě markerů specifických pro AN patologii byly navrženy markery reflektující neurodegeneraci a další neuropatologické děje, které jsou přítomny u AN. Tyto markery nejsou specifické pro AN a slouží k upřesnění stadia onemocnění. Předpokládá se též jejich použití v monitoraci efektu nových léků (Delaby et al., 2023). V současnosti používané biomarkery a biomarkery v pokročilé fázi výzkumu jsou shrnuté v tabulce 1.

Markery amyloidové patologie

Přítomnost Aβ plaků je nutnou podmínkou neuropatologické diagnózy AN. Tyto změny se odráží i v tělních tekutinách. Z důvodu agregace v mozkové tkáni je u pacientů s AN

Tab. 1. Vybrané biomarkery používané v diagnostice Alzheimerovy choroby a ostatních neurodegenerací v krvi a mozkomíšním moku

Biomarker	Interpretace
Aβ42 v MM	Základní marker AN patologie, snížen o 50 % u pacientů s AN, a to již v preklinickém stadiu. Změny Aβ42 předchází změny tau i p-tau.
Aβ40 v MM	Používá se výhradně v poměru s Aβ42, kdy zpřesňuje jeho diagnostickou užitečnost.
t-tau v MM	Základní marker neurodegenerace, u AN zvýšený již v časných klinických stadiích. Není zcela specifický pro AN. Výrazné zvýšení u prionových onemocnění.
p-tau181 v MM	Specifický marker neurodegenerace při AN, zvýšený již v časných klinických stadiích, specifický pro AN.
p-tau181, p-tau231 a p-tau217 v P/S	Specifické markery neurodegenerace při AN měřitelné v krvi. Nízké hladiny v P/S vyžadují použití ultrasenzitivních metod. Na ověření užitečnosti v rutinní klinické diagnostice a populačním screeningu se čeká.
Neurogranin v MM	Marker synaptické dysfunkce, navzdory ubikviternímu výskytu na synapsích je specificky zvýšen u AN, a nikoli u ostatních neurodegenerativních onemocnění. Koreluje s kognitivní dysfunkcí i standardními biomarkery AN.
NfL v MM i P/S	Nespecifický marker neuronálního poškození, zvýšen u AN, ostatních neurodegenerativních onemocnění i ostatních afekcí centrálního i periferního nervového systému. U AN predikuje rychlost progresu. Doporučený pro diferenciální diagnostiku organicky vs. funkčně podmíněných poruch v mladším věku. Ve stáří často zvýšen i u zdravých osob.
Protein 14-3-3	Marker rychlého zániku neuronů používaný v diagnostice Creutzfeldt-Jakobovy nemoci, u které je zvýšen. Není však zcela specifický – pozitivní i u cévní mozkové příhody, vaskulitidy či jiných procesů spojených s rychlým zánikem neuronů.
Patologický prionový protein měřený metodou RT-QuIC	Vysoce specifická metoda k diagnostice sporadické formy Creutzfeldt-Jakobovy nemoci. Standardem je měření v mozkomíšním moku. V procesu validizace jsou metody měření z nosních stěrů a jiných tělních tekutin.
α-synuklein měřený metodou RT-QuIC	Nadějná metoda k diagnostice synukleinopatií (Parkinsonova nemoc, multisystémová atrofie, demence s Lewyho tělísky). Vysoká prediktivní hodnota pro detekci synukleinopatií jako celku. Využitelnost v diferenciální diagnostice jednotlivých klinických syndromů v rámci synukleinopatií se intenzivně zkoumá. Vyžaduje specifické přístrojové vybavení.

Tučně označené biomarkery jsou již zavedené v klinické praxi a proplácené zdravotní pojišťovnou, ostatní biomarkery jsou zatím používány jen ve výzkumu. **Aβ** – beta amyloid; **MM** – mozkomíšní mok; **NfL** – lehká neurofilamenta; **P/S** – plazma/sérum; **p-tau** – hyperfosforylovaný tau protein; **t-tau** – celkový tau protein

snížena hladina **Aβ42** v mozkomíšním moku o cca 50 %, a to již v časných klinických a pozdních preklinických stádiích onemocnění (Olsson et al., 2016). V mozkomíšním moku může být měřena i rozpustná forma amyloidu (**Aβ40**), která je produkována v rámci stejné metabolické dráhy, ale neukládá se v mozkové tkáni. Vzhledem k rozdílné interindividuální produkci amyloidu je v klinické praxi doporučeno použití poměru **Aβ42/40**, což tento nedostatek kompenzuje a dále zvyšuje diagnostickou přesnost, kdy korelace s vyšetřením amyloidovým PET se blíží 100 % (Zetterberg et Bendlin, 2020).

Velká snaha byla věnována validizaci markerů amyloidové patologie z krve. Vzhledem k výrazně nižší koncentraci Aβ přineslo nadějně výsledky až použití ultrasenzitivních metod měření. Zatím nejslibnější se jeví měření poměru Aβ42/40. I tak je u pacientů s AN tato hodnota redukována pouze o 14–20 % oproti zdravým kontrolám a existuje výrazný překryv mezi oběma skupinami, což zatím znemožňuje jejich použití v běžné klinické praxi (Zetterberg & Bendlin, 2020).

Současný výzkum se dále soustředí na stanovování plazmatických Aβ oligomerů – fragmentů Aβ specifických pro AN (Delaby et al., 2023).

Biomarkery tau patologie

Kromě ukládání amyloidu beta je AN charakterizována intraneuronální agregací celkového proteinu tau (**t-tau**) a jeho hyperfosforylované formy (**p-tau**), což se odráží zvýšenými hladinami obou proteinů v mozkomíšním moku. Tyto změny jsou spolu se snížením poměru **Aβ42/40** považovány za zlatý standard v biologické diagnostice AN. Zatímco zvýšení **p-tau** je považováno za relativně specifické pro AN, t-tau protein může být zvýšen (a to často velmi výrazně) i v jiných klinických situacích spojených s rychlým zánikem neuronů – např. po kraniotraumatu, cévní mozkové příhodě či u prionových onemocnění (Zetterberg et Bendlin, 2020). Aβ42, t-tau a p-tau tvoří tzv. triplet a jsou zlatým standardem v diagnostice AN a součástí aktuálních diagnostických kritérií (Albert et al., 2011; Bartoš et al., 2012). Diagnostická přesnost markerů tau patologie v mozkomíšním moku se dále zvyšuje hodno-

cením poměru mezi t-tau a p-tau popř. mezi p-tau a amyloidovými markery.

Změny t-tau jsou u AN měřitelné i v krvi, nicméně nevykazovaly dostatečnou senzitivitu a specifitu pro použití v klinické praxi či výzkumu. O to větší pozornost je nyní zaměřena na stanovení specifických forem p-tau z plazmy či séra. Zvýšení u pacientů s AN bylo detekováno u proteinů **p-tau181**, jehož hladina vysoce korelovala s hladinami v mozkomíšním moku, **p-tau231** a **p-tau217**. Výsledky studií svědčí pro vysokou senzitivitu i specifitu, a tedy i pro použitelnost jak v časné, tak i v diferenciální diagnostice neurodegenerativních onemocnění. I přes slibné výsledky existují rozpory mezi studiemi a na definitivní doporučení stran klinické praxe se zatím čeká (Delaby et al., 2023).

Biomarkery nespecifických procesů doprovázejících neurodegenerativní onemocnění

Kromě proteinů specifických pro jednotlivé neurodegenerativní procesy jsou v tělních tekutinách měřitelné i markery nespecifických procesů doprovázejících neurodegenerativní onemocnění.

Nejvíce prozkoumané a ve výzkumu používané jsou lehké řetězce neurofilament (**NfL**; neurofilament light chain protein). Jedná se o protein cytoskeletu, který se uvolňuje při poškození proteinů v centrálním i periferním nervovém systému. Jeho hladiny jsou detekovatelné v mozkomíšním moku i v krvi a vzájemně úzce korelují. Zvýšení NfL je nespecifické a je přítomné jak u neurodegenerativních onemocnění, tak i u dalších afekcí nervového systému (zánět, trauma, cévní mozkové příhody atd.). Nejvyšší hladiny NfL byly pozorovány u neurokognitivní poruchy v důsledku HIV, frontotemporální lobární degenerace (FTLD), vaskulární etiologie, amyotrofické laterální sklerózy a u atypických parkinsonských syndromů (Bridel et al., 2019). Hladina NfL predikuje rychlost progresu u pacientů s AN. Pro spolehlivé stanovení NfL v séru se v současné době doporučují ultrasenzitivní metody, v mozkomíšním moku je možnost měření standardní ELISA metodou (Fialová

et al., 2022). V současné době je doporučeno použití NfL pro diferenciální diagnostiku psychiatrických onemocnění (normální hladiny) vs. FTLD (zvýšeno) (Ducharme et al., 2020). Se vzrůstajícím věkem narůstají ve zdravé populaci hladiny tohoto proteinu a dochází k překryvům mezi zdravou populací a pacienty s AN, proto je klinická využitelnost nejvyšší u mladších pacientů. Další potenciální indikací je monitorace pacientů v čase event. monitorace účinnosti neuroprotektivní léčby (Delaby et al., 2023; Zetterberg et Bendlin, 2020). Longitudinální důkazy naznačují, že NfL v krvi může být užitečný nejen jako prognostický biomarker pro předvídaní rychlosti progresu neurodegenerace u pacientů s AN, ale také jako biomarker rizika vzniku patologických strukturálních a funkčních změn v mozku u kognitivně zdravých jedinců s vyšším rizikem rozvoje AN (např. u pacientů s hraničně patologickým amyloidem beta) (Jung et al., 2023). Na své definitivní místo v klinické praxi NfL protein zatím čeká.

Dalším nadějným biomarkerem je stanovení hladiny **neurograninu (Ng)** v mozkomíšním moku. Ač se jedná o marker synaptické dysfunkce a je zvýšený téměř výhradně u AN a zdá se relativně specifický pro toto onemocnění. Jeho hladiny korelují s kognitivním deficitem a tento vztah je silnější než u běžně užívaných biomarkerů AN (t-tau, p-tau) (Casaletto et al., 2017; Zetterberg et Bendlin, 2020).

Další potenciálně zajímavé markery jsou **biomarkery zánětu** – např. **gliální acidický fibrilární protein (GFAP)**, **YKL-40**, **TREM-2**. Společným znakem těchto zánětlivých markerů je jejich aktivace v důsledku preklinického hromadění Aβ v mozkové tkáni, proto jejich zvýšené hladiny značí Alzheimerovou patologii. Ve většině případů není ale toto zvýšení specifické pro AN a na své klinické využití teprve čekají.

Biomarkery v diagnostice nealzheimerovských neurodegenerací a prionových onemocnění

Biomarkery z tělních tekutin hrají klíčovou roli i v diagnostice **prionových onemocnění**. Pro sporadickou Creutzfeldt-Jakobovu nemoc (sCJD) je charakteristické patologické zvýšení proteinu **14-3-3 v mozkomíšním moku**. Tento

INZERCE

Tab. 2. Doporučení pro odběr a preanalytické zpracování mozkomíšního moku (upraveno dle Vanderstichele et al., 2012)

Souhrn doporučení pro odběr a iniciální zpracování mozkomíšního moku
Denní doba odběru neovlivňuje výsledky
Není potřeba lačnění
Pozice odběru neovlivňuje výsledky (sed vs. leh)
Použití polypropylenových zkumavek pro odběr i archivaci, naplnit zkumavky alespoň z 50 % (vyhnout se použití skleněných či polystyrenových zkumavek z důvodu vazby A β na stěny zkumavky, tuto vazbu též zvyšuje použití neadekvátně velkých zkumavek, které nejsou naplněny!!)
Centrifugace vzorků při pokojové teplotě do 2 h po odběru (je-li nutné, není-li hemoragická příměs méně než 500 erytrocytů/ml)
Možnost zaslání běžnou poštou (stabilita při pokojové teplotě do 5 dnů)
V laboratoři omezit opakované pipetování – každé pipetování snižuje obsah A β o cca 10 % z důvodu vazby na stěnu špičky
Skladování při -20 °C 2 měsíce, při -80 °C i několik let

biomarker neuronální destrukce vykazuje senzitivitu 86–97 %, nicméně není zcela specifický – 76–91 % a může být pozitivní i u jiných rychle probíhajících mozkových onemocnění (vaskulitidy, cévní mozková příhoda). Dalším standardně používaným markerem je protein tau, který je u sCJD výrazně zvýšen, a to řádově více, než u AN či jiných neurodegenerací. Další možností je hodnocení poměru celkového tau proteinu k fosforylované formě p-tau181, která je u CJD též zvýšena.

Další velmi nadějnou metodou a spolehlivou metodou k detekci sCJD je **Real-Time Quaking (RT-QulC)**, jedná se o metodu detekující změnou konformaci proteinů, schopnou detekovat přímo patologický prionový protein (Galušková et al., 2021). U sCJD vykazuje až 100% specifitu a až 96% senzitivitu. Principem je inkubace vzorku pacienta s rekombinantním proteinem, přičemž v případě přítomnosti proteinu se změnou konformace ve vzorku dochází v čase ke změně konformace i proteinu rekombinantního, která je detekována pomocí fluorescenčního činidla. Vzhledem k velmi vysoké senzitivě je možno detekovat prionový protein i z jiných vzorků než z mozkomíšního moku, např. z nosního stěru. Zajímavé je, že senzitivita uvedených biomarkerů je často výrazně nižší u ostatních prionových onemocnění (familiární CJD, Gerstmann-Sträussler-Scheinkerova nemoc). Širokému rozšíření metody brání nutnost specifického přístrojového vybavení a specifických laboratorních postupů (Altuna et al., 2022).

Na rozdíl od AN byly pokusy o specifickou diagnostiku ostatních nealzheimerovských neurodegenerací dlouhou dobu neúspěšné. Studie s měřením α -synukleinu v mozkomíšním moku neprokázaly dostatečnou specifitu a senzitivitu pro klinické využití v diagnostice

synukleionopatií, obdobná situace byla u neurodegenerativních onemocnění spojených a akumulací TDP-43.

Průlom přinesla až výše zmíněná metoda RT-QulC, která se ukázala jako velmi přesná v detekci synukleionopatií, kdy senzitivita přesahovala 90 %, specifita se 90 % blížila (Solje et al., 2021). Obdobné hodnoty byly nalezeny u metod detekujících protein TDP-43 a 3 a 4 repeatové izoformy tau proteinu (jednotlivé izoformy jsou v různé míře zastoupené u různých tauopatií, mezi něž patří AN, FTLT-tau, progresivní supranukleární paralýza a kortikobazální degenerace). Dosavadní studie prokazují využitelnost metody v detekci dané neuropatologie, specifita v diferenciální diagnostice jednotlivých klinických podtypů se intenzivně zkoumá (Solje et al., 2021).

Stejně jako u AN jsou i u nealzheimerovských neurodegenerací detekovány změny v hladinách nespecifických markerů neurodegenerace (NfL) či zánětu (GFAP) (Solje et al., 2021). Zdá se, že zejména u FTLT může být stanovení NfL užitečné v diferenciální diagnostice oproti psychiatrickým příčinám poruch chování.

Preanalytické a analytické faktory ovlivňující výsledky

Určení hladiny biomarkerů neurodegenerativních onemocnění je ovlivněno preanalytickými a analytickými faktory. Velmi důležité je **při odběru i iniciálním zpracování mozkomíšního moku používat pouze polypropylenové zkumavky** a vyhnout se zkumavkám polystyrenovým či skleněným. Důvodem je vazba A β na některé materiály. V případě hemoragické příměsi je třeba časná centrifugace. Vzorky mohou být zaslány běžnou poštou a skladovány po dobu 2 měsíců při -20 °C. Pro

delší skladování je doporučena archivace při -80 °C (Vanderstichele et al., 2011). Souhrn doporučení preanalytických a analytických faktorů vyšetření biomarkerů z mozkomíšního moku je uveden v tabulce 2.

Výsledky měření biomarkerů (a to zejména A β v mozkomíšním moku) vykazují výraznou variabilitu napříč jednotlivými laboratořemi, a to i při použití stejných laboratorních ELISA kitů. Z těchto důvodů je doporučeno, aby si každá laboratoř stanovila vlastní normy. Důvodem je pravděpodobně ovlivnění analýz četnými preanalytickými a analytickými kroky, které se nedaří při použití ELISA metody zcela standardizovat. Pro účely rutinního vyšetřování biomarkerů v klinické praxi je proto snaha zavádět automatizované analytické systémy maximálně eliminující veškerou variabilitu.

Na rozdíl od mozkomíšního moku neexistují dosud obecná doporučení pro odběr a zpracování krevních biomarkerů. **V praxi lze krevní biomarkery měřit jak ve vzorcích plazmy, tak séra, přestože celosvětově se rozšířila analýza biomarkerů v krevní plazmě.**

Problémy použití a interpretace biomarkerů v klinické praxi

Pro použití a interpretaci výsledků vyšetření biomarkerů je extrémně důležitá informace o existenci duální patologie a přirozené věkové vázané prevalenci neuropatologických změn.

Po 70. roce věku exponenciálně stoupá prevalence alzheimerovské patologie a např. ve věku nad 85 let je přítomnost A β patologie detekovatelná až u 40 % jedinců bez kognitivního deficitu (Jansen et al., 2015). Zda se u těchto jedinců jedná o preklinické stadium AN, nebo je akumulace A β v mozkové tkáni do jisté míry pro stáří přirozená, není doposud jasné.

Velmi častá je tzv. **duální či smíšená patologie** – tj. existence několika neuropatologických onemocnění současně u jednoho pacienta. Zejména se stoupajícím věkem je společný výskyt více markerů definujících různé neurodegenerace běžný (Rohan et al., 2015). Např. studie v populaci nad 90 let nalezla prevalenci kombinace několika neuropatologií u 45 % pacientů ve stadiu syndromu demence (Kawas et al., 2015). Z těchto důvodů je třeba být v interpretaci výsledků velmi obezřetný, a to zejména v pozdním věku. Například nález pozitivních

biomarkerů AN u 85letého pacienta se syndromem demence sice prokazuje přítomnost této patologie, ale nelze automaticky interpretovat jako jedinou ani jako hlavní příčinu obtíží pacienta a je třeba na vše nahlížet v celém klinickém kontextu a ve vztahu s výsledky dalších metod.

Dostupnost vyšetření biomarkerů v klinické praxi v ČR

V současné době je stanovení tripletu (A β 42, t-tau a p-tau181) dostupné pro klinické použití a hrazeno pojišťovnami. Mezi nemocnice, jejichž laboratoře tyto markery stanovují, patří Fakultní Thomayerova nemocnice (FTN), FN Ostrava, FN Olomouc, laboratoř Agel Prostějov. Ve FTN lze dále změřit i protein 14-3-3, FN Ostrava stanovuje i NFL protein. RT-QuIC metoda je v ČR prováděna zatím v rámci výzkumu v Ústavu imunolo-

gie a mikrobiologie Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, kde lze telefonicky dohodnout analýzu vzorků (Galušková et al., 2021).

Navzdory tomu, že vyšetření markerů AN v mozkomíšním moku je dobře ověřenou metodou, je využíváno jen u malé části pacientů s AN. Recentní celosvětový výzkum zjistil využívání jen u 26 % lékařů v různých zemích (Judge et al., 2019). Předpokládá se, že se situace výrazně změní s příchodem nových léků, u kterých bude nejspíše vyžadováno potvrzení přítomnosti alzheimerovské patologie pomocí biomarkerů.

Závěr

Stanovení biomarkerů se v klinické diagnostice začíná stávat součástí klinických doporučení i rutinní diagnostiky. Pro klinickou praxi je v ČR rutinně dostupná analýza

biomarkerů AN v mozkomíšním moku. Pro současné klinické využití je třeba znát některé záležitosti v preanalytických postupech a naučit se výsledky interpretovat v kontextu ostatních vyšetření. V souvislosti s rozvojem nových léků je snaha validizovat pro klinické použití stanovení biomarkerů z krve, a to jak pro diferenciální diagnostiku kognitivních poruch, tak i pro populační screening časných stadií neurodegenerace. Ve stadiu výzkumu je analýza biomarkerů z dalších tělních tekutin (slzy, sliny).

Finančně podpořeno projektem č. LQ1605 z Národního programu udržitelnosti II (MŠMT), Projekt MitAD byl podpořen částkou 1 404 000 € z Islandu, Lichtenštejnska a Norska z Fondů EHP a Technologické agentury ČR v rámci Programu KAPPA (TO01000215).

LITERATURA

1. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2011;7(3):270-279. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.008>.
2. Altuna M, Ruiz I, Zelaya MV, et al. Role of Biomarkers for the Diagnosis of Prion Diseases: A Narrative Review. *Medicina.* 2022; 58(4):473. <https://doi.org/10.3390/medicina58040473>.
3. Bartoš A, Čechová L, Švarcová J, et al. Likvorový triplet (tau proteiny a beta-amyloid) v diagnostice Alzheimerovy-Fischerovy nemoci. *Cesk Slov Neurol N.* 2012;75/108(5):587-594.
4. Bridel C, van Wieringen WN, Zetterberg H, et al. Diagnostic Value of Cerebrospinal Fluid Neurofilament Light Protein in Neurology: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Neurol.* 2019;76(9):1035-1048. <https://doi.org/10.1001/jama-neurol.2019.1534>.
5. Casaleto KB, Elahi FM, Bettcher BM, et al. Neurogranin, a synaptic protein, is associated with memory independent of Alzheimer biomarkers. *Neurology.* 2017;89(17):1782-1788. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004569>.
6. Delaby C, Hirtz C, Lehmann S. Overview of the blood biomarkers in Alzheimer's disease: Promises and challenges. *Revue Neurologique.* 2023;179(3):161-172. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2022.09.003>.
7. Ducharme S, Dols A, Laforce R, et al. Recommendations to distinguish behavioural variant frontotemporal dementia from psychiatric disorders. *Brain.* 2020;143(6):1632-1650. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa018>.
8. Fialová L, Nosková L, Kalousová M, et al. Analytické a preanalytické aspekty stanovení lehkých řetězců neurofilament v biologických tekutinách. *Cesk Slov Neurol N.* 85/118(1). <https://doi.org/10.48095/cccsnn202211>.
9. Galušková S, Moško T, Dušek P, et al. Nové možnosti laboratorní diagnostiky onemocnění spojených s tvorbou amyloidov. *Cesk Slov Neurol N.* 2021;84/117(4):334-340. doi: 10.48095/cccsnn2021334.
10. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia.* 2018;14(4):535-562. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>.
11. Judge D, Roberts J, Khandker RK, et al. Physician Practice Patterns Associated with Diagnostic Evaluation of Patients with Suspected Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Int J Alzheimers Dis.* 2019;2019:4942562. doi: 10.1155/2019/4942562.
12. Jung Y, Damoiseaux JS. The potential of blood neurofilament light as a marker of neurodegeneration for Alzheimer's disease. *Brain.* 2023;awad267. doi: 10.1093/brain/awad267. Epub ahead of print.
13. Jansen WJ, Ossenkoppele R, Knol DL, et al. Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: a meta-analysis. *JAMA.* 2015;313(19):1924-1938. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2015.4668>.
14. Kawas CH, Kim RC, Sonnen JA, et al. Multiple pathologies are common and related to dementia in the oldest-old: The 90+ Study. *Neurology.* 2015;85(6):535-542. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001831>.
15. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2016;15(7):673-684. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00070-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00070-3).
16. Rohan Z, Matěj R, Rusina R. Překrývání neurodegenerativních demencí. *Cesk Slov Neurol N.* 2015;78/111(6):641-648. <https://doi.org/10.14735/amcsnn2015641>.
17. Solje E, Benussi A, Buratti E, et al. State-of-the-Art Methods and Emerging Fluid Biomarkers in the Diagnostics of Dementia – A Short Review and Diagnostic Algorithm. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(5). <https://doi.org/10.3390/diagnostics11050788>.
18. Toombs J, Zetterberg, H. In the blood: biomarkers for amyloid pathology and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Brain Commun.* 2020;2(1):fcaa054. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa054>.
19. Vanderstichele H, Bibl M, Engelborghs S, et al. Standardization of preanalytical aspects of cerebrospinal fluid biomarker testing for Alzheimer's disease diagnosis: a consensus paper from the Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative. *Alzheimers Dement.* 2011;8(1):65-73. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.07.004>.
20. Zetterberg H, Bendlin BB. Biomarkers for Alzheimer's disease: preparing for a new era of disease-modifying therapies. *Mol Psychiatry.* 2020;26(1):296-308. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0721-9>.