



Stanovení biomarkerů  $\beta$ -amyloidu 1-42 (Ab42), celkového tau proteinu (T-Tau) a fosforylovaného tau proteinu 181 (P-Tau) je využíváno v rámci diferenciální diagnostiky neurodegenerativních onemocnění, zvláště Alzheimerovy choroby (Alzheimer's disease, AD). Cílem naší práce bylo porovnání neurodegenerativních markerů dvěma typy diagnostických souprav.

## Porovnání dvou analytických metod stanovení neurodegenerativních markerů $\beta$ -amyloidu 1-42, celkového tau proteinu a fosforylovaného tau proteinu 181

KUŠNIEROVÁ P.,<sup>1,2</sup> SLEPČANOVÁ H.,<sup>1</sup> VŠIANSKÝ E.,<sup>1</sup> MICHNOVÁ O.,<sup>1</sup> BÁRTOVÁ P.,<sup>3</sup> STEJSKAL D.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ústav laboratorní diagnostiky, Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Ostrava

<sup>2</sup> Katedra biomedicínských oborů, Lékařská fakulta, Ostravská univerzita

<sup>3</sup> Neurologická klinika, Fakultní nemocnice Ostrava

### Úvod

Neurodegenerativní onemocnění, jako je Alzheimerova choroba (AD) a další související demence, postihují téměř 44 milionů lidí na celém světě.<sup>1</sup> Nejčastěji se s nimi setkáváme u osob starších 65 let, jejich prevalence s věkem stoupá a podle odhadu se vzhledem k rostoucí délce života počet lidí s demencí v příštích 30 letech zdvojnásobí.<sup>2</sup> Z tohoto důvodu jsou hledány laboratorní biomarkery, které by pomohly diagnostikovat tuto chorobu v časných stádiích. V současné době je při podezření na řadu onemocnění centrálního nervového systému (CNS) doporučováno základní vyšetření mozkomíšního moku (CSF), a to posouzení vzhledu likvoru, kvantitativní stanovení počtu buněčných elementů, celkové bílkoviny, glukózy a laktátu.<sup>3</sup> Pro podrobnější diferenciaci nemocí CNS je poté doporučováno stanovení konkrétních biomarkerů. Z hlediska diferenciace neurodegenerativních onemocnění se jedná o stanovení likvorové koncentrace beta-amyloidu 42 (Ab42), celkového tau proteinu (T-Tau), popř. fosforylovaného tau proteinu 181 (P-Tau).

Tau protein jako nízkomolekulární neurocytoskeletální protein se může vyskytovat až v 6 různých izoformách, které se liší délkou polypeptidového řetězce.<sup>4</sup> Účastní se výstavby mikrotubulů, která je řízena fosforylací a defosforylací. Defosforylovaný tau protein přispívá k polymerizaci a stabilizaci mikrotubulů, kdežto fosforylovaný tau protein se z jejich vazby uvolňuje a tím vede k jejich rozpadu. Za fyziologických okolností

je mezi těmito dvěma pochody udržována rovnováha zajišťující potřebnou stabilitu mikrotubulů.<sup>5</sup> Za patologických podmínek se fosforylované formy tau proteinu uvolňují za tvorby párových helikálních filament agregujících za vzniku neurofibrilárních klubíček.<sup>6</sup> Přítomnost těchto obtížně odbouratelných intracelulárních deposit tau proteinu je typická pro neurodegenerativní onemocnění označované jako tauopatie, jejímž hlavním představitelem je AD. Následkem může být rozpad buňky se současným uvolněním tau proteinu do extracelulárního prostoru. Zvýšená koncentrace celkového tau proteinu společně s fosforylovaným tau proteinem v CSF tak patří k ukazatelům AD.

Beta-amyloid vzniká z amyloidového prekurzorového proteinu, který je fyziologickou součástí buněčné membrány. V klinické praxi se využívá převážně stanovení izoformy Ab42 končící alaninem na rozdíl od kratší izoformy Ab40 končící valinem, která za fyziologických okolností převažuje, je solubilní a tělem vylučována. Rychle agregující izoforma Ab42 je tak dominující formou beta-amyloidu uloženého v plátcích. Jeho snížená koncentrace u pacientů s AD je pak vysvětlována právě jeho zvýšenou adherencí v perineuronálních neuritických plátcích.<sup>7</sup>





Senzitivita a specifita Ab42 pro diagnostiku AD oproti kontrolní skupině je odhadována z řady studií na 86 % a 90 %; pro celkový T-Tau 81 %, resp. 90 %, a pro P-Tau 80 %, resp. 92 %. Při kombinovaném hodnocení senzitivity a specifity byly pro Ab42 a T-Tau získány hodnoty 85–94 %, resp. 83–100 % ve skupině s AD oproti kontrolní skupině.<sup>8</sup> Nicméně při hodnocení specifity těchto biomarkerů pro AD vzhledem k ostatním demencím byly její hodnoty mnohem nižší.<sup>9</sup> Současně byly pozorovány rozdíly v absolutních koncentracích těchto biomarkerů napříč různými laboratořemi. Tyto rozdíly mohou být způsobeny rozdílnými preanalytickými i analytickými podmínkami.<sup>10-11</sup>

Cílem naší práce bylo porovnání neurodegenerativních markerů dvěma typy diagnostických souprav, korelace mezi absolutními koncentracemi jednotlivých biomarkerů a jejich vzájemnými poměry a posouzení jejich vzájemné výpovědní hodnoty na základě shody klinické interpretace.

## Metodika

### Pacienti

Do studie bylo zařazeno 42 vzorků pacientů z Neurologické kliniky Fakultní nemocnice Ostrava s podezřením na neurodegenerativní onemocnění. Průměrný věk celé skupiny byl  $49,9 \pm 16,8$  let. Skupinu tvořilo 33 žen s průměrným věkem  $51,1 \pm 15,3$  let a 9 mužů s průměrným věkem  $45,6 \pm 22,0$  let. Soubor pacientů byl dále rozdělen do následujících diagnostických skupin: Alzheimerova choroba (AD) (n = 3), jiné demence (D) (n = 6), Parkinsonova choroba (PD) (n = 3) a kontrolní skupina (Co) (n = 30).

Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas s použitím zbytkového biologického materiálu pro výzkumné účely. Kromě pohlaví a věku byly všechny údaje o pacientech anonymní.

### Vzorky

Vzorky likvoru studovaných jedinců byly odebrány standardizovaným způsobem do polypropylenových zkumavek (Sartedt, Nümbrecht, Německo). Vzorky byly centrifugovány při  $390 \times g$  po dobu 10 minut za pokojové teploty a supernatanty byly poté uchovány v kryozkumavkách (0,5 ml na kryozkumavku) a skladovány při  $-70^\circ\text{C}$  do doby analýzy.

### Analytické metody

Ke stanovení Ab42, T-Tau a P-Tau v likvoru byly použity dvě imunoanalytické metody s odlišným způsobem detekce, elektrochemiluminiscenční detekce využívající značení rutheniovým chelátem na plně automatickém analyzátoru **cobas** 6000 firmy Roche a imunoenzymatická detekce využívající bezbarvého chromogenního substrátu (ELISA) na analyzátoru DSX (Euroimmun; EI). V případě automatizovaného analyzátoru **cobas** 6000 byly použity diagnostické soupravy Elecsys Total-Tau CSF, kat. č. 07356994 190, Elecsys Phospho-Tau (181P) CSF, kat. č. 07357036 190, a Elecsys  $\beta$ -Amyloid (1-42) CSF, kat. č. 06986811 190. V případě ELISA stanovení byly použity diagnostické soupravy Total-Tau determination in CSF, kat. č. EQ 6531-9601-L, Beta-amyloid (1-42) determination in CSF, kat. č. EQ 6521-9601-L, a P-Tau (181) determination in CSF, kat. č. EQ 6591 9601 L (Euroimmun).

Ke statistickému zpracování dat byly použity programy Excel a MedCalc verze 17.9.7. U všech použitých testů byla statistická významnost posuzována na hladině  $P = 0,05$ .

## Výsledky

Základní charakteristiku studovaného souboru uvádí tabulka 1. Absolutní hodnoty obou testovaných analytických platform se výrazně lišily, nicméně korelační analýza mezi studovanými biomarkery prokázala statisticky významné korelace mezi metodami Ab42 (Roche) vs. Ab42 (EI), resp. P-Tau (Roche), mezi Ab42 (EI) vs. P-Tau (Roche), mezi P-Tau (Roche) vs. P-Tau (EI), T-Tau (Roche) vs. T-Tau (EI), mezi P-Tau (EI) vs. T-Tau (Roche), resp. T-Tau (EI), a mezi T-Tau (Roche) vs. T-Tau (EI),  $P \leq 0,001$ . Při porovnání jednotlivých biomarkerů pomocí Demingovy regrese byla mezi nimi zjištěna výrazná proporcionální chyba, u Ab42 40 %, T-Tau 43 % a P-Tau 46 %, což je možné vysvětlit odlišným principem stanovení, viz tabulka 2, obrázek 1. Existence výrazných rozdílů mezi jednotlivými diagnostickými soupravami vyplynula rovněž ze vzájemného porovnání jednotlivých dvojic biomarkerů provedeného pomocí metody diferenčních grafů dle Bland-Altmana, viz tabulka 3, obrázek 2. Ve všech diferenčních

|                                     | N  | Min.  | Max.  | Průměr  | Medián  | SD     |
|-------------------------------------|----|-------|-------|---------|---------|--------|
| Věk (roky)                          | 42 | 17    | 90    | 49,91   | 50,50   | 16,78  |
| Ab42 (ng.L <sup>-1</sup> ) (EI)     | 42 | 280   | 1896  | 970,21  | 933,40  | 334,22 |
| T-Tau (ng.L <sup>-1</sup> ) (EI)    | 42 | 148   | 961   | 364,22  | 320,0   | 175,45 |
| P-Tau (ng.L <sup>-1</sup> ) (EI)    | 42 | 17,5  | 155,5 | 39,11   | 28,95   | 27,38  |
| T-Tau/Ab42 (EI)                     | 42 | 0,132 | 3,147 | 0,496   | 0,306   | 0,553  |
| P-Tau/Ab42 (EI)                     | 42 | 0,018 | 0,288 | 0,051   | 0,032   | 0,062  |
| Ab42 (ng.L <sup>-1</sup> ) (Roche)  | 42 | 200   | 1700  | 1087,59 | 1001,90 | 456,59 |
| T-Tau (ng.L <sup>-1</sup> ) (Roche) | 42 | 80    | 493   | 171,18  | 138,35  | 96,37  |
| P-Tau (ng.L <sup>-1</sup> ) (Roche) | 42 | 8,0   | 39,9  | 12,99   | 10,63   | 6,72   |
| T-Tau/Ab42 (Roche)                  | 42 | 0,047 | 0,781 | 0,200   | 0,132   | 0,174  |
| P-Tau/Ab42 (Roche)                  | 42 | 0,006 | 0,082 | 0,016   | 0,010   | 0,016  |

▲ Tab. 1: Základní charakteristika studovaného souboru. N – počet vzorků; SD – směrodatná odchylka



grafech byl navíc pozorován statisticky významný lineární trend nárůstu diferencí v závislosti na koncentraci daného biomarkeru ve vzorku. Tento trend samozřejmě ovlivňuje validitu výpočtu rozdílu (biasu) mezi jednotlivými metodami. Současně bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací T-Tau průměrná odchylka (BIAS) klesá, nicméně v celém rozsahu koncentrací je záporná, v případě P-Tau záporný BIAS s rostoucí koncentrací roste, kdežto u Ab42 je u nízkých koncentrací záporný BIAS, s rostoucí

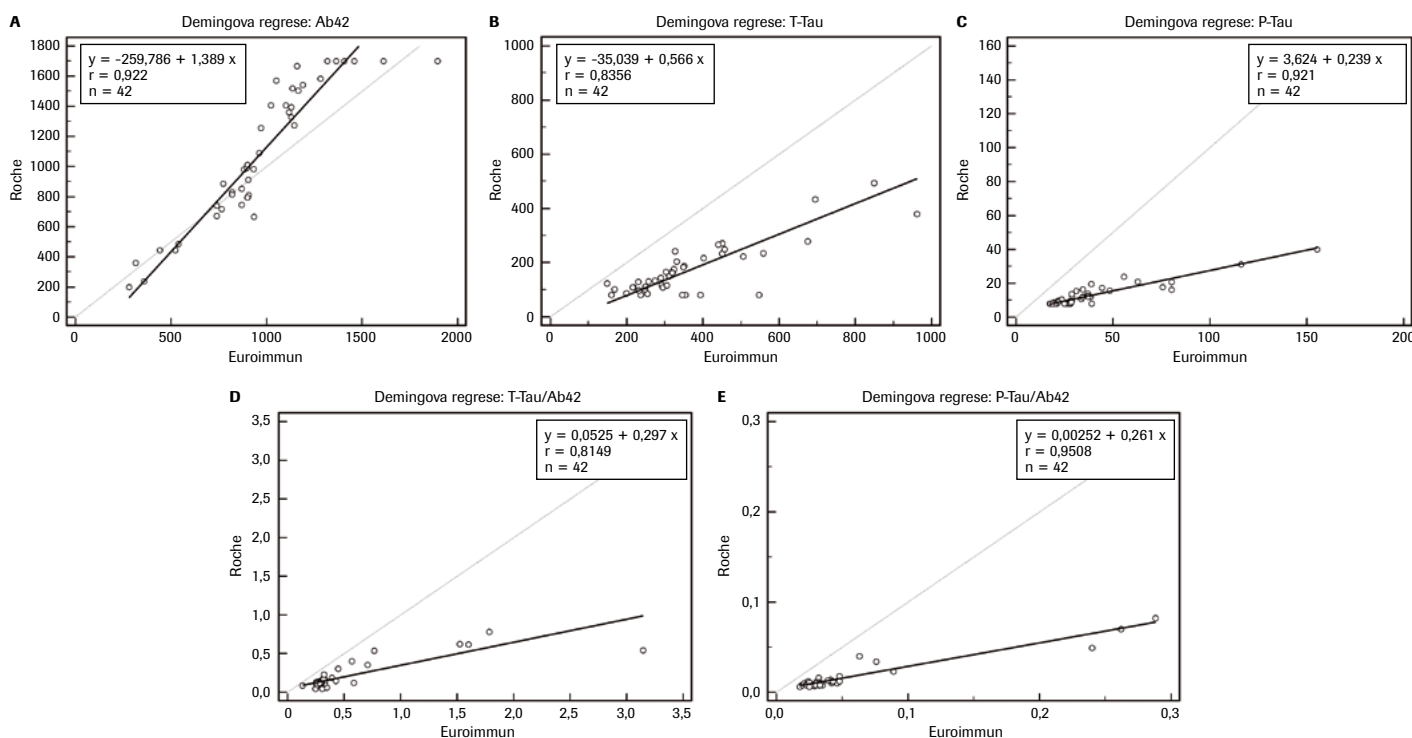
koncentrací Ab42 průměrná odchylka vzrůstá, tj. vykazuje kladný BIAS. Při porovnávání diferencí mezi měřenými biomarkery vzhledem k celkové analytické chybě měření ( $TE_a = \pm 25\%$ ) vycházející z hodnocení externí kontroly kvality společnosti Instand bylo zjištěno, že metody jsou z klinického pohledu vzájemně nezaměnitelné.

Dále z důvodu rozdílných referenčních intervalů byla pro porovnání metod na základě shody klinické interpretace

použita Kappa statistika. Kvantitativní výsledky měření získané odlišnými metodami stanovení bylo nutné převést pomocí referenčních hodnot používaných pro danou metodu na kvalitativní výsledky (negativní/pozitivní). Nejvyšší kappa koeficient, resp. velmi dobrá shoda mezi testovanými metodami byla prokázána u T-Tau ( $\kappa = 0,844$ ), dostatečná shoda pak mezi P-Tau metodou EI a Roche ( $\kappa = 0,465$ ) a slabá shoda mezi Ab42 metodou EI a Roche ( $\kappa = 0,286$ ), viz tabulka 4.

| Metoda                      | Úsek (95% CI)                     | Směrnice přímký (95% CI)   | r     |
|-----------------------------|-----------------------------------|----------------------------|-------|
| T-Tau (EI) vs. (Roche)      | -35,036<br>(-100,982 až 30,905)   | 0,566<br>(0,367 až 0,766)  | 0,744 |
| P-Tau (EI) vs. (Roche)      | 3,624<br>(2,674 až 4,575)         | 0,239<br>(0,211 až 0,268)  | 0,921 |
| Ab42 (EI) vs. (Roche)       | -259,786<br>(-496,565 až -23,006) | 1,389<br>(1,108 až 1,669)  | 0,922 |
| T-Tau/Ab42 (EI) vs. (Roche) | 0,053<br>(-0,071 až 0,176)        | 0,297<br>(-0,042 až 0,636) | 0,815 |
| P-Tau/Ab42 (EI) vs. (Roche) | 0,003<br>(0,001 až 0,004)         | 0,261<br>(0,207 až 0,315)  | 0,951 |

▲ Tab. 2: Porovnání metod pomocí Demingovy regresní analýzy. CI – 95% interval spolehlivosti, r – Pearsonův korelační koeficient



▲ Obr. 1: Porovnání neurodegenerativních markerů a jejich vzájemných poměrů metodami Euroimmun vs. Roche Demingovou regresní analýzou. A: Ab42, B: T-Tau, C: P-Tau, D: T-Tau/Ab42 a E: P-Tau/Ab42; plnou čarou je vyznačena regresní linie, tečkovaně diagonální linie (identita)



Rozložení naměřených hodnot neurodegenerativních markerů v závislosti na diagnóze a použité metodě stanovení (EI vs. Roche) lze pozorovat na obrázku 3.

## Diskuse

Neurodegenerativní onemocnění vznikají v důsledku progresivní degenerace nebo postupného zániku specifických skupin neuronů. Jejich patofyziologickou podstatou je strádání specifického

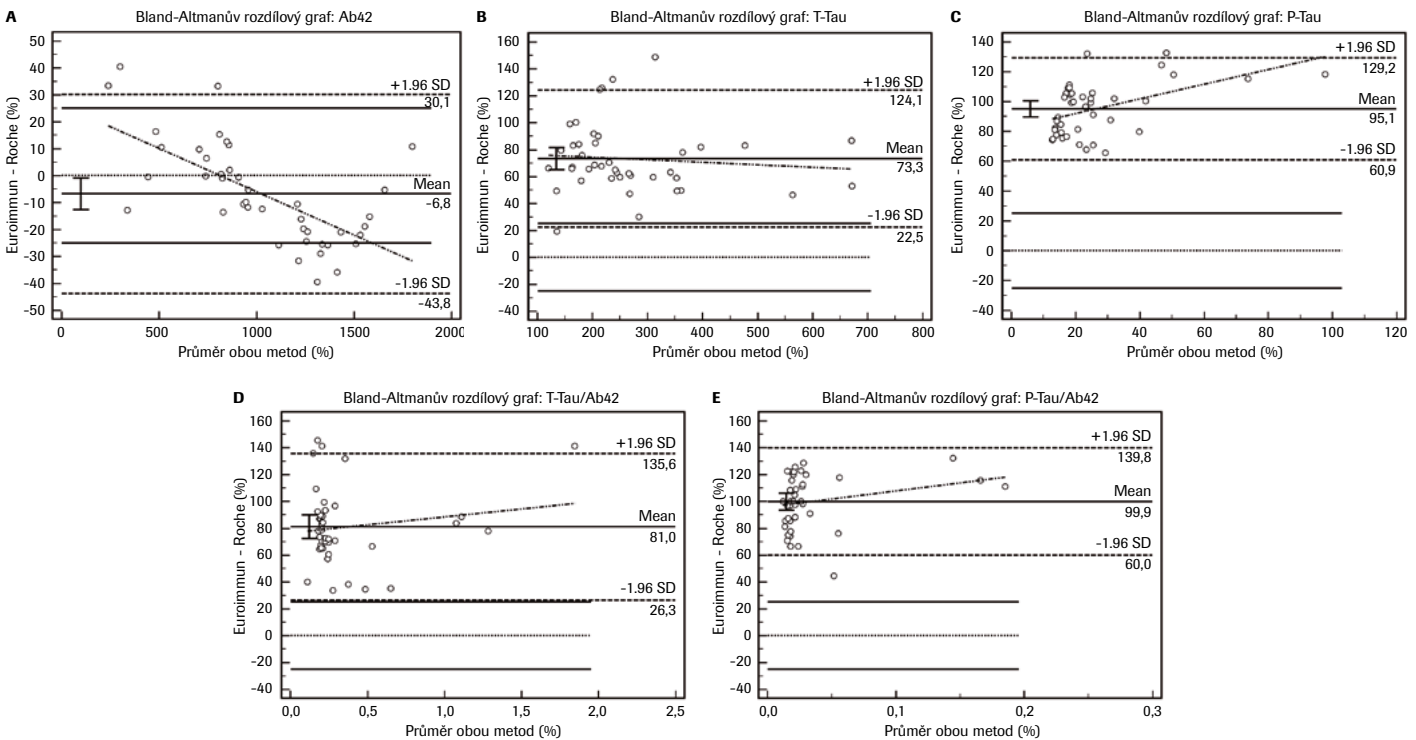
proteinu pro dané onemocnění v mozkové tkáni v kombinaci s obecnými mechanismy apoptózy a autofagie.<sup>12-13</sup>

V naší studii jsme se zaměřili na beta-amyloid 42, celkový tau protein a fosforylovaný tau protein (181P) a jejich stanovení dvěma odlišnými metodami. Stanovení diagnostickými soupravami firmy Roche vyžaduje přísné dodržování preanalytických podmínek, jako je odběr předem daného množství likvoru definovaným způsobem do specifických

odběrových zkumavek a jeho další zpracování (použití konkrétních špiček, mikrozkušavek atd.) a uchování při teplotě -60 °C nebo nižší minimálně po dobu 3 dnů do doby analýzy.<sup>14-16</sup> Oproti tomu stanovení diagnostickými soupravami firmy Euroimmun vyžaduje odběr do polypropylenových zkumavek bez další specifikace typu odběrových zkumavek, špiček, alikvotačních zkumavek a doby zamrazení před analýzou.<sup>17-19</sup> Podobné informace lze získat i od autorů Bartoš a spol.,<sup>20</sup> kteří ve své práci popisují praktické informace

| Metody                       | Aritmetický průměr diference | P (H <sub>0</sub> : Mean = 0) | Dolní limit | Horní limit | P (směrnice trendu) |
|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------|-------------|---------------------|
| Ab42 (EI) vs. (Roche)        | -6,816                       | 0,024                         | -43,769     | 30,137      | <0,001              |
| T-Tau (EI) vs. (Roche)       | 73,288                       | <0,001                        | 22,484      | 124,093     | 0,549               |
| P-Tau (EI) vs. (Roche)       | 95,083                       | <0,001                        | 60,926      | 129,239     | 0,002               |
| T-Tau /Ab42 (EI) vs. (Roche) | 80,993                       | <0,001                        | 26,339      | 135,647     | 0,349               |
| P-Tau /Ab42 (EI) vs. (Roche) | 99,887                       | <0,001                        | 60,016      | 139,758     | 0,145               |

▲ Tab. 3: Posouzení shody studovaných biomarkerů a jejich poměrů metodami Roche vs. Euroimmun pomocí Bland-Altmanova rozdílového grafu. Aritmetické průměry diferencí u T-Tau, P-Tau, T-Tau/Ab42 a P-Tau/Ab42 se signifikantně lišily od 0 (P < 0,001)

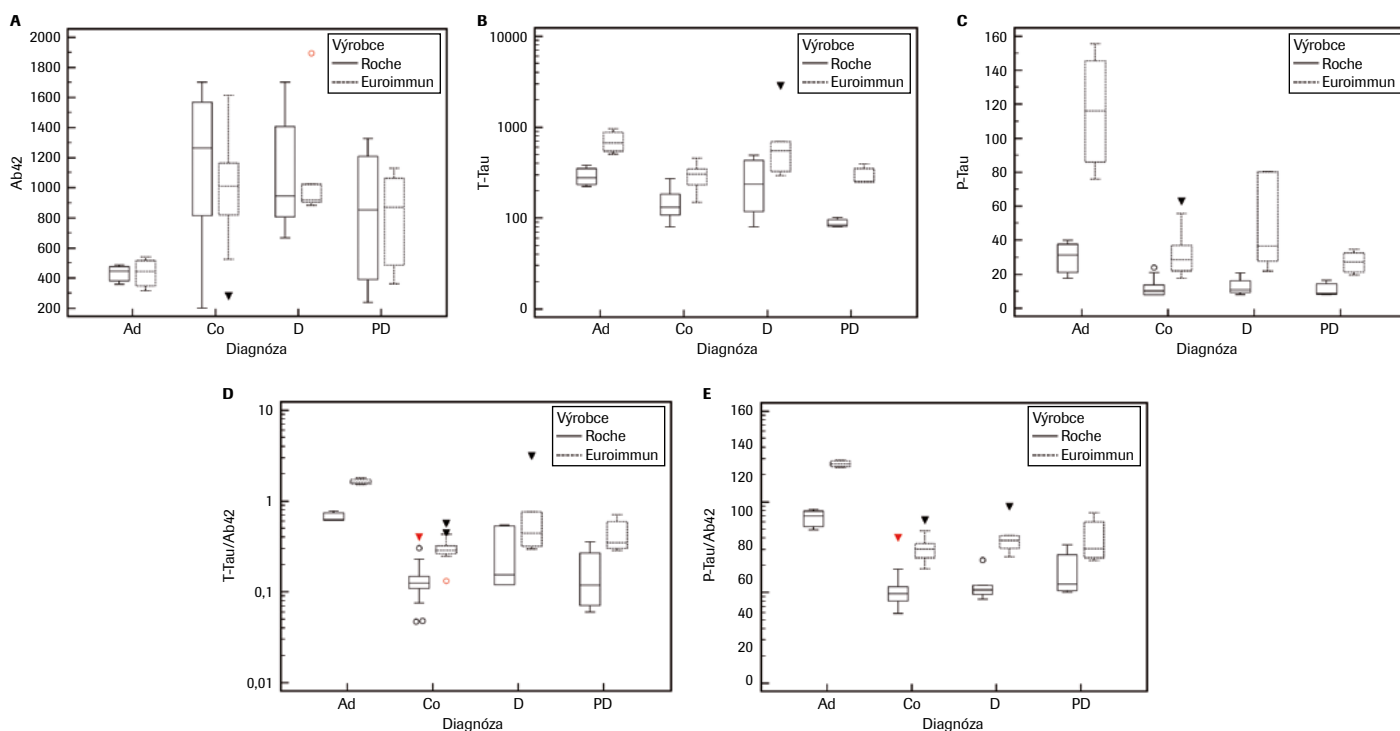


▲ Obr. 2: Bland-Altmanův rozdílový graf metod Euroimmun a Roche pro stanovení (A) celkového tau proteinu (T-Tau); (B) fosforylovaného tau proteinu (P-Tau), (C) beta-amyloidu (1-42) (Ab42), (D) poměru T-Tau a Ab42 a (E) poměru P-Tau a Ab42 v mozkomíšním moku. Plná čára představuje průměr rozdílů (Mean), přerušované čáry znázorňují interval – průměr ±1,96 SD, současně jsou vyznačeny plné čáry odpovídající celkové povolené chybě ±25 %



|                  | T-Tau (EI) vs. T-Tau (Roche) | P-Tau (EI) vs. P-Tau (Roche) | Ab42 (EI) vs. Ab42 (Roche) |
|------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Kappa statistika | 0,844                        | 0,465                        | 0,286                      |
| Standardní chyba | 0,152                        | 0,216                        | 0,103                      |
| 95% CI           | 0,547 až 1,000               | 0,0386 až 0,884              | 0,083 až 0,489             |

▲ Tab. 4: Porovnání metod na základě Kappa statistiky. Rozhodující limity jednotlivých diagnostických souprav: T-Tau Roche >300 ng.L<sup>-1</sup>, P-Tau Roche >27 ng.L<sup>-1</sup>, Ab42 Roche ≤1 000 ng.L<sup>-1</sup>; T-Tau EI >614 ng.L<sup>-1</sup>, P-Tau EI >61 ng.L<sup>-1</sup>, Ab42 EI <550 ng.L<sup>-1</sup>



Obr. 3: Rozložení naměřených hodnot neurodegenerativních markerů a jejich poměrů v závislosti na diagnóze a použité metodě stanovení (Roche vs. Euroimmun). (A) T-Tau, (B) P-Tau, (C) Ab42, (D) poměr T-Tau/Ab42, (E) poměr P-Tau/Ab42 v mozkomíšním moku

k vyšetření likvorového tripletu. Z práce vyplývají i další podstatné informace týkající se transportu vzorku bez nutnosti chlazení či zamražení vzorku, pokud je CSF dopraven do 6 dnů od odběru. Při delší časové prodlevě pak doporučuji vzorek CSF zamrazit a skladovat při teplotě -15 až -25 °C, pro dlouhodobé skladování zamražení na -80 °C.

Vlastní stanovení neurodegenerativních biomarkerů již probíhá zcela standardně při použití obou diagnostických souprav. Nicméně diagnostické soupravy firmy Roche lze použít ke stanovení neurodegenerativních markerů kdykoliv bez ohledu na množství vzorků přijatých laboratoří k analýze na rozdíl od ELISA metody, kde by se rozhodně nevyplatilo provádět analýzu při počtu vzorků menším než 8.

V konečném důsledku, při malém počtu vzorků, by se stala ELISA metoda cenově náročnější než plně automatizovaná metoda na analyzátoru ROCHE, která má však vyšší vstupní cenu.

Při porovnání výše jmenovaných diagnostických souprav byly pozorovány v absolutních koncentracích výrazné rozdíly mezi testovanými biomarkery, nicméně testy spolu dobře korelovaly. V případě T-Tau a P-Tau bylo dále zjištěno, že diagnostické soupravy firmy Roche poskytují nižší hodnoty než diagnostické kity firmy Euroimmun, zatímco v případě Ab42 diagnostické soupravy firmy Roche poskytují při nižších koncentracích nižší hodnoty, naopak při vyšších koncentracích vyšší hodnoty. Současně jsme došli k závěru, že použité diagnostické soupravy nelze

z klinického hlediska zaměnit, tudíž je při interpretaci nutné přihlížet k referenčním mezím konkrétního výrobce.

S podobnými výsledky se setkáváme i v práci autorů Bartoš A. a spol.,<sup>20</sup> kteří studovali shodu výsledků likvorového tripletu T-Tau, P-Tau a Ab42 dvěma ELISA metodami, ale podobně jako v naší studii nacházeli u tau proteinu analyzovaného soupravou Euroimmun vyšší koncentrace než u druhé testované soupravy Innotech, zatímco v případě stanovení koncentrace Ab42 soupravou Euroimmun získali nižší koncentrace než soupravami Innotech.

Také Fagan A. M. a spol.<sup>21</sup> se zabývali porovnáním diagnostických souprav Innotech® ELISA a INNO-BIA AlzBio3. Ačkoli absolutní hodnoty Ab42, T-Tau



a P-Tau získané oběma platformami byly odlišné, korelovaly spolu velmi dobře, stejně jako poměr T-Tau/Ab42. Rovněž v souladu s předchozími studii<sup>22-23</sup> používajícími tyto testy zjistili, že jednotlivé neurodegenerativní markery T-Tau, P-Tau i Ab42 v CSF korelují s kortikální amyloidovou náloží, i když různou měrou. Nicméně poměry T-Tau/Ab42 získané oběma testovanými diagnostickými kity překonaly jednotlivé biomarkery včetně Ab2. Autoři došli k závěru, že obě testovací platformy fungují dobře při identifikaci jedinců

s přítomnými amyloidními plaky, zejména poměr T-Tau/Ab42, a dále podporují silný vztah mezi patologiemi amyloidu a celkového tau proteinu u pacientů s AD.

### Závěr

Byly prokázány statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými metodami stanovení. Diagnostické soupravy firmy Roche a Euroimmun nejsou navzájem zastupitelné. Nicméně uspokojivá shoda z hlediska

klinické interpretace byla prokázána mezi všemi testovanými diagnostickými soupravami. Pro rutinní analýzu lze tedy doporučit obě metody stanovení, nicméně je nutné mít stále na paměti sledování hladiny příslušných biomarkerů ve stejné laboratoři používající stále stejnou metodu stanovení a hladinu konkrétního biomarkeru interpretovat vzhledem k referenčním mezím konkrétní laboratoře. Za pozitivní nález je pak vždy považován nález patologických koncentrací minimálně dvou testovaných parametrů.



### RNDr. Pavlína Kušnierová, Ph.D.

Ústav laboratorní diagnostiky, Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Ostrava  
Kontakt: pavlina.kusnierova@fno.cz

Vystudovala Přírodovědeckou fakultu Univerzity Palackého v Olomouci (2001). Téhož roku nastoupila jako chemik analytik na Oddělení klinické biochemie Nemocnice ve Frýdku-Místku, od roku 2005 pak na Oddělení laboratorní medicíny Nemocnice Šternberk jako vedoucí úseku molekulární biologie a genetiky, od roku 2009 jako vedoucí laboratoře. V roce 2007 dokončila PGS na Lékařské fakultě Univerzity Palackého v oboru Lékařská chemie a biochemie, v témže roce atestovala jako odborný pracovník ve vyšetřovacích metodách v klinické biochemii. Od roku 2011 pracuje jako odborný pracovník v laboratořích Ústavu laboratorní diagnostiky, Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Ostrava. Ve stejném roce atestovala jako bioanalytik pro klinickou genetiku. Mimo jiné vyučuje na katedře biomedicínských oborů Ostravské univerzity. Podílí se na grantových výzkumných projektech v oblasti klinické biochemie, na tvorbě výukových materiálů. Je členkou České společnosti pro klinickou biochemii, České společnosti pro biochemii a molekulární biologii a Genetické společnosti Gregora Mendela. Je autorkou/spoluautorkou 40 publikací, z toho 19 v časopisech s IF, 24 publikovaných abstraktů, 3 skript, 1 kapitoly v odborné knize a e-knihy E-klinická biochemie s celkovým H-indexem 7. Současně je hlavním řešitelem/spoluřešitelem 10 grantů/projektů.

## LITERATURA

- Nichols E., Szoeko C.E.I., Vollset S.E., Abbasi N., Abd-Allah F., Abdela J., et al. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019; 18(1): 88–106.
- Ferri C.P., Prince M., Brayne C., et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366: 2112–2117.
- Zeman D. Praktický průvodce laboratorním vyšetřením likvoru. Olomouc 2018. ISBN 978-80-244-5262-3.
- Fialová L., Bartoš A., Švarcová J., Doležil D., Malbohan I. Stanovení tau proteinu v mozkomíšním moku pacientů s roztroušenou sklerózou dvěma soupravami ELISA. *Klin. Biochem. Metab.*, 19 (40), 2011, No. 2, p. 113–118.
- Johnson, G. V., Stoothoff, W. H. Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *J. Cell Sci.*, 2004, 117, p. 5721–5729.
- Shahani, N., Brandt, R. Functions and malfunctions of the tau proteins. *Cell Mol. Life Sci.*, 2002, 59, p. 1668–1670.
- Blennow K. Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *NeuroRx* 2004; 1: 213–25.
- Blennow K., Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003; 2: 605–613.
- Mattsson N., Zetterberg H., Hansson O., et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 2009; 302: 385–393.
- Hort J., Bartos A., Pirttila T., Scheltens P. Use of cerebrospinal fluid biomarkers in diagnosis of dementia across Europe. *Eur J Neurol* 2010; 17: 90–96.
- Verwey N.A., van der Flier W.M., Blennow K., et al. A worldwide multicentre comparison of assays for cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease. *Ann Clin Biochem* 2009; 46: 235–240.
- Rohan Z., Matěj R., Rusina R. Překrývání neurodegenerativních demencí. *Cesk Slov Neurol N* 2015; 78/111(6): 641–648.
- Kaňovský P. Diferenciální diagnostika neurodegenerativních chorob doprovázených demencí. *Interní medicína – mezioborové přehledy* 2003/4.
- Návod k použití: Elecsys Total-Tau CSF, Ref. 07356994 190, Roche Diagnostics.
- Návod k použití: Elecsys Phospho-Tau (181P) CSF, Ref. 07357036 190, Roche Diagnostics.
- Návod k použití: Elecsys  $\beta$ -Amyloid (1-42) CSF, Ref. 06986811 190, Roche Diagnostics.
- Návod k použití: Total tau determination in CSF, Ref. EQ 6531-9601-L, Euroimmun.
- Návod k použití: Beta-amyloid (1-42) determination in CSF, Ref. EQ 6521-9601-L, Euroimmun.
- Návod k použití: pTau (181) determination in CSF, Ref. EQ 6591 9601 L, Euroimmun.
- Bartoš A., Smětáková M., Řičný J., Nosková L., Fialová L. Možnosti stanovení likvorového tripletu tau proteinů a  $\beta$ -amyloidu 42 metodami ELISA a orientační normativní vodítka. *Cesk Slov Neurol N* 2019; 82/ 115(5): 533–540.
- Fagan A.M., Shaw L.M., Xiong Ch., Vanderstichele H., Mintun M.A., Trojanowski J.Q., Coart E., Morris J.C., Holtzman D.M. Comparison of analytical platforms for cerebrospinal fluid measures of A $\beta$ 1-42, total tau and p-tau181 for identifying Alzheimer's disease amyloid plaque pathology. *Arch Neurol.* 2011 September ; 68(9): 1137–1144.
- Reijn T., Rikkert M., Van Geel W., De Jong D., Verbeek M. Diagnostic accuracy of ELISA and xMAP technology for analysis of amyloid  $\beta$ 42 and tau proteins. *Clin Chem.* 2007; 53:859–865.
- Lewczuk P., Kornhuber J., Vanderstichele H., et al. Multiplexed quantification of dementia biomarkers in the CSF of patients with early dementias and MCI: a multicenter study. *Neurobiol Aging.* 2008; 29: 812–818.