

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. lež)
Použití polypropylenových zkumavek pro odběr i archivaci, naplnit zkumavky alespoň z 50 % (vyhnout se použití skleněných či polystyrenových zkumavek z důvodu vazby Aβ 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 Aβ 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-QuIC)**, 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 diagnosti-

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

Průlom přinesla až výše zmíněná metoda RT-QuIC, 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 detekující 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, FTLD-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 FTLD 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 Aβ 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 Aβ 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 věkově vázané prevalenci neuropatologických změn.

Po 70. roce věku exponenciálně stoupá prevalence alzheimerovské patologie a např. ve věku nad 85 let je přítomnost Aβ 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 Aβ **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