

# Laboratorní ukazatele neurodegenerace v likvoru a míra motorického postižení u Parkinsonovy nemoci: korelační studie

## Laboratory Markers of Neurodegeneration in Cerebrospinal Fluid and Degree of Motor Involvement in Parkinson Disease: A Correlation Study

### Souhrn

Parkinsonova nemoc (PN) je chronické progredientní neurodegenerativní onemocnění. U pacientů s tímto onemocněním dochází procesem neurodegenerace k morfologickým a neurochemickým změnám centrálního nervového systému, které jsou vyjádřeny postupnou progresí nemoci. Tzv. Braakův koncept dělí toto postižení do 6 stupňů a ty uvádí do korelace s klinickým stavem, hodnoceným pomocí Hoehnovy-Yahrovy stupnice. Zároveň je známo, že neurodegenerativním procesem dochází k elevaci určitých laboratorních ukazatelů v likvoru. Cílem předkládané studie bylo stanovení koncentrací neurodegenerativních ukazatelů v likvoru u pacientů s PN a u kontrolní skupiny jedinců, a dále zjistit, zda v podskupině pacientů s PN existují korelace mezi těmito hladinami a délkou trvání onemocnění či mírou motorického postižení vyjádřeného Hoehnovou-Yahrovou stupnicí. Do studie bylo zařazeno 32 pacientů s PN a 20 jedinců bez příznaků neurodegenerativního onemocnění jako kontrolní skupina. U všech jedinců byly stanoveny hladiny tau-proteinu, beta-amyloidu<sub>(1–42)</sub> a cystatinu C v likvoru a dále vypočítán index tau-protein/beta-amyloid<sub>(1–42)</sub>. U pacientů s PN byly zjištěny signifikantně vyšší hladiny tau-proteinu v likvoru oproti kontrolní skupině ( $p = 0,05$ ). Dále byly u pacientů s PN do 2 let trvání nemoci zjištěny signifikantně vyšší hladiny tau-proteinu v likvoru ( $p = 0,03$ ) a vyšší hodnoty indexu tau-protein/beta-amyloid<sub>(1–42)</sub> ( $p = 0,01$ ) oproti pacientům s délkou trvání nemoci nad 2 roky. Nebyla prokázána korelace hladin tau-proteinu v likvoru s tíží motorického postižení vyjádřeného Hoehnovou-Yahrovou stupnicí. Ostatní sledované hodnoty nevykázaly žádnou korelaci s diagnózou, délkou trvání onemocnění či tíží motorického postižení. Výsledky provedené studie svědčí o přínosné roli stanovení tau-proteinu v likvoru jako laboratorního ukazatele přítomnosti neurodegenerace u pacientů s PN, a to zvláště u pacientů s délkou trvání onemocnění do 2 let od prvního projevu klinických příznaků.

H. Vranová<sup>1</sup>, P. Kaňovský, J. Mareš<sup>1</sup>, M. Nevrlý<sup>1</sup>, D. Stejskal<sup>2,3</sup>, I. Nestražil<sup>1</sup>, J. Zapletalová<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Neurologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup> Oddělení laboratorní medicíny, Nemocnice Šternberk o.z., Středomoravská nemocniční a.s.

<sup>3</sup> Ústav lékařské chemie a biochemie LF UP v Olomouci

<sup>4</sup> Ústav lékařské biofyziky LF UP v Olomouci



**MUDr. Hana Vranová**  
Neurologická klinika  
Fakultní nemocnice Olomouc  
I.P. Pavlova 6  
775 20 Olomouc  
e-mail: vranovaha@seznam.cz

Přijato k recenzi: 20. 4. 2007

Přijato do tisku: 8. 4. 2008

### Klíčová slova

Parkinsonova nemoc – tau-protein – beta-amyloid – cystatin C – likvor

### Key words

Parkinson disease – tau-protein – beta-amyloid – cystatin C – CSF

## Abstract

Parkinson disease (PD) is a progressive degenerative illness of the nervous system. Patients with this illness undergo a progress of neurological degeneration leading to morphological and neurochemical changes in the central nervous system. The Braak concept divides this pathology into six stages which are correlated with clinical assessment using the Hoehn-Yahr scale. The severity of neurodegeneration is known to correlate with certain laboratory indicators in CSF. The aim of this study was to assess tau-protein, beta-amyloid<sub>(1-42)</sub> and cystatin C CSF levels in patients suffering from PD and in the control group and to compare CSF levels between these two groups and correlate to both the duration and severity of motor impairment in PD. Tau-protein, beta-amyloid<sub>(1-42)</sub> and cystatin C in CSF were assessed and the tau-protein/beta-amyloid<sub>(1-42)</sub> ratio was calculated in 32 patients suffering from PD and in a control group (CG) of 20 patients. The following statistically significant differences in the CSF were found: higher tau-protein levels in PD patients versus CG ( $p = 0.05$ ), higher tau-protein levels ( $p = 0.03$ ) and tau-protein/beta-amyloid<sub>(1-42)</sub> ratio ( $p = 0.01$ ) in PD patients with duration less than 2 years vs. PD with duration more than 2 years. No significant correlation was found between the tau-protein CSF levels and the severity of motor manifestation of PD. No difference in levels of beta-amyloid<sub>(1-42)</sub> and cystatin C in CSF was found in the CG and PD patients groups. Presented study indicates an important role for the tau-protein CSF level evaluation as a marker of neurodegeneration in PD patients, especially within the first two years of the appearance of clinical symptoms.

## Úvod

Parkinsonova nemoc (PN) je chronické neurodegenerativní onemocnění, u kterého je hlavní poruchou deficit dopaminu v oblasti bazálních ganglií. Deficit je způsoben sníženým transportem dopaminu do oblasti striata cestou nigrostriálních projekcí a jeho prvotní příčinou je apoptotický zánik melaninových buněk v oblasti substantia nigra v mezencefalu [1].

Podstatou patofyziologie PN je funkční defekt bílkoviny zvané alfa-synuklein, čímž se PN řadí mezi synukleinopatie. V postižených neuronech u PN nacházíme Lewyho tělíska, což jsou intraneuronální inkluze v cytoplasmě blízko jádra. Lewyho tělíska jsou složena z různých proteinů, pro diagnostiku je nejdůležitější přítomnost ubiquitinu, proteinu p62 a alfa-synukleinu. Výsledky nedávno zveřejněných studií svědčí o tom, že součástí Lewyho tělísek je i degenerovaný tau-protein, který navíc potěňuje degeneraci alfa-synukleinu a tímto se podílí na patogenezi PN [2–5].

Kromě výše popsané poruchy jsou ale u PN popisovány další morfologické a neurochemické změny, které jsou spojeny s postupnou progresí nemoci. Nedávno publikovaný tzv. Braakův koncept [6,7] uvádí 6 stupňů prokázaného morfologického postižení centrální nervové soustavy v průběhu progresu PN, přičemž těchto 6 stupňů koreluje s klinickým stavem, který je možno vyjádřit hodnotami Hoehnovy-Yahrový stupnice. Podle této koncepce jsou v průběhu PN postižovány v podstatě všechny struktury centrální nervové soustavy (CNS).

Morfologické změny tkání CNS podle Braakova konceptu jsou působeny relativně pomalu progredujícím neurodegenerativním procesem. Zároveň tento koncept počítá s tím, že míra neurodegenerativního procesu koreluje s tíží motorického postižení [8].

Je známo, že neurodegenerace souvisí s přítomností určitých laboratorních ukazatelů v likvoru. Lze předpokládat, že míra motorického postižení u PN hodnocená pomocí Hoehnovy-Yahrový stupnice by mohla souviset s určitou koncentrací neurodegenerativních ukazatelů (tau-protein, beta-amyloid<sub>(1-42)</sub>, cystatin C) v likvoru.

Cílem předkládané studie bylo stanovení koncentrací neurodegenerativních ukazatelů v likvoru u pacientů s PN a u kontrolní skupiny jedinců a dále zjistit, zda v podskupině pacientů s PN existují korelace mezi těmito hladinami a délkou trvání onemocnění či mírou motorického postižení vyjádřeného Hoehnovou-Yahrovou stupnicí.

## Tau-protein

Tau-protein se za normálních podmínek podílí na integritě buněčného cytoskeletu. Pokud dojde k jeho nadměrné fosforylaci, jak k tomu dochází u řady neurodegenerativních onemocnění včetně PN, pak dochází k poruše integrity buňky, ztrátě její fyziologické funkce, až k buněčné smrti. Očekávané hodnoty tau-proteinu v likvoru u zdravých jedinců jsou kolem 160 ng/l (ng/l = nanogram/litr).

## Beta-amyloid

Beta-amyloid je tvořen z amyloidového prekurzorového proteinu (APP). APP je štěpen buď alfa-sekretázou a produktem je sAPPa, u něhož se předpokládá, že má neuroprotektivní význam, a nebo beta-amyloid štěpicím enzymem (BACE), čili beta-sekretázou a v následném kroku gama-sekretázou a produktem štěpení je beta-amyloid40 a beta-amyloid42. Ty tvoří po agregaci jádro neuritických plak. Následuje kaskáda dalších procesů, např. oxidativní stres, cytotoxické jevy a zánětlivá odpověď a výsledkem je zánik neuronu a rozvoj demence. Snížená hladina beta-amyloidu v likvoru je nalézána u pacientů s Alzheimerovou demencí [9,10] či u pacientů s PN s demencí [9]. Očekávané hodnoty beta-amyloidu v likvoru u zdravých jedinců jsou kolem 850 pg/ml a pro hodnocení degenerace se využívá spíše než prosté stanovení s výhodnou index tau-protein/beta-amyloid [11].

## Cystatin C

Cystatin C je inhibitor cysteinových proteáz, které hrají důležitou roli např. v procesu trávení potravy, aktivaci komplementu či krevní koagulaci. Cystatin C se účastní procesu neuronální degenerace a reparace centrálního nervového systému tak, že v mozku pravděpodobně inhibuje aktivitu katepsinu L v astrocytech, který spolu s katepsinem S patří ke klíčovým komponentám regulace imunitního potenciálu astrocytů a mikroglie. Dále je cystatin C podle současných znalostí považován za

amyloidogenní protein, který se vyskytuje společně s beta-amyloidem ve stěnách arteriol u pacientů s Alzheimerovou demencí. Díky zvýšení koncentrace cystatinu C v určitých tkáních či systémovém oběhu dochází např. k precipitaci amyloidu v cerebrálních cévách, cerebrálním hemoragiím a akcelerované ateroskleróze [12,13].

## Pacienti a metodika

### Skupina vyšetřovaných

Studie byla schválena ústavní etickou komisí a všichni pacienti podepsali informovaný souhlas.

V rámci studie bylo vyšetřeno 32 pacientů trpících PN bez příznaků demence, 9 žen, 23 mužů, ve věku 29–77 let, průměrný věk  $59,9 \pm 11,96$  let, průměrný věk na začátku onemocnění byl  $55,2 \pm 12,77$  let, průměrná doba trvání nemoci  $4,4 \pm 3,6$  let. 12 pacientů bylo léčeno L-dopou, průměrná dávka byla  $492,3 \pm 137,2$  mg denně, průměrná doba trvání terapie L-dopou byla  $3,92 \pm 3,4$  let.

Jako kontrolní skupina bylo vyšetřeno 20 pacientů, 9 žen, 11 mužů, ve věku 32–73 let, průměrný věk  $51,2 \pm 10,74$  let. Kontrolní skupinu tvořilo 6 pacientů s vertebrogenním onemocněním, 6 pacientů s psychogenními poruchami, 3 pacienti po cévní mozkové příhodě, 2 pacienti s tenzní cefaleou, 2 pacienti s diabetickou neuropatií a 1 pacient po boreliové infekci. Diagnóza PN byla stanovena podle kritérií United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank [14]. Kognitivní deficit byl vyloučen psychologickým vyšetřením, jehož součástí byl Mini Mental Status Examination (MMSE). U všech pacientů byly vyšetřeny hladiny tau-proteinu, beta-amyloidu<sub>(1–42)</sub> a cystatinu C v likvoru.

## Laboratorní vyšetření

### a technika náběru likvoru

Likvor byl získáván cestou lumbální punkce, která byla prováděna za obvyklých sterilních kautel při poloze vyšetřovaného vsedě, vpich byl směřován do meziobratlového prostoru L4/5. Při punkci bylo odebíráno celkem 10 ml likvoru do sterilní zkumavky. Po odběru byl likvor vyšetřen morfologicky a centrifugován (10 min při 1 100 g

Tab. 1. Demografická data.

|                                           | Parkinsonova nemoc | Kontrolní skupina | Statistická významnost |
|-------------------------------------------|--------------------|-------------------|------------------------|
| ženy                                      | 9 (28,1 %)         | 9 (45 %)          | 0,2 <sup>a</sup>       |
| muži                                      | 23 (71,9 %)        | 11 (55 %)         |                        |
| věk – průměr ± směrodatná odchylka (roky) | $59,9 \pm 11,96$   | $51,2 \pm 10,74$  | 0,01 <sup>b</sup>      |

<sup>a</sup>  $\chi^2$  test, <sup>b</sup> dvouvýběrový t-test

při 4 °C). Z části vzorku byly stanoveny hladiny cystatinu C, druhá část byla zamražena při –80 °C a do 10 týdnů od zamražení byla v sérii u všech osob změřena koncentrace celkového tau-proteinu (ELISA, Biosource, Velká Británie), beta-amyloidu<sub>(1–42)</sub> (ELISA, Innogenetics, Belgie) a cystatinu C (ELISA, Biovendor, Česká republika). Analytické charakteristiky všech ELISA metod při verifikaci údajů výrobce byly uspokojivé (opakovatelnost i reprodukovatelnost < 9 %). Současně byl u všech pacientů proveden výpočet indexu tau-protein/beta-amyloid<sub>(1–42)</sub> v likvoru [11].

### Rozdělení souboru na podskupiny

Pro hodnocení sledovaných parametrů byly výsledky porovnány mezi skupinou pacientů s PN a kontrolní skupinou. V podskupině pacientů s PN byly dále výsledky sledovaných ukazatelů porovnávány s mírou motorického postižení, vyjádřeného hodnotami Hoehnovy-Yahrový stupnice. Ke zjištění korelace sledovaných ukazatelů s délkou trvání onemocnění byla podskupina pacientů s PN rozdělena na pacienty s délkou trvání nemoci do 2 let (včetně) a nad 2 roky, hodnoty pak byly porovnány mezi oběma skupinami.

### Statistické zpracování dat

Data byla zpracována pomocí software Medcalc (Belgie). Ke zjištění rozdílů mezi skupinou pacientů s PN a kontrolní skupinou a dále v podskupinách pacientů s PN byly použity pro kategoriální znaky  $\chi^2$  test, pro metrické parametry Studentův t-test, resp. Mannův-Whitneyův test. K posouzení závislosti hodnot měrných parametrů a Hoehnovy-Yahrový stupnice byla použita neparametrická Spearmanova korelační analýza. Hodnota  $p < 0,05$  byla považována za statisticky signifikantní.

Neparametrické testy pro analýzu dat byly použity z důvodu nenormální distribuce parametrů (pro testy normality byl použit test Shapiro-Wilk), resp. z důvodů přítomnosti extrémních hodnot v datech.

## Výsledky

Při porovnání demografických dat obou skupin bylo zjištěno, že skupiny mají stejné zastoupení obou pohlaví, avšak skupina jedinců s PN je oproti kontrolní skupině signifikantně starší ( $p = 0,01$ ) (tab. 1).

Bylo zjištěno, že jedinci s PN měli významně vyšší koncentrace tau-proteinu v likvoru oproti kontrolní skupině (mediány 225 vs 197 ng/l;  $p = 0,05$ ). Ostatní sledované hodnoty se v obou skupinách významně nelišily (tab. 2, graf 1).

U jedinců s PN s délkou trvání nemoci do 2 let byly nalezeny významně vyšší koncentrace tau-proteinu v likvoru (mediány 263 vs 202 ng/l;  $p = 0,03$ ) a vyšší hodnota indexu tau-protein/beta-amyloid<sub>(1–42)</sub> (mediány 0,44 vs 0,23;  $p = 0,04$ ) oproti pacientům s délkou trvání nemoci nad 2 roky (tab. 3, graf 2). Ostatní sledované hodnoty se podle doby trvání nemoci významně nelišily.

U hladin tau-proteinu byla zjištěna korelace s tíží motorického postižení vyjádřeného Hoehnovou-Yahrovou stupnicí, tato korelace však nedosahovala hladiny statistické významnosti ( $p = 0,07$ ). U ostatních sledovaných parametrů nebyla zjištěna souvislost s tíží motorického postižení vyjádřeného Hoehnovou-Yahrovou škálou (tab. 4).

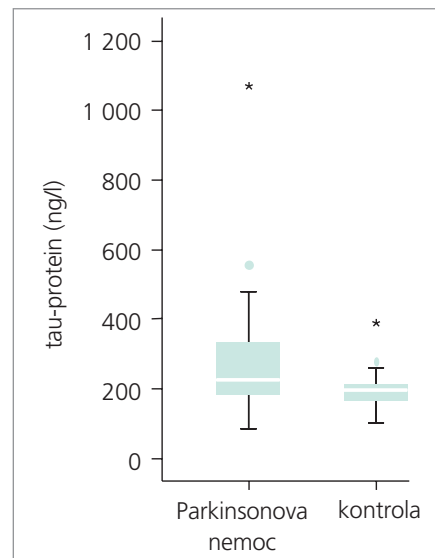
## Diskuse

V rámci předkládané práce jsme prokázali významně vyšší hladinu tau-proteinu v likvoru u pacientů s PN oproti kontrolní skupině, což koreluje s výsledky provede-

**Tab. 2. Porovnání sledovaných hodnot u pacientů s Parkinsonovou nemocí vs kontrolní skupina pomocí neparametrického Mann-Whitney testu.**

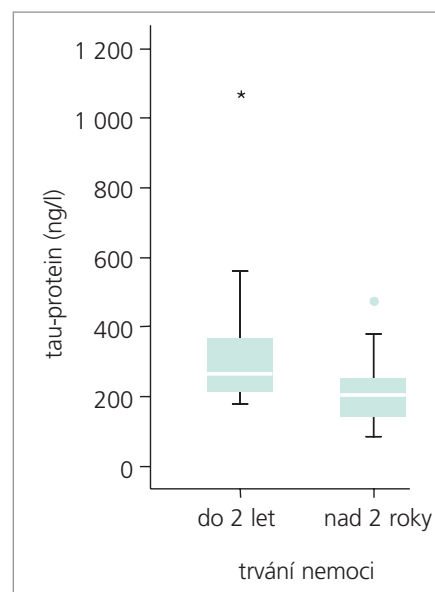
|                                                   | Parkinsonova nemoc | Kontrolní skupina | Statistická významnost |
|---------------------------------------------------|--------------------|-------------------|------------------------|
| tau-protein (ng/l)                                | 225,0              | 197,0             | 0,05                   |
| medián (minimum/maximum)                          | (82/1 070)         | (102/389)         |                        |
| SD                                                | 181,7              | 62,0              |                        |
| beta-amyloid <sub>(1-42)</sub> (pg/l)             | 685,1              | 826,1             | 0,06                   |
| medián (minimum/maximum)                          | (232,1/1 470,9)    | (325,8/1 190,7)   |                        |
| SD                                                | 294,4              | 206,5             |                        |
| index tau-protein/ beta-amyloid <sub>(1-42)</sub> | 0,29               | 0,25              | 0,08                   |
| medián (minimum/maximum)                          | (0,13/2,23)        | (0,10/0,47)       |                        |
| SD                                                | 0,47               | 0,08              |                        |
| cystatin C (mg/l)                                 | 3,51               | 4,22              | 0,12                   |
| medián (minimum/maximum)                          | (0,68/8,19)        | (2,34/8,63)       |                        |
| SD                                                | 1,87               | 1,35              |                        |

SD – směrodatná odchylka

**Graf 1. Porovnání hladin tau-proteinu v likvoru u pacientů s PN vs kontrolní skupina.****Tab. 3. Porovnání sledovaných hodnot u pacientů s PN nemocí do 2 let trvání nemoci (PN 1) vs trvání nemoci nad 2 roky (PN 2) pomocí neparametrického Mann-Whitney testu.**

|                                                   | PN 1           | PN 2           | Statistická významnost |
|---------------------------------------------------|----------------|----------------|------------------------|
| tau-protein (ng/l)                                | 263,0          | 202,0          | 0,03                   |
| medián (minimum/maximum)                          | (177–1070)     | (82–478)       |                        |
| SD                                                | 240,6          | 102,7          |                        |
| beta-amyloid <sub>(1-42)</sub> (pg/l)             | 604,2          | 723,7          | 0,24                   |
| medián (minimum/maximum)                          | (401,0–1282,6) | (232,1–1470,9) |                        |
| SD                                                | 256,6          | 317,7          |                        |
| index tau-protein/ beta-amyloid <sub>(1-42)</sub> | 0,44           | 0,23           | 0,01                   |
| medián (minimum/maximum)                          | (0,24/2,23)    | (0,13/1,64)    |                        |
| SD                                                | 0,54           | 0,41           |                        |
| cystatin C (mg/l)                                 | 3,995          | 3,090          | 0,20                   |
| medián (minimum/maximum)                          | (0,68/8,19)    | (0,69/6,38)    |                        |
| SD                                                | 1,89           | 1,81           |                        |

SD – směrodatná odchylka

**Graf 2. Porovnání hladin tau-proteinu v likvoru u pacientů s PN do 2 let trvání nemoci vs s délkou trvání nemoci nad 2 roky.**

ných studií o jeho spolupodílu na vzniku onemocnění, nekoreluje však s dříve provedenou studií u jedinců s PN bez příznaků demence [15]. Tento výsledek však může být ovlivněn právě tím, že skupina jedinců s PN je signifikantně starší [16].

Současně jsme prokázali signifikantně vyšší hladinu tau-proteinu v likvoru u pacientů s PN do 2 let od manifestace prv-

ních symptomů nemoci. Tento fakt nás vedl k hypotéze, že k neurodegeneraci pravděpodobně dochází v největší míře (resp. že neurodegenerativní proces je nejvíce intenzivní) v počátečním stadiu, tj. tehdy, když tíže patologických změn v mozku „prolomí“ hranici klinické manifestace. Dříve provedené studie prokázaly vyšší hladinu tau-proteinu u jedinců s PN

s demencí oproti jedincům s PN bez příznaků demence [17]. Proto by bylo vhodné u zařazených jedinců s PN následně klinicky sledovat jejich kognitivní deficit a zvýšení hladiny tau-proteinu v likvoru jako potenciální ukazatel pozdějšího rozvoje demence [18].

Limitací studie však zůstává, že u jedinců zařazených do kontrolní skupiny mohl



Tab. 4. Vyjádření vztahu závažnosti motorického postižení u pacientů s PN hodnocené pomocí Hoehnovy-Yahrový škály (H–Y) se sledovanými hladinami uvedených parametrů v likvoru (hodnoceno pomocní Spermannova korelačního koeficientu).

|                            | Tau-protein | Beta-amyloid <sub>(1–42)</sub> | Index tau/beta | Cystatin C |
|----------------------------|-------------|--------------------------------|----------------|------------|
| korelační koeficient (r)   | 0,31        | 0,06                           | 0,15           | 0,13       |
| oboustranná významnost (c) | 0,07        | 0,74                           | 0,41           | 0,48       |

*index tau/beta – index tau-protein/ beta-amyloid<sub>(1–42)</sub>*

taktéž probíhat blíže neurčený neurodegenerativní proces, který u nich v době odběru likvoru nebyl klinicky vyjádřen.

Závěr

Závěrem lze shrnout, že stanovení tau-proteinu v likvoru lze považovat za přínosný laboratorní ukazatel přítomnosti neurodegenerace u pacientů s PN. Za cennou považujeme skutečnost, že jsme prokázali jeho zvýšení především u osob, u kterých trvá nemoc 2 roky a méně od prvního projevu klinických příznaků. Stanovení beta-amyloidu<sub>(1–42)</sub> ani cystatinu C se u našeho souboru pacientů s PN neosvědčilo. Stejně tak se nám nepodařilo prokázat ani významnou souvislost mezi uvedenými ukazateli a stupněm motorického poškození.

V současnosti asi nedokážeme jednoznačně říci, zda Braakův staging progrese Parkinsonovy nemoci do detailu odpovídá skutečnosti, a to jednoduše proto, že počáteční stupně stagingu (tj. I–III) budou moci být jen velmi obtížně klinicko-patologicky korelovány u více případů, pokud vůbec. Výsledky naší studie zatím nesvědčí ve prospěch hypotézy, že hladina neurodegenerativních markerů v likvoru pacientů s PN koreluje s tíží jejich motorického postižení, hodnoceného pomocí Hoehnovy-Yahrový stupnice.

Literatura

1. Růžicka E, Roth J, Kaňovský P et al. Extrapiramidová onemocnění 1. Parkinsonova nemoc a Parkinsonské syndromy. Praha: Galén 2000.

2. Arima K, Hirai S, Sunohara N, Aoto K, Izumiyama Y, Ueda K et al. Cellular co-localization of phosphorylated tau- and NACP/alpha-synuclein-epitopes in Lewy bodies in sporadic Parkinson’s disease and in

dementia with Lewy bodies. Brain Res 1999; 843(1–2): 53–61.

3. Ishizawa T, Mattila P, Davies P, Wang D, Dickson DW. Colocalization of tau and alpha-synuclein epitopes in Lewy bodies. J Neuro-pathol Exp Neurol 2003; 62(4): 389–397.

4. Esposito A, Dohm CP, Kermer P, Bähr M, Wouters FS. Alpha-Synuclein and its disease-related mutants interact differentially with the microtubule protein tau and associate with the actin cytoskeleton. Neurobiol Dis 2007; 26(3): 521–531.

5. Jensen PH, Hager H, Nielsen MS, Hojrup P, Gliemann J, Jakes R. Alpha-synuclein binds to Tau and stimulates the protein kinase A-catalyzed tau phosphorylation of serine residues 262 and 356. J Biol Chem 1999; 274(36): 25481–25489.

6. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson’s disease. Neurobiology of Aging 2003; 24(2): 197–211.

7. Braak H, Ghebremedhin E, Rub U, Bratzke H, Del Tredici K. Stages in the development of Parkinson’s disease-related pathology. Cell Tissue Res 2004; 318(1): 121–134.

8. Muller J, Wenning GK, Jellinger K, McKee A, Poewe W, Litvan I. Progression of Hoehn and Yahr stages in Parkinsonian disorders: a clinicopathologic study. Neurology 2000; 55(6): 888–891.

9. Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, Lewczuk P, Klafki HW, Spärbier K et al. CSF amyloid-Beta-peptides in Alzheimer’s disease, dementia with Lewy bodies and Parkinson’s disease dementia. Brain 2006; 129(Pt 5): 1177–1187.

10. Portelius E, Zetterberg H, Andreasson U, Brinkmalm G, Andreassen N, Wallin A et al. An Alzheimer’s disease-specific Beta-amyloid fragment signature in cerebrospinal fluid. Neurosci Lett 2006; 409(3): 215–219.

11. Stejskal D, Vavroušková J, Mareš J, Urbánek K. Application of new laboratory marker assays in neurological diagnosis – a pilot study. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2005; 149(2): 265–266.

12. Mareš J, Stejskal D, Vavroušková J, Urbánek K, Herzig R, Hluštík P. Use of cystatin C determination in clinical diagnostics. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2003; 147(2): 177–180.

13. Mareš J, Herzig R, Urbánek K, Vranová H, Hluštík P, Stejskal D et al. Využití stanovení cystatinu C u pacientů s neurodegenerativními chorobami. Cesk Slov Neurol N 2006; 69/102(3): 195–199.

14. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson’s disease: a clinico-pathological study of 100 cases. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1992; 55(3): 181–184.

15. Molina JA, Benito-Leon J, Jimenez-Jimenez FJ, Ortí-Pareja M, Berbel A, Tallón-Barranco A et al. Tau protein concentrations in cerebrospinal fluid of non-demented Parkinson’s disease patients. Neurosci Lett 1997; 238(3): 139–141.

16. Yang W, Ang LC, Strong MJ. Tau protein aggregation in the frontal and entorhinal cortices as a function of aging. Brain Res Dev Brain Res 2005; 156(2): 127–138.

17. Mollenhauer B, Trenkwalder C, von Ahsen N, Bibl M, Steinacker P, Brechlin P et al. Beta-amyloid 1–42 and tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Parkinson’s disease dementia. Dement Geriatr Cogn Disord 2006; 22(3): 200–208.

18. Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM et al. Cerebrospinal fluid tau/Beta-amyloid(42) ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. Arch Neurol 2007; 64(3): 343–349.