



**Ovlivnění plasmatické hladiny homocysteinu terapií inhibitory
katechol-O-methyltransferázy entacaponem u pacientů s idiopatickou
Parkinsonovou nemocí.**

Disertační práce

Obor Neurologie

MUDr. Martin Nevrlý

OLOMOUC 2011

Autorské prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury.

V Olomouci dne 20.9. 2011

MUDr. Martin Nevrlý

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval všem kolegům z Neurologické kliniky, kteří mi pomohli k získání dat zpracovaných v této práci. Dále bych rád touto cestou poděkoval Mgr. Kateřině Langové, která mi pomohla se statistickým zpracováním všech získaných dat.

1. Úvod.....	6
1.1 Idiopatická Parkinsonova nemoc.....	7
1.1.1 Epidemiologie.....	7
1.1.2 Etiopatogeneze.....	7
1.1.3 Klinický obraz.....	11
1.1.4 Diagnostika.....	15
1.1.5 Terapie.....	19
1.2 Úvod do analýzy plazmatické hladiny homocysteinu.....	26
1.2.1 Úloha plazmatické hladiny homocysteinu v etiopatogenezi vaskulárních onemocnění a demence.....	28
1.2.2 Úloha plazmatické hladiny homocysteinu v etiopatogenezi periferní neuropatie.....	29
1.2.3 Analýza homocysteinu v krevní plazmě.....	29
2. Plazmatická hladina homocysteinu a idiopatická Parkinsonova nemoc.....	31
2.1 Ovlivnění plazmatické hladiny homocysteinu u pacientů s Parkinsonovou chorobou terapií L-DOPA a entacaponem.....	31
2.2 Účinek entacaponu na plazmatickou hladinu homocysteinu u pacientů s Parkinsonovou nemocí.....	38
2.3 Vliv hyperhomocysteinémie na incidenci axonálního postižení periferních nervů u pacientů s idiopatickou Parkinsonovou nemocí.....	46
3. Diskuze.....	52
4. Závěr.....	54
5. Summary.....	55
6. Literatura.....	56
7. Publikace.....	65
7.1 Publikace související s prací.....	65
7.1.1 Publikace uveřejněné in extenso v recenzovaných časopisech s IF.....	65

7.1.2 Publikovaná abstrakta.....	65
7.2 Ostatní publikace.....	67
7.2.1 Publikace uveřejněné in extenso v recenzovaných časopisech s IF.....	67
7.2.2 Publikace uveřejněné v recenzovaných časopisech.....	68
7.2.3 Publikovaná abstrakta.....	69
8. Přílohy.....	73

1. Úvod

Tématem postgraduálního studia byla analýza plazmatické hladiny homocysteinu u pacientů s idiopatickou Parkinsonovou nemocí a její ovlivnění terapií entacaponem (inhibitorem katechol-O-methyltransferázy). Homocystein je považován za rizikový faktor vaskulárních onemocnění či demence, čili faktorů značně negativně ovlivňujících prognózu Parkinsonovy nemoci. Dále existuje podezření na spoluúčasti plazmatické koncentrace homocysteinu v etiologii vzniku periferní polyneuropatie. V rámci postgraduálního studia tedy byl hodnocen i vztah mezi plazmatickou hladinou homocysteinu a výskytem periferní polyneuropatie u pacientů s idiopatickou Parkinsonovou nemocí.

Idiopatická Parkinsonova nemoc je po Alzheimerově demenci druhým nejčastějším neurodegenerativním onemocněním. Současné poznání nám ji dovoluje zřejmě nejlépe diagnostikovat mezi ostatními klinickými jednotkami neurodegenerace a v současné době máme také v rámci neurodegenerativních onemocnění zřejmě nejlepší terapeutické možnosti v jejím řešení. Nicméně terapie idiopatické Parkinsonovy nemoci je stále pouze terapií symptomatickou, reagující na výskyt jejích symptomů a následných komplikací. Průkaz vztahu mezi známými klinicko-biochemickými markery, např. homocysteinem, a průběhem či prognózou Parkinsonovy nemoci by mohl přinést do její terapie nové možnosti, především v terapii preventivní.

V úvodu práce je stručně uveden základ problematiky Parkinsonovy nemoci a současné možnosti její terapie. Dále je uveden přehled možné úlohy plazmatické koncentrace homocysteinu na vzniku dalších komplikací, především vaskulárních komorbidit, demence a také neuropatie. V této části je i stručný komentář k problematice analýzy plazmatické hladiny homocysteinu.

V dalším textu jsou prezentovány výsledky samotného výzkumu, rozdělené do dvou částí: Ovlivnění plazmatické hladiny homocysteinu u pacientů s idiopatickou Parkinsonovou nemocí podáváním inhibitoru katechol-O-methyltransferázy (entacapone); a dále vztah výskytu periferní polyneuropatie a plazmatické hladiny homocysteinu u Parkinsonovy nemoci.

1.1 Idiopatická Parkinsonova nemoc

Klasická definice:

Idiopatická Parkinsonova nemoc (PN) je chronické progresivní onemocnění nervové soustavy, které se projevuje typickou poruchou hybnosti, tzv. extrapyramidovým hypokineticko-rigidním (neboli parkinsonským) syndromem. Toto postižení vzniká na podkladě degenerativního zániku neuronů v pars compacta mezencefalické části substantia nigra, vedoucího k nedostatku dopaminu ve striatu. Porucha hybnosti u PN proto charakteristicky zmírňuje dopaminergní substituční terapie (Ambler a kol. 2010).

1.1.1 Epidemiologie

Prevalence PN je 84-187 případů na 100 000 obyvatel, ve věkové skupině nad 60 let se pohybuje až okolo 1%. Průměrný věk na počátku onemocnění je kolem 58-62 let, nicméně přibližně 10% pacientů onemocní již před 40. rokem věku. Incidence onemocnění je 5-24 nově diagnostikovaných nemocných na 100 000 obyvatel za 1 rok. Mezi nemocnými je lehká převaha mužů, a to v poměru 1,2:1.

1.1.2 Etiopatogeneze

PN je charakterizována přítomností Lewyho tělísek a postižením dopaminergních neuronů substantia nigra a dalších definovaných neuronálních populací. Předpokládá se, že na rozvoji tohoto postižení se podílí několik patogenetických procesů.

Ztráta správné funkce mitochondrií pravděpodobně hraje jednu z hlavních rolí v apoptoticky navozené buněčné smrti pomocí uvolnění pro-apoptotických proteinů cytochromu C, sekundárního přenašeče mitochondriálních aktivátorů kaspáz (SMAC) a HTRA2, a redukci ATP v důsledku oxidativní fosforylace. Dysfunkce mitochondrií dále vede ke zmnožení volných kyslíkových radikálů a tím k nárůstu oxidativního

stresu. Také proteinové produkty řady genů asociovaných s monogenetickými formami parkinsonismu, které zahrnují geny pro alfa-synuklein, Parkin, DJ-1, PINK1, LRRK2 a HTRA2, se podílejí na mitochondriální dysfunkci a potažmo na oxidativním stresu.

Narušení systémů proteinové degradace nejspíše také má významnou úlohu v patogenezi PN. Tyto systémy zahrnující cestu lyzozomální degradace a ubiquitin-proteázový systém jsou zapojeny v degradaci poškozených, zmutovaných, denaturovaných či jinak poškozených proteinů.

Produkce změněných, zmutovaných, denaturovaných či jinak poškozených proteinů a jejich zhoršená degradace má za následek akumulaci a agregaci těchto proteinů a formování Lewyho tělísek. Pro Lewyho patologii je typický průkaz alfa-synukleinu, proteinu, který je normálně přítomný v presynaptických zakončeních většiny neuronů. Bodové mutace, duplikace a triplikace genu pro alfa-synuklein jsou asociovány s hereditární formou PN. U PN a jiných synukleinopatií monomerní alfa-synuklein agreguje za vzniku insolubilních fibril. Proteomické studie navíc ukázaly, že kromě alfa-synukleinu jsou v Lewyho těliscích přítomny i jiné proteiny, jako kinázy, ligázy, proteiny zapojené na degradaci proteinů, transmembránovém přenosu a oxidativním stresu. Výsledky recentních neurochemických studií mozkové tkáně u pacientů s PN prokazují interakci mezi alfa-synukleinem a tau proteinem a zvýšený výskyt tauopatie u pacientů s PN.

V substantia nigra u pacientů s PN je opakovaně prokazována přítomnost změn, typických pro zánětlivou reakci, zahrnující aktivaci mitochondrií, astroglíozu a infiltraci lymfocytů. Indikátorem zánětu a zapojení glií na molekulární úrovni jsou zvýšené hladiny interleukinů a alterace hladin růstového faktoru v substantia nigra a ve striatu u pacientů s PN. Je zvažováno, že zánětlivé změny přispívají ke kaskádě událostí vedoucích k neurodegeneraci a tudíž k progresi onemocnění. Nicméně i samotný zánět může být odpovědný za neurodegenerativní proces. Tuto roli zánětu na patogenezi PN podporuje vztah mezi polymorfismem genů asociovaných se záněty nervové soustavy, jako tumor nekrotizující faktor-alfa (TNF-alfa), interleukin-1-beta a interleukin-6, a rizikem rozvoje PN, ale i protektivní efekt nesteroidní antiflogistické terapie.

Apoptoticky navozená buněčná smrt je také zvažována jako potenciální patogenetický faktor u PN.

Předpokládá se, že k tomu, aby běžné koncentrace tzv. endotoxinů a exotoxinů vyvolaly selektivní neurodegeneraci dopaminergních buněk, musí existovat genetická predispozice, a to jak v případech s familiárně vázanou PN (Tab. 1.1), tak u nemocných se sporadickou PN.

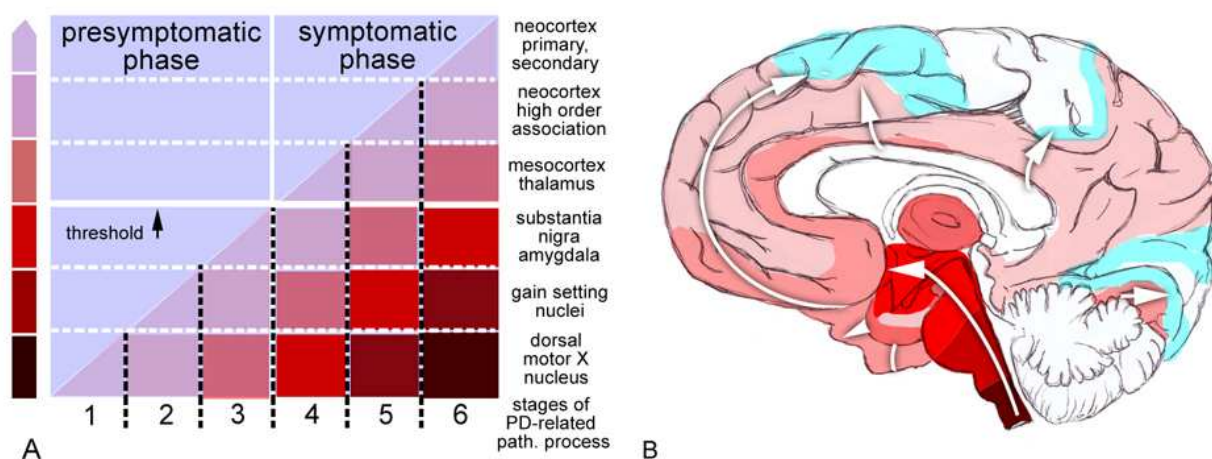
Tab. 1.1. Přehled genů vedoucích k rozvoji parkinsonského syndromu a celulární patologie s nimi související

Lokus	Geny	Klinický obraz	Patologický obraz
Dominantní			
PARK1/4	α -Synuclein	Typická PN, může být přítomna deprese	Lewyho tělíska
PARK8	LRRK2	Typická PN	Obvykle Lewyho tělíska: mohou být i tau-klubka
FTDP-17	MAPT	Většinou pod obrazem demence, může být přítomna i typická PN	Tau-klubka
SCA3	Ataxin3	U Evropanů obvykle ataxie, někdy Parkinsonismus, ten obzvláště u Afrických národů	Nebývají Lewyho tělíska, spíše polyglutaminové inkluze
SCA2	Ataxin2	U Evropanů obvykle ataxie, často i Parkinsonismus, ten obzvláště u Afrických národů	Nebývají Lewyho tělíska, spíše polyglutaminové inkluze
Recesivní			
PARK2	Parkin	Začátek PN v časném věku, velmi pomalá progresse onemocnění	Ojedinele Lewyho tělíska
PARK6	PINK1	Začátek PN v časném věku, velmi pomalá progresse onemocnění	Ojedinéle případy s Lewyho tělísky

PARK7	DJ-1	jen málo informací, pravděpodobně jako Parkin	Neznámá
PARK9	ATP13A2	Agresivní průběh, komplex příznaků parkinsonismu a jiných přídatných symptomů	Neznámá
PARK14	PLA2G6	Agresivní průběh, komplex příznaků parkinsonismu a jiných přídatných symptomů	Lewyho tělíska
SPG11	Spatascin	Obvykle spastická paraplegie, ale někdy i agresivní průběh, komplex příznaků parkinsonismu a jiných přídatných symptomů	Neznámá

Převzato z Hardy J. Genetic Analysis of Pathways to Parkinson Disease. *Neuron*. 2010 October 21; 68(2): 201–206.

Typickou patologickou známkou PN jsou Lewyho tělíska, jejichž hlavní složkou je abnormální alfa-synuklein. Podle prací Braaka a kol. (2003) tyto změny postupně zasahují predilekční oblasti mozku v šesti stádiích ve vzestupném pořadí od prodloužené míchy až po neokortex. V počátečních preklinických stádiích (1 a 2) je zasaženo dorzální motorické jádro n.vagus, bulbus olfactorius a příslušná část nucleus olfactorius anterior. Typické klinické příznaky PN se objevují až ve 3. stadiu, histopatologicky charakterizovaném postižením locus coeruleus a substantia nigra. Ve 4. stadiu proniká patologický proces dále do mezencefala a postihuje magnocelulární cholinergní jádra, zároveň je postižen i temporální mezokortex. Nakonec je v 5. a 6. stadiu patologický proces plně vyjádřen a postihuje i primární a asociační oblasti neokortexu. Tato studie představuje PN jako plynule progredující neurodegenerativní proces, který postupně postihuje řadu mozkových systémů (Obr. 1.1)



Obr.1.1. Patologická stádia rozvoje Parkinsonovy nemoci, převzato z Braak et al. 2004

1.1.3 Klinický obraz

1.1.3.1 Časné stádium nemoci

PN může v počátečním období i několik let probíhat takřka nepostřehnutelně. Podle Braakovy teorie (viz výše) v této době probíhají preklinická stádia 1 a 2, která se mohou projevovat jako poruchy čichu či abnormálním chováním v REM fázi spánku způsobené postižením příslušných struktur bulbus olfactorius a jader dolní části mozku kmene. Zpočátku bývá často přítomna depresivní symptomatika, která může překrývat počáteční příznaky. V následujících stádiích (3 a 4), kdy již dochází k postižení substantia nigra a úbytku dopaminu ve striatu, bývají ještě přítomny kompenzační mechanismy (zvýšené uvolňování dopaminu zbývajícími neurony či hypersenzitivita receptorů), které ještě umožňují zachovat normální funkce. Následkem zmíněných mechanismů dochází k rozvoji příznaků PN až při poklesu počtu dopaminergních neuronů a hladiny dopaminu ve striatu pod 30%. Zpočátku pak bývají obvykle přítomny necharakteristické somatické příznaky (kloubní či svalové bolesti apod.) a až po čase se postupně rozvíjí typické motorické příznaky, na jejichž základě lze pak klinicky usuzovat na diagnózu PN.

Základní charakteristika parkinsonského syndromu je tzv. kardinální trias – přítomnost bradykineze, rigidity a klidového třesu. V dnešní době se již ale spíše hovoří o tetradě příznaků, kdy je za dominantní motorický symptom považována i posturální instabilita. Ze základních motorických příznaků pacienta nejvýrazněji omezuje většinou bradykineze (zpomalení pohybu) a příbuzné projevy jako hypokineze (zmenšení rozsahu pohybu) a akineze (porucha startu pohybu). Hypokineze na končetinách bývá alespoň z počátku jednostranná nebo asymetrická s převahou na akrech. Časnými hypokinetickými projevy jsou též zmenšení písma (mikrografie), maskovitý výraz obličeje (hypomimie), snížený rozkvyv horních končetin při chůzi (omezení či ztráta synkinezí) a tichá monotónní řeč (hypofonie, aprosodie), případně dysartrie se zrychlením tempa řeči (tachyfémie) s opakováním posledních slabik nebo celých slov (palilálie).

Rigidita často provází hypokinezi. Nicméně oba příznaky nemusí být vždy vyjádřeny stejně intenzivně. Již v počátečních stádiích souvisí s rigiditou svalové bolesti a ztuhlost končetiny. Výrazněji je rigiditou postiženo axiální svalstvo a flexory, čímž je dáno typické flekční držení šíje, trupu a končetin.

Třes u PN je typicky klidový o frekvenci 4-6 Hz a postihuje především akra končetin, především horních. Typicky mizí, respektive se výrazně mírní, při volném pohybu. Třes se zvyrazňuje stresem, mentálním úsilím, únavou, třes ruky se dále akcentuje při pohybu druhostranné končetiny či při chůzi. Naopak typicky parkinsonský třes mizí ve spánku.

Mezi posturální poruchy řadíme flekční držení trupu, nejistotu při stoji, šouravou chůzi se zkrácením kroku. V pokročilých stádiích onemocnění se pak často objevují i náhlé zárazy pohybu vedoucí mnohokrát k pádům a dramaticky pak zhoršují kvalitu života pacientů s PN.

Mimo výše uvedené motorické projevy je však PN charakterizována i několika dalšími, tzv. non-motorickými příznaky. Jedná se především o poruchy vyplývající z postižení vegetativního nervstva a psychické změny.

Z vegetativních poruch to bývá již od časných stádií obstipace a seborrhoea, v počátečních stádiích onemocnění především v oblasti obličeje a hlavy. Z dalších vegetativních příznaků vídáme také poruchy trávení, hypersalivaci, zvýšené pocení, ortostatickou hypotenzi, mikční a sexuální pruchy. Tyto příznaky mohou být často potencionovány i terapií.

Z psychických změn je nejčastější deprese, která může být přítomna již na počátku onemocnění. Poruchy kognitivních funkcí (zvláště exekutivní dysfunkce) mohou u nemocných po letech přerůst v globální kognitivní deficit dosahující až demence (Tab. 1.2).

Další skupinou často obtížně terapeuticky ovlivnitelných příznaků PN jsou potíže se spánkem. Krom různých abnormalit v rámci REM spánku, jako jsou živé sny, či syndrom neklidných nohou, a které mohou být přítomny již nespecificky v prvních fázích onemocnění, ještě před jeho typickou klinickou manifestací a možnou diagnostikou, také často pacienti s PN mají potíže s tzv. fragmentací spánku, nadměrnou denní spavostí a někdy i stavy náhlého usnutí. Opět i spánkové potíže mohou být někdy akcentovány jako nežádoucí účinek terapie.

Tab. 1.2 Příznaky Parkinsonovy nemoci	
Motorické příznaky	Non-motorické příznaky
Třes, bradykineze, rigidita, posturální instabilita	Kognitivní deficit, bradyfrenie
Hypomimie, dysartrie, dysfagie	Deprese, apatie, anhedonie, únava, další behaviorální a psychické problémy
Snížení synkinez končetin, šouravá chůze, obtížné vstávání ze židle, otáčení se na lůžku	Senzorické příznaky: anosmie, ageusie, bolest (ramena, záda), parestezie
Mikrografie, obtíže s krájením jídla, jídlem, hygienou, zpomalení každodenních aktivit	Dysautonomie (ortostatická hypotenze, zácpa, močové a sexuální dysfunkce, zvýšené pocení, seborrhoea), snížení hmotnosti, sialorrhoea
Glabelární reflex, blefarospasmus, dystonie, skolióza, kamptokormie	Potíže se spánkem (tzv. REM behaviour disorder, živé sny, usínání během dne, fragmentace spánku, syndrom neklidných nohou)

Převzato z Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2008 Apr;79(4):368-76.

1.1.3.2 Pozdní (pokročilé) stádium PN

Komplikace pokročilého stádia PN jsou dány společným projevem progresu choroby do vyšších stádií a také vlivem dlouhodobé nepřirozené lékové stimulace dopaminových receptorů. Přehled nejčastějších komplikací pokročilého stadia onemocnění je uveden v tabulce – Tab.1.3.

Komplikace dopaminergní terapie	Hybné komplikace samotného onemocnění	Non-motorické komplikace samotného onemocnění
hybné a nehybné fluktuace	potíže při chůzi (freezing)	deprese
dyskineze	posturální instabilita (pády)	demence
neuropsychiatrické komplikace (halucinace a behaviorální poruchy)	dysartrie	poruchy spánku (insomnie, poruchy REM fáze spánku)
zvýšená denní spavost		autonomní poruchy
otoky nohou		senzorické potíže

Převzato z Jankovic J., Tolosa E. Parkinson's Disease and Movement Disorders (fifth edition) Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business 2007

Jako fluktuace hybnosti se označuje zkrácené trvání či výpadky účinku jednotlivých dávek léčby – kolísání mezi akineticko-rigidními „OFF“ stavy a stavy zlepšené hybnosti tzv. „ON“ stavy. Podkladem této fluktuace je snížená skladovací kapacita pro dopamin při postupujícím zániku nigrostriálních neuronů a také receptorové změny vyvolané nefyziologickou stimulací. Nejprve se u většiny pacientů vyskytují tzv. „wearing-off“ stavy, kdy ke zhoršení především motorických projevů, ale i non-motorických, dochází před další dávkou léku levodopa (L-DOPA) – viz. dále. Postupem času se pak intervaly mezi nutnou dávkou léku zkracují, někdy i na více jak

6-8x denně. Tyto stavy jsou především pacienti vnímány subjektivně značně negativně a nezdědka vedou i k tendenci nadužívání L-DOPA.

Další typickou komplikací pozdního stadia charakterizované zhoršenou hybností a často i vystupňovanou rigiditou až do obrazu křeče či dystonie je výskyt tzv. „ranních off stavů“. Již dle pojmenování je zřejmé, že k těmto komplikacím dochází v brzkých ranních hodinách, často tak zkracují spánek a budí pacienty pro často bolestivě vnímanou křeč či dystonii. Dystonie u PN postihuje především akra končetin.

Polékové dyskineze choreatického či choreodystonického charakteru postihují většinu pacientů dlouhodobě léčených L-DOPA. Na jejich vzniku se podílejí farmakodynamické mechanismy, tj. přechodná relativní hypersenzitivita a dysbalance mezi subtypy receptorů pro dopamin na vrcholu účinku dávky dopaminergní medikace.

Polékové psychotické projevy (halucinace, bludy či delirium) vznikají jako vedlejší nežádoucí účinky dopaminergní nebo anticholinergní terapie. K těmto projevům dochází pak především u pacientů s již existujícím kognitivním deficitem.

1.1.4 Diagnostika

Diagnóza PN je založena především na cílené anamnéze a klinickém neurologickém vyšetření. Jako pravděpodobnou diagnózu PN lze určit stav, kdy je přítomna bradykineze a alespoň dva ze tří dalších hlavních příznaků (rigidita, klidový třes, posturální poruchy), onemocnění má plynule progredující průběh, nejsou nalezeny žádné další příznaky, které by svědčily pro jiné onemocnění, a není prokázána žádná jiná choroba či příčina, která by mohla vyvolávat parkinsonský syndrom. Mezi tzv. podpůrná kritéria pro diagnózu PN je jednostranný začátek příznaků či jejich přetrvávající asymetrie. Hlavním diagnostickým testem PN je ověření odpovídavosti na dopaminergní podnět.

V současné době jsou mezinárodně uznávaná diagnostická kritéria dle United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank (UKPDS BB) - Tab. 1.4.

Tab. 1.4 Diagnostická kritéria pravděpodobné Parkinsonovy nemoci dle UK Parkinson's Disease Society Brain Bank
Krok 1
Bradykineze
Přítomnost nejméně jednoho z následujících kritérií:
Rigidita
Klidový třes o frekvenci 4–6 Hz
Posturální instabilita, která není zapříčiněná primárním postižením zraku, vestibulárního aparátu, mozečku nebo proprioceptivní dysfunkcí
Krok 2
Vyloučení jiných příčin parkinsonismu
Krok 3
Přítomnost nejméně tři z následujících podpůrných (prospektivních) kritérií:
Jednostranný začátek
Klidový třes
Progredující postižení
Přetrvávající asymetrie ve prospěch primárně postižené strany
Výborná odpověď (70–100%) na terapii levodopou
Závažné levodopou navozené dyskineze (chorea)
Odpověď na terapii levodopou po dobu 5 let a déle
Klinický průběh 10 let a déle

Převzato z Daniel SE, Lees AJ. Disease Society Brain Bank, London: overview and research. J Neural Transm Suppl 1993; 39: 165–172.

Dále můžeme u pacientů s podezřením na PN provést vyšetření jednofotonovou emisní tomografií (SPECT) realizované na pracovišti nukleární medicíny. U tohoto vyšetření dochází po podání radioaktivní látky, která se váže na presynaptické dopaminové transportéry, k průkazu presynaptického dopaminergního deficitu ve striatu. Nedokáže však odlišit PN od jiných onemocnění, u nichž je postižen jak presynaptický, tak postsynaptický oddíl dopaminergního systému jako jsou multisystémová atrofie či progresivní supranukleární paralýza.

Příčiny parkinsonismu lze rozdělit do čtyř skupin: primární (idiopatický) parkinsonismus, sekundární (symptomatický) parkinsonismus, heredodegenerativní parkinsonismus a parkinson-plus syndromy. PN tvoří asi 80% všech případů

parkinsonského syndromu. Dalších 10% představují symptomatické parkinsonské syndromy, která provázejí různá postižení mozku (cévní onemocnění, metabolické poruchy, opakovaná traumata CNS, toxické a polékové poruchy, aj.). U dalších cca 10% je příčinou parkinsonského syndromu jiné degenerativní onemocnění CNS, jako jsou např. progresivní supranukleární paralýza, multisystémová atrofie, Alzheimerova nemoc, demence s Lewyho tělísky, kortikobazální degenerace či Guamský komplex. (Tab.1.5.).

Tab. 1.5 Příčiny parkinsonského syndromu

Primární parkinsonismus (idiopatická Parkinsonova nemoc) – 80%
Sporadická
Známa (prokázána) genetická etiologie
Sekundární parkinsonismus (enviromentální etiologie) – 10%
Léky
Blokátory dopaminergních receptorů (především antipsychotika)
Látky snižující schopnost ukládání dopaminu (reserpin, tetrabenazin)
Postencefalitický
Toxiny: Mn, CO, MPTP, kyanid
Vaskulární
Mozkové tumory
Kraniocerebrální tramata
Normotenzní hydrocefalus
Parkinson-plus syndromy – 5-10%
Progresivní supranukleární paralýza
Multisystémová atrofie
Kortikobazální degenerace
Demence s Lewyho tělísky
Guamský komplex (Parkinson-demence-ALS komplex)
Heredodegenerativní onemocnění – 5-10%
Alzheimerova demence
Wilsonova nemoc
Huntingtonova nemoc
Frontotemporální demence (mutace tau proteinu vázaná na chromozomu 17q21)
X-vázaná dystonie – parkinsonismus (u Filipínských mužů, známá jako Lubag)

Převzato z Fahn S. Description of Parkinson's Disease as a Clinical Syndrome Ann. N.Y. Acad. Sci. 991: 1–14 (2003).

1.1.5 Terapie

Medicínské poznání ani na počátku 21. století stále nenabízí žádný kauzální lék, který by mohl vyléčit PN a v současnosti není ani znám účinný postup, který by vedl ke zpomalení progresu PN. Nicméně máme v současné době k dispozici několik terapeutických možností, za jejichž přispění můžeme účinně tlumit symptomy a zlepšit tak kvalitu života pacientů s PN. Některé příznaky, především symptomy v počátečních stádiích onemocnění jsou velmi dobře ovlivnitelné, jiné, především pak příznaky non-motorické a symptomy pozdního stadia PN, jsou ovlivnitelné hůře a některé dokonce prakticky vůbec. Terapeutické možnosti současnosti jsou prakticky trojí: farmakologické, rehabilitační a neurochirurgické.

Při zahájení léčby a volbě optimální léčebné strategie bereme v úvahu několik faktorů. Především kognitivní stav, dále je nutno vzít v úvahu anamnézu psychotické poruchy, tíži funkčního postižení a v neposlední řadě i věk nemocného.

1.1.5.1 Farmakoterapie PN

Hlavní těžiště medikamentózní terapie PN je v symptomatických postupech zahrnující substituci chybějícího dopaminu a kompenzaci sekundární mediátorové dysbalance. Současná farmakoterapie mění klinický obraz onemocnění tak, že na jedné straně potlačuje příznaky nemoci, ale na druhé zase sama může způsobovat nežádoucí příznaky, jako jsou pozdní hybné komplikace a psychické poruchy. S postupnou progresí onemocnění je nutné stálé navyšování dávek medikace, což zvyšuje výskyt nežádoucích účinků. Dle některých prací po 5 letech terapie L-DOPA trpí až 50% pacientů pozdními komplikacemi souvisejícími s terapií. Dochází ke snížení efektivity dopaminergní medikace a zužování tzv. terapeutického okna. K omezení výskytu pozdních komplikací navozených L-DOPA je nutné její přesné dávkování a optimální kombinace s dalšími preparáty.

L-DOPA je stále vnímána jako tzv. „zlatý standard“ léčby PN, a to v jejím časném i pokročilém stadiu. V pokročilém stadiu onemocnění užívají v nějaké formě L-DOPA prakticky všichni pacienti, kteří jsou léčeni pro idiopatickou Parkinsonovu nemoc. L-DOPA sama o sobě není léčivou molekulou, ale prekurzorem dopaminu. Na rozdíl od dopaminu je ale aktivně transportována přes střevní stěnu (vstřebává se v duodenu a hlavně v jejunu), a bez problémů přestupuje přes hematoencefalickou bariéru. L-DOPA je fragilní molekula a na periférii i v CNS je poměrně rychle

metabolizována několika enzymy. Na periférii je metabolizována dopa-dekarboxylázou (DDC), katechol-O-methyltransferázou (COMT) a monoaminoxidázou B (MAO-B). V CNS je metabolizována COMT, MAO-B, DDC a monoaminoxidázou A (MAO-A). Zbývající, nezmetabolizovaný objem L-DOPA se pomocí hematogenního a extracelulárního transportu dostává k buňkám striata, kde je tato L-DOPA metabolizována na dopamin a působí na dopaminergních receptorech (všech tříd, zejména ale D2) jako náhrada za dopamin endogenní.

Léčba L-DOPA je ve všech doporučeních vnímána jako efektivní a dostatečně bezpečná. Kromě intoxikace při předávkování, která se většinou manifestuje psychiatrickou symptomatikou, je za jediný závažnější nežádoucí účinek považována ortostáza. Po několikaleté léčbě dochází k habitaci efektu L-DOPA a tzv. re-settingu („přenastavení“) dopaminergních receptorů. Podobně jsou ovlivňovány receptory zpětnovazebné v oblasti substantia nigra. Tyto dva děje jsou příčinou vzniku tzv. wearing-off fenoménu (zkracování efektu dávky) a fluktuací, nejčastěji charakteru on-off a dyskinezií.

U významně pokročilého a komplikovaného stadia PN, kdy perorální podávání léků (jakýchkoliv, nejen L-DOPA) je problematické pro poruchu vstřebávání v horní části gastrointestinálního traktu, je možnost terapie L-DOPA ve formě gelu v podobě kontinuální duodenální infuze pomocí sondy vedené cestou perkutánní gastrostomie. K tomuto účelu se používá programovatelná pumpa, kterou pacient nosí po celý den připevněnou na těle. V amerických i evropských doporučeních je tento druh léčby považován za ultimum refugium therapiae.

Další možností farmakoterapie jsou tzv. dopaminergní agonisté. Jedná se o poměrně heterogenní skupinu molekul, jejichž společnou vlastností je afinita k dopaminovým receptorům (všech tříd, převážně ale D2) v mozku. Preparáty jsou podle chemické struktury molekuly děleny do dvou skupin, na ergolinové a non-ergolinové. Preparáty s ergolinovou strukturou mohou způsobit fibrotizaci, jejímiž nejzávažnějšími projevy jsou retroperitoneální fibróza a fibrotizace srdečních chlopní. V současné době jsou v České republice prakticky nejvíce používané molekuly ropinirol a pramipexol, méně pak již rotigotin. Oba patří mezi non-ergolinové dopaminergní agonisty s vysoce selektivní afinitou k D2 receptorům a poměrně dlouhým biologickým poločasem (pramipexol 12 hodin a ropinirol až 18 hodin). K asi nejzávažnějším vedlejším účinkům těchto preparátů patří projevy ortostázy. Občas se projevuje i gastrointestinální intolerance, nauzea, psychické komplikace –

především behaviorální poruchy (hypersexualita, gambling, punding), syndrom náhlého usnutí a otoky nohou. Rotigotin je také non-ergolinový preparát, který je silným agonistou receptorů D3 a slabším agonistou receptorů D2. Je používán ve formě transdermálního systému, který umožňuje tzv. kontinuální uvolňování účinné látky do krevního oběhu. Doporučení shodně uvádějí dobrou snášenlivost rotigotinu s minimem nežádoucích účinků, jejichž množství však významně narůstá, je-li denní dávka vyšší než 24 mg.

Apomorfin je patrně nejstarší klinicky užívaný preparát ze skupiny dopaminergních agonistů. Jedná se o velmi potentního a přímého agonistu receptorů D1 a D2. Jeho chemická struktura je velmi blízká struktuře endogenního dopaminu. Nevýhodou apomorfinu je nutnost parenterálního podání (velmi rychle je totiž metabolizován v zažívacím traktu) a velmi krátký biologický poločas, udávaný mezi 50–70 minutami. Evropská doporučení jmenují léčbu ve formě kontinuálních subkutánních infuzí, nebo ve formě jednorázových, tzv. „rescue“ injekcí u pacientů s častými, nepředvídatelnými a invalidizujícími „off“ zvraty. Americká doporučení uvádějí pouze léčbu pomocí „rescue“ injekcí (apomorfin není FDA schválen k léčbě pomocí subkutánních infuzí). V obou případech je použití omezeno na nejzávažnější stavy pokročilého stádia PN.

Další skupinou léků využívaných v terapii PN jsou inhibitory COMT. Tyto léky byly vyvíjeny se záměrem napodobit efekt dopa-dekarboxylázy a inhibitorů monoaminoxidázy, a zablokovat další cestu metabolického rozkladu podané L-DOPA. Na periférii i v mozku je L-DOPA (kromě jiného) metabolizována právě tímto enzymem (COMT). Preparáty lze pochopitelně podávat pouze v kombinaci s L-DOPA.

V současné době jsou k dispozici dva preparáty – entacapon a tolcapon. Entacapon působí jako inhibitor COMT pouze periferně, nicméně jeho účinnost je vysoká. Redukce dávky L-DOPA při podávání entacaponu bývá až o 30–40%. Nežádoucí účinky jsou minimální, nejčastěji je popisováno pouze oranžové zbarvení moči. Tolcapon je v současné době podáván pouze za speciálních podmínek (kritéria, časté kontroly apod.) ve Spojených státech, některých státech Jižní Ameriky a v některých státech v Evropě, mezi nimi i v České republice. Důvodem přísných podmínek podávání tolcaponu byly publikované případy fulminantní hepatální nekrózy při podávání tolcaponu, která přechodně vedla dokonce ke stažení preparátu z trhu.

Někdy jsou používány v terapii i inhibitory monoaminoxidázy B – selegilin a rasagilin. Předpokládá se, že svým působením blokuje Fentonovu reakci a tím redukuje riziko oxidativního stresu redukcí tvorby volných radikálů. Zatím jsou volné radikály považovány za důležitý činitel v průběhu apoptózy. Zároveň blokadou MAO-B, jednoho z enzymů, metabolizujících L-DOPA na periférii i v CNS, zvyšují její využitelnost. Velké klinické studie prokázaly, že skutečně léčba selegilinem oddaluje potřebu zahájení léčby L-DOPA. Neproklázaly však přesvědčivě předpokládaný neuroprotektivní efekt, tj. zpomalení progresu nemoci. Klinická studie ADAGIO pak prokázala efekt rasagilinu na motorické fluktuace v pokročilém stádiu PN.

Amantadin je lék původně vyvinutý jako antivirotikum. Akcidentálně však byl pozorován významný pozitivní efekt této léčby na příznaky PN. Amantadin je výhodný v monoterapii. Specifickým použitím amantadinu je infuzní léčba roztokem amantadin-sulfátu, která je používána v případech selhávání dopaminergní léčby a nástupu výrazné hypokinezy a rigidity u fluktuujících pacientů s PN.

Anticholinergika jsou patrně nejstarší léky používané k léčbě PN. Anticholinergiky jsou totiž přírodní alkaloidy atropin a skopolamin, a tinctura belladonae byla k ovlivnění parkinsonské symptomatologie používána již dávno. Výhodou anticholinergik je snadné podávání, nevýhodou je poměrně vysoká incidence nežádoucích účinků z psychiatrické oblasti, zejména halucinací a kognitivních poruch. Z tohoto důvodu se nedoporučuje podávání anticholinergik u pacientů starších 60 let. Nevýhodou je také nutnost postupného vysazení, náhlé vysazení může způsobit abstinenční příznaky. Výhodou, kterou je třeba zmínit, je selektivní velmi dobrá účinnost u tremor-dominantních forem PN a pozitivní ovlivnění vegetativních příznaků, např. hypersalivace.

1.1.5.2 Chirurgická léčba

I přes výrazné pokroky posledních asi 25 let a dostupnost nových preparátů účinných v terapii PN stále u některých pacientů v pokročilém stadium onemocnění již není efekt veškeré dostupné farmakoterapie dostačující. Pro některé z těchto pacientů je vhodnou metodou léčby stereotaktická chirurgie.

Výrazný rozvoj stereotaktické lezionální chirurgie s efektem na některé příznaky PN, především pak na třes nastal již v 50. letech 20. století. Tedy již před zavedením terapie L-DOPA. Především se přistupovalo k pallidotomii, později pro

lepší efekt na tremor byla rozšířeným lezionálním výkonem thalamotomie. Od konce 60. let minulého století pak převládla s nástupem éry L-DOPA opět farmakoterapie a stereotaktická chirurgie na čas ustoupila do pozadí.

Od roku 1987 je ve světě možnost léčby metodou hluboké mozkové stimulace (DBS z angl. deep brain stimulation). Benabid a kol. v té době implantovali a počátkem 90.let pak i publikovali práce o efektu elektrické vysokofrekvenční stimulace pomocí elektrod zanořených do oblasti subthalamického Luysova jádra na příznaky PN. Na přelomu tisíciletí pak tato terapeutická metoda dosáhla významného rozvoje a v současné době je považována za standardní metodu terapie pokročilého stádia PN za předpokladu splnění indikačních kritérií.

Metoda DBS má oproti klasickým lezionálním zákrokům nespornou výhodu v reverzibilitě jejich účinků. Pacient má zavedeny do oblasti mozku většinou 2 elektrody, které jsou propojeny kabelem vedoucím v podkoží hlavy a krku až k vlastnímu neurostimulátoru, který je uložen většinou v podklíčkové oblasti (podobně jako kardiostimulátor) někdy v podkoží břicha.

Dosud není přesně znám patofyziologický proces, ke kterému dochází při vysokofrekvenční elektrické stimulaci struktur, uložených hluboko v mozku. Nejspíše se jedná hned o několik různých procesů. Zvažuje se, že vysokofrekvenční elektrické stimuly snižují práh dráždivosti na neuronálních synapsích a blokují depolarizaci synaptické membrány, další práce zase pojednávají o pravděpodobné inhibici synaptických spojů, navozené stimulací.

Jako cíl hluboké mozkové stimulace se u pacientů s PN používá nejčastěji subthalamické jádro (STN) nebo vnitřní pallidum (Gpi), v některých případech může mít dobrý efekt i stimulace některých jader thalamu. V současné době je preferovaným cílem STN, nicméně i další cíle, především pak GPI, mohou být v terapii nápomocny a v některých případech upřednostněny.

V terapii hlubokou mozkovou stimulací i při její indikaci a přípravě o pacienta pečují tým několika specialistů (neurochirurg, neurolog, psycholog, někdy i internista a psychiatr). Lékaři nejprve pacientovi vždy vysvětlí, co všechno se dá očekávat od léčby hlubokou mozkovou stimulací, jaká sebou tato léčba nese rizika. K léčbě hlubokou mozkovou stimulací jsou indikováni pacienti s diagnózou idiopatické PN, trpící mimovolnými pohyby či těžkými stavy ztuhlosti a nehybnosti, které svojí tíží či trváním pacienta výrazně omezují v jeho běžných denních aktivitách. A současně se tyto potíže nedaří dostatečně ovlivnit ani při vyčerpání všech možností

farmakologické léčby. Na druhou stranu výkon je rizikový pro pacienty vyššího věku, kteří současně trpí dalšími chronickými onemocněními, především kardiovaskulárního aparátu, nebo se u nich vyskytly psychiatrické komplikace PN.

Účinek terapie DBS na projevy sekundárního parkinsonského syndromu podmíněného jinými neurodegenerativními onemocněními není jednoznačný, proto v současné době je metoda DBS indikována pouze u idiopatické PN.

Oboustranná stimulace subthalamického jádra vede k výraznému zlepšení motorických symptomů PN. Dle některých studií dochází ke zlepšení stavů ztuhlosti o 40-70%. V několika dlouhodobých sledováních u velkého počtu pacientů léčených hlubokou mozkovou stimulací subthalamického jádra, došlo po 12 měsících léčby ke zlepšení třesu o 81%, ztuhlosti neboli rigidity o 63%, zpomalenosti či bradykineze o 52%, chůze o 64% a poruch rovnováhy o 69%, ve srovnání se stavem před zahájením terapie DBS. Hluboká mozková stimulace také umožňuje často značnou, až 50% redukci další dopaminergní terapie, což je jistě také její značnou výhodou, především pro výše zmíněné pozdní nežádoucí účinky dlouhodobé terapie vysokými dávkami dopaminergních preparátů.

Nežádoucí účinky terapie DBS jsou relativně časté, nicméně jedná se převážně o nežádoucí účinky reverzibilní, často dobře ovlivnitelné úpravou stimulačních parametrů. Mezi možné nežádoucí účinky vlastní stimulace pak patří dyskinezy, snížení efektu L-DOPA, dysartrie, apraxie pohybů očních bulbů, poruchy chůze, mydriáza, parestezie, přibývání na váze, psychiatrické efekty. Nežádoucí účinky vlastního neurochirurgického zákroku, jako krvácení, infekce apod. se vyskytují pouze asi u 3% případů. Indikace k terapii DBS a její realizace je prováděna pouze na úrovni center s dostatečnými zkušenostmi v terapii hlubokou mozkovou stimulací.

1.1.5.3 Rehabilitace

Nedílnou součástí léčebné péče o pacienta s PN jsou režimová opatření, rehabilitace, cvičení a pohybová reedukace, jejichž cílem je aktivní potlačování těch příznaků, které mohou být překonány, úpravy režimu a tvorba náhradních stereotypů. Léčebná rehabilitace působí pak nejen na úrovni motoriky, ale také psychiky

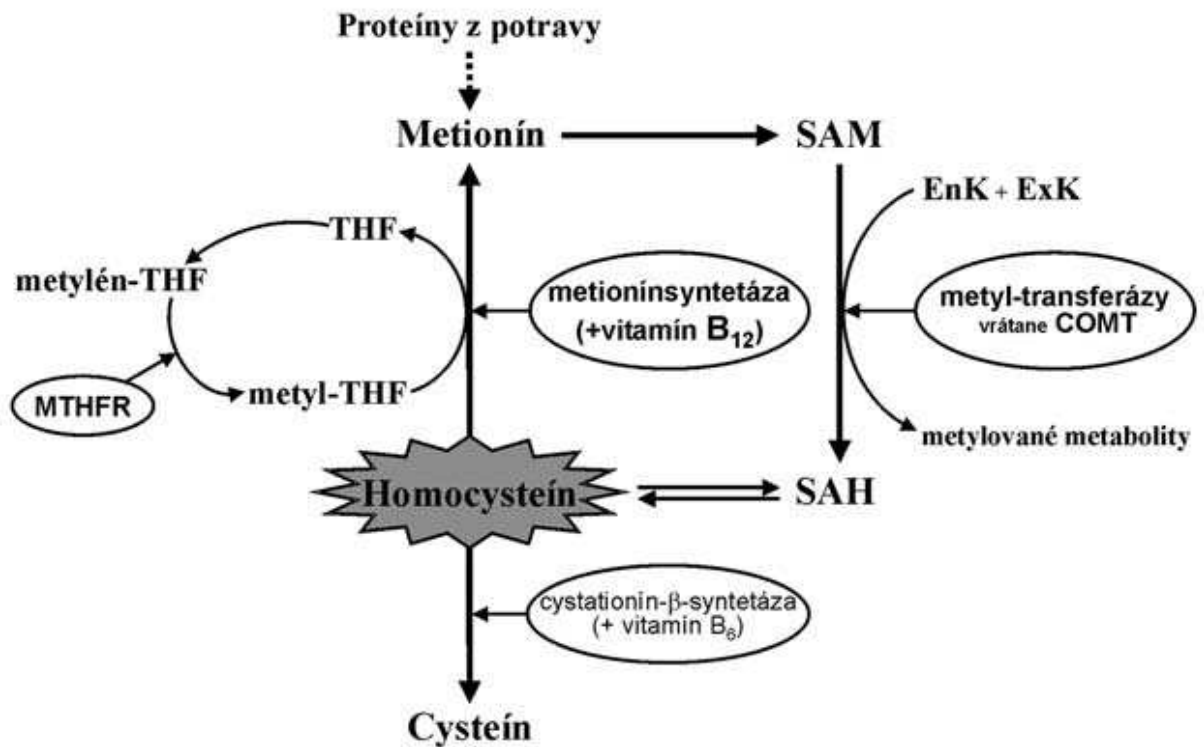
pacienta. V současné době je preferován komplexní přístup v rehabilitačních metodách. Základem je samozřejmě fyzioterapie, především pak nácvik chůze, dechová cvičení, nácviky k překonání freezingu a v poslední době je především v severní Americe využíváno hojně i technik jógy či tai-chi. Nicméně u pacientů s PN má v rehabilitaci nezastupitelné místo i rehabilitace řeči a polykání, muzikoterapie, balneoterapie, a také ergoterapie.

1.2 Úvod do analýzy plazmatické hladiny homocysteinu

Homocystein (HCY) je rizikový faktor vzniku vaskulárních onemocnění, kognitivních poruch a demence. Komorbidita cerebrovaskulárních chorob a kognitivní dysfunkce mají negativní vliv na prognózu PN, a proto je nutno rizika jejich vzniku minimalizovat. Jednou z metabolických cest vzniku HCY v organismu je periferní metabolismus L-DOPA přes enzym katechol-O-methyltransferázu (COMT). Některá sledování potvrdily zvýšenou hladinu HCY v plazmě u pacientů s PN dlouhodobě léčených preparáty s L-DOPA. Další práce se zvířecími modely ukazují, že současné podávání inhibitorů COMT může tuto exogenně podávanou L-DOPA indukovanou hyperhomocysteinémií (HHCY) eliminovat. Byly publikovány i retrospektivní studie, přičemž některé tento fakt potvrdily a jiné nikoli.

HCY je meziproduktem v metabolismu esenciální aminokyseliny s obsahem síry – methioninu. Odbourávání HCY je zprostředkováno především dvěma různými ději – zpětnou remetylací na methionin nebo transsulfurací na cystein. Při prvním způsobu je klíčovým enzymem celého metabolického pochodu metylentetrahydroxyfolátreduktáza (MTHFR) a jako kofaktor se zde spolupodílí kyselina listová a vitamin B12. Při druhé cestě je kofaktorem vitamin B6. Z uvedeného vyplývá, že zvýšení hladiny HCY může být způsobeno buď zvýšeným příjmem HCY do organismu, což je případ pacientů s PN léčených L-DOPA, nebo jeho sníženým odbouráváním, které může být způsobeno nedostatečnou aktivitou enzymů remetylace a transsulfurace anebo nedostatkem kofaktorů – folátu a vitaminů B12 a B6. Podrobnější schéma metabolismu homocysteinu je uvedeno na obr.1.2. Dle platných norem se za fyziologické hodnoty hladiny HCY považuje jeho plazmatická koncentrace do 15 $\mu\text{mol/l}$, ale některé studie prokázaly, že i nižší hladiny HCY jsou spjaty se zvýšeným rizikem vaskulárního postižení a doporučují za horní hranici normy pokládat hladinu 12 $\mu\text{mol/l}$.

Obr 1.2 Metabolismus homocysteinu. SAM – S-adenosylmethionin; SAH – S-adenosyl-homocystein; EnK – endogenní komponenty (DNA, RNA, fosfolipidy, myelin, katecholaminy, steroidy ...); ExK – exogenní komponenty (léky, fytochemikálie, toxiny ...); COMT – katechol-O-methyltransferáza; THF – tetrahydrofolát; MTHFR – metylentetrahydrofolátreduktáza.



Převzato z Valkovič P, Blažiček P, Benetin J, Kukumberg P. Homocystein, levodopa a Parkinsonova choroba. Čes. a Slov. Neurol. Neurochir. 69/102, 2006; 3:183-188

Příčiny HHCY mohou být buďto vrozené nebo získané. Nejčastější genetickou abnormitou je právě postižení genu pro již zmíněný enzym MTHFR. V homozygotní formě se tato mutace vyskytuje asi u 10-12% kavkazské populace. Ostatní genetické abnormity jsou spíše raritní. Získané příčiny HHCY jsou především karenční deficit kofaktorů (folátu a vitaminu B12), dále hypotyreóza, chronické selhání ledvin nebo dlouhodobý vliv některých léků.

1.2.1 Úloha plazmatické hladiny homocysteinu v etiopatogenezi vaskulárních onemocnění a demence

Vliv zvýšené plazmatické hladiny homocysteinu při rozvoji vaskulárních onemocnění srdce i mozku a také na vznik demence byl popsán a pozorován v několika velkých epidemiologických studiích. Na základě metaanalýzy několika velkých prospektivních studií bylo dokonce popsáno zvýšení rizika kardiovaskulárních onemocnění při zvýšení hladiny HCY o 5 $\mu\text{mol/l}$ až o 60% u mužů a dokonce o 80% u žen. Podobně na základě 8-letého sledování více jak tisíce pacientů tzv. Framinghamského registru bylo popsáno zvýšení rizika vzniku Alzheimerovy nemoci o 40% při každém navýšení plazmatické hladiny HCY o 5 $\mu\text{mol/l}$. Nicméně přesné patogenetické mechanismy HCY na vzniku trombózy či na neurotoxicitě nebyly detailně objasněny.

Pozdější práce prokázaly i výraznější změny při vyšetření magnetickou rezonancí mozku (měření objemu, porovnání atrofie mozku, postižení bílé hmoty) u starších pacientů se zvýšenou hladinou HCY v plazmě. V některých studiích byla tato korelace potvrzena i při měření hladiny HCY v mozkomíšním moku.

Je zvažován kombinovaný efekt několika faktorů. HCY svým působením patrně aktivuje tzv. „endothelial cell issue factor“ a dále svým působením stimuluje trombocyty k tvorbě tromboxanu A₂ a inaktivuje protein C, což vede ke zvýšenému procesu trombózy.

Na procesu aterosklerózy se pak HCY podílí jednak svojí přímou endoteliální cytotoxicitou, kdy inhibuje syntézu DNA buněk endotelu a dále způsobuje poruchu uvolňování oxidu dusnatého z endotelu a tím vede k poruše vazodilatace. Dále HCY zřejmě přispívá k tvorbě volných radikálů a indukuje mitogenezi buněk hladké svaloviny cév a vede k hyperplazii intimy.

Cévní změny navozené účinkem elevované plazmatické hladiny HCY patrně vedou i ke vzniku demence. Nicméně jsou zvažovány i další možné faktory hyperhomocysteinémie, vedoucí k neurodegenerativním změnám. Především pak se předpokládá, že HCY potencuje neurotoxicitu amyloidu β a nejspíše i přímo aktivuje NMDA receptory a potencuje tak glutamátovou excytotoxicitu.

1.2.2 Úloha plazmatické hladiny homocysteinu v etiopatogenezi periferní neuropatie

Výše uvedené zvažované mechanismy zvýšené plazmatické koncentrace HCY, které vedou k vaskulárnímu poškození a procesu apoptózy a neurodegenerace na úrovni CNS, by patrně mohly vést i k poškození nervových buněk v oblasti periferních nervů. HCY a také S-adenosyl-methionin (derivát při metabolismu L-DOPA na HCY) indukují zvýšenou syntézu nervového růstového faktoru (nerve growth factor), což vede k poškození neuronů. Tuto teorii potvrzuje Müllerova práce z roku 2004, kdy hodnocení hladiny HCY u pacientů s PN a u zdravých kontrol, dále elektromyografické vyšetření vedení nervus suralis oboustranně a vyšetření percepčního čítí prokázalo signifikantně větší axonální poškození senzitivního nervu ve skupině pacientů s PN se zvýšenou hladinou HCY.

1.2.3 Analýza homocysteinu v krevní plazmě

Vyšetření koncentrace celkového homocysteinu (HCY) v krvi (plazmě či séru) je citlivý ukazatel deficitu folátu (vitamin B8) a kobalaminu (vitamin B12). HCY je nezávislý rizikový faktor aterosklerózy, kardiovaskulárních i cerebrovaskulárních onemocnění a nejspíše i kognitivních poruch a demence. Stanovení hladiny HCY v krevní plazmě je dostupným vyšetřením již od počátku 80. let 20.století, ale až s příchodem imunoanalýzy v polovině 90. let se dostalo z pole výzkumného do rutinní praxe.

HCY je v plazmě poměrně nestabilní, nicméně problémy s tím spojené při biochemické analýze byly již překonány. Ke stanovení hladiny HCY se používají chromatografické nebo enzymatické metody. Tradičně je doporučeno stanovení hladiny HCY v plazmě, protože použití antikoagulancií umožňuje okamžité zpracování vzorku. Sérum má nižší analytický výnos než krevní plazma.

Běžný příjem potravin neovlivňuje u zdravých lidí koncentraci HCY. Nicméně nadměrný příjem potravin bohaté na proteiny může po 6-8hodinách jeho koncentraci zvýšit o 10-15%. Proto je optimální odběr krve ráno či dopoledne po 12 hodinovém lačnění. Vzorky krve nabírané vleže mají koncentraci o cca 10% nižší než vsedě, proto je doporučeno provádět odběr v polosedě.

HCY je uvolňován z erytrocytů. Falešnému zvýšení plazmatické hladiny HCY lze tedy předejít okamžitou centrifugací odebrané krve a oddělením krevních buněk nebo udržením vzorku v chladu, dokud nebude zcentrifugován. Používáním separačních gelů se také předejde zvyšování koncentrace HCY. Jako optimální je tedy většinou biochemických laboratoří doporučováno stanovení z EDTA plazmy, po náběru vzorku jej ihned umístit do chladné vodní lázně o teplotě 4°C a do 60 minut zpracovat centrifugací.

Spousta biologických faktorů, jako genetické vlivy, životní styl, různé nemoci a léky, ovlivňují hladinu HCY. Nejběžnější genetickou abnormalitou, která je spojena se zvýšenou koncentrací HCY je polymorfismus pro MTHFR 677C-T. Jedinci s genotypem MTHFR 677TT mají obvykle o 2 μ mol/l vyšší hladiny HCY než jedinci s polymorfismem MTHFR 677CC. Většina jiných genetických polymorfismů u kavkazské populace nemá výraznější vliv na koncentraci HCY v krevní plazmě. Koncentrace HCY se mění i během života, od dětství do stáří roste jeho hodnota až dvojnásobně. Muži mají vyšší koncentraci HCY než ženy, ale s věkem se tento rozdíl snižuje na nevýznamný. Koncentrace HCY je také nižší během těhotenství, zřejmě vlivem hemodiluce. Vyšší hodnoty HCY v krevní plazmě jsou dále zjišťovány u osob s poruchou renálních funkcí a zvýšenou hladinou kreatininu. Koncentrace HCY je různá i u různých etnických skupin.

2. Plazmatická hladina homocysteinu a idiopatická Parkinsonova nemoc

2.1 Ovlivnění plazmatické hladiny homocysteinu u pacientů s Parkinsonovou chorobou terapií L-DOPA a entacaponem.

Nevrlý M, Kaňovský P, Vranová H, Nestrašil I, Langová K. Ovlivnění plazmatické hladiny homocysteinu u pacientů s Parkinsonovou chorobou terapií L-DOPA a entacaponem. *Cesk Slov Neurol N* 2008;71/104 **IF 0,319**

Souhrn:

Úvod: Homocystein (HCY) je rizikový faktor vaskulárních onemocnění, kognitivních poruch a demence. Jednou z metabolických cest vzniku HCY v organismu je periferní metabolismus L-DOPA přes enzym katechol-O-methyltransferázu (COMT). Některé retrospektivní studie potvrdily zvýšenou hladinu HCY v plazmě u pacientů s Parkinsonovou chorobou dlouhodobě léčených preparáty s L-DOPA. Cílem studie bylo posoudit souvislost mezi pravidelnou terapií L-DOPA a hladinou HCY v plazmě a její ovlivnění současným podáváním inhibitoru COMT (entacapon).

Metodika: Pacienty jsme rozdělili do 3 skupin: 1. - pacienti dlouhodobě v terapii L-DOPA, kterým byl přidán entacapone (30 pacientů ve věku 50-82 let, průměr $68,5 \pm 8,5$); 2. - pacienti L-DOPA naivní, u nichž byla zahájena terapie L-DOPA v kombinaci s entacapone (10 pacientů ve věku 56-74 let, průměr $67,7 \pm 6,6$); 3. – kontrolní skupina pacientů, kteří netrpí neurodegenerativním onemocněním a není jim podávána terapie L-DOPA ani entacapone (21 pacientů ve věku 38-78 let, průměr $51,7 \pm 11,1$).

Výsledky: V 1.skupině byla průměrná hladina HCY v plazmě $17,6 \pm 6,6$ ($9,2 - 44,4$) $\mu\text{mol/l}$ a 8 týdnů po přidání entacapone $16,4 \pm 5,5$ ($7,4 - 31,1$) $\mu\text{mol/l}$. Ve 2.skupině byla zjištěna hladina HCY $14,6 \pm 4,7$ ($8,9 - 22,1$) $\mu\text{mol/l}$ a 8.týden současné terapie L-DOPA a entacapone $15,1 \pm 7,3$ ($8,1 - 31,1$) $\mu\text{mol/l}$. U 3. kontrolní byla průměrná hladina HCY v plazmě $9,7 \pm 2,8$ ($6,6 - 16,5$) $\mu\text{mol/l}$.

Diskuze: Výsledky studie potvrzují, že pacienti dlouhodobě léčení preparáty s L-DOPA mají zvýšenou plazmatickou hladinu HCY, ale nepotvrzují hypotézu, že současné podávání terapie entacapone k L-DOPA tuto hladinu významně snižují.

Ovlivnění plazmatické hladiny homocysteinu u pacientů s Parkinsonovou chorobou terapií L-DOPA a entacaponem

The Impact of L-DOPA and Entacapone Therapy on Plasma Level of Homocysteine in Parkinson's Disease Patients

Souhrn

Úvod: Homocystein (HCY) je rizikový faktor vaskulárních onemocnění, kognitivních poruch a demence. Jednou z metabolických cest vzniku HCY v organismu je periferní metabolismus L-DOPA přes enzym katechol-O-metyltransferázu (COMT). Některé retrospektivní studie potvrdily zvýšenou hladinu HCY v plazmě u pacientů s Parkinsonovou chorobou dlouhodobě léčených preparáty s L-DOPA. **Cílem** studie bylo posoudit souvislost mezi pravidelnou terapií L-DOPA a hladinou HCY v plazmě a její ovlivnění současným podáváním inhibitoru COMT (entacaponem). **Metodika:** Pacienty jsme rozdělili do 3 skupin: 1. pacienti dlouhodobě v terapii L-DOPA, kterým byl přidán entacaponem (30 pacientů ve věku 50–82 let, průměr $68,5 \pm 8,5$); 2. pacienti L-DOPA naivní, u nichž byla zahájena terapie L-DOPA v kombinaci s entacaponem (10 pacientů ve věku 56–74 let, průměr $67,7 \pm 6,6$); 3. kontrolní skupina pacientů, kteří netrpí neurodegenerativním onemocněním a není jim podávána terapie L-DOPA ani entacaponem (21 pacientů ve věku 38–78 let, průměr $51,7 \pm 11,1$). **Výsledky:** V 1. skupině byla průměrná hladina HCY v plazmě $17,6 \pm 6,6$ ($9,2$ – $44,4$) $\mu\text{mol/l}$ a 8 týdnů po přidání entacaponem $16,4 \pm 5,5$ ($7,4$ – $31,1$) $\mu\text{mol/l}$. Ve 2. skupině byla zjištěna hladina HCY $14,6 \pm 4,7$ ($8,9$ – $22,1$) $\mu\text{mol/l}$ a 8. týden současné terapie L-DOPA a entacaponem $15,1 \pm 7,3$ ($8,1$ – $31,1$) $\mu\text{mol/l}$. U 3. kontrolní byla průměrná hladina HCY v plazmě $9,7 \pm 2,8$ ($6,6$ – $16,5$) $\mu\text{mol/l}$. **Diskuse:** Výsledky studie potvrzují, že pacienti dlouhodobě léčení preparáty s L-DOPA mají zvýšenou plazmatickou hladinu HCY, ale nepotvrzují hypotézu, že současné podávání terapie entacaponem k L-DOPA tuto hladinu významně snižují.

Abstract

Introduction: Homocysteine (HCY) is a risk factor for vascular diseases, cognitive impairment and dementia. Peripheral metabolism of L-DOPA via enzyme catechol-O-methyltransferase (COMT) is one of the possible sources of HCY. Some retrospective studies showed increased plasma HCY concentrations in patients suffering from Parkinson's disease (PD) and long-term treatment with L-DOPA. **The aim** of the study was to assess association between regular L-DOPA treatment and plasma HCY levels in Parkinson's disease patients and the impact of additional treatment by the COMT inhibitor (entacapone). **Methods:** Patients were divided into 3 groups: 1 – patients who received long-term treatment with L-DOPA with added entacapone (30 patients, aged 50–82 years, mean $68,5 \pm 8,5$); 2 – L-DOPA naive patients newly treated with L-DOPA and entacapone (10 patients, aged 56–74 years, mean $67,7 \pm 6,6$); 3 – control group of subjects without any neurodegenerative disease who were not treated with L-DOPA and entacapone (21 patients, aged 38–78 years, mean $51,7 \pm 11,1$). **Results:** In Group 1 the mean plasma HCY concentration was $17,6 \pm 6,6$ ($9,2$ – $44,4$) $\mu\text{mol/l}$ and 8 weeks after adding entacapone it reached $16,4 \pm 5,5$ ($7,4$ – $31,1$) $\mu\text{mol/l}$. In Group 2 the mean plasma HCY level was $14,6 \pm 4,7$ ($8,9$ – $22,1$) $\mu\text{mol/l}$ and 8 weeks after combined therapy of L-DOPA and entacapone it reached $15,1 \pm 7,3$ ($8,1$ – $31,1$) $\mu\text{mol/l}$. In control group the mean plasma HCY level was $9,7 \pm 2,8$ ($6,6$ – $16,5$) $\mu\text{mol/l}$. **Discussion:** Results of this study confirm, that patients with long-term treatment with L-DOPA have increased plasma HCY concentrations. The combined treatment with L-DOPA and entacapone, however, do not significantly decrease HCY plasma levels.

M. Nevrlý¹, P. Kaňovský¹,
H. Vranová¹, I. Nestrašil¹,
K. Langová²

¹ Neurologická klinika LF UP,
FN Olomouc,
² Ústav lékařské biofyziky,
UP Olomouc



MUDr. Martin Nevrlý
Neurologická klinika FN a UP
I.P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
e-mail: nevrlly.martin@post.cz

Přijato k recenzi: 20. 4. 2007
Přijato do tisku: 5. 10. 2007

Klíčová slova

homocystein – Parkinsonova choroba –
entacaponem – L-DOPA

Key words

homocysteine – Parkinson's disease –
entacapone – L-DOPA

Úvod

Homocystein (HCY) je rizikový faktor vzniku vaskulárních onemocnění, kognitivních poruch a demence. Komorbidita cerebrovaskulárních choroba a kognitivní dysfunkce mají negativní vliv na prognózu Parkinsonovy nemoci (PN), a proto je nutno rizika jejich vzniku minimalizovat [1–5]. Jednou z metabolických cest vzniku HCY v organismu je periferní metabolismus L-DOPA přes enzym katechol-O-metyltransferázu (COMT). Některá sledování potvrdila zvýšenou hladinu HCY v plazmě u pacientů s PN dlouhodobě léčených preparáty s L-DOPA [6–12]. Další práce se zvířecími modely ukazují, že současné podávání inhibitorů COMT může tuto exogenně podávanou L-DOPA hyperhomocysteinemii (HHCY) eliminovat. Byly publikovány i retrospektivní studie, přičemž některé tento fakt potvrdily [11,13], a jiné nikoli [14].

HCY je meziproduktem v metabolismu esenciální aminokyseliny s obsahem síry – methioninu. Odbourávání HCY je prostředkováno především dvěma různými ději – zpětnou remetylací na methionin nebo transsulfurací na cystein [15,16]. Při prvním způsobu je klíčovým enzymem celého metabolického pochodu metylentetrahydroxyfolátreduktáza (MTHFR) a jako kofaktor se zde spolupodílí kyselina listová a vitamin B₁₂. Při druhé cestě je kofaktorem vitamin B₆. Z uvedeného vyplývá, že zvýšení hladiny HCY může být způsobeno buď zvýšeným příjmem HCY do organismu, což je případ pacientů s PN léčených L-DOPA, nebo jeho sníženým odbouráváním, které může být způsobeno nedostatečnou aktivitou enzymů remetylace a transsulfurace anebo nedostatkem kofaktorů – folátu a vitaminů B₁₂ a B₆. Dle platných norem se za fyziologické hodnoty hladiny HCY považuje jeho plazmatická koncentrace do 15 μmol/l [17], ale některé studie prokázaly, že i nižší hladiny HCY jsou spjaté se zvýšeným rizikem vaskulárního postižení a doporučují za horní hranici normy pokládat hladinu 12 μmol/l [18–23].

Příčiny HHCY mohou být buďto vrozené nebo získané. Nejčastější genetickou abnormalitou je právě postižení genu pro již zmíněný enzym MTHFR. V homozygotní

formě se tato mutace vyskytuje asi u 10 až 12 % populace [24]. Ostatní genetické abnormality jsou spíše raritní. Získané příčiny HHCY jsou především kareční deficit kofaktorů (folátu a vitaminu B₁₂), dále hypotyreóza, chronické selhání ledvin nebo dlouhodobý vliv některých léků [16].

Poprvé na konci 60. let McCully publikoval kazuistiku 2 dětí s HHCY a extrémně těžkým aterosklerotickým postižením [25]. Následné velké studie prokázaly příčinnou souvislost mezi HHCY a aterosklerózou cév, arteriální i žilní trombózou [18,20,21,26], ale i demencí a Alzheimerovou chorobou [4,27,28] a postižením periferních nervů [29]. Nicméně přesnou patogenézi těchto dějů dosud neznáme [30].

Poprvé pozorovali v roce 1995 Allain et al vyšší hladinu HCY u pacientů s PN ve srovnání se stejnou populací zdravých osob [31]. V tu dobu nejen on předpokládal přímou souvislost mezi HHCY a PN [32]. Až později studie Müllera et al tuto hypotézu vyvrátila, když při srovnání skupin pacientů s PN byla signifikantně vyšší hladina HCY zjištěna ve skupině dlouhodobě léčených pacientů L-DOPA oproti skupině L-DOPA-naivních pacientů [8]. To bylo následně potvrzeno i v dalších publikacích [6,9–13,33–36]. Cílem našeho sledování bylo zjistit, zda takto zvýšená hladina HCY u pacientů trpících PN může být změněna podáváním inhibitoru COMT (entacapone), a to jak u pacientů dlouhodobě léčených L-DOPA, tak i u pacientů L-DOPA-naivních.

Pacienti a metodika

Všichni pacienti zařazení do studie splňují kritéria United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank (UK-PDBB) pro diagnózu idiopatické PN [37] byli rozděleni do dvou skupin. Skupina 1 byla tvořena 30 pacienty (18 muži a 12 ženami) dlouhodobě léčenými L-DOPA (nejméně po dobu jednoho roku a dávkou alespoň 400mg/den), průměrný věk byl 68,5 roku (SD ± 8,5), průměrný věk výskytu prvních příznaků onemocnění byl 61, 0 roku (SD ± 9,3), průměrná doba trvání onemocnění byla 7,5 roku (SD ± 4,2), průměrná denní dávka L-DOPA byla 560,8 mg (SD ± 208,6), průměrná doba trvání léčby

L-DOPA byla 6,1 roku (SD ± 3,8) a průměrná denní dávka entacapone byla 883,3 mg (SD ± 144,0). U všech pacientů byl na začátku sledování k L-DOPA přidáván entacapone, a to tak, že ke každé jednotlivé dávce L-DOPA byla přidána dávka 200 mg entacapone. Skupina 2 byla tvořena 10 pacienty (5 muži a 5 ženami), L-DOPA-naivními. Průměrný věk byl 67,7 roku (SD ± 6,6), průměrný věk výskytu prvních příznaků PN byl 65,1 roku (SD ± 7,8), průměrná doba trvání nemoci byla 2,7 roku (SD ± 1,8). Tito pacienti nebyli dosud léčeni dopaminergní terapií, 2 pacienti užívali biperiden v celkové denní dávce 4 mg, 3 pacienti užívali amantadin v denní dávce 300 mg a 2 pacienti užívali selegilin v denní dávce 5 mg. U všech pacientů byla na začátku sledování zahájena terapie pomocí L-DOPA s entacapone, přičemž L-DOPA byla titrována do celkové denní dávky dostatečné k efektivnímu ovlivnění parkinsonské symptomatologie. Nakonec byla průměrná denní dávka L-DOPA 390,0 mg (SD ± 31,6). Všichni pacienti ve skupině 2 užívali stejnou celkovou denní dávku entacapone ve výši 800 mg.

Kontrolní skupina (skupina 3) byla tvořena 21 subjekty (12 muži a 9 ženami), průměrný věk byl 51,7 roku (SD ± 11,1). Žádný ze subjektů netrpěl PN ani jiným neurodegenerativním onemocněním, žádný ze subjektů také neužíval preparáty s L-DOPA nebo entacapone (tab. 1).

Všichni pacienti byli podrobeni na začátku studie laboratornímu vyšetření plazmatické hladiny HCY, hladiny vitaminu B₁₂ a kyseliny listové. Jako referenční hranice normy hladiny vitaminu B₁₂ v séru jsme použili normy naší laboratoře 193–982 ng/l a hranice normy pro hladinu folátu v séru 3–17,5 μg/l. Odběr krve k vyšetření hladiny HCY v plazmě byl u všech pacientů proveden ráno nalačno v polosedě za použití antikoagulancií (EDTA), zkušavka byla ihned uložena do chladné lázně (4 °C) a zpracován centrifugací nejpozději do 4 hodin po provedení odběru [38]. U všech pacientů bylo provedeno zhodnocení pomocí Unifikované hodnotící škály Parkinsonovy choroby (UPDRS). Tato vyšetření byla dále u prvních 2 sku-

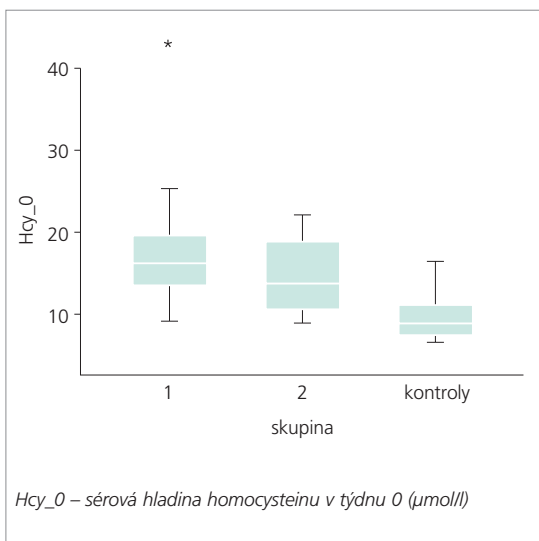
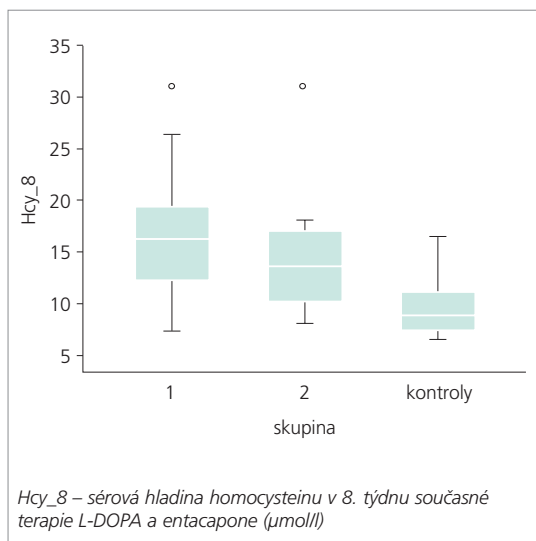
Tab. 1. Demografické údaje.

	věk (roky)	věk prvních příznaků PN (roky)	trvání PN (roky)	denní dávka L-DOPA (mg)	délka léčby L-DOPA (roky)	denní dávka entacaponu (mg)
skupina 1 (30 pacientů)	68,5 ± 8,5	61,0 ± 9,3	7,5 ± 4,2	560,8 ± 208,6	6,1 ± 3,8	883,3 ± 144,0
skupina 2 (10 pacientů)	67,7 ± 6,6	65,1 ± 7,8	2,7 ± 1,8	390,0 ± 31,6	0	800
kontrolní skupina (21 pacientů)	51,7 ± 11,1	–	–	0	–	–

PN – Parkinsonova nemoc

Tab. 2. Výsledky v jednotlivých týdnech sledování.

	sérová hladina HCY (μmol/l) týden:				UPDRS týden:			
	0.	1.	4.	8.	0.	1.	4.	8.
skupina 1 (30 pacientů)	17,6 ± 6,6	15,8 ± 5,4	16,5 ± 6,2	16,4 ± 5,5	51,1 ± 17,4	42,8 ± 15,6	42,5 ± 16,4	43,3 ± 15,9
skupina 2 (10 pacientů)	14,6 ± 4,7	13,5 ± 3,5	13,8 ± 5,4	15,1 ± 7,3	35,2 ± 20,1	26,6 ± 21,6	25,1 ± 22,1	21,9 ± 17,0
kontrolní skupina (21 pacientů)	9,7 ± 2,8	–	–	–	0	–	–	–


Graf 1.

Graf 2.

pin pacientů prováděna v 1., 4. a 8. týdnu sledování (po přidání entacapone k L-DOPA, resp. po zahájení terapie L-DOPA a entacapone). U všech pacientů bylo dále provedeno genetické vyšetření pro polymorfismus MTHFR 677C>T, což je nejběžnější determinantou spojenou se zvýšením plazmatické koncentrace Hcy.

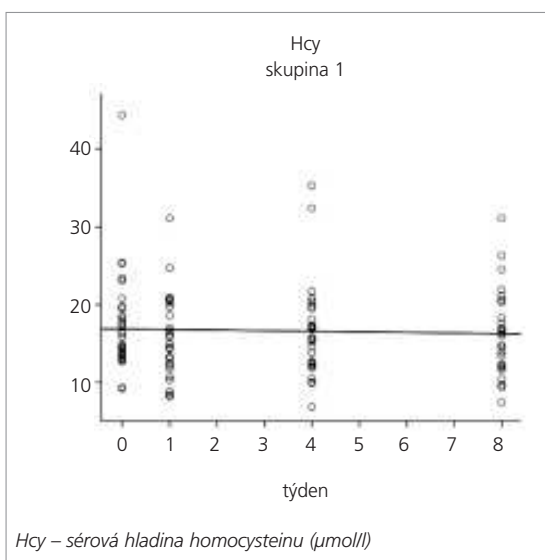
Po celou dobu sledování nebyly pacientům podávány preparáty s vitaminy skupiny B ani kyselina listová, které by rovněž mohly vést k ovlivnění hladiny HCY.

Údaje získané během sledování byly zaneseny do elektronické databáze a nakonec statisticky zpracovány za pomoci systému StatSoft. Ke statistickému zhod-

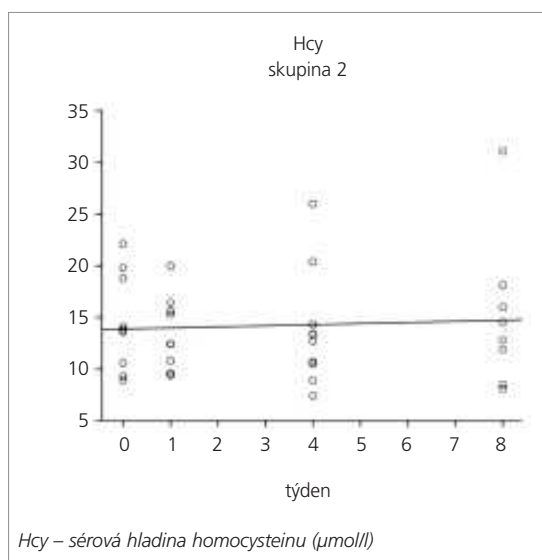
nocení byly použity ANOVA spolu s Kruskalovou-Wallisovou analýzou, lineární regresní analýza a dvouvýběrový t-test.

Výsledky

Výsledky sledování jsou obsaženy v tab. 2 a v grafech 1–5. U žádného pacienta nebyl zjištěn deficit vitamínu B₁₂ ani folátu



Graf 3.



Graf 4.

v séru a stejně tak u žádného pacienta v našem sledování nebyla zjištěna abnormalita genu pro enzym MTHFR (tedy ostatní vlivy kromě inhibice COMT, které by mohly po dobu sledování u pacientů ovlivnit plazmatickou hladinu HCY, byly eliminovány). Testy mnohonásobného porovnání byla při vstupním (baseline) vyšetření prokázána signifikantně vyšší hladina HCY u 1. skupiny pacientů dlouhodobě léčených L-DOPA při srovnání s kontrolní skupinou ($p < 0,0001$). Signifikantně vyšší množství HCY v plazmě bylo patrné i při srovnání 2. pacientské skupiny s kontrolní skupinou ($p = 0,026$, graf 1). Prakticky stejné rozdíly byly zjištěny i po 4 a 8 týdnech terapie za použití L-DOPA a entacapone (graf 2). Po 8 týdnech po zahájení léčby za použití L-DOPA a entacapone při použití lineární regresní analýzy nebyla zjištěna žádná statisticky signifikantní změna v hodnotách plazmatických hladin HCY ani u jedné ze dvou skupin pacientů s PN (graf 3 a 4). Nebyla rovněž nalezena žádná korelace mezi hodnotami UPDRS a plazmatickou hladinou HCY.

Při vzájemném statistickém porovnání všech skupin nebyly zjištěny statisticky signifikantní rozdíly ve věkovém složení skupin 1 a 2. Kontrolní skupina ale byla ve

srovnání s oběma pacientskými skupinami signifikantně mladší. Při dalším porovnání skupin 1 a 2 byl zjištěn statisticky signifikantní rozdíl v délce trvání onemocnění, který je ale logicky dán již primárním rozdělením a definicí obou skupin.

Diskuse

Je známo, že HHCY způsobuje urychlení procesu aterosklerotického postižení cév, dále neurodegeneraci a demenci. Je rovněž známo, že cerebrovaskulární onemocnění a kognitivní deficit mají nepříznivý vliv na prognózu u pacientů s PN. Nicméně zatím nejsou důkazy zvýšené incidence vaskulární komorbiditu u pacientů s PN [1]. Stejně tak je jednoznačné, že L-DOPA je revolučním lékem v terapii PN a její zavedení výrazně zlepšilo kvalitu a délku života pacientů s PN. Podobně jednoznačně je známo, že léčba entacapone významně zlepšuje klinický stav pacientů s prakticky minimálním rizikem nežádoucích účinků. Recentní práce rovněž diskutují možnost, že léčba entacapone snižuje hladinu HCY v plazmě [11,13,14].

Některé dřívější práce potvrdily u pacientů v dlouhodobé terapii L-DOPA zvýšenou hladinu HCY v plazmě [6–12]. Hypotéza o jejím opětovném snížení po při-

dání inhibitoru COMT byla v některých sledováních potvrzena [11,13], v jiných ale nikoli [14]. Výsledky našeho prospektivního sledování, podle kterých byly u všech probandů vyloučeny nejčastější genetické i nutriční abnormality vedoucí ke zkeslení výsledku, však výše zmíněné hypotézy o možném snížení L-DOPA indukované HHCY pomocí podávání entacapone nepotvrzují. Jakkoliv je entacapone velmi efektivní a bezpečný lék středně pokročilého stadia Parkinsonovy nemoci, jeho další působení (tj. kromě inhibice COMT) je přinejmenším sporné.

Nicméně výsledky plazmatických hladin HCY u 2. skupiny (pacienti L-DOPA naivní) ukazují, že při současném podávání L-DOPA s entacapone nedochází ani ke zvýšení plazmatické koncentrace HCY ani po 8 týdnech terapie. Ačkoli vezmeme v potaz, že v této skupině je pouze 10 pacientů a není ke srovnání skupina L-DOPA naivních pacientů léčených pouze L-DOPA bez entacapone, tak tento fakt nás nutí uvažovat o možné protekci kombinované terapie L-DOPA s entacapone již v počátku onemocnění před HHCY, a tím snížení rizik vzniku cerebrovaskulárního postižení a kognitivního deficitu.

Z výše uvedeného nicméně vyplývá, že monitoring plazmatické koncentrace HCY je velmi vhodný při komplexní péči o pacienta s PN. Terapeutické ovlivnění HHCY, dokonce i indukované podáváním L-DOPA, je prokazatelně možné především suplementací vitamínu B₁₂ a kyseliny listové [39]. Podávání inhibitorů COMT je jednoznačně opodstatněné vzhledem k jejich nespornému efektu na pozdní komplikace dlouhodobé terapie L-DOPA [40]. Ovšem přímé ovlivnění hladiny HCY v plazmě podáváním inhibitoru COMT k L-DOPA nelze patrně předpovídat ani všeobecně očekávat.

Literatura

- Jellinger KA. Prevalence of cerebrovascular lesions in Parkinson's disease. A post mortem study. *Acta Neuropathol (Berl)* 2003; 105: 415–419.
- Kubová D, Rektor I. Vaskulární parkinsonský syndrom – historie a současnost. *Cesk Slov Neurol N* 2001; 64/97: 75–81.
- Levy G, Tang MX, Louis ED, Cote LJ, Alfaró B, Mejia H et al. The association of incident dementia with mortality in PD. *Neurology* 2002; 59: 1708–1713.
- Morris MS. Homocysteine and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003; 2: 425–428.
- Rektorová I. Účinek donepezilu na demenci u Parkinsonovy nemoci a Alzheimerovy nemoci. Pilotní studie. *Cesk Slov Neurol N* 2004; 67/100: 359–363.
- Blandini F, Fancelli R, Martignoni E, Mangiagalli A, Pacchetti C, Samuele A et al. Plasma homocysteine and L-DOPA metabolism in patients with Parkinson disease. *Clin Chem* 2001; 47: 1102–1104.
- Miller JW, Selhub J, Nadeau MR, Thomas CA, Feldman RG, Wolf PA. Effect of L-DOPA on plasma homocysteine in PD patients: relationship to B-vitamin status. *Neurology* 2003; 60: 1125–1129.
- Müller T, Werne B, Fowler B, Kuhn W. Nigral endothelial dysfunction, homocysteine, and Parkinson's disease. *Lancet* 1999; 354: 126–127.
- Ozer F, Meral H, Hanoglu L, Aydemir T, Yilsen M, Cetin S et al. Plasma homocysteine levels in patients treated with levodopa: motor and cognitive associations. *Neurological Research*, 2006; 28(8): 853–858.
- Rogers JD, Sanchez-Saffon A, Frol AB, Diaz-Arrastia R. Elevated plasma homocysteine levels in patients treated with levodopa: association with vascular disease. *Arch Neurol* 2003; 60: 59–64.
- Valkovič P, Benetin J, Blažiček P, Valkovičová L, Gmitterová K, Kukumberg P. Reduced plasma homocysteine levels in levodopa/entacapone treated Parkinson patients. *Parkinsonism Relat Disord* 2005; 11: 253–256.
- Yasui K, Nakaso K, Kowa H, Takeshima T, Nakashima K. Levodopa-induced hyperhomocysteinaemia in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 2003; 108: 66–67.
- Zoccollella S, Lamberti P, Armenise E, de Mari M, Lamberti SV, Mastronardi R et al. Plasma homocysteine levels in Parkinson's disease: role of antiparkinsonian medications. *Parkinsonism Relat Disord* 2005; 11: 131–3.
- Ostrem JL, Kang GA, Subramanian I, Guarnieri M, Hubble J, Rabinowicz AL, et al. The effect of entacapone on homocysteine levels in Parkinson disease. *Neurology* 2005; 64(8): 1482.
- Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 1998; 157 Suppl 2: S40–S44.
- Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 217–46.
- American Society of Human Genetics/American College of Medical Genetics Test and Transfer Committee Working Group. Measurement and use of total plasma homocysteine. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 1541–1543.
- Genest JJ, Jr., McNamara JR, Upson B, Salem DN, Ordovas JM, Schaefer EJ et al. Prevalence of familial hyperhomocyst(e)inemia in men with premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 1129–1136.
- Haynes WG. Hyperhomocysteinemia, vascular function and atherosclerosis: effects of vitamins. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16: 391–399.
- Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J, Bowman BA, Gunter EW et al. Serum total homocysteine concentration is related to self-reported heart attack or stroke history among men and women in the NHANES III. *J Nutr* 2000; 130: 3073–3076.
- Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995; 346: 1395–1398.
- Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 286–291.
- Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J et al. DACH-LIGA homocystein (german, austrian and swiss homocysteine society): consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1392–1403.
- Mattson MP, Shea TB. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 2003; 26: 137–146.
- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111–128.
- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042–1050.
- Clarke R, Smith AD, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM. Folate, vitamin B₁₂, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998; 55: 1449–1455.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, D'Agostino RB et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 476–483.
- Muller T, Renger K, Kuhn W. Levodopa-associated increase of homocysteine levels and sural axonal neurodegeneration. *Arch Neurol*. 2004; 61(5): 633–634.
- Valkovič P, Blažiček P, Benetin J, Kukumberg P, Homocystein, levodopa a Parkinsonova choroba. *Cesk Slov Neurol N* 2006; 69/102(3): 183–188.
- Allain P, Le BA, Cordillet E, Le QL, Bagheri H, Montastruc JL. Sulfate and cysteine levels in the plasma of patients with Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 1995; 16: 527–529.

32. Kuhn W, Roebroek R, Blom H, van Oppenraaij D, Przuntek H, Kretschmer A, et al. Elevated plasma levels of homocysteine in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1998; 40: 225–227.
33. Miller JW. Homocysteine, folate deficiency, and Parkinson's disease. *Nutr Rev* 2002; 60: 410–413.
34. Nakaso K, Yasui K, Kowa H, Kusumi M, Ueda K, Yoshimoto Y et al. Hypertrophy of IMC of carotid artery in Parkinson's disease is associated with L-DOPA, homocysteine, and MTHFR genotype. *J Neurol Sci* 2003; 207: 19–23.
35. O'Suilleabhain PE, Bottiglieri T, Dewey RB jr, Sharma S, Diaz-Arrastia R. Modest increase in plasma homocysteine follows levodopa initiation in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2004; 19: 1403–1408.
36. Yasui K, Kowa H, Nakaso K, Takeshima T, Nakashima K. Plasma homocysteine and MTHFR C677T genotype in levodopa-treated patients with PD. *Neurology* 2000; 55: 437–440.
37. Daniel SE, Lees AJ. Disease Society Brain Bank, London: overview and research. *J Neural Transm Suppl* 1993; 39: 165–172.
38. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50(1): 3–32.
39. Lamberti P, Zoccolella S, Armenise E, Lamberti SV, Fraddosio A, de Mari M et al. Hyperhomocysteinemia in L-DOPA treated Parkinson's disease patients: effect of cobalamin and folate administration. *Eur J Neurol* 2005; 12: 365–368.
40. Bareš M, Kaňovský P, Rektor I. Úloha inhibitorů katechol-O-metyl-transferázy (COMT) v léčbě pozdních komplikací Parkinsonovy nemoci – účinnost a bezpečnost entakaponu (Comtanr). *Cesk Slov Neurol N* 2002; 65/98: 69–75.

www.kardiologickeforum.cz

2.2 Účinek entacaponu na plazmatickou hladinu homocysteinu u pacientů s Parkinsonovou nemocí

Nevrlý M, Kaňovský P, Vranová H, Langová K, Hlušík P. Effect of entacapone on plasma homocysteine levels in Parkinson's disease patients. *Neurol Sci* (2010) 31:565-569 **IF 1,120**

Abstract:

Peripheral metabolism of L-DOPA via enzyme catechol-O-methyltransferase (COMT) is one of the possible sources of homocysteine (HCY). The aim of this study was to assess plasma HCY levels in L-DOPA-treated Parkinson's disease (PD) patients and its influence by adding the inhibitor COMT (entacapone). Patients were divided into two groups: (1) patients long term treated with L-DOPA but were naïve to entacapone, (2) L-DOPA naïve patients, in whom a combined treatment with L-DOPA and entacapone was started. The HCY levels were higher in Group 1 than in Group 2. No statistically significant changes of HCY concentrations were found in both patient groups after adding entacapone to their L-DOPA treatments. Results of this study confirm that patients treated with L-DOPA for a long term have increased plasma HCY concentrations. We believe combined L-DOPA and entacapone therapy could be a possible protective mechanism against hyperhomocysteinemia in early PD.

Effect of entacapone on plasma homocysteine levels in Parkinson's disease patients

Martin Nevrlý · Petr Kanovsky · Hana Vranova ·
Katerina Langova · Petr Hlustik

Received: 2 February 2009 / Accepted: 31 March 2010 / Published online: 13 May 2010
© Springer-Verlag 2010

Abstract Peripheral metabolism of L-DOPA via enzyme catechol-O-methyltransferase (COMT) is one of the possible sources of homocysteine (HCY). The aim of this study was to assess plasma HCY levels in L-DOPA-treated Parkinson's disease (PD) patients and its influence by adding the inhibitor COMT (entacapone). Patients were divided into two groups: (1) patients long term treated with L-DOPA but were naïve to entacapone, (2) L-DOPA naïve patients, in whom a combined treatment with L-DOPA and entacapone was started. The HCY levels were higher in Group 1 than in Group 2. No statistically significant changes of HCY concentrations were found in both patient groups after adding entacapone to their L-DOPA treatments. Results of this study confirm that patients treated with L-DOPA for a long term have increased plasma HCY concentrations. We believe combined L-DOPA and entacapone therapy could be a possible protective mechanism against hyperhomocysteinemia in early PD.

Keywords Homocysteine · Parkinson's disease · Entacapone

Introduction

Elevated homocysteine (HCY) is a risk factor for vascular diseases, cognitive impairment and dementia [1–5]. Vascular diseases and cognitive impairment worsen the prognosis of Parkinson's disease (PD) [1, 6–10] and it is important to minimize the risk of their occurrence as much as possible. Several retrospective studies have verified elevated plasma HCY levels found in PD patients treated with levodopa [11–17]. The mechanism underlying these high plasma HCY levels is the O-methylation of levodopa. This reaction is catalyzed by the enzyme catechol-O-methyltransferase (COMT) and requires S-adenosylmethionine as the methyl donor for the production of S-adenosylhomocysteine. S-adenosylhomocysteine is then rapidly hydrolyzed to HCY. Some animal studies show that the addition of COMT inhibitors to levodopa can eliminate levodopa-induced hyperhomocysteinemia (HHCY). Recent retrospective studies confirmed this fact [16, 18], yet not all researchers are in agreement [19].

HCY is an intermediate product of metabolism of an essential sulfuric amino acid, methionine. Degradation of HCY is mediated in particular by remethylation to methionine or by transsulfuration to cysteine [20, 21]. The key enzyme of the remethylation is methylentetrahydrofolate reductase (MTHFR) with the cofactors of folic acid (folate) and vitamin B₁₂. Pyridoxine (B₆) is a cofactor in the transsulfuration of HCY. Intrinsically, increased levels of plasma HCY should be caused by either a decrease in HCY degradation or by an increased supply of HCY, which is the case in levodopa-treated PD patients. The commonly accepted upper limit of physiological plasma HCY concentration is 15 μmol/l [22]. However, some studies show that even lower plasma HCY concentrations are linked with increased risk of vascular diseases and

M. Nevrlý (✉) · P. Kanovsky · H. Vranova · P. Hlustik
Department of Neurology, University Hospital and Palacký
University Medical School, I. P. Pavlova 6,
77520 Olomouc, Czech Republic
e-mail: nevrlý.martin@post.cz

K. Langova
Department of Biophysics, Palacký University Medical School,
Olomouc, Czech Republic

recommend 12 $\mu\text{mol/l}$ as the upper limit of the normal range [2, 3, 23–26].

The causes of HHCY are either congenital or acquired. The most frequent genetic abnormality is mutation of the allele encoding enzyme MTHFR. This mutation occurs in homozygous form in 10–12% of the population [27]. Other genetic abnormalities are rather rare. The acquired reasons of HHCY are primarily the deficiency of cofactors (folate and vitamin B₁₂) followed by hypothyroidism, chronic renal failure and long-term treatment with certain medications [21].

Allain et al. [28] described that PD patients have higher plasma HCY levels than in the same population of healthy people. At that time, Allain as well as others assumed a direct association between PD and HHCY [29]. This was accepted until 1999 when Müller et al. [13] rebutted this hypothesis. He has compared PD patients having received long-term treatment with L-DOPA to L-DOPA-naïve patients and found higher plasma HCY levels only in the group of patients treated with L-DOPA. Since then, other researchers have confirmed these findings [11, 14–18, 30–33].

The aim of the present study was to assess plasma HCY levels in L-DOPA-treated PD patients and the effects of adding the inhibitor COMT (entacapone).

Methods

All the subjects fulfilled the United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank (UK-PDBB) criteria for idiopathic PD [34] and were divided into two groups.

Group 1 consisted of 30 patients (18 male and 12 female) treated long term with L-DOPA (at least 1 year and with daily dose at least 400 mg). The mean age was 68.5 years (SD \pm 8.5), mean age at presence of first symptoms of PD was 61.0 years (SD \pm 9.3), mean duration of disease was 7.5 years (SD \pm 4.2), mean daily dose of L-DOPA was 560.8 mg (SD \pm 208.6), mean duration of L-DOPA treatment was 6.1 years (SD \pm 3.8) and mean daily dose of entacapone was 883.3 mg (SD \pm 144.0). 200 mg of entacapone was added to each dose of L-DOPA in all subjects at the start of the study.

Group 2 consisted of 10 L-DOPA-naïve patients (5 male and 5 female). The mean age was 67.7 years (SD \pm 6.6), mean age at presence of first symptoms of PD was 65.1 years (SD \pm 7.8) and mean duration of disease was 2.7 years (SD \pm 1.8). These patients had not been previously treated with dopaminergic therapy. Two patients were treated with a total daily dose of 4 mg of biperiden, three patients received a total daily dose of 300 mg of amantadine and two patients were treated with a total daily dose of 5 mg of selegiline. All subjects in Group 2 were

treated from the start of study with L-DOPA and entacapone. The mean daily dose of L-DOPA was 390.0 mg (SD \pm 31.6), which allowed for sufficient control of all PD symptoms without the continuation of the subjects' previous PD medications. All the patients in Group 2 were treated with the same total daily dose of entacapone 800 mg (Table 1).

All subjects underwent a blood sample examination of HCY plasma concentrations, vitamin B₁₂ and folate levels at the start of the study. Plasma concentrations of vitamin B₁₂ 193–982 ng/l and of folate 3–17.5 $\mu\text{g/l}$ were considered physiological. Blood samples for determination of plasmatic HCY levels were taken in all subjects in the morning (fasting), in a reclined position, into test tubes containing EDTA. The test tubes were immediately inserted in a cold bath (4°C) and centrifuged within 4 h [35]. All the patients were evaluated with the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS). Patients of Group 1 and 2 were also tested in the first, fourth and eighth week of monitoring (after adding entacapone to L-DOPA in Group 1 and after start of combined L-DOPA and entacapone treatment in Group 2). All the patients were also tested to detect the genetic abnormality of the allele encoding MTHFR 677C \rightarrow T.

No patients were treated with drugs containing B vitamins or folate for the duration of the study as these drugs affect plasma HCY concentrations.

All data were statistically assessed by the StatSoft system. The statistical analyses used were ANOVA, Kruskal–Wallis analysis, linear regression analysis, multiple comparison tests, Pearson correlation analysis and paired two-sample *t* test.

Results

The results are shown in Table 2 and in Figs. 1, 2, 3, 4. All subjects had normal serum concentrations of vitamin B₁₂ and folate. Allele-specific PCR did not confirm neither heterozygous neither homozygous mutation of the allele encoding MTHFR 677C \rightarrow T. Hence, the most frequent possible influences on plasma HCY levels, except COMT inhibition, were eliminated. Multiple comparison tests at the baseline visit verified significantly higher levels of HCY in the patients treated long-term with L-DOPA (Group 1) compared to Group 2 ($p < 0.0001$) (Fig. 1). Similar results were also demonstrated after 4 and 8 weeks of L-DOPA and entacapone treatment (Fig. 2). Linear regression analysis at week 8 does not show any statistically significant changes in plasma HCY concentrations either in Group 1 or in Group 2 (Figs. 3, 4). No correlation was found between plasma HCY levels and the UPDRS scores.

Table 1 Demographics data

	Age (years)	Age of first symptoms PD (years)	Duration of PD (years)	Daily dose of L-DOPA (mg)	Duration of treatment with L-DOPA (years)	Daily dose of entacapone (mg)
Group 1 (30 patients)	68.5 ± 8.5	61.0 ± 9.3	7.5 ± 4.2	560.8 ± 208.6	6.1 ± 3.8	883.3 ± 144.0
Group 2 (10 patients)	67.7 ± 6.6	65.1 ± 7.8	2.7 ± 1.8	390.0 ± 31.6	0	800

PD Parkinson's disease

Table 2 Results

	Plasma HCY concentration (μmol/l)				UPDRS III			
	week 0	week 1	week 4	week 8	week 0	week 1	week 4	week 8
Group 1 (30 patients)	17.6 ± 6.6	15.8 ± 5.4	16.5 ± 6.2	16.4 ± 5.5	51.1 ± 17.4	42.8 ± 15.6	42.5 ± 16.4	43.3 ± 15.9
Group 2 (10 patients)	14.6 ± 4.7	13.5 ± 3.5	13.8 ± 5.4	15.1 ± 7.3	35.2 ± 20.1	26.6 ± 21.6	25.1 ± 22.1	21.9 ± 17.0

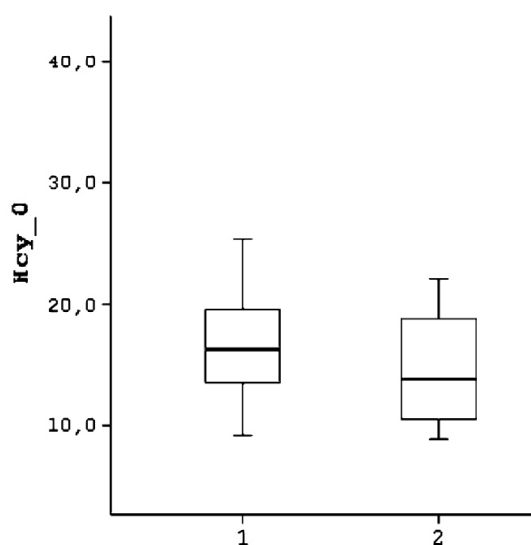


Fig. 1 Hcy_0: plasma homocysteine level in week 0 (μmol/l), 1: Group 1 (mean value 17.6 μmol/l ± SD 6.6 μmol/l), 2: Group 2 (mean value 14.6 μmol/l ± SD 4.7 μmol/l)

Age of subjects did not differ between Groups 1 and 2. Duration of PD was longer in the subjects within Group 1 than within Group 2, but this results from the definition and classification of both groups.

Discussion

Some retrospective studies have shown increased plasma HCY concentrations in patients suffering from PD and treated long term with L-DOPA [11–17]. It is clear that L-DOPA has a unique position in the treatment of PD and

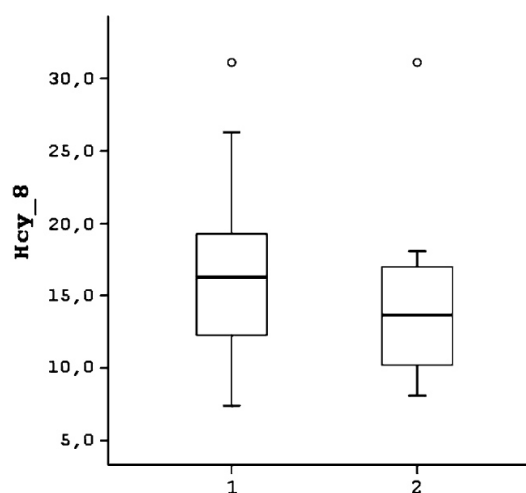


Fig. 2 Hcy_8: plasma homocysteine level in week 8 (μmol/l), 1: Group 1 (mean value 16.4 μmol/l ± SD 5.5 μmol/l), 2: Group 2 (mean value 15.1 μmol/l ± SD 7.3 μmol/l)

markedly improves the quality of life of PD patients while also extending their lives. Yet, it is known that HHCY leads to acceleration of the process of atherosclerosis, neurodegeneration and dementia. Cerebrovascular diseases and cognitive impairment worsen the prognosis of PD patients; however, there is no evidence of higher incidence of vascular diseases in PD patients [6]. Recent studies discuss the potential use of entacapone to decrease plasma HCY concentrations [16, 18, 19].

Some recent retrospective studies confirm the association of increased plasma HCY concentrations in PD patients who have received long-term treatment with L-DOPA [16, 18] but others have not [19]. Results of the present prospective study, which eliminated the most

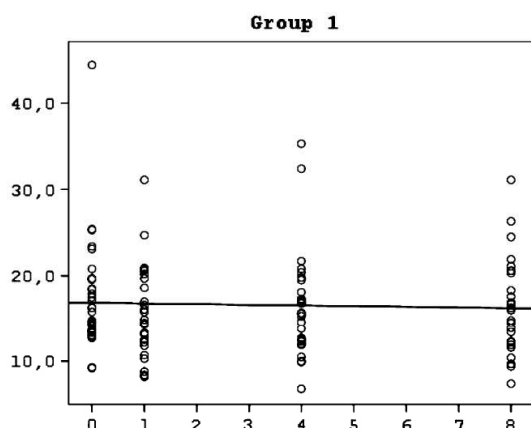


Fig. 3 X-axis week, Y-axis plasma homocysteine concentration ($\mu\text{mol/l}$)

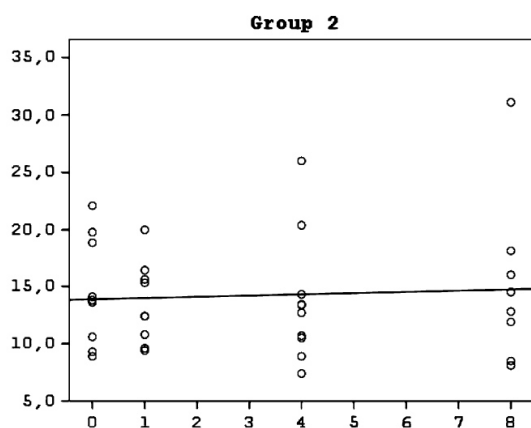


Fig. 4 X-axis week, Y-axis plasma homocysteine concentration ($\mu\text{mol/l}$)

frequent genetic or nutritive abnormalities that could bias the results, do not confirm this hypothesis. Entacapone is certainly an effective and safe drug for treating patients in advanced stages of PD but its effect on plasma HCY concentration is contestable in the least.

On the other hand, results of plasma HCY concentrations in Group 2, L-DOPA-naïve patients, show that concomitant L-DOPA and entacapone treatment for 8 weeks did not lead to elevation of homocysteinemia. Although this group consisted of only 10 patients and there was no comparison group of subjects treated only with L-DOPA without entacapone, this fact leads us to argue the possible protective effect of combined L-DOPA and entacapone therapy against HHCY in early Parkinson disease. This

could also decrease the risk of cerebrovascular disease or cognitive impairment in parkinsonian patients.

All these facts confirm that monitoring of plasma HCY concentrations is useful in comprehensive care of PD patients. Supplementation of vitamin B₁₂ and folate should decrease HHCY, even if it is L-DOPA induced [36]. Treatment with COMT inhibitors is unambiguously substantiated with regard to its positive effect in advanced PD [37]. However, a direct effect of COMT inhibition on plasma HCY concentrations should probably not be expected.

Acknowledgments The authors thank Heidi Vander Velden, BS, MS (Center for Care Innovation and Research, Children's of Minnesota, Hospital and Clinics of Minnesota, USA) for language and grammar correction.

References

- Morris MS (2003) Homocysteine and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2:425–428
- Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH et al (2000) Serum total homocysteine concentration is related to self-reported heart attack or stroke history among men and women in the NHANES III. *J Nutr* 130:3073–3076
- Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG (1995) Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 346:1395–1398
- Welch GN, Loscalzo J (1998) Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 338:1042–1050
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J et al (2002) Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 346:476–483
- Jellinger KA (2003) Prevalence of cerebrovascular lesions in Parkinson's disease. A postmortem study. *Acta Neuropathol (Berl)* 105:415–419
- Kubová D, Rektor I (2001) Vaskulární parkinsonský syndrom—historie a současnost. *Čes a Slov Neurol Neurochir* 64(97):75–81
- Levy G, Tang MX, Louis ED et al (2002) The association of incident dementia with mortality in PD. *Neurology* 59:1708–1713
- Rektorová I (2004) Účinek donepezilu na demenci u Parkinsonovy nemoci a Alzheimerovy nemoci. Pilotní studie. *Čes a Slov Neurol Neurochir* 67(100):359–363
- Valkovič P, Blažiček P, Benetin J, Kukumberg P (2006) Homocystein, levodopa a Parkinsonova choroba. *Čes a Slov Neurol Neurochir* 69(102(3)):183–188
- Blandini F, Fancelli R, Martignoni E et al (2001) Plasma homocysteine and L-dopa metabolism in patients with Parkinson disease. *Clin Chem* 47:1102–1104
- Miller JW, Selhub J, Nadeau MR, Thomas CA, Feldman RG, Wolf PA (2003) Effect of L-dopa on plasma homocysteine in PD patients: relationship to B-vitamin status. *Neurology* 60:1125–1129
- Müller T, Werne B, Fowler B, Kuhn W (1999) Nigral endothelial dysfunction, homocysteine, and Parkinson's disease. *Lancet* 354:126–127
- Ozer F, Meral H, Hanoglu L et al (2006) Plasma homocysteine levels in patients treated with levodopa: motor and cognitive associations. *Neurol Res* 28(8):853–858

15. Rogers JD, Sanchez-Saffon A, Frol AB, Diaz-Arrastia R (2003) Elevated plasma homocysteine levels in patients treated with levodopa: association with vascular disease. *Arch Neurol* 60:59–64
16. Valkovič P, Benetin J, Blažiček P, Valkovičová Ľ, Gmitterová K, Kukumberg P (2005) Reduced plasma homocysteine levels in levodopa/entacapone treated Parkinson patients. *Parkinsonism Relat Disord* 11:253–256
17. Yasui K, Nakaso K, Kowa H, Takeshima T, Nakashima K (2003) Levodopa-induced hyperhomocysteinaemia in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 108:66–67
18. Zoccolella S, Lamberti P, Armenise E et al (2005) Plasma homocysteine levels in Parkinson's disease: role of antiparkinsonian medications. *Parkinsonism Relat Disord* 11:131–133
19. Ostrem JL, Kang GA, Subramanian I et al (2005) The effect of entacapone on homocysteine levels in Parkinson disease. *Neurology* 64(8):1482
20. Finkelstein JD (1998) The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 157(Suppl 2):S40–S44
21. Selhub J (1999) Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 19:217–246
22. American Society of Human Genetics/American College of Medical Genetics Test, Transfer Committee Working Group (2008) Measurement and use of total plasma homocysteine. *Am J Hum Genet* 63:1541–1543
23. Genest JJ Jr, McNamara JR, Upson B et al (1991) Prevalence of familial hyperhomocyst(e)inemia in men with premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 11:1129–1136
24. Haynes WG (2002) Hyperhomocysteinemia, vascular function and atherosclerosis: effects of vitamins. *Cardiovasc Drugs Ther* 16:391–399
25. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG et al (1995) Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 332:286–291
26. Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K et al (2003) DACH-LIGA homocystein (german, austrian and swiss homocysteine society): consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med* 41:1392–1403
27. Mattson MP, Shea TB (2003) Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 26:137–146
28. Allain P, Le BA, Cordillet E, Le QL, Bagheri H, Montastruc JL (1995) Sulfate and cysteine levels in the plasma of patients with Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 16:527–529
29. Kuhn W, Roebroek R, Blom H et al (1998) Elevated plasma levels of homocysteine in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 40:225–227
30. Miller JW (2002) Homocysteine, folate deficiency, and Parkinson's disease. *Nutr Rev* 60:410–413
31. Nakaso K, Yasui K, Kowa H et al (2003) Hypertrophy of IMC of carotid artery in Parkinson's disease is associated with L-DOPA, homocysteine, and MTHFR genotype. *J Neurol Sci* 207:19–23
32. O'Suilleabhain PE, Bottiglieri T, Dewey RB Jr, Sharma S, Diaz-Arrastia R (2004) Modest increase in plasma homocysteine follows levodopa initiation in Parkinson's disease. *Mov Disord* 19:1403–1408
33. Yasui K, Kowa H, Nakaso K, Takeshima T, Nakashima K (2000) Plasma homocysteine and MTHFR C677T genotype in levodopa-treated patients with PD. *Neurology* 55:437–440
34. Daniel SE, Lees AJ (1993) Disease Society Brain Bank, London: overview and research. *J Neural Transm Suppl* 39:165–172
35. Refsum H, Smith AD, Ueland PM et al (2004) Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 50(1):3–32
36. Lamberti P, Zoccolella S, Armenise E et al (2005) Hyperhomocysteinemia in L-dopa treated Parkinson's disease patients: effect of cobalamin and folate administration. *Eur J Neurol* 12:365–368
37. Bareš M, Kaňovský P, Rektor I (2002) Úloha inhibitorů katechol-O-metyl-transferázy (COMT) v léčbě pozdních komplikací Parkinsonovy nemoci—účinnost a bezpečnost entakaponu (Comtan®). *Čes a Slov Neurol Neurochir* 65(98):69–75



Contents lists available at ScienceDirect

Parkinsonism and Related Disorders

journal homepage: www.elsevier.com/locate/parkreldis

Letter to the Editor

Effect of levodopa and entacapone treatment on plasma homocysteine levels in Parkinson's disease patients

Homocysteine (Hcy) is a risk factor for vascular diseases, cognitive impairment and dementia. Vascular diseases and cognitive impairment worsen the prognosis of Parkinson's disease (PD) [1]. Risk of their occurrence is advisable to minimize. The mechanism underlying elevated plasma Hcy level is the O-methylation of levodopa. This reaction is catalyzed by the enzyme catechol-O-methyltransferase (COMT) and requires S-adenosylmethionine as the methyl donor for the production of S-adenosylhomocysteine, which is rapidly hydrolyzed to Hcy. Elevated plasma Hcy levels were found in PD patients treated with levodopa [2]. Some animal studies show, that addition of COMT inhibitors to levodopa should eliminate levodopa induced hyperhomocysteinemia (HHcy). Some of recent retrospective studies confirmed this fact [2,3], but some of them did not [4].

The aim of the present study was to assess plasma Hcy levels in L-DOPA-treated PD patients and the effects of adding the inhibitor COMT (entacapone).

1. Methods

All the subjects fulfilling the United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank (UK-PDBB) criteria for idiopathic PD were divided into two groups.

Group 1 – patients long-term treated with L-DOPA (at least 1 year and with daily dose of at least 400 mg). Total of 200 mg of entacapone was added to each dose of L-DOPA in all subjects at the start of the study. Group 2 – L-DOPA naïve patients. These patients have not been previously treated with dopaminergic therapy. Two patients were treated with biperiden with total daily dose of 4 mg, three patients with amantadine with total daily dose of 300 mg and two patients with selegiline with total daily dose of 5 mg. All subjects in Group 2 were treated from the start of study with L-DOPA and entacapone. The daily dose of L-DOPA was sufficient for good control of the symptoms of PD. Control group (CG) consisted of 21 subjects (12 male and nine female). The subjects of CG did not suffer from PD or any other neurodegenerative disease and were not treated with L-DOPA or entacapone (Table 1).

All subjects underwent at the start of the study a blood sample examination of Hcy plasma concentrations, levels of vitamin B12 and folate. Blood samples for determination of plasmatic Hcy levels were taken from all subjects in the morning (fasting), in a reclined position, into test tubes containing EDTA. The test tubes were immediately inserted in a cold bath (4 °C) and centrifuged at latest 4 h after sample. All the patients were examined by Unified Parkinson's disease rating scale (UPDRS). Patients of Group 1 and 2 were also tested in the 1st, 4th and 8th week of the monitoring (after adding entacapone to L-DOPA in Group 1 and after start of combined L-DOPA and entacapone treatment in Group 2). All the patients were also tested to detect the genetic abnormality of allele encoding MTHFR 677C → T [5].

All the patients were not treated with drugs containing B vitamins or folate for the whole duration of the study because these drugs should also change plasma Hcy concentrations.

All data were statistically assessed by the StatSoft system. The statistical analyses used ANOVA, Kruskal–Wallis analysis, linear regression analysis, multiple comparison tests, Pearson correlation analysis and paired two-sample *t*-test. The

protocol was approved by local Ethic Committee at University Hospital. All the patients signed the informed consent.

2. Results

The results are shown in the Table 2. All subjects had normal serum concentrations of vitamin B12 and folate. Plasma concentrations of vitamin B12 193–982 ng/l and of folate 3–17.5 µg/l were considered physiological. All subjects had normal genotype of the allele encoding MTHFR. Hence, the most frequent possible influences on plasma Hcy levels, except COMT inhibition, were eliminated. Multiple comparison tests at the baseline visit verified significantly higher levels of Hcy in the patients long-term treated with L-DOPA (Group 1) compared to both Group 2 and CG ($p < 0.0001$). Hcy plasma levels were also higher in Group 2 compared to CG ($p = 0.026$). Similar results were also demonstrated after four and eight weeks of L-DOPA and entacapone treatment. Linear regression analysis at week 8 does not show any statistically significant changes in plasma Hcy concentrations either in Group 1 or in Group 2. No correlation was found between plasma Hcy levels and the UPDRS scores.

Age of subjects did not differ between Groups 1 and 2. The CG subjects were significantly younger than subjects in Groups 1 and 2.

3. Discussion

It is known that HHcy leads to acceleration of the process of atherosclerosis and also to neurodegeneration and dementia. It is also known that cerebrovascular diseases and cognitive impairment worsen the prognosis of PD patients. However, there is no evidence of higher incidence of vascular diseases in PD patients. It is clear that L-DOPA has a unique position in the treatment of PD and markedly improves the quality of life of PD patients and also extends their lives. Also it is known that entacapone significantly improves clinical status of PD patients and carries only low risk of adverse events. Recent studies discuss the potentiality of entacapone to decrease plasma Hcy concentration [2–4]. Some of them confirmed it, but some of them did not.

Results of the present prospective study, which eliminated the most frequent genetic or nutritive abnormalities that could bias the results, do not confirm this hypothesis. Entacapone is certainly an effective and safe drug for treating patients in advanced stages of PD but its effect on plasma Hcy concentration is contestable at least.

Table 1
Demographics data.

Group (male/female)	Age (years)	Age of first symptoms PD (years)	Duration of PD (years)	Daily dose of L-DOPA (mg)	Duration of treatment with L-DOPA (years)	Daily dose of entacapone (mg)
Group 1 (18/12)	68.5 ± 8.5	61.0 ± 9.3	7.5 ± 4.2	560.8 ± 208.6	6.1 ± 3.8	883.3 ± 144.0
Group 2 (5/5)	67.7 ± 6.6	65.1 ± 7.8	2.7 ± 1.8	390.0 ± 31.6	0	800
Control Group (12/9)	51.7 ± 11.1	–	–	0	–	–

PD – Parkinson's disease.

Table 2
Results.

	Plasma HCY concentration (µmol/l) week:				UPDRS III week:			
	0	1	4	8	0	1	4	8
Group 1 (30 patients)	17.6 ± 6.6	15.8 ± 5.4	16.5 ± 6.2	16.4 ± 5.5	51.1 ± 17.4	42.8 ± 15.6	42.5 ± 16.4	43.3 ± 15.9
Group 2 (10 patients)	14.6 ± 4.7	13.5 ± 3.5	13.8 ± 5.4	15.1 ± 7.3	35.2 ± 20.1	26.6 ± 21.6	25.1 ± 22.1	21.9 ± 17.0
Control Group (21 patients)	9.7 ± 2.8	–	–	–	0	–	–	–

On the other hand, results of plasma HCY concentrations in Group 2, L-DOPA naive patients, show that concomitant L-DOPA and entacapone treatment for 8 weeks does not lead to elevation of homocysteinemia. Although this group consists of only 10 patients and there is no comparison of group of subjects treated only with L-DOPA without entacapone, this fact makes us argue about possible protective effect of combined L-DOPA and entacapone therapy against HHCY in early Parkinson disease. This would also decrease the risk of cerebrovascular disease or cognitive impairment in parkinsonian patients. Higher plasma HCY concentration in Group 2 than in CG is probably due to higher age of subjects in Group 2. We could also contemplate the higher plasma HCY concentration as a risk factor of PD. However, some previous works did not confirm this hypothesis [6].

Nevertheless, all these facts should lead us to monitoring plasma HCY concentrations, because it could be useful in comprehensive care of PD patients. Supplementation of vitamin B12 and folate should decrease HHCY, even L-DOPA induced. However, a direct effect of COMT inhibition on plasma HCY concentration probably should not be expected.

References

- [1] Morris MS. Homocysteine and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003;2:425–8.
- [2] Valkovič P, Benetin J, Blazíček P, Valkovičová L, Gmitterová K, Kukumberg P. Reduced plasma homocysteine levels in levodopa/entacapone treated Parkinson patients. *Parkinsonism Relat Disord* 2005;11:253–6.

- [3] Zoccolella S, Lamberti P, Armenise E, de Mari M, Lamberti SV, Mastronardi R, et al. Plasma homocysteine levels in Parkinson's disease: role of antiparkinsonian medications. *Parkinsonism Relat Disord* 2005;11:131–3.
- [4] Postuma RB, Espay AJ, Zadikoff C, Suchowersky O, Martin WR, Lafontaine AL, et al. Vitamins and entacapone in levodopa-induced hyperhomocysteinemia: a randomized controlled study. *Neurology* 2006;66(12):1941–3.
- [5] Yasui K, Kowa H, Nakaso K, Takeshima T, Nakashima K. Plasma homocysteine and MTHFR C677T genotype in levodopa-treated patients with PD. *Neurology* 2000;55:437–40.
- [6] Müller T, Werne B, Fowler B, Kuhn W. Nigral endothelial dysfunction, homocysteine, and Parkinson's disease. *Lancet* 1999;354:126–7.

M. Nevrlý*
P. Kanovsky
H. Vranova

Department of Neurology,
Palacký University Medical School and University Hospital,
I.P.Pavlova 6, Olomouc 77520, Czech Republic

* Corresponding author. Tel.: +420 588443402.
E-mail address: nevrlý.martin@post.cz (M. Nevrlý)

K. Langova
Department of Biophysics, Palacký University Medical School,
Olomouc, Czech Republic

P. Hlustik
Department of Neurology,
Palacký University Medical School and University Hospital,
I.P.Pavlova 6, Olomouc 77520, Czech Republic

18 June 2008

2.3 Vliv hyperhomocysteinémie na incidenci axonálního postižení periferních nervů u pacientů s idiopatickou Parkinsonovou nemocí

Nevrlý M, Otruba P, Příkladová Vranová H, Grambalová Z, Langová K, Kaňovský P. Hyperhomocysteinemia as a risk factor inducing axonal degeneration in peripheral nerves in young parkinsonian patients.

Background and objective: Elevated plasma homocysteine (Hcy) concentrations have been found in Parkinson's disease (PD) patients long-term treated with L-dopa. The mechanism underlying elevated plasma Hcy level is the O-methylation of L-dopa. Hcy is a risk factor for vascular diseases, cognitive impairment and dementia (Seshadri et al., 2002). Vascular diseases and cognitive impairment worsen the prognosis of PD (Levy et al., 2002). Hcy induces marked cell injury and decreases nerve growth factor synthesis with its well-known trophic effects on sensory neurons and on the dopaminergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells that respond to nerve growth factor (Zhao et al., 2002). So, hyperhomocysteinemia (HHcy) is considered a neurotoxic factor, inducing a predominantly axonal degeneration in peripheral nerves (Müller et al., 2004). Aim of this study was to correlate levels of Hcy and nerve conduction parameters in both motor and sensory nerves of lower limbs in PD patients.

Methods: The assessment of sensory nerve conduction velocity (SNCV) and sensory nerve action potentials (SNAP) of the right sural nerve and the left peroneal superficial nerve, assessment of motor nerve conduction velocity (MNCV) and motor nerve action potentials (MNAP) of the right tibial nerve and left peroneal nerve and assessment of H-reflexes latency at the bilateral tibial nerves and needle electromyography of left tibial anterior muscle were performed in 32 PD patients (aged 29-80, mean 62.8 ± 10.4 years). Hcy plasma levels were also examined in all of these patients. All the patients did not suffer from diabetes mellitus, thyrotoxicosis and there was no history of alcohol abuse. The PD patients were divided into 2 groups: Group 1 of patients more than 65 years old; Group 2 of patients younger than 65 years. In each group were 16 patients.

Results: Electromyographical markers of axonal peripheral polyneuropathy (PNP) were found in 13 patients (40.6%). 10 patients (31.3%) had elevated plasma Hcy level more than 15 μ mol/l. 7 of them (70.0%) had also PNP.

Data were analyzed by independent samples test and there was found statistically significant correlation between plasma Hcy concentrations and PNP occurrence (Table 1, 2).

Table 1 (all PD patients):

PNP	number of patients:	Plasma Hcy concentration (μ mol/l)				
		minimum	maximum	median	mean	SD
Yes	13	7.2	22.6	15.3	15.4	4.8
No	19	6.2	24.6	10.7	11.3	4.6
total	32	6.2	24.6	12.4	13.0	5.0

Table 2 (all PD patients):

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
homocysteine	,121	,730	2,433	30	.021	4,0919	1,6819

In Group 1 of parkinsonian patients older than 65 years had 8 patients (50.0%) PNP and at 6 patients (37.5%) was found HHcy. 4 patients in Group 1 suffered both from PNP and both from HHcy (Tables 3, 4).

Table 3 (Group 1 – PD patients >65 years):

PNP	number of patients:	Plasma Hcy concentration (μ mol/l)				
		minimum	maximum	median	mean	SD
Yes	8	7.9	22.6	15.8	15.8	4.6
No	8	6.4	24.2	13.1	13.1	5.5
total	16	6.4	24.2	13.0	14.4	5.1

Table 4 (Group 1 – PD patients >65 years):**Independent Samples Test^f**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
homocysteine	,042	,840	1,059	14	,307	2,7000	2,5493

In Group 2 of PD patients younger than 65 years had 5 patients (31.3%) PNP and 4 patients (25.0%) had HHcy. 3 patients in Group 2 suffered both from PNP and both from HHcy (Table 5, 6).

Table 5 (Group 2 – PD patients <65 years):

PNP	number of patients:	Plasma Hcy concentration (µmol/l)				
		minimum	maximum	median	mean	SD
Yes	5	7.2	22.5	15.3	14.8	5.6
No	11	6.2	16.5	9.1	10.0	3.5
total	16	6.2	22.5	10.4	11.5	4.6

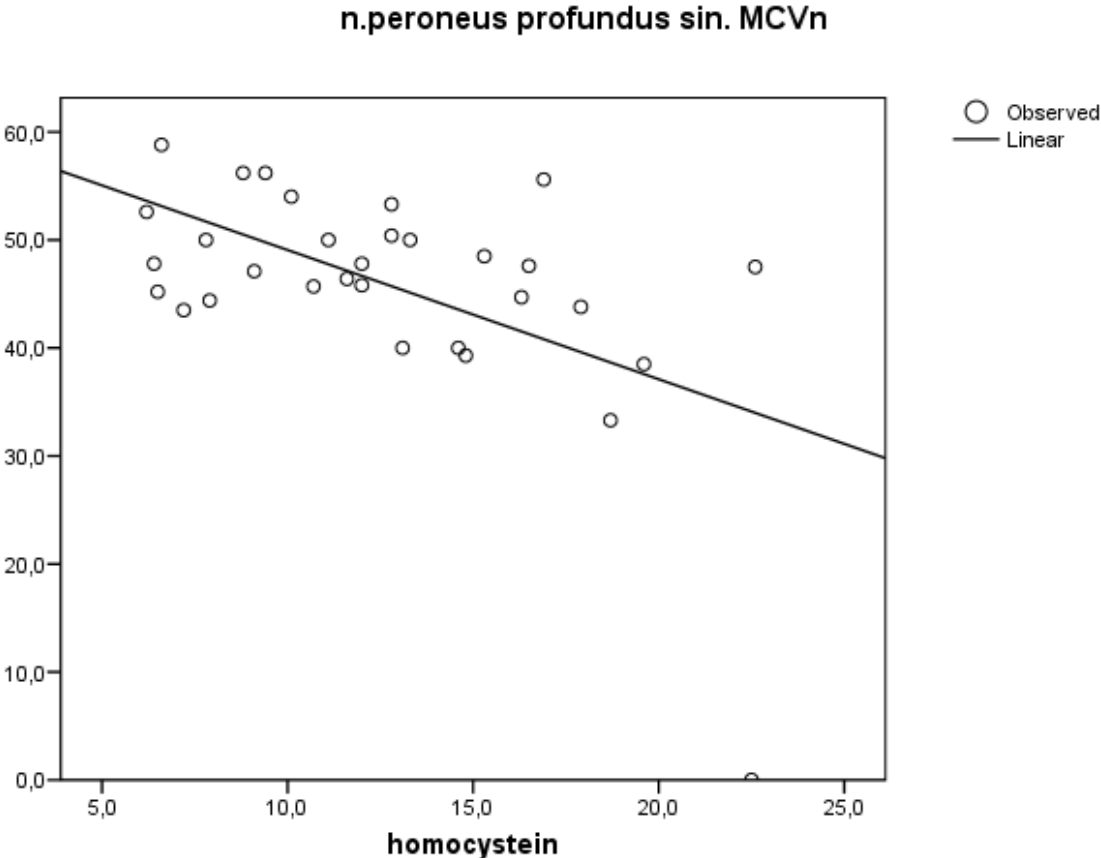
Table 6 (Group 2 - PD patients <65 years):**Independent Samples Test^f**

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means				
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference
homocysteine	,656	,431	2,118	14	,053	4,7836	2,2589

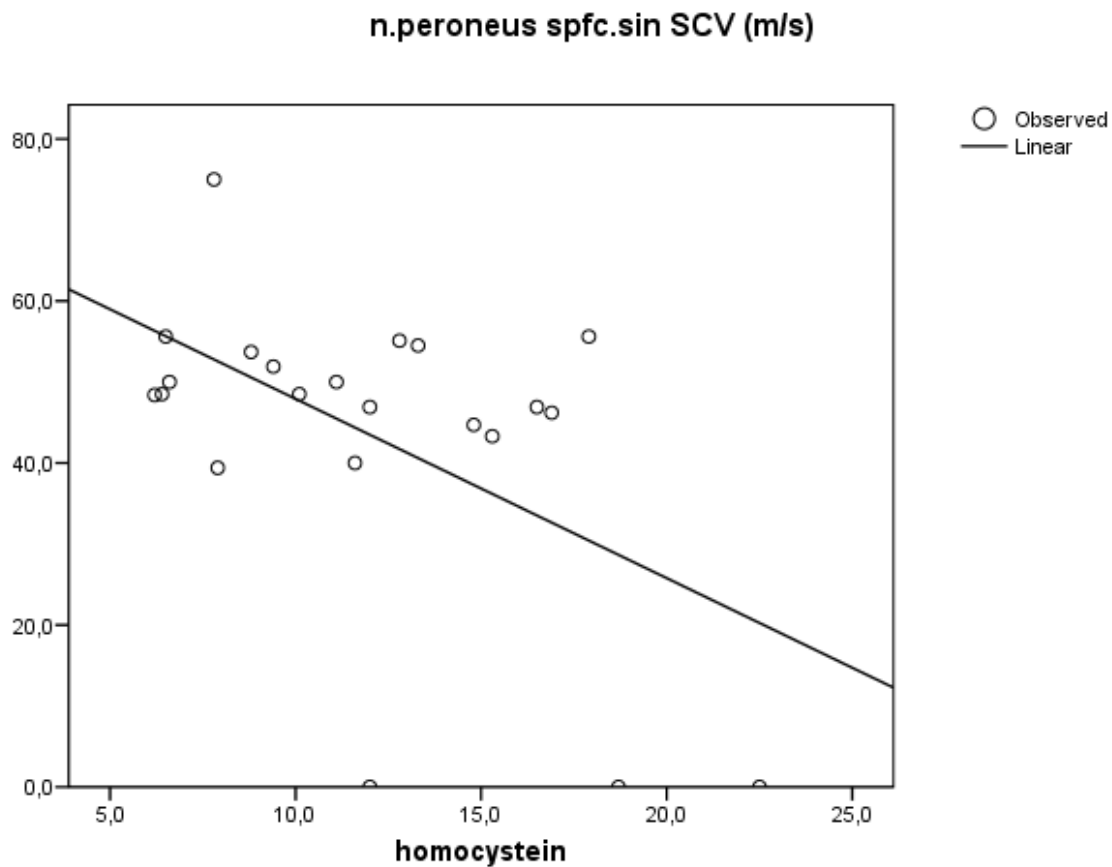
The data were analyzed by Pearson correlation and there was found correlations between MNCV ($p=0.0543$) and also SNCV ($p=0.0529$) at left peroneal nerve and Hcy plasma concentration (Graph 1, 2). It should show at relationship between HHcy and demyelinating degradation in peripheral nerves. However, no

statistically significant relationship between plasma Hcy level and MNCV and SNCV at other examined nerves was found.

Graph 1:



Graph 2:



Conclusion: Plasma Hcy concentrations are higher in older persons. Also the ratio of PNP is higher in older people than in younger population. These hypotheses were confirmed by some previous studies. This study also shows the same results. However, results of this work support hypothesis, that hyperhomocysteinemia in PD patients should be considered a neurotoxic factor, especially in young patients, less than 65 years old. This fact has to be confirmed by studies with larger number of patients. Nevertheless, all these facts confirm that monitoring of plasma Hcy concentrations and effective treatment of HHcy are useful in comprehensive care of PD patients (Nevrlý et al., 2008).

As a secondary endpoint these results also show at possible relationship between HHcy and demyelination lesion of peripheral nerves. However, there were

not found abnormal decrease of MNCV or SNCV at any patient. All the patients with electromyographical marks of PNP had an axonal type of PNP, not demyelinating at all.

3. Diskuze

Je známo, že HHCY způsobuje urychlení procesu aterosklerotického postižení cév, dále neurodegeneraci a demenci. Je rovněž známo, že cerebrovaskulární onemocnění a kognitivní deficit mají nepříznivý vliv na prognózu u pacientů s PN. Nicméně zatím nejsou důkazy zvýšené incidence vaskulární komorbidity u pacientů s PN. Stejně tak je jednoznačné, že L-DOPA je revolučním lékem v terapii PN a její zavedení výrazně zlepšilo kvalitu a délku života pacientů s PN. Podobně jednoznačně je známo, že léčba entacaponem významně zlepšuje klinický stav pacientů s prakticky minimálním rizikem nežádoucích účinků. Recentní práce rovněž diskutují možnost, že léčba entacaponem snižuje hladinu HCY v plazmě.

Některé dřívější práce potvrdily u pacientů v dlouhodobé terapii L-DOPA zvýšenou hladinu HCY v plazmě. Hypotéza o jejím opětovném snížení po přidání inhibitoru COMT byla v některých sledováních potvrzena, v jiných ale nikoli. Výsledky našeho prospektivního sledování, kdy u všech probandů byly vyloučeny nejčastější genetické i nutriční abnormality vedoucí ke zkrácení výsledku, však výše zmíněné hypotézy o možném snížení L-DOPA indukované HHCY pomocí podávání entacaponu nepotvrzují. Jakkoliv je entacapon velmi efektivní a bezpečný lék středně pokročilého stadia PN, jeho další působení (tj. kromě inhibice COMT) je přinejmenším sporné.

Nicméně výsledky sledování v našich souborech pacientů ukazují, že při současném podávání L-DOPA s entacaponem nedochází ke zvýšení plazmatické koncentrace HCY ani po 8 týdnech terapie. Tento fakt nutí uvažovat o možné protekci kombinované terapie L-DOPA s entacaponem již v počátku onemocnění před HHCY, a tím snížení rizik vzniku cerebrovaskulárního postižení a kognitivního deficitu. K bližšímu poznání jsou ale nutné další multicentrické studie s většími počty vyšetřených subjektů.

Výše uvedené zvažované mechanismy zvýšené plazmatické koncentrace HCY, které vedou k vaskulárnímu postižení a procesu apoptózy a neurodegenerace na úrovni CNS, by patrně mohly vést i k postižení nervových buněk v oblasti periferních nervů. Podobně i výsledky našeho sledování podporují hypotézu, že HHCY u pacientů s PN léčených L-DOPA může být neurotoxickým faktorem podmiňujícím axonální postižení senzitivních nervů a vedoucí k projevům neuropatie.

Monitorování nejen hladin HCY, ale i vitamínů skupiny B a jejich suplementace by tak měla vést ke snížení výskytu této dosud méně často popisované komplikace PN.

4. Závěr

Monitoring plazmatické koncentrace HCY je velmi vhodný při komplexní péči o pacienta s PN. Je známo, že HHCY způsobuje urychlení procesu aterosklerotického postižení cév, dále neurodegeneraci a demenci. Je rovněž známo, že cerebrovaskulární onemocnění a kognitivní deficit mají nepříznivý vliv na prognózu u pacientů s PN. Terapeutické ovlivnění HHCY, dokonce i indukované podáváním L-DOPA, je prokazatelně možné především suplementací vitamínu B12 a kyseliny listové.

Podávání inhibitorů COMT je jednoznačně opodstatněné vzhledem k jejich nespornému efektu na pozdní komplikace dlouhodobé terapie L-DOPA. Přímé ovlivnění hladiny HCY v plazmě podáváním inhibitoru COMT k L-DOPA je stále přinejmenším sporné. Některé práce prokázaly signifikantní snížení plazmatické hladiny HCY u pacientů s PN, kterým byly podávány inhibitory COMT, nicméně několik dalších studií tuto hypotézu nepotvrdilo.

Podobně data našeho sledování sice potvrzují hypotézu o zvýšené hladině HCY u pacientů léčených L-DOPA, nicméně naše studie neprokazují přímý efekt terapie entacaponem na plazmatickou koncentraci HCY v podobě jejího snížení po přidání entacapone k již dříve nastavené terapii L-DOPA. Nicméně výsledky našeho prospektivního sledování ukazují, že při zahájení terapie L-DOPA současně s entacaponem nedochází ani k významnému navýšení hladiny HCY v krevní plazmě.

Vzhledem k nejednoznačnosti výsledků provedených sledování nejen v prezentované práci, ale i v dalších citovaných studiích, však nelze přímý efekt entacaponu na plazmatickou koncentraci HCY předpovídat ani všeobecně očekávat.

Včasně odhalení hyperhomocysteinémie a současná suplementace vitamínem B6, B12 a kyselinou listovou pak patrně může vést ke snížení rizika výskytu senzitivní axonální neuropatie u pacientů s PN a tím také k zabránění nepříjemných senzorických projevů polyneuropatie a snížení kvality života pacientů s PN.

5. Summary

Elevated homocysteine (HCY) is a risk factor for vascular diseases, cognitive impairment and dementia. Vascular diseases and cognitive impairment worsen the prognosis of Parkinson's disease (PD) and it is important to minimize the risk of their occurrence as much as possible. Several retrospective studies have verified elevated plasma HCY levels found in PD patients treated with levodopa.

Some retrospective studies have shown increased plasma HCY concentrations in patients suffering from PD and treated long term with L-DOPA. Recent studies discuss the potential use of entacapone to decrease plasma HCY concentrations. Some recent retrospective studies confirm the association of increased plasma HCY concentrations in PD patients who have received long-term treatment with L-DOPA, but others have not. Results of the presented work, which eliminated the most frequent genetic or nutritive abnormalities that could bias the results, do not confirm this hypothesis.

On the other hand, our results show that concomitant L-DOPA and entacapone treatment, when is started immediately, did not lead to elevation of homocysteinemia. This fact leads us to argue the possible protective effect of combined L-DOPA and entacapone therapy against HHCY in early PD. This could also decrease the risk of cerebrovascular disease or cognitive impairment in parkinsonian patients.

Hcy induces marked cell injury and decreases nerve growth factor synthesis with its well-known trophic effects on sensory neurons and on the dopaminergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells that respond to nerve growth factor. So, hyperhomocysteinemia (HHCY) is considered a neurotoxic factor, inducing a predominantly axonal degeneration in peripheral nerves.

All these facts confirm that monitoring of plasma HCY concentrations is useful in comprehensive care of PD patients. Supplementation of vitamin B12 and folate should decrease HHCY, even if it is L-DOPA induced. Entacapone is certainly an effective and safe drug for treating patients in advanced stages of PD but its effect on plasma HCY concentration is contestable in the least.

6. Literatura (abecedně)

- Allain P, Le BA, Cordillet E, Le QL, Bagheri H, Montastruc JL. Sulfate and cysteine levels in the plasma of patients with Parkinson's disease. *Neurotoxicology* 1995; 16: 527-9.
- Almeida OP, McCaul K, Hankey GJ, Norman P, Jamrozik K, Flicker L. Homocysteine and depression in later life. *Arch Gen Psychiatry* 2008;65:1286–94.
- Ambler Z, Bednařík J, Růžička E et al. *Klinická neurologie*. Praha: Triton; 2004.
- American Society of Human Genetics/American College of Medical Genetics Test and Transfer Committee Working Group. Measurement and use of total plasma homocysteine. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 1541-3.
- Bareš M, Kaňovský P, Rektor I. Úloha inhibitorů katechol-O-metyl-transferázy (COMT) v léčbě pozdních komplikací Parkinsonovy nemoci - účinnost a bezpečnost entakaponu (Comtan®). *Čes a slov Neurol Neurochir* 2002; 65/98: 69-75.
- Bednařík J., Ambler Z., Růžička e. a kol. *Klinická neurologie*. Triton 2010
- Benabid AL, Chirossel JP, Mercier C, Louveau A, Passagia JG, Henry S, de Rougemont J, Vrousos C. Removable, adjustable and reusable implants for stereotactic interstitial radiosurgery of brain tumors. *Appl Neurophysiol.* 1987; 50(1–6): 278–280.
- Benabid AL, Pollak P, Gross C, Hoffmann D, Benazzouz A, Gao DM, Laurent A, Gentil M, Perret J. Acute and long-term effects of subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease. *Stereotact Funct Neurosurg.* 1994; 62(1–4): 76–84.
- Blandini F, Fancellu R, Martignoni E, Mangiagalli A, Pacchetti C, Samuele A, et al. Plasma homocysteine and l-dopa metabolism in patients with Parkinson disease. *Clin Chem* 2001;47:1102-1104.
- Budge M, Johnston C, Hogervorst E, de JC, Milwain E, Iversen SD, et al. Plasma total homocysteine and cognitive performance in a volunteer elderly population. *Ann NY Acad Sci* 2000;903: 407–10.

- Braak H, Ghebremedhin E, Rüb U, Bratzke H, Del Tredici K. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res*. 2004 Oct;318(1):121-34.
- Braak H, Del Tredici K. Poor and protracted myelination as a contributory factor to neurodegenerative disorders. *Neurobiol Aging*. 2004 Jan;25(1):19-23.
- Braak H, Del Tredici K, Rüb U, et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*. 2006; 24: 197-211.
- Clarke R, Smith AD, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998; 55: 1449-55.
- Clarke R, Halsey J, Lewington S, Lonn E, Armitage J, Manson JE, et al. Effects of lowering homocysteine levels with B vitamins on cardiovascular disease, cancer, and cause-specific mortality: meta-analysis of 8 randomized trials involving 37,485 individuals. *Arch Intern Med* 2010;170:1622–31.
- Daniel SE, Lees AJ. *Disease Society Brain Bank, London: overview and research*. *J Neural Transm Suppl*. 1993;39:165-72.
- Duthie SJ, Whalley LJ, Collins AR, Leaper S, Berger K, Dary IJ. Homocysteine, B vitamin status, and cognitive function in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2002;75:908–13.
- Fahn S. Description of Parkinson's Disease as a Clinical Syndrome *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 991: 1–14 (2003).
- Fassbender K, Mielke O, Bertsch T, Nafe B, Froschen S, Hennerici M. Homocysteine in cerebral macroangiography and microangiopathy. *Lancet* 1999;353:1586–7.
- Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 1998; 157 Suppl 2: S40-S44.
- Genest JJ, Jr., McNamara JR, Upson B, Salem DN, Ordovas JM, Schaefer EJ, et al. Prevalence of familial hyperhomocyst(e)inemia in men with premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 1129-36.
- Hardy J. Genetic Analysis of Pathways to Parkinson Disease. *Neuron*. 2010 October 21; 68(2): 201–206.

- Haynes WG. Hyperhomocysteinemia, vascular function and atherosclerosis: effects of vitamins. *Cardiovasc Drugs Ther* 2002; 16: 391-9.
- Herman W, Obeid R. Homocysteine: a biomarker in neurodegenerative diseases. *Clin Chem Lab Med*. 2011 Mar;49(3):435-41.
- Herrmann W, Herrmann M, Obeid R. Hyperhomocysteinaemia: a critical review of old and new aspects. *Curr Drug Metab* 2007;8:17–31.
- Ho PI, Ortiz D, Rogers E, Shea TB. Multiple aspects of homocysteine neurotoxicity: glutamate excitotoxicity, kinase hyperactivation and DNA damage. *J Neurosci Res* 2002;70:694–702.
- Horstink M, Tolosa E, Bonucelli U, Deuschl G, Friedman A, Kanovsky P, Larsen JP, Lees A, Oertel W, Poewe W, Rascol O, Sampaio C. Review of the therapeutic management of Parkinson's disease. Report of a joint task force of the European Federation of Neurological Societies (EFNS) and the Movement Disorder Society – European Section (MDS-ES). Part II: late (complicated) Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 2006; 13: 1186–1202.
- Jankovic J, Cardoso F, Grossman RG, Hamilton WJ. Outcome after stereotactic thalamotomy for parkinsonian, essential, and other types of tremor. *Neurosurgery*. 1995 Oct; 37(4): 680–686; discussion 686–687.
- Jankovic J, Lai E, Ben-Arie L, Krauss JK, Grossman R. Levodopa-induced dyskinesias treated by pallidotomy. *J Neurol Sci*. 1999 Aug 1; 167(1): 62–67.
- Jankovic J., Tolosa E. *Parkinson's Disease and Movement Disorders* (fifth edition) Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business 2007.
- Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008 Apr;79(4):368-76.
- Jellinger KA. Prevalence of cerebrovascular lesions in Parkinson's disease. A postmortem study. *Acta Neuropathol (Berl)* 2003; 105: 415-9.
- Kaňovský P, Nestražil I, Nevrlý M, Rössner P. Léčba počátečního stádia Parkinsonovy nemoci. *Neurol pro praxi* 2006;1:32-35
- Kaňovský P, Farníková K. Farmakoterapie pokročilé Parkinsonovy nemoci ve světle doporučených postupů. *Neurol pro praxi* 2010;11(4):244-249
- Kubová D, Rektor I. Vaskulární parkinsonský syndrom - historie a současnost. *Čes a slov Neurol Neurochir* 2001; 64/97: 75-81.

- Kuhn W, Roebroek R, Blom H, van Oppenraaij D, Przuntek H, Kretschmer A, et al. Elevated plasma levels of homocysteine in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1998; 40: 225-7.
- Kumar R, Lang AE, Rodriguez-Oroz MC, Lozano AM, Limousin P, Pollak P et al. Deep brain stimulation of the globus pallidus pars interna in advanced Parkinson's disease. *Neurology*. 2000;55(12 Suppl 6):S34-9.
- Lamberti P, Zoccolella S, Armenise E, Lamberti SV, Fraddosio A, de Mari M, et al. Hyperhomocysteinemia in L-dopa treated Parkinson's disease patients: effect of cobalamin and folate administration. *Eur J Neurol* 2005; 12: 365-8.
- Lee M, Hong KS, Chang SC, Saver JL. Efficacy of homocysteine-lowering therapy with folic acid in stroke prevention: a meta-analysis. *Stroke* 2010;41:1205–12.
- Lees AJ. Alternatives to levodopa in the initial treatment of early Parkinson's disease. *Druha Aging* 2005, 22: 731–740.
- Levy G, Tang MX, Louis ED, Cote LJ, Alfaró B, Mejia H, et al. The association of incident dementia with mortality in PD. *Neurology* 2002; 59: 1708-13.
- Limousin-Dowsey P, Pollak P, Van Blercom N, Krack P, Benazzouz A, Benabid A. Thalamic, subthalamic nucleus and internal pallidum stimulation in Parkinson's disease. *J Neurol*. 1999 Sep;246 Suppl 2:II42-5.
- Mattson MP, Shea TB. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 2003; 26: 137-46.
- McCaddon A, Hudson P, Davies G, Hughes A, Williams JH, Wilkinson C. Homocysteine and cognitive decline in healthy elderly. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;12:309–13.
- McCracken C, Hudson P, Ellis R, McCaddon A. Methylmalonic acid and cognitive function in the Medical Research Council Cognitive Function and Ageing Study. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:1406–11.
- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-28.
- Miller JW. Homocysteine, folate deficiency, and Parkinson's disease. *Nutr Rev* 2002; 60: 410-3.

- Miller JW, Selhub J, Nadeau MR, Thomas CA, Feldman RG, Wolf PA. Effect of L-dopa on plasma homocysteine in PD patients: relationship to B-vitamin status. *Neurology* 2003; 60: 1125-9.
- Moeller J, Oertel WH. Pramipexole in the treatment of Parkinson's disease: new developments. *Expert Rev Neurother* 2005, 5: 581–586.
- Moro E, Lozano AM, Pollak P, Agid Y, Rehncrona S, Volkmann J, et al. Long-term results of a multicenter study on subthalamic and pallidal stimulation in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2010 Apr 15;25(5):578-86.
- Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J, Bowman BA, Gunter EW, et al. Serum total homocysteine concentration is related to self-reported heart attack or stroke history among men and women in the NHANES III. *J Nutr* 2000; 130: 3073-6.
- Morris MS. Homocysteine and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2003; 2: 425-8.
- Müller T, Werne B, Fowler B, Kuhn W. Nigral endothelial dysfunction, homocysteine, and Parkinson's disease. *Lancet* 1999; 354: 126-7.
- Müller T, Renger K, Kuhn W: Levodopa-associated increase of homocysteine levels and sural axonal neurodegeneration. *Arch Neurol*. 2004 May;61(5):633-4.
- Nakaso K, Yasui K, Kowa H, Kusumi M, Ueda K, Yoshimoto Y, et al. Hypertrophy of IMC of carotid artery in Parkinson's disease is associated with L-DOPA, homocysteine, and MTHFR genotype. *J Neurol Sci* 2003; 207: 19-23.
- Nilsson K, Gustafson L, Hultberg B. Plasma homocysteine is elevated in elderly patients with memory complaints and vascular disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2007;23:321–6.
- Nurk E, Refsum H, Tell GS, Engedal K, Vollset SE, Ueland PM, et al. Plasma total homocysteine and memory in the elderly: The Hordaland Homocysteine study. *Ann Neurol* 2005; 58:847–57.
- O'Suilleabhain PE, Bottiglieri T, Dewey RB, Jr., Sharma S, Diaz-Arrastia R. Modest increase in plasma homocysteine follows levodopa initiation in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2004; 19: 1403-8.

- Obeid R, Herrmann W. Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia. *FEBS Lett* 2006;580:2994–3005.
- Obeid R, McCaddon A, Herrmann W. The role of hyperhomocysteinemia and B-vitamin deficiency in neurological and neuropsychiatric diseases. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1590–606
- Ostrem JL, Kang GA, Subramanian I, Guarnieri M, Hubble J, Rabinowicz AL, et al. The effect of entacapone on homocysteine levels in Parkinson disease. *Neurology*. 2005 Apr 26;64(8):1482.
- Ozer F, Meral H, Hanoglu L, Aydemir T, Yilsen M, Cetin S, et al. Plasma homocysteine levels in patients treated with levodopa: motor and cognitive associations. *Neurological Research*, 2006;28(8):853-858
- Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995; 346: 1395-8.
- Pinto X, Vilaseca MA, Garcia-Giralt N, Ferrer I, Pala M, Meco JF, et al. Homocysteine and the MTHFR 677C-->T allele in premature coronary artery disease. Case control and family studies. *Eur J Clin Invest* 2001;31:24–30.
- Popp J, Lewczuk P, Linnebank M, Cvetanovska G, Smulders Y, Kolsch H, et al. Homocysteine metabolism and cerebrospinal fluid markers for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2009; 18:819–28.
- Prins ND, den HT, Hofman A, Koudstaal PJ, Jolles J, Clarke R, et al. Homocysteine and cognitive function in the elderly: the Rotterdam Scan Study. *Neurology* 2002;59:1375–80.
- Quadri P, Fragiaco C, Pezzati R, Zanda E, Forloni G, Tettamanti M, et al. Homocysteine, folate, and vitamin B-12 in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia. *Am J Clin Nutr* 2004;80:114–22.
- Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Martelli M, Servadei L, Bruneti N, et al. Homocysteine and folate as risk factors for dementia and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr* 2005;82:636–43.

- Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, et al.: Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem*. 2004 Jan;50(1):3-32.
- Rektorová I. Účinek donepezilu na demenci u Parkinsonovy nemoci a Alzheimerovy nemoci. Pilotní studie. *Čes a slov Neurol Neurochir* 2004; 67/100: 359-63.
- Rogers JD, Sanchez-Saffon A, Frol AB, Diaz-Arrastia R. Elevated plasma homocysteine levels in patients treated with levodopa: association with vascular disease. *Arch Neurol* 2003; 60: 59-64.
- Sachdev PS. Homocysteine and brain atrophy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005;29:1152–61.
- Saposnik G, Ray JG, Sheridan P, McQueen M, Lonn E. Homocysteine-lowering therapy and stroke risk, severity, and disability. Additional findings from the HOPE 2 trial. *Stroke* 2009;40:1365–72.
- Schafer JH, Glass TA, Bolla KI, Mintz M, Jedlicka AE, Schwartz BS. Homocysteine and cognitive function in a population-based study of older adults. *J Am Geriatr Soc* 2005;53: 381–8.
- Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 286-91.
- Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 217-46.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, D'Agostino RB, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 476-83.
- Seshadri S, Wolf PA, Beiser AS, Selhub J, Au R, Jacques PF, et al. Association of plasma total homocysteine levels with subclinical brain injury: cerebral volumes, white matter hyperintensity, and silent brain infarcts at volumetric magnetic resonance imaging in the Framingham Offspring Study. *Arch Neurol* 2008;65:642–9.
- Smith AD. The worldwide challenge of the dementias: a role for B vitamins and homocysteine? *Food Nutr Bull* 2008;29: S143–72.

- Smith AD, Smith SM, de Jager CA, Whitbread P, Johnston C, Agacinski G, et al. Homocysteine-lowering by B vitamins slows the rate of accelerated brain atrophy in mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *PLoS ONE* 2010;5: e12244.
- Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J, et al. DACH-LIGA homocystein (german, austrian and swiss homocysteine society): consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1392-403.
- Valkovič P, Benetin J, Blažiček P, Valkovičová L, Gmitterová K, Kukumberg P. Reduced plasma homocysteine levels in levodopa/entacapone treated Parkinson patients. *Parkinsonism Relat Disord* 2005; 11: 253-6.
- Valkovič P, Blažiček P, Benetin J, Kukumberg P, Homocysteín, levodopa a Parkinsonova choroba. *Čes a slov Neurol Neurochir* 2006; 69/102(3): 183-8.
- Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, Kok FJ, Willett WC, Stampfer MJ. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of ischemic stroke. *Stroke* 1994;25:1924–30.
- Vermeer SE, van Dijk EJ, Koudstaal PJ, Oudkerk M, Hofman A, Clarke R, et al. Homocysteine, silent brain infarcts, and white matter lesions: The Rotterdam Scan Study. *Ann Neurol* 2002;51:285–9.
- Volkman J, Albanese A, Kulisevsky J, Tornqvist AL, Houeto JL, Pidoux B et al. Long-term effects of pallidal or subthalamic deep brain stimulation on quality of life in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2009 Jun 15;24(8):1154-61.
- Wang X, Qin X, Demirtas H, Li J, Mao G, Huo Y, et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a metaanalysis. *Lancet* 2007;369:1876–82.
- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-50.
- Wright CB, Lee HS, Paik MC, Stabler SP, Allen RH, Sacco RL. Total homocysteine and cognition in a tri-ethnic cohort: the Northern Manhattan Study. *Neurology* 2004;63:254–60.

Yasui K, Kowa H, Nakaso K, Takeshima T, Nakashima K. Plasma homocysteine and MTHFR C677T genotype in levodopa-treated patients with PD. *Neurology* 2000; 55: 437-40.

Yasui K, Nakaso K, Kowa H, Takeshima T, Nakashima K. Levodopa-induced hyperhomocysteinaemia in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 2003; 108: 66-7.

Zhao WQ, Williams Z, Shepherd KR, et al. S-adenosyl-methionine-induced apoptosis in PC12 cells. *J Neurosci Res.* 2002; 69: 519-529.

Zoccolella S, Lamberti P, Armenise E, de Mari M, Lamberti SV, Mastronardi R, et al. Plasma homocysteine levels in Parkinson's disease: role of antiparkinsonian medications. *Parkinsonism Relat Disord* 2005; 11: 131-3.

7. Publikace

7.1 Publikace související s prací

7.1.1 Publikace uveřejněné in extenso v recenzovaných časopisech s IF

Nevrlý M, Kaňovský P, Vranová H, Nestražil I, Langová K. Ovlivnění plazmatické hladiny homocysteinu u pacientů s Parkinsonovou chorobou terapií L-DOPA a entacaponem. *Cesk Slov Neurol N* 2008; 71/104(1):55-60

Nevrlý M, Kaňovský P, Vranová H, Langová K, Hlušík P. Effect of levodopa and entacapone treatment on plasma homocysteine levels in Parkinson's disease patients. *Park Relat Disord* 2009; 15:477-478

Nevrlý M, Kaňovský P, Vranová H, Langová K, Hlušík P. Effect of entacapone on plasma homocysteine levels in Parkinson's disease patients. *Neurol Sci* 2010; 31:565-569

7.1.2 Publikovaná abstrakta

Nevrlý M, Ressler P, Nestražil I, Vranová H, Herzig R, Kaňovský P. Effect of levodopa and entacapone treatment on plasma homocysteine level in Parkinson's disease. Pilot study. *European Journal of Neurology; Abstracts of the 10th Congress of the European Federation of Neurological Societies, Glasgow, UK; 2006,13,Suppl.2,93*

Nevrlý M, Vranová H, Ressler P, Nestražil I, Kaňovský P. Effect of levodopa and entacapone treatment on plasma homocysteine level in Parkinson's disease. Pilot study. *Movement Disorders; Abstracts of The Movement Disorder Society's Tenth International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Kyoto, Japan, 2006,Vol.21,Suppl.15,545*

Nevrlý M, Ressner P, Nestrašil I, Vranová H, Herzig R, Kaňovský P. Plasma homocysteine levels in Parkinson's disease patients – the effect of levodopa and entacapone treatment. Pilot study. Journal of Neurology, 16th Meeting of the European Neurological Society, Lausanne, Switzerland, Supplement 2, 2006,253,II/93

Nevrlý M, Ressner P, Nestrašil I, Vranová H, Kaňovský P. Hladina homocysteinu v séru u pacientů s Parkinsonovou chorobou a její ovlivnění terapií levodopu a entacaponem – pilotní studie. Konference mladých lékařů, FN u sv. Anny, Brno, Czech Republic. Sborník abstrakt, 2006,25

Nevrlý M, Ressner P, Nestrašil I, Kaňovský P. Vliv terapie levodopy a entacapone u Parkinsonovy choroby na hladinu homocysteinu v séru. Pilotní studie. Nerulógia pre prax, Abstrakty, XXI. zjazd slovenských a českých mladých neurologov, Martin, Slovakia, 2006,7,1,16-17

Nevrlý M, Vranová H, Ressner P, Nestrašil I, Kaňovský P. Hladina homocysteinu v séru u pacientů s Parkinsonovou chorobou a její ovlivnění terapií levodopou a entacaponem. Pilotní studie. Konference vědeckých prací studentů DSP, Sborník abstrakt, Olomouc, Česká republika, 2006, 27

Nevrlý M, Vranová H, Chovancová Z, Nestrašil I, Otruba P, Dufek J, Kaňovský P. Peripheral neuropathy and plasma homocysteine level in Parkinson's disease patients: A pilot study. Movement Disorders; Abstracts of The Movement Disorder Society's Eleventh International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Istanbul, Turkey, 2007, Vol.22, Suppl.16,108

Nevrlý M, Vranová H, Chovancová Z, Nestrašil I, Otruba P, Dufek J, Kaňovský P. Plasma homocysteine concentration and peripheral neuropathy in Parkinson's disease patients: A pilot study. Parkinsonism & Related Disorders; Abstracts of The XVII WFN World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders, Amsterdam, Netherlands, 2007, Vol.13, Suppl.2, 1.161

Nevrlý M, Vranová H, Nestrašil I, Otruba P, Dufek J, Kaňovský P. Periferní neuropatie a sérová hladina homocysteinu u pacientů s Parkinsonovou nemocí. Konference vědeckých prací studentů DSP, Sborník abstrakt, Olomouc, Česká republika, 2007, 36

Nevrlý M, Vranova H, Chovancova Z, Otruba P, Dufek J, Kanovsky P. Hyperhomocysteinemia as a risk factor inducing peripheral polyneuropathy in young Parkinson's disease patients: a pilot study. Eur J Neur 2008; 15 (Suppl 3) 124

Nevrly M, Vranova H, Chovancova Z, Otruba P, Dufek J, Kanovsky P. Hyperhomocysteinemia as a risk factor inducing axonal degeneration in peripheral nerves in young parkinsonian patients: A pilot study. Mov Disord 2008;23 (Suppl 1) 299

Nevrlý M. Hyperhomocysteinémie jako rizikový faktor axonálního postižení periferních nervů u pacientů s Parkinsonovou nemocí. Sborník - Konference vědeckých prací studentů DSP, Olomouc 3.-4.9.2008

7.2 Ostatní publikace

7.2.1 Publikace uveřejněné in extenso v recenzovaných časopisech s IF

Vranová H, Kaňovský P, Mareš J, **Nevrlý M**, Stejskal D, Nestrašil I, Zapletalová J. Laboratorní ukazatele neurodegenerace v likvoru a míra motorického postižení u Parkinsonovy nemoci: korelační studie. Cesk Slov Neurol N; 2008, vol.71/104, no.3, s.324-328.

Přikrylová Vranová H, Mareš J, **Nevrlý M**, Stejskal D, Zapletalová J, Hlušík P, Kaňovský P. CSF markers of neurodegeneration in Parkinson's disease. J Neural Transm (2010) 117: 1177–1181

Přikrylová Vranová H, Mareš J, Hlušík P, **Nevrlý M**, Stejskal D, Zapletalová J, Obereigneru R, Kaňovský P. Tau protein and beta-amyloid₁₋₄₂ CSF levels in different phenotypes of Parkinson's disease. J Neural Transm 2011 Sep 4. [Epub ahead of print]

7.2.2 Publikace uveřejněné v recenzovaných časopisech

Kaňovský P, Nestrašil I, **Nevrlý M**, Ressler P. Farmakoterapie pokročilé Parkinsonovy nemoci. Neurol. pro praxi, 2006; 2: 108–110.

Kaňovský P, Nestrašil I, **Nevrlý M**, Ressler P. Léčba počátečního stádia Parkinsonovy nemoci. Neurol. pro praxi, 2006; 1: 32–35.

Chovancová Z, Kaňovský P, Nestrašil I, Dufek J, **Nevrlý M**, Otruba P. Peripheral nerve injury and the degree of motor involvement in Parkinson's disease: a correlation study. Cas Lek Cesk. 2008;147(4):211-4.

Chovancova Z, Kanovsky P, Dufek J, **Nevrly M**, Otruba P. Peripheral nerve involvement and severity of motor disorder in Parkinson's disease: a correlational study. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2009 Mar;153(1):59-62.

Nevrlý M, Sládková V, Otruba P, Buřval S, Lukáš Z, Kaňovský P. Příklad motorické a senzitivní neuropatie a roztroušené sklerózy mozkomíšni u jednoho pacienta. Neurol. pro praxi 2010; 11(1): 59–62

7.2.3 Publikovaná abstrakta

Nevrlý M, Otruba P, Dufek J, Nestrašil I, Vranová H, Kaňovský P. Evaluation of evoked potentials in patients with neurodegenerative disorders: an electrophysiological comparative study. Journal of Neurology, 17th Meeting of the European Neurological Society, Rhodes, Greece, Supplement 3, 2007,249,III/62

Nevrlý M, Opavský R, Otruba P, Vranová H, Hlustik P, Kaňovský P. Post stroke plasticity: Somatosensory cortex activation changes after botulinum toxin type A injections. Movement Disorders, 2009, Vol.24, (Suppl.1) 454

Nevrlý M, Opavský R, Otruba P, Vranová H, Hlustik P, Kaňovský P. Somatosensory cortex activation changes after botulinum toxin type A injections in post-stroke spasticity. Neurology 72 March 17, 2009, Number 11 (Suppl 3) A110

Kaňovský P, **Nevrlý M**, Velísková J, Kettnerová Z, Rössner P. Age at disease onset and heredity in Parkinson's disease. European Journal of Neurology, Abstracts of the 9th Congress of the European Federation of Neurological Societies, Athens. 2005;12(Suppl.2):104

Vranová H, **Nevrlý M**, Mareš J, Herzig R, Kaňovský P. Biological and clinical markers in the central nervous system degeneration. 37th International Danube Symposium for Neurological Science and Continuing Education, Ljubljana, Slovenia, Book of abstracts. 2005;37(21):147,148

Kollárová K, **Nevrlý M**, Rössner P, Herzig R, Kaňovský P. Genetics of Parkinson's disease – age at onset and heredity. Journal of Neurology, 16th Meeting of the European Neurological Society, Lausanne, Switzerland, Supplement 2, 2006,253,II/53

Vranová H, **Nevrlý M**, Mareš J, Herzig R, Kaňovský P. Biological and clinical markers in the central nervous system degeneration. Journal of Neurology, 16th

Meeting of the European Neurological Society, Lausanne, Switzerland,
Suplement 2, 2006,253,II/77

Kollárová K, **Nerlý M**, Ressler P, Kaňovský P. Genetics of Parkinson's disease – age at onset and heredity. European Journal of Neurology; Abstracts of the 10th Congress of the European Federation of Neurological Societies, Glasgow,UK; 2006,13,Suppl.2,91

Vranová H, Mareš J, **Nevrlý M**, Stejskal D, Herzig R, Kaňovský P. The presence of biological markers of neurodegeneration in the cerebrospinal fluid of patients suffering from neurodegenerative diseases. European Journal of Neurology; Abstracts of the 10th Congress of the European Federation of Neurological Societies, Glasgow,UK; 2006,13,Suppl.2,213

Vranová H, Mareš J, **Nevrlý M**, Stejskal D, Herzig R, Kaňovský P. CSF biological markers in the central nervous system degeneration. Movement Disorders; Abstracts of The Movement Disorder Society's Tenth International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Kyoto, Japan, 2006,Vol.21,Suppl.15,440

Kollárová K, **Nevrlý M**, Ressler P, Herzig R, Kaňovský P. Genetika Parkinsonovej choroby. Konference mladých lékařů, FN u sv. Anny, Brno. Sborník abstrakt, 2006,19

Vranová H, **Nevrlý M**, Mareš J, Herzig R, Kaňovský P. Biologické a klinické markery poškození nervové soustavy u neurodegenerativních onemocnění. Konference mladých lékařů, FN u sv. Anny, Brno. Sborník abstrakt, 2006,36

Kollárová K, **Nevrlý M**, Ressler P, Kaňovský P. Genetika Parkinsonovej choroby. Nerológia pre prax, Abstrakty, XXI. zjazd slovenských a českých mladých neuropológov, Martin,2006,7,1,15-16

Vranová H, Mareš J, **Nevrlý M**, Herzig R, Kaňovský P. Biologická a klinické markery poškození nervové soustavy u neurodegenerativních onemocnění: pilotní

studie. Nerulógia pre prax, Abstrakty, XXI. zjazd slovenských a českých mladých neurológov, Martin,2006,7,1,25

Vranová H, Kaňovský P, **Nevrlý M**, Mareš J, Hlušík P. The evaluation of tau-protein in the CSF in patients suffering from Parkinson's disease Movement Disorders; Abstracts of The Movement Disorder Society's Eleventh International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Istanbul, Turkey, 2007, Vol.22, Suppl.16,576

Vranová H, Mareš J, **Nevrlý M**, Herzig R, Kaňovský P. The evaluation of tau-protein in the CSF in patients suffering from Parkinson's disease. Journal of Neurology, 17th Meeting of the European Neurological Society, Rhodes, Greece, Supplement 3, 2007,492,III/124

Vranová H, Kaňovský P, Nestrašil I, Mareš J, **Nevrlý M**, Stejskal D. Is the Braak's staging really useful? A correlation analysis of neurodegeneration markers in cerebrospinal fluid and motor impairment in Parkinson disease. Parkinsonism & Related Disorders; Abstracts of The XVII WFN World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders, Amsterdam, Netherlands, 2007, Vol.13, Suppl.2,2.301

Vranová H, Kaňovský P, Nestrašil I, Mareš J, **Nevrlý M**, Stejskal D. Braak's staging in the clinical practice: neurodegenerative markers in cerebrospinal fluid and motor impairment in Parkinson disease. Neurology; Abstracts of The 60th Annual Meeting of American Academy of Neurology, Chicago, Illinois, USA, 2008, Vol.70, Suppl.1, P06.108

Vranová H, Kaňovský P, **Nevrlý M**, Mareš J, Nestrašil I, Stejskal D. Braak's staging in the clinical practice: neurodegenerative markers in cerebrospinal fluid and motor impairment in Parkinson disease. Journal of Neurology, 18th Meeting of the European Neurological Society, Nice, France, Supplement 2, 2008, 793

Vranova H, **Nevrlý M**, Mares J, Nestrasil I, Stejskal D, Kanovsky P. The Role of clusterin in Parkinson's disease. Eur J Neur 2008; 15 (Suppl 3) 124

Chovancova Z, **Nevrly M**, Otruba P, Dufek J, Kanovsky P. Peripheral nerves injury in the central nervous system degeneration (Parkinson's disease): a pilot study. Eur J Neur 2008; 15 (Suppl 3)

Chovancova Z, **Nevrly M**, Dufek J, Otruba P, Kanovsky P. Peripheral nerves injury in the central nervous system degeneration (Parkinson's disease): Pilot study. Mov Disord 2008;23 (Suppl 1) 296

8. Přílohy

Následující přílohy obsahují reprinty výše uvedených publikací, které nesouvisí přímo s tématem disertační práce.

Případ motorické a senzitivní neuropatie a roztroušené sklerózy mozkomíšní u jednoho pacienta

MUDr. Martin Nevrlý¹, MUDr. Vladimíra Sládková¹, MUDr. Pavel Otruba¹, doc. MUDr. Stanislav Buřval, Ph.D.², prof. MUDr. Zdeněk Lukáš, CSc.³, prof. MUDr. Petr Kaňovský, CSc.¹

¹Neurologická klinika LF UP, FN Olomouc

²Radiologická klinika LF UP, FN Olomouc

³Ústav patologie FN Brno-Bohunice

Pacienti s onemocněním Charcot-Marie-Tooth (CMT) mohou mít demyelinizační postižení i v oblasti centrálního nervového systému. Nacházíme potom při vyšetření MRI mozku podobný obraz jako u pacientů s roztroušenou sklerózou mozkomíšní (RS). Podobně u pacientů s RS může dojít k postižení periferních nervů, obdobnému jako u CMT. Nicméně při imunohistochemickém vyšetření periferního nervu lze nalézt mezi těmito dvěma typy postižení rozdíly.

Zaznamenali jsme případ 38letého muže s klinickým obrazem amyotrofie horních končetin, flekčního držení prstů a zápěstí s omezením jejich hybnosti oboustranně, hypotrofie akrálně na dolních končetinách, flekčního postavení nohou a snížení svalové síly. Elektromyografické i histologické vyšetření svědčí pro motorickou a senzitivní axonálně-demyelinizační polyneuropatii a odpovídá hereditárnímu typu polyneuropatie. Dále má anamnézu recidivující retrobulbární neuritidy a atak parestézií v různých lokalizacích s dobrým efektem po terapii kortikoidy. Nález na MR mozku i krční míchy, VEP i likvorologické vyšetření svědčí jednoznačně pro RS. Uvažujeme nad novou, resp. nikoliv běžnou, genovou mutací u tohoto pacienta, navíc ve vzácné koincidenci s RS.

Klíčová slova: onemocnění Charcot-Marie-Tooth, roztroušená skleróza mozkomíšní, polyneuropatie, elektromyografie.

A case of motor and sensory neuropathy and cerebrospinal multiple sclerosis in one patient

Patients with Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease may have demyelinating involvement also within the central nervous system. An MRI scan of the brain then shows a finding similar to that in patients with cerebrospinal multiple sclerosis (MS). Similarly, MS patients may develop peripheral nerve injury analogous to that in CMT. However, immunohistochemical examination of the peripheral nerve can distinguish between these two types of injury.

We recorded a case of a 38-year-old man presenting with upper limb amyotrophy, flexed posture of the fingers and wrist with a bilateral restriction in movement, hypotrophy of the lower limb periphery, flexed leg position, and muscle wasting. Electromyographic as well as histological tests indicated motor and sensory axonal-demyelinating polyneuropathy corresponding to a hereditary type of polyneuropathy. In addition, he had a history of recurrent retrobulbar neuritis and paraesthesia attacks at various sites with a good effect following a therapy with corticoids. The MRI finding of the brain and cervical spinal cord, VEP as well as CSF examination are clearly indicative of MS. A novel, or uncommon, gene mutation is considered in this patient, and what is more, in a rare coincidence with MS.

Key words: Charcot-Marie-Tooth disease, cerebrospinal multiple sclerosis, polyneuropathy, electromyography.

Neurol. pro praxi 2010; 11(1): 59–62

Seznam zkratk

CDT – karbohydrát – deficientní transferin

CHN – kongenitální hypomyelinizační neuropatie

CMT – onemocnění Charcot-Marie-Tooth

CNS – centrální nervový systém

Cx32 – connexin 32

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EGR 2 – early growth response 2

EMG – elektromyografie

GJB – gap junction β

HMSN – hereditární motorická a senzitivní neuropatie

HNPP – tomakulózní neuropatie

MNCV – rychlost vedení motorickým nervem

MPZ – myelin protein 0

MRI – magnetická rezonance

PMP 22 – periferní myelinový protein 22

RS – roztroušená skleróza mozkomíšní

SIMPLE – small integral membrane protein of the lysosome/late endosome

VEP – zrakové evokované potenciály

Úvod

Onemocnění Charcot-Marie-Tooth (CMT) je heterogenní skupinou onemocnění periferního nervového systému. CMT můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin – CMT 1 (demyelinizační) a 2 (axonální), a sice na základě rychlosti vedení motorickými vlákny nervus medianus, kdy u de-

myelinizačního typu je MNCV < 38 m/s a u axonálního je MNCV > 38 m/s (Dyck a Lambert, 1968).

CMT1 je geneticky heterogenní skupinou chronických demyelinizačních polyneuropatií s genovým postižením v oblasti 17. chromozomu (CMT1A), 1. chromozomu (CMT1B, CMT1E), 16. chromozomu (CMT1C) a 10. chromozomu (CMT1D) (Chance, 2004). 70–90% rodin pacientů tvoří typ IA, autozomálně dominantně dědičný, způsobený duplikací v oblasti 17p11.2–12 (Nelis et al., 1996; Marques et al., 2005), ve které leží gen pro periferní myelinový protein (PMP 22) (Berger et al., 2006; Giambonini-Brugnoli et al., 2005). Druhým nejčastějším je typ s vazbou na chromozom X (CMT1X), vzniklý mutací GJB1, genu pro con

nexin 32 (Cx32) (Matsuyama et al., 2001; Young et al., 2001). U CMT1B je postižen gen pro myelin protein 0 (MPZ) (Kilfoyle et al., 2006), u CMT1C je postižen gen pro small integral membrane protein of the lysosome/late endosome (SIMPLE) a CMT1D vzniká v důsledku postižení genu pro early growth response 2 (EGR 2) (Chance, 2004). Genotypickými variantami tohoto genu, které nepatří pod skupinu CMT1D, jsou syndrom Dejerine-Sottas (HMSN III) a kongenitální hypomyelinizační neuropatie (CHN). Tomakulózní neuropatie (HNPP – hereditary neuropathy with liability to pressure palsies) je typem CMT s nejmírnějšími klinickými projevy. Je spojena s 1,5-Mb delecí chromozomu 17p11.2-p12, jež vede k omezení exprese genu pro PMP22 (Chance, 2006). Dále ještě známe 2 typy s autozomálně recesivní dědičností s genovým postižením v oblasti 10. chromozomu (CMT4E), resp. 19. chromozomu (CMT4F).

CMT2 je neuropatií axonálního typu s postižením genu pro mitofusin 2 (MFN2) na chromozomu 1p35-p36 (CMT2A) (Baloh et al., 2007), chromozomu 3q13-q22 (CMT2B), chromozomu 7p14 (CMT2D), chromozomu 8p21 (CMT2E), chromozomu 1q22-q23 (CMT2F) nebo chromozomu 3q13 (CMT2G) (Chance, 2004). CMT2I a CMT2J jsou dalšími 2 onemocněními CMT axonálního typu s autozomálně dominantním typem dědičnosti s mutací MPZ genu. Jsou popisovány i 2 formy CMT2 vázané na chromozom X, zatím ale přesněji neurčené (Kleopa a Scherer, 2006).

To je však pouze stručný výčet nejčastějších forem CMT, které je možné potvrdit dostupnou analýzou DNA. Všechny genové mutace, které mohou vést k obrazu některého typu hereditární neuropatie však dosud nebyly popsány. Pokud molekulárně genetické vyšetření neprokáže kauzální mutaci, není diagnóza CMT vyloučena.

V literatuře je uváděna možnost koincidence CMT a různého postižení bílé hmoty mozku, které jen zřídka bývá symptomatické, a nejčastěji se projevuje tranzitorním neurologickým deficitem (Tackenberg et al., 2006; Hisama et al. 2001; Ertl-Wagner et al., 2005). Tento může být vyvolán infektem, febriliemi či jinou zátěží organismu. Likvorový nález téměř nikdy nevykazuje známky zánětu, a kortikoidy jsou terapeuticky téměř vždy neúčinné. Při vyšetření magnetickou rezonancí (MRI) bývají výjimečně popisována T2-hyperintenzní ložiska lokalizovaná převážně v centru semiovale, corpus callosum a středním mozečkovém pedunkulu, ojediněle byly popsány i jako splyváající, zasahující vysoko subkortikálně, většinou tyto léze přetrvávají měsíce a poté vymizí (Amato a Barohn, 1996).

Roztroušená skleróza mozkomíšní (RS) je autoimunitním onemocněním centrálního nervového systému (CNS), vyskytující se převážně v mladém věku. Podíl genetické dispozice a faktorů zevního prostředí v etiopatogenezi RS není dosud zcela objasněn. V oblasti CNS jsou přítomna u RS mnohočetná perivaskulární zánětlivá ložiska – plaky. Kromě těchto zánětlivých a demyelinizačních lézí v bílé hmotě byla popsána i ložiska demyelinizace v šedé hmotě. V některých recentních studiích jsou popisovány postižení i v oblasti periferního nervového systému, dle některých studií až u 34% pacientů s RS (Merkulov, Zavalishin a Merkulova, 2009; Anlar et al., 2003). Bylo popsáno i několik ojedinělých kazuistických případů koincidence RS a CMT (Frasson et al., 1997; Almsaddi et al., 1998; Rajabally a Abbott, 2005).

Kazuistika

Na naší klinice jsme zaznamenali případ 38letého muže s anamnézou vředové choroby duodena a glaukomu. V rodinné anamnéze nebyla v dostupné dokumentaci dohledána diagnóza neuropatie. Ve 14 letech prodělal operaci pro hypospadii glandularis, rok poté následovala další hospitalizace pro enuresis nocturna. V 21 letech po úderu do oblasti levého lokte bylo pro následné parestezie v oblasti nervus ulnaris vlevo provedeno elektromyografické vyšetření (EMG) s nálezem zpomalení rychlosti motorického vedení nejen na výše uvedeném nervu, ale rovněž na druhostranném ulnárním nervu i na obou mediálních nervech. Ve svalch inervovaných těmito nervy byl i nález abnormní spontánní aktivity. Dle následných neurologických vyšetření docházelo u pacienta během dalších let k postupné svalové atrofii na horních i dolních končetinách, především pak na distálních svalch horních končetin, dále k oslabování svalové síly, byla také popisována šlachookosticová areflexie na horních i dolních končetinách. Již v 21 letech pacienta byly příznaky hodnoceny jako CMT typ 1. V téže době se u pacienta opakovaně vyskytly paroxysmy panické poruchy.

Ve 34 letech u pacienta náhle vznikla diplopie s horizontálním rozstupem obrazu, rotační nystagmus, parestezie pravé poloviny jazyka a tváře, nejistota při chůzi a ataxie. Poté po intravenózní aplikaci 3 g kortikoidů odezněly. Při likvorologickém vyšetření bylo zjištěno 6 oligoklonálních pásov. Za dalších 6 měsíců, ve 35 letech prodělal levostrannou retrobulbární neuritidu. Provedeno MRI mozku s nálezem demyelinizačních změn v bílé hmotě mozkových hemisfér a solitárně v pravém mozečkovém pedunkulu, typických pro RS. Tehdy bylo u pacienta diagnostikováno i demyelinizační onemocnění

charakteru RS. Několikrát pak v následujícím průběhu došlo k paroxysmálnímu zhoršení výše popsaných symptomů (diplopie a parestezií). Opakovaně pak byl v těchto případech léčen intravenózní aplikací kortikoidů, vždy s dobrým efektem na parestezie či poruchy vizu.

Ve 36 letech utrpěl úraz pravého ramene s reziduálním omezením hybnosti v ramenním kloubu. O několik týdnů později pak náhle bez zjevného vyvolávajícího momentu začal pacient zakopávat o špičku pravé dolní končetiny, což přetrvává po větší fyzické námaze dosud. EMG tehdy neprokázalo výraznější postižení pravého peroneálního nervu ve srovnání s postižením dalších periferních nervů dolních končetin při diagnóze CMT. Vzhledem k parciálnímu zlepšení dorzální flexe pravé nohy po intravenózní aplikaci kortikosteroidů v dávce 2,5 g, hodnoceno jako další ataka RS.

Nyní ve věku 38 let jsou u pacienta v klinickém nálezu přítomny těžké amyotrofie svalstva předloktí a ruky, a také pletenců horních končetin, flekční držení prstů (obrázek 1), omezení hybnosti v kloubech ruky a zápěstí, snížení svalové síly při pohybech i v rameni a lokti oboustranně, pravostranná hemiparéza, šlachookosticová hyporeflexie. Dále jsou patrné hypotrofie svalstva dolních končetin s maximem akrálně, více vpravo. Je patrné flekční držení trupu, dystaxie horních i dolních končetin oboustranně, snížené šlachookosticové reflexy a nevybavné patologické kožní reflexy. Při vyšetření citlivosti byla zjištěna hypostezie distálně od zápěstí rukavicovitého typu a distálně od kolen punčochového typu, včetně poruchy vibračního čítí akrálně na horních i dolních končetinách.

Laboratorně byla patrna lehká trombocytopenie, jinak bez pozoruhodností, včetně základního screeningového vyšetření možných příčin polyneuropatie (glykemie, hladina hormonů štítné žlázy, sérová hladina vitamínu B12, CDT, revmatologický screening, jaterní a renální parametry). Při MRI vyšetření mozku byl dominantním nálezem obraz vícečetných ložisek, hyperin-

Obrázek 1. Flekční postavení rukou



tenzních při T2-vážených obrazech a FLAIR sekvencích, bez korelace na T1-vážených obrazech, lokalizovaných v bílé hmotě periventrikulárně až subkortikálně, a v téměř celém corpus callosum, které podle popisu odpovídaly demyelinizačnímu postižení při RS. Nález dalších podobných ložisek, hyperintenzních při T2 a vážených obrazech a STIR, bez korelace při T1 vážených obrazech, byl patrný i při MRI C míchy (obrázek 2). Při srovnání s předchozím vyšetřením (viz výše) je patrná progresse změn, opět charakteristická pro RS. Dále nález při vyšetření zrakových evokovaných potenciálů (VEP) odpovídá demyelinizační nejspíše prechiasmatické lézi obou optických nervů – je prodloužení latence vlny P100 oboustranně, výrazně asymetricky pro levou stranu (obrázek 3). Další EMG nález podporuje diagnózu periferní přímá demyelinizační polyneuropatie (tabulka). Při vyšetření likvoru jsme zaznamenali nález mononukleární pleiocytózy, normální funkce hematoencefalické bariéry, normální nález při imunoelktroforéze a nespecificky vyšší hodnotu beta-amyloidu.

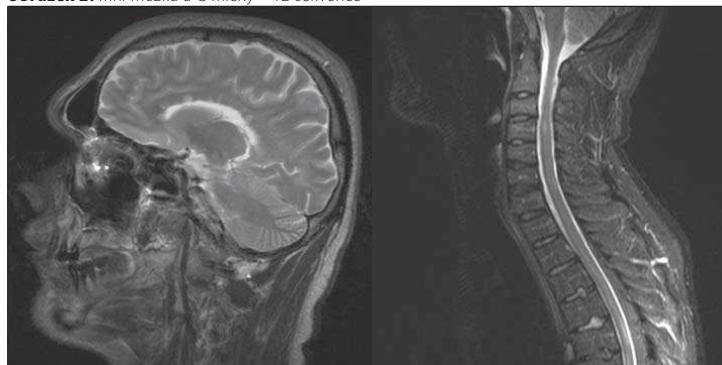
Při biopsii periferního nervu (n. suralis vpravo, Ústav patologie LF MU v Brně) bylo zjištěno, že v úseku odpovídajícím epineuriu i perineuriu nejsou zánětlivé změny. Nalezeny značně nestejně změny průřezu, soubor nervových vláken je členěn úzkými vazivovými septy na nestejně segmenty složené ze svazků (směsí) demyelinizovaných a svazky remyelinizovaných regenerovaných vláken. Jen v malém počtu jsou přítomny svazky remyelinizovaných regenerovaných vláken. Jen v malém počtu jsou přítomny tzv. „onion bulbs“, které jsou potvrzeny i v ultratenkých řezech elektronovým mikroskopem. Ve vazivové složce nervu je zastiženo několik cév s hyalinně ztluštělou stěnou. V jiných úrovních jsou zastiženy úseky s dominantní přítomností „onion bulbs“ (obrázek 4). Nález podle závěru vyšetření nejbližší koreluje s hereditární motorickou a senzitivní neuropatií, intermediární typ, tj. kombinace změn typu 1 a 2 (Acar et al., 2004; Fidzianska et al., 2002).

Molekulárně genetické vyšetření neprokázalo zdvojení některé z alel v oblasti 17p11.2-p12 (gen pro PMP 22) – nález nepotvrzující CMT1A. Stejně tak nebyla prokázána typická delece pro diagnózu tomakulózní polyneuropatie (HNPP) ve vyšetřované oblasti a také mutace v GBJ genu (CMT1X) ani v genu MPZ (CMT1B).

Závěr

Je známo, že u CMT může dojít u některých typů k postižení i v oblasti CNS (Tackenberg et al., 2006; Seeman, 2001; Amato a Barohn, 1996). Děje se tak například postižením exprese connexi-

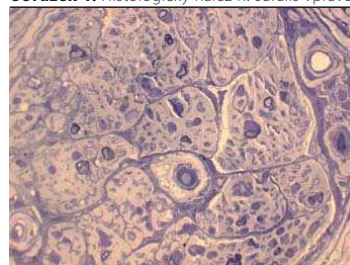
Obrázek 2. MRI mozku a C míchy – T2 sekvence



Obrázek 3. Zrakové evokované potenciály (VEP)



Obrázek 4. Histologický nález n. suralis vpravo



Tabulka 1. Výsledky kondukčních studií

		Latence (ms)	Amplituda (motorické nervy mV, senzitivní µV)	Rychlost vedení (m/s)	
Motorické nervy	Nervus medianus vpravo				
		zápěstí	8.2	0.1	
		loket	16.8	0.1	17.4
	Nervus medianus vpravo				
		zápěstí	9.7	0.1	
		loket	20.4	0.1	15.0
	Nervus ulnaris vpravo				
		zápěstí	6.6	0.4	
		loket	13.8	0.5	19.4
		paže	18.8	0.4	20.0
	Nervus ulnaris vlevo				
		zápěstí	7.2	1.0	
		loket	15.8	0.4	11.6
		paže	19.0	1.0	21.3
	Nervus tibialis vlevo				
	kotník	12.8	0.2		
	poplitea	42.7	0.1	16.7	
Nervus peroneus vlevo					
	nárt	11.4	0.8		
	pod hlavičkou fibuly	38.7	0.6	13.4	
Senzitivní nervy	Nervus suralis vpravo				
			–	–	–
	Nervus medianus vlevo				
		9.8	1.2	21.1	
	Nervus ulnaris vlevo				
		10.0	0.6	20.1	

nů na astrocytech a oligodendrocytech. Toto postižení má při vyšetření MRI mozku podobný obraz, jako je u pacientů s RS. Nicméně, při likvorologickém vyšetření nebývají nalezeny známky zánětu a toto postižení, které se může manifestovat neurologickým deficitem, nikdy nereguluje na terapii kortikoidy.

Podobně i u RS může dojít po delším průběhu onemocnění k demyelinizačnímu postižení periferních nervů (Merkulov, 2009), podobněmu jako při CMT (Anlar et al., 2003; Zéphir et al., 2008; Pogorzelski et al., 2004; Sarova-Pinhas et al., 1995). Nicméně při imunohistochemickém vyšetření byly prokázány podobnosti v postižení u RS a CMT (Acar et al., 2004). Rovněž nález při EMG vyšetření není u těchto dvou onemocnění identický (Anlar et al., 2003).

U referovaného pacienta nález ložisek postižených demyelinizací při MRI mozku i krční míchy, dále obraz prechiasmatického postižení obou optických nervů při VEP a také likvorologický nález 6 oligoklonálních pášů nasvědčuje onemocnění RS. Tomu odpovídá i klinický nález se splněním McDonaldových kritérií (Polman et al., 2005), atakovitý průběh s velmi dobrou odpovědí na kortikoterapii.

EMG vyšetřením bylo zjištěno axonálně-demyelinizační postižení (výrazné zpomalení rychlosti vedení a snížení amplitudy oboustranně). Biopsický nález odpovídá postižení jak CMT1, tak CMT2, a mohl by svědčit pro intermediární typ CMT. Molekulárně genetické vyšetření dostupných alel nicméně nepotvrdilo CMT1 ani HNPP. Vzhledem ke klinickému obrazu a výše uvedeným nálezům EMG a histologických vyšetření však usuzujeme na hereditární příčinu primárně demyelinizační neuropatie, byť se jedná o sporadický případ v rodině pacienta. Uvažujeme o buďto vzácné nebo zatím nezjištěné sporadické genové mutaci, která vede ke klinickému obrazu CMT, intermediárního typu 1 a 2.

Kombinaci onemocnění RS a CMT u jednoho pacienta, navíc CMT zapříčiněného zřejmě méně častou či zcela novou genovou mutací, považujeme za ojedinělou. V literatuře jsme našli jen několik málo kazuistických případů koincidence CMT a RS (Frasson et al., 1997; Almsaddi et al., 1998; Rajabally a Abbott, 2005; Zéphir et al., 2008), ale ne podobný případ s jednoznačnou patologií, odpovídající některé z forem CMT, a zároveň typickým symptomovým komplexem odpovídajícím RS. DNA pacienta je uchováváno na genetickém pracovišti k analýze v pozdější

době, s vyšší úrovní poznání molekulárních příčin polyneuropatií a demyelinizací.

Literatura

1. Acar G, Tanriover G, Demir N, Kayisli UA, Sati GL, Yaba A, Idiman E, Demir R. Ultrastructural and immunohistochemical similarities of two distinct entities; multiple sclerosis and hereditary motor sensory neuropathy. (Acta Histochem. 2004; 106(5): 363–371).
2. Almsaddi M, Bertorini TE, Seltzer WK. Demyelinating neuropathy in a patient with multiple sclerosis and genotypical HMSN-1. (Neuromuscul Disord. 1998 Apr; 8(2): 87–89).
3. Amato AA, Barohn RJ. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies: association with central nervous system demyelination. (Muscle Nerve. 1996 Jun; 19(6): 770–773).
4. Anlar O, Tombul T, Kisli M. Peripheral sensory and motor abnormalities in patients with multiple sclerosis. (Electromyogr Clin Neurophysiol. 2003 Sep; 43(6): 349–351).
5. Baloh RH, Schmidt RE, Pestronk A, Milbrandt J. Altered axonal mitochondrial transport in the pathogenesis of Charcot-Marie-Tooth disease from mitofusin 2 mutations. (J Neurosci. 2007 Jan 10; 27(2): 422–430).
6. Berger P, Niemann A, Suter U. Schwann cells and the pathogenesis of inherited motor and sensory neuropathies (Charcot-Marie-Tooth disease). (Glia. 2006 Sep; 54(4): 243–257).
7. Chance PF. Genetic evaluation of inherited motor/sensory neuropathy. (Suppl Clin Neurophysiol. 2004; 57: 228–242).
8. Chance PF. Inherited focal, episodic neuropathies: hereditary neuropathy with liability to pressure palsies and hereditary neuralgic amyotrophy. (Neuromolecular Med. 2006; 8(1–2): 159–174).
9. Dyck PJ, Lambert EH. Lower motor and primary sensory neuron diseases with peroneal muscular atrophy. I. Neurologic, genetic, and electrophysiologic findings in hereditary polyneuropathies. (Arch Neurol. 1968 Jun; 18(6): 603–618).
10. Ertl-Wagner BB, Helmchen C, Stähler A, Fassmann F, Reiser MF. Hereditary motor and sensory neuropathy (HMSN) with hypertrophy of the cauda equina and concomitant demyelinating white matter lesions. (Radiologe. 2005 Jul; 45(7): 593–596).
11. Fidzińska A, Drac H, Rafalowska J. Phenomenon of Schwann cell apoptosis in a case of congenital hypomyelinating neuropathy with basal lamina onion bulb formation. (Brain Dev. 2002 Oct; 24(7): 727–731).
12. Frasson E, Polo A, Di Summa A, Fabrizi GM, Taioli F, Fiaschi A, Rizzuto N, Moretto G. Multiple sclerosis associated with duplicated CMT1A: a report of two cases. (J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1997 Sep; 63(3): 413–414).
13. Giambonini-Brugnoli G, Buchstaller J, Sommer L, Suter U, Mantei N. Distinct disease mechanisms in peripheral neuropathies due to altered peripheral myelin protein 22 gene dosage or a Pmp22 point mutation. (Neurobiol Dis. 2005 Apr; 18(3): 656–668).
14. Hisama FM, Lee HH, Vashlishan A, Tekumalla P, Russell DS, Auld E, Goldstein JM. Clinical and molecular studies in a family with probable X-linked dominant Charcot-Marie-Tooth disease involving the central nervous system. (Arch Neurol. 2001 Nov; 58(11): 1891–1896).
15. Kilfoyle DH, Dyck PJ, Wu Y, Litchy WJ, Klein DM, Dyck PJ, Kumar N, Cunningham JM, Klein CJ. Myelin protein zero mutation His39Pro: hereditary motor and sensory neuropathy with variable onset, hearing loss, restless legs and multiple sclerosis. (J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2006 Aug; 77(8): 963–966).
16. Kleopa KA, Scherer SS. Molecular genetics of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. (Neuromolecular Med. 2006; 8(1–2): 107–122).
17. Marques W Jr, Freitas MR, Nascimento OJ, Oliveira AB, Caíla L, Melo A, Lucena R, Rocha V, Barreira AA. 17p duplicated Charcot-Marie-Tooth 1A Characteristics of a new population. (J Neurol. 2005 Aug; 252(8): 972–979).
18. Matsuyama W, Nakagawa M, Moritoyo T, Takashima H, Umehara F, Hirata K, Suehara M, Osame M. Phenotypes of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease and altered trafficking of mutant connexin 32 (GJB1). (J Hum Genet. 2001; 46(6): 307–313).
19. Merkulov YA, Zavalishin IA, Merkulova DM. The role of axonopathy in the mechanisms of development of demyelination processes in the central and peripheral nervous system. (Neurosci Behav Physiol. 2009 Jan; 39(1): 31–34).
20. Nelis E, Warner LE, Vriendt ED, Chance PF, Lupski JR, Van Broeckhoven C. Comparison of single-strand conformation polymorphism and heteroduplex analysis for detection of mutations in Charcot-Marie-Tooth type 1 disease and related peripheral neuropathies. (Eur J Hum Genet. 1996; 4(1): 25–33).
21. Pogorzelski R, Baniukiewicz E, Drozdowski W. Subclinical lesions of peripheral nervous system in multiple sclerosis patients. (Neurol Neurochir Pol. 2004 Jul-Aug; 38(4): 257–264).
22. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinschenker BG, Wolinsky JS. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the „McDonald Criteria“. (Ann Neurol. 2005 Dec; 58(6): 840–846).
23. Rajabally YA, Abbott RJ. Charcot-Marie-Tooth disease due to the Thr124Met mutation in the myelin protein zero gene associated with multiple sclerosis. (J Peripher Nerv Syst. 2005 Dec; 10(4): 388–389).
24. Sarova-Pinhas I, Achiron A, Gilad R, Lampl Y. Peripheral neuropathy in multiple sclerosis: a clinical and electrophysiologic study. (Acta Neurol Scand. 1995 Apr; 91(4): 234–238).
25. Seeman P, Mazanec R, Ctvrtková M, Smilková D. Charcot-Marie-Tooth type X: A novel mutation in the Cx32 gene with central conduction slowing. (Int J Mol Med. 2001 Oct; 8(4): 461–468).
26. Tackenberg B, Moller JC, Rindock H, Bien S, Sommer N, Oertel WH, et al. CNS involvement in hereditary neuropathy with pressure palsies (HNPP). (Neurology. 2006 Dec 26; 67(12): 2250–2252).
27. Young P, Grote K, Kuhlensbaumer G, Debus O, Kurlmann H, Halfter H, Funke H, Ringelstein EB, Stögbauer F. Mutation analysis in Charcot-Marie Tooth disease type 1: point mutations in the MPZ gene and the GJB1 gene cause comparable phenotypic heterogeneity. (J Neurol. 2001 May; 248(5): 410–415).
28. Zéphir H, Stojkovic T, Latour P, Lacour A, de Seze J, Outteryck O, Mauraige Ca, Monpeurt C, Chatelet P, Overlaçq E, Vermersch P. Relapsing demyelinating disease affecting both the central and peripheral nervous systems. (J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2008 Sep; 79(9): 1032–1039).

MUDr. Martin Nevrlý
Neurologická klinika FN
I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
nevrlly.martin@post.cz



LÉČBA POČÁTEČNÍHO STADIA PARKINSONOVY NEMOCI

doc. MUDr. Petr Kaňovský, CSc., MUDr. Igor Nestrašil, MUDr. Martin Nevrlý, MUDr. Pavel Ressler

Centrum pro diagnostiku a léčbu neurodegenerativních onemocnění, Neurologická klinika LF UP, FN Olomouc

V počátečním stadiu Parkinsonovy nemoci je zásadní především zvolit okamžik, kdy je medikamentózní terapie zahájena. Mělo by tak být učiněno ve chvíli, kdy projevy nemoci významněji omezují běžné denní aktivity pacienta. Následně je pak třeba zvolit některý z několika druhů preparátů, které jsou pro léčbu tohoto stadia Parkinsonovy nemoci dostupné. V zásadě je vždy vhodné začít léčbu inhibitory MAO-B nebo antiglutamatergními preparáty. Je-li symptomatologie výraznější, je nezbytná dopaminergní terapie. Konsenzus z posledních let, podpořený výsledky klinických studií, je ten, že v takovém případě by léčba měla být zahájena preparátem ze skupiny agonistů dopaminu.

Klíčová slova: Parkinsonova nemoc, počáteční stadium, terapie, agonisté dopaminu.

Neurol. pro praxi, 2006; 1: 32–35

Úvod

Je vůbec otázkou, co lze nazvat počátečním stadiem Parkinsonovy nemoci. Jedná-li se o situaci, kdy poprvé na pacientovi lékař zjistí přítomnost příznaků, které mohou na parkinsonský syndrom upomínat, anebo jedná-li se o situaci, kdy je na základě klinického nálezu, výsledků pomocných vyšetření a výsledků farmakologických testů souzeno, že v daném případě je parkinsonský syndrom způsoben počínající Parkinsonovou nemocí. Osobně se kloním spíše k druhé variantě, tj. tomu stavu, kdy lékař usoudí, že se jedná o Parkinsonovu nemoc.

Další otázkou je, co a jak v této fázi léčit. Obvykle se v tomto stadiu u pacienta setkáváme s nevýraznými příznaky charakteru drobné hypokinezy, lehce zvýšeného plastického tonu, hypomimie, a v některých případech i s vyvinutým třesem (třes je počátečním příznakem Parkinsonovy nemoci pouze v 20–30% případů). Lékař si musí být pochopitelně vědom toho, že každá medikamentózní terapie má kromě žádoucích, pozitivních účinků i účinky postranní a tudíž nežádoucí. Takže každá farmakologická intervence může stav pacienta zlepšit, ale zároveň indukovat problémy, a to nejen okamžitě, ale i „odloženě“. Proto by základním imperativem v této fázi terapeutických úvah mělo být „primum non nocere“. Jakákoliv farmakologická terapie by měla být důkladně diskutována s pacientem a ordinována pouze v situaci, kdy se lékař snaží ovlivnit příznaky, které pacienta skutečně obtěžují a významněji zhoršují kvalitu jeho života.

Poté, co bylo dosaženo konsenzu mezi pacientem a lékařem, že farmakologická terapie je nezbytná, nabízí se v počátečním stadiu Parkinsonovy nemoci několik terapeutických variant. Jsou jimi léčba inhibitory MAO-B, anticholinergiky, adamantanovými sloučeninami, dopaminovými agonisty a vyjimečně léčba L-DOPA (14).

Inhibitory monoaminoxidázy B

Selegilin jako sloučenina byl syntetizován poprvé v r. 1964 v Budapešti Jánosem Knollem. Jedná se ireverzibilní blokátor monoaminoxidázy B (MAO-B). Předpokládá se, že svým působením (nejen v mozku, ale ve všech buněčných systémech lidského těla) blokuje Fentonovu reakci a tím redukuje riziko oxidativního stresu redukcí tvorby volných radikálů. Zatím jsou volné radikály považovány za důležitý činitel v průběhu apoptózy. Zároveň blokádu MAO-B, jednoho z enzymů, metabolizujících L-DOPA na periférii i v CNS, zvyšují její využitelnost. Velké klinické studie (např. DATATOP) prokázaly, že skutečně léčba selegilinem oddaluje potřebu zahájení léčby L-DOPA. Neprokázaly však přesvědčivě předpokládaný neuroprotektivní efekt, tj. zpomalení progresu nemoci (10). Do nedávna byl selegilin zřejmě nejčastěji používaným preparátem při zahájení medikamentózní léčby Parkinsonovy nemoci. Limitací jeho použití je však to, že u starších nemocných je potřeba velké opatrnosti, zejména při koincidenci kardiálního onemocnění. Důvodem jsou výsledky velké britské studie, která přinesla důkazy o náhlých koronárních úmrtích u pacientů s touto anamnézou, léčených selegilinem. Proto se v současnosti doporučuje léčba maximální dávkou 5 mg/den, která by toto riziko měla když ne eliminovat, tak alespoň minimalizovat. Dalším problémem léčby selegilinem je rozvoj určité závislosti na léčbě. Selegilin je totiž v těle metabolizován na amfetamin a metamfetamin. Euforizující účinek léčby selegilinem je sice do jisté míry příznivý, na druhé straně je však vyvážen rizikem vzniku abstinenčních příznaků při náhlém vysazení. Podobným problémem je možná kombinace s SSRI preparáty, která může vyvolat serotoninový syndrom. Tyto vlastnosti postrádá nový preparát této řady, **rasagilin**, který je na rozdíl od selegilinu indikován nejenom v počátečním, ale i v pokročilém stadiu nemoci (8).

Anticholinergika

Jedná se patrně o nejstarší léky používané k léčbě Parkinsonovy nemoci. Anticholinergiky jsou totiž přírodní alkaloidy atropin a skopolamin, a tinctura belladonnae byla k ovlivnění parkinsonské symptomatologie používána již dávno. Výhodou anticholinergik je snadné podávání, nevýhodou je poměrně vysoká incidence nežádoucích účinků z psychiatrické oblasti, zejména halucinací a kognitivních poruch (8). Z tohoto důvodu se nedoporučuje podávání anticholinergik u pacientů starších 60 let. Nevýhodou je také nutnost postupného vysazení, náhlé vysazení může způsobit abstinenční příznaky. Výhodou, kterou je třeba zmínit, je selektivní velmi dobrá účinnost u tremor-dominantních forem Parkinsonovy nemoci a pozitivní ovlivnění vegetativních příznaků, např. hypersalivace (6). V současné době jsou prakticky dostupné pouze 3 preparáty této skupiny: **biperiden**, **benztropin** a **orfenadrin**, přičemž biperiden existuje i v injekční formě. Je také patrně nejčastěji podáván.

Adamantanové sloučeniny

Původně byla tato léková skupina vyvinuta jako antivirotikum. Akcidentálně však byl pozorován významný pozitivní efekt této léčby na příznaky Parkinsonovy nemoci.

V současnosti jsou adamantanové sloučeniny dostupné jako **amantadin-sulfát** a **amantadin-hydrochlorid**. Předpokládá se u nich stejná cesta účinku. Vzhledem k tomu, že tyto preparáty jsou antiglutamatergní, zřejmě se váží na NMDA-receptory v mozku a jejich prostřednictvím ovlivňují příbuzný (a anatomicky blízký) systém dopaminergní (8).

Adamantanové sloučeniny jsou výhodné v monoterapii. Jejich kombinace se selegilinem nepřináší (vzhledem k absenci průkazu skutečného neuroprotektivního účinku selegilinu) žádných výhod, takže je

třeba volit mezi těmito dvěma druhy terapie. Přitom je vhodné zohlednit specifické působení amantadinu na posturální poruchy u Parkinsonovy nemoci. Kombinace s L-DOPA či dopaminovými agonisty může být příčinou vzniku halucinatorního syndromu, takže je doporučováno se této kombinaci v léčbě vyhnout a před nasazením dopaminergní terapie amantadin vysadit (14).

Specifickým použitím amantadinu je infuzní léčba roztokem amantadin-sulfátu, která je používána v případech selhávání dopaminergní léčby a nástupu výrazné hypokinezy a rigidity u fluktuujících pacientů s Parkinsonovou nemocí.

Agonisté dopaminu

Jde o nejmladší skupinu léčiv určených k léčbě Parkinsonovy nemoci. V zásadě se jedná o dvě skupiny molekul, ergolinové a non-ergolinové. Starší preparáty (např. lisurid, tergurid bromokriptin, dihydroergokriptin, cabergolin, pergolid) mají vesměs ergolinovou strukturu, preparáty modernější (ropinirol, pramipexol, rotigotin, sumanirol) mají strukturu non-ergolinovou. Specifickým zástupcem této skupiny je apomorfín, který má strukturu nejbližší přirozenému dopaminu. Následující preparáty je možno použít v léčbě počáteční fáze Parkinsonovy nemoci.

Lisurid je slabý D2 a ještě slabší D1 agonista. Má velmi krátkou dobu účinku a poločas do 3 hodin. Byl podáván široce v době, kdy nebyly dostupné moderní a účinnější preparáty.

V současné době však fakticky není v indikaci Parkinsonovy nemoci podáván. V klinických studiích probíhá ověřování možnosti podávání lisuridu pomocí náplasti (17).

Tergurid je slabý parciální D1 a D2 agonista. Jedná se o původní českou molekulu. Nízká účinnost preparátu byla vyvážena nízkou frekvencí nežádoucích účinků (3). Je stále indikován jako monoterapie i jako „add-on“ terapie ve fázi komplikací léčby levodopou, nicméně prakticky není v indikaci Parkinsonova nemoci podáván.

Bromokriptin je méně efektivní D2 agonista, který má na D1 receptorech antagonistický efekt. Má kratší poločas, kolem 8–9 hodin, a k dosažení terapeutického efektu je nutno podávat vyšší dávky, až kolem 30 mg t. i. d. Halucinace a zmatenost jsou nejčastějšími nežádoucími účinky, někdy bývá popisována i pleurální fibróza (12). V současné době je indikován jako „add-on“ terapie ve fázi komplikací léčby levodopou, nicméně jeho podávání je v České republice i Evropě spíše výjimkou, častěji je používán v USA.

Dihydroergokriptin je silný D2 agonista a slabý parciální D1 agonista. Výhodou preparátu je poměrně dlouhý poločas, udává se až 15–17 hodin,

a dobrá snášenlivost. Nevýhodou je nutnost podávání vysokých dávek (až 60 mg denně) k dosažení terapeutického účinku (6). Nejčastějším nežádoucím efektem je ortostatická hypotenze (14). V současné době je sice indikován jako „add-on“ terapie ve fázi komplikací léčby levodopou, nicméně podáván je v indikaci Parkinsonova nemoci málo, spíše vůbec ne.

Cabergolin je ergolinový D2 agonista a parciální antagonist D1 receptorů. Slabší dopaminergní efekt preparátu je vyvážen dlouhou dobou účinku, poločas je až 70 hodin. Hlavním nežádoucím účinkem je ortostatická hypotenze (1). V České republice proběhla před lety klinická studie, preparát je však registrován pouze pro léčbu prolaktinomu. V současné době by byl indikován jako „add-on“ terapie ve fázi komplikací léčby levodopou.

Pergolid je ergolinový, velmi potentní agonista D1, D2 i D3 receptorů s poločasem 27 hodin. Relativně malé riziko vzniku komplikací psychiatrického charakteru a ortostatické hypotenze a velmi dobrá snášenlivost z gastrointestinálního hlediska jsou vyváženy evidencí indukce fibrózických změn na srdečních chlopních. Z tohoto důvodu byl výrobce nucen informovat lékaře o těchto skutečnostech, a v současné době je indikován jako „add-on“ terapie ve fázi komplikací navozených léčbou levodopou a jako monoterapie pouze za předpokladu nesnášenlivosti jiných preparátů této skupiny (tj. jako lék druhé řady). I tak je však potřebná pravidelná echokardiografická kontrola (2, 15).

Pramipexol je non-ergolinový vysoce selektivní agonista D2 receptorů s afinitou i k D3 receptorům. Závratě, občasná ortostatická hypotenze a psychiatrické komplikace jsou nejčastější nežádoucí účinky (9). V roce 2001 byly referovány první případy „náhlého usnutí“ u pacientů, léčených pramipexolem, což probudilo zájem o tento nespecifický, patrně skupinový, nežádoucí efekt léčby (5). V současné době je indikován jako „add-on“ terapie ve fázi komplikací léčby levodopou a jako monoterapie v počátečním stadiu nemoci.

Ropinirol je non-ergolinový, selektivní D2 a D3 agonista s relativně dlouhým poločasem a výrazně nízkou frekvencí nežádoucích účinků psychiatrického charakteru. Jedná se v současné době o patrně nejbezpečnější, a proto také v indikaci Parkinsonova nemoci nejužívanější preparát ze skupiny agonistů dopaminu. Převážně je v současnosti používán jako zahajovací léčba Parkinsonovy nemoci, a to proto, že ve velké studii bylo prokázáno snížení rizika vzniku dyskinezi (13), a v další velké studii bylo pomocí PET prokázáno i zpomalení progresu nemoci (16). Je pochopitelně indikován i jako „add-on“ terapie ve fázi komplika-

cí způsobených léčbou L-DOPA. Jako u jediného z preparátů této skupiny byla ve velké studii ověřena efektivita a bezpečnost terapie ropinirolem u věkové skupiny pacientů nad 70 let. V současné době je připravována registrace tzv. retardované, neboli „controlled-release“ formy preparátu (4, 6, 7, 11).

Rotigotin je nejnovější preparát ze skupiny agonistů dopaminu s non-ergolinovou strukturou. Jedná se o D2 agonistu s částečnou afinitou i k D3 receptorům. Je podáván ve formě náplasti. Proběhly již klinické studie všech fází, je připravována registrace i v České republice, ale širší klinické zkušenosti s preparátem nejsou (4).

L-DOPA

L-DOPA je sice zlatým standardem léčby Parkinsonovy nemoci, ale v poslední době se široce ustupuje od jejího používání v léčbě počátečního stadia, s výjimkou velmi starých nebo polymorbidních pacientů. Proto bude použití L-DOPA a inhibitorů enzymů, které ji metabolizují, popsáno v článku věnujícím se léčbě pokročilého stadia nemoci.

Strategie zahájení léčby

Strategii zahájení léčby Parkinsonovy nemoci v počátečním stadiu lze popsat relativně jednoduše. Lékem první volby by patrně měl být selegilin či rasagilin, protože výsledky studie DATATOP, dosud nezpochybněné, jasně prokázaly oddálení potřeby léčby L-DOPA. Je potřeba obezřetnosti při léčbě pacientů s kardiálním rizikem. Pokud terapie inhibitory MAO-B není účinná, je (u pacientů mladších 60 let) na místě sáhnout po anticholinergiku. Řada nemocných z této léčby významně profituje po řadu let. U nemocných starších 60 let (nebo tam, kde léčba anticholinergiky nestačí) je lékem volby amantadin. Pokud výše uvedené terapeutické postupy nejsou dostatečné ke kompenzaci nemoci (po dobu 3 měsíců od zahájení terapie), je nutno ordinovat dopaminergní léčbu, tj. některý preparát ze skupiny agonistů dopaminu. Vzhledem k suspiciu na skupinový efekt ergolinových preparátů (fibróty srdečních chlopní) je pochopitelně pro pacienta lépe, když lékař zvolí non-ergolinový preparát. V současné době jsou dostupné dva, pramipexol a ropinirol (rotigotin dosud není registrován, apomorfín se v počátečním stadiu nemoci nepoužívá). Osobně se domnívám, že je pro pacienta výhodnější léčba ropinirolem, a to ze dvou důvodů: prvním je přehlednost a snadnost titrace preparátu, druhým je relativní blízkost registrace „controlled-release“ formy preparátu, která by zejména v počátečním stadiu léčby byla pro pacienta významně výhodná.

Literatura

1. Baas HK, Schueler P. Efficacy of cabergoline in long-term use: results of three observational studies in 1500 patients with Parkinson's disease. *Eur Neurol* 2001, 46 (Suppl. 1): 18–23.
2. Bonuccelli U, Colzi, A, Del Dotto P. Pergolide in the treatment of patients with early and advanced Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 2002, 25: 1–10.
3. Brucke T, Danielczyk W, Simanyi M, Sofic E, Riederer P. Terguride: partial dopamine agonist in the treatment of Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1987, 45: 573–576.
4. Goetz, CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C. Evidence-based medical review update: pharmacological and surgical treatments of Parkinson's disease: 2001 to 2004. *Mov Disord* 2005, 20: 523–539.
5. Homann CN, Wenzel K, Suppan K, Ivanic G, Kriechbaum N, Crevenna R, Ott E. Sleep attacks in patients taking dopamine agonists: review. *BMJ* 2002, 324: 1483–1487.
6. Horstink M, Tolosa E, Bonuccelli U, Deuschl G, Kanovsky, P, Friedman A, Larsen JP, Lees A, Oertel W, Poewe W, Rascol P, Sampaio C. Review of the management of Parkinson's disease. Report of an EFNS/MDS-ES Task Force. *Eur J Neurol*, in press.
7. Jost WH. Ropinirole: current status of the studies. *J Neurol* 2004 (Suppl. 6): 13–18.
8. Lees AJ. Alternatives to levodopa in the initial treatment of early Parkinson's disease. *Druha Aging* 2005, 22: 731–740.
9. Moeller J, Oertel WH. Pramipexole in the treatment of Parkinson's disease: new developments. *Expert Rev Neurother* 2005, 5: 581–586.
10. Parkinson Study Group. DATATOP: a multicenter controlled clinical trial in early Parkinson's disease. *Arch Neurol* 1989, 46: 1052–1060.
11. Ponsford JR. Treatment of early onset Parkinson's disease with ropinirole. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001, 70: 418–419.
12. Poewe W, Sampaio C, Oertel WH, Rascol O. DA agonists – ergot derivatives: bromocriptine: management of Parkinson's disease. *Mov Disord* 2002, 17 (suppl 4): 53–67.
13. Rascol O, Brooks DJ, Korczyn AD, De Deyn PP, Clarke CE, Lang AE. A five-year study of the incidence of dyskinesia in patients with early Parkinson's disease, who were treated with ropinirole or levodopa. 056 study group. *N Engl J Med* 2000, 342: 1484–1491.
14. Schapira AH. Present and future drug treatment for Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005, 76: 1472–1478.
15. Van Camp G, Flamez A, Cosyns B, Goldstein J, Perdaens C, Schoors D. Heart valvular disease in patients with Parkinson's disease treated with high-dose pergolide. *Neurology* 2003, 61: 859–861.
16. Whone AL, Watts RL, Stoessel J, Davis M, Reske S, Nahmias C, Lang AE, Rascol O, Ribeiro MJ, Remy P, Poewe WH, Hauser RA, Brooks DJ, REAL-PET study group. Slower progression of Parkinson's disease with ropinirole versus levodopa: the REAL-PET study. *Ann Neurol* 2003, 54: 93–101.
17. Woitalla D, Miller T, Benz S, Horowski R, Przuntek H. Transdermal lisuride delivery in the treatment of Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl.* 2004, 68: 89–95.

FARMAKOTERAPIE POKROČILÉ PARKINSONOVY NEMOCI

doc. MUDr. Petr Kaňovský, CSc., MUDr. Igor Nestršil, MUDr. Martin Nevrlý, MUDr. Pavel Ressler

Centrum pro diagnostiku a léčbu neurodegenerativních onemocnění, Neurologická klinika LF UP a FN Olomouc

Parkinsonova nemoc se ve většině případů po 5–7 letech dostává do stadia, které označujeme jako pokročilé stadium nemoci. Příčinou je nejen progresse nemoci samotné, ale i komplikace, které vyvolává dopaminergní terapie. V takovémto stadiu nemoci je nezbytná snaha o optimalizaci léčby a o pozitivní ovlivnění všech symptomů pokročilého stadia. V současné době existuje řada medikamentů, které lze v této fázi použít, nicméně nezbytná je znalost všech možností farmakologické léčby před rozhodnutím o použití optimální varianty v každém individuálním případě.

Klíčová slova: Parkinsonova nemoc, pokročilé stadium, inhibitory COMT, agonisté dopaminu.

Neurol. pro praxi, 2006; 2: 108–110

1. Úvod

Parkinsonova nemoc je, na rozdíl od řady dalších neurodegenerativních onemocnění, charakterizována nejen progresí per se, ale i progresí ovlivněnou léčbou. Terapie, která nejvíce modifikuje průběh a klinický charakter Parkinsonovy nemoci, je terapie dopaminergní. Nejen že působí přímo na dopaminové receptory ve striatu, ale zpětnovazebně ovlivňuje i nigralní neurony, kde je dopamin syntetizován. Kromě toho se na rozvoji komplikací podílí nepochybně i abnormální fungování NMDA receptorů a adenosinových receptorů. Komplexní terapie pokročilého stadia Parkinsonovy nemoci je komplikovaná záležitost, která vyžaduje velmi dobrou spolupráci pacienta a trvalý monitoring jeho motorického i mentálního stavu (9). Důvodem je to, že v tomto stadiu se Parkinsonova nemoc manifestuje nejenom motorickou symptomatologií, ale také příznaky psychiatrickými (halucinace, bludy), behaviorálními, vegetativními a v neposlední řadě demencí.

2. Přehled používaných medikamentů

A. L-DOPA

L-DOPA (levodopa) je stále tzv. „zlatým standardem“ léčby Parkinsonovy nemoci, a to zejména v pokročilém stadiu. Spíše vyjimečně je používána při zahájení léčby, ale v pokročilém stadiu onemocnění užívají L-DOPA prakticky všichni pacienti léčení pro Parkinsonovu nemoc. L-DOPA je prekurzorem dopaminu. Na rozdíl od něj je aktivně transportována přes střešní stěnu (vstřebává se v duodenu a hlavně jejunu), a prostupuje přes hematoencefalickou bariéru. L-DOPA je molekula značně fragilní, neboť je na periférii i v CNS metabolizována několika enzymy. V zažívacím traktu je štěpena na neúčinné metabolity pepsinem a rozkládána kyselinou chlorovodíkovou. V periferním oběhu je metabolizována (podle pořadí) dopa-dekarboxylázou (DDC), catechol-O-metyl transferázou (COMT) a monoaminoxidázou B

(MAO-B). V oblasti CNS je metabolizována (podle pořadí) COMT, MAO-B, DDC a monoaminoxidázou A (MAO-A). Nemetabolizovaný objem L-DOPA se pomocí hematogenního a extracelulárního transportu dostává k buňkám v substantia nigra, kde je metabolizována na dopamin a působí na dopaminergních receptorech (všech tříd, zejména ale D2) jako náhrada za dopamin endogenní.

Léčba L-DOPA je bez diskuze (jedná-li se o idiopatickou Parkinsonovu nemoc) efektivní a dostatečně bezpečná. Kromě intoxikace při předávkování, která se většinou manifestuje psychiatrickou symptomatologií, je jediným závažnějším nežádoucím účinkem ortostáza. Větším problémem je však léčba L-DOPA z hlediska déleodobé perspektivy léčby PN. Soustavná léčba L-DOPA pomocí tzv. standardních preparátů totiž výše popsaným mechanismem stimuluje dopaminergní receptory tzv. pulzním způsobem. To je příčinou situace, kdy po několikaleté léčbě dochází k habituaci efektu L-DOPA a tzv. re-settingu („přestavení“) dopaminergních receptorů. Podobně jsou ovlivňovány receptory zpětnovazebné v oblasti substantia nigra. To je příčinou vzniku tzv. wearing-off fenoménu (zkracování efektu dávky) a fluktuací, nejčastěji charakteru on-off, a dyskinezí. Tento již delší dobu známý fakt byl řešen vývojem tzv. „controlled-release preparátů L-DOPA, nicméně výsledky jejich klinického použití byly v důsledku spíše zklamáním. Proto je dnes sice L-DOPA základním lékem pokročilého stadia Parkinsonovy nemoci, ale prakticky vždy s kombinací s dalšími preparáty, které budou dále popsány.

B. Agonisté dopaminu

Jde o heterogenní skupinu molekul, jejichž společnou vlastností je afinita k dopaminovým receptorům v mozku (3). Charakterem této afinity a silou vazby na receptory se potom navzájem liší. Většinu agonistů dopaminu charakterizuje afinita k třídám

D2 i D1 receptorů, některé vykazují afinitu i k třídě D3. Arbitrárně jsou preparáty děleny do dvou skupin podle chemické struktury molekuly, na ergolinové a non-ergolinové. Znalost molekulární struktury preparátu je v tomto případě poměrně důležitá, neboť preparáty s ergolinovou strukturou mohou způsobit fibrotizaci. Původně se jako nejzávažnější projev fibrotizace uváděla retroperitoneální fibróza, v současné době je nejzávažnější uváděnou komplikací fibrotizace srdečních chlopní.

V současné době lze ze skupiny dopaminových agonistů použít tyto preparáty:

Bromokriptin je ergolinový preparát. Je již starší molekulou, jedná se méně efektivního agonistu D2 receptorů, který má na D1 receptorech antagonistický efekt. Biologický poločas bromokriptinu je asi 8–9 hodin. K dosažení terapeutického efektu při léčbě Parkinsonovy nemoci je třeba podávat vyšší dávky preparátu, až kolem 30 mg denně, což znamená významné riziko vzniku psychiatrických vedlejších účinků (halucinace, bludy). Dále byla popisována pleurální fibróza. V současné době je bromokriptin ve světě podáván málo, právě z výše uvedených důvodů.

Dihydroergokriptin je modernější verzí přechází molekuly. Jedná se opět o preparát s ergolinovou strukturou, který je relativně silným agonistou D2 receptorů a slabým parciálním agonistou receptorů D1. Za výhodu tohoto preparátu je považován jeho poměrně dlouhý biologický poločas (udává se 15–17 hodin), nevýhodou je nutnost podávání vyšších dávek k dosažení terapeutického efektu (až 60–80 mg denně). Často popisovaným nežádoucím účinkem je ortostáza.

Kabergolin je také již starší preparát s ergolinovou strukturou. Jedná se o agonistu D2 a parciálního antagonistu D1 receptorů (2). Slabší dopaminergní efekt je u tohoto preparátu vyvažován dlouhým biologickým poločasem (až 70 hodin), ne-

žádoucí účinky jsou vázány právě na takto vzniklou kumulaci léku, nejčastěji je popisována ortostatická hypotenze. V současnosti je v České republice registrován pouze pro léčbu prolaktinomu.

Tergurid, další ergolinový preparát, je slabý parciální agonista D1 a D2 receptorů, přičemž na D2 receptorech má v nízké dávce tzv. paradoxní působení, působí zde jako antagonist. Jedná se o původní českou molekulu, která při nízké účinnosti měla také nízký výskyt nežádoucích účinků. V současnosti se prakticky nepodává.

Lisurid je také již starší ergolinovou molekulou. Je to slabý D2 a ještě slabší D1 agonista, s velmi krátkou dobou účinku (asi 3 hodiny). Byl široce podáván v době, kdy modernější preparáty nebyly k dispozici, ale nyní se v tabletové formě prakticky nepoužívá. Na druhé straně slaví tato molekula svou renesanci, neboť byly vyvinuty náplasti schopné transdermálního kontinuálního uvolňování účinné látky, které se v současnosti intenzivně klinicky zkouší.

Pergolid je ergolinový, velmi potentní agonista receptorů tříd D2, D1 i D3. Jeho biologický poločas je až 27 hodin, což umožňuje dobrou kontinuální stimulaci dopaminových receptorů. Běžnou terapeutickou denní dávkou jsou 3 mg. Udávány nezákladními komplikacemi jsou ortostatická hypotenze a zejména fibrotizace, relativně malé je riziko vzniku psychiatrických komplikací (1). Vysoce pozitivní vliv má na sexuální funkci, zejména u mužů, jejichž hyperfunkce však někdy může být obtěžující. V současnosti je podáván málo, jako tzv. lék druhé volby, kvůli opakovaně prokázaným fibrotizacím srdečních chlopní u pacientů užívajících pergolid.

Pramipexol je non-ergolinový agonista, který je charakterizován vysoce selektivní afinitou k D2 receptorům a částečnou afinitou i k receptorům D3. Jeho poločas je udáván mezi 8–12 hodinami. Je dobře účinný i v relativně nižších dávkách (1,5–5 mg), nejčastěji popisovanými nežádoucími účinky jsou ortostatická hypotenze a psychiatrické komplikace. Rizikem je schopnost vyvolat syndrom náhlého usnutí, ale jedná se o patrně o skupinový efekt. Nástupce této molekuly, sumanirol, s ještě lepšími charakteristikami, doplatil na změnu vlastníka licence pozastavením vývoje.

Ropinirol je nejmodernějším široce užívaným perorálním preparátem ze skupiny agonistů dopaminu. Jedná se opět o non-ergolinový preparát, vysoce selektivního D2 a D3 agonistu. Má poměrně dlouhý biologický poločas (některé prameny uvádějí až 18 hodin) a je dobře účinný i v nižších dávkách, většinou se ale terapeutické dávky pohybují v rozmezí 7,5–15 mg denně, ve velkých studiích byla jako dostatečně efektivní průměrná dávka uváděna denní dávka 16 mg. U ropinirolu je popisována velmi nízká incidence nežádoucích účinků psychiatrického

charakteru, fibrózní změny patrně nezpůsobuje vůbec. Častěji se může objevit ortostatická hypotenze. Obecně však má ropinirol ze všech agonistů nejvýhodnější profil nežádoucích účinků.

Apomorfin je patrně nejstarší klinicky užívaný preparát z této skupiny, jedná se o velmi potentního a přímého agonistu receptorů D1 a D2. Jeho chemická struktura je velmi blízká struktuře endogenního dopaminu. Jeho nevýhodou je nutnost parenterálního podání (velmi rychle je totiž metabolizován v zažívacím traktu) a velmi krátký biologický poločas, udáváný mezi 50–70 minutami. Lze jej použít ve formě kontinuálních subkutánních infuzí, nebo ve formě jednorázových, tzv. „rescue“ injekcí u pacientů s častými, nepředvídatelnými a invalidizujícími OFF zvraty. Vzhledem k výše uvedenému je jeho použití omezeno na nejzávažnější stavy pokročilé Parkinsonovy nemoci.

U všech dopaminových agonistů patří k postranním účinkům občasná denní spavost a možnost náhlého usnutí, tzv. sleep attacks (4). V minulosti byly popsány případy těchto náhlých usnutí u pacientů řídících osobní vůz. Na tuto skutečnost (jak je výše uvedeno, společnou pro všechny dopaminergní preparáty) je potřeba pacienta před zahájením léčby upozornit a důkladně s ním diskutovat nutnost omezení řízení vozu a podobných aktivit.

C. Inhibitory

katechol-O-metyl-transferázy (COMT)

Tyto preparáty byly vyvíjeny se záměrem napodobit efekt dopa-dekarboxylázy a inhibitorů monoaminoxidáz, a zablokovat další cestu metabolického rozkladu podané L-DOPA. Na periférii i v mozku je L-DOPA (kromě jiného) metabolizována právě tímto enzymem (COMT) (7). Preparáty lze podávat pouze v kombinaci s L-DOPA (jinak to nemá význam). V minulých letech byly do klinické praxe zaváděny dva preparáty.

Tolcapone má mít kromě periferního efektu i efekt centrální. Preparát byl vysoce účinný, nicméně zřejmě nedokonalý design tzv. safety fázi klinického zkoušení způsobil, že po uvedení do praxe s ním byly spojeny 4 případy úmrtí na fulminantní jaterní nekrózu. V celé Evropě byl preparát stažen z trhu, v současné době je více podáván za speciálních podmínek (kritéria, časté kontroly apod.) jen ve Spojených státech a některých státech Jižní Ameriky, v Evropě byl nově registrován v loňském roce a je možné jej předepisovat, ale za podobných bezpečnostních opatření jako ve Spojených státech, mj. za kontroly jaterních testů 1x týdně.

Entacapone působí jako inhibitor COMT pouze periferně, nicméně jeho účinnost je vysoká (5). Redukce dávky L-DOPA při podávání entacaponu bývá až 30–40%. Nežádoucí účinky jsou minimální, častěji je popisováno jen oranžové zabarvení moči.

V loňském roce byl v České republice registrován nový preparát, který kombinuje L-DOPA, inhibitor dopa-dekarboxylázy a inhibitor COMT pod názvem **Stalevo**[®], preparát je indikován a hrazen při podávání u pacientů s již počínajícími fluktuacemi klinického stavu. V současné době probíhá klinická studie, jejímž cílem je ověřit efektivitu a bezpečnost podávání preparátu Stalevo[®] u pacientů ve stabilizovaném stavu bez fluktuací, kteří jsou léčeni L-DOPA. Nejedná se tedy fakticky o nový preparát ze skupiny inhibitorů COMT, ale jedná se o zcela nový preparát L-DOPA, který byl vytvořen na základě stejné filozofie jako původní preparáty L-DOPA: pokud některý enzym L-DOPA na periférii či v CNS rozkládá, je potřeba jej inhibovat látkou, která je k L-DOPA v tabletě přidána. Tou původní látkou byly carbidopa a benserazid, nyní přichází další inhibitor, entacapone. Pro pacienta je užívání L-DOPA v této formě velmi komfortní, protože odpadá nutnost několikrát denně polykat 2 tablety, protože účinné látky jsou soustředěny do tablety jediné. Snadnost „switch“, tj. přechodu z dosud užívaných forem L-DOPA na Stalevo[®] u fluktuujících pacientů, byla recentně ověřena v několika velkých klinických studiích.

D. Další preparáty, používané v léčbě non-motorických příznaků Parkinsonovy nemoci

Kromě motorických příznaků je pokročilé stadium Parkinsonovy nemoci charakterizováno dalšími symptomy, které jsou obrazem progresu nemoci i dlouhodobé léčby. V psychiatrické oblasti jsou to typické parkinsonské halucinace a bludy, řídké fugy, deprese, častěji kognitivní poruchy (přítomné ale často již v začátku onemocnění) a demence, která finálně postihuje více než 90% pacientů. Halucinace a bludy dobře reagují na atypická neuroleptika, nejlépe patrně risperidon, clozapin nebo olanzapin. V léčbě deprese jsou užívány výhradně preparáty ze skupiny SSRI, nejčastěji citalopram, escitalopram a sertralin, protože možnost kolize s ostatními preparáty je u nich nejmenší (minimální ovlivnění cytochromoxidázového komplexu CP450 v játrech). V léčbě demence byla nedávno prokázána dobrá efektivita a bezpečnost rivastigminu a donepezilu. Je potřeba zde poznamenat, že efektivní dávka rivastigminu je při léčbě demence u Parkinsonovy nemoci vyšší než při léčbě demence způsobené Alzheimerovou nemocí, a měla by být 9 mg denně.

Z vegetativních poruch jsou nejčastěji uváděny hyperhidróza, ortostatická hypotenze, hypersalivace a obstipace. Hyperhidrózu a ortostatickou hypotenzi lze ovlivnit pouze optimalizací dopaminergní terapie, ale hyperhidróza nereaguje výrazněji na žádnou terapii. Ortostáza je zhoršována zvyšováním dávky dopaminergní medikace a pacienti je nutno na tuto

skutečnost upozornit. Hypersalivace dobře reaguje na anticholinergní léčbu, nejčastěji je užíván biperiden v dávce do 2 mg denně. Obstipace je obtížně léčitelná, neboť je způsobena fakticky vegetativní denervací a na běžná laxativa reaguje špatně.

K léčbě behaviorálních poruch je nejčastěji používána psychoterapie, pokud není dostatečně efektivní, je na místě podávání quetiapinu nebo olanzapinu.

3. Role agonistů dopaminu a inhibitorů COMT v léčbě pokročilých Parkinsonovy nemoci

Pokročilé stadium Parkinsonovy nemoci je v zásadě charakterizováno rozvojem komplikací nemoci samotné i komplikací léčby. Jedná se o záležitost výsostně individuální, u některých pacientů se mohou komplikace objevit již po prvních 3–4 letech terapie, u některých pacientů nedojde k rozvoji komplikací nemoci i léčby po dobu delší než např. 7 let. Patofyziologickou podstatou vzniku komplikací je změna „nastavení“ dopaminových receptorů ve striatu, a to jak direktních receptorů nigrostriálních drah, tak i receptorů zpětnovazebných. Kromě toho se na vzniku komplikací podílí i „re-setting“ receptorů cholinergních, NMDA-receptorů a nepochybně i adenosinových receptorů.

Klinický rozvoj komplikací zahrnuje manifestaci tzv. „wearing-off“ fenoménu, kdy se zkracuje doba efektu dávky dopaminergní léčby, dále postupný rozvoj „on-off“ fluktuací, a konečně rozvoj dyskinezi nejruznějšího typu: „on“, „off“, „peak-of-dose“, „end-of-dose“ a dyskinezi bifázických (8). Každý z vyjme-

novaných typů dyskinezi se může manifestovat buď samostatně, anebo se mohou různé druhy dyskinezi kombinovat. V každém případě jsou dyskineze nejvíce obtěžujícím typem komplikace progresu nemoci i léčby a jejich eliminace či minimalizace je pro pacienta i lékaře nejvýznamnějším terapeutickým cílem v pokročilé, komplikované fázi Parkinsonovy nemoci.

Co se týče role agonistů dopaminu a inhibitorů COMT v této fázi léčby, lze zde shrnout, že se tyto léky uplatňují za použití 3 scénářů léčby motorických komplikací Parkinsonovy nemoci o několika krocích: přidat do léčby k L-DOPA agonistu dopaminu, anebo přidat inhibitor COMT (fakticky vyměnit dosud užívanou formu L-DOPA za novou, inhibitor COMT již obsahující), anebo kombinovat oba postupy (10). Cílem je ve všech případech snaha o tzv. „kontinuální“ stimulaci dopaminových receptorů ve striatu a snaha o redukci dávky L-DOPA.

Je nezbytné zde poznamenat, že dobrého nastavení antiparkinsonské terapie, zejména

jsou-li používáni agonisté dopaminu, nelze dosáhnout bez dokonalé kontroly stavu pacienta, hodinu po hodině, po dobu několika dnů. I když lze pacienty instruovat o vedení parkinsonského deníku, údaje z těchto deníků jsou téměř vždy zatíženy subjektivní chybou, která pohled lékaře zkresluje. (6). Proto se jako žádoucí jeví, aby výše uvedené změny medikace v případě objevení se motorických komplikací pokročilé Parkinsonovy nemoci byly prováděny za hospitalizace.

doc. MUDr. Petr Kaňovský, CSc.

Centrum pro diagnostiku a léčbu neurodegenerativních onemocnění, Neurologická klinika LF UP a FN Olomouc
I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
e-mail: petr.kanovsky@fnol.cz

Literatura:

1. Bilici A, Karadag B, Doventas A, Erdinciler DS, Cetinkaya S, Ogut G, Tezcan V, Beger T. Retroperitoneal fibrosis caused by pergolide in patient with Parkinson's disease. *Neth J Med.* 2004; 62(10): 389–92.
2. Curran MP, Perry CM. Cabergoline: a review of its use in the treatment of Parkinson's disease. *Drugs.* 2004; 64(18): 2125–41.
3. Jenner P. Pharmacology of dopamine agonists in the treatment of Parkinson's disease. *Neurology.* 2002; 58(4 Suppl 1): S1–8.
4. Kaynak D, Kiziltan G, Kaynak H, Benbir G, Uysal O. Sleep and sleepiness in patients with Parkinson's disease before and after dopaminergic treatment. *Eur Neurol* 2005 Mar; 12(3): 199–207.
5. Paci C, Sanguigni S, Carboni T, Gobbato R, Curatola L. The use of entacapone in patients with advanced Parkinson's disease: 2 years' experience. *Neurol Sci.* 2003; 24(3): 197–8.
6. Reimer J, Grabowski M, Lindvall O, Hagell P. Use and interpretation of on/off diaries in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004, 75: 396–4009. Verhagen Metman L. Recognition and treatment of response fluctuations in Parkinson's disease. *Amino Acids* 2002; 23: 141–5.
7. Schrag A. Entacapone in the treatment of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2005; 4(6): 366–70.
8. Swope DM. Rapid treatment of „wearing off“ in Parkinson's disease. *Neurology* 2004, 62 (suppl. 4): S27–S31.
9. Verhagen Metman L. Recognition and treatment of response fluctuations in Parkinson's disease. *Amino Acids* 2002; 23: 141–5.
10. Widnell KL, Comella C. Role of COMT inhibitors and dopamine agonists in the treatment of motor fluctuations. *Mov Disord.* 2005; 20 Suppl 11: S30–7.

PERIPHERAL NERVE INVOLVEMENT AND SEVERITY OF MOTOR DISORDER IN PARKINSON'S DISEASE: A CORRELATIONAL STUDY

Zuzana Chovancova*, Petr Kanovsky, Jaroslav Dufek, Martin Nevrlý, Pavel Otruba

Department of Neurology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, and University Hospital Olomouc
Center for the Diagnosis and Treatment of Neurodegenerative Diseases, Czech Republic
e-mail: zuzana.chovancova@fnol.cz

Received: September 22, 2008; Accepted: November 10, 2008

Key words: Parkinson's disease/Polyneuropathy/Electromyography/Correlation

Background: The aim of this study was to test the hypothesis that there is concomitant peripheral nerve involvement in patients suffering from neurodegenerative disorders by correlating motor and peripheral nerve involvement in Parkinson's disease.

Methods and results: A total of 23 patients suffering from Parkinson's disease diagnosed strictly according to the UKPDBB criteria were examined. The group comprised 14 males (mean age: 57 years, mean age at onset: 51 years, mean duration of disease: 7 years, mean duration of dopaminergic treatment: 4 years) and 9 females (mean age: 67 years, mean age at onset: 63 years, mean duration of disease: 4 years, mean duration of dopaminergic treatment: 1 year).

Conclusion: Polyneuropathy was clinically present and confirmed using EMG examination in 10 patients (43.5 %), 5 males and 5 females. This suggests that the neurodegenerative process involves both the central and the peripheral nervous system in Parkinson's patients.

INTRODUCTION

Parkinson's disease (PD) is a chronic neurodegenerative disorder stemming from a lack of dopamine in the basal ganglia region. The deficit is due to decreased dopamine transport to the striatum via nigrostriatal projections as a result primarily of the apoptotic death of melanin producing cells in the midbrain substantia nigra region.

PDI is also characterized by other morphological and neurochemical changes reflecting gradual progression of the disease. The recent so-called Braak staging system¹ defines 6 stages of confirmed morphological involvement of the central nervous system during the progression of Parkinson's disease. The 6 stages correlate with the clinical condition as measured by the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) and the Hoehn and Yahr Scale. This clinicopathological correlation, mentioned in the seminal work by Braak et al.¹, is a reliable basis for comparing CNS involvement *in vivo* and clinical manifestations of Parkinson's disease. In at least 3 stages (3, 4 and 5), the Braak system states that other than nigrostriatal or, more generally, brainstem structures are involved as well. According to Braak et al., the neurodegenerative process in Parkinson's disease also affects other CNS structures than those contained in the corticostriatal, nigrostriatal or olivonigral systems¹⁻⁴.

Other studies published several years ago suggest that in a relatively high percentage of patients suffering from neurodegenerative diseases, both the cortex and peripheral nerve system are affected.^{1,5,6,7} Parkinson's disease is where this involvement is most frequently documented.^{2,4,6,8-11} The studies published so far consider the neuro-

degenerative process as a common cause of both central and peripheral nervous system involvement⁸. Thus, it would be logical to assume that the level of impairment as indicated by the UPDRS score will also be subject to this, in fact double, correlation, i.e. both correlation with the Braak stage of involvement and correlation with the presence or possibly severity of peripheral nerve system involvement. To verify the hypothesis, the presented correlation study was carried out.

PATIENTS AND METHODS

In the study, 23 patients suffering from Parkinson's disease were examined. Parkinson's disease was diagnosed according to the United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank criteria (UKPDBB)¹⁵. The group comprised 14 males and 9 females. In males, the mean age was 57 years, mean age at onset 51 years, mean duration of disease 7 years and mean duration of treatment with dopaminergic drugs 4 years. In females, the mean age was 67 years, mean age at onset 63 years, mean duration of disease 4 years and mean duration of dopaminergic treatment 1 year.

Prior to neurophysiological examination, a complete neurological assessment was performed in all patients, including MRI brain scan, autonomic function assessment, and biochemical, blood and cerebrospinal fluid analyses.

Subsequently, all patients underwent electromyography (EMG) examination^{12,13} comprising a nerve conduction study, H-reflex test and needle EMG. All tests were performed using the Keypoint IV® system (Medtronic, Tonstakken, Denmark).

Table 1. Comparison of the stages of involvement according to the Braak and Hoehn and Yahr scales.

Braak	Hoehn and Yahr
1	0
2	0
3	1-2
4	2-3
5	3-4
6	4-5

The nerve conduction study measured motor conduction of the tibial and deep peroneal nerves and sensory conduction of the superficial peroneal and sural nerves. The needle EMG assessed the activity at rest, recruitment and interference curve during maximum effort contraction. The EMG data were entered into an electronic database and statistically processed using the StatSoft® software.

RESULTS

The results are shown in Tables 2-4.

Of the 23 patients examined in the study, ten showed clinical signs of polyneuropathy (decreased tendon and periosteal reflexes in the lower limbs in any distribution, muscular dystrophy, muscle weakness, hypoesthesia or paresthesia in the lower limbs in any distribution, subjectively reported dysesthesia or paresthesia in the lower limbs in any distribution). This included 5 females (55.5 %) and 5 males (35.7 %). In total, clinical signs of polyneuropathy were present in 43.5 % of all patients.

Of the 23 patients, signs of polyneuropathy were detected by EMG in 10 cases (43.5 %). (Those ten patients

had a clinical signs of polyneuropathy). Polyneuropathy was detected in 5 (55.5 %) out of the 9 examined females and in 5 (35.7 %) of the 14 males. In all cases, these were patients who had at least one of the above-mentioned signs of polyneuropathy present at the time of previous clinical examination. In males with confirmed polyneuropathy, the mean CMAP latency and amplitude were 4.88 ms and 4.04 mV, the mean SNAP latency and amplitude were 3.28 ms and 5.14 uV, and the mean H-reflex latency and amplitude were 33.8 ms and 1.94 mV, respectively. In females with confirmed polyneuropathy, the mean CMAP latency and amplitude were 4.46 ms and 3.82 mV, the mean SNAP latency and amplitude were 2.28 ms and 4.10 uV, and the mean H-reflex latency and amplitude were 31.94 ms and 1.52 mV, respectively.

The involvement was compared using the Hoehn and Yahr Scale and Braak staging system. As a result, nine patients (6 males, 3 females) were classified as Braak stage 3. Of those, in only 1 male patient polyneuropathy was revealed. Thirteen patients (7 males, 6 females) were classified as stage 4, with polyneuropathy being confirmed in 9 of them (4 males, 5 females). One male patient without detected polyneuropathy was classified as stage 5. There were no stage 6 patients.

DISCUSSION

The presence of polyneuropathy in neurodegenerative diseases is a relatively new clinical fact. So far, in most neurodegenerative diseases, polyneuropathy has not been thought to be related to the underlying process. Only in multiple system atrophy (MSA), symmetric polyneuropathy in the lower limbs was considered a symptom supporting the diagnosis of MSA, in particular multiple system atrophy of parkinsonian type (MSA-P).

In this study, polyneuropathy was documented in 10 (43.5 %) patients out of 23 patients suffering from Parkinson's disease, strictly diagnosed according to the

Table 2. Demographic and history data of the studied Parkinson's patients.

	Number of patients	Mean age	Mean age at the onset of PD	Mean duration of PD (years)	Mean duration of treatment with L-DOPA (years)
Females	9	67	63	4	1
- with EMG-verified PNP	5	69	64	5	
- without EMG-verified PNP	4	64	61	2	
Males	14	57	51	7	4
- with EMG-verified PNP	5	50	40	10	
- without EMG-verified PNP	9	62	57	5	

Key: EMG = electromyography
 PD = Parkinson's disease
 PNP = polyneuropathy

Table 3. CMAP, SNAP and H-reflex latency and amplitude values.

	Males				Females			
	Without EMG signs of polyneuropathy (n = 9)		With EMG signs of polyneuropathy (n = 5)		Without EMG signs of polyneuropathy (n = 4)		With EMG signs of polyneuropathy (n = 5)	
H-reflex	L	R	L	R	L	R	L	R
Latency (ms)	33.94	34.20	33.62	33.98	31.30	30.67	32.12	31.76
Amplitude (mV)	1.27	1.82	2.40	1.48	1.90	3.30	1.02	2.02
CMAP - tibial nerve								
Latency (ms)	4.17		4.88		5.00		4.46	
Amplitude (mV)	7.54		4.04		5.85		3.82	
SNAP - sural nerve								
Latency (ms)	3.48		3.28		3.62		2.28	
Amplitude (uV)	6.65		5.14		6.05		4.10	
SCV (m/s)	45.10		34.70		48.30		29.50	

Key: L = left

R = right

CMAP = compound muscle action potential

SNAP = sensory nerve action potential

SCV = sensory nerve conduction velocity

Table 4. Presence of polyneuropathy in patients classified according to the Hoehn and Yahr Scale.

Hoehn and Yahr stage	Number of patients		Polyneuropathy Males		Polyneuropathy Females		Braak stage
	males	females	yes	no	yes	no	
1.0	1	0	1	0	0	0	3
1.5	2	2	0	2	0	2	3
2.0	3	1	0	3	0	1	3
2.5	3	4	2	1	3	1	4
3.0	4	2	2	2	2	0	4
3.5	0	0	0	0	0	0	5
4.0	1	0	0	1	0	0	5
4.5	0	0	0	0	0	0	6
5.0	0	0	0	0	0	0	6

UKPDBB criteria. Surprisingly, the proportion was higher than that in the study by Pramstaller et al. focused on MSA patients.¹⁴ This probably means that, similar to the authors of previous studies who considered the underlying pathological process in MSA to be the cause of polyneuropathy as well, neurodegenerative processes (in a broad sense) may be considered the cause of polyneuropathy in our group of Parkinson's patients. The mechanism of peripheral neurodegeneration has not been explicitly

described as yet which is understandable given the fact that neurodegeneration of the CNS is also far from being completely explained.

Another aim of the study was to correlate peripheral nerve involvement with the Braak staging system outcomes. Although many neuropathologists object to Braak's concept of vertical progression of neurodegeneration, it is considered a plausible explanation of the gradual progression of the clinical symptomatology of

Parkinson's disease by most of them. Similarly, the correlation between the Hoehn and Yahr stage of clinical involvement and the Braak stage is undoubtedly a construct continuously verified since the seminal work by Braak et al. was published in 2003. From a heuristic point of view, however, this is an extremely important shift in understanding the interrelations between morphological changes in the CNS and clinical symptomatology in the specific time domain of the development of a pathological process. Therefore, extraordinary attention should be paid to the fact that polyneuropathy was detected in 9 out of 13 (i.e. nearly 70 %) patients with clinical involvement corresponding to Braak stage 4. This would mean that neurodegenerative process in the peripheral nervous system of a particular individual begins only after the same process in the CNS reaches a certain degree of progression. In other words, the extent of apoptosis and the existing neurodegenerative process increases to a point that besides central structures, peripheral structures are affected as well. Finding more significant peripheral nerve involvement in patients with more severe Parkinson's disease would surely support this preliminary hypothesis. Therefore, more research and longer observation of a larger group of patients are needed, including individuals suspected of having stages 5 and 6 involvement. That is, more patients with the most advanced form of Parkinson's disease, with clinical involvement equivalent to stages 4 through 6 of the Hoehn and Yahr Scale.

REFERENCES

1. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging* 24, 2003: 197-211.
2. Abbruzzese G, Pigullo S, Schenone A, Bellone E, Marchese R, Di Maria E, Benedetti L, Ciotti P, Nobbio L, Bonifati V, Ajmar F, Mandich P. Does parkin play a role in the peripheral nervous system? A family report. *Mov Disord* 2004; 18: 978-981.
3. Rodolico C, Toscano A, De Luca G, Mazzeo A, Di Leo R, Baldari S, Giralda P, Vita G. Peripheral neuropathy as the presenting feature of multiple system atrophy. *Clin Auton Res* 2001; 11:63.
4. Taly AB, Mutane UB. Involvement of peripheral nervous system in juvenile Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* 1992; 85: 272-275.
5. Abele M, Schulz JB, Burk K, Topka H, Dichgans J, Klockgether T. Nerve conduction studies in multiple system atrophy. *Eur Neurol* 2000;43: 221-223.
6. Becker G, Muller A, Braune S, Buttner T, Benecke R, Greulich W, Klein W, Mark G, Rieke G, Thumler R. Early diagnosis of Parkinson's disease. *J Neurol* 2002; 249 (Suppl.3): 40-48.
7. Geser F, Wenning GK. The diagnosis of multiple system atrophy. *J Neurol*. 2006; 253 (suppl.3).
8. Hoehn MM, Mahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality *Neurology* 1967, 17: 427-42.
9. Chovancová Z, Kaňovský P, Nestršil I, Dufek J. Peripheral nerves injury in the central nervous system degeneration: pilot study (abstract). *Movement Disorders*, Vol 21, Suppl. 15, 2006, pp. S362-S363.
10. Nevrlý M, Vranová H, Ressler P, Nestršil I, Kaňovský P. Effect of levodopa and entacapone treatment on plasma homocysteine level in Parkinson disease: pilot study. (abstract) *Movement Disorders*, Vol 21, Suppl. 15, 2006, pp. S545.
11. Tolosa E, Wenning G, Poewe W. The diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2006; 5: 75-86
12. Dumitru D, Amato AA, Zwarts MJ. *Electrodiagnostic medicine*. Second edition. Hanley and Belfus: Philadelphia 2002, s. 921-923.
13. Hallett M ad. *Handbook of Clinical Neurophysiology*, Vol 1, Movement disorders, 1st Edition, Philadelphia, Elsevier 2003: 7-19
14. Pramstaller PP, Wenning GK, Smith SJ, Beck RO, Quinn NP, Fowler CJ. Nerve conduction studies, skeletal muscle EMG, and sphincter EMG in multiple system atrophy. *J Neurol* 1985; 42: 695-696.
15. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ et al. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1993 Aug; 56(8):938-9.

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 progresivní 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-Yahovy 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-Yahovou 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₍₁₋₄₂₎ a cystatinu C v likvoru a dále vypočítán index tau-protein/beta-amyloid₍₁₋₄₂₎. 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₍₁₋₄₂₎ ($p = 0,01$) oproti pacientům s délkou trvání nemoci nad 2 roky. Nebyla prokázána korelace hladin tau-proteinu v likvoru s tíží motorického postižení vyjádřeného Hoehnovou-Yahovou 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. Vranová¹, P. Kaňovský,
J. Mareš¹, M. Nevrlý¹,
D. Stejskal^{2,3}, I. Nestrašil¹,
J. Zapletalová⁴

¹ Neurologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Oddělení laboratorní medicíny, Nemocnice Šternberk o.z., Středomoravská nemocniční a.s.

³ Ústav lékařské chemie a biochemie LF UP v Olomouci

⁴ 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₍₁₋₄₂₎ 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₍₁₋₄₂₎ and cystatin C in CSF were assessed and the tau-protein/beta-amyloid₍₁₋₄₂₎ 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₍₁₋₄₂₎ 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₍₁₋₄₂₎ 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 cytoplazmě blízko jádra. Lewyho tělíska jsou složena z různých proteinů, pro diagnostiku je nejdůležitější přítomnost ubikvitinu, proteinu p62 a alfa-synukleinu. Výsledky nedávno zveřejněných studií svědčí o tom, že součástí Lewyho tělísek je i degenerovaný tau-protein, který navíc potence 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₍₁₋₄₂₎, 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 štěpícím 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 arteriál 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 vertebrálním 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₍₁₋₄₂₎ 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 odebráno 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 ^a
muži	23 (71,9 %)	11 (55 %)	
věk – průměr ± směrodatná odchylka (roky)	$59,9 \pm 11,96$	$51,2 \pm 10,74$	0,01 ^b

^a χ^2 test, ^b dvouvýběrový t-test

při 4 °C). Z části vzorku byly stanoveny hladiny cystatinu C, druhá část byla zamrazena při -80 °C a do 10 týdnů od zamražení byla v sérii u všech osob změněna koncentrace celkového tau-proteinu (ELISA, Biosource, Velká Británie), beta-amyloidu₍₁₋₄₂₎ (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₍₁₋₄₂₎ 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 χ^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 významnou.

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₍₁₋₄₂₎ (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).

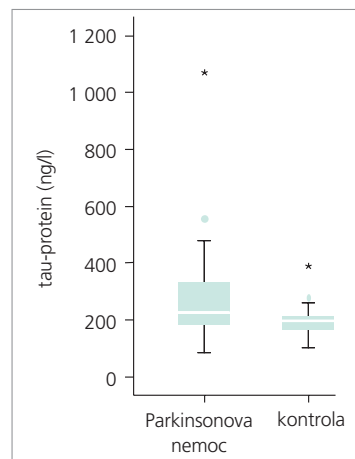
Diskuse

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.

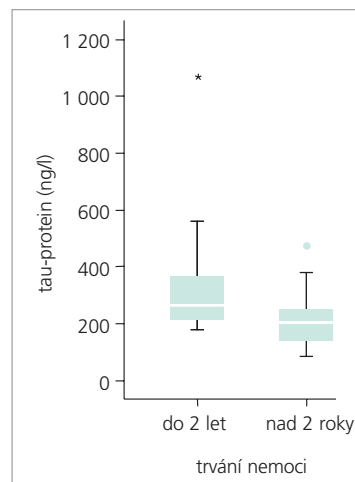
	Parkinsonova nemoc	Kontrolní skupina	Statistická významnost
tau-protein (ng/l)	225,0	197,0	0,05
medián (minimum/maximum)	(82/1 070)	(102/389)	
SD	181,7	62,0	
beta-amyloid ₍₁₋₄₂₎ (pg/l)	685,1	826,1	0,06
medián (minimum/maximum)	(232,1/1 470,9)	(325,8/1 190,7)	
SD	294,4	206,5	
index tau-protein/ beta-amyloid ₍₁₋₄₂₎	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 ₍₁₋₄₂₎ (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 ₍₁₋₄₂₎	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 mohli

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 pomocí Spermanna korelačního koeficientu).

	Tau-protein	Beta-amyloid _(1–42)	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_(1–42)

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_(1–42) 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 progresu 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, hodnocené pomocí Hoehnovy-Yahrový stupnice.

Literatura

- Růžička E, Roth J, Kaňovský P et al. Extrapyramidová onemocnění 1. Parkinsonova nemoc a Parkinsonské syndromy. Praha: Galén 2000.
- Arima K, Hirai S, Sunohara N, Aoto K, Izumiya 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.

- 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.

- 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.

- 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.

- 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.

- 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.

- 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.

- Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, Lewczuk P, Klafki HW, Sparbier 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.

- 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.

- 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.

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

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

- 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.

- 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.

- 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.

- 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.

- 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.

CSF markers of neurodegeneration in Parkinson's disease

Hana Přikrylová Vranová · Jan Mareš ·
Martin Nevrlý · David Stejskal · Jana Zapletalová ·
Petr Hlušík · Petr Kaňovský

Received: 19 May 2010 / Accepted: 3 August 2010 / Published online: 21 August 2010
© Springer-Verlag 2010

Abstract Parkinson's disease (PD) is a chronic, progressive, neurodegenerative disease with a multifactorial etiology. Protein accumulation is speculated by some to play a prominent role in the pathogenesis of PD. The severity of neurodegeneration should correlate with cerebrospinal fluid (CSF) levels of these neurodegenerative markers (NDMs). The aims of the study were to assess the CSF levels of tau protein, beta-amyloid (1–42), cystatin C, and clusterin in patients suffering from PD and in a control group, to compare the CSF levels between the two groups and to correlate them to PD duration. NDMs in the CSF were assessed in 32 patients suffering from PD and in a control group (CG) of 30 patients. The following statistically significant differences in the CSF were found: higher tau protein ($p = 0.045$) and clusterin levels ($p = 0.004$) in PD patients versus CG; higher tau protein levels ($p = 0.033$), tau protein/beta-amyloid (1–42) ratio ($p = 0.011$), and clusterin ($p = 0.044$) in patients suffering from PD for <2 years versus patients suffering PD for more than 2 years. No differences between

beta-amyloid (1–42) and cystatin C CSF levels were found in the CG and PD patients groups. Significantly higher tau protein and clusterin CSF levels in the group of PD patients with disease duration of <2 years probably reflect the fact that most neurodegenerative changes in PD patients occur in the initial stage of disease.

Keywords Parkinson's disease · Tau protein · Clusterin · CSF · Neurodegeneration

Introduction

Parkinson's disease (PD) is a chronic, progressive, neurodegenerative disease with a multifactorial etiology (Marras and Lang 2008; Weintraub et al. 2008). Several mechanisms have been implicated as crucial to PD pathogenesis: oxidative stress (Alam et al. 1997), mitochondrial dysfunction (Schapira 2008), protein aggregation and misfolding (Cookson and van der Brug 2008), inflammation, excitotoxicity, apoptosis and other cell death pathways, and loss of trophic support. No one mechanism appears to be primary in all cases of PD, and these pathogenic mechanisms likely act synergistically through complex interactions to promote neurodegeneration (Yacoubian and Standaert 2009). The pathologic hallmark of PD is degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta (SNc), resulting in depletion of striatal dopamine (McNaught and Olanow 2006). Some surviving neurons contain eosinophilic intracytoplasmic inclusions, or Lewy bodies, which are in part composed of numerous proteins. Protein accumulation is speculated by some to play a prominent role in the pathogenesis of PD, and the appearance of proteins in Lewy bodies tends to support this notion. The neurodegenerative process in PD is not limited to the

H. Přikrylová Vranová (✉) · J. Mareš · M. Nevrlý · P. Hlušík ·
P. Kaňovský
Department of Neurology, Faculty of Medicine and Dentistry,
Palacky University in Olomouc, and University Hospital
Olomouc, I.P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc, Czech Republic
e-mail: vranovaha@seznam.cz

D. Stejskal
Department of Medical Chemistry and Biochemistry,
Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University
in Olomouc, and University Hospital Olomouc, I.P. Pavlova 6,
775 20 Olomouc, Czech Republic

J. Zapletalová
Department of Medical Biophysics,
Faculty of Medicine and Dentistry,
Palacky University in Olomouc, Olomouc,
Czech Republic

SNC, and neuronal loss with Lewy body formation also occurs in other brain regions, which may account for both motor and nonmotor features of the disease (Jenner and Olanow 2006; Braak et al. 2003). An understanding of the mechanisms underlying the development and progression of PD pathology is critical for the development of neuroprotective therapies. Currently, the therapy of PD is rather symptomatic, and its neuroprotective effect is speculative. Moreover, timing of the therapy onset remains controversial. Demonstration of neurodegeneration in the early stage of the disease should lead to consideration of timely therapy with neuroprotective effect.

Neurodegeneration is known to be related to the presence of certain biochemical markers in the cerebrospinal fluid (CSF), tau protein and beta-amyloid (1–42) as markers of protein dysfunction, cystatin C as amyloidogenic protein and clusterin as preventive cell-death protein (Bibl et al. 2006; Mareš et al. 2003). Therefore, the intensity of the neurodegenerative process is thought to be related to particular concentrations of specific biochemical markers (tau protein, beta-amyloid (1–42), cystatin C, clusterin) in the CSF (Vranová et al. 2008, 2009). The presented study aimed to document the neurodegenerative process using determination of the concentrations of these markers in the CSF of both PD patients and control subjects. In addition, this study aimed to seek potential correlation between these levels and the duration of the disease in PD patients.

Patients and methods

Study group

The study was approved by the institutional ethics committee and all patients signed an informed consent.

A total of 32 patients suffering from PD without signs of dementia were examined: 10 females, 22 males, aged 37–77 years, mean age 59.9 ± 11.26 years, mean age at onset 55.2 ± 12.77 , mean duration of disease 4.4 ± 3.6 years. Twenty patients were treated with L-DOPA of mean dose 492.3 ± 137.2 mg daily, mean duration of treatment with L-DOPA 3.92 ± 3.4 years.

The control group comprised 30 patients: 13 females 17 males, aged 33–79, mean age 58.8 ± 10.22 years. Of those, 12 patients had vertebrogenic disease, 9 patients had psychogenic disease, 5 had migraine, 2 patients had tension headache, and 2 patients had diabetic neuropathy. Parkinson's disease was diagnosed using the United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank criteria (Hughes et al. 1992). Cognitive deficit was excluded by psychological assessment involving the Mini-Mental Status Examination (MMSE). In all patients, CSF levels of tau protein, beta-amyloid (1–42), cystatin C, and clusterin were measured.

Laboratory analysis and CSF sampling technique

The CSF samples were obtained by lumbar puncture performed in the morning using a 20-gauge atraumatic spinal needle under the usual sterile conditions, with the subjects sitting and the needle being inserted between lumbar vertebrae L4/L5. During each puncture, 10 ml of CSF was collected in a sterile polypropylene tube and immediately frozen at -80°C until analysis. Within 10 weeks of freezing, in all subjects in the series, the concentrations of total tau protein (ELISA, Biosource, Great Britain), beta-amyloid (1–42) (ELISA, Innogenetics, Belgium), cystatin C (ELISA, Biovendo, Czech Republic), and clusterin (ELISA, Biovendo, Czech Republic) were measured. Analytical characteristics of all ELISA methods when verifying the manufacturers' data were satisfactory (both repeatability and reproducibility $<9\%$). At the same time, the CSF tau protein/beta-amyloid (1–42) ratio was calculated in all patients (Stejskal et al. 2005).

Division of the group into subgroups

To evaluate the studied parameters, the results were compared between the PD patient group and the control group and then between PD patient subgroups.

We would like to correlate NMD levels with disease duration, but it was impossible due to small patient sample size. Our tertiary Movement Disorders center usually gets referred either patients with suspicion for PD or patients with advanced stage of PD. Therefore, our PD group spontaneously divided into two subgroups with duration of ≤ 2 and > 2 years, and the values were compared between these two groups.

Statistical analysis

Medcalc (Belgium) software was used for statistical analysis. To determine differences between the PD patient group and the control group as well as those in the subgroups of patients with PD, the chi-square test was used for categorical variables. Among continuous variables, Student's *t* test was used for age with presumed normal distribution and non-parametric tests for all other assessments. Mann–Whitney test was used for comparing the groups, whereas the possible dependence of values of metric parameters on age was assessed by the non-parametric Spearman's correlation analysis. The *p* value < 0.05 was considered to be statistically significant. The reason for using nonparametric tests for data analysis was the abnormal distribution of parameters (the Shapiro–Wilk test for normality), namely the presence of extreme values in the data.

Results

The comparison of demographic data in the two groups showed that both sexes and ages are equally represented in the groups. (Table 1). No correlation was found between any studied parameter and age in both PD patient group and control group.

The PD patients were found to have significantly higher concentrations of CSF tau protein (median 225 vs. 194.5 ng/l; $p = 0.045$) and clusterin (median 9,004 vs. 4,668 IU/l; $p = 0.004$) than the control subjects (Fig. 1, 2). The other studied parameters did not significantly differ between the two groups.

Significantly higher levels of CSF tau protein (median 263 vs. 202 ng/l; $p = 0.033$), tau protein/beta-amyloid (1–42) ratio (median 0.44 vs. 0.23 ng/l; $p = 0.011$), and clusterin (median 1,0168.5 vs. 6,370.0 IU/l; $p = 0.044$) were found in patients with <2 years since the first symptoms had manifested (Fig. 3, 4).

Discussion

The presented study showed significantly higher levels of CSF tau protein and clusterin in the PD patients when compared with the control group. At the same time, significantly higher levels of CSF tau protein and clusterin were found in patients with <2 years since the first symptoms had manifested.

Tau protein, under normal conditions, contributes to the integrity of the cytoskeleton. Its excessive phosphorylation, as in the case of numerous neurodegenerative diseases including PD, results in impaired cell integrity, loss of its physiological function, and even cell death. Inclusion of tau protein is found with alpha-synuclein as a part of Lewy bodies in patients with PD (Arima et al. 1999; Esposito et al. 2007). Elevation of total tau protein CSF levels is considered a marker of neurodegeneration. In presented study, the presence of higher tau protein levels is in accordance with the results of previous studies concerning its contribution to the development of the disease, but does

Table 1 Demographic data

	PD patients	Controls	<i>p</i> value
Females	10 (31.3%)	13 (43.3%)	0.33 ^a
Males	22 (68.8%)	17 (56.7%)	
Age, mean ± SD (years)	59.9 ± 11.26	58.8 ± 10.22	0.67 ^b

PD Parkinson's disease, SD standard deviation

^a Chi-square test

^b Two-sample *t* test

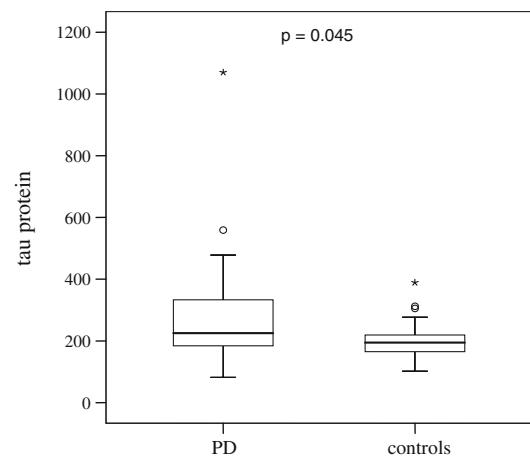


Fig. 1 Comparison of tau protein in the CSF of PD patients and controls

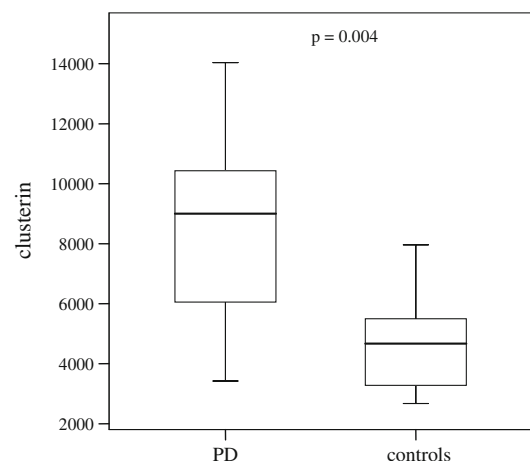


Fig. 2 Comparison of clusterin in the CSF of PD patients and controls

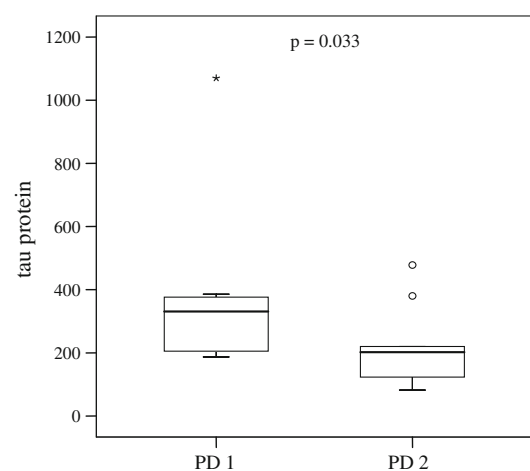


Fig. 3 Comparison of tau protein in CSF of patients with PD duration of ≤2 years (PD 1) and >2 years (PD 2)

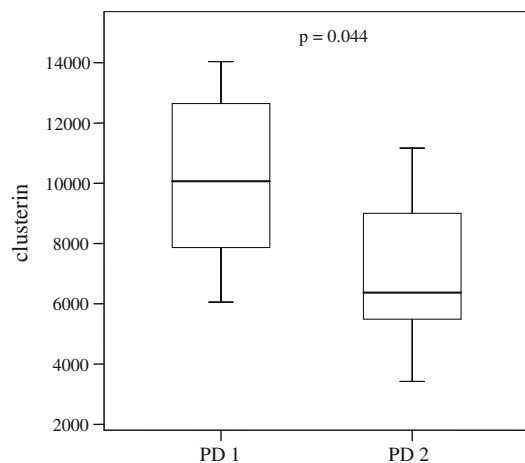


Fig. 4 Comparison of clusterin in CSF of patients with PD duration of ≤ 2 years (PD 1) and > 2 years (PD 2)

not correlate with an earlier study carried out in individuals suffering from PD without signs of dementia (Molina et al. 1997).

Clusterin, a heterodimeric glycoprotein, has been described to attribute to many cellular physiologic functions, including cell–cell interactions, complement inhibition, lipid transportation, cell survival, and apoptosis. Clusterin, also called apoprotein J, is induced under cytotoxic conditions to protect cells from cytotoxic stress (Pucci et al. 2008). It has been reported that clusterin is associated with many degenerative diseases, such as Parkinson's disease (PD), dementia with Lewy bodies (DLB), and multiple system atrophy (MSA) (Sasaki et al. 2002). Higher clusterin levels in PD patients bear witness to presence of cell-death protective mechanism during neurodegeneration.

At the same time, significantly higher levels of CSF tau protein and clusterin were found in patients with < 2 years of disease duration since the first symptoms had manifested. This led to the hypothesis that the highest degree of degeneration (i.e. the most intensive neurodegenerative process) is likely to occur in the initial stage, i.e., when the severity of pathological changes in the brain exceed the threshold of clinical manifestation.

Earlier studies showed higher levels of tau protein in patients with PD with dementia than in those with PD without signs of dementia (Mollenhauer et al. 2006). Therefore, the studied PD patients should be subsequently clinically monitored for cognitive deficit to see whether increased levels of tau protein in the CSF may serve as a potential marker of the later development of dementia (Fagan et al. 2007).

Nevertheless, the study has several limitations. The first limitation is the small size of the PD patient group. The other possible limitation (fairly rather improbable) of the study is that an unspecified neurodegenerative process, not

manifested clinically at the time of CSF collection, might have been underway in the control subjects. Likewise in the patients, we do not know the exact timing and evolution of the underlying neurodegenerative process; so our timing is related to symptom onset.

Conclusion

Determining the levels of tau protein in the CSF could be regarded as a potential laboratory marker of the presence of neurodegeneration in PD patients. Higher clusterin CSF levels in PD patients demonstrate that during the neurodegeneration not only pro-apoptotic but also anti-apoptotic mechanisms are presented. Higher clusterin and tau CSF levels in PD patients with < 2 years of disease duration also support the hypothesis that the highest rate of degeneration is likely to occur in the early stage of disease.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Alam ZI, Jenner A, Daniel SE, Lees AJ, Cairns N, Marsden CD et al (1997) Oxidative DNA damage in the parkinsonian brain: an apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra. *J Neurochem* 69:1196–1203
- Arima K, Hirai S, Sunohara N, Aoto K, Izumiyama Y, Ueda K et al (1999) Cellular colocalization of phosphorylated tau- and NACP/alpha-synuclein-epitopes in Lewy bodies in sporadic Parkinson's disease and in dementia with Lewy bodies. *Brain Res* 843:53–61
- Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, Lewczuk P, Klafki HW, Sparbier K, Smirnov A, Cepek L, Trenkwalder C, R  ther E, Kornhuber J, Otto M, Wiltfang J (2006) CSF amyloid-beta-peptides in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. *Brain* 129(Pt 5):1177–1187 c
- Braak H, Del Tredici K, R  b U et al (2003) Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 24:197–211
- Cookson MR, van der Brug M (2008) Cell systems and the toxic mechanism(s) of alpha-synuclein. *Exp Neurol* 209:5–11
- Esposito A, Dohm CP, Kermer P, B  hr M, Wouters FS (2007) alpha-Synuclein and its disease related mutants interact differentially with the microtubule protein tau and associate with the actin cytoskeleton. *Neurobiol Dis* 26:521–531
- Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM et al (2007) Cerebrospinal fluid tau/beta-amyloid(42) ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch Neurol* 64:343–349
- Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ (1992) Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinicopathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 55:181–184
- Jenner P, Olanow CW (2006) The pathogenesis of cell death in Parkinson's disease. *Neurology* 66:S24–S36
- Mareš J, Stejskal D, Vavroušková J, Urbánek K, Herzig R, Hlušítk P (2003) Use of cystatin C determination in clinical diagnostics.

- Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 147:177–180
- Marras C, Lang A (2008) Invited article: changing concepts in Parkinson disease: moving beyond the decade of the brain. *Neurology* 70(21):1996–2003
- McNaught KS, Olanow CW (2006) Protein aggregation in the pathogenesis of familial and sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 27:530–545
- Molina JA, Benito-Leon J, Jimenez-Jimenez FJ et al (1997) Tau protein concentrations in cerebrospinal fluid of non-demented Parkinson's disease patients. *Neurosci Lett* 238:139–141
- Mollenhauer B, Trenkwalder C, von Ahsen N, Bibl M, Steinacker P, Brechlin P et al (2006) Beta-amyloid 1–42 and tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 22(3):200–208
- Pucci S, Mazzarelli P, Missiroli F, Regine F, Ricci F (2008) Neuroprotection: VEGF, IL-6, and clusterin: the dark side of the moon. *Prog Brain Res* 173:555–573
- Sasaki K, Doh-ura K, Wakisaka Y, Iwaki T (2002) Clusterin/apolipoprotein J is associated with cortical Lewy bodies: immunohistochemical study in cases with alpha-synucleinopathies. *Acta Neuropathol* 104(3):225–230
- Schapira AH (2008) Mitochondria in the aetiology and pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 7:97–109
- Stejskal D, Vavroušková J, Mareš J, Urbánek K (2005) Application of new laboratory marker assays in neurological diagnosis—a pilot study. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 149(2):265–266
- Vranová H, Kaňovský P, Mareš J et al (2008) Laboratory markers of neurodegeneration in cerebrospinal fluid and degree of motor involvement in Parkinson's disease: a correlation study. *Cesk Slov Neurol N* 71/104(3):324–328
- Vranová H, Nevrlý M, Mareš J, Nestršil I, Stejskal D, Kaňovský P (2009) Neurodegenerative markers in cerebrospinal fluid in Parkinson's disease. *Neurology* 72(11 Suppl.3):66
- Weintraub D, Comella CL, Horn S (2008) Parkinson's disease—part 1: pathophysiology, symptoms, burden, diagnosis, and assessment. *Am J Manag Care* 14(2 Suppl):S40–S48
- Yacoubian TA, Standaert DG (2009) Targets for Neuroprotection in Parkinson's Disease. *Biochim Biophys Acta* 1792(7):676–687

Tau protein and beta-amyloid₁₋₄₂ CSF levels in different phenotypes of Parkinson's disease

Hana Příkrylová Vranová · Jan Mareš · Petr Hlušík ·
Martin Nevrlý · David Stejskal · Jana Zapletalová ·
Radko Obereigneru · Petr Kaňovský

Received: 3 January 2011 / Accepted: 20 August 2011
© Springer-Verlag 2011

Abstract Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder with highly heterogeneous clinical manifestations. This fact has prompted many attempts to divide PD patients into clinical subgroups. This could lead to a better recognition of pathogenesis, improving targeted treatment and the prognosis of PD patients. The aim of the present study was to obtain cerebrospinal fluid (CSF) samples in PD patients and to search for a relationship between neurodegenerative CSF markers (tau protein, beta-amyloid₁₋₄₂ and index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂) and the clinical subtypes. PD patients were divided into three subgroups: early disease onset (EDO), tremor-dominant PD (TD-PD), and non-tremor dominant PD (NT-PD) according to the previously published classification. Neurodegenerative markers in the CSF were assessed in these three groups of patients suffering from PD (EDO-17, TD-15, NT-16 patients) and in a control group (CG) of 19 patients

suffering from non-degenerative neurological diseases and 18 patients with Alzheimer's disease (AD). The NT-PD patients were found to have significantly higher levels of CSF tau protein and index tau/beta than the control subjects and other Parkinsonian subgroups, but no significant differences in these markers were found between AD and NT-PD patients. In the context of more rapid clinical progression and more pronounced neuropathological changes in the NT-PD patient group, our results corroborate the opinion that CSF level of tau protein may be regarded as a potential laboratory marker of the presence and severity of neurodegeneration.

Keywords Parkinson's disease subgroups · Tau protein · Beta-amyloid₁₋₄₂ · Index tau/beta · CSF

Introduction

The clinical manifestation of Parkinson's disease (PD) is very heterogeneous. Many papers proposing the division of patients with PD into subgroups according to the clinical manifestation have been published (Graham and Sagar 1999; van Rooden et al. 2010, 2011; Rajput et al. 2009). In fact, the prospective and retrospective study and division of PD patients into these subgroups could lead to the better recognition of pathogenesis, thus improving targeted treatment and the prognosis of PD patients.

Because a definitive PD diagnosis is a "post-mortem" diagnosis, most studies focused on clinical manifestations of PD are retrospective (Jellinger 2008, 2009). But two prospective clinical studies have also used a cluster analysis of clinical data to divide patients into subgroups. The first prospective study was Graham et al., who divided PD patients into three subgroups: "motor only," "motor and

H. Příkrylová Vranová (✉) · J. Mareš · P. Hlušík ·
M. Nevrlý · P. Kaňovský
Department of Neurology, Faculty of Medicine and Dentistry,
Palacky University in Olomouc, University Hospital Olomouc,
I.P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc, Czech Republic
e-mail: vranovaha@seznam.cz

D. Stejskal
Department of Biochemistry, Faculty of Medicine and Dentistry,
Palacky University in Olomouc, University Hospital Olomouc,
Olomouc, Czech Republic

J. Zapletalová
Department of Medical Biophysics, Faculty of Medicine
and Dentistry, Palacky University in Olomouc,
Olomouc, Czech Republic

R. Obereigneru
Department of Psychology, Philosophical Faculty,
Palacky University in Olomouc, Olomouc, Czech Republic

Published online: 04 September 2011

 Springer

cognitive,” or “rapidly progressive” (Graham and Sagar 1999). But their inclusion of PD patients with advanced stages could lead to the masking of clinical manifestations and a resulting inaccurate division into subgroups.

Another prospective study of PD clinical manifestations and history was performed by Lewis et al. (2005). Only patients with an early stage of PD were included, hence eliminating the masking of clinical pictures. Cluster analysis of the main symptoms—motor and cognitive disturbances, severity of manifestation, disease duration and patient age—revealed four main subgroups: patients with an earlier disease onset; a tremor-dominant subgroup of patients; a non-tremor dominant subgroup with significant levels of cognitive impairment and mild depression; and a subgroup with a rapid disease progression but no cognitive impairment.

The division into four main subgroups employed in the Lewis et al. study was used in a retrospective clinicopathological study by Selikhova et al. (2009). In their study, 242 patients with a pathologically verified PD diagnosis were included. Based on the clinical features and history, the patients were subdivided into four main subgroups, as defined in Lewis’s study. Patients with a primary initial diagnosis of dementia were excluded, meaning dementia at the time of diagnosis of PD or within 2 years of the first symptoms. Post-mortem evaluation detected a significantly higher occurrence of cortical Lewy bodies and beta-amyloid plaques in the non-tremor dominant subgroup of PD patients compared to the other subgroups. Moreover, dementia was significantly more common in the non-tremor dominant PD subgroup. The link between non-tremor dominant PD and cognitive impairment analogous to Lewis’s paper was demonstrated.

One of the main roles in the pathogenesis of neurodegenerative diseases, including Parkinson’s disease, is played by specific proteins. Due to its close contact with brain tissue, cerebrospinal fluid (CSF) is a potential source of these markers of neurodegeneration in living patients. Proteomic studies indicate that more than 10% of identifiable proteins in CSF overlap with proteins detected in samples from the cortex of the frontal lobes collected during autopsies (Pan et al. 2007). On the other hand, in the same study more than 20% of proteins detected in the frontal cortex were detectable in CSF (Pan et al. 2007). Pathological changes typical for Alzheimer’s disease (AD) are a relatively frequent find in Parkinson’s patients (Mattila et al. 1998, Selikhova et al. 2009). Moreover, recent studies have shown *in vivo* that it is precisely alpha-synuclein that is involved in the regulation of tau protein phosphorylation and that during the mutation of alpha-synuclein associated with Parkinson’s disease, there is a stronger bond between alpha-synuclein and the tau protein, stimulating its phosphorylation and leading to the destabilization of

microtubules (Qureshi et al. 2011; Esposito et al. 2007). As a result of these conclusions, CSF markers, specifically tau protein, phosphorylated tau protein and beta-amyloid₁₋₄₂, which are more typical for AD, have been repeatedly studied in PD. Most of the published studies have shown that AD patients have higher levels of tau protein and phospho-tau protein, lower levels of beta-amyloid₁₋₄₂ and a higher tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ index (Sunderland et al. 2003; Mattsson et al. 2009). It is thought that CSF beta-amyloid₁₋₄₂ levels decrease in AD due to the aggregation of soluble extracellular beta-amyloid₁₋₄₂ peptides in neuritic plaques, while CSF tau protein and phospho-tau protein₁₈₁ levels increase due to their release from degenerating neurons (Hu et al. 2010). Furthermore, this “trio” is often studied in Parkinson’s patients with dementia (PDD) and in patients with dementia with Lewy bodies (DLB). With these diseases the aforementioned markers show, as opposed to the control group without cognitive deficit, similar changes as in AD (Bibl et al. 2006; Compta et al. 2009). A recent study showed that Parkinson’s patients have a lower level of beta-amyloid₁₋₄₂ in CSF, which is connected with a higher risk of developing cognitive deficit (Siderowf et al. 2010). Another study has shown that elevated levels of total tau protein versus phosphorylated tau protein in CSF are not exclusively specific to AD pathology (Hu et al. 2010). Elevated levels of total tau protein in CSF were found, e.g., following cranio-cerebral trauma (Ost et al. 2006; Blennow and Nellgård 2004) and during strokes (Yao et al. 2008). It is, therefore, thought that the level of total tau protein reflects an elevated release of the structural proteins from damaged axons, dendrites, synapses, and is related to cell death.

The aim of the present study was to obtain CSF samples from PD patients and to search for a relationship between neurodegenerative CSF markers (tau protein, beta-amyloid₁₋₄₂ and index tau/beta) and the clinical subtypes to highlight the potential of CSF analysis *in vivo* as a surrogate of post-mortem pathology. This would also support the relationship between non-tremor dominant PD and the development of cognitive impairment.

Patients and methods

Study group

The study was approved by the Institutional Ethics Committee, and all patients signed an informed consent. Only patients with early stage of PD without signs of dementia were included in the study. PD was diagnosed using the United Kingdom Parkinson’s Disease Society Brain Bank criteria (Hughes et al. 1992). Cognitive deficit was excluded by psychological assessment involving a battery tests to assess memory functions (memory span for auditory

working memory and Rey-Osterrieth complex figure for visual memory), attention (Trail Making Test), intelligence (WAIS-R) and executive functions [Trail Making Test (Spren and Strauss 1998), Tower of Hanoi (Goel and Grafman 1995; Obereigner et al. 2010)]. Psychological examinations also included the mini mental status examination (MMSE), despite the fact that it is known to be insufficiently sensitive to subcortical cognitive deficits. CSF levels of tau protein and beta-amyloid₁₋₄₂ were measured in all patients.

Laboratory analysis and CSF sampling technique

The CSF samples were obtained by lumbar puncture performed under the usual sterile conditions, with the subjects sitting and the needle being inserted between lumbar vertebrae L4/L5. During each puncture, a total of 10 ml of CSF were collected in a sterile test tube. Subsequently, the CSF was morphologically assessed and centrifuged at 1,100g for 10 min at 4°C). Each sample was frozen to -80°C, and the concentrations of total tau protein (ELISA, Invitrogen, CA, USA) and beta-amyloid₍₁₋₄₂₎ (ELISA, Innogenetics, Belgium) were measured with the Biorobot DSX analyser (Dynex, USA) for all subjects in the series within 10 weeks of freezing. The analytical characteristics of all ELISA methods were satisfactory when verifying the manufacturers' data (both repeatability and reproducibility <9%). At the same time, the CSF tau protein/beta-amyloid₍₁₋₄₂₎ ratio was calculated for all the patients (Stejskal et al. 2005).

Tau protein

We measured the total soluble tau protein using ELISA sandwich (IVD-CE). Samples were diluted with a dilution buffer 1:1 (50 + 50 µl).

Sensitivity

The minimum detectable dose of tau was <12 ng/L. This was determined by adding two standard deviations to the mean OD obtained when the zero standard was assayed 30 times.

The concentration range of the calibration curve used was 12–2,000 ng/L.

Precision

Intra-assay precision (coefficients of variation, CV) was under 5.2%. Inter-assay precision (CV) was under 7.8%.

Linearity of dilution

Human CSF and a tissue culture medium containing 10% fetal calf serum were spiked with tau and serially diluted in standard diluted buffer over the range of the assay. Linear regression analysis of samples versus the expected concentration yielded a correlation coefficient of 0.99 in both cases.

Recovery

The recovery of tau added to human CSF averaged 94%.

Specificity

Buffered solutions of a panel of substances at 20 000 ng/L were assayed and found to have no cross-reactivity: beta-amyloid₁₋₄₀, beta-amyloid₁₋₄₂, alpha-synuclein, beta synuclein.

Beta-amyloid₁₋₄₂

We measured beta-amyloid₁₋₄₂ with ELISA sandwich (IVD-CE, solid-phase ELISA in with the amyloid peptide is captured by a first monoclonal antibody. CSF samples are added and incubated with a biotinylated antibody. This complex is then detected by a peroxidase-labeled streptavidin. Samples were not diluted.

Sensitivity

The minimum detectable dose of beta-amyloid₁₋₄₂ was <87 ng/L. This was determined by adding two standard deviations to the mean OD obtained when the zero standard was assayed 30 times.

Concentration range of the calibration curve used was 125–2,000 ng/L.

Precision

Intra-assay precision (CV) was under 3%. Inter-assay precision (CV) was under 4.1%.

Linearity of dilution

Human CSF were spiked with beta-amyloid₁₋₄₂ and serially diluted in standard diluted buffer over the range of the assay. When the calculated concentrations were plotted against the obtained undiluted concentrations, no deviations from linearity could be observed.

Recovery

The recovery of beta-amyloid₁₋₄₂ added to human CSF averaged 96%.

Specificity

Buffered solutions of a panel of substances at 10,000 ng/L were measured and found to have no cross-reactivity: beta-amyloid₁₋₄₃, beta-amyloid₁₋₃₈, beta-amyloid₁₋₃₉, beta-amyloid₁₋₄₀, beta-amyloid₂₋₄₂, and beta-amyloid₈₋₄₃.

Division of the PD group into subgroups

Patients suffering from PD were divided according to Lewis's study in which PD patients are finally divided into four subgroups: patients with an early disease onset; a tremor dominant subgroup of patients, a non-tremor dominant subgroup and patients with rapid disease progression without dementia. The subgroups were defined as follows (Lewis et al. 2005):

1. Earlier disease onset (EDO): disease onset below the age of 55 years.
2. Tremor dominant (TD): aged 55 years and over at onset; rest tremor as sole initial symptom or sustained dominance of tremor over bradykinesia and rigidity.
3. Non-tremor dominant (NT): aged 55 years and over at onset; predominantly bradykinetic motor features with no or only mild rest tremor.

In the present study, only patients with a relatively early phase of the disease were included, mostly with disease duration of less than 5 years; therefore, no patients met the criteria for inclusion in the fourth subgroup as defined by Lewis et al. (2005)—patients with rapid disease progression. This classification was chosen because, as was mentioned above, most patients included in this study suffered from an early stage of PD and usually had one main dominant symptom. Therefore, the quite common mixture type published, e.g., by Rajput et al. (2009), was not detected in a corresponding number.

To evaluate the studied parameters, the CSF analysis results were compared between the PD patient subgroups and the control group of subjects without neurodegenerative disease (CG) and the control group of patients suffering from AD. In the PD patient subgroups, the values of the studied parameters were then compared with the severity of motor impairment as staged by the Hoehn and Yahr (HY) scale (Hoehn and Yahr 1967) and with treatment. We decided to use the HY scale instead of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale-Part III (UPDRS-III) because UPDRS-III values change depending on

the time of day and medication, and we, therefore, did not consider them relevant for this CSF analysis.

Statistical analysis

SPSS software version 15 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for statistical analysis. To determine differences between the PD patient group and the control groups as well as those in the subgroups of patients with PD and AD, a Chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables and the Mann-Whitney test with Bonferroni correction for metric parameters were used. The dependence between metric parameters and the HY scale was assessed by the non-parametric Spearman's rank correlation analysis. Due to the multiple comparisons, the level of significance was adjusted using Bonferroni correction so that the first type of error did not exceed a value of 0.05. The calculated significance value was, therefore, compared to the corrected borderline significance level $\alpha = 0.05/10$, in which $n = 10$ is the number of tests performed. Tests with a precisely calculated significance level of $p < 0.005$ were considered statistically significant.

Results

A total of 48 patients suffering from PD without signs of dementia were examined: 17 with EDO-PD, 15 with TD-PD and 16 with NT-PD. The group of 17 patients with EDO-PD contains 6 females and 11 males aged 29–55 years, with a mean age of 48.9 ± 6.78 years, a mean age of onset of 46.47 ± 6.17 and mean disease duration of 3.32 ± 2.65 . Thirteen (76.5%) of the 17 patients with EDO-PD manifested as TD-PD. The mean HY score was 1.59 ± 0.67 ; 6 of these patients were treated with a levodopa equivalent dose (LED) with a mean of 541.7 ± 249 mg per day. The group of 15 TD-PD contains 8 females and 7 males aged 56–75 years, with a mean age of 67.3 ± 6.38 years, a mean age of onset of 64.96 ± 5.38 and mean disease duration of 2.93 ± 2.07 . The mean HY score was 1.87 ± 0.59 ; 5 of these patients were treated; the LED mean was 600.0 ± 216.8 . The group of 16 patients with NT-PD contains 9 females and 7 males aged 57–73 years, with a mean age of 65.62 ± 5.16 years, a mean age of disease onset of 62.5 ± 5.3 , a mean disease duration of 3.25 ± 3.19 and a mean HY score of 1.78 ± 0.56 . Five of these patients were treated; LED mean was 590.0 ± 120.0 .

The control group without signs of neurodegenerative disease (CG) comprised 19 patients: 8 females and 11 males aged 33–79, with a mean age of 56.16 ± 11.48 years. Of these, 11 patients had vertebro-genic disease and 8 patients had psychogenic disease.

For comparative purposes, a group of 18 patients with AD was also used (15 females and 3 males aged 56–79, with a mean age of 68.44 ± 9.24 years, a mean age of disease onset of 66.5 ± 7.65 , a mean disease duration of 2.5 ± 1.06).

The comparison of demographic data in the four subgroups showed that the genders are equally represented in the subgroups, but that the age of CG was significantly lower than in TD-PD ($p = 0.004$), NT-PD ($p = 0.005$) and in AD ($p = 0.005$). Among PD patients, those with early-onset of PD were significantly younger than TD-PD ($p < 0.0001$) and NT-PD ($p < 0.0001$).

No differences in disease duration and the severity of manifestation scored by the HY scale were found among all Parkinsonian subgroups.

CSF marker levels in different subject groups are illustrated in Figs. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and in Table 1.

The NT-PD patients were found to have significantly higher levels of CSF tau protein ($p < 0.0001$) and index of tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ ($p < 0.0001$) than the CG. Significantly higher tau protein was found in patients with NT-PD compared to EDO-PD ($p = 0.0002$) and TD-PD ($p = 0.001$) (Fig. 1). A higher index of tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ was also found in patients with NT-PD compared to EDO-PD ($p = 0.0006$) and TD-PD ($p = 0.002$) (Fig. 2). CSF levels of beta-amyloid₁₋₄₂ were found to be lower in NT-PD patients than in the other investigated

subgroups, but the differences did not quite reach statistical significance (EDO vs. NT, $p = 0.105$; TD vs. NT, $p = 0.069$) (Fig. 3).

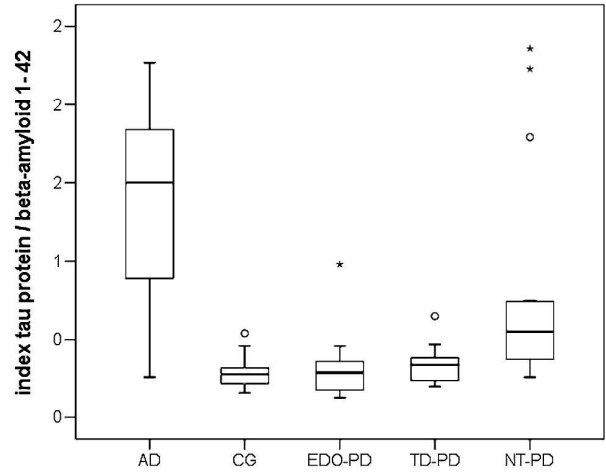


Fig. 2 Comparison of index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ (index tau/beta) levels in the control subject (CG), Alzheimer’s disease (AD) and Parkinsonian subgroups using the Mann–Whitney test with Bonferroni correction. Significantly higher index tau/beta CSF levels were found in NT-PD patients compared to the CG ($p < 0.0001$), EDO-PD ($p = 0.0006$) and TD-PD ($p = 0.002$). Significantly higher index tau/beta CSF levels were found in AD patients compared to CG ($p < 0.0001$) EDO-PD ($p < 0.0001$) and TD-PD ($p < 0.0001$). No differences of index tau/beta CSF level were found between AD and NT-PD ($p = 0.01$)

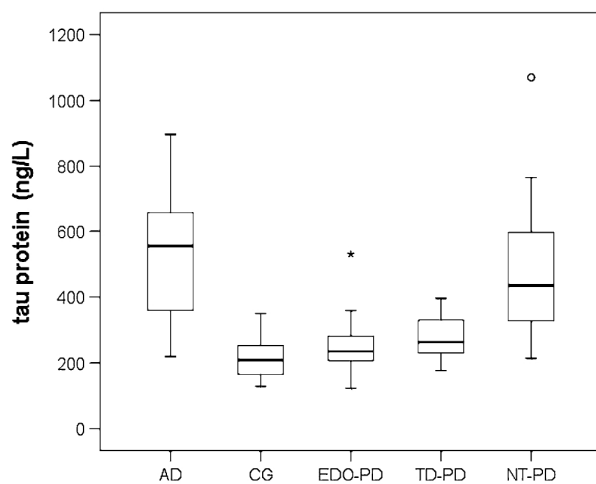


Fig. 1 Comparison of tau protein (ng/L) levels in the control subject (CG), Alzheimer’s disease (AD) and Parkinsonian subgroups using the Mann–Whitney test with Bonferroni correction. NT-PD patients showed significantly higher tau protein CSF levels compared to the CG ($p < 0.0001$), EDO-PD ($p = 0.0002$) and TD-PD ($p = 0.001$). Significantly higher tau protein CSF levels compared to CG ($p < 0.0001$) EDO-PD ($p < 0.0001$) and TD-PD ($p = 0.0001$) were found in AD patients. No differences of tau protein CSF level were found between AD and NT-PD ($p = 0.214$)

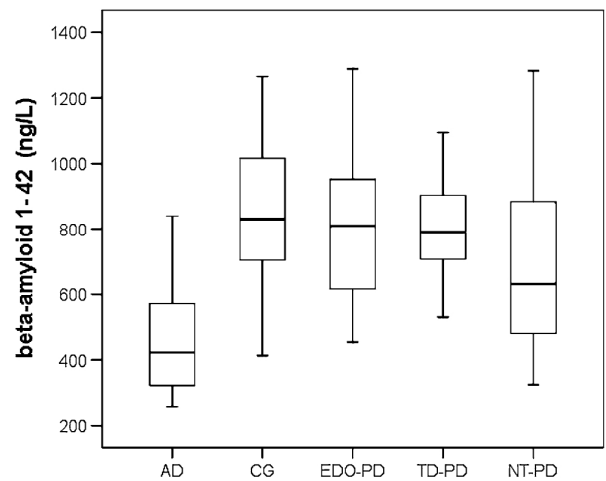


Fig. 3 Comparison of beta-amyloid₁₋₄₂ (ng/L) levels in the control subject (CG), Alzheimer’s disease (AD) and Parkinsonian subgroups using the Mann–Whitney test with Bonferroni correction. Lower beta-amyloid₁₋₄₂ CSF levels were found in NT-PD patients compared to the CG ($p = 0.064$), EDO-PD ($p = 0.105$) and TD-PD (0.069), but the differences did not quite reach statistical significance. Significantly lower beta-amyloid₁₋₄₂ CSF levels were found in AD patients compared to CG ($p < 0.0001$), EDO-PD ($p < 0.0001$), TD-PD ($p = 0.0001$), but with borderline significance compared to TD-PD ($p = 0.0052$)

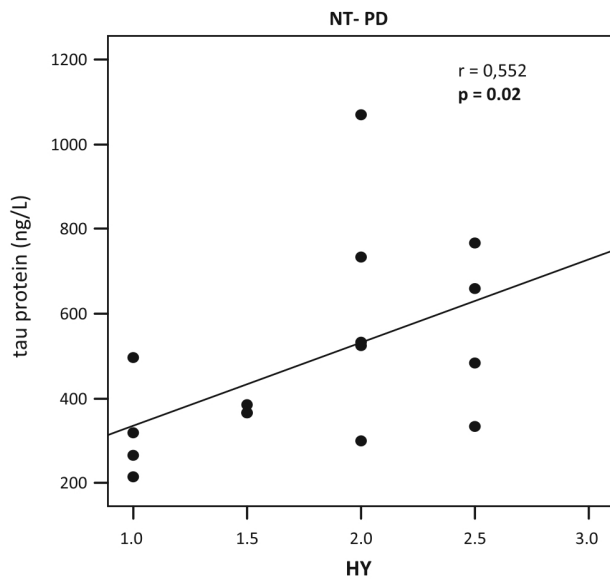


Fig. 4 The relationship between the severity of motor impairment in NT-PD patients as measured by the Hoehn and Yahr scale (H–Y) and the CSF levels of tau protein assessed by non-parametric Spearman’s rank correlation analysis

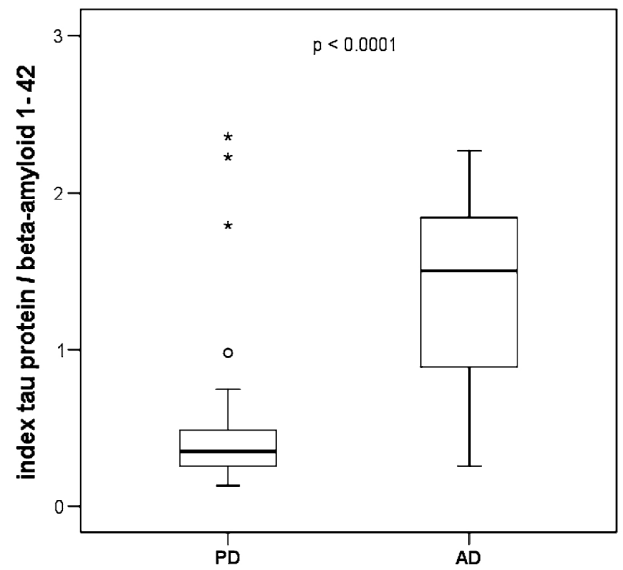


Fig. 6 Comparison of index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ levels in Alzheimer disease (AD) and Parkinson’s disease (PD) using the Mann–Whitney test. The AD patients were found to have significantly higher levels of CSF index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ than all PD patients ($p < 0.0001$)

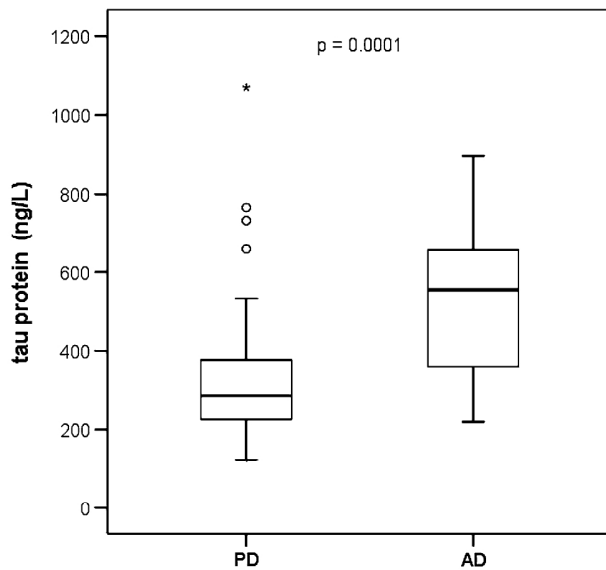


Fig. 5 Comparison of tau protein levels (ng/L) in Alzheimer’s disease (AD) and Parkinson’s disease (PD) using the Mann–Whitney test. The AD patients were found to have significantly higher levels of CSF tau protein than all PD patients ($p = 0.0001$)

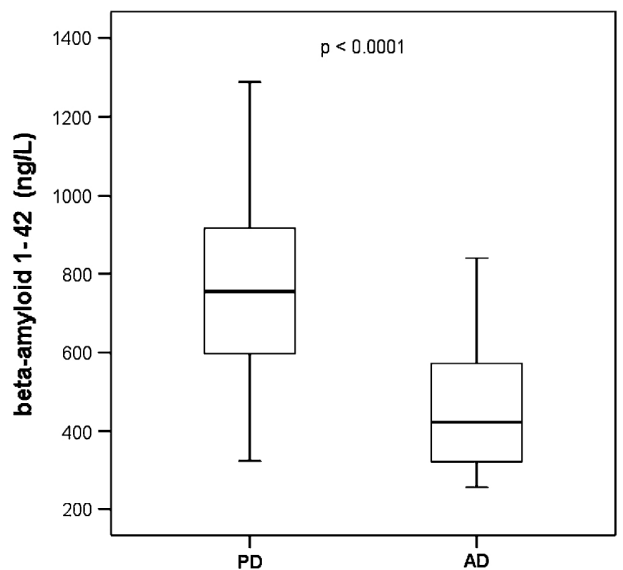


Fig. 7 Comparison of beta-amyloid₁₋₄₂ (ng/L) levels in Alzheimer’s disease (AD) and Parkinson’s disease (PD) using the Mann–Whitney test. The AD patients were found to have significantly lower levels of CSF beta-amyloid₁₋₄₂ than all PD patients ($p < 0.0001$)

Furthermore, a close relationship between tau protein CSF levels and the severity of motor manifestation scored by the HY scale ($p = 0.02$) in NT-PD patients was found (Fig. 4.). No other correlation of tau protein and beta-amyloid₁₋₄₂ was determined between the duration of the disease and treatment.

The AD patients were found to have significantly higher levels of CSF tau protein ($p < 0.0001$ resp. $p = 0.0001$), index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ ($p < 0.0001$ resp. $p < 0.0001$) and lower levels of CSF beta-amyloid₁₋₄₂ ($p < 0.0001$ resp. $p < 0.0001$) than the CG and also than all patients with PD. The following results were found

Table 1 CSF levels of tau protein, beta-amyloid₁₋₄₂ and index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ of the study groups

	CG	EDO-PD	TD-PD	NT-PD	AD
CSF tau protein (ng/L) median ± SD (range)	209.0 ± 66.6 (129.0–350.0)	235.0 ± 88.8 (123.0–530.0)	263.0 ± 69.6 (177–396)	435.0 ± 224.9 (214–1,070)	554.5 ± 187.4 (220–897)
CSF beta-amyloid ₁₋₄₂ (ng/L) median ± SD (range)	829.7 ± 257.4 (413.6–1,264.6)	809.5 ± 236.8 (454.5–1,288.4)	790.7 ± 167.6 (530.4–1,094.5)	630.7 ± 269.4 (324.3–1,282.6)	422.6 ± 165.3 (257.5–840.1)
Index tau protein/beta-amyloid ₁₋₄₂ median ± SD (range)	0.28 ± 0.099 (0.16–0.54)	0.29 ± 0.198 (0.13–0.98)	0.34 ± 0.116 (0.20–0.65)	0.55 ± 0.683 (0.26–2.36)	1.50 ± 0.598 (0.36–2.27)

SD standard deviation

during a comparison of CSF levels of neurodegenerative markers among AD patients and PD subgroups: significantly higher levels of tau protein in AD patients compared to EDO-PD ($p < 0.0001$) and TD-PD ($p = 0.0001$), but not NT-PD ($p = 0.214$); significantly higher levels of index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ compared to EDO-PD ($p < 0.0001$) and TD-PD ($p < 0.0001$), but not TD-PD ($p = 0.01$); and significantly lower levels of beta-amyloid₁₋₄₂ compared to EDO-PD ($p < 0.0001$) and TD-PD ($p < 0.0001$), but borderline significance of TD-PD ($p = 0.0052$; Figs. 1, 2, 3 and 5, 6, 7.

Discussion

In this prospective study, some differences in CSF markers of neurodegeneration in PD subgroups were found. PD patients were subdivided into subgroups on clinical grounds according to the classification system based on a previous cluster analysis (Lewis et al. 2005). Higher CSF tau protein levels and higher index of tau/beta were found in patients with NT-PD compared to the other Parkinsonian subgroups. CSF levels of tau protein also showed a close relationship with severity of motor manifestation scored by the HY scale.

CSF levels showed no differences of tau protein and index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ between AD patients and NT-PD patients, but lower CSF levels of beta-amyloid₁₋₄₂ with borderline significance were found in AD patients compared to NT-PD patients.

Typical clinical manifestations of PD may include tremor, rigidity, akinesia and postural instability. In the early stage, one main symptom dominates the clinical image, and this one often persists as the main symptom up to the advanced stage (Williams and Lees 2009). During disease progression, additional symptoms such as gait disturbances or cognitive impairment change the clinical presentation mask the original main symptom and in the end, the PD clinical image may broaden to that of atypical Parkinsonian syndrome.

To study PD pathogenesis and progression, it is advantageous to reduce the clinical heterogeneity by dividing

patients with PD on the one hand according to their main common symptoms (Burn et al. 2006; Lyros et al. 2008) or on the other hand according to their post-mortem pathological findings and their retrospective comparison with disease history (Buter et al. 2008, Paulus and Jellinger 1991). A combination of both approaches is presented in a longitudinal clinical follow-up and autopsy study published by Rajput et al. in 2009.

The more recent study by Lewis et al. (2005) used a data-driven cluster analysis to divide PD patients into four subgroups. The results of this study confirmed the existence of distinct subgroups of patients in the early clinical stages of PD. This study also demonstrated a significantly higher occurrence of cognitive impairment in patients the NT-PD subgroup.

Lewis's division of PD was used by the retrospective clinicopathological study by Selikhova et al. The previously observed clinical association of the NT-PD form and cognitive impairment was strengthened by the post-mortem finding of significantly higher mean pathological grading of cortical Lewy bodies and pathology characteristics for AD in the brains of NT-PD patients (Selikhova et al. 2009).

A third alternative approach to evaluating and validating PD subtypes is to complement the information on clinical features with in vivo analysis of CSF markers of neurodegeneration. Out of the many studied CSF markers of neurodegeneration, only a few have generally shown clinical significance. Tau protein and beta-amyloid₁₋₄₂ are well-recognized markers typical for neurodegenerative diseases, especially for diseases with signs of dementia (Alves et al. 2010; Okonkwo et al. 2010; Compta et al. 2009).

Under normal conditions, tau protein contributes to the integrity of the cytoskeleton. Its excessive phosphorylation, as in the case of numerous neurodegenerative diseases including PD, results in impaired cell integrity, loss of its physiological function and even cell death (Lee et al. 2001). The inclusion of tau protein is found with alpha-synuclein as a part of Lewy bodies in patients with PD (Selkoe 2004; Clinton et al. 2010; Waxman and Giasson 2011). Increased levels of tau protein in the CSF are found in patients with AD and PD patients with dementia (Rajput

et al. 2006; Clinton et al. 2010; Jellinger et al. 2002; Arima et al. 1999; Esposito et al. 2007). Increased CSF level of tau protein was also found in PD patients with disease duration of less than 2 years, which probably reflects the idea that most neurodegenerative changes occur in the initial stage of the disease (Přikrylová Vranová et al. 2010).

Beta-amyloid is generated from the amyloid precursor protein (APP). APP is cleaved either by alpha-secretase to produce sAPP, assumed to have neuroprotective effects, or by beta-amyloid cleaving enzyme, i.e., by beta-secretase and subsequently by gamma-secretase, producing beta-amyloid₄₀ and beta-amyloid₁₋₄₂. These aggregate to form the core of neuritic plaques. A cascade of other processes follows, including oxidative stress, cytotoxic effects and inflammatory response, resulting in neuronal death and development of dementia. Decreased levels of beta-amyloid in the CSF are also found in individuals with AD or PD patients with dementia (Bibl et al. 2006; Lashley et al. 2008; Mollenhauer et al. 2006; Fagan et al. 2007).

Prior to the study, we speculated that CSF levels of neurodegenerative markers may also change in PD patients without signs of dementia and that this potential alteration might be useful as a prognostic marker. Therefore, we decided to exclude PD patients with dementia.

As mentioned above, both higher CSF levels of tau protein and lower levels of beta-amyloid₁₋₄₂ were previously reported in PD patients with dementia. However, in a more recent study, only lower CSF levels of beta-amyloid₁₋₄₂ and not higher CSF levels of tau protein were demonstrated as a specific marker and predictor of cognitive impairment in PD patients (Siderowf et al. 2010). In the present study, markers among AD, CG and all PD patients were also compared, and significantly higher CSF levels of tau protein and index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ and lower levels of beta-amyloid₁₋₄₂ were found in AD patients, which is in agreement with the majority of previously published studies (Bibl et al. 2006). No differences of statistical significance between CSF levels of tau protein and index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂, and lower CSF levels of beta-amyloid₁₋₄₂ with borderline significance were found in AD patients compared to NT-PD patients.

We may, therefore, speculate that tau protein probably reveals the degree of neurodegeneration, whereas beta-amyloid₁₋₄₂ is a more specific marker of cognitive impairment. This role of tau protein would be supported by the close relationship between tau protein CSF levels and the severity of PD manifestation scored by the HY scale observed in the present study.

In a similar manner, we interpreted the results of our previous study (Přikrylová Vranová et al. 2010), in which higher CSF levels of tau protein were found in PD patients with disease duration of less than 2 years. More extensive neurodegeneration in NT-PD patients may also be deduced

from the findings of more severe progression of the disease course (Rajput et al. 2006) and more severe post-mortem cortical Lewy body pathology reported by Selikhova et al. On the other hand, these findings may also indicate the presence of Alzheimer's pathology in the NT-PD subgroup from an early stage of the disease.

With ongoing disease progression, it is likely that accumulating pathology will over time lead to the development of a manifest cognitive deficit in this patient group. To corroborate this suggestion, we need to include more patients in the study and follow-up our NT-PD patients further with repeated clinical and neuropsychological testing at yearly intervals. Alternatively, the follow-up may also document progression of disease or changing clinical presentation, resulting in a change of the original PD diagnosis.

Conclusion

In this prospective study, a higher CSF level of tau protein and index tau/beta were found in NT-PD patients compared to other Parkinsonian subgroups. In AD patients, higher CSF levels of tau protein and index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ and lower CSF levels of beta-amyloid₁₋₄₂ compared to CG, to all PD and to EDO-PD and TD-PD patients were found. No differences were found between CSF levels of tau protein and index tau protein/beta-amyloid₁₋₄₂ in AD patients compared to NT-PD patients, but lower CSF levels of beta-amyloid₁₋₄₂ with borderline statistical significance were found in AD patients compared to NT-PD patients. These findings probably corroborate the opinion that tau protein is not a strictly specific marker for AD, but that it may be regarded as a potential laboratory marker of the presence and severity of neurodegeneration, which could be also used as an auxiliary prognostic indicator.

Acknowledgments The study was supported by grant IGA MHCZ NT1222-5/2010.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

- Alves G, Brønnick K, Aarsland D, Blennow K, Zetterberg H, Ballard C et al (2010) CSF amyloid- β and tau proteins, and cognitive performance, in early and untreated Parkinson's Disease: the Norwegian ParkWest study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81:1080–1086
- Arima K, Hirai S, Sunohara N, Aoto K, Izumiyama Y, Ueda K et al (1999) 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* 843:53–61

- Bibl M, Mollenhauer B, Esselmann H, Lewczuk P, Klafki HW, Sparbier K et al (2006) CSF amyloid-beta-peptides in Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and Parkinson's disease dementia. *Brain* 129:1177–1187
- Blennow K, Nellgård B (2004) Amyloid beta 1-42 and tau in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. *Neurology* 62(1):159–160
- Burn DJ, Rowan EN, Allan LM, Molloy S, O'Brien JT, McKeith IG (2006) Motor subtype and cognitive decline in Parkinson's disease with dementia, and dementia with Lewy bodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 77:585–589
- Buter TC, van den Hout A, Matthews FE, Larsen JP, Brayne C, Aarsland D (2008) Dementia and survival in Parkinson's disease. *Neurology* 70:1017–1022
- Clinton LK, Blurton-Jones M, Myczek K, Trojanowski JQ, LaFerla FM (2010) Synergistic Interactions between Abeta, tau, and alpha-synuclein: acceleration of neuropathology and cognitive decline. *J Neurosci* 30:7281–7289
- Compta Y, Martí MJ, Ibarretxe-Bilbao N, Junqué C, Valdeoriola F, Muñoz E et al (2009) Cerebrospinal tau, phospho-tau, and beta-amyloid and neuropsychological functions in Parkinson's disease. *Mov Disord* 24:2203–2210
- Esposito A, Dohm CP, Kermer P, Bähr M, Wouters FS (2007) Alpha-Synuclein and its disease-related mutants interact differentially with the microtubule protein tau and associate with the actin cytoskeleton. *Neurobiol Dis* 26:521–531
- Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM et al (2007) Cerebrospinal fluid tau/beta-amyloid(42) ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch Neurol* 64:343–349
- Goel V, Grafman J (1995) Are the frontal lobes implicated in 'planning' functions? Interpreting data from the Tower of Hanoi. *Neuropsychologia* 33:623–642
- Graham JM, Sagar HJ (1999) A data-driven approach to the study of heterogeneity in idiopathic Parkinson's disease: identification of three distinct subtypes. *Mov Disord* 14:10–20
- Hoehn MM, Yahr MD (1967) Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology* 17(5):427–442
- Hu WT, Chen-Plotkin A, Arnold SE, Grossman M, Clark CM, Shaw LM et al (2010) Biomarker discovery for Alzheimer's disease, frontotemporal lobar degeneration, and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol* 120(3):385–399
- Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ (1992) Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinicopathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 55:181–184
- Jellinger KA (2008) Neuropathological aspects of Alzheimer disease, Parkinson disease and frontotemporal dementia. *Neurodegener Dis* 5:118–121
- Jellinger KA (2009) A critical evaluation of current staging of alpha-synuclein pathology in Lewy body disorders. *Biochim Biophys Acta* 1792:730–740
- Jellinger KA, Seppi K, Wenning GK, Poewe W (2002) Impact of coexistent Alzheimer pathology on the natural history of Parkinson's disease. *J Neural Transm* 109:329–339
- Lashley T, Holton JL, Gray E, Kirgham K, O'Sullivan SS, Hilbig A et al (2008) Cortical alpha-synuclein load is associated with amyloid-beta plaque burden in a subset of Parkinson's disease patients. *Acta Neuropathol* 115:417–425
- Lee VM, Goedert M, Trojanowski JQ (2001) Neurodegenerative tauopathies. *Annu Rev Neurosci* 24:1121–1159
- Lewis SJ, Foltynie T, Blackwell AD, Robbins TW, Owen AM, Barker RA (2005) Heterogeneity of Parkinson's disease in the early clinical stages using a data driven approach. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 76:343–348
- Lyros E, Messinis L, Paphanasopoulos P (2008) Does motor subtype influence neurocognitive performance in Parkinson's disease without dementia? *Eur J Neurol* 15:262–267
- Mattila PM, Koskela T, Røyttä M, Lehtimäki T, Pirttilä TA, Ilveskoski E et al (1998) Apolipoprotein E epsilon4 allele frequency is increased in Parkinson's disease only with co-existing Alzheimer pathology. *Acta Neuropathol* 96(4):417–420
- Mattsson N, Zetterberg H, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M et al (2009) CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA* 302(4):385–393
- Mollenhauer B, Trenkwalder C, von Ahnen N, Bibl M, Steinacker P, Brechlin P et al (2006) Beta-amyloid 1–42 and tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Parkinson's disease dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 22:200–208
- Obereigner R, Obereigner K, Cakirpaloglu S, Reiterova E, Kanovsky P (2010) Tower of Hanoi and the new administration rules for effective executive functions diagnostics. *Eur J Neurol* 17(Suppl 3):482
- Okonkwo OC, Alosco ML, Griffith HR, Mielke MM, Shaw LM, Trojanowski JQ et al (2010) Cerebrospinal fluid abnormalities and rate of decline in everyday function across the dementia spectrum: normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 67:688–696
- Ost M, Nylén K, Csajbok L, Ohrfelt AO, Tullberg M, Wikkelsö C et al (2006) Initial CSF total tau correlates with 1-year outcome in patients with traumatic brain injury. *Neurology* 67(9):1600–1604
- Pan S, Shi M, Jin J, Albin RL, Lieberman A, Gearing M et al (2007) Proteomics identification of proteins in human cortex using multidimensional separations and MALDI tandem mass spectrometer. *Mol Cell Proteomics* 6(10):1818–1823
- Paulus W, Jellinger K (1991) The neuropathological basis of different clinical subgroups of Parkinson's disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 50:743–755
- Příkrylová Vranová H, Mareš J, Nevrlý M, Zapletalová J, Hlušík P, Kaňovský P (2010) CSF markers of neurodegeneration in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 117:1177–1181
- Qureshi HY, Paudel HK (2011) Parkinsonian neurotoxin MPTP and alpha-synuclein mutations promote tau protein phosphorylation at Ser262 and destabilize microtubule cytoskeleton in vitro. *J Biol Chem* 286(7):5055–5068
- Rajput A, Dickson DW, Robinson CA, Ross OA, Dächsel JC, Lincoln SJ et al (2006) Parkinsonism, Lrrk2 G2019S, and tau neuropathology. *Neurology* 67:1506–1508
- Rajput AH, Voll A, Rajput ML, Robinson CA, Rajput A (2009) Course in Parkinson disease subtypes: a 39-year clinicopathologic study. *Neurology* 73:206–212
- Selikhova M, Williams DR, Kempster PA, Holton JL, Revesz T, Lees AJ (2009) A clinicopathological study of subtypes in Parkinson's disease. *Brain* 132:2947–2957
- Selkoe DJ (2004) Cell biology of protein misfolding: the examples of Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Nat Cell Biol* 6(11):1054–1061
- Siderowf A, Xie SX, Hurtig H, Weintraub D, Duda J, Chen-Plotkin A et al (2010) CSF amyloid {beta}1-42 predicts cognitive decline in Parkinson disease. *Neurology* 75(12):1055–1061
- Spreen O, Strauss E (1998) A compendium of neuropsychological tests, 2nd edn. Oxford University Press, New York
- Stejskal D, Vavroušková J, Mareš J, Urbánek K (2005) Application of new laboratory marker assays in neurological diagnosis—a pilot study. *Biomed Pap* 149:265–267
- Sunderland T, Linker G, Mirza N, Putnam KT, Friedman DL, Kimmel LH et al (2003) Decreased beta-amyloid1-42 and increased tau levels in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer disease. *JAMA* 289(16):2094–2103

- van Rooden SM, Heiser WJ, Kok JN, Verbaan D, van Hilten JJ, Marinus J (2010) The identification of Parkinson's disease subtypes using cluster analysis: a systematic review. *Mov Disord* 25(8):969–978
- van Rooden SM, Colas F, Martínez-Martín P, Visser M, Verbaan D, Marinus J et al (2011) Clinical subtypes of Parkinson's disease. *Mov Disord* 26(1):51–58
- Waxman EA, Giasson BI (2011) Induction of intracellular tau aggregation is promoted by α -synuclein seeds and provides novel insights into the hyperphosphorylation of tau. *J Neurosci* 31(21):7604–7618
- Williams DR, Lees AJ (2009) How do patients with parkinsonism present? A clinicopathological study. *Intern Med J* 39(1):7–12
- Yao C, Williams AJ, Ottens AK, May Lu XC, Chen R et al (2008) Detection of protein biomarkers using high-throughput immunoblotting following focal ischemic or penetrating ballistic-like brain injuries in rats. *Brain Inj* 22(10):723–732