

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Nela Růžičková

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Laboratorní diagnostika a monitoring léčby Parkinsonovy choroby  
Bakalářská práce

2024

Nela Růžičková

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Nela Růžičková**  
Osobní číslo: **C21399**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Laboratorní diagnostika a monitoring léčby Parkinsonovy choroby**  
Téma práce anglicky: **The Laboratory Diagnostic and Therapy Monitoring of Parkinson's Disease**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Na základě informací z literatury uspořádejte současné poznatky o laboratorních biomarkerech diagnostiky a monitorování průběhu Parkinsonovy choroby.
2. Dále uspořádejte současné poznatky o laboratorním monitorování léčby Parkinsonovy choroby.
3. Pozornost věnujte také možnostem jejich stanovení, včetně nároků kladených na preanalytickou fázi.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.**  
děkan

L.S.

**doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

Prohlašuji:

Práci s názvem Laboratorní diagnostika a monitoring léčby Parkinsonovy choroby jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mě požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 25. 10. 2024

Nela Růžičková

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych chtěla poděkovat Mgr. Pavle Žákové, Ph.D. za odborné vedení bakalářské práce.

Dále za její velkou pomoc při psaní této práce, užitečné rady, ochotu a trpělivost.

## **ANOTACE**

Tato práce se zaměřuje na druhé nejčastější neurodegenerativní onemocnění, Parkinsonovu chorobu, její monitoring a diagnostiku. V první části je popsáno samotné onemocnění a jeho historie, klinické příznaky a životní omezení. Druhá část je zaměřena na popis jednotlivých druhů biomarkerů a laboratorní monitoring. Poslední část se zabývá možnostmi léčby a léčebnými metodami.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Parkinsonova choroba, biomarkery, klinické příznaky, farmakologická léčba, nefarmakologická léčba, laboratorní sledování, laboratorní vyšetření

## **TITLE**

Laboratory diagnostics and monitoring of Parkinson's disease treatment

## **ANNOTATION**

This thesis focuses on the second most common neurodegenerative disease, which is Parkinson's disease, its monitoring and diagnosis. The first part describes the disease itself and its history, clinical symptoms and life limitations. The second part focuses on the description of different types of biomarkers and laboratory monitoring. The last part deals with treatment options and therapeutic methods.

## **KEYWORDS**

Parkinson's disease, biomarkers, clinical symptoms, pharmacological treatment, non-pharmacological treatment, laboratory monitoring, laboratory testing.

## **OBSAH**

ÚVOD.....	13
1. PARKINSONOVA CHOROBA.....	14
2. ETIOLOGIE A EPIDEMIOLOGIE.....	16
2.1 Pesticidy, herbicidy, těžké kovy.....	16
2.2 Epidemiologie.....	16
3. KLINICKÉ PŘÍZNAKY.....	17
3.1 Akineze.....	17
3.2 Rigidita.....	17
3.3 Tremor.....	18
3.4 Další příznaky.....	18
4. ŽIVOTNÍ OMEZENÍ.....	19
4.1 Motorické omezení.....	19
4.2 Omezení komunikace.....	19
4.3 Deprese a úzkosti.....	19
4.4 Ekonomické dopady.....	19
5. ÚVOD DO BIOMARKERŮ.....	20
6. GENETICKÉ BIOMARKERY.....	21
6.1 Geny způsobující autozomálně dominantní dědičnost.....	21
6.2 Geny způsobující autozomálně recesivní dědičnost.....	23
6.3 Genetické testování.....	24
7. BIOCHEMICKÉ BIOMARKERY.....	25
7.1 Neurotransmitery.....	25
7.1.1 Aminokyseliny.....	26
7.1.2 Aminy.....	27
7.1.3 Acetylcholin.....	28
7.1.4 Hladiny proteinů.....	29



7.2 Biomarkery progresu onemocnění .....	30
7.3 Zánětlivé markery .....	31
7.4 Metabolické markery.....	32
7.5 Hematologické testy .....	34
8. NEUROZOBRAZOVACÍ BIOMARKERY .....	35
8.1 Pozitronová emisní tomografie .....	35
8.2 Jedno fotonová emisní počítačová tomografie .....	35
8.3 Zobrazovací magnetická rezonance .....	36
9. LÉČBA .....	36
9.1 Farmakologická léčba.....	36
9.2 Nefarmakologická léčba .....	38
10. TERAPEUTICKÉ MONITOROVÁNÍ LÉČIV .....	39
10.2 Monitorování toxicity .....	39
ZÁVĚR.....	41

## SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 Poloha části mozku Substantia Nigra .....	15
Obrázek 2 Rozdělení biomarkerů do skupin.....	20
Obrázek 3 Alfa-synuklein.....	22
Obrázek 4 Rozdělení neurotransmiterů do skupin .....	26
Obrázek 5 PET sken .....	35

## **SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK**

AA – Anticholinergika

ACH – Acetylcholin

AS – Alfa-synuklein

ALS – Amyotrofická laterální skleróza

ALT – Alaninaminotransferáza

BBB – Krevní mozková bariéra

BS – Beta-synuklein

CNS – centrální nervová soustava

CRP – C-reaktivní protein

CT – Počítačová tomografie

DA – Dopamin

DBS – Hluboká mozková stimulace

GA – Kyselina glutamová

GABA – Kyselina gama-aminomáselná

GS – Gama-synuklein

HC – Homocystein

HPLC – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPLC-MS/MS – Kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrofotometrií

L-DOPA – Levodopa

MRI – Zobrazovací magnetická rezonance

MS – Roztroušená skleróza

NFL – Neurofilament

NM – Neuromelanin

NT – Neurotransmitter

NTF- $\alpha$  – Nekrotizující faktor alfa

PD – Parkinsonova choroba

PET – Pozitronová emisní tomografie

SN – *Substantia nigra*

SPECT – Jedno fotonová emisní počítačová tomografie

## ÚVOD

Tato bakalářská práce popisuje problematiku Parkinsonovy choroby, která byla poprvé popsána anglickým lékařem Jamesem Parkinsonem v roce 1817. Jedná se o neurodegenerativní onemocnění, které postihuje miliony lidí po celém světě. Mezi hlavní rysy choroby patří takzvaná Parkinsonova triáda popisující akinezi, rigiditu a tremor.

Diagnostika a léčba této nemoci je u každého pacienta velice individuální. Může se vyskytnout v různém věku a každému pacientovi způsobuje jinou míru postižení.

Práce je rozdělená do několika částí. V první z nich jsem se zaměřila na obecné popsání onemocnění, jeho etiologii, klinické příznaky a životní omezení. Další část popisuje biochemické, genetické a zobrazovací biomarkery, které se využívají k diagnostice choroby. Poslední část je věnovaná léčbě a terapeutickému monitorování léčiv.

## 1. PARKINSONOVA CHOROBA

Parkinsonova choroba (PD) je druhou nejčastější neurodegenerativní poruchou po Alzheimerově chorobě (AD). Onemocnění můžeme charakteristicky rozdělit na 3 hlavní typy.

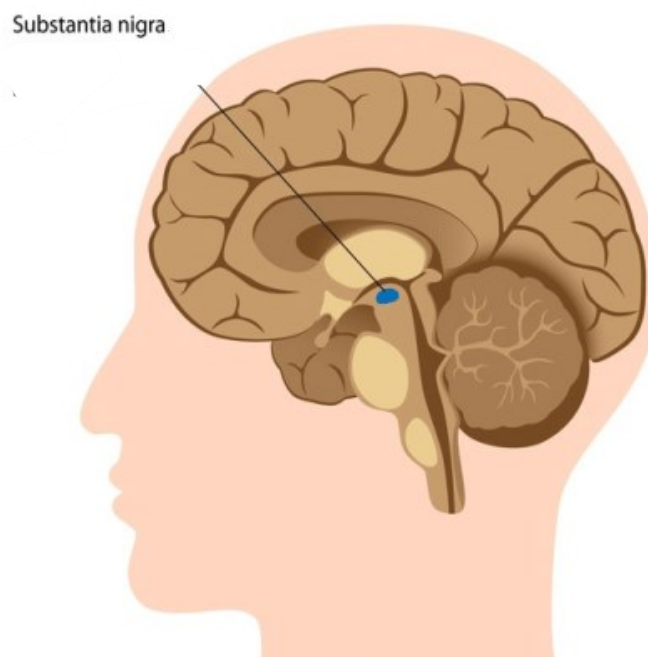
Idiopatická familiární Parkinsonova choroba je vzácná forma tohoto onemocnění, která se vyskytuje dědičně v rodině. Idiopatická značí, že nemoc vzniká bez známé příčiny a familiární, že existuje genetická spojitost mezi jedinci. Mezi geny způsobující tento typ onemocnění řadíme LRRK2, SNCA, PARK2, PINK1 a DJ-1. Tento typ nemoci se může u postiženého jedince vyskytnout v jakémkoli věku. (1)

Předčasně se objevující Parkinsonova choroba je vzácná forma PD. Jedná se o typ postihující 4–10 % případů všech pacientů. Vyskytuje se již v brzkém věku, postihuje populaci okolo dvacátého až čtyřicátého roku života. Příznaky jsou stejné jako u IDP, ale začínají se vyskytovat už v mládí. Některé případy PSP mohou být způsobené geneticky, ale ne vždy se již toto onemocnění vyskytovalo v rodině postiženého jedince. (1)

Idiopatická Parkinsonova choroba je nejběžnější typ PD, který bývá identifikován až v 86 % případů. Mezi hlavní příznaky tohoto typu patří rigidita, akineze a tremor. Dalšími příznaky, které se mohou vyskytovat, jsou deprese, únava, problémy s mluvením a porucha kognitivních funkcí. Nemoc postihuje 0,5 – 1 % populace, nejčastěji (v 90 % případů) ve věku od 65 do 69 let života, avšak asi u 10-ti % se vyskytuje už okolo čtyřicátého roku. V nižším věku výskyt není příliš častý. S rostoucím věkem roste i počet nově nemocných. Osoby starší 80 let postihuje PD asi u 1–3 % lidské populace. Díky delší kvalitě života a věku dožívání bude s rostoucím věkem růst i prevalence a incidence, a to o více než 30 % do roku 2030. Záleží také na etnické příslušnosti. Prevalence PD – je rozšířenější v Evropě a Americe oproti Asii a Africe. (1,2)

Poprvé byla tato nemoc popsána Jamesem Parkinsonem. Byl to anglický chirurg, paleontolog a politický aktivista. Známým se stal po vydání své eseje v roce 1817, ve které popisuje typické příznaky této nemoci. Tehdy tuto nemoc označil jako třeskavá obrna. Až o šedesát let později byla přejmenována na Parkinsonovu chorobu. Jedná se o nevléčitelnou chorobu, která se stále zkoumá a příčiny jejího vzniku nejsou doposud přesně známé. Počátky popisu parkinsonismu sahají až do historie starověké Číny. Jedná se o jedno z nejčastěji rozšířených neurodegenerativních onemocnění, které je spojováno s poškozením nebo odumíráním nervových buněk v bazálních gangliích. Jsou to zejména buňky produkující látku dopamin

takzvané dopaminergní neurony. Tyto neurony nacházíme ve středním mozku v *Substantia nigra* (SN). Jak dokládá obrázek 1. Nejprve dochází k poškození středního mozku, poté se porušení rozšíří do dalších struktur mozku. Zejména pak do *corpus striatum* neboli do oblasti šedé hmoty uvnitř hemisfér koncového mozku. Šedá hmota je část lidského mozku, která je tvořena hlavně těly nervových buněk. Její hlavní funkcí je přijímat nervové impulzy. Koncový mozek je největší částí mozku, která má na starost řízení důležitých funkcí v těle jako jsou pohyb, smyslové vnímání a myšlení. Onemocnění je také spojováno se zmenšeným počtem těchto nervových řídicích zakončení. V roce 1912 byla popsána Lewyho tělíska, pojmenována podle svého objevitele Frederica Henryho Leweyho. Tato tělíska se nachází v SN, která se řadí do bazálních ganglií. Hlavní složkou těchto tělísek je agregovaný protein alfa-synuklein (AS). Jedná se tedy o atypické nahromadění bílkoviny v nervových buňkách. Struktury Lewyho tělísek se vyskytují u PD a u pacientů postižených demencí s Lewyho tělisky. (1,2,3)



Obrázek 1 Poloha části mozku *Substantia Nigra* (4)

## **2. ETIOLOGIE A EPIDEMIOLOGIE**

Etiologie neboli příčina vzniku PD není doposud zcela jasná. Vědci předpokládají, že za vznik může kombinace genetických faktorů a faktory týkající se životního prostředí. Z genetického hlediska je celá řada genů, které podněcují vznik této nemoci. Existuje ale celá řada případů, kdy došlo k onemocnění i bez rodinné anamnézy. Mezi enviromentální faktory způsobující onemocnění řadíme pesticidy, herbicidy, těžké kovy, práce v zemědělství. Onemocnění může být také způsobeno předchozím poraněním hlavy. K méně podněcujícím faktorům pro vznik onemocnění řadíme nikotin v cigaretách, pití kávy a alkoholu. (5,6)

V poslední době se mezi možné příčiny řadí role zánětu. Zkoumání v této oblasti přineslo důležité poznatky především o zánětu ve střevech. Ten může ovlivnit změny lidské mikrobioty (všechny mikroorganismy uvnitř i na povrchu těla) a může podnítit nahromadění AS ve střevech a odtamtud ho následně pomocí bloudivého nervu dostat do mozku. Tato možná souvislost se vznikem parkinsonismu je stále v počátečním zkoumání, ale je možné, že se střevní zánět zařadí mezi diagnostické biomarkery pro PD. (7) Podrobněji dále kapitola 6.1. a obrázek 3.

### **2.1 Pesticidy, herbicidy, těžké kovy**

Pesticidy, herbicidy, těžké kovy patří mezi jednu z hlavních možných příčin vzniku PD. V dnešní době se tyto toxické látky vyskytují ve vysokých koncentracích všude kolem nás. Výrazně ovlivňují oxidační stres, který zvyšuje vznik volných radikálů poškozujících zdravou buňku, a dále také funkci mitochondrií tedy tvorbu energie pro organismus. Pesticidy a herbicidy se používají už po celá staletí. Bylo zjištěno, že mezi poškozenými PD bylo velké množství lidí, kteří pracovali na výrobě těchto přípravků nebo farmáři, kteří s nimi dennodenně přicházejí do styku. Další roli hraje také přeměna zemědělské a řemeslné výroby na strojní a průmyslovou výrobu. Rizikem je také výskyt těžkých kovů (olovo, měď, železo, mangan a rtuť) v ovzduší, vysoké koncentrace jsou pro tělo škodlivé a mohou poškozovat buněčné funkce. (8)

### **2.2 Epidemiologie**

PD je onemocnění postihující obě pohlaví, mezi mírou poškození jsou však značné rozdíly. Ženy jsou touto nemocí postihovány méně často než muži, jejich věk při startu Parkinsona je okolo až 60. roku. Ženy mají větší sklony ke dyskinezi, psychickým problémům a potížím s motorikou. Oproti tomu muži častěji trpí porušením kognitivních funkcí, které zahrnují paměť, myšlení, pozornost a učení. Muži přežívají s Parkinsonem delší dobu než ženy. (3)



### **3. KLINICKÉ PŘÍZNAKY**

Mezi tři hlavní příznaky tohoto onemocnění se řadí: akineze, rigidita a třes. Bývají také často označovány jako Parkinsonova triáda. Příznaky a progresse se u každého jedince může vyskytovat v jiné míře. Počáteční fáze těchto příznaků je nenápadná a vyskytuje se s postupem rozvoje nemoci. Nejčastější průběh je, že na počátku příznaky postihnou jen jednu stranu těla, někdy dokonce jen jednu končetinu. S postupem času se však tyto příznaky rozšíří i do druhé strany těla a dochází k postižení celého těla.

#### **3.1 Akineze**

Akineze je jeden z hlavních příznaků Parkinsonovy choroby. Souvisí s pohybem, při kterém nastávají potíže, nebo může dojít k selhání vůle způsobující pohyb. U člověka může dojít k opožděné reakci nebo k úplnému vymizení pohybu. Jedná se o běžné spontánní pohyby. Můžeme ji dělit na hypokinezi a bradykinezi. (9)

##### **3.1.1 Hypokineze**

Jedná se o primární poruchu PD, může být spojována také s depresí. Nejčastěji je spojována s pomalým (bradykineze) nebo žádným (akineze) pohybem. Pohyby jsou spojené s malou amplitudou. Dochází zde k poruchám bazálních ganglií a PD i ke snižování dopaminergních buněk ve středním mozku. U hypokineze dochází často ke svalové kontrakci a dochází k potížím s vypnutím svalů, které jsou nepotřebné k výkonu pohybu a zapnutím svalů, které jsou nezbytné k výkonu pohybu. U pacientů trpících hypokinezí pozorujeme předklon, pomalou a nestabilní chůzi, dále také třes horních končetin, který způsobuje nečitelné rozklepané písmo. (9)

##### **3.1.2 Bradykineze**

Řadí se k nejčastějšímu invalidnímu faktoru u PD. Narušuje celou řadu každodenních potřeb, mezi něž řadíme chůzi, řeč a psaní. Postihuje končetiny, oblasti obličeje a také hlas. Bradykineze popisuje pouze zpomalení pohybu. V tomto případě se nejedná již o automatické pohyby, které běžně vykonáváme, ale pohyby u pacienta musí být koordinovány jednotlivými kroky a zvukovými signály. V klinické praxi bývá často zaměňována s hypokinezí a akinezí. (9)

#### **3.2 Rigidita**

Rigidita také označována jako svalová ztuhlost se vyskytuje až u 89 % případů tohoto onemocnění. Její hodnota se nejčastěji měří klinickými stupnicemi Unified Parkinson's Disease

Rating Scale (UPDRS), které slouží k popisu stavu pacienta s PD. Hodnotí jak rigiditu, bradykinezi i nestabilitu týkající se držení těla. (9)

### **3.3 Tremor**

Tremor neboli třes se řadí mezi další hlavní příznaky PD. Jedná se o jeden z nejběžnějších motorických projevů. Vyskytuje se až u 75 % pacientů postihujících PD. Známe různé formy třesů, ale mezi nejvíce postihující patří třes ve stavu klidu. Pacienty postihuje na začátku onemocnění. Nejvíce postihuje horní polovinu lidského těla, zejména ruce. Avšak může nastat i v jiných částech těla, včetně brady, jazyka, čelisti a dolních končetin. Patologická fyziologie tremoru se zcela liší od patofyziologie u ostatních příznaků – rigidita, akineze. Postupuje vlastní rychlostí a není nějak propojen se závažností akineze. (10)

### **3.4 Další příznaky**

K dalším vyskytujícím se příznakům PD řadíme deprese či časté změny nálad, psychózy vyvolané léky. Vyskytovat se může i dyskineze. U pacientů také nastávají problémy s mluvením a polykáním.

#### **3.4.1 Dyskineze**

Dyskineze další z příznaků PD, který bývá nejčastěji způsobován léčivem L-DOPA. Jedná se o tak zvané mimovolní pohyby, pro které jsou charakteristické nekontrolovatelné a nenormální pohyby. Může se jednat o obvyklé tiky nebo až o pohyby postihující celé tělo. Dyskineze poskytuje polovinu pacientů s PD. Její výskyt vzniká při poranění mozku nebo při užívání medikamentů více než 5-10 let. Existuje celá řada faktorů, které jsou spojené s dyskinezí. Prvním faktorem je věk, dyskineze se častěji rozvíjí u mladších lidí. Je to způsobeno tím, že u starších lidí je poměrně dost snížená odpověď na L-DOPA, a tudíž je snížené i riziko postižení. Dále záleží na pohlaví, u žen je výskyt dyskineze vyšší než u mužské populace. Způsobuje to dopaminový receptor DRD2, kterého ženy mají tolik, a nejsou tak dostatečně geneticky ochráněny. Mezi další faktory ovlivňující dyskinezi patří věk, dávka L-DOPA, závažnost onemocnění. (11,12)

#### **3.4.2 Psychóza vyvolaná léky**

Psychické symptomy postihují asi 20-30 % pacientů trpících PD, kteří léky užívají pravidelně a delší dobu. Jsou způsobovány léky zlepšující stav pacientů. Nejčastějším spouštěčem psychózy jsou L-DOPA, agonisté dopaminu a ropinirol. Psychóza u PD se může projevovat u každého jinými příznaky. Vyskytují se zrakové nebo sluchové halucinace, bludy. Nejlepším způsobem, jak zamezit vzniku psychózy je správná úprava a dávkování léku. Na léčbu

psychických poruch se používá Klozapin, Olanzapin a Kvetiapin. Nejvíce je rozšířen Klozapin, který byl objeven roku 1985. Od té doby se tato léčiva využívají na potlačení psychózy a při jeho užívání nedochází ke zhoršení jiných příznaků. (13)

## **4. ŽIVOTNÍ OMEZENÍ**

Parkinsonova choroba velmi významně ovlivňuje život pacientů, a to v několika směrech. Záleží na míře onemocnění a také na jednotlivých příznacích pacienta.

### **4.1 Motorické omezení**

Motoriku u PD nám výrazně ovlivňuje akineze, rigidita a tremor. Jedná se o poruchy chůze, pohybu a funkčnosti svalstva. Tato omezení ve velké míře působí na každodenní potřeby a návyky člověka, mezi které patří hygiena, oblékání a jídlo. Motorika úzce souvisí s pohybem. Chůze pacientů je velice pomalá s malými kroky. Může být i nestabilní, často dochází k pádům. Pacienti mohou mít problém s orientací a navigací v prostředí. (14)

### **4.2 Omezení komunikace**

Poruchou řeči trpí u PD asi 90 % lidí. Potíže nastávají u artikulace, fonace – vytvářením zvuku v hrtanu, prozódie – intonace a frázování a v neposlední řadě se jedná o plynulost řeči. Kde nastává problém s tvořením slov a vět. To vede k problémům s komunikací. Pro zlepšení komunikace se využívají různá logopedická cvičení. (14)

### **4.3 Deprese a úzkosti**

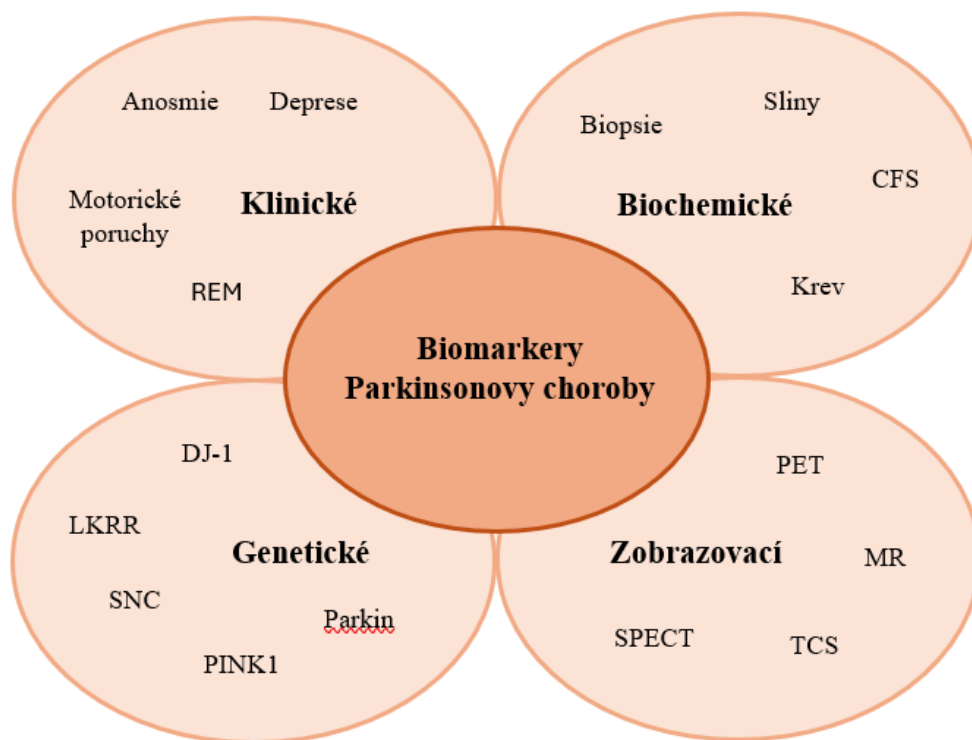
Řadí se mezi doprovodné neuropsychiatrické příznaky PD. Tyto dva příznaky zhoršují kvalitu života a zdraví pacienta, často bývá snižována délka života. Příčinou vzniku může být nedostatek sociální opory, stres a záleží také na typu povahy. Projevují se halucinacemi a bludy, dochází ke změnám nálad, obvykle dochází k oddělení od společnosti a od rodiny, nezapojování se do aktivit a nespavosti. (15,16)

### **4.4 Ekonomické dopady**

U lidí trpících PD velice často dochází ke zhoršení ekonomické stability pacientů nebo jejich rodin. Léčba onemocnění je s pokročilou délkou nemoci náročnější. Pacienti potřebují speciální každodenní dozor, speciální pomůcky nebo polohovací lůžka. Nemalou částku stojí také rehabilitace, terapie a léky. (17,18)

## 5. ÚVOD DO BIOMARKERŮ

Biomarker můžeme také popsat jako hodnotu, která je měřená a hodnocená jako ukazatel biologických a patogenních procesů, dále také u farmakologických reakcí. Z dalšího hlediska ho můžeme charakterizovat jako látku, strukturu nebo proces, kterou je možné změřit v těle a ovlivnit nebo předpokládat výskyt onemocnění. Množství biomarkerů, které lze u Parkinsonovy choroby zkoumat, se vyskytuje celá řada, největší pozornost se ale upíná na diagnostické biomarkery. Také dokáže usnadnit studie týkající se neurodegenerace. Diagnostiku biomarkerů provází řada fází. Fáze objevování, validace, kvalifikace a klinické užitečnosti. Ideální biomarker by měl být snadno stanoven v klinických materiálech, jako je mozkomíšní mok nebo krev. Testování by se mělo provádět ve většině klinických zařízení, proto by mělo být levné, spolehlivé a rychlé. (19,20)



Obrázek 2 Rozdělení biomarkerů Parkinsonovy choroby do možných 4 podskupin (21)

## 6. GENETICKÉ BIOMARKERY

Genetické biomarkery se stávají velice důležitým ukazatelem pro pochopení diagnostiky, léčby či vývoje léčby PD. Jedná se o biomarkery, které vznikají genetickou mutací určitého genu. Může se jednat o znásobení počtu jednotlivého genu – duplikace, triplikace nebo může nastat stav nazývaný jako missense genu, kdy dochází k zařazení špatné aminokyseliny do genu. Za postižením jedince Parkinsonovou chorobou může stát dvojí způsob vzniku, a to autozomálně dominantní (AD) a autozomálně recesivní (AR) typ dědičnosti onemocnění. AD typ Parkinsonovy nemoci způsobují geny AS, UCHL1 a LRRK2. K propuknutí tohoto typu onemocnění stačí mutace pouze jedné ze dvou alel. Na rozdíl od AR typu PD, kde musí dojít k mutaci obou alel. Tento typ způsobují geny PARK2, PINK1, DJ-1 a ATP13A2. (22,23)

### 6.1 Geny způsobující autozomálně dominantní dědičnost

#### Alfa-Synuklein a jeho gen SNCA

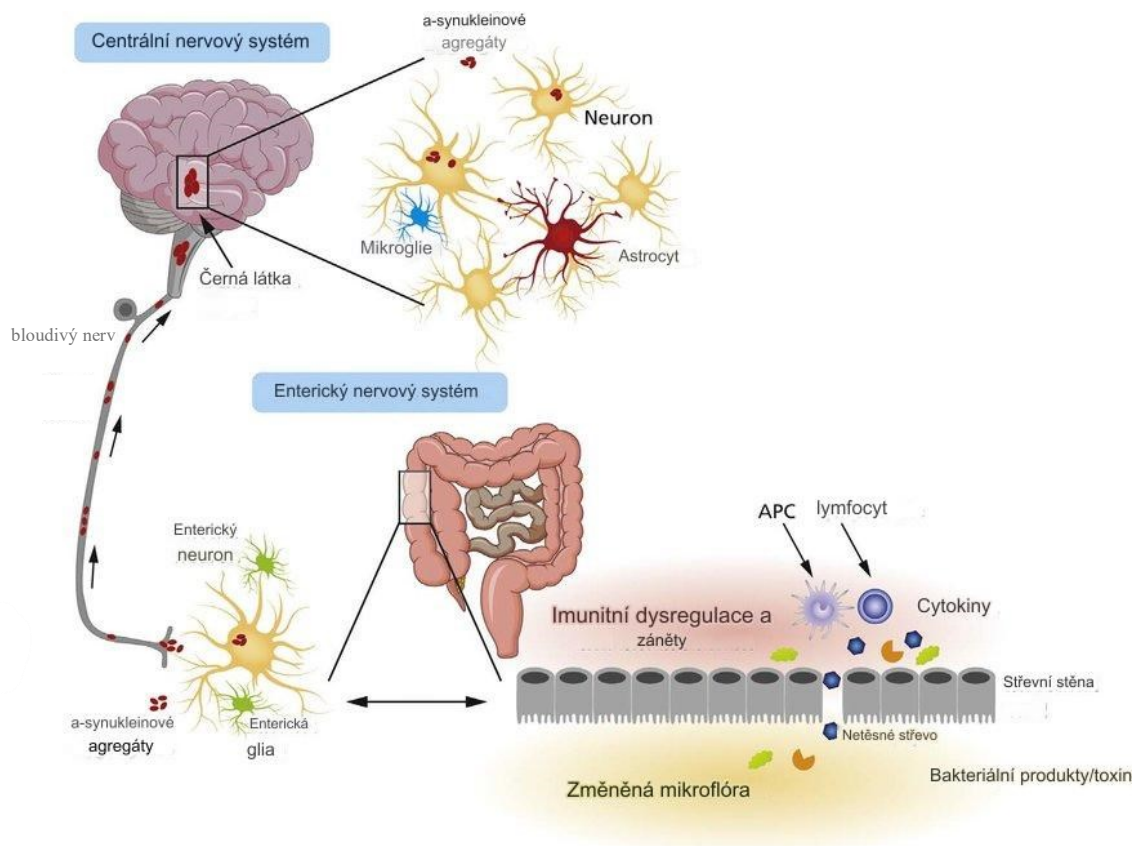
Alfa-Synuklein (AS) je presynaptický neuronální protein o malé velikosti, který je kódován genem SNCA. Je složen ze 140 aminokyselin. Jeho struktura ve vodných roztocích není zcela jasná, bývá tedy označován jako přirozeně rozložený protein. Lidský AS je přítomen především v nervových buňkách v oblastech mozku, nejčastěji pak v neokortexu, hipokampu, thalamu a mozečku. Tyto oblasti se podílejí na myšlení, pohybu a paměti. V těchto mozkových nervových buňkách vznikají bílkovinné sraženiny, které jsou nazývány jako Lewyho tělíska. (24)

Agregovaný AS je hlavní složkou těchto tělísek. Tento agregovaný AS se do mozku může šířit bloudivým nervem ze střeva, kde byla narušená mikrobiologická rovnováha. S Parkinsonovou chorobou je AS spojován geneticky a neuropatologicky. Post-translační úpravy proteinů jako je fosforylace se mohou podílet na procesu poskládání do patologické podoby. Takto nefyziologicky sbalený protein se hromadí v podobě agregátu. (7)

Je schopný poškozovat i okolní buňky, což zvyšuje míru šíření onemocnění. AS bývá zkoumán jako diagnostický biomarker Parkinsonova onemocnění. Během testování se snažíme naměřit hodnotu AS v biofluidech – v biologických tekutinách. Mezi ně řadíme sliny, mozkomíšní mok, krev, ze které můžeme použít i její části například plazmu, červené krvinky a sérum. Častěji se detekuje z krve, protože její získání je snadnější než získání mozkomíšního moku. AS je součástí i dalších neurodegenerativních onemocnění mezi které patří demence s Lewyho tělisky. (24)

Existují i další varianty tohoto proteinu a to Beta-Synuklein a Gama-Synuklein. V poslední době došlo k výraznému posunu při identifikaci a ověřování druhů AS. Za nově považované

biomarkery PD se hodnotí oligomerní AS a fosforylovaný AS. Zkoumání přineslo poznatky, že je lepší použít kombinaci některých druhů AS pro větší specifitu a senzitivitu než jeden druh, který nejde považovat za výstižný biomarker PD. V posledních letech vzrostly důkazy, že za šířením AS mezi buňkami stojí extracelulární vezikuly (EV) což jsou malé membránové struktury přenášející biomolekuly. (7)



Obrázek 3 Osa mikroboita-střeva-mozek. Ukazuje, jak se šíří agregovaný synuklein alfa ze střev až do mozku (25)

### Beta-Synuklein a jeho gen SNCB

Beta-Synuklein (BS) není tak důkladně prozkoumáný jako AS. Jedná se o další protein ze skupiny synonukleínů. Je kódován genem SNCB, který se nachází na 5. chromozomu. Je to řetězec spojený ze 138 aminokyselin, největší zastoupení mají AmK alaninu a kyseliny glutamové. BS má velice podobné funkční a strukturální uspořádání jako AS. Stejně tak jako AS se BS vyskytuje v podobné míře v mozku v presynaptických nervových zakončeních. BS je schopný zastavovat nebo zpomalovat agregaci AS in vitro. Některé studie tvrdí, že BS může

snižovat škodlivé účinky AS a zabraňovat tak vzniku chorobných struktur jako jsou Lewyho tělíska, která jsou spojena s PD. (26,27)

### **Gama-Synuklein a jeho gen SNCG**

Gama-synuklein (GS) je protein obsahující 127 Aamk, které interagují s fosfolipidy membrán. Na rozdíl od AS a BS se GS vyskytuje v nervovém periferním systému a sítnici. Dříve byl jeho gen označován jako Breast cancer-specific gene 1 (BCSG1). Dnes se používá pro tento gen označení SNCG. GS se rovněž projevuje při karcinomu prsu a slouží jako indikátor rozvoje tohoto onemocnění. Výzkum, který byl proveden na zvířatech prokázal, že při nedostatku GS v centrální nervové soustavě (CNS) může dojít ke snížení znalostí využívat paměť k řešení problémů a úkolů. (28)

### **Protein LRRK2 a jeho gen**

Jedná se o neobyčejně dlouhý protein (více než 2527 aminokyselin) patřící do rodiny repetitivních kináz bohatých na leucin, z tohoto pochází jeho zkratka LRRK2 (Leucine Rich Repeat Kinase 2), jinak také dardarin. Tento gen nacházející se na dvanáctém chromozomu. Jedná se o jeden z nejčastějších genetických faktorů způsobující familiární formu PD a je také hojně spojen s vyšším rizikem pro vznik spontánních případů parkinsonismu. (23,29,30)

### **Protein UCHL1 a jeho gen**

Tento gen se podílí na vzniku enzymu nazývaného ubikvitin karboxy-terminální hydroláza L1. Nachází se na čtvrtém chromozomu. Vyskytuje se v nervových buňkách po celém mozku. UCHL1 se podílí na ději, který zprostředkovává degradaci neúčinných bílkovin. Poničené a přebytečné proteiny jsou označeny molekulou ubikvitinu. Následně jsou přesunuty do speciálních struktur nazývaných jako proteazomy, ubikvitin zde slouží jako signál a dojde k degradaci proteinů. Komplex ubikvitin-proteazom slouží ke kontrolování kvality, jeho úkolem je likvidovat škodlivé a poškozené bílkoviny. Ubikvitin-proteazomový systém (UPS) je klíčovou dráhou pro metabolismus intracelulárních bílkovin, zajišťuje vhodné provedení procesů v buňce, jako je apoptóza, růst, oprava DNA a transkripce. Tento gen zapříčiňuje vznik nejen neurodegenerativních onemocnění, ale je úzce spjat i s poškozením mozku a rakovinou. (23,31,32)

## **6.2 Geny způsobující autozomálně recesivní dědičnost**

### **Protein PARKIN a jeho gen**

Roku 1998 byla v oblasti lokusu PARK2 nalezená mutace genu kódujícího protein parkin, jedná se o protein o délce 465 aminokyselin, který svým působením dává za vznik autozomálně recesivní verzi PD. Je součástí buněčného procesu, kde degraduje zbytečné proteiny, které určí jako nezdravé a nadbytečné tím, že na ně naváže molekulu ubikvitinu. Má aktivitu E3 ubikvitin ligázy. Je důležitý pro stabilitu mitochondrií, tedy pro centra energie v buňce. Má vliv na zahájení procesu, ve kterém dochází ke zničení nesprávně pracujících mitochondrií. PARKIN řídí kontrolu kvality mitochondrií společně s genem PINK 1. (23,33,34,35)

### **Protein a jeho PINK 1**

Tento gen se podílí na vzniku proteinu PTEN-indukovaná domnělá kináza 1. Tento protein nacházíme v buňkách po celém těle, nejvíce je pak zastoupený v srdci, svalech a varlatech. Jeho úkolem je poskytovat energii pro buněčnou aktivitu jejíž hlavním zdrojem jsou mitochondrie. Spolu s PARKINEM řídí kontrolu kvality mitochondrií a je důležitý pro jejich stabilitu v buňkách. (23,36)

### **Protein DJ-1 a jeho gen**

Je poměrně malý protein o 189 aminokyselinách. U lidské populace je kódován genem vyskytující se na prvním chromozomu. V lidském těle ho najdeme v několika orgánech a tkáních včetně mozku. Vyskytuje se nejen v neuronech ale i v gliových buňkách. Mezi jednu z jeho funkcí patří ochrana mozkových buněk před oxidačním stresem. Ten nastává při hromadění volných radikálů až do takové míry, kdy jsou schopné poškodit nebo dokonce zabít buňky. Tento protein někdy také označující se jako molekula chaperonu může asistovat při správném složení nově vznikajících bílkovin, kterým dává vhodný 3D rozměr. Je nápomocný i při opravě poničených proteinů. (37,38,39)

### **Protein ATP13A2 a jeho gen**

ATP13A2 (ATPase cation transporting 13A2) je transmembránová lysozomální ATPáza. Mutace spojené s jejím genem byly objeveny v roce 2006 u chilského rodokmenu. U autozomálně recesivní formy PD se tato mutace označuje jako Kufor-Rakebův syndrom. Při němž dochází k poruchám s pamětí, obrnám a také k degeneraci. Tento gen není spojen pouze s rozvojem parkinsonismu, ale i s dalšími neurodegenerativními nemocemi. Příkladem jsou neuronální ceroidní lipofuscinázy (NCL) postihují především lidskou populaci, psy, ale i další



zvířata. U NCL dochází k postižení zraku, demenci, epileptickým záchvatům a k motorickým obtížím. Je schopen regulovat autofagii díky tomu, že se jedná o protein blízky lysozomům. (23,40,41)

### **6.3 Genetické testování**

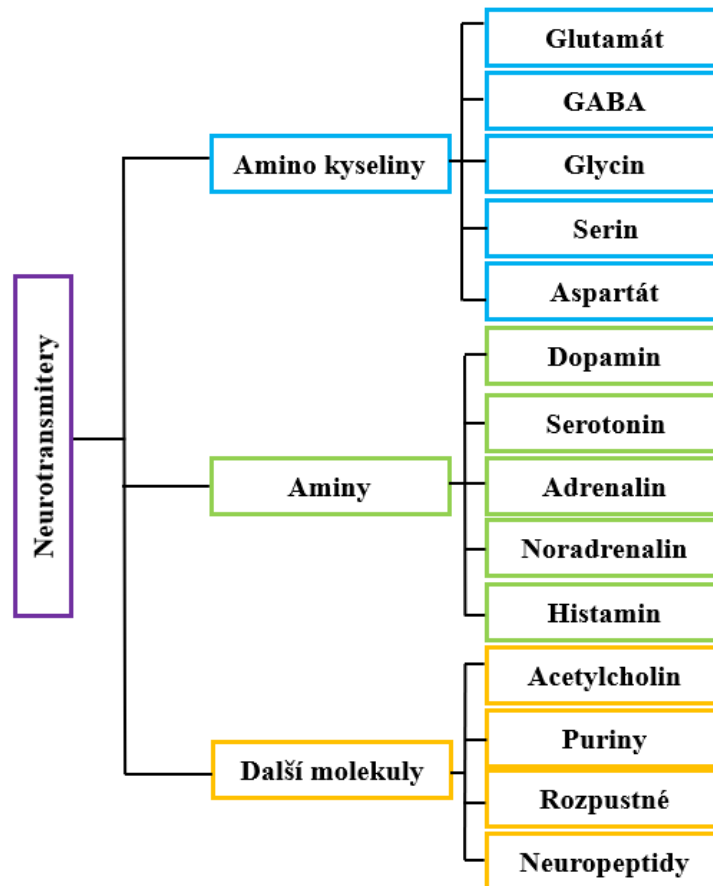
SNCA a LRRK2 jsou hlavní genetické faktory rozvíjející PD. Jejich mutace napadají geny, které mají na starosti správné fungování nervového systému. Geny hrají hlavní roli v progresi a výskytu PD. Jestliže se bavíme o mutaci genu SNCA, mluvíme o vzácné mutaci pro vznik PD. Jedná se o mutaci, která postihuje asi 1 % lidí, ale vyskytuje se již v dřívějším věku, a to okolo 50. roku života. Tato forma je agresivnější, dochází k rychlému zhoršení stavu pacienta. Tento gen nezpůsobuje pouze PD, ale také demenci s Lewyho tělísky (DLB) a mnohočetnou systémovou atrofii (MSA). Při mutacích spojených s genem LRRK2 se jedná o jednu z nejběžnějších mutací, která se může vyskytnout u PD. Tato mutace byla poprvé zachycena v roce 2004. Jedná se také o AR typ onemocnění, které postihuje pacienty staršího věku. Tento gen je jako jeden z mála známý tím, že zapříčiňuje vznik familiárního typu PD, ale vyskytuje se i u sporadických typů onemocnění. (42)

## **7. BIOCHEMICKÉ BIOMARKERY**

Tyto biomarkery jsou biochemické povahy, mezi které řadíme proteiny, hormony, enzymy. Využívají se pro diagnostiku a monitoring léčby. (43)

### **7.1 Neurotransmitery**

Neurotransmitery (NT) jsou podstatné chemické molekuly velice důležité pro nervový systém. Jsou nesmírně důležité pro přenášení informací mezi jednotlivými neurony. Nejsou spojovány pouze s Parkinsonovou chorobou, ale i s AD, schizofrenií, demencí a dalšími nemocemi. Objev NT je spojován s německým farmakologem Ottem Loewim, který na počátku dvacátých let 20. století objevil první NT nesoucí jméno acetylcholin. Rozdělení neurotransmiterů je poměrně obsáhlé (Obrázek 4), (44,45,46)



Obrázek 4 Rozdělení neurotransmiterů do skupin (45)

### 7.1.1 Aminokyseliny

#### Kyselina glutamová

Kyselina glutamová (GA) je jeden z hlavních NT v mozku. Bývá považován za nejrychlejšího přenašeče informací mezi neurony a jeho hlavní funkcí je aktivace nervových buněk k zahájení vysílání signálů. Jedná se o sloučeninu, která dává za vznik nové sloučenině pojmenované jako kyselina gama-aminomáselná (GABA). Při nadměrné produkci GA dochází k poškození neuronů, což vede k excitotoxicitě neboli ke vzniku onemocnění jako je amyotrofická laterální skleróza (ALS), PN a roztroušená skleróza (MS). (47)

#### Kyselina gama-aminomáselná

Dlouho před jejím objevem u savců bylo známo, že se vyskytuje v bakteriích, rostlinách a jiných mikroorganismech. U savců byla poprvé objevena roku 1950, ale za NT byla považována až v 60. letech dvacátého století. Kyselina gama-aminomáselná (GABA) je aminokyselina řadící se mezi hlavní přenašeče signálu ve středním mozku. Neurotransmitery GABA jsou označovány jako inhibitory. Její funkce jsou rozšířené v centrální nervové soustavě, periferní

nervové soustavě, ale i v některých tkáních. GABA hraje roli v excitabilitě membrán při otevírání draselných a inhibiči vápníkových kanálů. (48,49)

### **Kyselina asparagová**

Kyselina asparagová se v lidském těle vyskytuje ve formě zásady nazývané aspartát, která se řadí mezi inhibiční NT. Účastní se na řadě syntéz, a to na proteinech, oxidu dusnatého a argininu. Její důležitá funkce je účast na recyklaci NADH a  $H^+$  mezi cytoplazmou a maticí mitochondrií. Mezi cytolem a mitochondriemi vyrovnává hladinu dusíku. (50,51)

### **Glycin**

Glycin se řadí mezi jednoduché aminokyseliny patřící mezi další důležité inhibiční neurotransmitery působící v centrální nervové soustavě. Hrají podstatnou roli ve správném fungování senzorických a motorických projevů jako jsou pohyb, zrak a sluch. Mezi NT byl uveden roku 1965, kdy ho mezi NT navrhli Aprison a Werman. Ti také vyhodnotili, že nejvyšší zastoupení má glycin v míše. (52,53)

## **7.1.2 Aminy**

### **Dopamin**

Dopamin (DA), také označován jako hormon štěstí, je molekula skládající se z benzenového jádra, dvou hydroxy skupin a jedné amino skupiny. Jedná se o hormon mozku vyskytující se v části SN, který působí jako NT. U savců má největší a velice důležité zastoupení jako NT. Mezi jeho hlavní funkce patří zprostředkování signálu, přenos impulsů, regulace motorických funkcí a emocí. Jeho koncentrace se v lidském těle zvyšuje užitím drog anebo pocitem štěstí. Poškození dopaminových drah je úzce spojeno právě s PD a další poruchy tohoto systému má souvislost se vznikem schizofrenie, bipolární poruchy a ADHD. DA je hojně zastoupen u měkkýšů, zejména pak v nervové soustavě plžů. Za zmínku stojí i objev DA, ten byl objeven roku 1957 švédským farmakologem Arvidem Carlssonem, který za jeho výzkum získal roku 2000 Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství. DA má celou řadu receptorů, mezi hlavní patří D1, D2, D3, D4 a D5, které jsou spojeny s G-proteinem. Tyto proteiny hrají velice důležitou roli v přenosu signálu skrz buněčné membrány, kde jsou schopny dále přenášet signály do vnitřní části buňky a spouštět impulsivní kaskády a jsou schopny ovlivnit celou řadu buněčných procesů. (54,55)

## **Serotonin**

Serotonin označován také jako 5-hydroxytryptamin (5-HT) patří do skupiny mono aminových NT, který vzniká v nervovém systému v serotoninergních neuronech a buňkách trávicí soustavy, kde se vyskytuje ve větším množství. Jeho význam je také spojený s krví, kde se podílí na hemokoagulaci a zúžení cév, odtud je také odvozený jeho název. V lidském těle je produkován z tryptofanu, což je vrozeně vyskytující se esenciální aminokyselina. Podobně jako jiné NT ovlivňuje paměť, spánek, emoce a náladu díky tomu přezdíván jako NT dobrého pocitu. Přispívá také k regulaci chuti k jídlu a trávení, kontroluje příjem potravy a pocit sytosti. U 5-HT existuje celkem 14 různých receptorů. Z toho je 13 spojeno s G-proteinem. V lidském těle jsou s výjimkou jednoho receptoru prezentovány všechny serotoninové receptory. (56,57)

## **Histamin**

Histamin byl poprvé izolován roku 1910 britským vědcem Henry Dalem, kterému se podařil objevit při výzkumu námelových alkaloidů. Ovšem až roku 1927 byl histamin izolován z lidských tkání, a to z jater a plic. Histamin je definován jako hormon a NT spánku produkováný několika buňkami zejména leukocyty, například žírnými, bazofilními a také pak buňkami nervovými. Největší zastoupení neuronů vylučujících histamin je v hypotalamu, odkud se dostává do zbylých částí mozku. Má 4 hlavní receptory H1, H2, H3 a H4, které jsou schopné vyvolat určité biologické reakce, a jsou napojeny na G-protein. Histamin je důležitý především pro svou úlohu při alergických reakcích a imunitní reakci. Jako NT hraje roli při řízení ostražitosti, pozornosti, vnímání, učení a paměti. Jeho dalším úkolem je sekrece kyseliny chlorovodíkové ve sliznici žaludku. Histamin napomáhá rozkládat potravu a ničit přítomné patogeny ve stravě. Histamin a histaminové receptory zejména H3 mohou mít terapeutický potenciál na PD, tedy změnit přístupy léčby, vylepšit výsledky léčby a ovlivnit příznaky a progresi této nemoci. Avšak význam histaminu v souvislosti pro PD je stále ve výzkumu a doposud nebyla určena jeho hlavní role. (58,59,60)

### **7.1.3 Acetylcholin**

Acetylcholin (Ach) je ester kyseliny octové vázaný na cholin fungující jako mezibuněčný NT u živočichů a lidské populace. Je důležitý pro přenos nervového impulsu v periferním a centrálním nervovém systému. Podílí se na vlivu paměti, bdělosti a učení. Funkcí Ach je stimulace svalstva především svalů trávicího traktu. Ach působí jako NT v autonomním nervovém systému, kde se podílí na regulaci tělesných funkcí jako je srdeční frekvence a trávení.

Ach hraje velice důležitou roli při spánku spojenou s REM fází spánku, kdy dochází díky zvýšené koncentraci Ach ke tvoření snů. (61,62,63)

### **Acetylcholinová dopaminová rovnováha**

U lidí trpící PN díky nedostatku dopaminu dochází k nahromadění acetylcholinových NT, což má za následek vznik typických poruch hybnosti jako je třes a zpomalené pohyby. Proto je důležité tuto rovnováhu držet vyrovnanou. Rovnováha mezi těmito dvěma NT je důležitá pro správnou neurologickou funkci a nesmírně důležitá pro správné fungování mozku. Fyziologická rovnováha mezi DA a Ach se podílí na pohybu, regulaci nálady a poznávání. Při porušení této rovnováhy dochází k poruchám pohybu, paměti, učení, ke ztrátám pozornosti a koncentrace. Dopamin i acetylcholin jsou důležité NT vyskytující se v CNS, zároveň se doplňují, ale v některých případech mají často opačné účinky. Může se jednat o funkci bazálních ganglií, kognitivní funkci, regulaci nálady a také závislost. (64,65,66,67)

#### **7.1.4 Hladiny proteinů**

Změny v hladinách proteinů jsou jedny z klíčových aspektů patofyziologie PD. Patří sem SNCA, tau protein a beta-amyloid.

#### **Tau protein**

Protein úzce spojován s neurodegenerativními onemocněními a jedná se o protein spojovaný s mikrotubuly. Je tvořen jediným genem MAPT na 17. chromozomu. V lidském mozku se vyskytuje 6 forem tohoto proteinu. U PD může docházet k nesprávnému nahromadění tohoto proteinu, což má za následek vznik tau spletenin, které mohou poškozovat zdravé neurony a přispívat tak k příznakům PD. Koncentrace Tau proteinu u lidí postihující PD je vyšší než u zdravých jedinců. Více je tento protein spojován s AD. (68,69,70)

#### **Amyloid beta protein**

Jedná se taktéž o protein týkající se spíše AD, ale čím dál tím více se zkoumá v souvislosti právě s PD. Amyloid beta protein, definován jako bílkovinný fragment nejčastěji uložený v mozku nebo v kosterním svalstvu. Zatím není zcela jasné, jak tento protein souvisí s PD. Podle posledních studií se může jednat o protein snižující kognitivní funkce a rozvoj demence. (71,72)

## **7.2 Biomarkery progresu onemocnění**

### **Hladiny dopaminu**

Abychom posoudili závažnost onemocnění, měříme hladinu dopaminu (DA) v mozkomíšním moku nebo v krvi. DA je jeden z hlavních NT v lidském mozku. Změny v jeho hladinách nejsou spojené jen s PD, ale také se schizofrenií. Pro odběr cerebrospinální tekutiny se využívá metoda lumbální punkce, kdy se odebere dané množství likvoru. Pro zjištění hladiny DA se používá kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií HPLC – MS. Při nedostatku DA dochází k únavě, demotivaci, poruchám spánku a paměti. Nízké hladiny jsou spojeny s již zmíněnou PD, schizofrenií a ADHD. Vysoké hodnoty souvisí poté s obezitou či závislostí. (73)

### **Lehký řetězec neurofilament**

Lehký řetězec krevních neurofilament (NFL) je citlivý a velice dostupný biomarker pro poškození dlouhých axonových vláken, které přenášejí nervové signály. Studie ukázaly, že koncentrace NFL v séru a CSF souvisí s poklesem pohybových projevů a také s reakcemi, myšlením a vnímáním člověka. Je objasněno, že s pokročilejšími stádii PD je hladina těchto řetězců vyšší než hladina NFL u počátečních fází onemocnění. Tyto NFL se využívají k rozlišení dvou typů PD, a to idiopatické PD a atypických parkinsonských syndromů (APS). Jsou charakteristické pro další neurodegenerativní onemocnění, jako je MS, ALS, AD a Huntingtonova choroba (HD). Jejich mezní hodnota v krvi není doposud stanovena v přesném definičním rozmezí, protože hladiny NFL v séru se každoročně zvyšují. Ke stanovení se využívá metoda ELISA a HPLC – MS. (74)

### **Inhibitory COMT a inhibitory MAO-B**

Oba typy těchto inhibitorů hrají důležitou roli při účinku L-DOPA. Výrazně prodlužují její účinek a snižují její degradaci. Zjištění hladin těchto inhibitorů se provádí z krve a specifickými metodami se zjistí jejich hladina v krvi. Koncentrace těchto látek je velice důležitá pro lékaře, kteří díky tomu mohou správně dávkovat léky a zabránit tak nepříznivým účinkům. Hladiny těchto látek by měly být pravidelně lékařsky kontrolovány. Inhibitory MAO-B se stanovují pomocí spektrofotometrie, fluorometrie nebo luminiscence. Pro COMT inhibitory se pak užívají fluorescenční testy, které však často vykazují falešně pozitivní/negativní výsledky. Můžeme také využít HPLC a hmotnostní spektrofotometrii. (75,76)

## 7.3 Zánětlivé markery

### C – reaktivní protein

CRP je protein akutní fáze, podle kterého posuzujeme přítomnost zánětu v lidském těle. Dnes je běžnou součástí rutinního vyšetření krevního obrazu. Odběr se provádí z žilní krve, pro urychlení se v současnosti odebírá krev z prstu. Je považován za vhodný biomarker zánětu. Když je jeho hladina v těle vyšší než 10 mg/l, označuje to zánětlivý problém. Je dokázáno, že vysoká hladina CRP zhoršuje pohybový aparát, a dochází k prudkému zhoršení stavu u lidí s PD. Tento protein je produkován jaterními buňkami a jeho syntézu zvyšuje cytokinin Interleukin-6 (IL-6). Zánět se podílí na patofyziologii neurodegenerativních onemocnění včetně PD. Předpokládá se, že zánět je spojován s poškozením a zánikem neuronů ve středním mozku. Přesná funkce CRP v patofyziologii PD není doposud zcela jasná, výzkum je stále otevřený. Stanovení hladiny CRP se provádí ELISA metodou. Protein lze stanovit i pomocí metody magnetické detekce, kde se využívá magnetických částic, přesněji kuliček, které se navážou na protilátky. Dojde tak k označení daných protilátek a díky tomu jsme schopni je detekovat. Metoda je velice jednoduchá a lehká na provedení. (77,78)

### Cytokiny

Cytokiny, bílkoviny působí jako signální molekuly v imunitním systému člověka. Jsou odpovědné za regulaci zánětu a imunitní odpovědi. Mezi hlavní cytokiny, vyskytující se v mozkomíšním moku, jejichž hladinu u pacientů s parkinsonismem pozorujeme, řadíme tumor nekrotizující faktor alfa (NTF- $\alpha$ ), interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), IL-6 a interleukin-10 (IL-10). Důležitou roli hraje významně zvýšená hodnota u cytokinu NTF- $\alpha$  u ostatních byla hodnota také vyšší, ale ne výrazně. Hladiny cytokinů mohou sloužit jako biomarkery pro diagnózu PD, progresi a odpověď na léčbu. Mohou ovlivňovat funkci nervové soustavy, přispívají k poruchám spánku a k depresím. NTF- $\alpha$  je spojován s degenerací dopaminergních neuronů a má podstatnou roli při buněčné smrti. Cytokiny jsou schopny proniknout do hematoencefalické bariéry (BBB), tvořené mezi mozkiem a krví. Jejím úkolem je vytvářet homeostázu v mozku, řídit transport živin a zabránit vstupu toxickým látkám. Cytokiny poškozují BBB a zvyšují její propustnost pro sebe, ale i pro ostatní molekuly, které pak mohou proniknout až do mozku. Pro měření hladin cytokinů v těle se využívají metody ELISA a biochemická analýza se speciálním cytokinovým kitem a softwarem Luminex. K oběma metodám se odebírá periferní krev, k analýze se pak užívá lidské sérum. (79,80)

## 7.4 Metabolické markery

### Hladina homocysteinu

Homocystein (HC) je aminokyselina přirozeně se vyskytující v lidském těle. Ten je za pomoci vitamínu B (zejména B6 a B12) odbouráván na cystein. Při nedostatku těchto vitamínů dochází ke zvýšení hodnot HC v krvi a dochází k poškození CNS a často dochází k neurodegenerativnímu poškození. Jeho hladina se fyziologicky vyskytuje v rozmezí 3-15  $\mu\text{mol/l}$ . Pokud je hodnota překročena nastává u pacienta hyperhomocysteinémie, která podněcuje vznik demence a snižuje funkci vnímání, pozornosti, myšlení, paměti. Zvýšení koncentrace HC v plazmě způsobuje L-DOPA, pravděpodobně je to způsobeno metylenovým katabolismem, kdy dochází k rozkladu látek obsahující metylen. Protože pacienti s PD léčení L-DOPA měli vyšší hodnoty HC než pacienti neužívající tento lék. HC sám o sobě nedává za vznik PD, ale v kombinaci s dalšími faktory je rizikový pro vznik neurodegenerativních onemocnění. Ke stanovení HC se využívají metody, jako je vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC) s detekcí fotometrickou, fluorescenční nebo elektrochemickou. Dále metody spojené s hmotnostní spektrofotometrií a iontová kapalinová chromatografie. Poslední dobou začíná být velice populární metoda kapilární elektroforézy (CE). V porovnání s chromatografiemi je CE výhodnější. K analýze je zapotřebí menší množství vzorku, rychlejší analýza, lepší automatizace a přesnější výsledky. EC může být s fotometrickou nebo fluorescenční laserovou detekcí. Hojně využívány jsou v posledních letech i imunologické testy. Jsou využívány testy s fluorescenční polarizační imunoanalýzou (FPIA), s chemiluminiscenční imunoanalýzou (ICL), s enzymem vázaným imunotestem (EIA). Možností jsou enzymatické testy, které jsou na provedení méně krokové a je k nim potřeba malé množství vzorku krve. (81,82)

### Hladina vitamínu D

Vitamín D má v lidském těle širokou škálu funkcí. Jeho nedostatek napomáhá vzniku neurodegenerativních nemocí, problémům se srdcem a cévami. Působí také na CNS díky své rozpustnosti v tucích, je schopný procházet skrz BBB. Vitamín D je nesmírně důležitý pro posilování kostí, udržuje stálou hladinu minerálů v těle. Nižší hladina vitamínu D může vést k úbytku množství domapinergních neuronů, což může zahájit rozvoj PD. Nízká hladina vitamínu D je doprovázena vysokou koncentrací CRP, což vede k tvorbě zánětu a rozvoji onemocnění týkajících se srdce a ledvin. Ke stanovení hladin vitamínu D se využívá jeho aktivní forma 25-



hydroxycholekalCIFerol (25-OH-D) neboli kalcidiol. Patří k nejpoužívanějším a nejpřesnějším ukazatelům hladiny vitamínu D v lidském těle. Ke stanovení používáme celou řadu metod ELISA, HPLC-MS/MS a automatizované chemiluminiscenční metody. (83,84)

ELISA neboli enzymově vázaný imunosorbční test je analytická velice využívaná citlivá metoda. Je založená na principu vazby mezi antigenem a protilátkou. Slouží k detekci proteinů, hormonů, antigenů a protilátek pomocí mikrotitračních destiček. Metoda se provádí ze vzorku lidského séra, vzorek musí být vytemperovaný na laboratorní teplotu. Je známo několik typů této metody, přímá, nepřímá a sendvičová. Výhodami této metody jsou rychlost, citlivost, mezi nevýhody patří falešně pozitivní/negativní výsledky reakce. (85)

Přímá ELISA byla prvním objeveným typem této metody z roku 1971. Metoda se využívá především k měření množství antigenů látek s vysokou molekulovou hmotností. Využívá se zde enzymatického značení detekce reakce mezi antigenem a protilátkou přímo vázanou na povrchu mikrotitrační destičky. (85)

Nepřímá ELISA byla objevena roku 1978 a je inspirována metodou přímé ELISA. Tato metoda se na rozdíl od přímé zaměřuje na detekci protilátek v biologických vzorcích. Sendvičová ELISA je speciální metoda byla objevena roku 1977 a využívá se ke stanovení specifických antigenů. Jedná se o nejcitlivější metodu a je schopná detekovat antigeny při nízkých koncentracích. Název sendvičová je odvozen z principu, na jakém tato metoda pracuje. Jedná se o antigen zachycený mezi dvěma protilátkami navázaných na povrchu mikrotitrační destičky. (85)

HPLC-MS/MS se používá posledních pár let v klinických laboratořích pro stanovení koncentrací látek v biologických vzorcích. Pozitiva tohoto stanovení jsou vysoká specifita a přesnost. Na druhou stranu je tato metoda velice ekonomicky nákladná a vyžaduje techničtější vzdělanost a vědomosti. Vzhledem k tomu se metoda dříve využívala pouze tam, kde nebyla možnost jiného stanovení. Pro samotné měření se používá plazma nebo sérum. První místo, kam vzorek vstupuje, je kapalinová chromatografie (HPLC), kde dochází k úpravě vzorku tak, že se provede odstranění nežádoucích látek, které by mohly analýzu ovlivnit. Následně je upravený vzorek nanesen do hmotnostního spektrofotometru, kde dojde k ionizaci a rozdělení na různé fragmenty podle hmotnosti a náboje. Zjišťované látky jsou zaznamenány a dále identifikovány. Výsledky analýzy a množství zjišťované látky nám vypočítá speciální software, který výsledky porovná s fyziologickým referenčním rozmezím. (86)

Automatizované chemiluminiscenční metody (ACLIA) jsou poměrně moderní metody používající se v klinické praxi. Používají se k měření biologických vzorků, kromě krve zde můžeme měřit i moč. Využívá se zde procesu chemiluminiscence, který je založen na emisi světla při dané reakci. Dochází zde ke značení protilátek těmito chemiluminiscenční značkami a vzniku barevného signálu. Ten je detekován a zaznamenán softwarem v počítači, který sám pak i vyhodnotí koncentraci látky ve vzorku. Výhodami této metody jsou specifita, automatizace a vysoká detekce. Nevýhody obdobné jako u HPLC-MS/MS. (84,85,86)

## 7.5 Hematologické testy

S monitoringem léčby PD souvisí také krevní testy. Pravidelně by se měl provádět test na kompletní krevní obraz (CBC), který nám dává informace o červených krvinkách (RBC), bílých krvinkách (WBC) a o dalších důležitých parametrech krve. Vzorek krve je odebírán z pažní žíly a měl by být co nejdříve zpracován a vyhodnocen. Při pokojové teplotě je vzorek schopný vydržet asi 10 hodin a v lednici 18 hodin. Krevní vzorek bychom neměli nikdy mrazit. Výsledky nám dnes již nahlásí hematologický analyzátor. Díky diferenciálnímu rozpočtu bílých krvinek (DIFF) jsme schopni vyhodnotit zánět či infekci. Další parametry, které jsme schopni z analyzátoru vyčíst, je hemoglobin (HGB) a hematokrit (HCT). Nízká hladina HGB patří mezi rizikové faktory, jedná se o pacienty, kteří jsou náchylnější skupinou pro rozvoj PD. (87)

Důležitou roli hrají také atomy železa, které jsou na HGM navázané. Významnou roli hraje v SN, kde je výrazně zvýšená jeho koncentrace a podílí se na patogenezi onemocnění a neurodegeneraci. Železo je také považováno za toxické díky tvorbě volných radikálů. Nejčastěji je železo ukládáno do zásobní formy zvané ferritin. Hladina železa je ovlivňována věkem pacienta a nejvyšší zastoupení má železo právě v SN a globus pallidus řadících se mezi bazální ganglia. Železo ve své formě  $Fe^{3+}$  váže na neuromelanin (NM), což je tmavě zbarvený pigment vyskytující se v SN. Jeho zesilující se pigmentace je přímo úměrná s věkem. V dospělosti se jeho hladina již nemění a ve stáří jeho síla zbarvení klesá. Velké množství železa v SN je toxické pro neurony, které jsou poškozovány, což je právě jedním z důvodů vzniku PD. Železnaté ionty jsou schopné se vázat i na AS a jsou zodpovědné za zvýšenou translaci tohoto proteinu. Oba se navzájem doplňují, zvýšená hodnota AS vede k hromadění železa a železo zrychluje shlukování AS. (88)

Další důležitou roli hraje vitamín B12, při jehož nízkých koncentracích dochází k degeneraci neuronů. Svým nedostatkem zvyšuje hladinu HC, a to způsobuje neurotoxicitu. To může vést k neurologickým příznakům jako je necitlivost a brnění končetin. Pacienti by proto měli brát

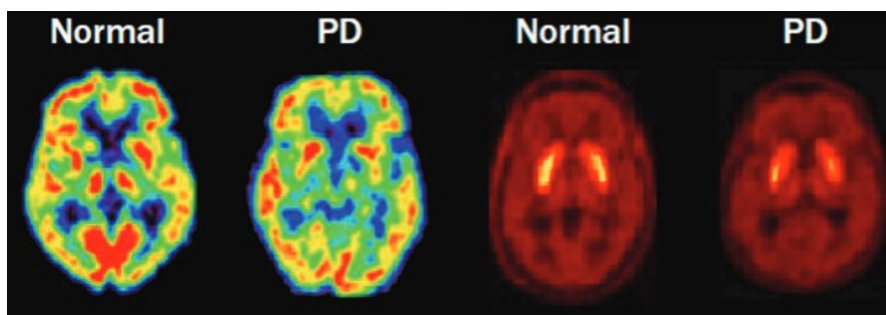
zřetel na vyváženou stravu obsahující vitamíny, případně brát doplňky stravy obsahující vitamín B12. Přesná souvislost mezi vitamínem B12 a PD není přesně definována. Klinické důsledky vitamínu se stále zkoumají. (89)

## 8. NEUROZOBRAZOVACÍ BIOMARKERY

Neurozobrazovací biomarkery jsou látky nebo struktury, které jsme schopni detekovat a pozorovat pomocí neurozobrazovacích metod. Ty nám dávají informace o stavu mozku a nervového systému. Tyto biomarkery řadíme mezi velice důležité pro diagnostiku, monitorování, a především výzkum neurodegenerativních onemocnění. Mezi neurozobrazovací biomarkery řadíme strukturální, funkční, molekulární a konstrukční. (6,90,91,92)

### 8.1 Pozitronová emisní tomografie

V medicíně se tomografické zobrazení začalo využívat kolem šedesátých let 20. století. Používají se zejména na diagnostiku nádorů, nebo onemocnění postihující srdce a mozek. Nevyužívá se jen pro hodnocení mozkových poruch, ale i záchvatů, epilepsií a infekce. Pozitronová emisní tomografie (PET) je zobrazovací velice citlivá nukleární metoda, založená na rozpadu radionuklidů, které emitují pozitrony. Jedná se o fluor, kyslík a uhlík. PET sken bývá nejčastěji v kombinaci s počítačovou tomografií (CT) tedy se skenem, který nám umožňuje získat přesnější informace o vnitřních strukturách v těle ve formě 3-D. Společné označení pro toto snímání je PET-CT sken. Díky PET zobrazování dokážeme měřit aktivitu tkání a orgánů. Více na obrázku 5. (90,91)



Obrázek 5 Tento obrázek ukazuje rozdíly na PET snímcích 2 jedinců. Na obrázcích posuzujeme množství dopaminové aktivity u obou mozků. U zdravého jedince pozorujeme výrazně více červených míst než u pacienta s Parkinsonovou chorobou. Tato místa označující velikou dopaminovou aktivitu. (93)

## **8.2 Jedno fotonová emisní počítačová tomografie**

Jedno fotonová emisní počítačová tomografie (SPECT) je další z důležitých nukleárních dostupných zobrazovacích metod. Díky této metodě jsme schopni detekovat a vyjadřovat změny v mozku a neurotransmiterech. Metody SPECT a novější typ SPECT-CT se používají k diagnostice neurologických a psychiatrických onemocnění. K detekci se využívají radiofarmaka, díky nimž jsme schopni detekovat změny. Využití získávají prvky vyzařující gama fotony, jako jsou technecium, jod a indium. (91,92)

Mezi další typ patří DAT-SPECT, což je metoda zabývající pozorováním změn týkajících se dopaminu. Těmito typy se měří míra postižení a také slouží ke zjištění typů parkinsonismu. (7)

## **8.3 Zobrazovací magnetická rezonance**

Zobrazovací magnetická rezonance (MRI) se řadí mezi zobrazovací nepronikající metody, které se využívají především v klinické kardiologii. MRI na rozdíl od vyšetření CT nevyzařuje škodlivé rentgenové záření. Což umožňuje lepší a projasněnější zobrazení mozku, míchy, dále také svalů a kloubů než klasické rentgenové a CT vyšetření. MRI se tedy častěji využívá při vyšetření měkkých tkání a nekosterních struktur. Při vyšetření mozku a mozkových struktur můžeme lépe diagnostikovat nádory a poruchy mozku díky odlišnému zobrazení bílé a šedé mozkové kůry. MRI je ekonomicky náročnější než rentgen a CT vyšetření. (91,92)

Tato metoda prokázala vhodnost při zachycení počáteční diagnostiky onemocnění a pozorování jejího šíření. Nový způsob detekce u PD pomocí neuromelaninové MRI (NM-MRI) je vhodný pro sledování úbytků neuronů. Především těch, které obsahují NM. (7)

## **9. LÉČBA**

Léčba PD je individuální pro každého pacienta. Záleží na věku, množství symptomů a celkovém zdravotním stavu pacienta. Do dnešní doby nebyl objeven žádný lék na vyléčení PD. Existuje ale celá řada léků a způsobů, díky nimž můžeme zpomalit její příznaky. Výraznou měrou taky přispívají ke zlepšení kvality života, lidé jsou delší dobu samostatní a mohou také delší dobu pracovat, než jsou nuceni odejít do důchodu. Mezi léky, ulehčující PD patří Levodopa, Agonisté dopaminu, Amantadin a Anticholinergika. (94)

## 9.1 Farmakologická léčba

### Levodopa

Aminokyselina L-3,4-dihydroxyfenylalanin nebo také známá jako L-DOPA, je přirozeně se vyskytující aminokyselina. Byla poprvé izolována roku 1911 a od roku 1961 se používá jako nejúčinnější látka na léčbu PD. Do těla bývá aplikována jako náhrada DA a využívá se hlavně pro zpomalení progresu PD. Karbidopa je lék, jehož hlavní funkcí je zabránit tomu, aby došlo k přeměně L-DOPA na dopamin mimo centrální nervovou soustavu. L-DOPA s ním bývá nejčastěji kombinována. Podává se buď inhalačně nebo infuzně. U používání L-DOPA nastávají časté negativní účinky, mezi ně patří ospalost, nevolnost a zvracení. Po dlouhodobém užívání dopaminu 5 až 10 let byly u pacientů sledovány účinky toxicity. Ty ovlivňují motorické a pohybové funkce, které stojí za příčinou vzniku invalidity. (94)

### Agonisté dopaminu

Jedná se o skupinu léků používanou proti PD a dalším nemocem, kde hlavní roli sehrává DA. Jsou to chemické látky vážající se na dopaminové receptory. Díky tomu zmírňují symptomy, jako jsou ztuhlost a třes. I u těchto léků se při používání ukazují nežádoucí účinky, jako jsou halucinace, ospalost a nevolnost. Do skupiny agonistů dopaminu řadíme tyto léky: Ropinirol, Rotigotin a Apomorfin. (95)

### Amandatin

Látka, která byla objevená téměř náhodně roku 1966 původně jako lék na Asijskou chřipku. Byla podána jako léčivo na chřipku pacientovi s PD a po užívání došlo ke zlepšení jeho stavu, po vysazení léku k opětovnému zhoršení. Od té doby je známo, že má antiparkinsonský účinek a dodnes se Amandatin používá jako lék na zlepšení pohybového aparátu u nemocí, které jsou spojené s poruchami pohybu. Pacientům je podáván buď samostatně nebo v kombinaci s Levodopou nebo agonisty dopaminu. (96)

### Inhibitory monoaminoxidázy-B

Monoaminoxidáza pochází z rodiny enzymů, které katalyzují oxidaci monoaminů. Nachází se ve dvou typech monoaminoxidáza A nebo monoaminoxidáza B. V 80. letech dvacátého století došlo k výraznému postavení inhibitorů při léčbě PD. Využívají se dva inhibitory MAO-B, a to selegilin a rasagilin. Zatímco se selegilin kombinuje s L-DOPA tak rasagilin se podává samostatně díky čemuž se oddálí užívání L-DOPA. Další ze skupiny inhibitorů MAO-B safinamid byl roku 2015 v EU schválen k používání. (97,98)

### **Inhibitory katechol-O-metyltransferázy**

Jedná se o inhibitory enzymů, které se používají jako doplněk při používání L-DOPA při léčbě PD. Užívají se zejména entakapon a tolkapon. Oba výrazně prodlužují léčivý účinek L-DOPA. Entakapon se nachází nejčastěji v periferním nervstvu, zatímco tolkapon se vyskytuje v CNS. Tolkapon je více účinnější, podílí se na dosažení vyšší koncentrace dopaminu v synapsích. (99)

### **Anticholinergika**

Anticholinergika (AA) se využívají ke zmírnění některých symptomů PD. Tlumí třes a napomáhají uvolňovat svalovou ztuhlost. AA mají negativní účinek, a to že blokují funkce acetylcholinu, který slouží jako NT přenášející nervový vzruch. Při používání mohou u pacientů nastat závratě a zmatenost. AA jsou léky, které zvyšují riziko demence u PD, proto se příliš často nepoužívají a lékaři dávají přednost jiným medikamentům. (100,101)

## **9.2 Nefarmakologická léčba**

### **Rehabilitace**

Fyzioterapie hraje důležitou roli při zlepšení pohybu, rovnováhy, koordinace a schopnosti chůze. Intenzivnější a pravidelnější cvičení napomáhá pacientům zlepšení kvality života. Fyzioterapeutická cvičení jsou doporučována lékaři již od počátku léčby, aby docházelo k co nejpomalejší progresi onemocnění. Fyzioterapeuti jsou také schopni pomoci se vzděláním, jak zabránit pádům, doporučí celou škálu pomůcek, aby pacienti mohly zůstat co nejdéle dobu nezávislí a aktivní bez pomoci další osoby. (102)

### **Logopedie**

Problémy s řečí a vyjadřováním se vyskytují asi u 89 % pacientů postihující PD. Může se jednat o poruchu hlasu, rychlosti a artikulace. Problémy s řečovým mechanismem se vyskytují již v počátku progresu léčby a je třeba začít ihned s procvičováním, aby nedocházelo k problémům s komunikací. U pacientů se nejčastěji provádí dechové cvičení, cvičení na posílení svalstva používaného k řeči, zlepšení plynulosti mluvy, fonace, popřípadě artikulace. Logopedie a samotná cvičení mají veliký význam, pomáhají zvednout kvalitu života, zlepšení komunikace a snižují riziko izolace pacientů od společnosti. (103)

## **Chirurgická léčba**

Hluboká mozková stimulace (DBS) je metoda užívaná od roku 1997 v neurochirurgii, kde nahradila thalamotomii. DBS má zmírňovat především třes, který je pro parkinsonismus typický. Jedná se o chirurgický zákrok, při kterém jsou do mozku voperovány elektrody. Ty mají za úkol stimulaci některých mozkových oblastí a jejich funkcí je zmírňovat motorické symptomy. DBS se využívá v pozdním stádiu PD, kdy pacientovi už nezabírají medikamenty. Tato metoda se nevyužívá jenom u PD, ale i u dalších neurologických a psychiatrických poruch. Jelikož se jedná o operaci, mohou při ní nastat různé komplikace, ať už krvácení, infekce, a může docházet k mrtvici. Jako každá metoda má i tato své negativní účinky. U pacientů s DBS se může vyskytovat mravenčení, brnění a bolest. (104)

## **Další aspekty**

Kvalitu života s PD ovlivňují pravidelná cvičení, která napomáhají zlepšit hybnost a rovnováhu. Dalším aspektem je také vyvážená strava obsahující dostatek vitamínů především zeleniny, ovoce a obilovin. Pravidelný spánek je také velice důležitý, i ten může zlepšit některé příznaky PD. Návštěva terapie může pomoci jak pacientům, tak i jejich rodinám pomoci se zvládnutím dané situace. Výraznou roli hrají také pomocná chodítka a pomůcky, které pomáhají s každodenními aktivitami. (104)

## **10. TERAPEUTICKÉ MONITOROVÁNÍ LÉČIV**

Terapeutické monitorování léčiv (TDM) se zabývá zjišťováním hladin léků, které se užívají na příznaky a zlepšení kvality života s neurodegenerativními onemocněními. Patří sem léky jako je L-DOPA a agonisté dopaminu. Pro stanovení koncentrace hladiny L-DOPA se používá (HPLC), která slouží k separaci jednotlivých složek ve vzorku, a tedy ke zjištění přítomnosti a koncentraci zjišťované látky. Nejprve musíme získat vzorek, který chceme sledovat. U pacientů se odebírá nejčastěji krev z žíly paže. Následně dochází k centrifugaci díky, tomu se nám od zbytku krve oddělí plazma, ve které se měří hladina léku. Poté se vzorek aplikuje do HPLC a z chromatogramu jsme schopni vypočítat hladinu L-DOPA v krvi. Koncentrace L-DOPA se liší u každého pacienta, záleží na dávkování a na stádiu rozšíření PD. Hladina léku by ale neměla přesáhnout koncentraci v plazmě rozmezí 1–20 µg/ml. Pokud chceme zjistit hodnotu agonistů dopaminu využíváme k tomu HPLC – MS. Odběr vzorku a příprava probíhá totožně jako u zjišťování koncentrace L-DOPA, akorát se pak použije jiná metoda k výpočtu

koncentrace. Ke stanovení dopaminových agonistů se dá kromě krve použít i moč pacienta. Obdobně jako u L-DOPA záleží na několika faktorech jako na typu a množství léčiva a reakci pacienta. (105,106)

## **10.2 Monitorování toxicity**

### **Tolkapon**

Tolkapon prodáváný pod značkou Tasmar se začal používat jako první inhibitor COMT roku 1997, kdy byl schválen pro použití v kombinaci s L-DOPA pro léčbu PD. Od dalších dvou typů COMT inhibitorů entakaponu a opicaponu je odlišný tím, že je schopný procházet skrz BBB do CNS a působí i v mozku. Tolkapon výrazně prodlužuje dobu působení léku, ke kterému je přidáván, často je kombinován právě s L-DOPA nebo s karbidopou. Krátce po svém uvedení na prodej byl z trhu Evropské unie stažen, kvůli své toxicitě, kdy u pacientů docházelo k poškození a selhání jater. U tří pacientů po použití tolkaponu došlo k úmrtí. U těchto pacientů byla výrazně vysoká hladina alaninaminotransferázy (ALT), což je enzym vyskytující se v různých tělesných tkáních zejména pak v játrech. Vysoká koncentrace ALT ukazuje na poškození hepatocytů. Proto od té doby u pacientů dochází k pravidelným kontrolám jeho hladin. U pacientů jsou také prováděny jaterní testy a další opatření před toxicitou. Po několika letech byl znovu uveden na evropský trh. Podává se především pacientům, kteří nemohou z negativních účinků přijímat jiné inhibitory COMT. (107,108)

### **Levodopa**

Po provedení pokusů na tkáňových strukturách bylo prokázáno že L-DOPA vykazuje toxické účinky. Toxicky působí hlavně ve středním mozku na dopaminové neurony, ochranu těmto neuronům zajišťují gliové struktury. U krátkodobého užívání malých dávek L-DOPA jsou účinky pozitivní. Po dlouhodobém (5 až 10 let) užívání byly u pacientů sledovány účinky toxicity. Ty ovlivňují motorické a pohybové funkce, které stojí za příčinou vzniku invalidity. Jedná se o neurotoxicitu týkající se látek, které buď strukturně, nebo funkčně negativně ovlivňují CNS a periferní nervstvo. Dlouhé užívání L-DOPA pravděpodobně zvyšuje hladinu HC v krvi tím, že ovlivňuje metabolismus vitamínů B (B6 a B12). Vysoké hladiny HC jsou úzce spojovány s funkcí ledvin. Při zvýšených koncentracích dochází k poškození a selhání ledvin. (109,110)



## ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo uspořádat vědomosti o laboratorní diagnostice a monitoringu Parkinsonovy choroby z pohledu zdravotního laboranta.

Parkinsonova choroba svými příznaky a následky velkým způsobem ovlivňuje život pacientů, proto je důležité zachytit rozvoj nemoci již v počátku a začít léčbu a terapii. Jedná se o nevléčitelné onemocnění, ale v dnešní době již nalezneme řadu léků, které mohou zlepšit kvalitu života a prodloužit ho i o několik let. Mezi účinné léky řadíme Levodopu a Amandatin.

Dnes jsou znalosti o této nemoci daleko rozšířenější než dříve. Díky novým poznatkům v diagnostice a monitorování se čím dál tím více dokáže zlepšit kvalita života a umíme zachytit počátek onemocnění.

Výzkum a různé studie této nemoci jsou stále otevřené a pořád dochází ke hledání dalších informací o příčinách jejího vzniku, které doposud nejsou přesně známe.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. Camargos S.T., Dornas L.O., Momeni P. a kol., Familial Parkinsonism and early onset Parkinson's disease in a Brazilian movement disorders clinic: phenotypic characterization and frequency of SNCA, PRKN, PINK1, and LRRK2 mutations. *Movement Disorders*, p662–666 [online], [cit. 2024-04-07], 2009, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2850048/>
2. Bloem B., Okun M.S., Klein Ch., Parkinson's disease, *The Lancet*, Volume 397, p2284–2303, [online], [cit. 2024-04-07], 2021, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00218-X)
3. Xu L., Pu J., Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease: From Pathogenetic Dysfunction to Potential Clinical Application, *Parkinson's Disease*, [online], [cit. 2024-04-07], 2016, Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2016/1720621>
4. Rama-Raju V., Konda S., Balmuri K. a kol., MER based analysis of local field potentials with deep brain stimulationsubthalamic nucleus in Parkinsons disease using coherence and entropy techniques, *IP Indian Journal of Neurosciences*, Volume 6, p202-219, [online], [cit. 2024-10-25], 2020, Dostupné z: <https://doi.org/10.18231/j.ijn.2020.041>
5. Kouli A., Torsney K.M., Wei-Li K., Parkinson's Disease: Etiology, Neuropathology, and Pathogenesis, [online], [cit. 2024-04-07], 2018, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK536722/>
6. Wirdefeldt K., Adami H.O., Cole P. a kol., Epidemiology and etiology of Parkinson's disease: a review of the evidence, *Eur J Epidemiol* 26, [online], [cit. 2024-04-07], 2011, Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10654-011-9581-6>
7. Li T., Le W., Biomarkers for Parkinson's Disease: How Good Are They, *Neuroscience Bulletin*, Volume 36, p183–194, [online], [cit. 2024-10-25], 2020, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12264-019-00433-1>
8. Reichmann H., Csoti I., Koschel J. a kol., Life style and Parkinson's disease, *Journal of Neural Transmission*, Volume 129, p1235–1245, [online], [cit. 2024-04-07], 2022, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00702-022-02509-1>
9. Ferreira-Sánchez M., Moreno-Verdú M., Cano-de-la-Cuerda R., Quantitative Measurement of Rigidity in Parkinson's Disease: A Systematic Review, *Sensors (Basel)*, [online]. [cit. 2024-04-03], 2020, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7038663/>

10. Dirkx M. F., Bologna M., The pathophysiology of Parkinson's disease tremor, *Journal of the Neurological Sciences*, Volume 435, [online], [cit. 2024-04-03], 2020, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2022.120196>
11. Brotchie, J., Lee J., Venderova K., Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease, *Journal of Neural Transmission*, Volume 112, p359–391, [online], [cit. 2024-04-03], 2005, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00702-004-0251-7>
12. Sharma J.C., Bachmann C.G., Linazasoro G., Classifying risk factors for dyskinesia in Parkinson's disease, *Parkinsonism & Related Disorders*, *Parkinsonism & Related Disorders*, Volume 16, Issue 8, p490-497 [online], [cit. 2024-04-03], 2010, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2010.06.003>
13. Kuzuhara, S., Drug-induced psychotic symptoms in Parkinson's disease. Problems, management and dilemma, *Journal of Neurology*, Volume 248, p28–31 [online], [cit. 2024-04-03], 2001, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/PL00007823>
14. Brabenec L., Mekyska J., Galaz Z. a kol., Speech disorders in Parkinson's disease: early diagnostics and effects of medication and brain stimulation, *Journal of Neural Transmission*, Volume 124, p303–334, [online], [cit. 2024-04-03], 2001, Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00702-017-1676-0>
15. Schrag A., Taddei R. N., Chapter Twenty – Depression and Anxiety in Parkinson's Disease, *International Review of Neurobiology*, Volume 133, p623-655, [online], [cit. 2024-04-03], 2017, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2017.05.024>
16. Sagna A., Gallo J. J., Pontone G. M., Systematic review of factors associated with depression and anxiety disorders among older adults with Parkinson's disease, *Parkinsonism & Related Disorders*, Volume 20, Issue 7, p708–715, [online], [cit. 2024-04-03], 2014, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2014.03.020>
17. Findley L. J., The economic impact of Parkinson's disease, *Parkinsonism & Related Disorders*, Volume 13, p8-12, [online], [cit. 2024-04-03], 2007, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2007.06.003>
18. Dowding C. H., Shenton C. L., Salek S. S., A Review of the Health-Related Quality of Life and Economic Impact of Parkinson's Disease, *Drugs Aging* 23, p693–721, [online], [cit. 2024-04-03], 2012, Dostupné z: <https://doi.org/10.2165/00002512-200623090-00001>
19. Kalia L. V., Diagnostic biomarkers for Parkinson's disease: focus on  $\alpha$ -synuclein in cerebrospinal fluid, *Parkinsonism & Related Disorders*, Volume 59, p21 - 25, [online], [cit. 2024-04-03], 2019, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2018.11.016>

20. Goetz C. G., The History of Parkinson's Disease: Early Clinical Descriptions and Neurological Therapies. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, [online], [cit. 2024-04-03], 2011, Dostupné z: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008862>
21. Delenclos M., Jones D. R., McLean P. J. a kol., Biomarkers in Parkinson's disease: Advances and strategies, Parkinsonism & Related Disorders, Volume 22, p106-S110, [online], [cit. 2024-10-25], 2016, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.09.048>
22. Sharma S., Moon C. S., Khogali A. a kol., Biomarkers in Parkinson's disease, Neurochemistry International, Volume 63, p201-229, [online], [cit. 2024-04-07], 2013, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.06.005>
23. Fiala O., Růžička E., Genetika Parkinsonovy nemoci, Cesk Slov Neurol N, p419-428, [online], [cit. 2024-04-07], 2009, Dostupné z: <https://www.csnn.eu/casopisy/ceska-slovenska-neurologie/2009-5/genetika-parkinsonovy-nemoci-33206>
24. Stefanis L., A-Synuclein in Parkinson's Disease, Cold Spring Harb Perspect in Medicine, [online], [cit. 2024-04-03], 2012, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3281589/>
25. Perez-Pardo P., Kliet T., Dodiya H. B. a kol., The gut-brain axis in Parkinson's disease: Possibilities for food-based therapies, European Journal of Pharmacology, Volume 817, p86-95, [online], [cit. 2024-10-25], 2017, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.05.042>
26. Beyer K., Ispierto L., Latorre P., a kol., Alpha – and beta-synuclein expression in Parkinson disease with and without dementia, Journal of the Neurological Sciences, Volume 310, p112 - 117 [online], [cit. 2024-04-03], 2011, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2011.05.049>
27. Hayashi J., Carver J. A., B-Synuclein: An Enigmatic Protein with Diverse Functionality, Biomolecules, [online], [cit. 2024-04-03], 2022, Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biom12010142>
28. Patel D., Bordoni B., Physiology, Synuclein, StatPearls, [online], [cit. 2024-04-03], 2023, Dostupné z: <https://europepmc.org/article/NBK/nbk553158>
29. Jeong G. R., Lee B. D., Pathological Functions of LRRK2 in Parkinson's Disease, Cells, [online], [cit. 2024-04-07], 2020, Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/12/2565>

30. Li J., Tan L., Yu J., The role of the LRRK2 gene in Parkinsonism, *Mol Neurodegeneration* 9, p47, [online], [cit. 2024-04-07], 2014, Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-47>
31. UCHL1 gene [online]. [cit. 2024-04-07], 2012, Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/uchl1/>
32. Zhang H., Sun Y., Hu R., a kol., The regulation of the UCH-L1 gene by transcription factor NF- $\kappa$ B in podocytes, *Cellular Signalling*, Volume 25, p1574-1585, [online], [cit. 2024-04-07], 2013, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.03.018>
33. Mizuno Y., Hattori N., Mori H. a kol., Parkin and Parkinson's disease, *Current Opinion in Neurology*, p477-482, [online], [cit. 2024-04-07], 2001, Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11470964/>
34. Seirafi M., Kozlov G., Parkin structure and function, *The FEBS Journal*, p2076-2088, [online], [cit. 2024-04-07], 2015, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4672691/>
35. PRKN gene [online], [cit. 2024-04-07], 2012, Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/prkn/>
36. PINK1 gene [online]. [cit. 2024-04-07], 2012, Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/pink1/>
37. Repici M., Giorgini F., DJ-1 in Parkinson's Disease: Clinical Insights and Therapeutic Perspectives, *Journal of Clinical Medicine*, [online], [cit. 2024-04-07], 2019, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6780414/>
38. Ariga H., Takahashi-Niki K., Kato I., a kol., Neuroprotective Function of DJ-1 in Parkinson's Disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, [online], [cit. 2024-04-07], 2013, Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2013/683920/>
39. PARK7 gene [online], [cit. 2024-04-07], 2012, Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/gene/park7/>
40. Yang X., Xu Y., Mutations in the ATP13A2 Gene and Parkinsonism: A Preliminary Review, *BioMed Research International*, [online], [cit. 2024-04-07], 2014, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4147200/>
41. Huang J., Xu S., Yu Z., a kol., ATP13A2 is a Prognostic Biomarker and Correlates with Immune Infiltrates in Hepatocellular Carcinoma, *Journal of Gastrointestinal Surgery*, Volume 27, p56-66, [online], [cit. 2024-04-07], 2023, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11605-021-05099-7>

42. Cherian A., Divya K.P., Genetics of Parkinson's disease, *Acta Neurologica Belgica*, Volume 120, p1297–1305, [online], [cit. 2024-04-08], 2020, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13760-020-01473-5>
43. Mollenhauer B., Zhang J., Biochemical Pre-motor Biomarkers for Parkinson Disease, *Movement Disorders*, p644-650, [online], [cit. 2024-04-07], 2013, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3428741/>
44. Yamashita K. Y., Bhoopatiraju S., Silverglate B. D. a kol., Biomarkers in Parkinson's disease: A state of the art review, *Biomarkers in Neuropsychiatry*, Volume 9, [online], [cit. 2024-04-07], 2023, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bionps.2023.100074>
45. Teleanu R. I., Niculescu A. G., Roza E. a kol., Neurotransmitters—Key Factors in Neurological and Neurodegenerative Disorders of the Central Nervous System, *International Journal of Molecular Sciences*, [online], [cit. 2024-04-07], 2022, Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/11/5954>
46. Banerjee S., McCracken S., Slaughter G. a kol., Electrochemical Detection of Neurotransmitters, *Biosensors*, [online], [cit. 2024-04-07], 2020, Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2079-6374/10/8/101>
47. Brosnan J. T., Brosnan M. E., Glutamate: a truly functional amino acid, *Amino Acids* 45, p413–418, [online], [cit. 2024-04-07], 2012, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1280-4>
48. Angulo M. C., Meur K. L., Kozlov A. S. a kol., GABA, a forgotten gliotransmitter, *Progress in Neurobiology*, Volume 86, p297-303, [online], [cit. 2024-04-07], 2008, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.08.002>
49. Tanaka Ch., Gama-aminobutyric acid in peripheral tissues, *Life Sciences*, Volume 37, p2221-2235, [online], [cit. 2024-04-07], 2002, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(85\)90013-X](https://doi.org/10.1016/0024-3205(85)90013-X)
50. Das A., Fröhlich D., Achanta L. B. a kol., L-Aspartate, L-Ornithine and L-Ornithine-L-Aspartate (LOLA) and Their Impact on Brain Energy Metabolism, *Neurochemical Research*, Volume 45, p1438–1450 [online], [cit. 2024-04-07], 2020, Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11064-020-03044-9>
51. D'Aniello A., D-Aspartic acid: An endogenous amino acid with an important neuroendocrine role, *Brain Research Reviews*, Volume 53, p 215-234, [online], [cit. 2024-04-07], 2007, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.08.005>

52. López-Corcuera B., Geerlings A., Aragón C., Glycine neurotransmitter transporters: an update, *Molecular Membrane Biology*, Volume 18, [online], [cit. 2024-04-07], 2009, Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09687680010028762>
53. Hernandez M. S., Troncone L. R. P., Glycine as a neurotransmitter in the forebrain: a short review, *Journal of Neural Transmission*, Volume 116, p1551–1560, [online], [cit. 2024-04-07], 2009, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00702-009-0326-6>
54. Latif S., Jahangeer M., Razia D. M. a kol., Dopamine in Parkinson's disease, *Clinica Chimica Acta*, Volume 522, p114-126, [online], [cit. 2024-04-07], 2021, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.08.009>
55. Miller M. W., Dopamine as a Multifunctional Neurotransmitter in Gastropod Molluscs: An Evolutionary Hypothesis, *Biology Bulletin*, p189-208, [online], [cit. 2024-04-07], 2021, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8016498/>
56. Wu H., Denna T.H, Storkersen J. N. a kol., Beyond a neurotransmitter: The role of serotonin in inflammation and immunity, *Pharmacological Research*, Volume 140, p100-114, [online], [cit. 2024-04-07], 2019, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.06.015>
57. McCorvy J. D., Roth B.L, Structure and function of serotonin G protein-coupled receptors, *Pharmacology & Therapeutics*, Volume 150, p129-142, [online], [cit. 2024-04-07], 2015, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.01.009>
58. Brown R. E., Stevens D. R., Haas H. L., The physiology of brain histamine, *Progress in Neurobiology*, Volume 63, p637-672 [online], [cit. 2024-04-07], 2001, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(00\)00039-3](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(00)00039-3)
59. Siegel J. M., The Neurotransmitters of Sleep, *The Journal of Clinical Psychiatry*, [online], [cit. 2024-04-07], 2004, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8761080/>
60. Parsons M. E., Ganellin C. R., Histamine and its receptors, *British Journal of Pharmacology*, p127-135 [online], [cit. 2024-04-07], 2006, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1760721/>
61. Steriade M., Acetylcholine systems and rhythmic activities during the waking–sleep cycle, *Progress in Brain Research*, Volume 145, p179-196, [online], [cit. 2024-04-07], 2004, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(03\)45013-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(03)45013-9)
62. Khan A., Khan A. A. P., Asiri A. M. a kol., A New Trend on Biosensor for Neurotransmitter Choline/Acetylcholine—an Overview, *Applied Biochemistry and*

- Biotechnology, Volume 169, p1927–1939, [online], [cit. 2024-04-07], 2013, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0099-0>
63. Fedotova M. V., Kruchinin S. E., Chuev G. N., Hydration features of the neurotransmitter acetylcholine, *Journal of Molecular Liquids*, Volume 304, [online], [cit. 2024-04-07], 2020, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112757>
64. Hoebel B. G., Avena N. M., Rada P., Accumbens dopamine-acetylcholine balance in approach and avoidance, *Current Opinion in Pharmacology*, Volume 7, p617-627, [online], [cit. 2024-04-07], 2007, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2007.10.014>
65. Lester D. B., Rogers T. D., Blaha Ch. D., Acetylcholine–Dopamine Interactions in the Pathophysiology and Treatment of CNS Disorders, *CNS Neuroscience & Therapeutics*, Volume 16, [online], [cit. 2024-04-07], 2010, Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00142.x>
66. Faure P., Tolu S., Valverde S. a kol., Role of nicotinic acetylcholine receptors in regulating dopamine neuron activity, *Neuroscience*, Volume 282, p86-100, [online], [cit. 2024-04-07], 2014, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.05.040>
67. Aosaki T., Miura M., Suzuki T. a kol., Acetylcholine-dopamine balance hypothesis in the striatum, *Geriatrics and Gerontology International*, p148-57 [online], [cit. 2024-04-07], 2010, Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20590830/>
68. Lei P., Ayton S., Finkelstein D. I. a kol., Tau protein: Relevance to Parkinson's disease, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, Volume 42, p1775-1778, [online], [cit. 2024-04-07], 2010, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2010.07.016>
69. Zhang X., Gao F., Wang D. a kol., Tau Pathology in Parkinson's Disease, *Frontiers in Neurology*, Volume 9, [online], [cit. 2024-04-07], 2018, Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00809>
70. Příkrylová Vranová H., Mareš J., Hlušík P. a kol., Tau protein and beta-amyloid1-42 CSF levels in different phenotypes of Parkinson's disease, *Journal of Neural Transmission*, Volume 119, p353–362, [online], [cit. 2024-04-07], 2012, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00702-011-0708-4>
71. Lim E. W., Aarsland D., Ffytche D. a kol., Amyloid- $\beta$  and Parkinson's disease, *Journal of Neurology*, Volume 266, p2605–2619 [online], [cit. 2024-04-07], 2019, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00415-018-9100-8>
72. Latt M.D., Lewis S., Zekry O. a kol., Factors to Consider in the Selection of Dopamine Agonists for Older Persons with Parkinson's Disease, *Drugs Aging* 36, p189–202, [online], [cit. 2024-04-08], 2019, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40266-018-0629-0>



73. Buhmann C., Magnus T., Choe C., Blood neurofilament light chain in Parkinson's disease, *Journal of Neural Transmission*, Volume 130, p755–762, [online], [cit. 2024-04-08], 2023, <https://doi.org/10.1007/s00702-023-02632-7>
74. Regensburger M., Ip C.W., Kohl Z. a kol., Clinical benefit of MAO-B and COMT inhibition in Parkinson's disease: practical considerations, *Journal of Neural Transmission*, Volume 130, p847–861, [online], [cit. 2024-04-08], 2023. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00702-023-02623-8>
75. Harfouche A., Alata W., Leblanc K. a kol., Label-free LC-HRMS-based enzymatic activity assay for the detection of DDC, MAO and COMT inhibitors, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 212, [online], [cit. 2024-04-08], 2022, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114598>
76. Sanjari Moghaddam H., Valitabar Z., Ashraf-Ganjouei A. a kol., Cerebrospinal Fluid C-Reactive Protein in Parkinson's Disease: Associations with Motor and Non-motor Symptoms, *NeuroMolecular Medicine*, Volume 20, p376–385, [online], [cit. 2024-04-08], 2018, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s12017-018-8499-5>
77. Hassin-Baer S., Cohen O.S., Vakil E. a kol., Is C-reactive protein level a marker of advanced motor and neuropsychiatric complications in Parkinson's disease, *Journal of Neural Transmission*, Volume 118, p539–543, [online], [cit. 2024-04-08], 2010, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00702-010-0535-z>
78. Menza M., DeFronzo-Dobkin R., Marin H. a kol., The Role of Inflammatory Cytokines in Cognition and Other Non-Motor Symptoms of Parkinson's Disease, [online], [cit. 2024-04-08], 2010, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0033182\(10\)70739-8](https://doi.org/10.1016/S0033182(10)70739-8)
79. Kozirowski D., Tomasiuk R., Szlufik S. a kol., Inflammatory cytokines and NT-proCNP in Parkinson's disease patients, *Cytokine*, Volume 60, p762-766, [online], [cit. 2024-04-08], 2012, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.07.030>
80. Periñán M.T., Macías-García D., Jesús S. a kol., Homocysteine levels, genetic background, and cognitive impairment in Parkinson's disease, *Journal of Neurology*, Volume 270, p477–485, [online], [cit. 2024-04-08], 2023, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00415-022-11361-y> 3
81. Ducros V., Demuth K., Sauvant M. P. a kol., Methods for homocysteine analysis and biological relevance of the results, *Journal of Chromatography B*, Volume 781, p207-226, [online], [cit. 2024-04-08], 2002, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00497-X](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00497-X)

82. Pignolo A., Mastrilli S., Davì C. a kol., Vitamin D and Parkinson's Disease, *Nutrients*, [online], [cit. 2024-04-08], 2022, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8953648/>
83. Barichella M., Garrì F., Caronni S. a kol., Vitamin D Status and Parkinson's Disease, *Brain sciences*, [online], [cit. 2024-04-08], 2022, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9221008/>
84. Aydin S., A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA, *Peptides*, Volume 72, p4-15, [online], [cit. 2024-04-08], 2015, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.04.012>
85. Adaway J. E., Keevil B. G., Therapeutic drug monitoring and LC–MS/MS, *Journal of Chromatography B*, Volumes 883–884, p33-49, [online], [cit. 2024-04-08], 2012, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.09.041>
86. Farrell Ch. J., Herrmann M., Determination of vitamin D and its metabolites, *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 27, p675-688, [online], [cit. 2024-04-08], 2013, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.06.001>
87. George-Gay B., Parker K., Understanding the complete blood count with differential, *Journal of PeriAnesthesia Nursing*, *Journal of PeriAnesthesia Nursing*, Volume 18, p96–117, [online], [cit. 2024-04-08], 2003, Dostupné z: <https://doi.org/10.1053/jpan.2003.50013>
88. Mochizuki H., Choong C.J., Baba, K., Parkinson's disease and iron, *Journal of Neural Transmission*, Volume 127, p181–187, [online], [cit. 2024-04-08], 2020, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00702-020-02149-3>
89. Madenci G., Bilen S., Arli B. a kol., Serum Iron, Vitamin B12 and Folic Acid Levels in Parkinson's Disease, *Neurochemical Research*, Volume 37, p1436–1441 [online], [cit. 2024-04-08], 2012, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11064-012-0729-x>
90. Risacher S.L., Saykin A.J., Neuroimaging Biomarkers of Neurodegenerative Diseases and Dementia, *Seminars in Neurology*, p386-416, [online], [cit. 2024-04-07], 2013, Dostupné z: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0033-1359312#N11987>
91. Bidesi N. S. R., Andersen I. V., Windhorst A. D., a kol., The role of neuroimaging in Parkinson's disease, *Journal of Neurochemistry*, [online], [cit. 2024-04-07], 2021, Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jnc.15516>

92. Townsend D. W., Positron Emission Tomography/Computed Tomography Seminars in Nuclear Medicine, Volume 38, p152-166, [online], [cit. 2024-04-07], 2008, Dostupné z: <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2008.01.003>
93. Gennaro Pagano G., Niccolini F., Politis M., Imaging in Parkinson's disease, Clinical Medicine, Volume 16, p371-375, [online], [cit. 2024-10-31], 2016, Dostupné z: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-4-371>
94. Zhu H., Lemos H., Bhatt B. a kol., Carbidopa, a drug in use for management of Parkinson disease inhibits T cell activation and autoimmunity, Plos one, [online], [cit. 2024-04-08], 2017, Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5595290/>
95. Grall-Bronnec M., Victorri-Vigneau C., Donnio, Y. a kol., Dopamine Agonists and Impulse Control Disorders: A Complex Association. Drug Saf 41, p19–75, [online], [cit. 2024-10-29], 2018, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40264-017-0590-6>
96. Rascol O., Fabbri M., Poewe W., Amantadine in the treatment of Parkinson's disease and other movement disorders, The Lancet Neurology, Volume 20, p1048-1056, [online], [cit. 2024-04-08], 2021, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(21\)00249-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(21)00249-0)
97. Robakis D., Fahn S. Defining the Role of the Monoamine Oxidase-B Inhibitors for Parkinson's Disease, CNS Drugs, Volume 29, p433–44, [online], [cit. 2024-04-08], 2015, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40263-015-0249-8>
98. Jost W.H., A critical appraisal of MAO-B inhibitors in the treatment of Parkinson's disease, Journal of Neural Transmission, Volume 129, p723–736, [online], [cit. 2024-04-08], 2022, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00702-022-02465-w>
99. Kaakkola S., Clinical Pharmacology, Therapeutic Use and Potential of COMT Inhibitors in Parkinson's Disease, Drugs 59, p1233–1250, [online], [cit. 2024-04-08], 2012, Dostupné z: <https://doi.org/10.2165/00003495-200059060-00004>
100. Hong Ch., Chan L., Wu D. a kol., Antiparkinsonism anticholinergics increase dementia risk in patients with Parkinson's disease, Parkinsonism and Related Disorders, Volume 65, p224-229, [online], [cit. 2024-04-08], 2019, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2019.06.022>
101. Paz R. M., Murer M. G., Mechanisms of Antiparkinsonian Anticholinergic Therapy Revisited, Neuroscience, Volume 467, p201-217, [online], [cit. 2024-04-08], 2021, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.05.026>
102. Keus S.H.J., Bloem B.R., Hilten J.J. a kol., Effectiveness of physiotherapy in Parkinson's disease: The feasibility of a randomised controlled trial, Parkinsonism and Related

- Disorders, Volume 13, p115-121, [online], [cit. 2024-04-08], 2007, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2006.07.007>
- 103.Saldert C., Bauer M., Multifaceted Communication Problems in Everyday Conversations Involving People with Parkinson's Disease, *Brain Sciences*, [online], [cit. 2024-10-29], 2017, Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/brainsci7100123>
- 104.Fasano A., Daniele A., Albanese A., Treatment of motor and non-motor features of Parkinson's disease with deep brain stimulation, *The Lancet Neurology*, Volume 11, p429-442, [online], [cit. 2024-04-08], 2012, Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70049-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70049-2)
- 105.Andrade Â.L., Cardoso T.D., Thomasi S.S. a kol., A simple and efficient method for simultaneous quantification of levodopa and carbidopa based on controlled oxidation process, *Chemical Papers*, Volume 75, p3091–3102, [online], [cit. 2024-04-08], 2021, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01532-y>
- 106.Zestos, A.G., Kennedy, R.T. Microdialysis Coupled with LC-MS/MS for In Vivo Neurochemical Monitoring, *The AAPS Journal*, Volume 19, p1284–1293, [online], [cit. 2024-04-08], 2017, Dostupné z: <https://doi.org/10.1208/s12248-017-0114-4>
- 107.Artusi C.A., Sarro, L., Imbalzano, G. a kol., Safety and efficacy of tolcapone in Parkinson's disease, *European Journal of Clinical Pharmacology*, Volume 77, p817–829, [online], [cit. 2024-04-08], 2021, Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00228-020-03081-x>
- 108.Keating G.M., Lyseng-Williaon K.A., Tolcapone, *CNS Drugs* 19, p165–184 [online], [cit. 2024-04-08], 2012, Dostupné z: <https://doi.org/10.2165/00023210-200519020-00006>
- 109.Müller, T., Hefter, H., Hueber, R. a kol., Is levodopa toxic, *Journal of Neurology*, Volume 251, [online], [cit. 2024-04-08], 2004. <https://doi.org/10.1007/s00415-004-1610-x>
- 110.Ahlskog J. E., Levodopa, homocysteine and Parkinson's disease: What's the problem, *Parkinsonism & Related Disorders*, *Parkinsonism and Related Disorders*, Volume 109, [online], [cit. 2024-04-08], 2023, Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2023.105357>