

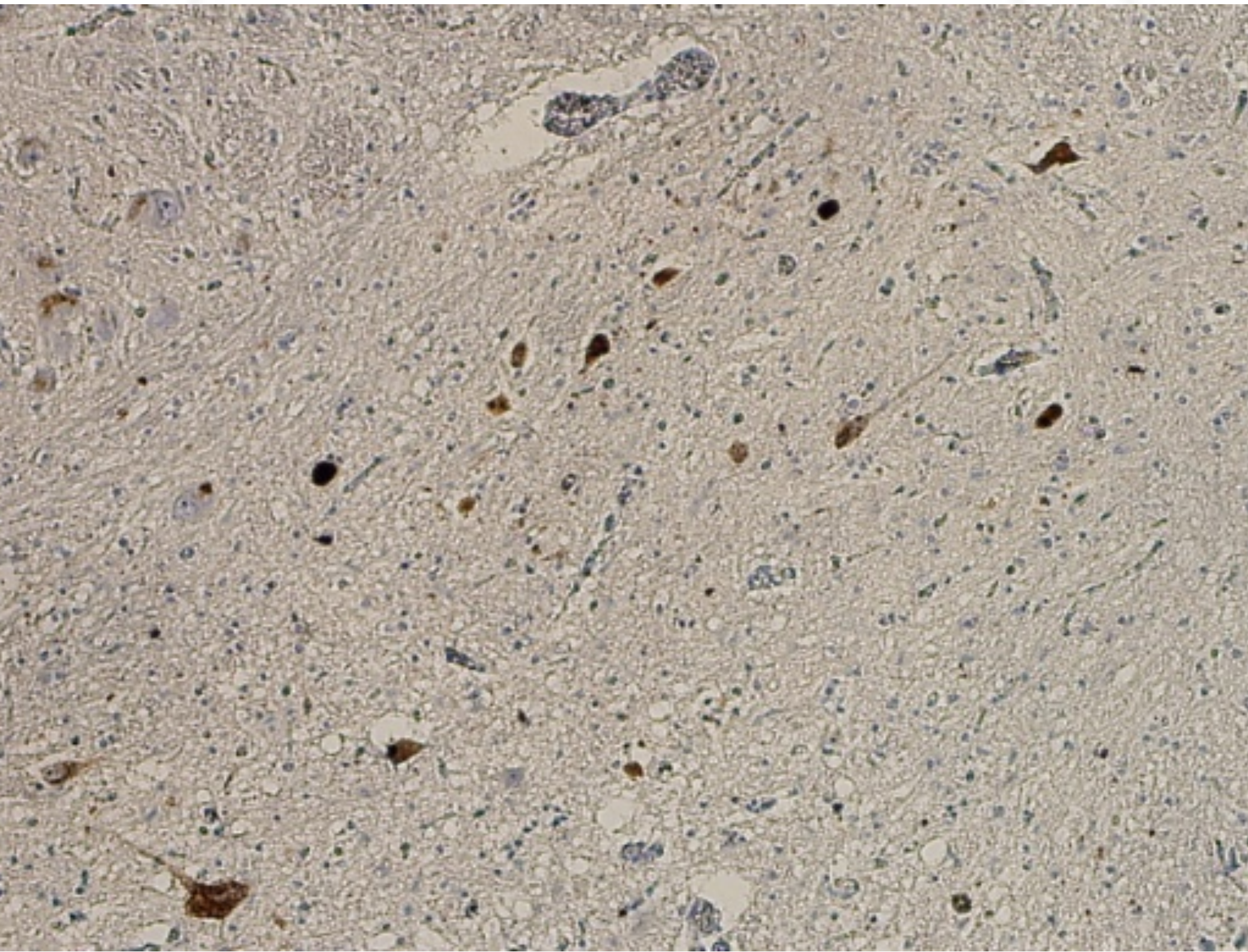


BIOLOGICKÉ MARKERY NEURODEGENERATIVNÍCH PROTEINOPATIÍ: CLUSTERIN U AMYTROFICKÉ LATERÁLNÍ SKLERÓZY

Autor: Aneta Kupcová
Školitel: doc. MUDr. Kateřina Menšíková, Ph.D., FEAN
Neurologická klinika LF UP a FN v Olomouci

Úvod: Amyotrofická laterální skleróza (dále ALS) je progresivní fatální neurodegenerativní onemocnění charakterizované postupným zánikem horních a dolních motoneuronů. Ve snaze zvýšit míru diagnostické jistoty v co nejčasnější fázi onemocnění a zlepšit diferenciální diagnostiku onemocnění, které se manifestují podobnou symptomatikou je v současnosti věnována velká pozornost identifikaci vhodných biomarkerů. V této souvislosti je zvažována role clusterinu.
Clusterin je chaperonový protein zapojený do proteostázy. Předpokládá se, že chrání před nesprávnou konformací proteinu TDP-43 (1), který je hlavní komponentou patologických inkluzí přítomných v mozku a míše u pacientů s amyotrofickou laterální sklerózou (obr. 1).

Cíle: Cílem práce bylo stanovení hladin clusterinu v mozkomíšním moku u pacientů s ALS, její srovnání se zdravými kontrolami a posouzení, zda se liší hladiny clusterinu v mozkomíšním moku v závislosti na formě, fázi a celkové délce onemocnění.

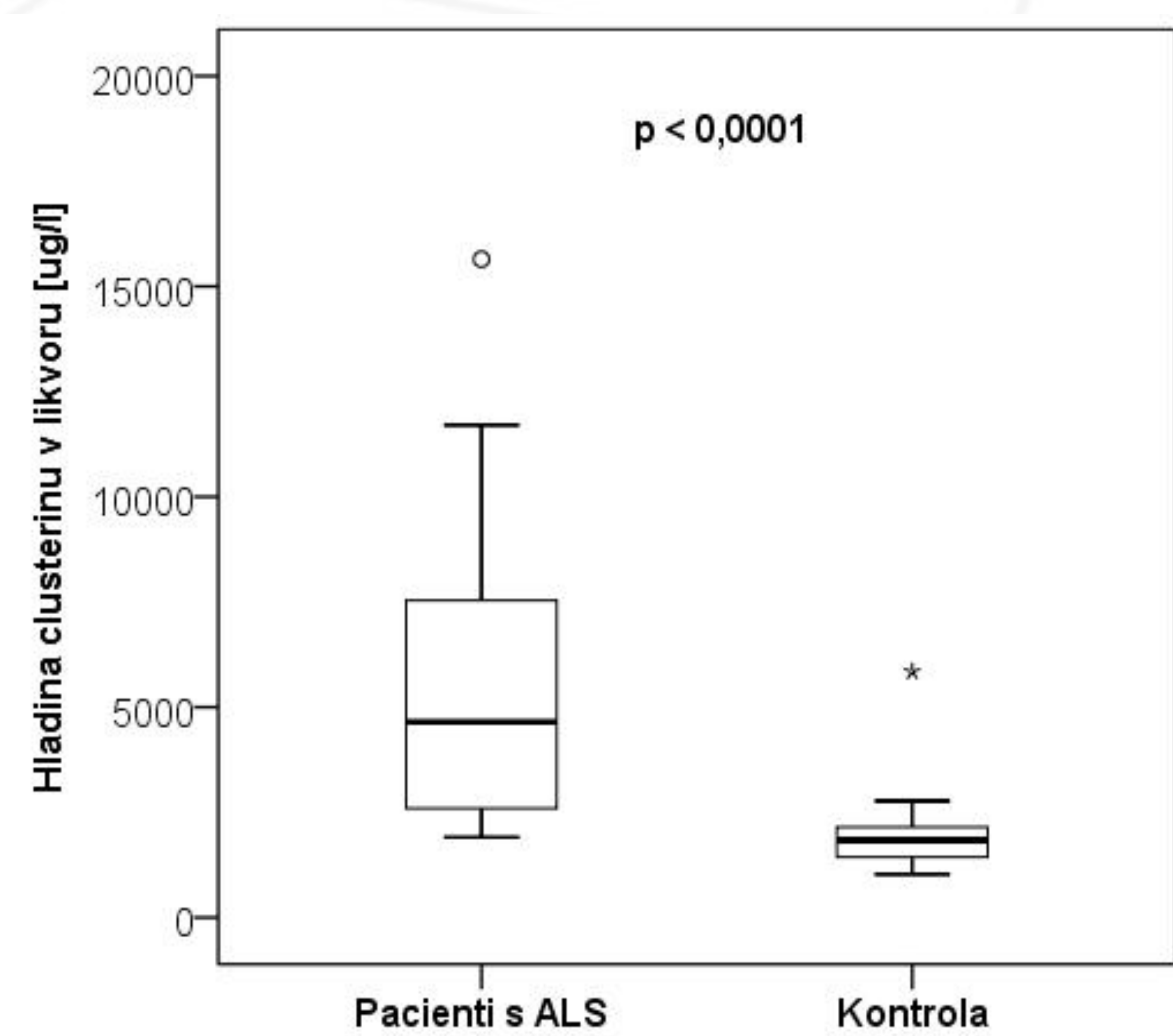


Obrázek 1. Cytoplasmatické inkluze v reziduálních neuronech n. hypoglossus obsahující patologická depozita proteinu TDP-43. Barveno autoprotilátkou Phospho-TDP-43, zvětšení 100x.

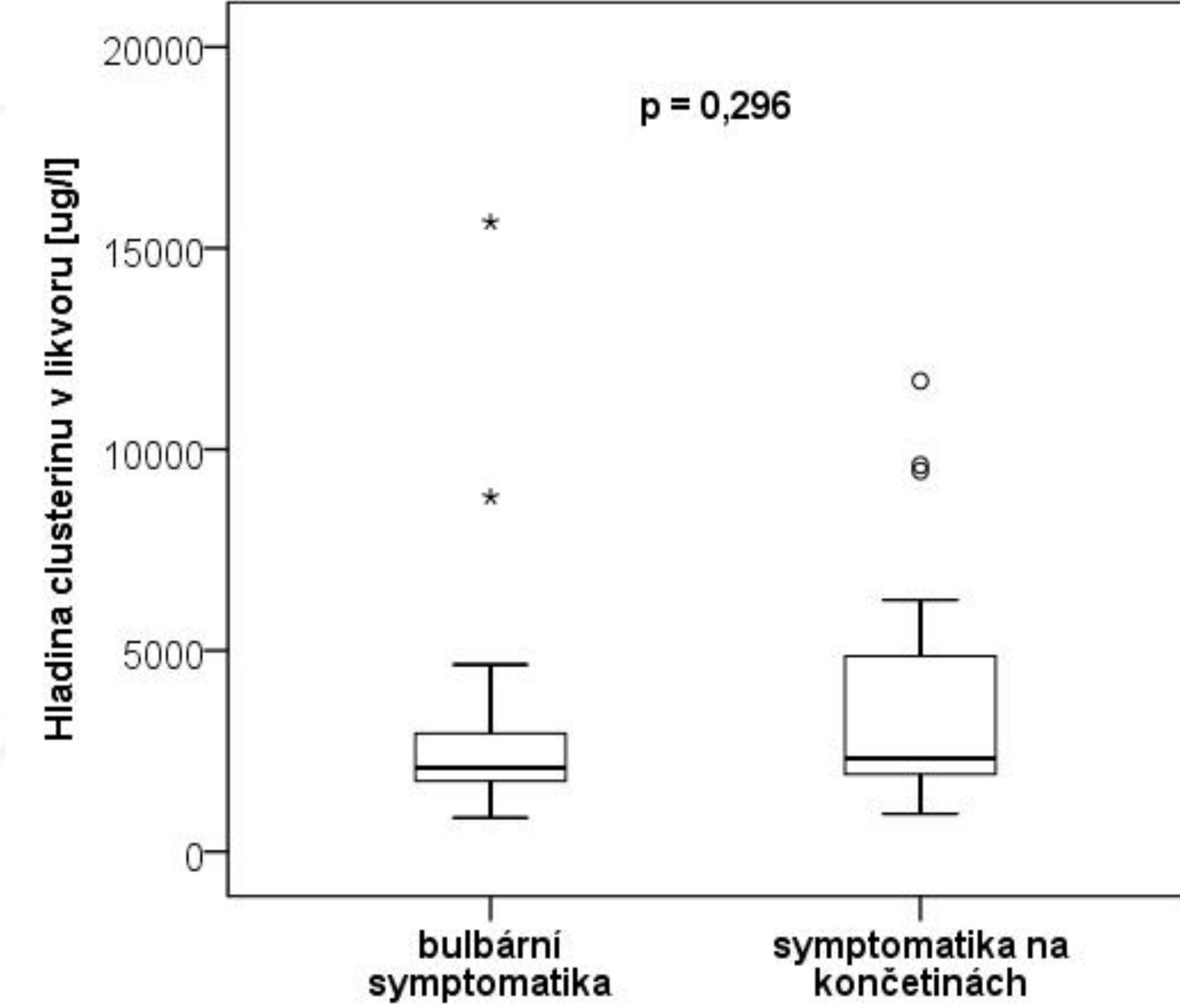
Hladiny clusterinu v mozkomíšním moku byly vzájemně srovnány mezi 19 pacienty s amyotrofickou laterální sklerózou a 18 věkově srovnatelnými kontrolami. Dále bylo provedeno srovnání hladin clusterinu mezi pacienty s bulbární formou amyotrofické laterální sklerózy (n=14) a pacienty se začátkem onemocnění na končetinách (n=30) a zhodnocení závislosti hladiny clusterinu na fázi a celkové délce onemocnění (n=34). K analýze dat byl použit statistický software IBM SPSS Statistics verze 22 (Mann-Whitney U test a Spearmanova korelační analýza). Testy byly dělány na hladině signifikance 0,05.

Metodika: Diagnóza ALS byla stanovena na základě platných *El Escorial diagnostických kritérií* (2). Vzorky mozkomíšního moku byly po předchozím podepsání informovaného souhlasu získány pomocí lumbální punkce u celkem 34 pacientů s ALS a 18 kontrol. U každého bylo odebráno 10 ml mozkomíšního moku do sterilní zkumavky. Každý vzorek mozkomíšního moku byl morfologicky posouzen, následně centrifugován při 1100 g po dobu 10 minut při 4 °C a poté zmražen na -70°C. Koncentrace clusterinu byly stanoveny pomocí sendvičové ELISA metody s biotinem značenou protilátkou.

Výsledky: Ve skupině pacientů s amyotrofickou laterální sklerózou byla ve srovnání s kontrolní skupinou prokázána signifikantně vyšší hladina clusterinu v likvoru ($p < 0,0001$).



Obrázek 2. Hladiny clusterinu v mozkomíšním moku u pacientů s ALS ve srovnání s kontrolní skupinou.



Obrázek 3. Hladiny clusterinu v mozkomíšním moku u pacientů s bulbární formou ALS ve srovnání s ALS se začátkem na končetinách.

Interval začátek onemocnění – odběr CSF	Hladina clusterinu v likvoru	Délka trvání onemocnění	Hladina clusterinu v likvoru
Spearmanův korelační koeficient	$r = -0,102$	Spearmanův korelační koeficient	$r = 0,088$
p	0,540	p	0,600
N	38	N	38

Tabulka 1. Závislost hladiny clusterinu v CSF na fázi a délce onemocnění

Závěr: Identifikace biomarkerů v likvoru u neurodegenerativních onemocnění je důležitá pro stanovení správné diagnózy v časných stádiích onemocnění. Clusterin v případě ALS může být užitečným biomarkerem rovněž v případě diferenciální diagnostiky onemocnění, které se manifestují podobnou symptomatikou. Vzhledem k tomu, že jeho hladina nekoreluje s fází ani formou onemocnění, lze jej využít při diagnostických pochybnostech v jakémkoliv stadiu i klinických projevech.

Literatura

- Gregory JM et al. Clusterin protects neurons against intracellular proteotoxicity. *Acta Neuropathol Comm* 2017; 5:81.
- Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000; 1: 293–299.