proLékaře.cz | 19.5.2024

Využití stanovení clusterinu v séru a likvoru v diagnostice postižení CNS: pilotní studie

The Determination of Serum and Cerebrospinal Fluid Clusterine Utilized in the Diagnostics of the CNS Affection: A Pilot Study

Souhrn

V poslední době se objevují informace o možnosti stanovení přítomnosti a rozsahu onemocnění mozku vyšetřením vybraných parametrů v mozkomíšním moku nebo krvi. Jedním z takových potencionálních ukazatelů by mohl být inhibitor apoptózy clusterin. Cílem práce bylo stanovení diagnostické efektivity vyšetření clusterinu v likvoru a séru u pacientů s onemocněním CNS. Bylo vyšetřeno 38 probandů. Jedinci byli rozděleni podle přítomnosti postižení CNS z různých příčin na 2 skupiny (bez postižení/s postižením). U všech bylo provedeno CT vyšetření mozku, lumbální punkce s morfologickým a biochemickým vyšetřením likvoru a stanovením indexů albuminu, imunoglobulinů, cystatinu i clusterinu. Osoby se známkami postižení CNS měly koncentrace clusterinu v likvoru a jeho indexu vyšší než probandi bez postižení CNS (mediány clusterinu, resp. indexu Csf/S 5760 vs 3435; p = 0,034 vs 0,023; p< 0,01). Byly zjištěny významné korelace mezi clusterinem v likvoru a indexy albuminu (r = 0,58; p = 0,021), imunoglobulinu G (r = = 0,66; p = 0,008), imunoglobulinu M (r = 0,24; p = 0,047), imunoglobulinu A (r = 0,66; p = 0,008) a cystatinem C v likvoru (r = 0,43; p = 0,022). Po rozdělení pacientů podle přítomnosti onemocnění CNS bylo zjištěno, že stanovení clusterinu v likvoru mělo senzitivitu 79 % a specificitu 86 % při hodnotě clusterinu > 4 230 kU/l a senzitivita indexu clusterinu činila 65 % a specificitu 93 % při hodnotě > 0,03 kU/l. Clusterin se jeví jako slibný laboratorní ukazatel poškození mozkových buněk s uspokojivou diagnostickou efektivitou, který by ev. mohl být po ověření těchto údajů ve větších studiích využit i v rutinní diagnostice.

Abstract

Recently, there has appeared information concerning the possibility of determining the presence and extent of the brain disorder by means of examining selected parameters in the cerebrospinal fluid (CSF) or blood. One of these potential indices could be clusterine, an apoptosis inhibitor. The study was aimed at the determination of the diagnostic effectiveness of examining clusterine in serum and CSF of patients with their CNS involvement. Thirty-eight probands underwent the examination. The subjects were divided into two groups according to the presence of the CNS affection due to various causes (without/with involvement). Cerebral CT examination, lumbar puncture with morphological and biochemical investigations of CSF and determining the indices of albumins, immunoglobulins, cystatine and clusterine were carried out in all the probands. Subjects with signs of the CNS involvement showed higher concentrations of clusterine in CSF and its index in comparison with probands without the CNS affection (medians of clusterine, or index Csf/S 5760 vs 3435, p = 0.034 vs 0.023, p 0.01). There were revealed significant correlations between CSF clusterine and indices of albumin (r = 0.58, p = 0.021), immunoglobulin G (r = 0.66, p = 0.008), immunoglobulin M (r = 0.24, p = 0.047), immunoglobulin A (r = 0.66, p = 0.008), and cystatine C in CSF (r = 0.43, p = 0.022). After the classification of patients based on the presence of CNS disorder, it was found out that the determination of clusterine in CSF had the sensitivity of 79 % and specificity of 86 % at the value of clusterine 4230 kU/l, and the sensitivity of clusterine index was 65 % and specificity 93 % at the value 0.03 kU/l. Clusterine seems to be a promising laboratory index of a damage to the brain cells with satisfactory diagnostic effectiveness. After verifying these data in larger trials, it could be used even in routine diagnostics.

D. Stejskal[1], J. Vavroušková[2], J. Mareš[3], M. Karpíšek[4]

[1] oddělení laboratorní medicíny Nemocnice Šternberk p.o.
[2] neurologické oddělení Nemocnice Šternberk p.o.
[3] Neurologická klinika FN Olomouc
[4] Veterinární a farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

MUDr. David Stejskal, Ph.D.
oddělení laboratorní medicíny
Nemocnice Šternberk p.o.
Jívavská 20, 78516, Šternberk
e-mail: david.stejskal@quick.cz

Přijato k recenzi 28. 2. 2006
Přijato do tisku 11. 5. 2006

Klíčová slova

clusterin – index clusterinu – onemocnění mozku – likvor – sérum

Key words

clusterine – clusterine index – brain disorder – liquor – serum

proLékaře.cz | 19.5.2024

Úvod

V posledním desetiletí se stále více diskutuje o diagnostických možnostech laboratorní medicíny při odhadu postižení CNS. Mimo často zmiňovaného stanovení ukazatelů v krvi specifických pro CNS (např. S–100, GFAP) se díky rozvoji standardizovatelných diagnostických prostředků hovoří také o možnostech analýzy mozkomíšního moku na ukazatele spojené s apoptózou, které by měly významně přispět k diagnostice postižení CNS. V poslední době se v tomto kontextu objevily informace o možném využití stanovení koncentrace clusterinu v likvoru v odhadu přítomnosti některých onemocnění CNS. Tento ukazatel se zvýšeně exprimuje v oblastech poškození CNS jako reakce na stres mozkových buněk [1–3]. Jelikož jsou tyto informace ojedinělé, vztažené pouze k vybraným neurologickým diagnózám, a měření clusterinu v likvoru bylo v prezentovaných pracích prováděno pouze v rámci kvalitativních nebo kvantitativních in house metod, stalo se cílem naší práce hledání vztahů mezi koncentrací clusterinu v likvoru a dalšími ukazateli poškození mozkových buněk z různých příčin, resp. odhad, zda-li lze k využít clusterin v likvoru k diagnostice postižení mozku obecně. K tomuto rozhodnutí jsme dospěli díky skutečnosti, že se touto molekulou dlouhodobě zabýváme a díky naší účasti při validačním procesu vůbec první rutinní certifikované komerční soupravy na měření clusterinu.

Metodika

Skupina vyšetřovaných

Byl vyšetřen soubor 38 probandů, pacientů neurologického oddělení Nemocnice Šternberk a Neurologické kliniky FN Olomouc. Vyšetřovaná skupina se skládala ze 2 podskupin pacientů.

První podskupinu tvořili pacienti se známkami postižení CNS (n = 24; z toho ischemická cévní mozková příhoda n = 8; Alzheimerova nemoc n = 4, Roztroušená skleróza n = 4, serózní zánět CNS n = 5, hnisavý zánět CNS n = 3). Druhou podskupinu tvořili jedinci s obtížemi, jako byla zvýšená tělesná teplota, parestezie, bolesti hlavy atp, u kterých se nakonec neprokázalo postižení mozku, a šlo o jiný infekt, nekomplikovanou migrénu s normálním neurologickým nálezem, další „neorganické" bolesti hlavy nebo psychosomatické obtíže (n = 14).

Použité postupy byly v souladu s etickými standardy etické komise Nemocnice Šternberu a s Helsinskou deklarací z roku 1975, ve znění revize z roku 1983.

Vyšetřovací metody, zobrazovací diagnostika

Všichni probandi podstoupili vyšetření počítačovou tomografií (jednospirální CT, výrobce Toshiba Asteion). U všech bylo provedeno klinické vyšetření.

Laboratorní vyšetření a technika odběru krve

Odběr na stanovení clusterinu a dalších vyšetřovaných ukazatelů byl proveden z periferní žilní krve, ke stanovení bylo použito séra. Před odběrem nebylo potřeba dodržet žádné speciální dietní nebo režimové opatření nebo lačnit. Vzorek byl po odběru na 60 minut uložen v pokojové teplotě. Poté byla provedena centrifugace (10 min při 1 100 g při 4 °C) a část vzorku byla bezprostředně analyzována na stanovení albuminu, cystatinu C, IgG, IgA, IgM, CRP, glukóza, Na, laktát, LD (Advia 1650, Bayer, USA). Druhá část byla zamražena při –80 °C a do 10 týdnů od zamražení byla v sérii změřen u všech osob změřena koncentrace clusterinu (Biovendor, Česká republika). Analytické charakteristiky metody při verifikaci údajů výrobce byly uspokojivé (opakovatelnost i reprodukovatelnost < 7 %, mez detekce 50 kU/l, linearita i recovery 80–117 %). Na stanovení všech parametrů mimo laktátu bylo použito sérum, na stanovení laktátu citrátová plazma.

Po odběru likvoru byl tento vyšetřen morfologicky a centrifugován za stejných podmínek jako žilní krev. Z části vzorku byly stanoveny stejně jako v krvi albumin, cystatin C, IgG, IgA, IgM, CRP, glukóza, Na, laktát, LD. Druhá část byla zamražena

Tab. 1. Hodnoty vybraných měřených ukazatelů u celé skupiny vyšetřovaných (n = 37).

Parametr	X	Median	S	Normalita
clusterin S	158 655	155 500	32 301	Ano
clusterin Csf	6 289	4 719	7 524	Ne
clusterin Csf/S	0,038	0,029	0,031	Ne
albumin Csf/S	11,7	8,4	10,9	Ano
cystatin C Csf	3,8	3,4	1,9	Ano
cystatin Csf/S	4,5	4,6	2,2	Ano
IgA Csf/S	3,9	1,8	5,6	Ano
IgG Csf/S	7	3	9,8	Ano
IgM Csf/S	3	1,2	3,7	Ne

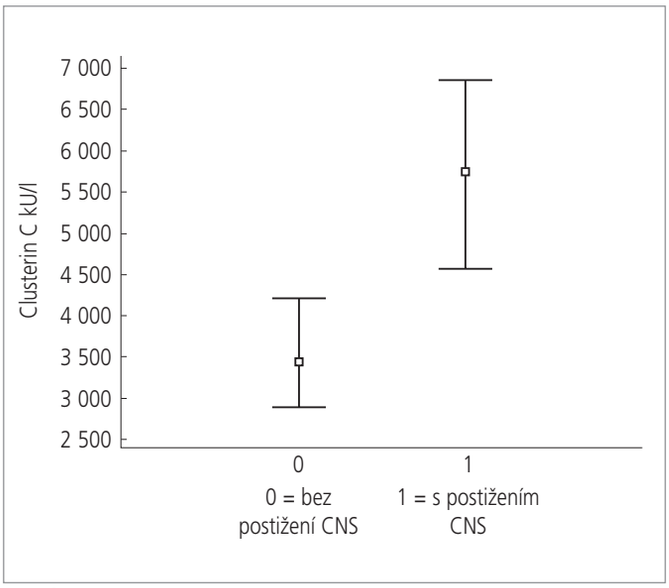
X – průměr, s – směrodatná odchylka, Csf/S – poměr hodnot v likvoru a séru. Hodnoty clusterinu uvedeny v kU/l, cystatinu C v mg/l

Tab. 2. Hodnoty vybraných měřených ukazatelů podle přítomnosti onemocnění CNS (ANO/NE).

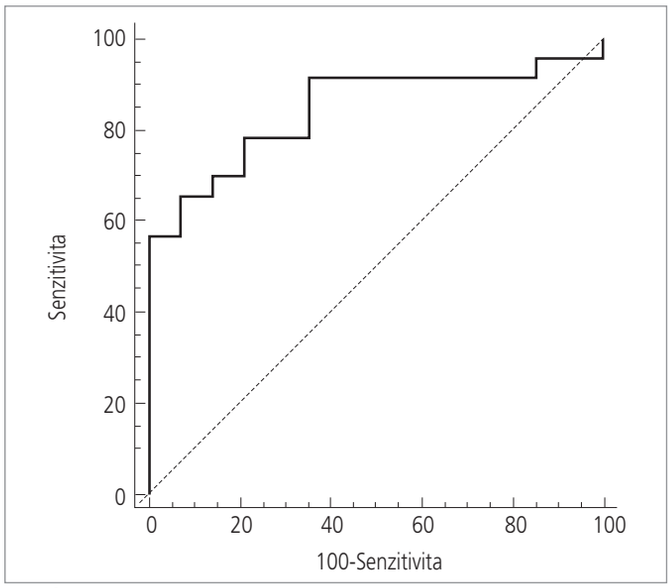
	ANO		NE		p
Parametr	X	Median	X	Median	
clusterin S	159 964	155 500	142 704	150 750	0,85
clusterin Csf	7 803	5 760	3 693	3 435	0,0005*
clusterin Csf/S	0,05	0,0344	0,02	0,0228	0,0006*
clusterin C Csf	4,3	4,04	2,7	2,9	0,08
clusterin C Csf/S	4,03	3,7	5,1	5,5	0,17

*ANO – onemocnění CNS přítomno, NE – onemocnění CNS nepřítomno, X – průměr, * – statisticky významný rozdíl*

proLékaře.cz | 19.5.2024



Graf 1. Hodnoty clusterinu podle přítomnosti onemocnění CNS (1 = ANO/0 = NE).



Graf 2. ROC pro index clusterinu podle přítomnosti postižení CNS (AUC 0,84).

při –80 °C a do 10 týdnů od zamražení byla v sérii změřen u všech osob změřena koncentrace clusterinu (Biovendor Česká republika). Analytické charakteristiky metody při verifikaci údajů výrobce byly opět uspokojivé (opakovatelnost i reprodukovatelnost < 9 %, mez detekce 50 kU/l, linearita i recovery 81–121 %).

Z údajů získaných v séru a likvoru byly provedeny výpočty indexů (poměr likvor/sérum), odhad intratekální syntézy imunoglobulinů dle Reibera.

Rozdělení souboru na podskupiny

Pro hodnocení clusterinu v likvoru byl celý soubor rozdělen na podsoubory podle typu diagnózy (jedinci s postižením/bez postižení CNS). Rozdělení na uvedené podsoubory bylo také použito pro sestrojení ROC (receiver operating curve) pro odhad diagnostické efektivity stanovení clusterinu a jeho indexu z hlediska přítomnosti postižení CNS. Vzhledem k rozložení dat clusterinu bylo k ověření údajů ještě použito čtyřpolní tabulky.

Statistické zpracování

Data byla zpracována pomocí software Medcalc (Belgie). Spojité veličiny jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka a medián, není-li uvedeno jinak. K zjištění souvislostí mezi clusterinem a dalšími ukazateli bylo vzhledem k rozložení dat použito Spearmanova korelačního koeficientu. Hodnoty clusterinu byly mezi oběma skupinami porovnávány vzhledem k rozložení dat pomocí Mannova-Whitneyova testu. K ověření diagnostické efektivity clusterinu a jeho indexu pro přítomnost onemocnění CNS bylo využito ROC analýzy a údaje ověřeny vzhledem k rozložení dat sestrojením čtyřpolní tabulky (χ^2 test). Hodnota $p < 0,05$ byla považována za statisticky signifikantní. Normalita byla hodnocena pomocí Komolgrovova-Smirnovova testu.

Výsledky

Data clusterinu v likvoru a index clusterinu vykazovala nenormální rozložení (tab. 1). Pouze 11 % vyšetřených pacientů (4 osoby) mělo známky intratekální syntézy imunoglobulinů, přičemž po zpracování v kontingenční tabulce nevyplynula žádná souvislost mezi touto syntézou a hodnotami clusterinu v likvoru (ve všech případech šlo o pacienty s roztroušenou sklerózou).

Po rozdělení skupiny vyšetřených do podskupin podle známek postižení CNS bylo zjištěno, že osoby se známkami postižení CNS měly koncentrace clusterinu v likvoru a jeho indexu významně vyšší než probandi bez postižení CNS (tab. 2, graf 1). Pro větší přehlednost jsou v tabulce ještě uvedeny hodnoty cystatinu C v likvoru a jeho indexu, které jsou některými autory považovány za potencionální diagnostické ukazatele, nicméně i my sami jsme dříve nepotvrdili možné využití tohoto ukazatele v diagnostice chorob CNS obecně [4]. Tento nález jsme nezávisle potvrdili i v této studii. Pacienti v uvedených skupinách se mezi sebou nelišili v hodnotách věku ani v pohlaví.

Při hledání korelací mezi hodnotami clusterinu, indexem clusterinu a dalšími sledovanými parametry jsme zjistili, že hodnoty clusterinu korelovaly s indexy albuminu ($c = 0,58$; $p = 0,021$), imunoglobulinu G ($c = 0,66$; $p = 0,008$), imunoglobulinu M ($c = 0,24$; $p = 0,047$), imunoglobulinu A ($c = 0,66$; $p = 0,008$) a cystatinem C v likvoru ($c = 0,43$; $p = 0,022$). Nebyly zjištěny souvislosti s indexem CRP ani dalšími měřenými parametry.

Hodnoty clusterinu v séru korelovaly s hodnotami clusterinu v likvoru ($c = 0,91$; $p < 0,001$). Žádné další významné souvislosti s dalšími měřenými ukazateli jsme nenalezli. Z výsledků čtyřpolních tabulek vyplynulo, že existuje jednoznačný důkaz o existenci spojitosti mezi měřitelnou zvýšenou clusterinu i jeho indexu a přítomností onemocnění CNS (tab. 3, tab. 4).

Po rozdělení pacientů podle přítomnosti onemocnění CNS bylo zjištěno, že stanovení clusterinu mělo senzitivitu 79 % a specificitu 86 % při hodnotě clusterinu

proLékaře.cz | 19.5.2024

Tab. 3. Čtyřpolní tabulka pro hodnocení vztahu clusterinu v likvoru a přítomnosti onemocnění CNS (χ^2 9,5, DF 2, p = 0,009).

	ANO	NE	
clusterin Csf 1	4	9	34,20 %
clusterin Csf 2	17	5	57,90 %
clusterin Csf 2	3	0	7,90 %
	36,80 %	63,20 %	100 %

ANO – onemocnění CNS přítomno, NE – onemocnění CNS nepřítomno, clusterin Csf 1 – < 1 500, clusterin Csf 2 – < 6 000, clusterin Csf 3 – > 6 000

Tab. 4. Čtyřpolní tabulka pro hodnocení vztahu indexu clusterinu a přítomnosti onemocnění CNS (χ^2 8,3, DF 2, p = 0,002).

	ANO	NE	
clusterin Csf/S 1	13	14	73 %
clusterin Csf/S 2	8	0	21,60 %
clusterin Csf/S 2	3	0	8,40 %
	36,80 %	63,20 %	100 %

ANO – onemocnění CNS přítomno, NE – onemocnění CNS nepřítomno, clusterin Csf/S 1 – < 0,04, clusterin Csf/S 2 – < 0,1, clusterin Csf/S 3 – > 0,1.

> 4 230 kU/l (pozitivní prediktivní hodnota 91 %, likelihood ratio +5,1, AUC ROC 0,84). Senzitivita indexu clusterinu činila 65 % a specificita 93 % při hodnotě indexu > 0,03 (pozitivní prediktivní hodnota 94 %, likelihood ratio +9,1, AUC ROC 0,84) (obr. 2).

Diskuse

Clusterin (70–80 kDa; synonymum ApoJ) je glykoprotein, který se účastní řady fyziologických i patofyziologických pochodů. Existují dvě formy clusterinu: první forma (sekreční, exogenní) se nachází v biologických tekutinách; druhá forma (endogenní) bývá obsažena v cytoplazmě i jádře [5].

Sekreční forma clusterinu vzniká z preclusterinu (60 kDa), který je následně štěpen na 2 řetězce zralého proteinu (α, β). Tato forma má antiapoptotické a antiangiogenetické účinky [5–7].

Endogenní clusterin vzniká alternativním štěpením preclusterinu; výsledná molekula účinkuje naopak jako silný stimulátor apoptózy [5].

Sekreční clusterin působí jako cytoptotektivní extracelulární chaperon, jehož exprese a syntéza bývá zvýšena u pacientů s rozličnými formami stresu, především však u jedinců s maligními nádory [5–8]. Extracelulární clusterin má však také řadu dalších rolí, které zahrnují vazbu a inhibici produkce amyloidu u Alzheimerovy choroby, vazbu abnormálních prionů u Creutzfeldovy-Jakobovy nemoci, „heat shock proteinů" či snížení degradace řady komponent extracelulární matrix. Dalšími účinky clusterinu jsou především regulace komplementu, transport lipidů, maturace spermií či ochrana buněčných membrán [5].

Podle všeho má clusterin patofyziologický význam především při vzniku glomerulonefritid, polycystických ledvin, renálních tubulárních onemocnění, chorob CNS (především neurodegenerativních onemocnění), aterosklerózy, infarktu myokardu či maligních chorob [5].

Z uvedeného se nabízí zajímavá možnost detekce onemocnění CNS (stresu buněk CNS obecně) stanovením koncentrace clusterinu v likvoru. Ohledně přítomnosti, resp. diagnostického významu stanovení clusterinu v likvoru se nám podařilo nalézt v literatuře pouze ojedinělé a částečně protichůdné informace [1–3, 5–13]. Některé experimenty potvrdily, že clusterin má v CNS významný cytoprotektivní efekt, vyskytuje ve zvýšené míře ve „stresovaných" oblastech CNS (např. ischemizovaných lokalitách CNS, při infekci CNS atp) a jeho hodnoty v likvoru bývají u takto postižených jedinců vysoké [1,2,9]. Současně bylo také ověřeno, že clusterin váže rozpustný β-amyloid, který se zvýšeně vyskytuje v mozku u Alzheimerovy choroby (AD). Jedinci s tímto postižením mívají v mozku expresi clusterinu a pravděpodobně i vyšší koncentraci tohoto proteinu v likvoru. Toto tvrzení je však na druhé straně v rozporu s výsledky severských autorů, kteří v likvoru nenalezli u pacientů s AD zvýšené hodnoty clusterinu [12].

Jednou z příčin těchto nálezů byla pravděpodobně absence validované soupravy na stanovení clusterinu. V několika málo studiích, které se zabývaly měřením koncentrace clusterinu, bylo použito měření clusterinu pomocí blotovacích technik nebo in house ELISA metod [1–3,9–12]. Navíc i přes to, že byly provedeny i některé studie, které se zabývaly vyšetřením clusterinu v likvoru těmito metodami, nenašli jsme v literatuře informaci, která by shrnula využití stanovení clusterinu v likvoru pro diagnostiku neurologických chorob obecně. Podle našeho názoru jde přitom o ukazatel, jehož potencionální využití je v tomto případě namístě. Díky tomu, že se naše pracoviště mohlo zúčastnit validace pro získání CE značky pro první komerční diagnostickou soupravu na stanovení clusterinu vůbec, rozhodli jsme se vyzkoušet a ověřit efektivitu tohoto stanovení v rutinní praxi.

Naše výsledky potvrdily hypotézy a experimentální zjištění, že jedinci s postižením mozkových buněk mají zvýšený clusterin v likvoru. Pro eliminaci event. chyb při interpretaci výsledků se nám jeví jako vhodnější využití stanovení indexu clusterinu (likvor/sérum), jelikož omezuje falešně pozitivní interpretace při nálezu zvýšených hodnot v likvoru, které jsou způsobeny přechodem clusterinu přes hematolikvorovou bariéru, např. u osob s vysokými hodnotami clusterinu v krvi při infekcích, extremním buněčném stresu, malignitách atp. Domníváme se, že tato korekce by měla falešně pozitivní výsledky omezit a teoreticky tak poskytnout dostatečně efektivní nástroj na hodnocení přítomnosti postižení CNS.

proLékaře.cz | 19.5.2024

Závěrem lze konstatovat, že jedinci s onemocněním CNS mají zvýšené hodnoty clusterinu v likvoru. Je možné, že stanovení indexu clusterinu (likvor/sérum) by bylo možno použít k efektivnímu odhadu přítomnosti onemocnění CNS. Tento předpoklad bude však muset být ověřen ve větších studiích u jedinců s různými chorobami CNS za použití standardních certifikovaných diagnostických souprav. Limitací předložené práce je zcela jistě sloučení pacientů s různými formami onemocnění CNS do jedné skupiny. Vzhledem k absenci validních literárních informací o možném využití stanovení koncentrace tohoto ukazatele v diagnostice chorob CNS se však autoři domnívají, že lze tuto práci považovat za pilotní projekt, ze kterého lze čerpat pro následující výzkumy. Cílem autorů nebylo hledat možné patofyziologické souvislosti mezi clusterinem vzhledem k jednotlivým onemocněním mozku, ale na základě experimentálních hypotéz pouze ověřit diagnostickou efektivitu jeho stanovení novou, certifikovanou metodou.

Literatura

1. Imhof A, Charnay Y, Vallet PG, Aronow B, Kovari E, French LE et al. Sustained astrocytic clusterin expression improves remodeling after brain ischemia. Neurobiol Dis 2006; 87: 117–21.

2. Van Beek J, Chan P, Bernaudin M, Petit E, MacKenzie ET, Fontaine M. Glial responses, clusterin, and complement in permanent focal cerebral ischemia in the mouse. Glia 2000; 31: 39–50.

3. Martin-Rehrmann MD, Hoe HS, Capuani EM, Rebeck GW. Association of apolipoprotein J-positive beta-amyloid plaques with dystrophic neurites in Alzheimer's disease brain. Neurotox Res 2005; 7: 231–42.

4. Stejskal D, Vavroušková J, Mareš J, Urbánek K. Application of new laboratory marker assays in neurological diagnosis – a pilot study. Biomedical Papers 2005; 149: 265–7.

5. Silkensen J. Clusterin: physiologic and pathophysiologic considerations. Int J Biochem Cell Biol 1995; 27: 633–45.

6. Kim BM, Kim SY, Lee S, Shin YJ, Min BH, Bendayan M et al. Clusterin induces differentiation of pancreatic duct cells into insulin-secreting cells. Diabetologia 2006; 49: 311–20.

7. Gleave ME, Gleave J, Burt HM. The inhibition of angiogenesis by antisense oligonucleotides to clusterin. Angiogenesis 2005; 8: 229–38.

8. Kruger S, Mahnken A, Kausch I, Feller AC. Value of clusterin immunoreactivity as a predictive factor in muscle-invasive urothelial bladder carcinoma. Urology 2006; 67: 105–9.

9. Strocchi P, Smith MA, Perry G, Tamagno E, Danni O, Pession A et al. Clusterin up-regulation following sub-lethal oxidative stress and lipid peroxidation in human neuroblastoma cells. Neurobiol Aging 2006; 4: 87–91.

10. Iwata A, Browne KD, Chen XH, Yuguchi T, Smith DH. Traumatic brain injury induces biphasic upregulation of ApoE and ApoJ protein in rats. J Neurosci Res 2005; 82: 103–14.

11. Holtzman DM. In vivo effects of ApoE and clusterin on amyloid-beta metabolism and neuropathology. J Mol Neurosci 2004; 23: 247–54.

12. Lidstrom AM, Hesse C, Rosengren L, Fredman P, Davidsson P, Blennow K. Normal levels of clusterin in cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease, and no change after acute ischemic stroke. J Alzheimers Dis 2001; 3: 435–42.

13. Sasaki K, Doh-ura K, Ironside JW, Iwaki T. Increased clusterin (apolipoprotein J) expression in human and mouse brains infected with transmissible spongiform encephalopathies. Acta Neuropathol 2002; 103: 199–208.

www.vnitrnilekarstvi.cz