proLékaře.cz | 27.10.2026

doi: 10.48095/cccsnn2026257

Močové biomarkery oxidačního stresu u amyotrofické laterální sklerózy – pilotní studie

Urinary biomarkers of oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis – a pilot study

Souhrn

Cíl: Cílem této pilotní studie bylo zjistit, zda močové biomarkery oxidačního poškození u nemocných s amyotrofickou laterální sklerózou (ALS) korelují s tíží onemocnění, délkou jeho trvání a s perspektivou přežití od okamžiku stanovení hladin těchto biomarkerů. Moč byla zvolena jako neinvazivní médium vhodné pro opakované odběry. *Soubor a metodika:* Zařazeno bylo 34 pacientů s ALS diagnostikovaných podle Gold Coast kritérií. V moči byly stanoveny koncentrace 3 nitrotyrosinu, 8 hydroxy 2′ deoxyguanosinu, malondialdehydu, redukovaného glutathionu, volných thiolových skupin a jejich disulfidových forem, reprezentujících poškození proteinů, DNA a lipidů a změny antioxidačních systémů, a to pomocí kapalinové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií, vysokoúčinné kapalinové chromatografie a spektrofotometrie. Vztahy mezi biomarkery a klinickými parametry byly hodnoceny neparametrickými korelacemi a kvadratickou regresí. *Výsledky:* Délka trvání onemocnění významně souvisela se zvýšením 8 hydroxy 2′ deoxyguanosinu (Spearman r = 0,34; p = 0,049; Kendall t = 0,25; p = 0,050) a poklesem redukovaného glutathionu, přičemž inverzní korelace mezi redukovaným glutathionem a délkou trvání byla výrazná (Spearman r = −0,59; p = 0,00016; Kendall t = −0,41; p = 0,00057). Nebyl zjištěn významný vztah mezi žádným hodnoceným biomarkerem a funkčním stavem pacientů ani délkou přežití. *Závěr:* Močové hladiny 8 hydroxy 2′ deoxyguanosinu a redukovaného glutathionu vykazují souvislost s délkou trvání ALS a naznačují možnost využití močových biomarkerů při neinvazivním hodnocení tohoto onemocnění, avšak bez prokázaného vztahu k funkčnímu stavu i délce přežití. Tyto nálezy jsou v souladu s hypotézou o podílu oxidativního stresu na patogenezi ALS, jejich klinický význam je však třeba potvrdit ve větších longitudinálních studiích.

Abstract

Aim: The aim of this pilot study was to determine whether urinary biomarkers of oxidative damage in patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) correlate with disease severity, disease duration, and survival prospectively measured from the time of urinary biomarker assessment. Urine was chosen as a noninvasive medium suitable for repeated sampling. *Patients and methods:* A total of 34 patients with ALS diagnosed according to the Gold Coast criteria were included. Urinary concentrations of 3 nitrotyrosine, 8 hydroxy 2′ deoxyguanosine, malondialdehyde, reduced glutathione, free thiol groups and their disulfide forms, representing protein, DNA and lipid damage and alterations in antioxidant systems, were measured using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry, high performance liquid chromatography and spectrophotometry. Associations between biomarkers and clinical parameters were assessed using non parametric correlations and quadratic regression. *Results:* Disease duration was significantly associated with higher 8 hydroxy 2′ deoxyguanosine levels (Spearman r = 0.34; P = 0.049; Kendall t = 0.25; P = 0.050) and lower reduced glutathione levels, with a marked inverse correlation between reduced glutathione and disease duration (Spearman r = −0.59; P = 0.00016; Kendall t = −0.41; P = 0.00057). No significant association was found between any of the evaluated biomarkers and patients' functional status or survival time. *Conclusion:* Urinary levels of 8 hydroxy 2′ deoxyguanosine and reduced glutathione show an association with ALS duration and suggest the potential use of urinary biomarkers for non invasive assessment of this disease, although no relationship with functional status or survival time was demonstrated. These findings are consistent with the hypothesis that oxidative stress contributes to ALS pathogenesis, but their clinical relevance needs to be confirmed in larger longitudinal studies.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.
The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.

P. Malá[1,2], O. Vyšata[1,2], N. Váňová[3]

[1] Neurologická klinika LF UK, Hradec Králové
[2] Neurologická klinika FN Hradec Králové
[3] Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy, Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové

MUDr. Pavlína Malá
Neurologická klinika
LF UK a FN Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail:
pavlinahemerkova@seznam.cz

Přijato k recenzi: 8. 1. 2026
Přijato do tisku: 9. 7. 2026

Klíčová slova
amyotrofická laterální skleróza – oxidační stres – moč – biomarkery – 8 hydroxy 2′ deoxyguanosin – glutathion – thioly – antioxidanty – poškození DNA

Key words
amyotrophic lateral sclerosis – oxidative stress – urine – biomarkers – 8 hydroxy 2′ deoxyguanosine – glutathione – thiols – antioxidants – DNA damage

proLékaře.cz | 27.10.2026

Úvod

Amyotrofická laterální skleróza (ALS) je fatální neurodegenerativní onemocnění postihující centrální i periferní motoneurony. Přesná příčina vzniku není i přes rozsáhlé vědecké úsilí stále známa. Jisté je, že na její patogenezi se podílí vzájemně propojené mechanizmy, jako glutamátem zprostředkovaná excitotoxicita, chronický neurozánět, poruchy autofagie, akumulace patologických proteinů, mitochondriální dysfunkce a oxidační stres [1,2]. U části pacientů hraje roli také genetické pozadí.

Oxidační stres, chápaný jako nerovnováha mezi tvorbou reaktivních forem kyslíku a účinností antioxidačních systémů, je považován za významný faktor degenerace motoneuronů u nemocných s ALS [3]. Stále není zcela jasné, zda jde o primární příčinu, nebo sekundární děj navázaný např. na mitochondriální dysfunkci a zánět v nervovém systému, přičemž tyto procesy se také mohou vzájemně podporovat.

Přímé důkazy zvýšeného oxidačního stresu v časných stadiích ALS u pacientů a většina dat o jeho časné úloze v patogenezi ALS pochází z transgenních zvířecích modelů nesoucích ALS-asociované mutace v genu pro superoxiddismutázu 1 (SOD1) [4,5]. Tyto modely, vycházející z jediného mutovaného genu, však odrážejí pouze specifickou formu onemocnění. Mutovaný gen *SOD1* v nich sice vykazuje změněnou či částečně sníženou dismutázovou aktivitu, avšak klíčovou roli v patogenezi hraje zejména toxický „gain of function", tedy získání nové nebo nadměrné, pro buňku škodlivé funkce mutovaného proteinu, zahrnující chybné skládání, tvorbu agregátů, změny intracelulární lokalizace a sekundární poškození buněčných struktur vč. mitochondrií [6].

Je však třeba zdůraznit, že mutace v genu *SOD1* se u člověka vyskytují jen asi u 1,2 % případů sporadické ALS [7].

Proto je pravděpodobné, že dominantní patofyziologické mechanizmy u většiny pacientů se mohou významně lišit od těchto experimentálních modelů založených na mutaci *SOD1*.

U pacientů s ALS byla opakovaně prokázána zvýšená oxidační zátěž v různých biologických tekutinách [8–12]. Z hlediska neinvazivního sledování se jeví jako výhodná moč, v níž byl opakovaně studován především 8 hydroxy 2' deoxyguanosin (8 oxodG) jako marker oxidativního poškození DNA, jehož hladiny jsou u ALS zvýšené oproti kontrolám a v čase narůstají [13,14]. V některých pracích byl dále hodnocen i 15 F_2t izoprostan jako marker lipidové peroxidace, což podporuje využití moči jako vhodné matrice pro dlouhodobé monitorování oxidačního stresu v průběhu onemocnění [8]. Močové biomarkery oxidačního stresu tak představují potenciální neinvazivní nástroj pro hodnocení ALS, jejich vztah ke klinickým parametrům však zůstává nejasný.

Cílem této studie nebylo pouze znovu prokázat přítomnost oxidačního stresu u pacientů s ALS, což již bylo opakovaně doloženo, ale zejména zjistit, zda jsou močové biomarkery oxidačního stresu spojeny s klinickými parametry. Pilotní studie se proto soustředila na tři klíčové otázky: zda koncentrace močových markerů korelují se závažností onemocnění dle škály Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale – Revised (ALSFRS R), zda souvisejí s délkou trvání choroby v době odběru moči a zda jsou asociovány s délkou přežití (počtem měsíců od odběru do úmrtí). Moč jako médium byla vybrána pro možnost neinvazivního odběru a její snadnou dostupnost.

Soubor a metodika

Soubor

Do pilotní observační studie bylo zařazeno celkem 34 pacientů s diagnózou ALS, kteří splňovali diagnostická kritéria dle Gold Coast, požadující progredující motorické postižení, současný nález známek postižení centrálního i periferního motoneuronu v jedné tělesné oblasti nebo postižení periferního motoneuronu alespoň ve dvou oblastech a vyloučení jiné příčiny těchto obtíží [15].

Jednalo se o pacienty s ALS sledované v nervosvalové poradně Neurologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové. Soubor tvořilo 25 mužů (74 %) a 9 žen (26 %). U žen byl u 4 pacientek (44 %) přítomen bulbární začátek onemocnění, u 5 pacientek (56 %) začínalo onemocnění na končetinách. U mužů byl bulbární začátek zaznamenán ve 4 případech (16 %), ostatní muži měli začátek onemocnění na končetinách. Nebyl zachycen familiární výskyt ALS. Průměrný věk sledovaných osob činil 59,7 roku (rozmezí 34–87 let). Všichni měli zachované renální funkce a všichni byli nekuřáci. Všichni byli léčeni riluzolem.

Funkční stav hodnocený pomocí škály ALSFRS-R dosahoval v průměru 34,7 bodu (rozmezí 10–46 bodů). Průměrná doba trvání onemocnění v době odběru biologického materiálu byla 26 měsíců (rozmezí 3–110 měsíců). Průměrná doba léčby riluzolem v době odběru biologického vzorku činila přibližně 16 měsíců, přičemž všichni pacienti užívali standardní dávku 100 mg denně. U 20 pacientů je dostupný údaj o době přežití od okamžiku stanovení hladin biomarkerů, která činila v průměru 22,9 měsíce (rozmezí 4–53 měsíců). Ostatní nemocní jsou dosud naživu.

Každému pacientovi byl odebrán vzorek ranní moči za standardizovaných podmínek (ranní moč, střední proud). Vzorky byly bezprostředně po odběru zamrazeny při –80 °C a analyzovány v jedné certifikované laboratoři, aby byla minimalizována preanalytická variabilita.

Analytické metody

Ve vzorcích moči byly stanoveny koncentrace následujících markerů oxidačního stresu:

- 3-nitrotyrosin (3-NT) – marker oxidativního poškození proteinů;
- 8 oxodG – marker poškození DNA;
- malondialdehyd (MDA) – produkt lipidové peroxidace;
- redukovaný glutathion (GSH);
- volné thiolové skupiny (NP-SH) a
- disulfidové formy (NP-SS-NP) – markery antioxidační kapacity.

Stanovení bylo provedeno validovanými metodami zahrnujícími kapalinovou chromatografii s hmotnostní spektrometrií na sestavě LC-20 Prominence ve spojení s UV/VIS spektrofotometrickým detektorem a QQQ 8030 MS detektorem (Shimadzu, Kjóto, Japonsko) nebo LTQ XL Linear Ion Trap detektorem vybaveným APCI zdrojem (Thermo Fisher Scientific, San Jose, USA). Pro přípravu vzorků byly využity běžně dostupné interní standardy a techniky jako derivatizace, extrakce na pevné fázi a kalibrační křivky v rozsahu odpovídajícím fyziologickým koncentracím. Analýzy probíhaly na pracovišti Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Použité metodiky vycházely z dříve publikovaných a validovaných postupů [16,17].

Charakteristika analyzovaných markerů

Zvolený panel močových biomarkerů zahrnuje ukazatele oxidativního a nitrosativního poškození proteinů (3 NT), lipidové peroxidace (MDA), oxidativního poškození DNA (8 oxodG) a markery antioxidační a thiol disulfidové rovnováhy (GSH, NP-SH, NP-SS-

proLékaře.cz | 27.10.2026

Tab. 1. Charakteristika močových biomarkerů oxidačního stresu použitých ve studii.

Marker	Druh markeru	Hlavní biologický význam	Důvod zařazení do studie	Vylučování / vztah k moči
3-NT	marker oxidativního a nitrosativního poškození proteinů	dlouhodobé proteinové poškození, nitrační stres	neinvazivní ukazatel systémového nitračního stresu	vzniká z nitrátovaných proteinů, je částečně metabolizován a z velké části vylučován močí
8-oxodG	marker oxidativního poškození DNA	kumulativní oxidativní poškození DNA	ukazatel genetického poškození zprostředkovaného oxidačním stresem	vzniká při opravě oxidovaného guaninu a je vylučován močí jako stabilní konečný produkt
MDA	produkt lipidové peroxidace	oxidativní poškození lipidových struktur	marker lipidové peroxidace a systémového oxidačního stresu	částečně vylučován močí; interpretaci komplikují dieta a preanalytické faktory
GSH	hlavní intracelulární antioxidant	udržování redoxní rovnováhy, detoxikace reaktivních sloučenin	ukazatel antioxidační kapacity a redoxní rovnováhy	změny vylučování mohou odrážet vyčerpání antioxidační kapacity
NP-SH	neproteinové thioly – redukovaná forma	dostupné volné thiolové skupiny v antioxidačním systému	charakterizuje redukovanou složku thiol-disulfidové rovnováhy.	nízké extracelulární koncentrace; jejich přítomnost v moči odráží stav systémového thiolového poolu
NP-SS-NP	disulfidová (oxidovaná) forma nízkomolekulárních thiolů	oxidovaná složka thiolového poolu, odraz oxidačního stresu	spolu s NP-SH popisuje thiol-disulfidovou rovnováhu a stupeň oxidačního stresu	vzniká oxidací NP-SH; poměr NP-SH/NP-SS-NP v moči odráží systémový redoxní stav

3-NT – 3-nitrotyrosin; 8-oxodG – 8-hydroxy-2'-deoxyguanosin; GSH – redukovaný glutathion; MDA – malondialdehyd; NP-SH – neproteinové thioly; NP-SS-NP – disulfidové formy neproteinových thiolů

-NP). Tyto parametry představují klíčové ukazatele vlivu oxidačního stresu na široké spektrum biologických molekul. Obdobné panely biomarkerů oxidativního a nitrosativního stresu byly opakovaně studovány jak u ALS, tak i u dalších neurodegenerativních onemocnění [13,14]. Charakteristika jednotlivých markerů, jejich biologický význam a vztah k vylučování močí jsou shrnuty v tab. 1 [14,18–31].

Použité statistické metody

Neparametrické korelační analýzy (Spearmanova, Kendallova analýza)

Spearmanova a Kendallova korelace jsou metody, které nevyžadují předpoklad normality rozdělení ani lineární vztah mezi proměnnými, a jsou tak vhodné pro biologická data, která často vykazují odlehlé hodnoty, nerovnoměrnou distribuci či omezený rozsah skóre. Spearmanův korelační koeficient vychází z pořadí hodnot a umožňuje zachytit obecné vzestupné či sestupné trendy mezi proměnnými. Kendallův tau-koeficient je alternativní neparametrickou metodou, která je ještě robustnější zejména u menších datových souborů nebo při výskytu extrémních hodnot.

Statistické analýzy byly provedeny v jazyce Python s využitím knihovny NumPy (verze 1.26.4) pro numerické operace, knihovny SciPy (verze 1.13.1) pro neparametrické korelace a testování hypotéz a knihovny statsmodels (verze 0.14.4) pro regresní modelování a odhad konfidenčních intervalů.

Nelineární regrese (polynomická regrese 2. stupně)

Z důvodu možné nelinearity vztahu mezi koncentracemi markerů oxidačního stresu a funkčním stavem pacientů (hodnoceným pomocí ALSFRS-R) jsme kromě neparametrických korelačních metod využili také kvadratickou regresní analýzu. Tento typ modelu umožňuje zachytit i zakřivené (např. U- nebo obráceně U-tvarované) vztahy, které by lineární metody mohly přehlédnout. Kvadratická regrese tak doplňuje korelační přístupy a umožňuje podrobnější zhodnocení komplexních souvislostí mezi proměnnými. V rámci modelu byly hodnoceny koeficient determinace (R^2) a statistická významnost kvadratického členu (hodnota p).

Výsledky a jejich interpretace

Močové biomarkery oxidačního stresu a funkční stav pacientů hodnocený pomocí škály ALSFRS-R

Nebyla prokázána žádná statisticky významná korelace mezi koncentracemi žádného ze sledovaných močových markerů oxidačního stresu a funkčním stavem pacientů hodnoceným pomocí škály ALSFRS R (všechny $p > 0,05$). Nejvyšší, avšak stále statisticky nevýznamný trend byl pozorován mezi hladinami GSH a ALSFRS R (Spearman $r = 0,31$; $p = 0,10$), což svědčí pouze pro slabou tendenci k lepšímu funkčnímu stavu u pacientů s vyššími hodnotami GSH. U 3-NT byl vztah k ALSFRS R zanedbatelný ($r = 0,07$; $p = 0,73$) a obdobně u ostatních sledovaných markerů se korelace pohybovaly v pásmu slabých až velmi slabých závislostí, bez zřetelného trendu. Celkově tak v našem souboru nebyla v moči prokázána jednoznačná vazba mezi úrovní oxidačního stresu a aktuálním funkčním stavem nemocných (tab. 2A).

Délka trvání onemocnění a močové biomarkery oxidačního stresu

Naopak při hodnocení vztahu k délce trvání onemocnění se ukázaly významné souvislosti u vybraných markerů. Hladiny 8 oxodG v moči vykazovaly pozitivní a statisticky významnou korelaci s dobou trvání ALS (Spearman $r = 0,34$; $p = 0,049$; Kendall $\tau = 0,25$; $p = 0,050$), což ukazuje na nárůst tohoto markeru s delším trváním choroby. Ještě výraznější vztah byl zaznamenán u GSH: hladiny GSH v moči negativně korelovaly s dél-

proLékaře.cz | 27.10.2026

Tab. 2A. Vztah močových biomarkerů oxidačního stresu k funkčnímu stavu hodnocenému pomocí ALSFRS-R (n = 34).

Marker	n	R^2 (kvadratická regrese)	r (Spearman)	p (Spearman)	τ (Kendall)	p (Kendall)
3-NT	34	0,07	0,07	0,73	0,04	0,78
8-oxodG	34	0,01	–0,20	0,29	–0,16	0,24
MDA	34	0,14	–0,20	0,29	–0,15	0,27
GSH	34	0,09	0,31	0,1	0,22	0,1
NP-SH	34	0,01	0,24	0,21	0,15	0,27
NP-SS-NP	34	0,05	0,12	0,55	0,09	0,49

Tab. 2B. Vztah močových biomarkerů oxidačního stresu k délce trvání onemocnění (n = 34).

Marker	n	R^2 (kvadratická regrese)	r (Spearman)	p (Spearman)	τ (Kendall)	p (Kendall)
3-NT	34	0,07	0,11	0,52	0,09	0,48
8 oxodG	34	0,01	0,34	0,049	0,25	0,05
MDA	34	0,14	0,29	0,09	0,20	0,10
GSH	34	0,09	–0,59	<0,001	–0,41	<0,001
NP-SH	34	0,01	–0,11	0,54	–0,07	0,64
NP-SS-NP	34	0,05	–0,02	0,91	–0,01	0,93

Tab. 2C. Vztah močových biomarkerů oxidačního stresu k délce přežití (měsíce do úmrtí od odběru moči) (n = 20).

Marker	n	R^2 (kvadratická regrese)	r (Spearman)	p (Spearman)	τ (Kendall)	p (Kendall)
3-NT	20	0,13	–0,32	0,18	–0,20	0,22
8 oxodG	20	0,28	0,16	0,50	0,11	0,52
MDA	20	0,05	0,05	0,84	0,02	0,90
GSH	20	0,22	–0,31	0,18	–0,29	0,08
NP-SH	20	0,0758	0,01	0,96	0,01	0,95
NP-SS-NP	20	0,0023	–0,17	0,48	–0,14	0,40

3 NT – 3 nitrotyrosin; 8 oxodG – 8 hydroxy 2′ deoxyguanosin; ALSFRS R – Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale – Revised; GSH – redukovaný glutathion; MDA – malondialdehyd; n – počet; NP-SH – neproteinové thioly; NP-SS-NP – disulfidové formy neproteinových thiolů; r – Spearmanův korelační koeficient; R^2 – koeficient determinace kvadratické (polynomické) regrese 2. stupně; τ – Kendallův tau

kou trvání nemoci (Spearman r = –0,59; p = 0,00016; Kendall τ = –0,41; p = 0,00057), takže nižší hodnoty GSH byly statisticky signifikantně spojeny s delším trváním ALS.

U MDA byl patrný pouze slabý pozitivní trend na hranici statistické významnosti (p ≈ 0,09), který nebyl potvrzen Kendallovým testem, a proto jej nelze považovat za průkazný. Ostatní sledované markery (3 NT, NP-SH, NP-SS-NP) statisticky významnou souvislost s délkou trvání onemocnění nevykazovaly (tab. 2B).

Perspektiva přežití od stanovení hladin močových biomarkerů oxidačního stresu

Při analýze vztahu mezi močovými biomarkery a perspektivou následného přežití (počtem měsíců od stanovení hladin močových biomarkerů do úmrtí pacienta) nebyla zjištěna žádná statisticky významná korelace. U žádného z hodnocených markerů (8 oxodG, GSH, MDA, 3 NT, NP-SH, NP-SS-NP) se nepodařilo prokázat, že by jeho výchozí koncentrace predikovala délku přežití (všechny p > 0,05); močové ukazatele oxidačního stresu se tak v našem souboru neukázaly jako prognostické biomarkery (tab. 2C).

Diskuze

V této pilotní studii byly prokázány významné souvislosti mezi vybranými močovými biomarkery oxidačního stresu a délkou trvání onemocnění u pacientů s ALS. Nejvýznamnějším nálezem byla statisticky významná negativní korelace mezi koncen-

proLékaře.cz | 27.10.2026

trací GSH v moči a délkou trvání nemoci. Tento vztah naznačuje postupné vyčerpávání antioxidační kapacity organizmu v průběhu progrese ALS a je v souladu s předpokládanou důležitou rolí oxidačního stresu v její patogenezi. Naproti tomu nebyl zjištěn statisticky významný vztah žádného ze sledovaných markerů k funkčnímu stavu hodnocenému škálou ALSFRS-R ani k následné délce přežití, což naznačuje, že močové biomarkery spíše odrážejí chronickou oxidační zátěž než aktuální klinický stav či prognózu.

Pozitivní korelace mezi 8 oxodG a délkou trvání ALS je v souladu s biologickou podstatou tohoto markeru. 8 oxodG vzniká jako vedlejší produkt reparace DNA poškozené oxidačním stresem [20]. Guanin, nejvíce náchylná nukleová báze k oxidaci, se působením reaktivních kyslíkových radikálů mění na 8 oxoguanin, který je specifickými enzymy (zejména 8-oxoguanin DNA glykosylázou) odstraněn mechanizmem excizní reparace bází [32]. Po vyštěpení není 8 oxodG dále významně metabolizován a je vylučován močí, takže jeho koncentrace v moči slouží jako nepřímý ukazatel probíhající reparace DNA a expozice oxidačnímu stresu [33–35] .

Nárůst 8 oxodG v moči s délkou trvání ALS v naší studii podporuje úvahu o 8 oxodG jako markeru kumulativního oxidačního poškození DNA. 8 oxodG byl validován jako močový biomarker oxidačního stresu v experimentálních zvířecích modelech [36]. Dat pocházejících ze studií s lidskými subjekty je však zatím málo a stále není jasné, jak výrazně se na hladinách 8 oxodG v moči podílí interindividuální variabilita reparační kapacity DNA a jak velká je intraindividuální variabilita v čase. Přesto je tento marker považován za potenciálně užitečný a spolehlivý při hodnocení v moči zejména pro monitoraci změn oxidačního stresu v čase [37].

U našich pacientů jsme pozorovali, že koncentrace močového 8 oxodG narůstá s délkou trvání ALS. Tento nález naznačuje, že u nemocných s delším trváním onemocnění dochází k perzistujícímu, chronicky zvýšenému oxidačnímu poškození DNA, které vede k trvale zvýšené aktivitě základní excizní reparace DNA a následně i k vyššímu „okamžitému" vylučování 8 oxodG močí. V tomto kontextu lze 8 oxodG chápat jako krátkodobě reagující ukazatel aktuální intenzity opravy DNA, která je ovšem u pacientů s delší dobou trvání ALS dlouhodobě zvýšená v důsledku kumulativní oxidační zátěže, a proto u nich dosahuje vyšších hodnot i při jednorázovém odběru.

Redukovaný glutathion v nervové tkáni hraje zásadní roli v udržování redoxní homeostázy a ochraně před oxidačním poškozením [38]. Neurony jako postmitotické buňky s omezenou regenerační kapacitou jsou k nadbytku reaktivních kyslíkových radikálů zvlášť vnímavé. GSH u nich zajišťuje detoxikaci těchto radikálů, podporu mitochondriálních funkcí a ochranu proteinů, lipidů i DNA [39]. Astrocyty mají oproti neuronům vyšší schopnost syntézy GSH a podílejí se na udržování redoxního prostředí v CNS exportem GSH a jeho prekurzorů do extracelulárního prostoru, odkud je neurony využívají pro vlastní syntézu. Jakékoli narušení této spolupráce mezi gliemi a neurony nebo snížení syntézy GSH může přispívat k selektivní vulnerabilitě neuronálních populací, což je považováno za významný patogenetický mechanizmus u neurodegenerativních onemocnění vč. ALS [38–40].

Přestože je GSH převážně intracelulární molekula, může být za určitých podmínek detekován i v moči [25,41]; při vhodně zvolených analytických podmínkách mohou koncentrace močového GSH sloužit jako nepřímý ukazatel systémové antioxidační kapacity.

Za normálních fyziologických podmínek je glomerulární filtrace GSH omezená, protože GSH je účinně reabsorbován v proximálních tubulech a následně intracelulárně štěpen γ glutamyltransferázou na jednotlivé aminokyseliny určené k resyntéze, což vede k nízkým koncentracím GSH v moči za homeostatických podmínek [28].

V našem souboru docházelo k postupnému poklesu koncentrace GSH v moči s délkou trvání onemocnění, což interpretujeme jako odraz dlouhodobého vyčerpání glutathionových rezerv a oslabení obranných mechanizmů vůči oxidačnímu stresu. Tato interpretace zapadá do širšího konceptu, podle něhož dochází u ALS k vyčerpávání glutathionového systému jak na úrovni centrálního nervového systému, tak v periferních kompartmentech.

Studie využívající protonovou MR spektroskopii prokázala přibližně o třetinu nižší hladiny GSH v motorickém kortexu pacientů s ALS ve srovnání se zdravými kontrolami, což také podporuje význam oxidačního stresu v patogenezi tohoto onemocnění. Zajímavé je, že zatímco kortikální N acetylaspartát jako marker neuronální integrity nevykazoval při normalizaci k vodě signifikantní pokles, redukce GSH byla zřetelná již v relativně časných stadiích a nezávisle na zjevném úbytku neuronů, což naznačuje, že porucha redoxní homeostázy může předcházet manifestní neurodegeneraci [9–11,42]. Negativní korelace mezi močovým GSH a délkou trvání ALS v naší kohortě může představovat systémový odraz těchto centrálních změn. Postupné vyčerpávání glutathionových rezerv v CNS i periferních tkáních totiž vede k poklesu dostupného GSH v mozku, v cirkulaci a následně i v moči.

Společné hodnocení močového 8 oxodG jako ukazatele kumulativního oxidačního poškození DNA a močového GSH jako potenciálního markeru systémové antioxidační kapacity může u pacientů s ALS poskytnout ucelenější pohled na rovnováhu mezi oxidační zátěží a obrannými mechanizmy organizmu.

Naše výsledky je zároveň třeba vnímat v kontextu dosavadních studií. U pacientů s ALS byla opakovaně prokázána zvýšená oxidační zátěž v různých biologických tekutinách. V mozkomíšním moku byl popsán výrazný vzestup 3 NT u sporadické ALS a také zvýšený podíl oxidované formy koenzymu Q10, který navíc nepříznivě koreloval s délkou trvání onemocnění [10,11]. Rozsáhlá metaanalýza ukázala u pacientů s ALS zvýšené hladiny markerů oxidačního stresu, jako jsou MDA, 8 oxodG a produkty oxidace proteinů, a naopak snížení GSH a kyseliny močové [9]. Ve studii autorů Mitsumoto et al. byly u pacientů s ALS opakovaně měřeny hladiny plazmatického kreatininu, plazmatické kyseliny močové a močových markerů oxidačního stresu (8 oxodG a 15 F_2t izoprostan) a byl hodnocen jejich vztah k ALSFRS R a době přežití; koncentrace močových markerů oxidačního stresu v čase narůstaly, avšak měly omezenou prognostickou hodnotu, zatímco plazmatický kreatinin byl významně spojen jak s funkčním stavem, tak s dobou přežití [8]. Bogdanov et al. prokázali zvýšené hladiny 8 oxodG v moči, plazmě a mozkomíšním moku u pacientů s ALS oproti kontrolám a ukázali, že jeho koncentrace v moči v čase narůstají, což také podporuje využití moči jako vhodné matrice pro sledování oxidačního stresu v průběhu onemocnění [12]. Naše výsledky jsou s těmito pozorováními v souladu, neboť podporují zapojení oxidačního stresu do patogeneze ALS a naznačují, že močové biomarkery, zejména 8 oxodG a GSH, mohou odrážet kumulativní oxidační zátěž v průběhu onemocnění, avšak bez jednoznačné vazby na funkční stav a přežití v našem pilotním souboru.

Naše studie má několik limitací. Byla založena na jednorázovém odběru moči u kaž-

proLékaře.cz | 27.10.2026

dého účastníka, což neumožňuje zachytit intraindividuální variabilitu hladin studovaných markerů v čase ani detailněji popsat jejich dynamiku v průběhu onemocnění. Dále jsme neměli k dispozici věkově a komorbiditami plně spárovanou kontrolní skupinu. Budoucí práce by proto měla zahrnovat opakované odběry moči u týchž pacientů a také srovnání hodnot s věkově vázanými kontrolami, ideálně v rámci větších longitudinálních kohort.

Závěrem lze říci, že v této pilotní studii hladiny 8 oxodG v moči narůstaly a hladiny GSH klesaly s délkou trvání ALS, což naznačuje souvislost mezi močovými biomarkery oxidačního stresu a kumulativní zátěží onemocnění. Naopak jsme neprokázali vztah mezi koncentrací sledovaných markerů a funkčním stavem hodnoceným pomocí ALSFRS R ani s délkou následného přežití, a tyto markery se tak v našem souboru neukázaly jako prognostické ukazatele.

Močové biomarkery oxidačního stresu by v budoucnu mohly rozšířit spektrum dostupných biomarkerů ALS a sloužit k neinvazivnímu monitorování oxidačního poškození, jejich klinický význam je však třeba ověřit ve větších longitudinálních studiích.

Etické aspekty

Práce byla provedena ve shodě s Helsinskou deklarací z roku 1975 a jejími revizemi v letech 2004 a 2008. Studie byla schválena Etickou komisí FN Hradec Králové dne 7. 3. 2025 (č. j. 202503 P05).

Konflikt zájmů

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádný konflikt zájmů.

Literatura

1. Hardiman O, Al-Chalabi A, Chio A et al. Amyotrophic lateral sclerosis. Nat Rev Dis Primers 2017; 3: 17071. doi: 10.1038/nrdp.2017.71.

2. Kiernan MC, Vucic S, Cheah BC et al. Amyotrophic lateral sclerosis. Lancet 2011; 377(9769): 942–955. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61156-7.

3. Singh A, Kukreti R, Saso L et al. Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. Molecules 2019; 24(8): 1583. doi: 10.3390/molecules24081583.

4. Chang Y, Kong Q, Shan X et al. Messenger RNA oxidation occurs early in disease pathogenesis and promotes motor neuron degeneration in ALS. PLoS One 2008; 3(7): e2849. doi: 10.1371/journal.pone.0002849.

5. Warita H, Hayashi T, Murakami T et al. Oxidative damage to mitochondrial DNA in spinal motoneurons of transgenic ALS mice. Mol Brain Res 2001; 89(1): 147–152. doi: 10.1016/S0169-328X(01)00029-8.

6. Sau D, De Biasi S, Vitellaro-Zuccarello L et al. Mutation of SOD1 in ALS: a gain of a loss of function. Hum Mol Genet 2007; 16(13): 1604–1618. doi: 10.1093/hmg/ddm110.

7. Zou ZY, Zhou ZR, Che CH et al. Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2017; 88(7): 540–549. doi: 10.1136/jnnp-2016-315018.

8. Mitsumoto H, Garofalo DC, Santella RM et al. Plasma creatinine and oxidative stress biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener 2020; 21(3–4): 263–272. doi: 10.1080/21678421.2020.1746810.

9. Wang Z, Bai Z, Qin X et al. Aberrations in oxidative stress markers in amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. Oxid Med Cell Longev 2019; 2019: 1712323. doi: 10.1155/2019/1712323.

10. Tohgi H, Abe T, Yamazaki K et al. Remarkable increase in cerebrospinal fluid 3-nitrotyrosine in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. Ann Neurol 1999; 46(1): 129–131. doi: 10.1002/1531-8249(199907)46:1<129::AID-ANA21>3.0.CO;2-W.

11. Murata T, Ohtsuka C, Terayama Y. Increased mitochondrial oxidative damage in patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol Sci 2008; 267(1–2): 66–69. doi: 10.1016/j.jns.2007.09.038.

12. Bogdanov M, Brown RH, Matson W et al. Increased oxidative damage to DNA in ALS patients. Free Radic Biol Med 2000; 29(7): 652–658. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00349-X.

13. Baillet A, Chanteperdrix V, Trocmé C et al. The role of oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis and Parkinson's disease. Neurochem Res 2010; 35(10): 1530–1537. doi: 10.1007/s11064-010-0212-5.

14. Bandookwala M, Sengupta P. 3-Nitrotyrosine: a versatile oxidative stress biomarker for major neurodegenerative diseases. Int J Neurosci 2020; 130(10): 1047–1062. doi: 10.1080/00207454.2020.1713776.

15. Vucic S, Ferguson TA, Cummings C et al. Gold Coast diagnostic criteria: implications for ALS diagnosis and clinical trial enrollment. Muscle Nerve 2021; 64(5): 532–537. doi: 10.1002/mus.27392.

16. Váňová N, Múčková L, Kalíšková T et al. In vitro evaluation of oxidative stress induced by oxime reactivators of acetylcholinesterase in HepG2 cells. Chem Res Toxicol 2023; 36(12): 1912–1920. doi: 10.1021/acs.chemrestox.3c00203.

17. Vanova N, Muckova L, Schmidt M et al. Simultaneous determination of malondialdehyde and 3-nitrotyrosine in cultured human hepatoma cells by liquid chromatography-mass spectrometry. Biomed Chromatogr 2018; 32(12): e4349. doi: 10.1002/bmc.4349.

18. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: redox pathways in molecular medicine. Proc Natl Acad Sci U S A 2018; 115(23): 5839–5848. doi: 10.1073/pnas.1804932115.

19. Schwemmer M, Fink B, Köckerbauer R et al. How urine analysis reflects oxidative stress – nitrotyrosine as a potential marker. Clin Chim Acta 2000; 297(1–2): 207–216. doi: 10.1016/S0009-8981(00)00247-3.

20. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev 2009; 27(2): 120–139. doi: 10.1080/10590500902885684.

21. Wu LL, Chiou CC, Chang PY et al. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. Clin Chim Acta 2004; 339(1–2): 1–9. doi: 10.1016/j.cccn.2003.09.010.

22. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radic Biol Med 1990; 9(6): 515–540. doi: 10.1016/0891-5849(90)90131-2.

23. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2005; 15(4): 316–328. doi: 10.1016/j.numecd.2005.05.003.

24. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges. Anal Biochem 2017; 524: 13–30. doi: 10.1016/j.ab.2016.10.021.

25. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. Mol Aspects Med 2009; 30(1–2): 1–12. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.006.

26. Wu G, Fang YZ, Yang S et al. Glutathione metabolism and its implications for health. J Nutr 2004; 134(3): 489–492. doi: 10.1093/jn/134.3.489.

27. Meister A, Anderson ME. Glutathione. Annu Rev Biochem 1983; 52: 711–760. doi: 10.1146/annurev.bi.52.070183.003431.

28. Lash LH. Renal glutathione: dual roles as antioxidant protector and bioactivation promoter. Biochem Pharmacol 2024; 228: 116181. doi: 10.1016/j.bcp.2024.116181.

29. Ulrich K, Jakob U. The role of thiols in antioxidant systems. Free Radic Biol Med 2019; 140: 14–27. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.035.

30. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. Clin Biochem 2014; 47(18): 326–332. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.09.026.

31. Turell L, Radi R, Alvarez B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. Free Radic Biol Med 2013; 65: 244–253. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.050.

32. Zhao F, Zhu J, Shi L et al. OGG1 in the kidney: beyond base excision repair. Oxid Med Cell Longev 2022; 2022: 5774641. doi: 10.1155/2022/5774641.

33. Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of *in vivo* oxidative DNA damage. Proc Natl Acad Sci U S A 1989; 86(24): 9697–9701. doi: 10.1073/pnas.86.24.9697.

34. Suzuki J, Inoue Y, Suzuki S. Changes in the urinary excretion level of 8-hydroxyguanine by exposure to reactive oxygen-generating substances. Free Radic Biol Med 1995; 18(3): 431–436. doi: 10.1016/0891-5849(94)00152-A.

35. Moriwaki H. Determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in urine by liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry. Anal Sci 2000; 16(2): 105–106. doi: 10.2116/analsci.16.105.

36. Kadiiska MB, Gladen BC, Baird DD et al. Biomarkers of oxidative stress study II. Are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl4 poisoning? Free Radic Biol Med 2005; 38(5): 698–710. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.09.017.

37. Il'yasova D, Scarbrough P, Spasojevic I. Urinary biomarkers of oxidative status. Clin Chim Acta 2012; 413(19–20): 1446–1453. doi: 10.1016/j.cca.2012.06.012.

38. Kim K. Glutathione in the nervous system as a potential therapeutic target to control the development and progression of amyotrophic lateral sclerosis. Antioxidants (Basel) 2021; 10(7): 1011. doi: 10.3390/antiox10071011.

39. Dringen R, Arend C. Glutathione metabolism of the brain – the role of astrocytes. J Neurochem 2025; 169(5): e70073. doi: 10.1111/jnc.70073.

40. Vargas MR, Johnson JA. The Nrf2-ARE cytoprotective pathway in astrocytes. Expert Rev Mol Med 2009;11:e17. doi: 10.1017/S1462399409001094.

41. Zhang W, Li P, Geng Q et al. Simultaneous determination of glutathione, cysteine, homocysteine, and cysteinylglycine in biological fluids by ion-pairing high-performance liquid chromatography coupled with pre-column derivatization. J Agric Food Chem 2014; 62(25): 5845–5852. doi: 10.1021/jf5014007.

42. Weiduschat N, Mao X, Hupf J et al. Motor cortex glutathione deficit in ALS measured *in vivo* with the J-editing technique. Neurosci Lett 2014; 570: 102–107. doi: 10.1016/j.neulet.2014.04.020.