

Stanovení tau proteinu v mozkomíšním moku pacientů s roztroušenou sklerózou dvěma soupravami ELISA

Fialová L.¹, Bartoš A.², Švarcová J.³, Doležil D.², Malbohan I.^{1,3}

¹Univerzita Karlova v Praze, 1. LF a VFN, Ústav lékařské biochemie, Praha

²Univerzita Karlova v Praze, 3. LF a FNKV, Neurologická klinika, Praha

³Univerzita Karlova v Praze, 1. LF a VFN, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, Praha

SOUHRN

Cíl studie: Tau protein je neurocytoskeletální bílkovina, jejíž koncentrace se zvyšují v mozkomíšním moku (MMM) při poškození axonů a neuronální degeneraci. Cílem práce bylo vyšetřit tau protein v MMM pacientů s roztroušenou sklerózou (RS) a dalších neurologických pacientů a současně porovnat dvě soupravy ELISA na stanovení celkového tau proteinu.

Typ studie: Průřezová.

Název a sídlo pracoviště: Univerzita Karlova v Praze, 1. LF a VFN, Ústav lékařské biochemie, Praha; Univerzita Karlova v Praze, 3. LF a FNKV, Neurologická klinika, Praha; Univerzita Karlova, 1. LF a VFN, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, Praha.

Materiál a metody: Koncentrace celkového tau proteinu v MMM byla porovnáována mezi 20 pacienty s RS a 18 pacienty s různými neurologickými onemocněními, u nichž se nepředpokládala přítomnost neuronální degenerace. Celkový tau protein byl měřen dvěma soupravami ELISA INNOTEST™ hTAU Ag (INNOGENETICS N.V. Belgie) a Human Tau (total) (Invitrogen, USA).

Výsledky: Základní analytické vlastnosti obou souprav ELISA jsou srovnatelné. Koncentrace celkového tau proteinu získané soupravou INNOTEST™ hTAU Ag dosahovaly významně vyšších hodnot ve srovnání se soupravou Human Tau (total) ($p < 0,0001$). Byla však prokázána dobrá shoda pomocí Blandova-Altmanova grafu a Passingovy-Bablokovy regrese. Koncentrace celkového tau proteinu v mozkomíšním moku se statisticky významně nelišily mezi RS [medián (25.–75. percentil; Human Tau (total): 75 (58–133) ng/l; INNOTEST™: 127 (90–221) ng/l] a kontrolními neurologickými pacienty [Human Tau (total) 62 (46–94) ng/l; INNOTEST™: 119 (69–185) ng/l].

Závěr: Při hodnocení absolutních koncentrací celkového tau proteinu v MMM je nutné přihlížet k použité soupravě. Vzhledem ke shodě mezi výsledky je možné přepočítat koncentrace mezi soupravami pomocí rovnice Passingovy-Bablokovy regrese. Zdá se, že tau protein spíše není vhodným ukazatelem neuronálního postižení u RS.

Klíčová slova: tau protein, roztroušená skleróza, ELISA, mozkomíšní mok.

SUMMARY

Fialová L., Bartoš A., Švarcová J., Doležil D., Malbohan I.: Tau protein determination in cerebrospinal fluid in patients with multiple sclerosis by two ELISA kits

Objective: Tau protein belongs to the neuro-cytoskeletal proteins. Its concentration increases in the cerebrospinal fluid (CSF) due to the axonal damage. The aim of the study was to examine the CSF levels of total tau protein in the patients with multiple sclerosis (MS) and others neurological diseases and to compare two ELISA kits for the tau determination.

Design: cross-sectional.

Material and methods: We compared tau protein concentrations in CSF between 20 MS patients and 18 patients with other neurological diseases without signs of neuronal degeneration. Total tau protein was measured by two ELISA kits – INNOTEST™ hTAU Ag (INNOGENETICS N.V. Belgie) and Human Tau (total) (Invitrogen, USA).

Results: The basic analytical characteristics of both ELISA kits were similar. A good agreement between two ELISA kits was obtained by Bland-Altman plot as well as by Passing-Bablok regression. However, the results obtained by INNOTEST™ hTAU Ag were significantly higher in comparison with those obtained by Human Tau (total) ELISA ($p < 0.0001$). The CSF tau levels in the MS patients did not differ from those in the control group [median (25th–75th) percentile; MS group: Human Tau (total) 75 (58–133) ng/l; INNOTEST™ 127 (90–221) ng/l; controls: Human Tau (total) 62 (46–94) ng/l; INNOTEST™ 119 (69–185) ng/l].

Conclusion: It is necessary to take in consideration the used ELISA kits in the evaluation of the results of the total tau examination. A conversion of the concentrations measured by one kit can be calculated to those by the other kit using a Passing-Bablok regression equation. It seems that CSF tau concentration is not an appropriate biomarker of neuronal degeneration in MS patients.

Key words: tau protein, multiple sclerosis, ELISA, cerebrospinal fluid.

Úvod

Tau protein je nízkomolekulární neurocytoskeletální protein vyskytující se hojně v axonech neuronů [2]. V normálním mozku bylo popsáno 6 různých izofo-

rem, lišících se délkou polypeptidového řetězce [26]. Tau protein významným způsobem ovlivňuje výstavbu mikrotubulů [5]. Tato funkce je řízena fosforylací a defosforylací, které se odehrávají na četných místech molekuly tau proteinu a je zprostředkována kinázami

a fosfatázami. Defosforylovaný tau protein, který se vyznačuje vyšší afinitou k mikrotubulům, umožňuje jejich polymerizaci a stabilizaci. Fosforylace tau proteinu je naopak spojena s poklesem jeho vazebných schopností. Fosforylovaný tau protein se uvolňuje z vazby k mikrotubulům, které se potom rozpadají. Za fyziologických okolností je udržována rovnováha mezi fosforylací a defosforylací tak, aby byla zachována potřebná stabilita mikrotubulů [19].

Uvolněné molekuly fosforylovaného tau proteinu vytvářejí párová helikální filamenta, která agregují za vzniku neurofibrilárních klubíček [26]. Ty se obtížně odbourávají, a proto vytvářejí intracelulární depozita. Přítomnost agregátů tau proteinu je typická pro skupinu neurodegenerativních onemocnění označovaných jako tauopatie, jejichž nejvýznamnějším zástupcem je Alzheimerova nemoc (AN) [10, 12, 22, 26]. Probíhající patologický proces může vyústit až v rozpad buňky s následným uvolněním tau proteinu do extracelulárního prostoru.

Celkový tau protein v mozkomíšním moku (MMM) patří k biologickým ukazatelům AN. Společně s fosforylovaným tau proteinem a peptidem amyloidu- β je součástí tzv. tripletu, jehož vyšetření patří mezi podpůrná diagnostická kritéria AN. Typickým nálezem v mozkomíšním moku u AN jsou zvýšené koncentrace celkového a fosforylovaného tau proteinu a snížené koncentrace peptidu amyloidu- β [7, 11, 17, 25].

Zvýšení celkového tau proteinu ale není specifický nález pouze pro Alzheimerovu nemoc. Se zvýšenými koncentracemi se můžeme setkat i u dalších onemocnění doprovázených poškozením axonů a neuronální degenerací. Velmi vysoké hladiny tau proteinu byly prokázány u nemocných s Creutzfeldtovou-Jakobovou chorobou a výrazný přechodný nárůst byl pozorován u poranění mozku [9, 24].

Pomocí komerčně dostupných imunoanalytických souprav lze stanovovat koncentraci jak celkového tau proteinu, tak koncentraci pouze fosforylované formy. Soupravy na stanovení celkového tau proteinu využívají monoklonální protilátky rozpoznávající všechny izofomy bez ohledu na jejich fosforylací. Monoklonální protilátky v soupravách určených pro vyšetření fosforylovaného tau proteinu reagují se specifickými fosforylovanými oblastmi molekuly tau proteinu. Zdá se, že celkový tau protein odráží míru poškození axonů na rozdíl od fosforylovaných molekul tau proteinu, které jsou ukazatelem tvorby neurofibrilárních klubíček u AN [3, 14, 18].

V této studii jsme porovnávali stanovení celkového tau proteinu dvěma různými soupravami ELISA v MMM pacientů s roztroušenou sklerózou (RS) a pacientů s dalšími neurologickými onemocněními. Roztroušená skleróza je závažné neurologické onemocnění doprovázené projevy neurodegenerace spojené s poškozením axonů [27], kde lze očekávat zvýšené koncentrace různých složek neurocytoskeletu včetně tau proteinu v MMM. Pro testování jsme zvolili soupravu INNOTEST™ hTAU Ag od firmy INNOGENETICS, jejíž použití dominuje v klinických studiích, a výsledky porovnali s hodnotami získanými soupravou Human Tau (total) od firmy Invitrogen.

Materiál a metody

Soupravy ELISA na stanovení tau proteinu

Souprava INNOTEST™ hTAU Ag (INNOGENETICS, Ghent, Belgie) nesoucí značku CE je určena pro *in vitro* diagnostické účely, souprava Human Tau (total) (Invitrogen Corporation, Camarillo, CA) pouze pro výzkumné účely. Testované soupravy ELISA slouží ke stanovení koncentrace celkového lidského tau proteinu v mozkomíšním moku (obě soupravy) a médiích buněčných kultur (Invitrogen) a jsou založeny na principu sendvičové enzymové imunoanalýzy.

V soupravě INNOTEST™ hTAU Ag je na dno jamek mikrotitračních proužků navázána monoklonální protilátka proti lidskému tau AT 120. Do jamek potažených protilátkou jsou přidávány vzorky, popř. standardy, společně s konjugátem. Jako konjugát slouží směs dvou biotinylovaných monoklonálních anti-tau specifických protilátek HT7 a BT2. Po inkubaci, během níž probíhá imunochemická reakce tau proteinu s protilátkami, a po následném odstranění nenavázaných složek, je biotin detekován pomocí dalšího konjugátu, kterým je streptavidin s křenovou peroxidázou.

Souprava Human Tau (total) (Invitrogen) využívá pro potažení jamek mikrotitračních proužků monoklonální protilátku specificky reagující s tau proteinem. K imunokomplexům vzniklým zachycením tau proteinu přítomného ve vzorcích, popř. standardech, je přidávána další, tentokrát králičí polyklonální protilátka proti lidskému tau proteinu. Detekce vzniklého sendvičového imunokomplexu je prováděna v následné imunochemické reakci pomocí konjugátu antikráličích protilátek s křenovou peroxidázou.

Podle firemních údajů jsou základní parametry obou ELISA metod srovnatelné. Souprava INNOTEST™ hTAU Ag má menší rozsah kalibrace, ale je dostačující vzhledem k očekávaným hodnotám u pacientů trpících Alzheimerovou nemocí, které se udávají v různých evropských zemích v rozsahu 195–450 ng/l [16]. Ani udávaná nižší citlivost u soupravy INNOTEST™ hTAU Ag nepředstavuje problém, neboť u tau proteinu nás zajímají spíše zvýšené koncentrace. Jako standard používají obě soupravy rekombinantní lidský tau protein. Určitou nevýhodou obou souprav je, že součástmi ani jedné z nich nebyly kontrolní vzorky.

Vyšetření tau proteinu soupravou INNOTEST™ hTAU Ag je rozloženo do dvou dnů. V případě tau proteinu není však prioritním požadavkem rychlost stanovení.

Absorbance byly měřeny pomocí ELISA readeru LabSystem Multiscan RC, Finland. U obou souprav jsme se při stanovení tau proteinu řídili pokyny výrobce.

Každý vzorek a standard byly vyšetřeny dvojmo.

Statistické metody

Vzhledem k počtu pacientů v jednotlivých skupinách a vzhledem k nenormálnímu rozdělení dat skupiny kontrol u hodnot získaných soupravou Human Tau (total) byl k testování rozdílů koncentrací mezi skupinami pacientů použit neparametrický Mann-Whitneyův U test. Koncentrace celkového tau proteinu získané dvěma různými ELISA soupravami byly srovnány po-

mocí Spearmanova korelačního koeficientu, Passingovy-Bablokovy regrese a rozdílového grafu podle Altmana a Blanda po logaritmické transformaci dat [6, 8]. Velikost rozdílů hodnot získaných dvěma soupravami ELISA byla testována pomocí Wilcoxonova párového testu. Výsledky byly hodnoceny jako statisticky významné při $p < 0,05$. Statistické zpracování bylo provedeno pomocí softwaru Statistica, verze 9 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) a MedCalc (Belgie).

Soubor

Oběma ELISA soupravami jsme analyzovali 38 vzorků mozkomíšního moku. Vzorky byly získány od 20 pacientů s roztroušenou sklerózou (věk: 38 ± 16 let; 16 žen). Diagnózu roztroušené sklerózy stanovil zkušený neurolog na základě mezinárodně uznávaných kritérií [23]. Kontrolní skupinu (KS) tvořilo 18 pacientů (věk: 36 ± 12 let; 15 žen) s různými neurologickými onemocněními, u nichž se nepředpokládala neuronální degenerace. Převažovali pacienti s vertebrogenním algickým syndromem, obrnou lícního nervu a bolestmi hlavy, u nichž z diferenciálně diagnostických důvodů bylo zapotřebí provést vyšetření mozkomíšního moku. Studie byla schválena Etickou komisí 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas.

Vzorky mozkomíšního moku byly odebrány standardním způsobem. Do doby analýzy tau proteinu byly skladovány při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Doba zmrazení nepřesáhla jeden rok. Před analýzou byly rozmrazeny poprvé.

Výsledky a diskuse

Srovnání základních analytických vlastností obou souprav je uvedeno v tabulce 1.

Koncentrace tau proteinu ve všech námi analyzovaných vzorcích mozkomíšního moku se pohybovaly v rozsahu kalibračních křivek.

Tabulka 2 uvádí základní statistické ukazatele pro výsledky získané oběma metodami. Výsledky hodnocení pomocí Bland-Altmanova rozdílového grafu jsou na obrázku 1. Hodnoty rozdílů pro jednotlivé vzorky s výjimkou jediného ležely v rozsahu limitů shody. Výsledky poskytnuté soupravou INNOTEST™ hTAU Ag (INNOGENETICS) dosahovaly signifikantně vyšších hodnot ve srovnání se soupravou Human Tau (total) (Invitrogen) ($p < 0,0001$). Z toho vyplývá, že není možné přímé srovnávání výsledků získaných testovanými soupravami. Nicméně mezi výsledky byla prokázána statisticky významná korelace pomocí Spearmanova koeficientu jak při celkovém hodnocení všech vzorků ($r = 0,98$; $p < 0,0001$; obr. 2), tak při oddělené analýze vzorků jednotlivých skupin pacientů (RS: $r = 0,92$; $p < 0,0001$; KS: $r = 0,99$; $p < 0,0001$). Passingova-Bablokova regrese nevykazovala významnou odchylku od linearity (obr. 3). Vzhledem ke shodě mezi výsledky je možné použít rovnici Passingovy-Bablokovy regrese k přepočtu koncentrací získaných jednou soupravou na koncentrace, které by byly přibližně naměřeny druhou soupravou (viz obr. 3).

Table 1. Performance characteristics of two ELISA assays used for measurements of total tau protein in CSF

	Human Tau (total)(Invitrogen)	INNOTEST™ hTAU Ag (INNOGENETICS)
Principle	enzyme immunoassay sandwich	enzyme immunoassay sandwich
Detection limit	< 12 ng/L	< 59.3 ng/L
Range of calibration	31.2–2000 ng/L	75–1200 ng/L
Standard	Recombinant lyophilized human tau-441	Recombinant lyophilized human tau
Performance	manual	manual
Reproducibility		
Intra-assay (%)	2.7–5.2	1.2–5.9
Inter-assay (%)	4.3–7.8	1.7–6.0

Table 2. CSF total tau protein concentrations in the controls and the multiple sclerosis patients using two ELISA kits

	Human Tau (total)(Invitrogen)		INNOTEST™ hTAU Ag (INNOGENETICS)	
	Controls (n = 18)	Multiple sclerosis (n = 20)	Controls (n = 18)	Multiple sclerosis (n = 20)
Mean \pm SD (ng/L)	72 \pm 33	134 \pm 163	130 \pm 65	204 \pm 225
Median (25 th – 75 th percentile) (ng/L)	62 (46–94)	75 (58–133)	119 (69–185)	127 (90–221)
Minimal – maximal values (ng/L)	26–135	23–707	47–266	32–1015

There was no significant difference in CSF total tau protein concentrations between the MS group and the controls (non-parametric Mann-Whitney U test).

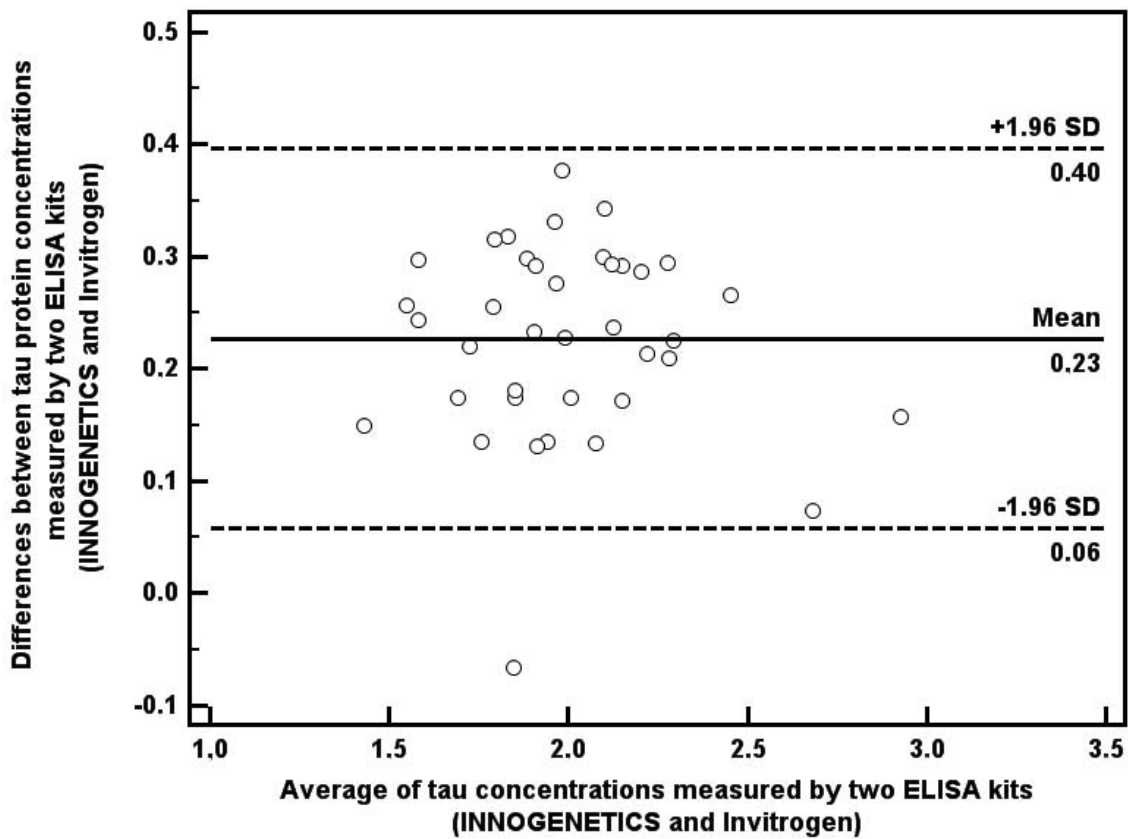


Fig. 1. Comparison of CSF tau protein concentrations (after logarithmic transformation) between two ELISA kits using Bland and Altman plot

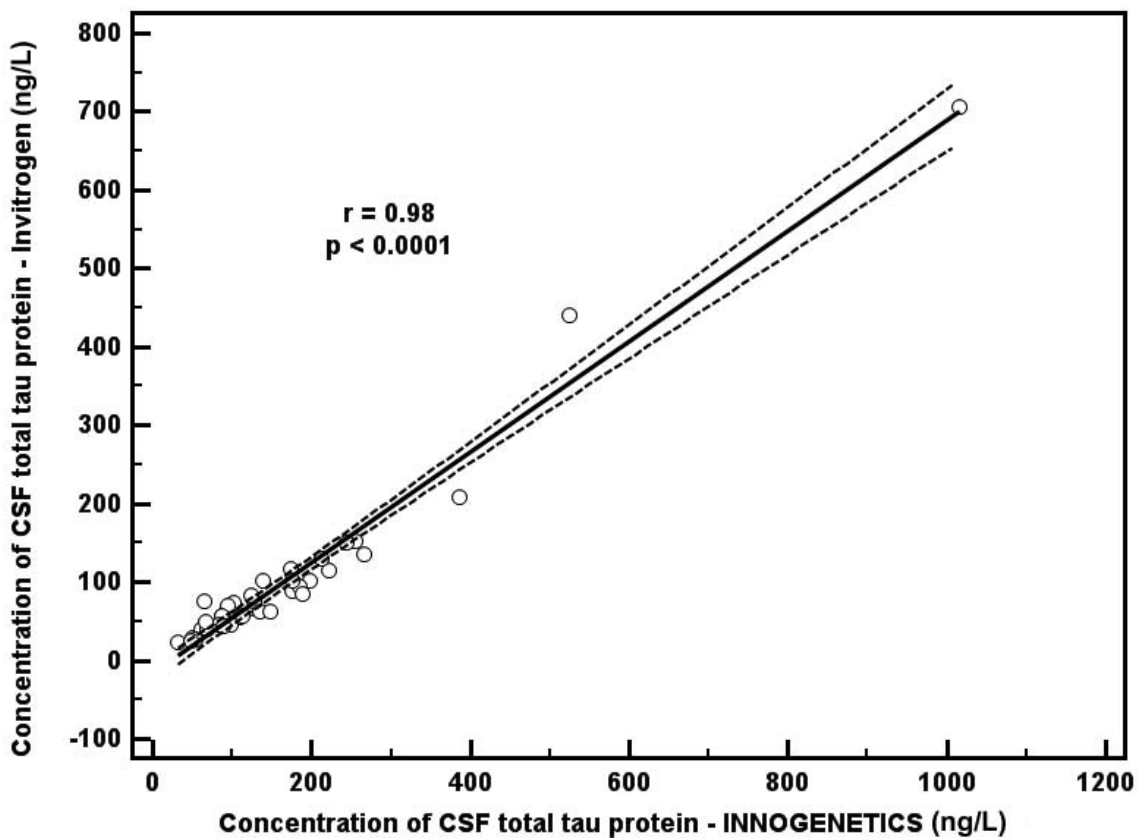


Fig. 2. Correlation between total tau protein concentrations in CSF measured by two ELISA kits
The correlation coefficient changed from $r = 0.98$ ($p < 0.0001$) to $r = 0.95$ ($p < 0.0001$) after exclusion of three extreme values.

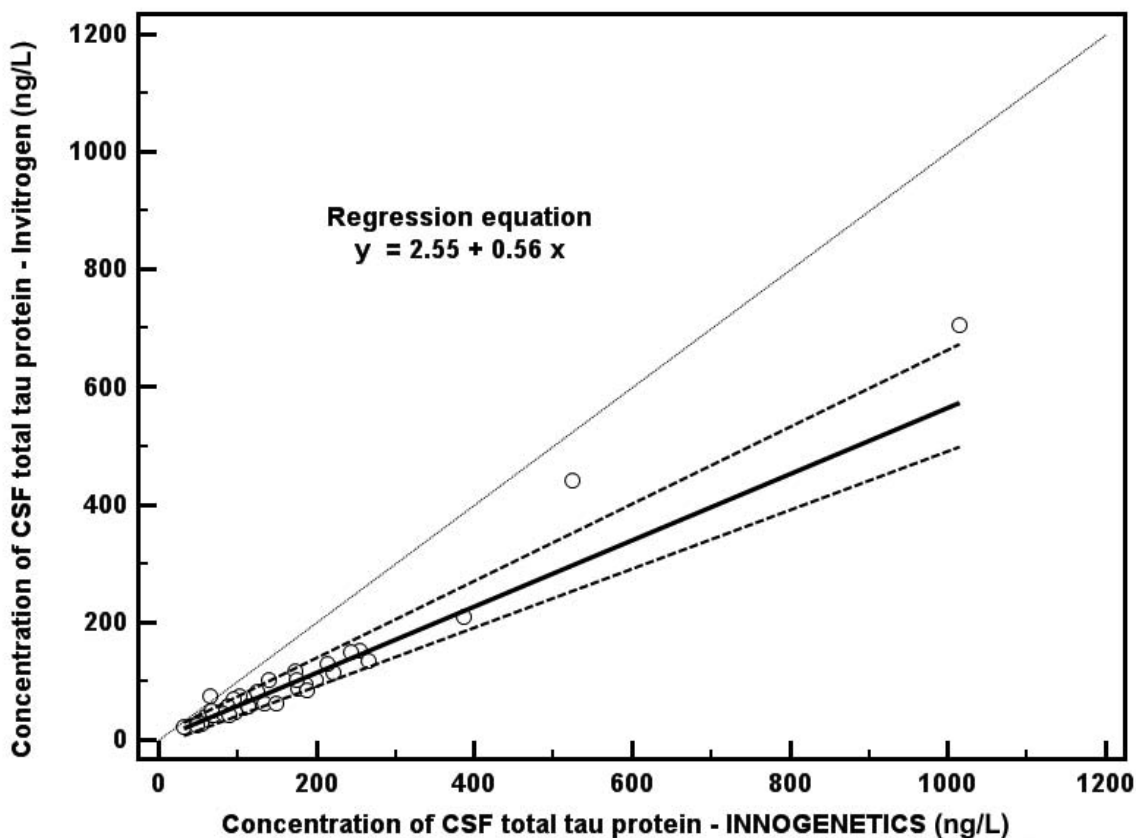


Fig. 3. Passing-Bablok regression of total tau protein concentrations in CSF measured by two ELISA kits

Koncentrace celkového tau proteinu v mozkomíšním moku pacientů s roztroušenou sklerózou a kontrolní skupiny

Dosavadní studie přinášejí poněkud rozporuplné výsledky týkající se koncentrace tau proteinu v mozkomíšním moku pacientů s roztroušenou sklerózou. Jsou popisovány hodnoty zvýšené i hodnoty podobné jako v kontrolních skupinách [1, 4, 13, 15, 20, 21, 28]. Koncentrace celkového tau proteinu v mozkomíšním moku u našich pacientů s roztroušenou sklerózou se ve srovnání s kontrolní skupinou statisticky významně nelišily (viz tab. 2). Tyto nesourodé výsledky bývají připisovány heterogenitě forem roztroušené sklerózy a individuální variabilitě.

Závěr

Zvýšení celkového tau proteinu v mozkomíšním moku je ukazatelem poškození neuronů a jeho stanovení je součástí tzv. tripletu vyšetřovaného u Alzheimerovy nemoci. Obě soupravy ELISA na stanovení celkového tau proteinu v MMM se významně nelišily v analytických parametrech. Absolutní koncentrace u stejných vzorků se lišily v závislosti na použitém typu soupravy, a proto není možné přímé srovnání výsledků, ale lze je přepočítat podle jednoduché rovnice. S ohledem na význam stanovení tau proteinu u AN je nezbytné, aby si každá laboratoř stanovila pro jí používanou soupravu vlastní hraniční hodnotu. Koncentrace tau proteinu v MMM

byly podobné u pacientů s RS a kontrolních neurologických pacientů. Ve shodě s některými jinými soubory se zdá, že tau protein spíše není vhodným ukazatelem neuronálního poškození u RS.

Literatura

1. **Bartosik-Psujek, H., Archelos, J. J.** Tau protein and 14-3-3 are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and correlate with intrathecal synthesis of IgG. *J. Neurol.*, 2004, 251, p. 414–420.
2. **Binder, L. I., Frankfurter, A., Rebhun, L. I.** The distribution of tau in the mammalian central nervous system. *J. Cell Biol.*, 1985, 101, p. 1371–1378.
3. **Blennow, K., Hampel, H., Weiner, M., Zetterberg, H.** Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.*, 2010, 6, p. 131–44.
4. **Brettschneider, J., Maier, M., Arda, S. et al.** Tau protein level in cerebrospinal fluid is increased in patients with early multiple sclerosis. *Mult. Scler.*, 2005, 11, p. 261–265.
5. **Buee, L., Bussiere, T., Buee-Scherrer, V., Delacourte, A., Hof, P. R.** Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 2000, 33, p. 95–130.
6. **Dohnal, L.** Porovnání: Desatero pro porovnání výsledků dvou metod. *Fons*, 2000, 3, p. 27–32.
7. **Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C. et al.** Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol.*, 2007, 6, p. 734–746.

8. **Dušek, L., Pavlík, T., Koptíková, J.** Analýza dat v neurologii. VII. Reprodukovatelnost a opakovatelnost měření u spojitých dat. *Čes. Slov. Neurol.*, 2008, 71, 104, p. 106–109.
9. **Franz, G., Beer, R., Kampfl, A. et al.** Amyloid beta 1-42 and tau in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury. *Neurology*, 2003, 60, p. 1457–1461.
10. **Garcia-Sierra, F., Mondragon-Rodríguez, S., Basurto-Islas, G.** Truncation of tau protein and its pathological significance in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 2008, 14, p. 401–409.
11. **Glosová, L., Hort, J., Bojar, M., Škoda, D.** Vyšetřování celkového tau proteinu, phospho-tau proteinu a beta-amyloidu v mozkomíšním moku – naše první zkušenosti. *Klin. Biochem. Metab.*, 2004, 12, 33, p. 113–116.
12. **Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Quinlan, M., Tung, Y. C., Zaidi M. S., Wisniewski, H. M.** Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J. Biol. Chem.*, 1986, 261, p. 6084–6089.
13. **Guimaraes, I., Cardoso, M. I., Sa, M. J.** Tau protein seems not to be a useful routine clinical marker of axonal damage in multiple sclerosis. *Mult. Scler.*, 2006, 12, p. 354–356.
14. **Hempel, H., Blennow, K., Shaw, L. M., Hoessler, Y. C., Zetterberg, H., Trojanowski, J. Q.** Total and phosphorylated tau protein as biological markers of Alzheimer's disease. *Exp. Gerontol.*, 2010, 45, p. 30–40.
15. **Hein, Nee Maier, K., Kohler, A., Diem, R. et al.** Biological markers for axonal degeneration in CSF and blood of patients with the first event indicative for multiple sclerosis. *Neurosci. Lett.*, 2008, 436, p. 72–76.
16. **Hort, J., Bartos, A., Pirttila, T., Scheltens, P.** Use of cerebrospinal fluid biomarkers in diagnosis of dementia across Europe. *Eur. J. Neurol.*, 2010, 17, p. 90–96.
17. **Hort, J., Glosová, L., Vyhnálek, M., Bojar, M., Škoda, D., Hladíková, M.** Tau protein a beta amyloid v likvoru u Alzheimerovy choroby. *Čes. Slov. Neurol.*, 2007, 70, 103, p. 30–36.
18. **Iqbal, K., Grundke-Iqbal, I., Zaidi, T. et al.** Defective brain microtubule assembly in Alzheimer's disease. *Lancet*, 1986, 2, p. 421–426.
19. **Johnson, G. V., Stoothoff, W. H.** Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *J. Cell Sci.*, 2004, 117, p. 5721–5729.
20. **Kapaki, E., Paraskevas, G. P., Michalopoulou, M., Kilidireas, K.** Increased cerebrospinal fluid tau protein in multiple sclerosis. *Eur. Neurol.*, 2000, 43, p. 228–232.
21. **Koudelková, M.** Praktické zkušenosti s laboratorní diagnostikou Alzheimerovy nemoci pomocí tau proteinu, fosfo-tau proteinu a beta amyloidu v likvoru. *Neurol. Praxi*, 2009, 10, p. 290–293.
22. **Matěj, R., Rusina, R.** Tauopatie a frontotemporální demence. *Čes. ger. rev.*, 2006, 4, p. 2–7.
23. **McDonald, W. I., Compston, A., Edan, G. et al.** Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 2001, 50, p. 121–127.
24. **Otto, M., Wiltfang, J., Cepek, L. et al.** Tau protein and 14-3-3 protein in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology*, 2002, 58, p. 192–197.
25. **Ressner, P., Hort, J., Rektorová, I. et al.** Doporučené postupy pro diagnostiku Alzheimerovy nemoci a dalších onemocnění spojených s demencí. *Čes. Slov. Neurol. N.*, 2008, 71, 104, p. 494–501.
26. **Shahani, N., Brandt, R.** Functions and malfunctions of the tau proteins. *Cell Mol. Life Sci.*, 2002, 59, p. 1668–1670.
27. **Trapp, B. D., Peterson, J., Ransohoff, R. M., Rudick, R., Mork, S., Bo, L.** Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 338, p. 278–285.
28. **Valis, M., Talab, R., Stourac, P., Andrys, C., Masopust, J.** Tau protein, phosphorylated tau protein and beta-amyloid42 in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Neuro. Endocrinol. Lett.*, 2008, 29, p. 971–976.

Poděkování: Práce byla podpořena výzkumným záměrem MSM 0021620816, KAN 200520701 a grantem IGA NS 10369-3.

Do redakce došlo dne 29. 9. 2010.

Adresa pro korespondenci
MUDr. Lenka Fialová, CSc.
Ústav lékařské biochemie 1. LF UK
Kateřinská 32,
121 08 Praha 2
e-mail: lfial@lf1.cuni.cz