

Přehled lidských prionových onemocnění

Prionové choroby jsou přenosné, progresivní, fatální neurodegenerativní poruchy spojené s agregací patologicky konformovaného prionového proteinu (PrP^{Sc}) (Baiardi et al., 2023). Lidské transmisivní spongiformní encefalopatie (TSE) zahrnují Creutzfeldtovu-Jakobovu chorobu (CJD), Gerstmannův-Sträusslerův-Scheinkerův syndrom (GSS), kuru a fatální familiární insomni (FFI) (Asher et Gregori, 2018). Podrobnější informace o klinických aspektech prionových onemocnění a jejich klinické diagnostice přináší článek Humánne priónové ochorenia – „state of the art“ 2023, který je součástí tohoto čísla Neurologie pro praxi (Kurča et al., 2024).

Laboratorní diagnostický proces a diferenciální diagnostika

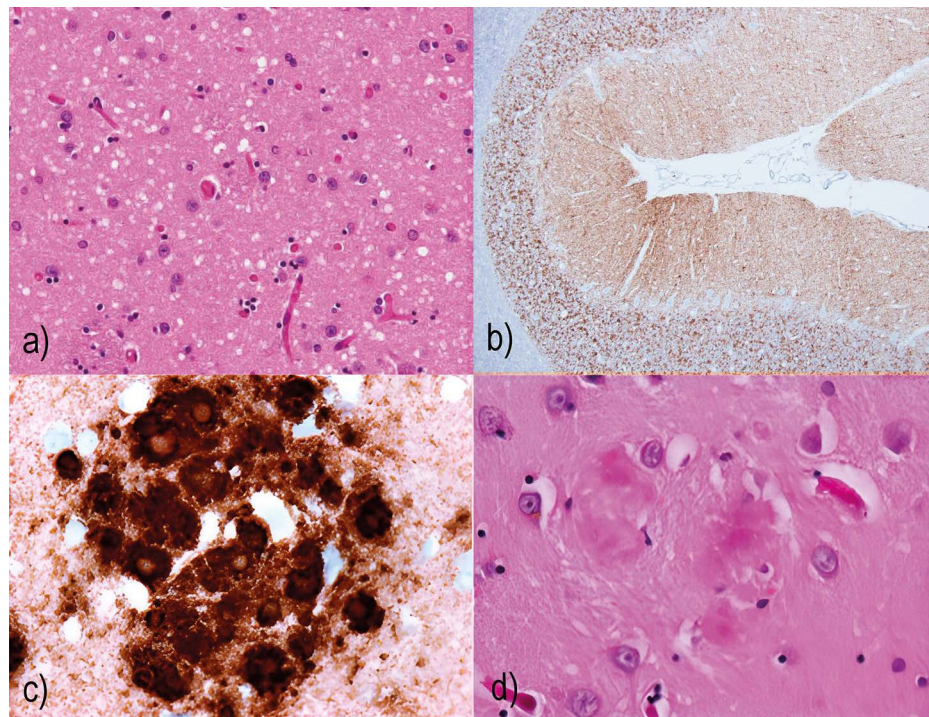
Diagnostický proces

RT-QuIC a analýza 14-3-3 v mozkomíšním moku (CSF) patří mezi dnes již rutinně užívané biomarkery k potvrzení diagnózy pravděpodobné CJD. Kompletní definitivní diagnóza prionové choroby má tři složky – neuropatologickou, imunologickou (western blot) a molekulárně genetickou. Pouze kombinace těchto přístupů může poskytnout definitivní diagnózu sporadického nebo genetického prionového onemocnění.

Protein 14-3-3

Protein 14-3-3 je v mozku exprimován ve vysokém množství. Je lokalizován v cytoplazmatickém kompartmentu, intracelulárních organelách a v plazmatické membráně neuronů (Sato et al., 2010). Jeho detekce v CSF je součástí diagnostických kritérií WHO pro pravděpodobnou sCJD (Hermann et al., 2021). Přestože existuje sedm izoform proteinu 14-3-3, jen čtyři z nich byly detekovány v CSF pacientů se sCJD a pouze dvě (β- a γ-izofорма) se zdají být vhodnými biomarkery pro diferenciální diagnostiku (Foote et Zhou, 2012). Protein 14-3-3 obecně ukazuje na rychle probíhající destrukci neuronů u řady progresivních neurologických poruch, není tedy pro sCJD zcela specifický (Cuadrado-Corrales et al., 2006). Celkový protein (t)-tau rovněž může odrážet neuronální destrukci a má se za to,

Obř. 1. (a) Nález spongiformní dystrofie typický pro mozkový a/nebo mozečkový kortex a/nebo subkortikální šedou hmotu. (b) Difúzní synaptické pozitivita PrP^{Sc} v mozečku pacienta se sCJD patrné v imunohistochemickém průkazu protilátkou klonu 12F10. (c) + (d) Multicentrická plaka – charakteristický nález u pacientů s GSS s typickou denzní pozitivitou imunohistochemického průkazu v reakci s protilátkou klonu 6H4 (c) a v přehledném zvětšení v barvení hematoxylinem a eosinem (d)



že koreluje s rychlostí axonální degenerace (Skillbäck et al., 2014).

Protože hladiny t-tau jsou u pacientů s prionovými onemocněními dramaticky zvýšené, porovnávali jsme ROC křivky 14-3-3β, t-tau a jejich kombinace u prionových vs. neprionových neurodegenerativních onemocnění. Přítomnost 14-3-3β byla stanovena pomocí standardizovaného protokolu western blot (používaného všemi laboratořemi pro diagnostiku CJD) a podle standardů EURO-CJD s přísnou kontrolou kvality. Provedli jsme standardizovanou kvalitativní analýzu western blot pro 14-3-3p v duplikátech. Hladiny t-tau byly měřeny pomocí komerčně dostupných souprav ELISA (INNOTEST hTAU Ag, kat. #80323, Innogenetics/FUJIREBIO a Total-Tau ELISA, kat. #EQ 6531-9601-L, EUROIMMUN) podle pokynů výrobců.

Při porovnání positivity 14-3-3 a hladin t-tau u prionových vs. neprionových onemocnění pomocí ROC křivek byly hodnoty AUC 0,738 a 0,927 (obě p < 0,0001). Pro pozitivitu 14-3-3 u prionových onemocnění byla senzitivita 63,1 % a specifická 81,1 %. Pro t-tau byla hraniční hodnota stanovena na 1 200 pg/ml, se senzitivitou 87,5 % a spe-

specificitou 91,5 %. Když byly obě proměnné brány současně, AUC byla 0,909 (p < 0,0001), což poskytlo nejvyšší citlivost (93,2 %), ale nejnižší specifickou (66,7 %). Naše výsledky ukazují, že hladiny t-tau i hladiny t-tau kombinované s pozitivitou 14-3-3 fungují pro detekci probíhající prionové choroby spolehlivěji než samotná pozitivita 14-3-3, kterou jsme popsali a využívali dříve. Pozitivita 14-3-3 je však stále jediným proteinovým markerem WHO diagnostických kritérií (Rohan et al., 2015). Celkové hladiny tau mohou být užitečným nástrojem v diferenciální diagnostice sCJD, a proto by měly být stanovovány spolu s 14-3-3, zvláště pokud RT-QuIC není k dispozici (Brůžová et al., 2021).

RT-QuIC

Real-time quaking-induced conversion (RT-QuIC) se používá k prokázání schopnosti PrP^{Sc} (přítomného v CSF) iniciovat přeměnu konformace fyziologického PrP^C na patologický PrP^{Sc}, v němž převládá konformace β-skládaného listu s výraznou tendencí k agregaci v reálném čase. Zobrazení se provádí vazbou na thioflavin T, který emituje fluorescenci, kterou lze okamžitě de-