

tekovat. Metoda byla představena v roce 2010 a umožnila detekci malých množství PrP^{Sc} přibližně do 90 hodin (Green, 2019) s vysokou mírou specifity i senzitivity (100% specifita, 95,8% diagnostická senzitivita), čímž se odlišuje od jiných biomarkerů v CSF (Orrú et al., 2015). Druhá generace RT-QuIC (nazývaná QuIC CSF nebo IQ-CSF), která využívá jako substrát trunkovaný křecčí PrP, si zachovává specifitu 98–100 %, reakční doba se však zkracuje na 30 hodin (Wilham et al., 2021). Kromě toho má RT-QuIC schopnost detekovat PrP^{Sc} ve vzorcích čichové sliznice nebo v biopsii kůže. RT-QuIC umožňuje přesnou a rychlou diagnostiku, což hraje významnou roli v diagnostice léčitelných onemocnění klinicky imitujících TSE. Tato metoda však dosud nebyla zavedena do rutinní klinické praxe a v ČR zůstává dostupná pouze pro vědecko-výzkumné účely. Podrobnější popis zkušeností s RT-QuIC v ČR je součástí článku Pokrok v intravitální laboratorní diagnostice prionových onemocnění: vysoce citlivá a specifická detekce prionů v mozkomíšním moku pomocí RT-QuIC v tomto čísle *Neurologie pro praxi* (Holada et al., 2024).

Definitivní diagnóza

Definitivní diagnóza TSE je založena na průkazu PrP^{Sc} v mozkové tkáni obvykle z pitvy mozku (WHO, 2003). Biopsie mozku intra vitam by měla být vyhrazena pro hledání léčitelných příčin progresivní demence. Po potvrzení prionové choroby western blotem a imunohistochemickými metodami je rutinně prováděno molekulárně genetické testování zaměřené na detekci polymorfismů kodonu 129 a případných mutací v genu *PRNP* u genetických forem. Přes negativní rodinnou anamnézu má v ČR asi 16 % prionových onemocnění dědičný podklad (Jankovská et al., 2021).

Western blot

Western blot je citlivější a rychlejší metodou než metody imunohistochemické. Doba fixace celého mozku trvá asi 3–4 týdny, teprve poté lze provést neuropatologické vyšetření. Doba od pitvy k definitivní diagnóze, včetně vyloučení dalších možných neurodegenerativních onemocnění, je tedy kolem šesti týdnů, nicméně může trvat i déle. Western blot umožňuje prokázat přítom-

nost PrP^{Sc} druhý den po pitvě. Při western blotu se rutinně analyzuje frontální lalok, přičemž tato analýza poskytuje základní informaci o přítomnosti PrP^{Sc} a dokáže rozlišit jeho typy (1, 2, 1 + 2 nebo 3). Pro úplné informace o variantě PrP^{Sc} je nutné doplnit další vyšetřovací metody.

Western blot v předtransplantačním testování dárců rohovky

Vzhledem k tomu, že sítnice a zrakový nerv jsou prodloužením centrálního nervového systému, WHO je řadí do kategorie I: vysoce infekční tkáň. V ČR se ročně provede přibližně 500 transplantací rohovky a od ledna 2007 je povinné testování všech dárců rohovky na PrP^{Sc} s cílem zvýšit bezpečnost těchto transplantací. Pro detekci PrP^{Sc} v mozkové tkáni metodou western blot je rutinně analyzován frontální lalok, kompletní neuropatologické vyšetření se u dárců rohovky běžně neprovádí. Až na několik případů CJD nebyl přenos jiných neuropatologií zaznamenán (Armitage et al., 2009).

Všechna vyšetření provádí výhradně imunologická laboratoř v NRL spolupracující se všemi očními bankami v ČR. Během let 2007–2023 bylo otestováno 7 950 vzorků; všechny byly negativní, u 4 bylo podezření na přítomnost PrP^{Sc}, ale po dalším vyšetřování byly také shledány negativními. Sledovatelnost dárců prostřednictvím Národního registru dárců a Národního transplantačního registru po dobu 30 let je garantována zákonem o transplantacích (Sbírka Zákonů, 2019). Dle našich znalostí je ČR jedinou zemí na světě, kde legislativa vyžaduje western blot testování mozkové tkáně u každého dárce oční tkáně (Jirsová et al., 2010). Na Slovensku, kde gCJD tvoří 74,2 % případů (Mitrová et Belay, 2002) oproti 16,28 % v ČR, je stanovení genotypu kodonu 129 spolu s detekcí mutace *E200K* metodou volby pro testování dárců rohovky (Mitrová et al., 2011).

Imunohistochemie

Imunohistochemické vyšetření pomáhá znázornit distribuci PrP^{Sc} v různých částech mozku a mikromorfologii imunoreaktivních struktur, jelikož PrP^{Sc} se může vyskytovat

ve formě plak, plakám podobných struktur nebo difuzních synaptických depozit. Podle kritérií WHO stačí k potvrzení definitivní diagnózy prionové choroby jedna z výše uvedených metod, nicméně se doporučuje kombinace obou.

Genetické testování

Mezi diagnostikovanými případy v ČR je distribuce polymorfismů na kodonu 129: 60 % methioninová homozygotita (MM), 24 % methionin/valinová heterozygotita (MV) a 16 % valinová homozygotita (VV); přibližně 16 % případů souvisí s dědičnými mutacemi v genu *PRNP*. Společný kódující polymorfismus na kodonu 129 v *PRNP* mezi methioninem a valinem (c.385 A>G) hraje kritickou roli v individuální náchylnosti k prionovým onemocněním, přičemž homozygoté (tj. MM nebo VV) jsou vystaveni vyššímu riziku. Snazší dimerizace a oligomerizace PrP^{Sc} u MM či VV homozygotů ve srovnání s heterozygoty je důležitým faktorem v patogenezi prionových onemocnění.

Po světě bylo popsáno přibližně 50 mutací genu *PRNP*. Nejčastější mutace genu *PRNP* v české populaci je *E200K*, následována mutacemi *D178N*, *R208H*, *P102L*, a také delece či inzerce (del/ins) v repetitivní sekvenci. Obecná penetrance těchto mutací se zvyšuje s věkem a v některých populacích dosahuje po 85. roce věku 100 %; v jiných populacích, například na Slovensku nebo v Itálii, je penetrance odhadována okolo 60 % (Mitrová et Belay, 2002).

Mutace *E200K* je nejrozšířenější v ČR (42 případů), stejně jako na Slovensku, odkud byla do ČR importována.

Mutace *D178N* byla nalezena u 5 pacientů. Klinický fenotyp byl v těchto případech ovlivněn polymorfismem na kodonu 129, protože mutace *D178N* s VV polymorfismem na kodonu 129 vyvolává gCJD. Pokud by byl na kodonu 129 přítomen MM polymorfismus, rozvinula by se fatální familiární insomnie, která ovšem nebyla v ČR nikdy zastižena.

Mutace *P102L* byla nalezena v 9 případech, přičemž nebyly pozorovány žádné klinicky specifické příznaky odlišující tuto mutaci od ostatních, nicméně byl v ČR