Chemické Listy

Referát

www.chemicke-listy.cz

TAU PROTEIN V BIOLOGICKÝCH TEKUTINÁCH A JEHO KLINICKÝ VÝZNAM

Lenka Fialová[a,b], Libuše Nosková[a] a Tomáš Zima[a]

[a] Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Praha, [b] Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva, Fakulta biomedicínského inženýrství, České vysoké učení technické v Praze, Praha, Česká republika
lenka.fialova@lf1.cuni.cz, libuse.noskova@lf1.cuni.cz, tomas.zima@lf1.cuni.cz

Došlo 4.4.23, přepracováno 18.12.23, přijato 2.1.24.

Tau protein je jedním z neurocytoskeletálních proteinů podílejících se na patogenezi závažných neurologických onemocnění, zejména Alzheimerovy nemoci. Vyznačuje se značnou strukturní variabilitou, která se odráží v existenci jeho četných proteoforem. Tento přehled si klade za cíl poskytnout stručné informace o struktuře tau proteinu a jeho proteoformách, které se zdají být perspektivní jako biomarkery pro klinické použití. Jsou diskutovány biologické tekutiny vhodné pro laboratorní vyšetření v klinické praxi, tj. mozkomíšní mok a krev (plazma/sérum). Celkový tau protein a jeho fosforylované formy (hlavně protein pT181-tau, fosforylovaný na threoninovém zbytku 181) již našly klinické uplatnění v diagnostice Alzheimerovy nemoci.

Klíčová slova: tau protein, proteoforma, posttranslační modifikace, fosforylace, proteolýza, Alzheimerova nemoc, mozkomíšní mok, krev

Obsah

1. Úvod
2. Struktura tau proteinu
3. Tau protein v různých biologických tekutinách a jeho klinický význam
   3.1. Tau protein v mozkomíšním moku
   3.2. Tau protein v krvi
   3.3. Tau protein ve slině
   3.4. Tau protein v extracelulárních váčcích
4. Závěr

1. Úvod

Tau (τ = tubulin-associated unit) protein je jeden z neurocytoskeletálních proteinů, který se uplatňuje v patogenezi závažných neurologických onemocnění. Byl popsán v roce 1975 jako protein, který navozuje vytváření mikrotubulů[1,2].

Poté, co byla zjištěna souvislost tau proteinu s Alzheimerovou nemocí (AN), zaměřila se na protein mimořádná pozornost badatelů jak na úrovni základního, tak aplikovaného výzkumu[3]. Patologické změny struktury a koncentrací tau proteinu v biologických tekutinách se neomezují pouze na AN, ale jsou popisovány i u dalších neurodegenerativních a akutních neurologických onemocnění[4–9].

Neustále přibývá mnoho nových poznatků o fyziologické funkci tau proteinu i patobiochemických změnách u různých neurologických onemocnění. Rozvíjejí se i analytické metody umožňující stanovovat koncentrace některých proteoforem/isoforem tau proteinu v biologických tekutinách nejen pro výzkumné účely, ale i v klinické praxi[10,11]. V současnosti jsou dostupné manuální metody ELISA (enzyme-linked immuno sorbent assay) nebo imunoanalytické metody pro automatické analyzátory na bázi elektrochemiluminescence, využívané pro stanovení tau proteinu v mozkomíšním moku (MMM). Některá pracoviště jsou vybavena i analyzátory pro vysoce citlivé metody na bázi SIMOA (single molecule array) pro stanovení tau proteinů v krvi (plazmě, séru), která představuje mnohem dostupnější biologickou tekutinu, než je MMM. Lze proto předpokládat, že vyšetření tau proteinů se stane dostupnější.

Následující text si klade za cíl poskytnout stručnou informaci o struktuře tau proteinu a jeho proteoformách, které se zdají být perspektivní pro klinické využití. Budou uvedeny vybrané neuropatologické stavy doprovázené změnami koncentrací tau proteinu a jeho proteoforem v biologických tekutinách, které jsou vhodné pro laboratorní vyšetření v klinické praxi, jako je MMM a krev, resp. plazma nebo sérum.

2. Struktura tau proteinu

Struktura tau proteinu se vyznačuje vysokou variabilitou podmiňující existenci různých proteoforem. Ty zahr-

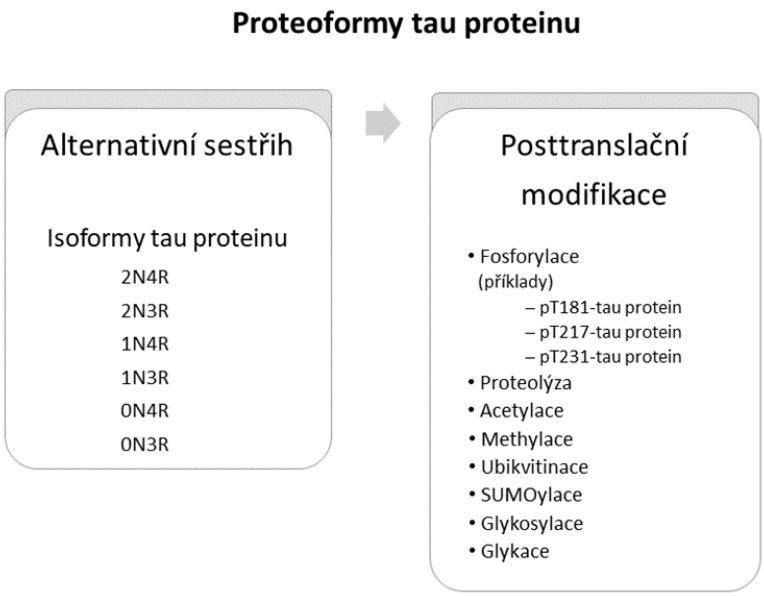
nují isoformy vzniklé na podkladě alternativního sestřihu, které jsou dále upravovány četnými posttranslačními modifikacemi (obr. 1). Lidský gen pro tau protein je umístěn na dlouhém raménku chromosomu 17, konkrétně na pozici 17q21 (cit.[12]). Produkce tau proteinu dominuje v neuronech centrálního nervového systému (CNS), probíhá i v neuronech periferního nervového systému (PNS) a byla prokázána v dalších buňkách nervové tkáně i jiných tkání[13,14].

V molekule tau proteinu lze rozlišit dvě domény (projekční doménu a doménu spojenou s mikrotubuly), které jsou znázorněné a popsané na obr. 2A. Vzhledem k vysoké flexibilitě polypeptidového řetězce je tau protein řazen mezi proteiny s vnitřně neuspořádanou strukturou, umožňující zaujímat proměnlivé konformace, vázat se s dalšími strukturami a plnit rozmanité funkce[15]. V důsledku alternativního sestřihu pre-mRNA může v lidském mozku vzniknout šest isoforem tau proteinu o délce 352–441 aminokyselinových zbytků a relativní molekulové hmotnosti v rozmezí 37 000–46 000. Uvedené isoformy se odlišují přítomností či absencí jednoho nebo dvou inzertů v blízkosti N-konce a přítomností tří nebo čtyř repetitivních sekvencí lokalizovaných blíže C-konce (obr. 2B) (cit.[15,16]). V PNS je přítomen tau protein o vyšší molekulové hmotnosti (Mr = 72 700). Je ekvivalentní isoformě 2N4R, která je delší o 242 aminokyselinových zbytků z exonu 4a (cit.[15]).

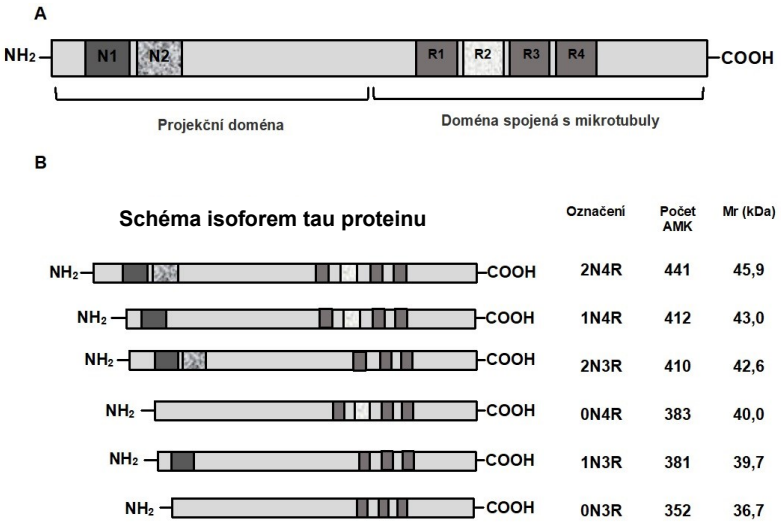
Tau protein podléhá četným posttranslačním modifikacím zahrnujícím fosforylaci, acetylaci, methylaci, ubikvitinaci, částečnou proteolýzu, glykosylaci, neenzymovou glykaci a další[16–18]. Posttranslační úpravy tau proteinu mohou být součástí fyziologických procesů, ale řada z nich souvisí s patologickými změnami v mozku[18].

K intenzivně studovaným modifikacím struktury tau proteinu vztahujícím se k patogenezi AN řadíme fosforylaci a proteolytické štěpení[15,19]. Molekula nejdelší formy mozkového tau proteinu obsahuje celkem 85 zbytků serinu, threoninu a tyrosinu, které představují potenciální fosforylační místa[20]. V normálním mozku dospělých jedinců převažují tau proteiny fosforylované přibližně na dvou až třech fosforylačních místech, zatímco u AN je na tau proteinech fosforylováno osm i více fosforylačních míst[15,21]. Abnormální fosforylace tau proteinu omezuje jeho kontakt s mikrotubuly a může se podílet na vytváření agregátů[14,16,22]. Agregovaný tau protein je ve své hyperfosforylované formě součástí jedné ze základních neuropatologických struktur, tzv. neurofibrilárních smotků pozorovaných v mozku pacientů s AN (cit.[23]).

V mozkové tkáni i v biologických tekutinách se kromě nativního tau proteinu vyskytují i jeho různé fragmenty. Mohou mít původ v běžném metabolismu tau proteinu, ale některé z fragmentů byly nalezeny i v neurofibrilárních smotcích a jsou považovány za specifické produkty u AN nebo u jiných tauopatií[19,24,25]. Přepokládá se, že C-koncové fragmenty zůstávají uloženy intracelulárně, zatímco N-koncové, popř. další fragmenty jsou uvolňovány do extracelulárního prostoru[26].



Obr. 1. **Proteoformy tau proteinu.** Na schématu je uvedeno šest isoforem tau proteinu vzniklých alternativním sestřihem pre-mRNA v mozku a některé z posttranslačních modifikací. N – inzerty v N-koncové části molekuly tau proteinu; R – repetitivní sekvence v C-koncové části molekuly tau proteinu; pT181 – fosforylace na threoninovém zbytku 181; pT217 – fosforylace na threoninovém zbytku 217; pT231 – fosforylace na threoninovém zbytku 231.



Obr. 2. **Struktura tau proteinu a jeho isoformy.** A: V molekule tau proteinu jsou popisovány dvě domény. Projekční doména ovlivňuje rozestupy axonálních mikrotubulů a interakce s dalšími součástmi buňky a jinými molekulami. Doména spojená s mikrotubuly se účastní seskupování a udržování stability mikrotubulů. Pro střední část molekuly je charakteristické bohatší zastoupení prolinových zbytků. B: Alternativním sestřihem může vzniknout šest isoforem tau proteinu. Odlišují se přítomností jednoho nebo dvou inzertů (2N, 1N) nebo jejich absencí (0N) lokalizovaných v N-koncové části molekuly a přítomností buď tří (3R) nebo čtyř (4R) repetitivních sekvencí v C-terminální polovině tau proteinu[15–17].

3. Tau protein v různých biologických tekutinách a jeho klinický význam

Tau protein lokalizovaný intracelulárně v různých subcelulárních kompartmentech[27] proniká i mimo buňku. Děje se to nejen za patologických situací jako např. v důsledku smrti neuronů, nebo při různých tauopatiích, ale i za fyziologických podmínek při zvýšené aktivitě neuronů může být tau protein z buňky secernován[28,29]. Svědčí o tom i studie, v níž byl pomocí mikrodialýzy tau protein prokázán v intersticiální tekutině mozku myší, které nevykazovaly známky neurodegenerace[30]. Sato a spol.[26] se domnívají, že nativní tau protein přestupuje do extracelulárního prostoru pasivně např. v důsledku buněčné smrti, zatímco zkrácené formy jsou mimo buňku uvolňovány aktivně.

Sekrece tau proteinu do extracelulárního prostředí se uskutečňuje především nekonvenčními sekrečními mechanismy, které se intenzivně zkoumají. Předpokládá se, že tau protein může být z neuronů uvolňován jako volná molekula translokací přes buněčnou membránu, nebo prostřednictvím extracelulárních váčků[28,29,31]. Z intersticiální tekutiny je možný přestup proteinů do MMM i do krve[32] (obr. 3).

Koncentrace tau proteinu v biologických tekutinách v různé míře odráží neuropatologické procesy v CNS. Cenné informace o změnách koncentrací tau proteinů u řady neurologických onemocnění byly získány analýzou MMM a přibývá studií zabývajících se analýzou plazmy či séra[4,6,33–36]. Sporadické údaje jsou dostupné i pro další, méně obvyklé biologické tekutiny, jako je slina nebo slzy či sekret z dutiny nosní[37–39]. Jednotlivé matrice vykazují určité zvláštnosti, které je zapotřebí brát v úvahu při interpretaci výsledků vyšetření tau proteinu jako biomarkeru[40].

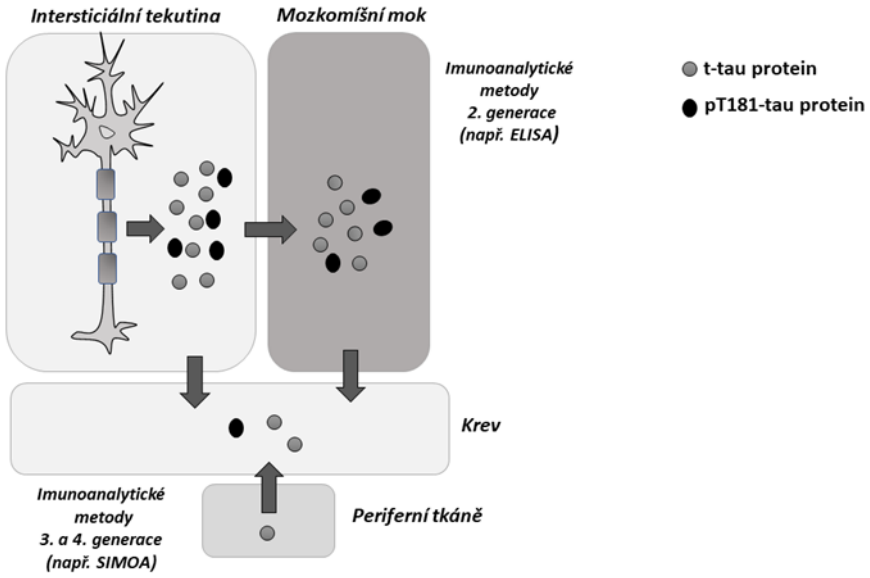
V biologických tekutinách jsou prokazovány různé proteoformy tau proteinu, jejichž zastoupení se v nich může odlišovat[4,14,24,41–43]. Přítomnost proteoforem komplikuje stanovení tau proteinu. Na druhé straně průkaz konkrétních proteoforem poskytuje cenné informace pro diferenciální diagnostiku neuropatologických stavů. V současnosti je tau protein v MMM a krvi (séru, plazmě) zpravidla vyšetřován jako celkový tau (t-tau) protein, zahrnující všechny proteoformy bez ohledu na fosforylaci a všechny fragmenty obsahující střední oblast molekuly tau proteinu. Dále jsou stanovovány některé proteoformy fosforylované na určitých místech polypeptidového řetězce. Objevují se i zprávy o metodách pro analýzu konkrétních fragmentů tau proteinu na bázi SIMOA (cit.[42,43]).

3.1. Tau protein v mozkomíšním moku

Celkový tau protein

Hodnoty koncentrací t-tau proteinu v MMM se u zdravých osob pohybují řádově v desítkách až stovkách pg ml^{-1}. Dle naší studie je medián koncentrací (10.–90. percentil) u kontrolních osob 228 (128–377) pg ml^{-1} (cit.[44]).

Celkový tau protein je považován za obecný biomarker neuronálního poškození bez ohledu na příčinu[45]. Zvýšené koncentrace t-tau proteinu v MMM odrážejí poškození axonů a smrt neuronů u AN i jiných demencí a u roz-



Obr. 3. **Tau protein v biologických tekutinách.** Z mozkových buněk proniká tau protein v různých formách do intersticiální tekutiny. Z intersticiální tekutiny je možný přestup do mozkomíšního moku, v němž je možné stanovení celkového tau proteinu a pT181-tau proteinu pomocí imunoanalytických metod jako je např. ELISA. Do krve se tau proteiny mohou dostat z mozkomíšního moku, ale nelze vyloučit ani původ tau proteinu z periferních tkání. Pro stanovení výrazně nižších koncentrací tau proteinů v plazmě/séru je zapotřebí citlivějších imunoanalytických metod, např. na bázi SIMOA[32,76,77].

troušené sklerózy[7,8,46,47]. Mimořádně vysoké hodnoty jsou zaznamenávány u onemocnění, u nichž dochází k rychlé neurodegeneraci, jako je Creutzfeldtova-Jakobova nemoc[7,48]. Nárůst koncentrací t-tau proteinu v MMM doprovází také stavy způsobené poškozením neuronů jako je tomu u úrazů hlavy s poškozením mozku, cévních mozkových příhod, stavů po srdeční zástavě a u některých neuroinfekcí[5,9,49].

Fosforylované formy tau proteinu

Intenzivně zkoumanými proteoformami tau proteinu v MMM jsou jeho fosforylované formy, jejichž zvýšené koncentrace jsou považovány za specifičtější nález u AN než zvýšené koncentrace t-tau proteinu[50]. Hyperfosforylovaný tau (p-tau) protein v MMM společně s t-tau proteinem a β-amyloidem představují základní biomarkery, které byly zařazeny mezi výzkumná diagnostická kritéria AN a parametry nové biologické klasifikace AN pomocí tzv. AT(N) profilu (A – β-amyloid, T – p-tau protein a N – t-tau protein) (cit.[50]). Fosforylace tau proteinu v mozku je pokládána za dynamický proces. Studium vybraných fosforylovaných tau proteinů naznačuje, že jejich koncentrace odrážejí časné poruchy v metabolismu tau proteinu ještě v preklinickém stádiu AN, pravděpodobně jako reakci na počáteční patologické změny β-amyloidu[51].

Nejvíce dat bylo dosud shromážděno pro tau protein fosforylovaný na threoninovém zbytku 181 (pT181-tau). Je jedním z užívaných biomarkerů u AN jako součást jejich tripletu, který kromě pT181-tau proteinu zahrnuje celkový tau protein a β-amyloid (cit.[44,52]). Tvoří asi 20 % z celkového tau proteinu. pT181-tau protein představuje specifický biomarker pro patologické změny u AN a je považován za „zlatý standard“ pro diagnostiku AN při vyšetřování MMM (cit.[53]). Námi stanovený medián pT181-tau proteinu pro kognitivně zdravé osoby byl 26 pg ml^{-1} (15–52 pg ml^{-1}; 10.–90. percentil, použita souprava Euroimmun)[44].

K dalším perspektivním fosforylovaným tau proteinům v MMM můžeme zařadit p-tau proteiny fosforylované na aminokyselinovém zbytku threoninu 217 (pT217-tau) a 231 (pT231-tau)[51,53,54]. Oba tyto fosforylované tau proteiny byly označeny za specifičtější biomarkery pro AN než pT181-tau protein. Přínos pT231-tau proteinu může být zejména ve velmi časných, ještě preklinických stádiích AN. Zajímavá je fosforylace na aminokyselinovém zbytku threoninu 153, která byla prokázána výlučně u pacientů s AN (cit.[55]).

Fragmenty tau proteinu

Na rozdíl od lidského mozku, v němž je tau protein přítomen jak v nezkrácené formě, tak i v podobě fragmentů, v MMM kontrolních osob i nemocných s AN je tau protein prokazován převážně jako směs různých fragmentů[24,56]. Mezi nimi převažují ty, které obsahují N-koncové a střední části molekuly (aminokyselinové zbytky 1 až přibližně 230). Zastoupení různých fragmentů

je však odlišné u pacientů s AN a u kontrolních skupin[24,25]. Může to být ovlivněno různými mechanismy clearance tau proteinu (proteolytické štěpení, degradace pomocí proteasomu nebo autofagie), které mohou být zastoupeny v odlišném poměru u pacientů s AN a u zdravých jedinců. Hyperfosforylace proteinu u pacientů s AN může ovlivnit funkci některých proteas, které se štěpení tau proteinu účastní. Podobně některé další patofyziologické změny u AN mohou zvýšit aktivitu některých proteas[57].

Podle Sato a spol.[26] ke štěpení tau proteinu dochází fyziologicky mezi aminokyselinovými zbytky 222 a 225. Některé práce popisují v MMM i přítomnost nezkrácené formy tau proteinu, ale ve velmi nízkých koncentracích, k jejichž stanovení je zapotřebí vysoce citlivých metod[43,58]. Nebyl prokázán rozdíl v koncentracích nezkrácené formy tau proteinu u pacientů s AN a kontrolní skupiny. Předpokládá se, že průkaz nezkráceného tau proteinu v MMM není důsledek patologických změn u AN (cit.[43]).

Oligomery a isoformy tau proteinu vzniklé na úrovni štěpení pre-mRNA

Další formou tau proteinu v MMM jsou oligomery, které zatím stojí na okraji pozornosti. Nicméně byla zjištěna vyšší koncentrace tau proteinu ve formě oligomeru u pacientů s AN než u kontrolní skupiny[59].

Pro studium jednotlivých isoforem vzniklých na úrovni alternativního štěpení pre-mRNA byly využity náročné metody hmotnostní spektrometrie s cílenou proteomikou. Byly identifikovány rozdíly v zastoupení uvedených isoforem v MMM u kontrolních vzorků a u pacientů s AN, u nichž dominovala isoforma 1N/3R (cit.[60]).

3.2. Tau protein v krvi

Proteiny mozkového původu mohou proniknout i do krve, i když mechanismus jejich přestupu do cirkulace není plně objasněn. Může se uplatňovat resorpce do žilní krve i tzv. glymfatický systém a nelze vyloučit ani přímý přestup z mozku do krve přes hematoencefalickou bariéru[32] (obr. 3).

Na rozdíl od MMM je koncentrace tau proteinu v krvi ovlivňována dalšími faktory[61]. V krevním oběhu se proteiny naředí v mnohem větším distribučním objemu, takže jejich koncentrace se několikanásobně sníží. V krvi může pokračovat proteolytické štěpení mozkových proteinů. Vliv na koncentraci tau proteinu může mít vylučování proteinů ledvinami a metabolismus v játrech. Kromě výše uvedených rozdílů představuje sérum/plazma v porovnání s MMM mnohem komplikovanější matrici, zejména vzhledem k řádově vyšším koncentracím bohatého spektra bílkovin. V krevní cirkulaci také nelze vyloučit možnost přítomnosti analytu produkovaného v periférii mimo CNS. Na rozdíl od MMM je v plazmě vyšší podíl nezkráceného tau proteinu, který může pocházet z periferních zdrojů[43]. Tyto okolnosti přispívají k tomu, že korelace mezi koncentracemi t-tau proteinu v plazmě a MMM nejsou silné[33,62,63].

Jak vyplývá z předchozího, v krvi se tau protein vyskytuje v různých formách a jejich zastoupení ve srovnání s MMM není identické[43]. Podobně jako v MMM i v plazmě, popř. séru je tau protein stanovován jako celkový – t-tau protein a k dispozici jsou i metody pro stanovení vybraných proteoforem, zejména různě fosforylovaných tau proteinů[64].

Celkový tau protein

Tau protein je přítomen v plazmě/séru v řádově nižších koncentracích než v MMM, a to nejen za fyziologického stavu, ale i za patologických okolností[62]. Na základě metaanalýzy studií, v nichž jako analytická metoda pro stanovení tau proteinu posloužila vysoce citlivá metoda SIMOA, byla u zdravých osob určena průměrná koncentrace celkového tau proteinu v plazmě 3,07 pg ml^{-1} (cit.[35]). Koncentrace tau proteinu v plazmě/séru jsou zvýšené u pacientů s AN, ale také v případě akutního poškození mozku z důvodů traumatu, iktu nebo srdeční zástavy[6,35,65–67]. Pro srovnání jsou v tab. I uvedeny koncentrace t-tau proteinu stanovené na platformě SIMOA u vybraných patologických stavů.

Fosforylované formy

Klinické studie se soustředily zejména na plazmatické koncentrace těch fosforylovaných forem, které se ukázaly být klinicky přínosné při stanovení v MMM – pT181-tau, pT217-tau a pT231-tau proteinů. Z klinických studií zatím vyplývá, že podobně jako koncentrace v MMM i plazmatické koncentrace uvedených fosforylovaných forem tau proteinu by mohly být využity jako přínosné biomarkery u AN, popř. i dalších demencí[64]. K dispozici je více údajů o plazmatických koncentracích pT181-tau proteinu, které korelují s koncentracemi v MMM (cit.[35,68]). Průměrné koncentrace pT181-tau proteinu 11,18 pg ml^{-1}, které vyplynuly z metaanalýzy, převyšují koncentrace t-tau proteinu. Tato diskrepance je vysvětlována odlišnou kalibrací při stanovení obou analytů při použití souprav na platformě SIMOA (cit.[35]).

Oligomery

Oligomery v séru byly stanovovány podle našich informací u pacientů s AN a mírnou kognitivní poruchou pouze v jedné studii pomocí metody ELISA (cit.[69]). Bylo pouze zjištěno signifikantní snížení koncentrací oligomerů u pacientů s mírnou kognitivní poruchou.

3.3. Tau protein ve slině

Slina je perspektivní biologickou tekutinou, jejíž odběr nevyžaduje žádný invazivní výkon. Kromě tau proteinu, který do slin může přestoupit z krevního oběhu, nelze vyloučit jako další zdroj sekreční buňky slinných žláz exprimující mRNA pro tau protein, nebo exkreci z axonů nervů inervujících slinné žlázy. Výhodou je skutečnost, že koncentrace t-tau proteinu ve slině stanovená vysoce citlivou metodou SIMOA je přibližně čtyřikrát

Tabulka I
Koncentrace celkového tau (t-tau) proteinu v plazmě stanovené metodou SIMOA (single molecule array) u vybraných patologických stavů

Onemocnění	Počet pacientů	Koncentrace t-tau proteinu [pg ml^{-1}] u skupiny nemocných	Počet osob v kontrolní skupině	Koncentrace t-tau proteinu [pg ml^{-1}] u kontrolní skupiny	Lit.
Alzheimerova nemoc	168	3,1 ± 1,3 (průměr ± SD)	166	2,7 ± 1,0 (průměr ± SD)	73
Mírná kognitivní porucha	174	2,81 ± 1,20 (průměr ± SD)	166	2,7 ± 1,0 (průměr ± SD)	73
Preeklampsie (37. týden těhotenství)	16	4,33 (3,97–12,83) medián (interkvartilové rozmezí)	36	3,77 (1,91–5,25) medián (interkvartilové rozmezí)	74
Traumatické poranění mozku	34	9,56 (5,90–17,10) medián (interkvartilové rozmezí)	69	4,1 (2,3–5,6) medián (interkvartilové rozmezí)	65
Stav po srdeční zástavě	73 (příznivý průběh) 39 (nepříznivý průběh)	9,9 (6,4–18,1) 12,7 (8,3–25,3) medián (interkvartilové rozmezí)	–	–	66
Sporadická Creutzfeldtova-Jakobova choroba	83	45,1 ± 48,7 (průměr ± SD)	70	2,5 ± 1,2 (průměr ± SD)	75

vyšší než v plazmě[70]. Pro zhodnocení klinického přínosu stanovení tau proteinu ve slině existuje zatím omezený počet studií.

3.4. Tau protein v extracelulárních váčcích

Pozornost byla věnována nejen volnému tau proteinu v biologických tekutinách, ale i tau proteinu transportovanému v extracelulárních váčcích izolovaných z krve nebo MMM. Byly v nich prokázány různé formy tau proteinu[58,71,72]. Intaktní molekuly se vyskytovaly v menším množství ve srovnání s fragmenty tau proteinu obsahujícím střední oblast molekuly[58]. V exosomech z MMM byl zkoumán také tau protein fosforylovaný na vybraných aminokyselinových zbytcích. Nebyly zjištěny rozdíly mezi kontrolní skupinou a pacienty s AN. V exosomech z MMM kontrolní skupiny i pacientů s AN byla prokázána i přítomnost tau proteinu ve formě oligomerů (trimerů)[71].

4. Závěr

Tau protein se vyznačuje značnou strukturní variabilitou, která podmiňuje existenci jeho četných proteoforem. Pokročilé imunoanalytické metody umožňují stanovení koncentrací celkového tau proteinu i vybraných proteoforem v biologických tekutinách. Existuje bohatá literatura dokumentující zvýšení koncentrací celkového tau proteinu a některých fosforylovaných proteoforem v MMM a plazmě/séru u různých neuropatologických stavů. Celkový tau protein i jeho fosforylované formy (především pT181-tau protein) již našly klinické uplatnění v diagnostice AN a jejich stanovení v MMM je hrazeno pojišťovnou. Nově se vyvíjejí i metody pro stanovení tau proteinů v plazmě/séru. Po jejich zavedení do klinické praxe by mohly představovat značný přínos pro pacienty i lékaře, neboť odběr krve se obejde bez invazivního výkonu lumbální punkce.

Seznam zkratek

AN	Alzheimerova nemoc
CNS	centrální nervový systém
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
MMM	mozkomíšní mok
PNS	periferní nervový systém
p-tau	fosforylovaný tau protein
pT181-tau protein	tau protein fosforylovaný na threoninovém zbytku 181
pT217-tau protein	tau protein fosforylovaný

	na threoninovém zbytku 217
pT231-tau protein	tau protein fosforylovaný
	na threoninovém zbytku 231
t-tau	celkový tau protein
SIMOA	single molecule array

Tento výstup vznikl v rámci programu Cooperatio, vědní oblasti Lékařská diagnostika a základní lékařské vědy a byl podpořen MZ ČR RVO VFN 64165.

LITERATURA

1. Weingarten M. D., Lockwood A. H., Hwo S. Y., Kirschner M. W.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *72*, 1858 (1975).
2. Gozes I.: EPMA J. *1*, 305 (2010).
3. Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Quinlan M., Tung Y. C., Zaidi M. S., Wisniewski H. M.: J. Biol. Chem. *261*, 6084 (1986).
4. Zetterberg H.: Neuropathol. Appl. Neurobiol. *43*, 194 (2017).
5. Kaerst L., Kuhlmann A., Wedekind D., Stoeck K., Lange P., Zerr I.: J. Neurol. *260*, 2722 (2013).
6. Hoiland R. L., Rikhraj K. J. K., Thiara S., Fordyce C., Kramer A. H., Skrifvars M. B., Wellington C. L., Griesdale D. E., Fergusson N. A., Sekhon M. S.: JAMA Neurol. *79*, 390 (2022).
7. Harten A., Kester M., Visser P., Blankenstein M., Pijnenburg Y., Flier W., Scheltens P.: Clin. Chem. Lab. Med. *49*, 353 (2011).
8. Fialova L., Bartos A., Svarcova J.: Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub. *161*, 286 (2017).
9. Di Stefano A. a 10 spoluautorů: CNS Spectr. *25*, 402 (2020).
10. Fialová L., Zima T., Bartoš A.: Chem. Listy *114*, 537 (2020).
11. Boroň J., Novotný P., Kačer P.: Chem. Listy *110*, 792 (2016).
12. Neve R. L., Harris P., Kosik K. S., Kurnit D. M., Donlon T. A.: Brain Res. *387*, 271 (1986).
13. Couchie D., Mavilia C., Georgieff I. S., Liem R. K., Shelanski M. L., Nunez J.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *89*, 4378 (1992).
14. Buee L., Bussiere T., Buee-Scherrer V., Delacourte A., Hof P. R.: Brain Res. Rev. *33*, 95 (2000).
15. Mandelkow E. M., Mandelkow E.: Cold Spring Harb. Perspect. Med. *2*, a006247 (2012).
16. Wang Y., Mandelkow E.: Nat. Rev. Neurosci. *17*, 5 (2016).
17. Guo T., Noble W., Hanger D. P.: Acta Neuropathol. *133*, 665 (2017).
18. Alquezar C., Arya S., Kao A. W.: Front. Neurol. *11*, 595532 (2021).
19. Quinn J. P., Corbett N. J., Kellett K. A. B., Hooper N. M.: J. Alzheimer′s Dis. *63*, 13 (2018).
20. Wegmann S., Biernat J., Mandelkow E.: Curr. Opin. Neurobiol. *69*, 131 (2021).
21. Köpke E., Tung Y.-C., Shaikh S., Alonso A. C., Iqbal K., Grundke-Iqbal I.: J. Biol. Chem. *268*, 24374 (1993).
22. Johnson G. V. W., Stoothoff W. H.: J. Cell Sci. *117*, 5721 (2004).
23. Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Tung Y. C., Quinlan M., Wisniewski H. M., Binder L. I.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *83*, 4913 (1986).
24. Meredith J. E., Jr. a 12 spoluautorů: PLoS One *8*, e76523 (2013).
25. Cicognola C. a 15 spoluautorů: Acta Neuropathol. *137*, 279 (2019).
26. Sato C. a 16 spoluautorů: Neuron *97*, 1284 (2018).
27. Bukar Maina M., Al-Hilaly Y. K., Serpell L. C.: Biomolecules *6*, 9 (2016).
28. Perez M., Avila J., Hernandez F.: Front. Neurosci. *13*, 698 (2019).
29. Avila J., Simón D., Díaz-Hernández M., Pintor J., Hernández F.: J. Alzheimer′s Dis. *40* Suppl 1, S7 (2014).
30. Yamada K. a 10 spoluautorů: J. Neurosci. *31*, 13110 (2011).
31. Merezhko M., Uronen R.-L., Huttunen H.: Front. Mol. Neurosci. *13*, (2020). doi: 10.3389/fnmol.2020.569818.
32. Kawata K., Liu C. Y., Merkel S. F., Ramirez S. H., Tierney R. T., Langford D.: Neurosci. Biobehav. Rev. *68*, 460 (2016).
33. Pase M. P., Beiser A. S., Himali J. J., Satizabal C. L., Aparicio H. J., DeCarli C., Chêne G., Dufouil C., Seshadri S.: JAMA Neurol. *76*, 598 (2019).
34. Onatsu J. a 11 spoluautorů: In Vivo *34*, 2577 (2020).
35. Ding X., Zhang S., Jiang L., Wang L., Li T., Lei P.: Transl. Neurodegener. *10*, (2021). doi: 10.1186/s40035-021-00234-5.
36. Wang J., Li J., Han L., Guo S., Wang L., Xiong Z., Chen Z., Chen W., Liang J.: Exp. Ther. Med. *11*, 1147 (2016).
37. Gleerup H. S., Hasselbalch S. G., Simonsen A. H.: Dis. Markers *2019*, 4761054 (2019).
38. Gijs M., Ramakers I. H. G. B., Visser P. J., Verhey F. R. J., van de Waarenburg M. P. H., Schalkwijk C. G., Nuijts R. M. M. A., Webers C. A. B.: Sci. Rep. *11*, 22675 (2021).
39. Passàli G., Politi L., Crisanti A., Loglisci M., Anzivino R., Passali D.: Chem. Percept. *8*, 201 (2015).
40. Václavková J., Oždian T., Hajdúch M., Džubák P.: Chem. Listy *114*, 209 (2020).
41. Hu X., Yang Y., Gong D.: Neurol. Sci. *38*, 1953 (2017).
42. Blennow K. a 18 spoluautorů: Brain *143*, 650 (2020).
43. Chen Z. a 16 spoluautorů: Alzheimer´s Dement. *15*, 487 (2019).
44. Bartoš A., Brůžová M., Fialová L.: Cesk. Slov. Neurol. N. *85*, 511 (2022).
45. Holper S., Watson R., Yassi N.: Int. J. Mol. Sci. *23*, 7307 (2022). doi: 10.3390/ijms23137307.
46. Momtazmanesh S., Shobeiri P., Saghazadeh A.,

Teunissen C. E., Burman J., Szalardy L., Klivenyi P., Bartos A., Fernandes A., Rezaei N.: Rev. Neurosci. *32*, 573 (2021).
47. Olsson B. a 14 spoluautorů: Lancet Neurol. *15*, 673 (2016).
48. Bruzova M., Rusina R., Stejskalova Z., Matej R.: Sci. Rep. *11*, 10837 (2021).
49. Zetterberg H., Blennow K.: Mol. Neurodegener. *16*, 10 (2021).
50. Jack C. R., Jr. a 19 spoluautorů: Alzheimer′s Dement. *14*, 535 (2018).
51. Suárez-Calvet M.: EBioMedicine *77*, 103936 (2022).
52. Bartoš A., Čechová L., Švarcová J., Říčný J., Řípová D.: Cesk. Slov. Neurol. N. *75/108*, 587 (2012).
53. Barthélemy N. R., Bateman R. J., Hirtz C., Marin P., Becher F., Sato C., Gabelle A., Lehmann S.: Alzheimer′s Res. Ther. *12*, 26 (2020).
54. Janelidze S. a 16 spoluautorů: Nat. Commun. *11*, 1683 (2020).
55. Barthélemy N. R., Mallipeddi N., Moiseyev P., Sato C., Bateman R. J.: Front. Aging Neurosci. *11*, 121 (2019).
56. Johnson G. V., Seubert P., Cox T. M., Motter R., Brown J. P., Galasko D.: J. Neurochem. *68*, 430 (1997).
57. Chesser A. S., Pritchard S. M., Johnson G. V.: Front. Neurol. *4*, 122 (2013).
58. Guix F. X. a 11 spoluautorů: Int. J. Mol. Sci. *19*, 663 (2018).
59. Sengupta U., Portelius E., Hansson O., Farmer K., Castillo-Carranza D., Woltjer R., Zetterberg H., Galasko D., Blennow K., Kayed R.: Ann. Clin. Transl. Neurol. *4*, 226 (2017).
60. Xu M., Lu M., Zhang W., Jin Q., Chen Y.: J. Proteome Res. *20*, 2299 (2021).
61. Scholl M., Maass A., Mattsson N., Ashton N. J., Blennow K., Zetterberg H., Jagust W.: Mol. Cell. Neurosci. *97*, 18 (2019).
62. Mattsson N. a 16 spoluautorů: Neurology *87*, 1827 (2016).
63. Fossati S. a 10 spoluautorů: Alzheimer′s Dement. *11*, 483 (2019).
64. Verde F.: J. Neural. Transm. *129*, 239 (2022).
65. Bogoslovsky T. a 10 spoluautorů: J. Neurotrauma *34*, 66 (2017).
66. Humaloja J. a 11 spoluautorů: Resuscitation *170*, 141 (2022).
67. De Vos A. a 10 spoluautorů: BMC Neurology *17*, 170 (2017).
68. Janelidze S. a 14 spoluautorů: Nat. Med. *26*, 379 (2020).
69. Kolarova M., Sengupta U., Bartos A., Ricny J., Kayed R.: J. Alzheimer′s Dis. *58*, 471 (2017).
70. Ashton N. J., Ide M., Zetterberg H., Blennow K.: Neurol. Ther. *8*, 83 (2019).
71. Wang Y. a 10 spoluautorů: Mol. Neurodegener. *12*, 5 (2017).
72. Fiandaca M. S. a 10 spoluautorů: Alzheimer′s Dement. *11*, 600 (2015).
73. Deters K. D. a 10 spoluautorů: J. Alzheimer′s Dis. *58*, 1245 (2017).
74. Bergman L., Zetterberg H., Kaihola H., Hagberg H., Blennow K., Åkerud H.: PLoS One *13*, e0196025 (2018).
75. Zerr I., Villar-Piqué A., Hermann P., Schmitz M., Varges D., Ferrer I., Riggert J., Zetterberg H., Blennow K., Llorens F.: Alzheimer′s Res. Ther. *13*, 86 (2021).
76. Huang S., Wang Y. J., Guo J.: Neurosci. Bull. *38*, 677 (2022).
77. Teunissen C. E., Verberk I. M. W., Thijssen E. H., Vermunt L., Hansson O., Zetterberg H., van der Flier W. M., Mielke M. M., Del Campo M.: Lancet Neurol. *21*, 66 (2022).

L. Fialová[a,b], L. Nosková[a], and T. Zima[a] *([a] First Faculty of Medicine, Charles University, General University Hospital in Prague, [b] Faculty of Biomedical Engineering, Czech Technical University in Prague, Czech Republic):* **Tau Protein in Biological Fluids and Its Clinical Value**

The tau protein is one of the neurocytoskeletal proteins that participate in the pathogenesis of serious neurological diseases, especially Alzheimer's disease. The tau protein is characterized by considerable structural variability, which is reflected in the existence of its numerous proteoforms. This review aims to provide brief information on the structure of tau protein and its proteoforms, which seem promising biomarkers for clinical use. Biological fluids, suitable for laboratory examination in clinical practice, i.e., cerebrospinal fluid and blood (plasma/serum), are discussed. Total tau protein and its phosphorylated forms (mainly the pT181-tau protein, phosphorylated at the threonine residue 181) have already found clinical application in diagnosis of Alzheimer's disease.

Keywords: tau protein, proteoforms, post-translational modification, phosphorylation, proteolysis, Alzheimer's disease, cerebrospinal fluid, blood

Acknowledgement
This work was supported by the Cooperatio Program, research area Medical Diagnostics and Basic Medical Sciences and by MH CZ DRO VFN 64165 (given by the Czech Ministry of Health).

Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.