

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

**MORFOLOGICKÁ DIAGNOSTIKA
FRONTOTEMPORÁLNÍCH LOBÁRNÍCH
DEGENERACÍ**

Adriana Goldová

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Zuzana Svobodová, Ph.D.

Konzultant: prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2023

Poděkování

Děkuji vedoucí mé práce Mgr. Zuzaně Svobodové, Ph.D. za vedení, její čas, trpělivost, obrovskou podporu a cenné rady. Rovněž děkuji mému konzultantovi, přednostovi Ústavu patologie a molekulární medicíny 3LF UK a FTN, prof. MUDr. Radoslavu Matějovi, Ph.D. za veškerý jeho čas, laskavost a odbornou pomoc při psaní bakalářské práce. Vedoucí laborantce, Mgr. Aleně Polákové, vděčím za podporu při studiu, inspiraci, odborné rady i předání praktických zkušeností.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 30.4.2023

Adriana Goldová

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

Název práce: Morfologická diagnostika frontotemporálních lobárních degenerací

Vedoucí práce: Mgr. Zuzana Svobodová, PhD.

Konzultant: prof. MUDr. Radoslav Matěj, PhD.

Autor: Adriana Goldová

Cíl práce:

Hlavním cílem práce je zpracování recentních informací o morfologické diagnostice frontotemporálních lobárních degenerací. Cílem práce je rovněž uvést do problematiky hlavních podskupin tohoto onemocnění a uvést možnosti klinické diagnostiky.

Hlavní poznatky:

Bakalářská práce se zabývá teoretickým zpracováním informací o frontotemporálních lobárních degeneracích se zaměřením na morfologickou diagnostiku, včetně imunohistochemického a molekulárně-genetického průkazu. Zabývá se rovněž možnostmi klinické diagnostiky. Věnuje se etiopatogenezi neurodegenerativních onemocnění a předkládá komplexní náhled do problematiky frontotemporálních lobárních degenerací.

Závěry:

Morfologická diagnostika frontotemporálních lobárních degenerací je zásadní pro stanovení přesné diagnózy a určení rozsahu patologických změn. Imunohistochemické metody významně napomáhají stanovit přesnou neuropatologickou diagnózu. Metody molekulární genetiky umožňují identifikovat příčinu onemocnění v genetické mutaci některého z klíčových proteinů a rozlišit tak dědičné formy od sporadických typů onemocnění.

Klíčová slova: tau protein, ubikvitin, TDP-43, FUS, MAPT, CHMP2B, C9orf72, TARDBP, GRN, VCP, neurodegenerace, diagnostika

ABSTRACT

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Study programme: Laboratory diagnostics in healthcare

Title of bachelor thesis: The Morphological Diagnostics of Frontotemporal Lobar Degeneration

Supervisor: Mgr. Zuzana Svobodová, Ph.D.

Consultant: prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.

Author: Adriana Goldová

Background:

The main goal of this work was the processing of recent information about the morphologic diagnostics of frontotemporal lobar degeneration. Another goal was to introduce the matter of the main subgroups of that disease and sum up the possibilities of clinical diagnosis.

Main findings:

The bachelor thesis deals with the theoretical processing of information about frontotemporal lobar degeneration with the aim on morphological diagnosis, including immunohistochemistry and molecular-genetic methods. It is also focused on the possibilities of clinical diagnosis. This work deals with the etiopathogenesis of neurodegenerative diseases and provides a complex preview into the matter of frontotemporal lobar degeneration.

Conclusions:

The morphological diagnosis of frontotemporal lobar degenerations is crucial for the assessment of accurate diagnosis and determination of the range of pathological changes. Immunohistochemical techniques significantly help to assess neuropathological diagnosis. The techniques of molecular genetics enable to identify the aberrations in the key proteins and thus differentiate hereditary forms from sporadic types of the disease.

Key words: tau protein, ubiquitin, TDP-43, FUS, MAPT, CHMP2B, C9orf72, TARDBP, GRN, VCP, neurodegeneration, diagnostics

OBSAH

ÚVOD.....	10
ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE.....	11
POUŽITÉ ZKRATKY.....	12
1 Neurodegenerace.....	9
1.1 Definice a vymezení pojmu.....	9
1.2 Etiopatogeneze neurodegenerativních onemocnění.....	9
1.2.1 Oxidační stres a mitochondriální dysfunkce.....	10
1.2.2 Apoptóza.....	12
1.2.3 Konformační změny proteinů a abnormální patologické proteinové agregáty.....	12
1.2.4 Genetické pozadí.....	16
1.3 Klasifikace neurodegenerací – přehled současného stavu.....	16
2 Frontotemporální lobární degenerace.....	18
2.1 Definice.....	18
2.2 Epidemiologie.....	19
2.2.1 Incidence a prevalence.....	19
2.2.2 Mortalita.....	20
2.2.3 Rizikové faktory.....	20
3 Neuropatologická klasifikace FTLD.....	20
3.1 Tauopatie.....	20
3.1.1 3R – tauopatie.....	21
3.1.2 4R – tauopatie.....	22
3.2 Non-tau FTLD.....	25
3.2.1 FTLD-TDP.....	26
3.2.2 FTLD-UPS.....	28

3.2.3	FTLD-FUS.....	28
4	Klinická klasifikace FTLD	28
4.1	Behaviorální varianta frontotemporální demence	30
4.2	Primární progresivní afázie	31
4.2.1	Nonfluentní/agramatická varianta.....	32
4.2.2	Sémantická varianta	32
4.2.3	Logopenická varianta.....	33
5	Klinická diagnostika.....	34
5.1	Klinické vyšetření	34
5.2	Zobrazovací metody	34
5.2.1	MRI.....	35
5.2.2	PET	35
5.3	Další diagnostické metody	36
5.3.1	Elektroencefalografie.....	36
5.3.2	Elektromyografie	37
5.4	Vyšetření mozkomíšního moku	37
5.4.1	Likvorový triplet.....	37
5.4.2	Nespecifické biomarkery neurodegenerace	38
6	Neuropatologická diagnostika	38
6.1	Odběr materiálu pro neuropatologické vyšetření.....	38
6.1.1	Pitva mozku	38
6.1.2	Odběr vzorků z dalších orgánů	39
6.2	Histomorfologické změny	39
6.2.1	Metoda hematoxylin-eosin	40
6.2.2	Histochemie	41
7	Imunohistochemický průkaz	41

7.1	Princip imunohistochemického průkazu	41
7.2	Postup.....	42
7.2.1	Příprava preparátu, deparafinace a rehydratace	43
7.2.2	Revitalizace antigenu	43
7.2.3	Aplikace 96% kyseliny mravenčí	43
7.2.4	Zablokování endogenní aktivity enzymů.....	43
7.2.5	Aplikace protilátek a inkubace	44
7.2.6	Aplikace chromogenního substrátu	44
7.2.7	Kontrastní barvení.....	44
7.2.8	Odvodnění, projasnění, montování.....	44
7.3	Imunohistochemický panel	45
8	Patologická depozita a inkluze a klíčové proteiny, které je formují	46
8.1	Tau protein a jeho hyperfosforylovaná forma.....	46
8.2	TDP-43	47
8.3	FUS	47
8.4	Ubikvitin	47
9	Molekulárně genetický průkaz	48
9.1	Hlavní geny	48
9.1.1	MAPT	48
9.1.2	GRN.....	49
9.1.3	C9orf72	49
9.2	Vzácné geny	50
9.2.1	TARDBP.....	50
9.2.2	CHMP2B	50
9.2.3	FUS	50
9.2.4	VCP.....	51

9.3	Princip molekulárně genetických metod	51
9.3.1	Metoda přímého sekvenování (Sangerova sekvenace).....	51
9.3.2	Masivní paralelní sekvenování nové generace	54
	ZÁVĚR	56
	SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ	57
	SEZNAM TABULEK.....	57
	SEZNAM OBRÁZKŮ	57
	SEZNAM LITERATURY	58

ÚVOD

Se zvyšující se průměrnou délkou života dochází k nárůstu počtu případů neurodegenerativních onemocnění v lidské populaci. Na počátku 20. století nepřesahovala průměrná délka života ve většině států 50 let. Dnes činí v průměru okolo 80 let a neurodegenerativním onemocněním je v současné době celosvětově postiženo na 50 milionů osob (Cao Q. et al., 2020; Crimmins E. M., 2015). Neurodegenerativní onemocnění jsou doposud nevléčitelná onemocnění a stávají se závažným socioekonomickým problémem. Frontotemporální lobární degenerace je třetí nejčastější příčinou demence u osob starších 65 let. Zároveň je dokonce druhou nejčastější příčinou rozvoje demence u osob ve středním věku, mladších 65 let. Jedná se o heterogenní skupinu progresivních neurodegenerativních onemocnění, které mají rozličnou klinickou manifestaci. Jejich společným rysem je patologie frontálního laloku a frontotemporálního pomezí mozku, často parietální kůry a bazálních ganglií. V důsledku zániku neuronů v těchto oblastech a dle převahy postižení dochází u pacientů k různě intenzivnímu úpadku schopností komunikace, myšlení, pohybu, činění rozhodnutí a projevování emocí. Narušeny jsou základní osobnostní rysy, pacienti postupně nejsou schopni samostatně fungovat ve společnosti a ztrácí vlastní soběstačnost. Neuropatologickým podkladem onemocnění jsou intraneuronální depozita tau proteinu či jiných peptidů, z nichž jde nejčastěji o TAR DNA vázající-protein 43 (TDP-43) (Rusina R. et al., 2021). V současné době je možné definitivně potvrdit klinickou diagnózu neurodegenerativního onemocnění pouze na základě neuropatologického vyšetření. Přesná diagnostika na morfologické a molekulárně-genetické úrovni je zásadní zpětnou vazbou pro klinické studie léčiv či biomarkerů. Podrobné histopatologické vyšetření mozku je vysoce významné pro poznání etiopatogeneze neurodegenerativních onemocnění a rovněž pro vývoj nových diagnostických a terapeutických přístupů (Rohan Z. a Matěj R., 2015).

ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je rešeršní zpracování recentních informací o morfologické diagnostice frontotemporálních lobárních degenerací a jejích hlavních podskupin, včetně úvodu do imunohistochemických metod a metod molekulární genetiky. Bakalářská práce rovněž zahrnuje přehled možnosti klinické diagnostiky, které souvisí s výzkumem korelace klinických výsledků a neuropatologických nálezů u tohoto onemocnění. Předkládá okrajový náhled do problematiky tohoto závažného neurodegenerativního onemocnění.

POUŽITÉ ZKRATKY

ACE-R	Addenbrookský kognitivní test (z angl. Addenbrooke's cognitive examination)
AGD	demence s argyrofilními zrny (z angl. argyrophilic grain disease)
AgNOR	stříbrící metoda pro průkaz organizátorů jádérka (z angl. silver stained nucleolus organizer regions)
ALS	amyotrofická laterální skleróza
ALS-FTDS	frontotemporální spektrum postižení u amyotrofické laterální sklerózy
AN	Alzheimerova nemoc
aSyn	alfa-synuklein
A β 42	forma beta-amyloidu o 42 aminokyselinách
bvFTD	behaviorální varianta frontotemporální demence
C9orf72	otevřený čtecí rámeček 72 na chromosomu 9 (z angl. chromosome 9 open reading frame 72)
CBD	kortikobazální degenerace (z angl. corticobasal degeneration)
CBS	syndrom kortikobazální degenerace
CJD	Creutzfeldtova-Jakobova nemoc
CT	výpočetní tomografie (z angl. computed tomography)
DAB	3,3'-diaminobenzidín
ddNTPs	dideoxynukleotidtrifosfáty
dNTPs	deoxynukleotidtrifosfáty
DR	opakování vazebného místa mikrotubulů (z angl. direct repeats)
dsDNA	dvouvláknová DNA (z angl. double-stranded DNA)
EEG	elektroencefalografie
EMG	elektromyografie
ESCRT-III	endosomální třídící komplex nutný pro transport (z angl. endosomal sorting required for transport complex III)

FDG-PET	PET s 18F-fluorodeoxyglukózou
ftDP-43	fosforylovaný TDP-43
FTLD	frontotemporální lobární degenerace
FTLD-MND	FTLD s onemocněním motorického neuronu
FTLD-MND-TDP	frontotemporální lobární degenerace s TDP-43 pozitivními inkluzemi a onemocněním motorického neuronu
FTLD-TDP	FTLD s inkluzemi TAR DNA vázajícího proteinu 43
FTLD-UPS	FTLD s inkluzemi proteinu Fused in Sarcoma
GGS	Gerstmannův-Sträusslerův-Scheinkerův syndrom
GGT	globulární gliové tauopatie (z angl. globular glial tauopathies)
GRN	protein granulin
HIER	teplem indukované zpřístupnění epitopů (z angl. Heat induced epitope retrieval)
hnRNP	heterogenní jaderný ribonukleoproteinový komplex (z angl. heterogeneous nuclear ribonucleoprotein complex)
h-TAU	celkový tau-protein
CHMP2B	gen pro nabitý multivezikulární protein 2B (z angl. charged multivesicular body protein 2B)
IBM	myopatie s inkluzními tělísky (z angl. Inclusion-Body Myositis)
IBMPFD	myopatie s inkluzními tělísky s Pagetovu chorobu kostí a autosomálně dominantní frontotemporální demencí (z angl. Inclusion body myopathy with early-onset Paget's disease and frontotemporal dementia)
LBD	nemoci s Lewyho tělísky
lvPPA	logopenická varianta primární progresivní afázie
MAPT	protein asociovaný s mikrotubuly - tau (z angl. microtubule associated protein tau)
MMSE	krátký test kognitivních funkcí (z angl. Mini-Mental State Examination)
MND	onemocnění motorického neuronu

MoCA	Montrealský kognitivní test (z angl. Montreal cognitive assessment)
MRI	magnetická rezonance
MSA	multisystémová atrofie
NfL	lehké řetězce neurofilament (z angl. neurofilament light chain)
nfvPPA	non-fluentní/agramatická varianta primární progresivní afázie
NK	nukleová kyselina
PDB	Pagetova choroba kostí (z angl. Paget's disease of bone)
PET	pozitronová emisní tomografie
polyQ	nemoci s polyglutaminovými expanzemi
PrP	prionový protein
PSP	progresivní supranukleární obrna (z angl. progressive supranuclear palsy)
p-TAU	hyperfosforylovaná forma tau proteinu
ROS	reaktivní formy kyslíku (z angl. reactive oxygen species)
ssDNA	jednovláknová DNA (z angl. single-stranded DNA)
svPPA	sémantická varianta primární progresivní afázie
TARDBP	gen pro TAR DNA vazebný protein 43
tau-PET	PET s tau ligandem - flortaucipir18F
TDP-43	TAR DNA vázající protein 43
Ub	ubikvitin
UPS	ubikvitin-proteazomový systém (z angl. ubiquitin-proteasome system)
VCP	protein obsahující valosin (z angl. valosin-containing protein)

1 Neurodegenerace

1.1 Definice a vymezení pojmu

Pojem neurodegenerace zastřešuje širokou skupinu stavů, při kterých dochází k progresivnímu zániku a poškození specifických populací nervových buněk. Následkem je ztráta funkce určité neuronální populace, což je spojeno s manifestací závažných neurologických a psychických příznaků. K poškození neuronů dochází na podkladě ukládání depozit patologicky změněného, pro dané onemocnění specifického, proteinu v mozkové tkáni. Jedná se o tzv. proteinopatie. Topografická distribuce proteinových agregátů pak obvykle odpovídá klinickému obrazu onemocnění (Matěj R. et al., 2019; Klotz S. et al. 2021).

1.2 Etiopatogeneze neurodegenerativních onemocnění

Neurodegenerativní onemocnění jsou z velké části multifaktoriálně podmíněné onemocnění, ačkoliv se na vzniku onemocnění rovněž podílí i genetické faktory. Neurodegenerace se klinicky manifestují v dospělosti a častěji ve vyšším věku – jedná se tedy o převážně věkově vázaná onemocnění a se stárnutím populace dochází k jejich zvýšenému výskytu. Stárnutí je spojeno s řadou fyziologických deficitů a různým stupněm kognitivního poklesu. Z obrovského množství výzkumů zaměřených na odhalení mechanismů stárnutí a neurodegenerativních procesů vzešlo několik dílů skládačky, ale k pochopení celého obrazu vede pravděpodobně ještě dlouhá cesta (Singh A., 2019; Koukolík F. a Jiráček R., 1998).

Jsou známy některé patofyziologické mechanismy, které vznik neurodegenerativních onemocnění předcházejí, přičemž zásadní roli hrají defekty proteinové homeostázy a metabolismu proteinů (Morimoto R. I., 2008; Koga H. et al., 2010). Proteinová homeostáza je důležitá pro přežití a funkci všech buněk. Na rozdíl od jiných typů buněk jsou neurony dlouhověké, oplývají architektonicky složitou a rozmanitou morfologií, která dokáže překlenout velkou vzdálenost. Tyto vlastnosti představují náročné požadavky na proteostatické mechanismy (Lottes E. N. a Cox, D. N., 2020).

1.2.1 Oxidační stres a mitochondriální dysfunkce

Oxidační poškození vyvolané volnými radikály a mitochondriální dysfunkce hrají pravděpodobně hlavní roli jak v procesu stárnutí, tak při vzniku neurodegenerativních onemocnění. Ke stárnutí mozku dochází na molekulární, buněčné a histologické úrovni. Je také spojeno se snížením úrovně metabolické aktivity nervových buněk (Jurcau A., 2021; Zia A. et al., 2021).

Výzkumy poukazují na hypothalamus, který spouští a řídí postupný pokles metabolismu celého organismu. Hypothalamus reguluje hladinu stresu, metabolismus a spánek – činí tak prostřednictvím sekrece neurohormonů, propojením s endokrinním systémem a projekcí orexinergního jádra do retikulárního aktivačního systému. Degenerace suprachiasmatických jader může přispívat k poruchám cirkadiálního rytmu a poruchám spánku. Omezení spánku může způsobit, že se neuronální toxické odpadní produkty nahromadí a omezí neurogenezi ve stárnoucím mozku – a tak zesílí neurodegenerativní proces (Jurcau A., 2021; Camandola S. a Mattson M., 2017).

Metabolismus mozku se opírá především o neustálý přísun dvou hlavních substrátů: glukózy a kyslíku. V omezené míře i o laktát a to především při zvýšené fyzické aktivitě (Dalsgaard M. et al., 2003). Jak kyslík, tak glukóza musí být do mozku dodávány nepřetržitě krevním řečištěm. Kyslík je transportován z kapilár do mozkové tkáně difúzí. Příjem glukózy neurony je zprostředkován glukózovými transportéry, načež je glukóza pomocí hexokinázy přeměněna na glukóza-6-fosfát. Dostupnost adenosintrifosfátu závisí na dodávce kyslíku, mitochondriální oxidativní fosforylaci a je spojena s vychytáváním glukózy. Pokles metabolismu glukózy může být **způsoben mitochondriální dysfunkcí** a nevyhnutelně narušuje normální fungování neuronů, což je široce pozorováno u neurodegenerativních onemocnění (např. Alzheimerova nemoc) (Błaszczuk J., 2020; Leithner C., 2014).

Vyšší energetický výdej nervového systému, nutný pro synaptický přenos, je spojen s vysokou produkcí **reaktivních forem kyslíku** (ROS, z angl. reactive oxygen species) **a volných radikálů** od kyslíku odvozených (viz. **tab. č. 1** – reaktivní formy kyslíku). K produkci radikálů dochází z velké části v rámci buněčného dýchání v důsledku úniku elektronů z mitochondriálního elektronového transportního řetězce. Uniklé elektrony pak přímo reagují s kyslíkem (za vzniku superoxidového radikálu) či jiným akceptorem elektronu a vzniká volný radikál (Balaban R. S. et al., 2005; Shields H. J. et al., 2021).

Tabulka 1 – Reaktivní formy kyslíku (zdroj: Halliwell B. a Guteridge J.M., 2007)

Radikály		Neradikály	
hydroxylový	HO·	Peroxynitrit ^a	ONOO ⁻
superoxidový	O ₂ ^{-·}	peroxid vodíku	H ₂ O ₂
peroxylový	ROO·	ozón	O ₃
hydroperoxylový	HO ₂ ·	kyselina chlorná	HOCl
alkoxylový	RO·	singletový kyslík	¹ O ₂
oxid dusnatý ^a	NO·	kyselina bromná	HOBr
oxid dusičitý ^a	NO ₂ ·	Alkylperoxynitrit ^a	RONOO

(^a Také nazývané jako reaktivní formy dusíku)

Volné radikály nesou ve vnější sféře svého elektronového obalu nejméně jeden nespárovaný elektron. Ve snaze dosáhnout stabilní elektronové konfigurace usilují o doplnění chybějícího elektronu. Chybějící elektron získává volný radikál tím, že jej vytrhne z jiné molekuly, ze které se stává radikál a radikálová reakce se takto dále propaguje do okolí. Radikálová reakce končí buď reakcí dvou radikálů, nebo reakcí s jinou látkou, jejíž radikál je stabilní a může existovat delší dobu (např. nízkomolekulární antioxidanty) (Halliwell B. a Guteridge J.M., 2007; Singh A., 2019).

Volné radikály mohou reagovat s biomolekulami jako jsou proteiny, lipidy a DNA. Dochází tak k narušení struktury těchto biomolekul a ke změně jejich fyziologické a biochemické funkce (Halliwell B. a Guteridge J.M., 2007; Singh A., 2019). Např. reakcí oxidu dusnatého se superoxidem vzniká toxický peroxynitrit (ONOO⁻), který je silným cytotoxickým oxidačním agens. In vivo vyvolává hydroxylaci a nitraci tyrosinových zbytků a oxidaci methioninových zbytků v proteinech, což vede k inaktivaci enzymů (např. cytochromů P450) (Shields H. J. et al., 2021).

Oxidační poškození proteinů je stěžejní jednak tím, že ovlivňuje samotnou funkci enzymů, receptorů a transportních proteinů. Zároveň přispívá k sekundárnímu poškození dalších biomolekul (např. inaktivací DNA reparačních proteinů či narušením přesnosti DNA polymeráz při replikaci DNA) (Trnková L. et al., 2015).

Poškození mitochondriální DNA je spojeno s poklesem intracelulárních hladin oxidované formy nikotinamidadeninukleotidu což dále zhoršuje funkci enzymů, které jsou závislé na nikotinamidu jako jsou sirtuiny a histondeacetylázy. Prostřednictvím peroxidace lipidů, oxidace proteinů a poškození DNA může generovaný ROS způsobit změnu mitochondriální funkce, a ještě zvýšit rychlost produkce ROS, což vyvrcholí

v degeneraci neuronů (Jurcau A., 2021; Shin-Ichiro I. a Guarente L. 2016). ROS zprostředkovaná buněčná signalizace je účinným indikátorem apoptózy (Singh A., 2019).

1.2.2 Apoptóza

Apoptóza neboli programovaná buněčná smrt je jedním z hlavních mechanismů podílejících se při neurodegenerativních procesech. Apoptóza může být vyvolána oxidačním stresem, narušením homeostázy vápníku, mitochondriální dysfunkcí či aktivací cysteinových proteáz – kaspáz (Mattson M., 2000).

Působením vnějších a vnitřních mechanismů dojde k interakci pro- a antiapoptických faktorů. Důsledkem je spuštění kaskádovité reakce, která vede ke smrti postižené buňky (Matěj R., 2019). Hladiny pro- a antiapoptických proteinů jsou regulovány mj. ubikvitin-proteasomovým systémem (UPS). Defekty UPS jsou v současnosti intenzivně studovány a hrají významnou roli v procesu apoptózy, zároveň mohou potencovat vznik depozit patologických proteinových agregátů (Abbas R., 2021).

1.2.3 Konformační změny proteinů a abnormální patologické proteinové agregáty

Nativní konformace

Správná trojrozměrná proteinová struktura neboli konformace proteinu je určující pro jeho fyziologickou funkci, rozpustnost a schopnost se spojit s reaktivními místy na jiných proteinech a molekulách v buňce. Konformace proteinu je dána specifickou lineární sekvencí aminokyselin, vzájemně spojených peptidovými vazbami směrem od N-konce k C-konci (aminokarboxyl). Aminokyseliny mají různé postranní řetězce (R-skupiny), které jim dávají různé vlastnosti. Postranní řetězce jsou velké nebo malé, hydrofilní (interagují s vodou) nebo hydrofobní (nemají tendenci interagovat s molekulami vody). Některé jsou nabitě kladně a některé záporně. Ve správně složeném proteinu jsou hydrofobní aminokyselinové zbytky společně a navzájem se chrání před molekulami vody. Naopak hydrofilní zbytky jsou vystaveny na povrchu proteinu a interagují s vodou cytoplazmy. Velké aminokyseliny dělají zákoutí pro malé. Tento druh těsného skládání a balení minimalizuje celkovou volnou energii proteinu (Hebert D. N. et al., 2006; Herczenik E. et al. 2008; Reynaud E., 2010).

Variabilita skládání proteinů

Počet možných konfigurací s minimální energií jedné proteinové sekvence je enormně veliký a obvykle jen několik z nich může mít normální aktivitu. Nově syntetizované proteiny se přesto obvykle správně skládají do vhodné konfigurace s minimální energií, a proto jsou schopny správně vykonávat svoji úlohu. Informace potřebná k tomu, aby se proteiny složily ve správné konfiguraci s minimální energií, je zakódována ve fyzikálně-chemických vlastnostech jejich aminokyselinové sekvence. Obvykle je protein sám, v jednotkách mikrosekund, schopen najít svůj funkční nebo nativní stav. Je tomu tak, protože jeho základní aminokyseliny interagují lokálně, čímž omezují konformační prostor, což vysvětluje koncept známý jako Levinthalův paradox (Gandhi J. et al. 2019; Reynaud E., 2010).

Chaperony

Některé proteiny mají obzvláště komplikovanou nebo nestabilní konformaci. Mají vlastnost se skládat do alternativních konformací s minimální volnou energií, a tudíž jen obtížně dosáhnou funkčního stavu. V těchto případech potřebují nestabilní proteiny nasměrovat k nalezení oné funkční konformace – k tomu účelu existují tzv. molekulární chaperony. Molekulární chaperony jsou specializované proteiny, ATP-ázy, které pomáhají nestabilním proteinům složit se do jejich přirozené funkční konformace. Stárnutím snížená aktivita proteazomu a změněná funkční schopnost chaperonů přispívají k hromadění špatně poskládaných proteinů v neuronech a dalších buňkách (Wankhede N. L. et al., 2022; Reynaud E., 2010).

Nestabilní proteiny

Pokud jsou ve zdravé buňce syntetizovány nativně složené proteiny, obvykle nedochází k potížím. Náš genom však kóduje také proteiny, které jsou ze své podstaty nestabilní, protože mají vlastnost se skládat v alternativních stavech s minimální energií. Jen velmi málo z těchto alternativních struktur je funkčních a užitečných pro buňku. Drtivá většina z nich je zbytečná nebo dokonce toxická. Funkční nebo nativní konformace proteinů bez vazby na membránu je typicky rozpustná ve vodě. Za to nesprávně poskládané proteiny (tzv. toxické konformace) jsou typicky nerozpustné a mají tendenci tvořit dlouhé lineární nebo fibrilární agregáty známé jako amyloidní usazeniny (Dobson Ch. M., 2003; Reynaud E., 2010; Ajmal M.R., 2023).

Konformační změny proteinu a chybné skládání

Nejvýraznějším motivem mnoha funkčních proteinů v nativní konformaci je jejich strukturální podoba alfa šroubovice, pravotočivé spirální cívky. Když se protein stane toxickým, dojde k rozsáhlé konformační změně a získá motiv známý jako beta skládaný list. Konformace beta skládaného listu existuje také v mnoha funkčních nativních proteinech, jako jsou imunoglobuliny, ale **přechod z alfa šroubovice na beta skládaný list** je charakteristický právě pro amyloidní ložiska. Abnormální konformační přechod z alfa šroubovice na beta list odhaluje hydrofobní aminokyselinové zbytky a podporuje agregaci proteinů (Dobson Ch. M., 2002; Soto C. et al., 2018; Reynaud E., 2010).

Postkonformační změny a proteinové agregáty

Patologické proteinové agregáty hrají klíčovou roli při iniciaci a šíření neurodegenerativních onemocnění. K samotné tvorbě agregátu dochází poté, co fyziologický peptid (protein) ztratí svou původní nativní konformaci. Tento špatně složený peptid se postupně zformuje do podoby oligomeru (malého rozpustného agregátu), který následně podlehnou konverzi na tzv. „fibril-like“ oligomer. „Fibril-like“ oligomer postupně váže další monomery, což vede ke vzniku dlouhých nerozpustných fibril. Tyto dále tvoří depozita extracelulárně nebo intracelulárně v cytoplazmě či uvnitř jádra (De S. et kol., 2019; Wells C. et al. 2021; Carrell R et al. 1997).

Lokalizované/orgánově specifické amyloidózy

Amyloidogeneze je hlavním příznakem heterogenní skupiny onemocnění podmíněných ukládáním amyloidogenního peptidu v řadě orgánů, nazývané amyloidóza. Dle charakteru postižení lze amyloidózu rozdělit na lokalizovanou či systémovou. V souvislosti s neurodegenerativními onemocněními hovoříme o tzv. **lokalizované amyloidóze**. Depozita amyloidogenního peptidu jsou lokalizované pouze v rámci jednoho orgánu (tzv. orgánově-specifické), nedochází k jejich šíření dále (Hazenberga B. P., 2013; Blancas-Mejía L. M. a Ramirez-Alvarado M., 2013).

Na druhou stranu Troncone et al. (Troncone L. et al. 2016) ve své studii prokázali přítomnost beta amyloidu (konkrétně izoforem A β 40 a A β 42) v kardiomyocytech a intersticiu v srdcích pacientů s Alzheimerovou nemocí (AN). Přítomnost byla spojena s diastolickou dysfunkcí a dysfunkcí myokardu. To otevírá novou hypotézu, že by právě beta amyloid mohl hrát roli u srdečních dysfunkcí pacientů s AN. Tyto studie naznačují, že stav kardiovaskulárního systému může nejen ovlivnit nástup nebo progresi AN,

ale že AN může být sama o sobě faktorem přispívajícím ke snížení kardiovaskulárních funkcí. Tyto údaje naznačují, že by AN mohla být potenciálně multiorgánová, systémová porucha, která se neomezuje pouze na mozek (Schaich C. L. et al., 2019; Jensen B. C. a Willis M. S., 2016).

Potenciální infekciozita

Patologická proteinová depozita mají sklon se kumulovat v určitých buňkách a v určitých neuroanatomických oblastech a/nebo jsou určité neuronální populace citlivé na specifické proteinopatie. Z primárních oblastí poté dochází k postupnému šíření patologie. Šíření je pravděpodobně založeno na skutečnosti, že patologická změna konformace různých proteinů má jistou přenositelnost a dále indukuje konformační změnu "zdravých" proteinů. Tato potenciální „infekciozita“ patologické konformace proteinu byla poprvé popsána v souvislosti s prionovými chorobami. Z tohoto důvodu se používá terminologické přirovnání "šíření podobné prionu" (z angl. prion-like spreading“) (Fu H. et al. 2018; Guo J. et al. 2014).

Poruchy proteinové homeostázy a metabolismu proteinů

Homeostáza proteinů je regulována sítí buněčných procesů, které zajišťují přesné řízení syntézy proteinů, nativní konformační skládání a udržování, obrat a degradaci proteinů. To jak za homeostatických podmínek, tak v kontextu buněčného stresu, stárnutí a onemocnění. Síť homeostázy proteinů může být rozdělena do třech hlavních funkčních drah, které synergicky řídí kontrolu kvality proteinů působením: 1) mechanismů syntézy proteinů, 2) udržovacích mechanismů vč. molekulárních chaperonů podílejících se na skládání proteinu a 3) degradačních drah (např. ubikvitin-proteasomový systém, endolysozomální dráha, autofágie). Porucha kterékoliv funkční dráhy může mít dramatické důsledky na neurony (Smith H. L. 2015; Lottes E. N. a Cox, D. N., 2020; Hanus C. a Schuman E. M., 2013).

Pokud je tedy jemná rovnováha syntézy, skládání a degradace proteinů narušena, může dojít k produkci a hromadění špatně poskládaných proteinů, které tvoří agregáty. Příčinou může být oxidační stres, genetické mutace nebo právě translační chyby či defekty intracelulárních enzymatických komplexů (Leora M., 2015).

1.2.4 Genetické pozadí

Významnou roli mohou mít také různé genové polymorfismy či patogenní mutace genomu. Dědičně podmíněno může být až 20 % neurodegenerací (Matěj R., 2019). Pro všechny neurodegenerativní proteinopatie je důležitá genetická analýza a podrobná rodinná anamnéza. Genové odchylky, které jsou spojovány s převážnou většinou neurodegenerací, jsou různého charakteru, mohou být nalézány aberace v genech kódujících proteiny jako jsou např. gen pro protein asociovaný s mikrotubuly – tau (MAPT), gen pro amyloidový prekurzorový protein, gen pro alfa-synuklein, gen pro prionový protein či gen pro TAR DNA vazebný protein 43 (TARDBP) (Kovacs G. G., 2018), ale může jít i o různé genové polymorfismy či epigenetické faktory.

1.3 Klasifikace neurodegenerací – přehled současného stavu

Většinu neurodegenerativních onemocnění lze klasifikovat podle typu, lokalizace a morfologie abnormálních proteinových depozit. Standardně se neurodegenerativní onemocnění třídí z biochemického hlediska do 7 základních skupin:

- 1) Alzheimerova nemoc
- 2) Frontotemporální lobární degenerace
- 3) Synukleinopatie
- 4) Onemocnění s opakováním tripletů (trinucleotide repeat diseases)
- 5) Prionová onemocnění
- 6) Onemocnění motorického neuronu (MND)
- 7) Ostatní neurodegenerativní onemocnění

Třídění neurodegenerativních onemocnění dle patofyziologického podkladu je účelné a přehledné, jelikož definitivní diagnóza onemocnění je vždy neuropatologická, tj. diagnózu lze definitivně potvrdit až vyšetřením mozkové tkáně. Správné rozpoznání onemocnění za života pacienta je velmi obtížné, klinicky lze v současnosti určit diagnózu pouze na úrovni „možné“ a pravděpodobné“. Přičemž dle výsledků studií je až u 20 % případů klinická diagnóza stanovena nesprávně (Matěj R. et al., 2019; Kovacs G., 2016; Klotz S. et al. 2021). Ucelená klasifikace neurodegenerativních onemocnění je shrnuta v **Tab. 2.**

Tabulka 2 – Klasifikace neurodegenerativních onemocnění dle patofyziologického podkladu (Matěj R. et al., 2019)

Alzheimerova nemoc
Frontotemporální lobární degenerace (FTLD)
<p>A) tauopatie – frontotemporální lobární degenerace s tau-pozitivními inkluzemi (FTLD-tau)</p> <p>I. frontotemporální demence (FTD) tau-pozitivní:</p> <ul style="list-style-type: none"> • behaviorální varianta FTD (bvFTD) s inkluzemi tau – zahrnuje i Pickovu nemoc <p>II. primární progresivní afázie (PPA):</p> <ul style="list-style-type: none"> • nonfluentní/agramatická varianta primární progresivní afázie (nfvPPA) <p>III. frontotemporální lobární degenerace s postižením hybnosti („demence+“):</p> <ul style="list-style-type: none"> • progresivní supranukleární obrna (PSP) • kortikobazální degenerace (CBD) • nemoc s argyrofilními zrny (AGD) • demence a parkinsonismus s mutací v genu pro tau protein <p>IV. nové tauopatie:</p> <ul style="list-style-type: none"> • gliová globulární tauopatie (GGT) • na věk vázaná tau astrogliopatie (ARTAG) • primární na věk vázaná tauopatie (PART) • chronická traumatická encefalopatie (CTE) <p>B) frontotemporální lobární degenerace s tau-negativními inkluzemi (FTLD-non-tau)</p> <p>I. frontotemporální demence (FTD) tau negativní:</p> <ul style="list-style-type: none"> • behaviorální varianta FTD (bvFTD) s ubikvitin-pozitivními inkluzemi (FTLD-UPS) • behaviorální varianta FTD (bvFTD) s inkluzemi proteinu TDP-43 (FTLD-TDP) • behaviorální varianta FTD (bvFTD) bez histologických změn <p>II. progresivní afázie:</p> <ul style="list-style-type: none"> • sémantická varianta primární progresivní afázie (svPPA) <p>III. frontotemporální lobární degenerace s postižením hybnosti („demence+“):</p> <ul style="list-style-type: none"> • amyotrofická laterální skleróza s demencí (ALS-FTSD – frontotemporální spektrum postižení u ALS) <p>IV. nové jednotky v rámci FTLD-non-tau:</p> <ul style="list-style-type: none"> • limbická TDP-43 proteinopatie (LATE)
Synukleinopatie
<ol style="list-style-type: none"> 1. Parkinsonova nemoc 2. Parkinsonova nemoc s demencí 3. demence s Lewyho tělísky (DLB) 4. multisystémová atrofie (forma parkinsonská [MSA-P] a mozečková [MSA-C])
Onemocnění s opakováním tripletů (trinucleotide repeat diseases)
<ol style="list-style-type: none"> 1. Huntingtonova nemoc 2. řada autozomálně dominantních spinocerebelárních ataxií (SCA) 3. Friedreichova ataxie 4. bulbospinální muskulární atrofie (SBMA) - Kennedyho nemoc) 5. dentato-rubro-pallido-luysiánská atrofie (DRPLA)
Prionová onemocnění
<ol style="list-style-type: none"> 1. Creutzfeldtova-Jakobova nemoc (CJN) 2. Gerstmannův-Sträusslerův-Scheinkerův syndrom (GSS) 3. fatální familiární insomnie 4. kuru 5. nová varianta Creutzfeldtovy-Jakobovy nemoci (vCJN – Willova nemoc)

Onemocnění motorického neuronu (MND)
<ol style="list-style-type: none"> 1. amyotrofická laterální skleróza 2. primární laterální skleróza 3. progresivní bulbární paralýza 4. progresivní muskulární atrofie 5. vzácnější formy (endemická ALS v Tichomoří)
Ostatní neurodegenerativní onemocnění
<ol style="list-style-type: none"> 1. familiární encefalopatie s neuroserpinovými tělísky 2. nemoc s intranukleárními neuronálními inkluzemi 3. nemoc s inkluzemi z neuronových intermediálních filament (NIFID) 4. vrozené amyloidózy (familiální britská demence, familiální dánská demence) 5. demence bez prokazatelných histopatologických změn (DLDH- dementia lacking distinctive histopathology)

2 Frontotemporální lobární degenerace

2.1 Definice

Frontotemporální lobární degenerace (FTLD) je heterogenní skupina progresivních neurodegenerativních onemocnění, při které dochází k funkčnímu a strukturálnímu úpadku oblastí mozku zodpovědných za schopnost komunikace, myšlení, pohybu, činění rozhodnutí a projevování emocí. Postiženy jsou především oblasti frontálního a temporálního laloku mozku, často také parietální kůra a bazální ganglia (McKhann G. M. et al., 2001; Olney N. T. et al., 2017).

Onemocnění definuje porucha metabolismu některých klíčových proteinů. Ta zapříčiní jejich intraneuronální akumulaci ve formě špatně odbouratelných depozit, která mají podobu inkluzí. Dle proteinu, který depozita tvoří – rozlišujeme v základě dvě hlavní skupiny tzv. tauopatie a tau negativní formy (non-tau FTLD) s přítomností patologických inkluzí obsahujících depozita různých bílkovin (Matěj R. et al., 2019). V důsledku přítomnosti depozit, působení patofyziologických vlivů a ztráty funkce proteinu, dochází následně k zániku postižených neuronů (Matěj R. et al., 2019).

Symptomy u tohoto onemocnění nastupují postupně a nezdědka je diagnóza zaměňována za jiné onemocnění. Klinicky lze rozlišit různé formy FTLD a postupně může docházet k jejich překryvům. To lze vysvětlit skutečností, že některé oblasti jsou postiženy numerickou atrofií více než jiné a dle toho se pak odvíjí samotný klinický obraz. V základě lze klinický obraz frontotemporální degenerace rozdělit na 4 skupiny,

kteřé se liší na základě převládajících projevů. Mezi tyto projevy patří například osobnostní změny, poruchy řeči nebo poruchy hybnosti (Rusina R. et kol., 2021; Matěj R. et al., 2019).

Definitivní diagnózu onemocnění určuje vždy neuropatolog na základě histologického nálezu, imunohistochemického průkazu a molekulárně genetického vyšetření.

2.2 Epidemiologie

FTLD je jedna z nejčastějších příčin demence ve středním věku (45–64 let). Prevalence se zvyšuje od 65. let věku, podobně jako u AN. Na rozdíl od AN je u pacientů s FTLD vyšší zastoupení autozomálně dominantních forem (až 25 %). (Vyhnálek M., 2017; Coyle-Gilchrist I. T. et al., 2016; Baborie A., 2010).

2.2.1 Incidence a prevalence

Celosvětově je v současné době postiženo demencí na 50 milionů osob. Předpokládá se, že se počet v souvislosti se stárnutím populace do roku 2050 až ztrojnásobí (Cao Q. et al. 2020). FTLD je třetí nejčastější příčinou demence u osob ve věku 65 let a starších a druhou nejčastější příčinou demence osob mladších 65 let (Bott N. T. et al. 2014). Odhadovaná prevalence onemocnění je 15-22/100 000. Incidence onemocnění je 2.7–4.1/100,000 (Onyike C. U. a Diehl-Schmid J., 2013; Bott N. T. et al., 2014; Knopman D.S. et al. 2011).

V poslední rozsáhlé studii zaměřené na výskyt syndromů spojených s frontotemporální lobární degenerací v Evropě byla zjištěna průměrná incidence 2,4/100 000. Přičemž se rozmezí dle lokalit pohybovalo mezi 1,77 a 4,40/100 000 osob/ročně. Odhadovaný počet nově diagnostikovaných případů FTLD v Evropě je přibližně 12 000 ročně (Logroscino G. et al., 2023).

Zjištěním této studie bylo rovněž, že více než 60 % pacientů bylo ve věku 65 let nebo starších, s vrcholem incidence ve věku 71 let. Výsledná incidence byla vyšší u mužů 2,8/100 000 než u žen 1,9/100 000. Nicméně nebylo prokázáno, že by pohlaví bylo biologickým determinantem FTLD na základě předchozích populačních studií v Evropě a USA. Rovněž bylo zjištěno, že bvFTD je nejběžnějším fenotypem, oproti tomu

frontotemporální spektrum postižení u ALS (ALS-FTDS) je vzácný fenotyp. Podíl pacientů s rodinnou anamnézou demence činil 35,58 % (Logrosino G. et al., 2023).

2.2.2 Mortalita

Průměrná doba přežití od stanovení diagnózy onemocnění je odhadovaná na 6-8 let. Tempo úpadku závisí na fenotypu. Některé výsledky studií naznačují, že tau-positivní FTLD má vyšší medián přežití (9 let) než tau-negativní formy onemocnění (Hodges J. R. et al. 2003; Onyike C. U., 2011).

2.2.3 Rizikové faktory

FTLD je převážně sporadické onemocnění, podmíněné multifaktoriálně. Nicméně genetické faktory hrají v patogenezi FTLD velkou roli. Na 40 % pacientů má v rodinné anamnéze, alespoň jednoho příbuzného s diagnostikovanou demencí. Z toho ve 13 % případů se jedná o autosomálně dominantní typ dědičnosti (Shpilyukova Y. A. et al. 2020; Goldman J. S. et al. 2005).

Co se týče sporadických forem, je se vznikem onemocnění spojeno poranění hlavy (3,3 x vyšší riziko) a onemocnění štítné žlázy (asi 2,5 vyšší riziko) (Rosso et al., 2003). Další faktory, které zahrnují nezdravý životní styl (ovlivnitelné faktory), se podílí asi 40 % na vzniku demencí obecně (Livingston G. et al. 2020).

3 Neuropatologická klasifikace FTLD

Z etiopatogenetického hlediska lze frontotemporální lobární degenerace rozdělit na dvě hlavní skupiny: **tauopatie** a **non-tau FTLD**. Dělení je založeno na neuropatologickém nálezů charakteristických a specifických depozit patologicky změněného proteinu. Dále se klasifikace odvíjí od charakteru intracelulárních inkluzí, jejich lokalizace a topografickém rozsahu morfoloických změn.

3.1 Tauopatie

Tauopatie vznikají v důsledku abnormálního metabolismu tau proteinu a jeho následné akumulace v neuronech. Tau protein je ve své defosforylované podobě významný pro stabilizaci mikrotubulů a hraje tak klíčovou roli v intracelulárním

transportu. Za patologických podmínek dochází k jeho hyperfosforylaci na specifických vazebných místech, což zapříčiní jeho uvolnění z mikrotubulů. To následně vede k jeho intraneuronální akumulaci a zániku neuronů. Tauopatie se dělí do 3 základních skupin dle počtu opakování vazebného místa pro molekuly mikrotubulů (angl. direct repeats, DR). Převážně se jedná o 3 opakování (DR3) nebo 4 opakování (DR4) a existuje i jejich kombinace přítomna u AN (DR3 + DR4) (Matěj R. et al., 2019; Kovacs G. G., 2015).

Nejrizikovějším genetickým podkladem familiárních i sporadických případů tauopatií jsou mutace v genu MAPT (Rainero I. et al., 2017).

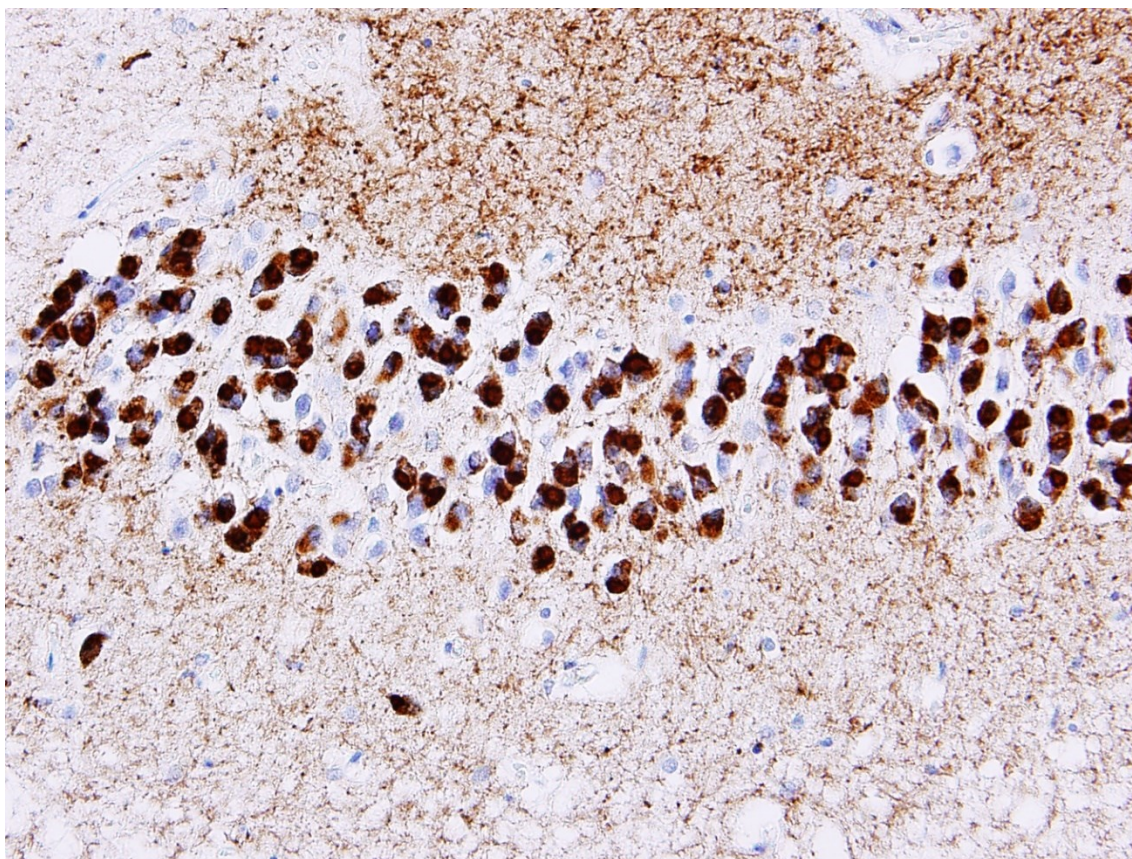
3.1.1 3R – tauopatie

Pickova nemoc

Pickova nemoc je charakterizována tvorbou takzvaných Pickových tělísek, která poprvé popsal německý lékař Alois Alzheimer v roce 1911 a později je pojmenoval český lékař Arnold Pick. Ten jako první popsal klinický obraz frontotemporální demence (FTD) (Irwin D. et al., 2016).

Neuropatologicky zde, stejně jako u všech FTLD, dochází k závažnému zániku nervových buněk ve frontotemporálních oblastech, který je doprovázen povrchovou spongiózou. Zřetelným histologickým rysem Pickovi nemoci jsou **zduřelé balónové neurony s oxyfilním plazmatem** vyplněné kulovitými inkluzemi, tzv. **Pickovými tělísky**. Pickova tělíška jsou sférické, bazofilní, hladce ohraničené, argyrofilní neuronální cytoplazmatické inkluze, sestávající z DR3-tau proteinu. Ty mohou být detekovány již v histochemickém barvení hematoxylin-eosinem. Pro potvrzení je nutné provést imunohistochemický průkaz s protilátkou proti hyperfosforylovanému tau proteinu s predominancí izoformy DR3 (Kovacs G. G., 2017; Matěj R. et al., 2019; Klotz S. a Gelpi E., 2021).

Pickova tělíška se nachází nejčastěji v oblasti fascia dentata hipokampu, lze je ale nalézt také v jiných částech hipokampální formace, ve frontální a temporální mozkové kůře, v cingulu a také v subkortikálních strukturách včetně bazálních ganglií a substantia nigra. Kromě neuronální patologie, lze také pozorovat výskyt tau proteinu v oligodendrocytech a astroglíích (Kovacs G.G., 2017; Dickson D. W., 2001).



Obrázek 1 - Pozitivní imunohistochemická reakce Pickových tělísek v cytoplazmě zduřelých balónových neuronů v oblasti hipokampu s protilátkou proti hyperfosforylovanému tau proteinu s predominancí izoformy DR3 s rovněž patrnou difúzní synaptickou pozitivitou (zdroj: archiv prof. MUDr. Radoslava Matěje, Ph.D.)

V souvislosti s Pickovou nemocí byly popsány 4 fáze patologického ukládání tau proteinu (I–IV) s počátkem ve frontotemporálním, limbickém/paralimbickém a neokortikálním regionu (fáze I). V další fázi dochází k šíření do subkortikálních struktur, včetně kmenových ganglií, locus coeruleus (fáze II). Ve třetí fázi nastává rozšíření do primární motorické kůry a precerebelárních jader (fáze III) a v nejtěžších případech došlo k postižení zrakové kůry (fáze IV) (Irwin D. et al., 2016).

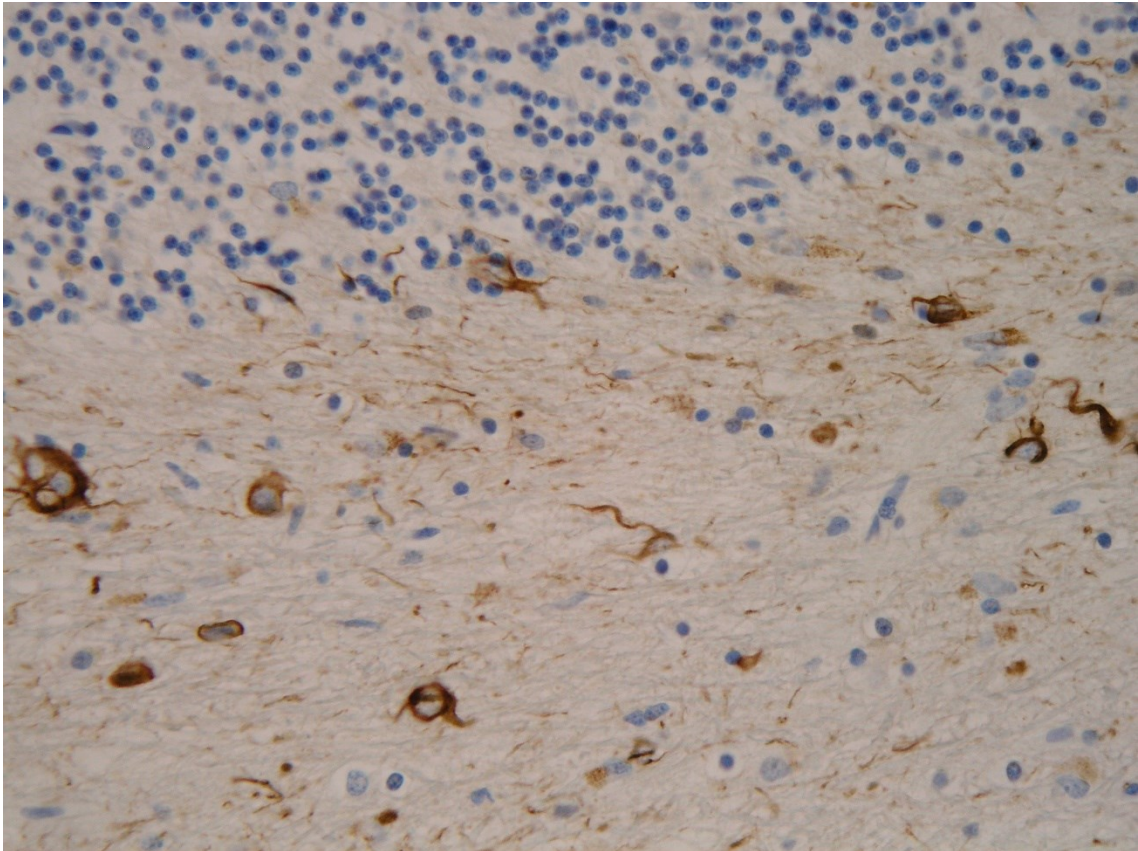
3.1.2 4R – tauopatie

Skupina onemocnění s převahou izoformy 4R se řadí do podskupiny FTLD s poruchou hybnosti a zahrnuje několik onemocnění: progresivní supranukleární obrnu (PSP), kortikobazální degeneraci (CBD), nemoc s agyrofilními zrny (AGD) a gliovou globulární tauopatií (GGT) (Rusina R. et al., 2015).

Progresivní supranukleární obrna

PSP může mít řadu různých klinických podtypů. Různorodost klinických subtypů je dána především rozdílnou neuroanatomickou distribucí patologie. V neuropatologickém obraze PSP jsou, vedle ztráty neuronů a gliózy kortikálně i subkortikálně, patrné neurofibrilární inkluze v neuronech, oligodendrocytech a astrocytech (Respondek G. et al., 2014).

Typická jsou relativně velká globoidní neuronová klubka i astrocytů s přítomností tzv. „hvězdicovitých“ či trsovitých astrocytů“ (z angl. **tufted astrocytes**). Neuronová i gliová depozita jsou pozitivní v imunohistochemickém průkazu s protilátkou proti hyperfosforylovanému tau proteinu s predominancí izoformy DR4 (Dickson D. W. et al., 2010; Matěj R. et al., 2019).



Obrázek 2 - Pozitivní imunohistochemická reakce s protilátkou proti AT8 tau proteinu, patrná gliální patologie, včetně tzv. tufted astrocytů v oblasti mozečku. (zdroj: archiv prof. MUDr. Radoslava Matěje, Ph.D.)

Obvykle převažují korové i subkortikální patologie s jasným postižením kmenových ganglií (zejména globus pallidus), nucleus subthalamicus, mozkového kmene (zejména substantia nigra, colliculi, locus coeruleus a raphe nuclei). To je pozorováno u klasického

klinického podtypu PSP tzv. Richardsonova syndromu. Méně často je pak přítomné postižení mozečkových jader – např. ncl. dentatus (Matěj R. et al., 2019; Kovacs G. et al., 2020). Klinický subtyp PSP s převládajícím parkinsonismem má omezenější distribuci korovou, naopak subtyp PSP s kortikobazálním syndromem ji vykazuje výraznou (Kouri N. et al., 2011; Josephs K. A. et al., 2006).

Kortikobazální degenerace

CBD je rovněž onemocnění ze skupiny tauopatií s převahou izoformy DR4 hyperfosforylované formy tau proteinu. Neuropatologicky, stejně jako u PSP, je onemocnění charakterizováno přítomností tau patologie v neuronech, oligodendroglích i v astroglích (Dickson D. W. et al., 2002). V neuropatologickém obraze je patrna značná fokální numerická atrofie neuronů kůry frontální, temporální, parietální, bazálních ganglií a substantia nigra, která je doprovázená reaktivní astrogliózou (Ling H. et al., 2016).

Onemocnění je definováno přítomností **astrogliálních lézí**, které mají podobu tzv. astrocytových plaků a jsou přítomny zejména v bílé i šedé hmotě mozkové kůry a striata. Astrogliální patologie je časná a vyskytuje se již v preklinických stádiích. Dále se pak rozvíjí v progresivní neuronální patologii, která pak v pokročilém stádiu onemocnění dominuje nad patologií gliální (Ling H. et al., 2016).

V postižených neuronech je charakteristická přítomnost **mikrovakuolárních změn**. V kortikálních oblastech jsou obvykle přítomny zduřelé, **tzv. balónové neurony**. Dále je v této oblasti patrná atrofie neuronů a povrchová laminární spongióza. Rovněž **ubývá serotonergních, noradrenergických a dopaminergních neuronů** (Matěj R. et al., 2019).

Klinický koncept tzv. kortikobazálního syndromu by měl být oddělen od neuropatologické diagnostiky CBD, protože ne vždy spolu souhlasí. Kortikobazální syndrom označuje klinický obraz CBD a může vzniknout rovněž na základě jiného typu patologie. Neuropatologický obraz v takovém případě odpovídá změnám typickým pro danou neuropatologii (AN, demence s Lewyho tělísky, Creutzfeldtova-Jakobova nemoc, PSP či Parkinsonova nemoc) (Klotz S. a Gelpi E., 2021; Matěj R. et al. 2019).

Nemoc (demence) s argyrofilními zrny

AGD také známá jako nemoc stříbrných zrn, je klinicky obtížně definovatelná DR4 tauopatie, která je neuropatologicky charakterizována **neuronálními a gliálními tau-pozitivními i argyrofilními inkluzemi**. Patologie je obvykle omezena na střední

temporální lalok a amygdalu, hipokampus a entorhinální kůru (Das S. a Ishaque A., 2018; Kovacs G. G., 2017).

Neuronální cytoplazmatické inkluze se obvykle vyskytují ve formě tzv. **pre-tangles**. Gliové inkluze jsou patrné jako „stočená tělíška“ (z angl. **coiled bodies**) v cytoplazmě oligodendroglíí. V amygdale jsou výrazně patrné tau-pozitivní granulární inkluze v astrocytech, spolu s tzv. **balónovými neurony**. V dendritech neuronů středního temporálního laloku se nacházejí **typické granulární tau-pozitivní argyrofilní zrna** (Rodriguez R. D. a Grinberg L. T., 2015; Das, S. a Ishaque, A., 2018; Kovacs G. G., 2017).

Globulární gliová tauopatie

GGT se řadí mezi DR4 tauopatie, kterou neuropatologicky charakterizuje výskyt **globoidních tau-pozitivních oligodendroglíálních a astroglíálních inkluzí**. V případě GGT jednoznačně dominuje gliální patologie nad neuronální patologií (Forrest S. L. et al., 2021).

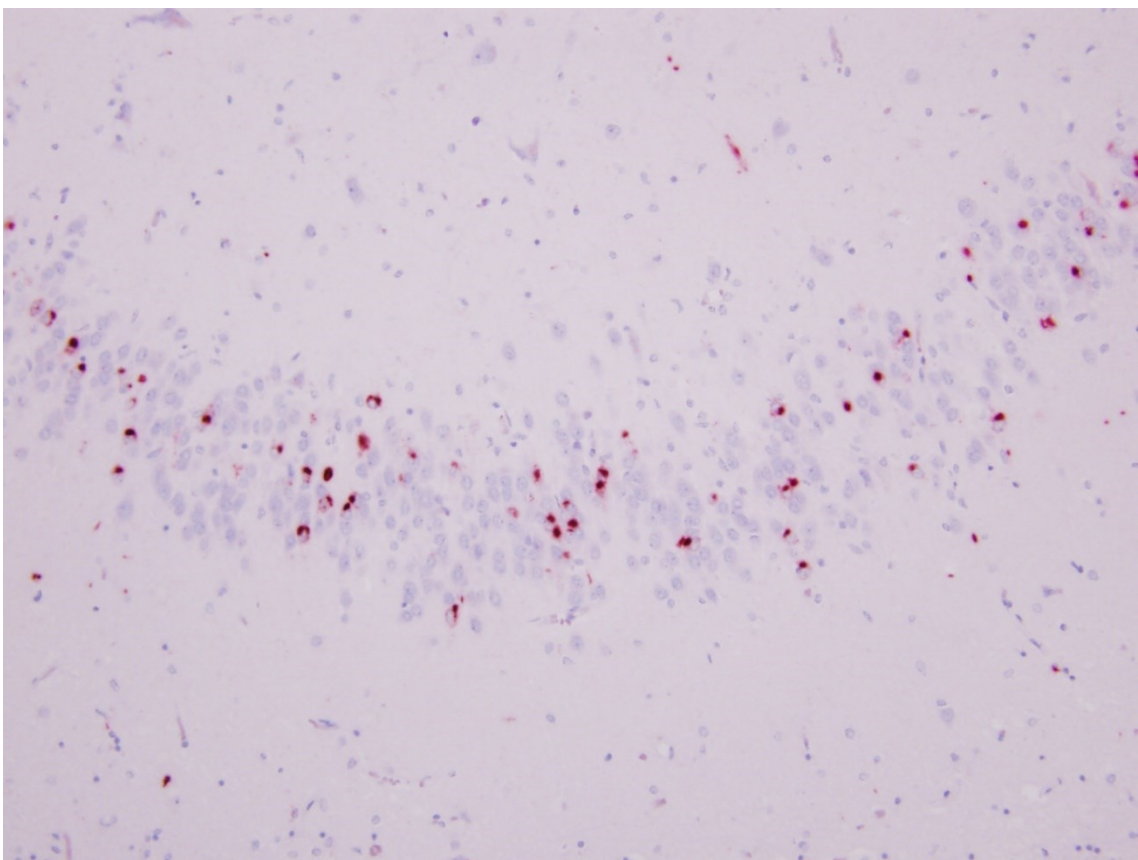
GGT byla teprve nedávno charakterizována jako samostatná entita a byly definovány **tři morfologické subtypy (I-III)** s různými distribučními vzorci a různým postižením oligodendrocytů a astrocytů. **Typ I** se vyznačuje frontotemporální distribucí patologie. **Typ II** je charakterizován postižením motorické kůry a kortikospinálního traktu. **Typ III** se vyznačuje kombinovaným postižením frontotemporální kůry, motorické kůry a kortikospinálního traktu. Degenerace bílé hmoty mozkové je významným rysem všech subtypů GGT. Klinicky se objevují různé příznaky podle distribučního rozsahu, přičemž typ I může primárně vyvolat frontotemporální demenci (FTD), typ II MND a typ III kombinaci obou (Ahmed Z. et al., 2013; Chung D. C et al., 2019).

3.2 Non-tau FTLD

Tau-negativní FTLD se rozlišují dle přítomnosti patologických inkluzí obsahující depozita různých bílkovin. Mezi hlavní skupiny tau negativních FTLD patří: FTLD s TAR DNA-binding protein 43 inkluzemi (FTLD-TDP), FTLD s inkluzemi ubikvitinu, tzv. „ubikvitinopatie“ (FTLD-UPS) a FTLD s inkluzemi proteinu Fused in Sarcoma (FTLD-FUS).

3.2.1 FTLD-TDP

FTLD-TDP je charakterizován různými, převážně neuronálními inkluzemi proteinu TDP-43. Kromě kompaktních intraneuronálních cytoplazmatických inkluzí jsou často patrné dystrofické neurity a někdy i neuronální intranukleární inkluze. Pomocí imunohistochemického barvení s protilátkou proti hyperfosforylované formě proteinu TDP-43 lze také prokázat granulární a difúzní inkluze v neuronech. Gliové cytoplazmatické inkluze v oligodendrocytech se nejčastěji vyskytují u MND (např. amyotrofická laterální skleróza, ALS) (Mackenzie I. R. et al. 2013; Neumann M. a Mackenzie I. R., 2019).



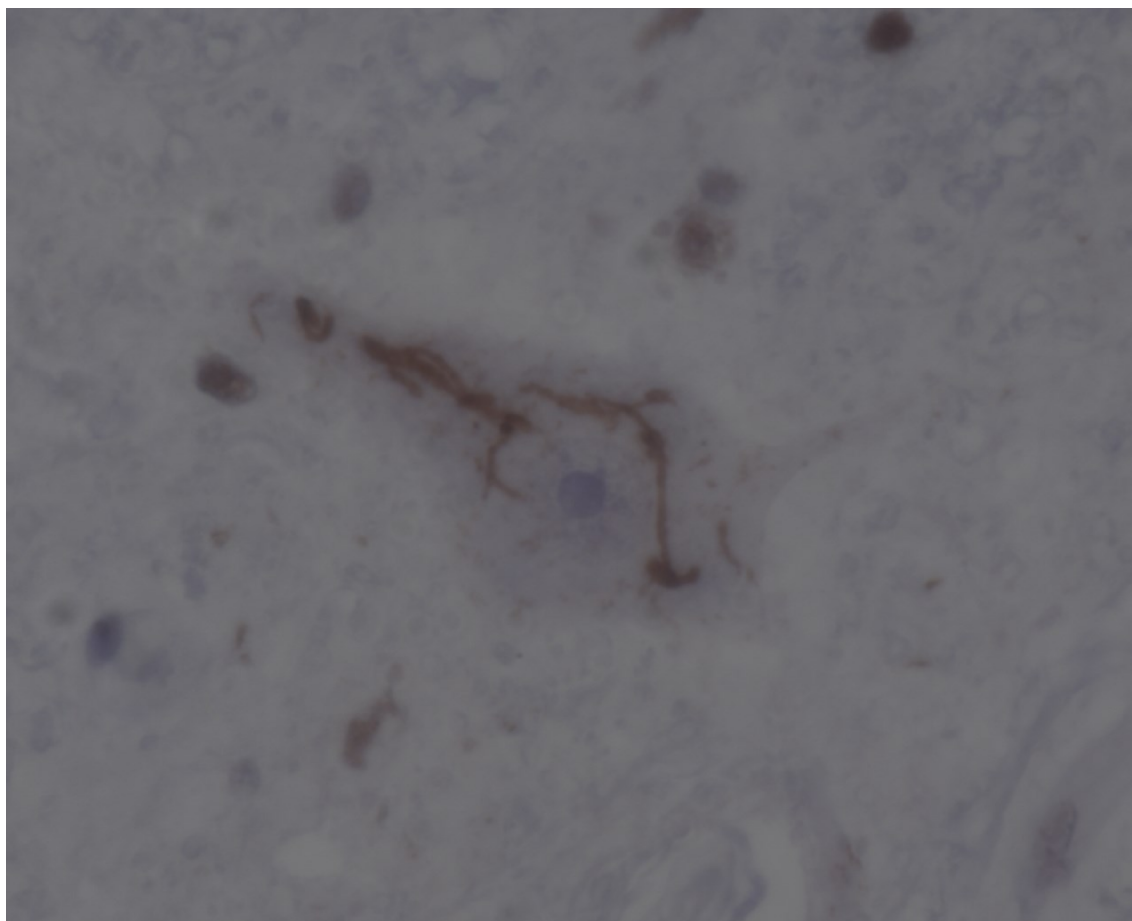
Obrázek 3 - Pozitivní intraneuronální inkluze v imunohistochemickém průkazu s protilátkou proti hyperfosforylované formě proteinu TDP-43 v oblasti hipokampu, u pacienta s prokázanou mutací v genu C9orf72. (zdroj: archiv prof. MUDr. Radoslava Matěje, Ph.D.)

Na základě vzorců distribuce ve vrstvách mozkové kůry (např. transkortikální nebo v povrchových vrstvách) a kombinace odlišných (kompaktních nebo difúzních) patologických depozit lze rozlišit 4 různé subtypy FTLD-TDP (A–D): **Typ A** je charakterizován přítomností inkluzí TDP-43 v horních vrstvách kůry a je primárně spojen

bvFTD a je asociován s mutacemi genu granulin (GRN) **Typ B** se vyznačuje transkortikální a difúzní granulární neuronální TDP-43 patologií, je spojen s FTLD-MND a mutací genu C9orf72. **Typ C**, s hojnými hustými neurity, je často podkladem sémantické varianty primární progresivní afázie (svPPA) a je rovněž asociován s aberacemi genu GRN. **Typ D** s intranukleárními inkluzemi TDP-43 se často vyskytuje u mutací proteinu obsahujícího valosin (VCP, z angl. valosin-containing protein) (Alafuzoff I. et al. 2015; Bang J. et al., 2015; Mackenzie I. R. et al., 2011).

Nejvíce zasažena je převážně oblast frontotemporálního laloku. Kromě toho jsou rovněž nejvíce postiženy subkortikální oblasti a hipokampus. Patologie se může šířit také na kmenová ganglia, thalamus a substantia nigra s manifestací parkinsonismu (Neumann M. a Mackenzie I. R., 2019).

FTLD-MND-TDP



Obrázek 4 - V imunohistochemickém průkazu proti hyperfosorylované formě TDP-43 pozitivní tzv. skein-like inkluze (protaženého či vláknitého tvaru) v cytoplazmě motorického neuronu. (zdroj. archiv prof. MUDr. Radoslava Matěje, Ph.D.)

FTLD-MND-TDP je neuropatologický termín pro klinický syndrom známý jako ALS-FTSD neboli ALS s demencí. ALS bylo dříve považováno za onemocnění postihující výhradně motorický systém, a je tedy součástí MND. ALS-FTSD je označení pro formu ALS s kognitivní poruchou převážně frontálního rázu, jež může nápadně připomínat bvFTD. U pacientů s FTLD-MND-TDP jsou inkluze TDP-43 přítomny převážně v cytoplazmě neuronů ve frontální a temporální kůře. Zatímco u ALS se zachovanou kognicí jsou depozita přítomna převážně v cytoplazmě motorických neuronů, bez postižení kortikálních struktur (Jankovská N. a Matěj R., 2021; Matěj et al., 2019).

3.2.2 FTLD-UPS

FTLD-UPS je skupina onemocnění charakterizovaná TDP-43 negativními, ale ubikvitin pozitivními inkluzemi. Definují ho neuronální cytoplazmatické inkluze, lentiformní neuronální intranukleární inkluze a dlouhé či krátké dystrofické neurity v mozkové kůře (zejména v II. kortikální vrstvě) (Mackenzie I. R. a Neumann M. 2017; Neumann M. a Mackenzie I. R., 2019). Původní protein dosud nebyl identifikován. Je to autosomálně dominantní FTD spojená s chromozomem 3 s mutací genu pro nabitý multivezikulární protein 2B (CHMP2B, z angl. charged multivesicular body protein 2B), což je jediná známá genetická příčina FTLD-UPS (Tabbarah A. Z. et al., 2016).

3.2.3 FTLD-FUS

FTLD-FUS je definované výskytem neuronálních, vzácně gliálních inkluzí s různými distribučními vzorci. Dominuje postižení frontotemporálního laloku a nucleus caudatus bazálních ganglií. Patologie se může dále šířit na oblast substantia nigra (Mackenzie I. R. a Neumann M., 2012; Neumann M. et al. 2009). Typický je časný nástup onemocnění (před 40. rokem věku) u pacientů bez rodinné anamnézy FTLD (Rainero I. et al., 2015).

4 Klinická klasifikace FTLD

FTD je skupinou neurodegenerativních syndromů (onemocnění) charakterizovaná klinicky dominujícími **poruchami chování, osobnostními změnami s postupným zhoršováním jazykových a řečových dovedností**, které souvisí s patologií ve frontálním nebo temporálním laloku (Finger E. C., 2016).

Klinicky lze rozlišit různé obrazy onemocnění, které můžeme rozdělit na celkem 4 skupiny onemocnění (viz. Tab. 3) (Matěj R. et al., 2019):

Tabulka 3 – Klinická klasifikace FTLD (Matěj R. et al., 2019)

<p>1) Behaviorální varianta frontotemporální lobární degenerace (bvFTD)</p>
<p>2) Primární progresivní afázie (PPA):</p> <ul style="list-style-type: none"> - nonfluentní/agramatická varianta (nfvPPA) - sémantická varianta (svPPA) - logopenická varianta (lvPPA)
<p>3) Kombinace demence a poruch hybnosti:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>s extrapyramidovými projevy</u>: progresivní supranukleární obrna (PSP) a kortikobazální syndrom (CBS) - <u>s onemocněním motorického neuronu (MND – motor neuron disease)</u>: amyotrofická laterální skleróza s demencí (ALS-FTDS – frontotemporální spektrum postižení u ALS)
<p>4) Nové neurodegenerace ze spektra FTLD:</p> <ul style="list-style-type: none"> - věkově vázaná tauopatie (PART – primary age-related taupathy); věkově vázaná astrogliopatie s depozity tau (ARTAG – aging-related tau astroglipathy); vzácné globulární gliové tauopatie (GGT); kontroverzní jednotka chronické traumatické encefalopatie (CTE); u FTLD s depozity TDP-43 v hipokampální a přední temporální krajině nově popsána jednotka: věkově vázaná limbická TDP-43 proteinopatie (LATE – limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy)

Klinické obrazy se mohou s progresí onemocnění vzájemně překrývat a nezdědka k tomu také dochází. Tyto překryvy jsou dány postupným šířením patologie, jež doprovází numerický úbytek neuronů v zasažených oblastech (Rusina et. al., 2021; Bürger K. et al., 2017).

Čtvrtá skupina, “**nové neurodegenerace ze spektra FTLD**“, byly identifikovány teprve v nedávné době, klinicky se obvykle projevují demencí. Přesný klinický korelát dosud není zcela známý a je zatím předmětem studií (Matěj R. et al., 2019).

4.1 Behaviorální varianta frontotemporální demence

Definice

BvFTD je nejčastějším klinickým syndromem FTLD a zahrnuje asi polovinu jejích případů (Forman M. S. et al., 2006). Vyznačuje se mnohdy asymetrickým postižením frontální a temporální kůry. Klinicky dominuje **změna osobnosti a chování**, většinou doprovázená **dysexekutivním syndromem** (narušení schopnosti plánování, logického myšlení, pracovní paměti). Epizodická paměť a zrakově-prostorové funkce bývají ušetřeny (Rusina R. et al., 2021; Katisko K. et al., 2019).

Klinický obraz

Časné stádium onemocnění se projevuje zpravidla kombinací dvou hlavních příznakových okruhů. Prvním je **ztráta motivace** rozvíjet zájmy a dříve běžné činnosti, druhým **narušení přiměřeného sociálního chování a emocí** (Matěj R. et al., 2019; Seeley W. W., 2019).

Ztráta motivace zahrnuje projevy **apatie, pasivity**, pacienti ztrácí zájem rozvíjet běžné i zájmové činnosti. Mnohdy nejsou schopni ani tyto činnosti začít, redukují své aktivity. Tráví celé dny doma a s nic nedělením jsou spokojeni (na rozdíl od deprese, není apatie doprovázena poruchami nálady). Apatie je v případě bvFTD velmi intenzivní a její míra koreluje zejména s atrofií a hypofunkcí mediální části frontálního laloku a předního cingula, dále pak i s atrofií dorzolaterální a orbitofrontální kůry (Le Ber I. et al., 2006; Massimo L. et al. 2009; Rusina R. et al., 2019).

Narušení přiměřeného sociálního chování a emocí zahrnuje známky desinhibice, ztrátu sebekontroly, empatie, emoční vřelosti i sociálního taktu. Desinhibice se projevuje jako impulzivní, společensky nepřijatelné chování. Pacienti se při běžných společenských situacích chovají netaktně, neadekvátně se zapojují do konverzace. Časté jsou nevhodné poznámky, mnohdy se sexuálním podtextem, nevhodné žertování či smích s přílišnou familiaritou. Pacienti rovněž postrádají empatii, dochází u nich k nepochopení potřeb a požadavků blízkých osob. Korelátům desinhibice na funkčních a morfologických zobrazovacích metodách je patologie orbitofrontální a ventromediální kůry a přední části temporálního laloku (Eslinger P. J. et al., 2011; Rusina R. et al., 2019).

V pozdějších stádiích onemocnění se u pacientů objevuje fyzická agresivita, sexuální chování vůči cizím lidem, bezohlednost při řízení motorových vozidel a v jiných

životních situacích. Tato porucha chování a ztráta zábran může vyústit až ve spáchání kriminálního činu. Pacienti nejsou schopni chápat sociální normy (Diehl-Schmid J. et al., 2019; Mendez M. F. et al., 2005).

Změny osobnosti, poruchy chování a sociální kognice mohou předcházet rozvoji klasického **dysexekutivního syndromu** (u poloviny pacientů bývají zaměňovány za projevy psychiatrického onemocnění). Nicméně dysexekutivní syndrom většinou tyto projevy doprovází. Zahrnuje narušení schopnosti plánovat, rozhodovat, jednat, řešit problémy a soustředění (Seeley W. W., 2019).

Častým projevem bvFTD je také **porucha řeči**. Afázie může mít rozličnou podobu a tíží. Pacienti mají tendenci opakovat jednotlivá slova, věty či myšlenky (tzv. perseverace) či slova různě deformovat (parafázie). Dále se objevují poruchy porozumění složitějším větám a souvislostem (Matěj R. et al., 2019; Snowden J. et al. 2007).

Charakteristické jsou také **kompulzivní rysy chování a stereotypie**. Patří sem soustavné opakování úkonů, gest (poklepávání prsty, mlaskání) či komplexních činností (opakované chození do koupelny, bez jakékoliv potřeby či příčiny). Extrémní lpění na určité rutinně (někdy i bizarní) jako např. chození po shodné trase ve stejnou hodinu. Dalším typickým projevem je kompulzivní přejídání (hyperoralita), častá je kompulzivita v konzumaci sladkostí, alkoholu nebo kouření (Rosso S. M. et al., 2001; Whitwell J. L. et al., 2007).

V **pokročilém stádiu onemocnění** převládá verbální perservace, bývají přítomné úchopové reflexy, inkontinence, porucha hybnosti. Zhoršení jazykových schopností, zhoršení plynulosti řeči vedoucí až k její úplné ztrátě (mutismus) (Matěj R. et al., 2019; Snowden J. et al. 2007).

4.2 Primární progresivní afázie

Primární progresivní afázie (PPA) je termín zastřešující 3 klinické syndromy s heterogenní neuropatologickou příčinou. Nejčastěji se jedná o klinickou manifestaci FTLD s primárním postižením frontální a temporální kůry či fokální varianty AN. Klinické syndromy jsou charakterizované zpočátku izolovanou alterací řeči, která pozvolna přechází do obrazu demence (Gorno-Tempini M. L. et al., 2011; Cséfalvay Z. et al., 2020; Matěj R. et al., 2019).

PPA zahrnuje 3 klinické varianty:

- nonfluentní/agramatickou variantu (nfvPPA)
- sémantickou variantu
- logopenickou variantu (lvPPA)

Základními **prvky**, které jsou důležité pro rozlišení jednotlivých variant PPA jsou **produkce řeči, porozumění a schopnost opakování**. Jednotlivé varianty se mohou s progresí onemocnění postupně překrývat. Řečové a jazykové poruchy jsou prvním a dlouho i dominantním příznakem PPA. Soběstačnost i aktivity běžného života zůstávají zachovány dlouho, pokud nejsou vázány na užívání řeči (vyřizování úkonů na úřadech apod.) (Marshall C. R., 2018).

4.2.1 Nonfluentní/agramatická varianta

Varianta nfvPPA je definována nízkou řečovou produkcí a apraxií. Nejčastěji se jedná o manifestace tauopatií, některé případy spadají do ubikvitinopatií či FTLD s depozity proteinu TDP-43 (Grossman M., 2010; Grossman M., 2012; Matěj R. et al., 2019).

Klinický obraz

Pacienti s nfvPPA mají pomalou, těžkopádnou, nezřetelnou řeč s gramatickými chybami a obtížným vybavováním si slov (anomie). Typické jsou **fonemické parafázie** (např. pacient vysloví slovo nemocnice jako „nemce“ či slovo lžička jako „žlička“), **apraxie řeči** (obtížné nepřesné spouštění artikulačních pohybů), potíže s řazením slabik, načasování hlasu. Přidružené mohou být rovněž další poruchy řeči jako koktavost, potíže s opakováním, v pozdní fázi mutismus. Dále u pacientů bývá zhoršená pracovní paměť, pozornost a exekutivní funkce (plánování, úsudek, řešení problémů, abstraktní myšlení) (Marshall C. R., 2018; Cséfalvay Z. et al., 2020; Grossman M., 2012).

4.2.2 Sémantická varianta

Varianta svPPA je definovaná nízkou mírou porozumění a ztrátou významu slov. Nejčastěji se jedná o typ FTLD-TDP s depozity proteinu TDP-43, s maximem v atrofickém levém temporálním laloku (Grossman M., 2010; Matěj R. et al., 2019).

Klinický obraz

SvPPA se vyznačuje těžkou poruchou porozumění, přičemž jsou přítomny dva hlavní klinické příznaky. Prvním je **výrazná porucha pojmenování** (předmětů, osob i činností). Pacienti mají lexikální deficit, který se projevuje v podobě delších pauz vlivem vyhledávání slov v mentálním lexikonu (anomické pauzy). Druhým je **deficit při dekódování významu slova**, pacienti mají narušené chápání významu jednotlivých slov vytržených z kontextu, a to v mluvené i psané formě řeči (povrchová alexie, kdy pacient dokáže slovo přečíst nahlas, ale nerozumí jeho významu) (Mesulam M. M. et al., 2014; Cséfalvay Z. et al., 2020).

V produkci řeči jsou typické **sémantické parafázie** (záměna slov s podobným významem, „tygr“ místo „lev“), **asociativní agnozie** (obtížné rozpoznávání významu a obsahu zrakových vjemů) a **degradace sémantiky** (pacienti tvoří gramaticky správné věty, které jsou svým obsahem prázdné, irelevantní) (Mesulam M. M. et al., 2014; Cséfalvay Z. et al., 2020).

4.2.3 Logopenická varianta

Variantu lvPPA charakterizuje výrazné narušení opakování delších vět a anomie. Neuropatologicky je lvPPA na rozdíl od ostatních variant PPA o mnoho heterogennější. V některých případech se jedná o manifestaci tauopatií, často fokální varianty AN (Grossman M., 2010; Matěj R. et al., 2019).

Klinický obraz

LvPPA je typická pomalou kadencí řeči. Výrazným prvkem jsou **anomické pauzy** a **časté zárazy řeči**, kvůli kterým není spontánní řeč plynulá (schopnost správné artikulace zůstává zachována). Výrazně je **omezena schopnost opakování delších vět** a **složitějších větných celků**. Přítomny jsou **fonemické parafázie**, **deficit pojmenování** (význam slova zůstává pacientovi zachován, ale nenachází správné pojmenování). Kromě obtíží s řečí se může objevovat deficit zrakově-prostorových dovedností a pozornosti (Gorno-Tempini et al., 2008; Cséfalvay Z. et al., 2020).

5 Klinická diagnostika

Diagnostická kritéria v klinické praxi vycházejí z kombinace klinického vyšetření, nálezů na zobrazovacích metodách a případného vyloučení specifických biomarkerů pro AN (jakožto diferenciální diagnostika) (Matěj R. et al. 2019).

5.1 Klinické vyšetření

Cílem klinického vyšetření je identifikovat úpadky a poruchy jednotlivých dovedností v oblasti **kognice** (jež zahrnuje paměť, pozornost, exekutivní funkce, řeč a jazyk, zrakově-prostorové schopnosti). Dále vyhodnocení **neuropsychiatrických projevů** a **míry soběstačnosti**. Významná je **anamnéza pacienta** (získané informace od pacienta, rodinných příslušníků, pečovatelů či zdravotnického personálu) (Matěj R. et al. 2019).

K hodnocení kognice se používá řada testů. Pro hodnocení kognitivních dovedností se tradičně používá **krátký test kognitivních funkcí** (MMSE, z angl. Mini-Mental State Examination), **Montrealský kognitivní test** (MoCA, z angl. Montreal Cognitive Assessment) **nebo Addenbrookský kognitivní test** (ACE-R, z angl. Addenbrooke's cognitive examination) (Rusina R. et al. 2021; Roheger M. et al., 2022; Santana I. et al., 2016).

Pro hodnocení exekutivních funkcí a řeči zároveň se užívá **test slovní produkce**. K posouzení sociální kognice je vhodný a často užívaný například test vnímání sociálních situací, **Faux pas test**, při kterém pacient usuzuje, zda se osoba na obrázku dopustila sociálního faux pas (Torralva T. et al. 2009). K vyšetření rozeznávání emocí se užívá **test rozeznávání tváří dle Ekmana a Friesena** (Diehl-Schmid J. et al. 2007; Rusina R. et al. 2021).

5.2 Zobrazovací metody

Zobrazovací metody u neurodegenerativních onemocnění slouží k diferenciálně diagnostickému rozlišení mezi jednotlivými neurodegenerativními onemocněními a případné identifikaci léčitelných příčin kognitivního postižení (tumor, ischemie, hematom, edém, hydrocefalus). Cílem zobrazovacích metod je zhodnocení míry rozsahu, symetrie a lokalizace atrofie. Hodnotí se rovněž míra vaskulárního postižení a důležité je vyloučení jiné organické příčiny obtíží. Magnetická rezonance (MRI) a pozitronová

emisní tomografie (PET) jsou nejběžnějšími metodami používanými pro klinickou diagnostiku FTD a rovněž slouží pro **výzkum korelace MRI a PET výsledků s neuropatologickými nálezy** (Peet B. T. et al., 2021; Barthel H. et al., 2015; Schwarz C. G., 2021).

5.2.1 MRI

Upřednostňovanou zobrazovací metodou u neurodegenerativních onemocnění je MRI. Oproti výpočetní tomografii (CT) má MRI lepší tkáňový kontrast fyziologických i patologických tkání. U pacientů s těžkou demencí se přednostně volí CT, jelikož je o mnoho rychlejší. MRI vyžaduje spolupráci pacienta, aby byl schopen nehnutě ležet v řádu desítek minut. V opačném případě je vyšetření obtížně interpretovatelné. Kontraindikací vyšetření je rovněž kardiostimulátor necertifikovaný pro použití v MRI (Barthel H. et al., 2015; Peet B. T. et al., 2021).

5.2.2 PET

PET je velmi citlivá funkční neurozobrazovací metoda, která umožňuje trojrozměrně (na tomografických řezech) zmapovat rozložení nitrožilně podaného radiofarmaka in vivo. Detekce emitovaného záření radiofarmaka ve specifických vazebných místech, tak podává informace o hustotě a rozložení cílových vazebných míst v tkáni, a tedy informaci o patofyziologických pochodech (Dave A. et al. 2020; Peet B. T. et al., 2021).

FDG-PET

Pomocí fluorodeoxyglukózy (FDG-PET) lze odhalit snížení metabolismu glukózy v postižených oblastech mozku. U FTD je charakteristický hypometabolismus glukózy frontálního laloku někdy i v kůře pólů temporálních laloků, přičemž metabolismus v oblasti parietální kůry zůstává zachován (Dave A. et al. 2020; Peet B. T. et al., 2021).

tau-PET

Možné je také zobrazit depozita hyperfosforylované formy tau proteinu pomocí specificky se vázajícího tau ligandu (flortaucipir¹⁸F také F-AV-1451, tau-PET). Tento ligand se váže na extracelulární a intracelulární tau i neuritické plaky. Problémem radiofarmak první generace (vč. F-AV-1451) je nejednoznačná specifita, kdy není jasné, zda detekují pouze tau protein. V současné době jsou vyvíjeny radiofarmaka druhé

generace, jež by měla mít vyšší specifitu k tau, bez vaznosti na jiné molekuly. Zobrazování tau patologie je v současné době předmětem výzkumu (Leuzy A. et al., 2019; Tsai R.M. et al., 2019; Younes K. a Miller B.L., 2021).

PET pro zobrazení beta amyloidu

Zobrazení beta-amyloidu se nejčastěji provádí pomocí PET ligandů (flutemetamol, florbetaben či florbetapir, tj. **radiofarmaka^{18F}**), jež mají selektivní vazbu na amyloidové plaky v mozkové tkáni. Pozitivní nález je konzistentní s AN a může být nástrojem pro diferenciální diagnostiku FTD (Kobylecki C. et al., 2015; Kolanko M. A. et al., 2020).

5.3 Další diagnostické metody

5.3.1 Elektroencefalografie

Elektroencefalografie (EEG) je technika, která v čase zaznamenává změny elektrické aktivity v mozkové kůře. Konkrétně zaznamenává změnu elektrických postsynaptických potenciálů produkovaných neurony. Signál EEG se získává měřením elektrických potenciálů elektrodami umístěnými na standardních místech pokožky hlavy. Prostorová analýza souvisí s počtem použitých elektrod a jejich umístěním nebo uspořádáním na hlavě. Nejpoužívanějším způsobem umístění elektrod je mezinárodní systém 10–20, který využívá až 21 elektrod. EEG je neinvazivní, poměrně citlivá metoda, jejíž výhodou je nízká cena, široká dostupnost a rychlost produkce záznamu (Miltiadous A. et al., 2021; Müller-Putz G. R., 2020).

EEG nález u většiny neurodegenerativních onemocnění není specifický, nehodí se tedy k diferenciální diagnostice mezi jednotlivými neurodegenerativními onemocněními. Nicméně může být použitý v diferenciální rozvaze mezi AN a ostatními neurodegenerativními onemocněními. U FTD obvykle bývají změny pomalých aktivit méně vyjádřené než u AN (Miltiadous A. et al., 2021; Nardone R. et al., 2018). Kvantitativní analýza maximální frekvence EEG ukázala maxima píku dominantní frekvence významně nižší u AN než u pacientů s FTLD, s diagnostickou přesností bezmála 80 % (Goossens J. et al. 2017).

5.3.2 Elektromyografie

Jehlová elektromyografie (EMG) je vyšetřovací metoda jejíž podstatou je měření elektrických potenciálů vznikajících v důsledku spontánní aktivity kosterní svaloviny. Lze tak získat záznam elektrické aktivity ve svalu, jež umožní rozpoznat, zda je svalová slabost a atrofie myogenního nebo neurogenního původu (Rubin D. I., 2019). EMG může mít klíčový význam pro potvrzení klinické diagnózy u MND (též platí pro ALS-FTSD) (Ramroop H. a Cruz R., 2022; Turner M. R. et al., 2022; Devenney E. et al. 2015).

5.4 Vyšetření mozkomíšního moku

Mozkomíšní mok obklopuje mozek a míchu, je v přímém kontaktu s extracelulárním prostorem těchto orgánů. Jedná se o nejpřírodnější biologický materiál k měření biologických změn v mozkové tkáni. Přestože v posledních letech došlo k nárůstu počtu studií biomarkerů ve spojitosti s FTD, nebyly dosud nalezeny specifické biomarkery pro identifikaci tauopatií ani tau-negativních FTLD. Klinická diagnostika skrze vyšetření biomarkerů je zatím založena na vyloučení jiných demencí (zejména AN) (Swift I. J. et al., 2021; Wiltfang J. et al., 2016).

5.4.1 Likvorový triplet

Vyšetření neurodegenerativních markerů bývá doporučeno pro pacienty s podezřením na FTD, jelikož může podpořit diagnostickou rozvahu mezi FTLD a AN. Vyšetřuje se tzv. **likvorový triplet**, který zahrnuje stanovení koncentrace **celkového tau proteinu (h-TAU)**, **hyperfosforylované formy tau proteinu (p-TAU)** a formy **beta-amyloidu o 42 aminokyselinách (A β 42)** v likvoru. Hladiny těchto markerů jsou u FTLD typicky nezměněny nebo je přítomné mírné zvýšení hladiny h-TAU a/nebo mírné snížení hladiny A β 42. Oproti tomu u AN charakteristicky dochází k 50% snížení hladiny A β 42 a k 200-300% zvýšení hladiny p-TAU a h-TAU v mozkomíšním moku oproti zdravým věkově vázaným kontrolám. Pokud je likvorový triplet pozitivní pro AN, podezření na FTLD je výrazně zpochybněno (Wiltfang J. et al., 2016; Sheikh-Bahaei N. et al., 2017; Matěj R. et al., 2019).

5.4.2 Nespecifické biomarkery neurodegenerace

V současné době jsou studie zaměřené rovněž na výzkum nespecifických biomarkerů neurodegenerace jako jsou např. **lehké řetězce neurofilament (NfL**, z angl. neurofilament light chain). NfL mohou při poškození neuronů nebo poranění axonů unikat do extracelulárního prostoru a lze je detekovat v mozkomíšním moku i v krevní plasmě či séru (s vysokou korelací s koncentracemi v mozkomíšním moku). To by potenciálně mohlo napomoci jednak odlišit primárně psychiatrické poruchy napodobující frontotemporální demenci, zároveň by to mohlo mít diagnostický přínos v časném záchytu onemocnění. Zvýšená koncentrace NfL by mohla předpovědět brzkou progresi onemocnění ke klinickým příznakům u asymptomatických nosičů mutací. A rovněž by mohla mít význam pro monitorování rychlosti s jakou se onemocnění bude rozvíjet a stanovení prognózy (Sheikh-Bahaei N. et al., 2017; Al Shweiki M. R. et al., 2019; Katisko K. et al., 2020; Swift, I. J. et al., 2021).

Studie biomarkerů v krvi se potýkají s některými úskalími. U specifických biomarkerů k CNS záleží, zda jsou propustné skrze hematoencefalickou bariéru. U nespecifických biomarkerů existuje riziko kontaminace z periferního nervového systému (Swift I. J. et al. 2021).

6 Neuropatologická diagnostika

6.1 Odběr materiálu pro neuropatologické vyšetření

Pro definitivní diagnózu neurodegenerativního onemocnění je nutné provedení autoptického vyšetření. Autoptické vyšetření má význam nejen pro potvrzení či vyvrácení klinické suspekce, ale také hraje velmi významnou roli pro hodnocení potenciálních změn spojených s terapií a při analýze nových potenciálních biomarkerů (Rohan Z. et al., 2018).

6.1.1 Pitva mozku

Během pitvy se odebírá **nativní vzorek šedé hmoty hemisféry mozku** (běžně z oblasti pravého frontálního laloku) k zmrazení do -80 °C. Ten později slouží pro účely biochemického vyšetření patologických změn proteinů a mutací v genech asociovaných

s hereditárními formami neurodegenerativních onemocnění (standartně u podezření na prionové onemocnění a pro výzkumné účely u ostatních onemocnění). Ke zmrazení se rovněž odebírá **část nefixované parenchymové tkáně (např. sleziny či kostní dřeně)** pro pozdější molekulárně-genetické vyšetření (Rohan Z. a Matěj R., 2014; Rohan Z. et al., 2018).

Vyjmutý mozek se vkládá k fixaci do 10% pufrovaného formolu. Po 2–4 týdnech proběhne vlastní neuropatologická pitva. Makroskopicky se hodnotí rozsah atrofie mozku, kmene, mozečku či míšních kořenů a dalších případných odchylek. Dle standardizovaného protokolu je proveden **odběr vzorků přesně definovaných struktur**, tak aby bylo možné spolehlivě diagnostikovat v podstatě kterékoliv neurodegenerativní onemocnění (Rohan Z. a Matěj R., 2014; Rohan Z. et al., 2018).

6.1.2 Odběr vzorků z dalších orgánů

Kromě mozku je v některých případech vhodné se zaměřit na odběr vzorků z dalších orgánů. Některé patologie mohou napodobovat primární neurodegenerace či sekundárně postihovat mozek. Typicky se jedná o kardiovaskulární onemocnění a jaterní či renální insuficience. Méně často o paraneoplastické syndromy (především u malobuněčného karcinomu plic) jako je např. limbická encefalitida projevující se kognitivním deficitem přesvědčivě napodobujícím neurodegenerativní onemocnění. U MND se odebírá příčně pruhovaná svalovina končetin, bránice, mezižeberní svaly a jazyka pro zhodnocení přítomnosti a míry neurogení atrofie (Rohan Z. a Matěj R., 2015).

6.2 Histomorfologické změny

Odebrané vzorky se dofixují v 10% formolu a manuálně prosytí řadou reagensů (ethanol, xylen, parafin). Činí se tak za účelem nahrazení vodného prostředí buněk hydrofobním roztokem, který umožní prosycení tkáně parafinovým voskem. Parafinem je struktura tkáně zpevněna a následně jsou vzorky zality do parafinu. Tento proces zajistí vysokou kvalitu barvení a také uchování vzorku ve formě parafinových bloků po téměř neomezenou dobu. Pomocí mikrotomu jsou vzorky standartně krájeny na 3-4 µm silné řezy (Balko J. et al., 2017).

Řezy se barví základními i speciálními histochemickými barvenými. Jako základní a rutinní histologické barvení se používá metoda hematoxylin-eosin. Ze speciálních

histochemických barvení se používá hlavně stříbřící metoda pro průkaz organizátorů jadérka (AgNOR, z angl. silver stained nucleolus organizer regions) a luxolová modř (Rohan Z. a Matěj R., 2015; Matěj R. et al., 2019).

6.2.1 Metoda hematoxylin-eosin

Hematoxylin je nažloutlý krystalický prášek rozpustný ve vodě i v ethanolu. Jedná se o přírodní látku získávanou z kmene stromu *haematoxylum campechianum*. Při přípravě funkčního barviva se hematoxylin oxiduje na hematein, ke kterému se následně váže kovový iont (přídavkem mořidla). V laboratorní praxi se oxidace urychluje přidáním oxidačního činidla, nejčastěji jodičnanu sodného. Mořidla jsou kovové soli, nejpoužívanější je síran hlinito-draselný nebo železitý. Mořidlo se podílí na zprostředkování vazby barviva na negativně nabitě buněčné struktury. Mořidla posilují pozitivní náboj hematinu a typ použitého mořidla ovlivňuje finální zbarvení struktur (Avwioro G., 2011; Chan J. K., 2014; Anderson J., 2011). Eosin je červené fluorescentní barvivo rozpustné v 96% ethanolu, pro účely barvení se připravuje jeho 1% roztok (Balko J. et al., 2017; Vacek Z., 1996).

Hematoxylin je pozitivně nabitě bazické barvivo s afinitou k bazofilním (kyselým) strukturám jako je buněčné jádro (obsahující DNA) a organely obsahující RNA (drsné endoplasmatické retikulum, ribozomy), které barví modře. Eosin je negativně nabitě kyselá barvivo barvící eosinofilní (bazické) struktury jako je cytoplazma, extracelulární matrix, buněčná membrána a většina buněčných organel, růžově (Chan J. K., 2014).

Postup

K barvení používáme barvicí roztoky na vodní bázi. V prvním kroku je tedy nutné odstranit veškerý parafín z parafinového řezu pomocí xylenu. Po důkladném odstranění vosku se preparát omyje v ethanolu pro odstranění xylenu, v sestupné řadě ethanolu a poté se důkladně opláchne ve vodě. Řez je poté hydratovaný, tudíž vodné barvicí roztoky snadno proniknou do tkáňových struktur. Dále se roztok barví následujícím způsobem (Avwioro G., 2011):

1. Hematoxylin – 10 minut
2. Promytí kohoutkovou vodou – modrání jader
3. Eosin – 1 minuta
4. Odvodnění, projasnění – ethanol, aceton, xylen

5. Montování preparátu

6.2.2 Histochemie

Jako speciální histochemické barvení se používá luxolová modř pro znázornění lipidových substancí v myelinu. Dále stříbřící metody pro hrubý záchyt amyloidových plak a patologických proteinových depozit či inkluzí. Mezi stříbřící metody patří AgNOR, případně méně užívané metody Bielschowsky či Gallyas. Dále je možné užít barvení Periodic Acid Schiff pro znázornění polysacharidů a určitých složek extracelulární matrix. Na základě těchto barvení lze bezpečně diagnostikovat většinu nádorových a zánětlivých onemocnění CNS, demyelinizačních onemocnění (např. roztroušená skleróza) či vaskulární encefalopatie. Rámcově je možné provést diagnózu AN, demence s Lewyho tělísky nebo MND. Na určité typy FTLD lze pojmout jen různě intenzivní podezření (Rohan Z. a Matěj R., 2014; Matěj R. et al., 2019).

7 Imunohistochemický průkaz

Pro přesné zařazení a určení diagnózy je třeba užít imunohistochemických metod. Metody nepřímé imunohistochemie využívají protilátek přesně namířených proti specifickým proteinům a umožňují tak znázornit strukturu, kvantitu a vzhled proteinových agregátů, definujících dané neurodegenerativní onemocnění (Matěj R. et al., 2019).

7.1 Princip imunohistochemického průkazu

Imunohistochemie je soubor metod jejichž cílem je detekce určitých antigenů (antigenních epitopů) v buňkách a tkáních. Jedná se o metody využívající mono nebo polyklonální protilátky k vizualizaci a lokalizaci hledaných antigenů ve tkáni. Protilátka se s vysokou specifitou váže na epitop antigenu a vytváří tak imunokomplex. Tato vazba antigenu a primární protilátky je specifická a pevná, ale zprvu není mikroskopicky patrná. Pro zviditelnění celé reakce se používají protilátky značené enzymem nebo fluorescenčním barvivem (Balko J. et al., 2017; Magaki S. et al. 2019).

Pro specifický průkaz patologicky konformovaných proteinů se užívá **nepřímé imunohistochemie na parafinovém řezu**. Nepřímá (sendvičová, vícestupňová) metoda sestává z vícero kroků, v nichž se na sebe protilátky a detekční (amplifikační) systémy

vážou v několika vrstvách. To umožňuje zesílit signál daný primární protilátkou. Na jednu molekulu primární protilátky se naváže i několik molekul značené sekundární protilátky a podpoří tak mikroskopickou vizualizaci místa reakce. Metoda je tak vysoce citlivá, umožňuje pracovat i s nižšími koncentracemi primární protilátky, čímž zlepšuje selektivitu vazby (Balko J. et al., 2017; Beranová M. a Tonar Z., 2002).

Pro vizualizaci imunokomplexu značeného enzymem (peroxidázou, alkalickou fosfatázou) se přidává substrát. Reakcí substrátu s enzymem vzniká barevný (nejčastěji tmavohnědý či červený) nerozpustný produkt, jež je možný pozorovat ve světelném mikroskopu (Balko J. et al., 2017).

Polyklonální protilátky

Polyklonální protilátky se získávají z krevního séra zvířat, jejichž organismus byl vystaven působení antigenu nebo směsi antigenů. Imunitní systém zvířete vytvoří směs protilátek proti různým epitopům antigenu. Polyklonální protilátky tak mohou poskytovat silnější reakci a nejsou tak citlivé na případné „maskování“ epitopů fixačními změnami. Nevýhodou je nižší specifita a přesnost oproti monoklonálním protilátkám. Na tvorbě těchto protilátek se podílí několik typů klonů aktivovaných plazmatických buněk (Beranová M. a Tonar Z., 2002; Balko J. et al., 2017).

Monoklonální protilátky

Na tvorbě monoklonálních protilátek se podílí pouze jediný klon plazmatických buněk. Jedná se o identické kopie protilátek se shodnou vazebnou specifitou vůči jedinému konkrétnímu antigennímu epitopu. Monoklonální protilátky jsou získávány technologií tzv. hybridomů. Umělým sloučením plazmatické a nádorové myelomové buňky vznikne mateřská buňka produkující klon buněk tzv. hybridom. Hybridom produkuje totožný typ protilátky se známou specifitou proti jednomu určitému antigennímu epitopu (Beranová M. a Tonar Z., 2002; Balko J. et al., 2017).

7.2 Postup

U jednotlivých typů protilátek a hledaných antigenů se postupy mohou mírně lišit. Zejména v použití pufrů pro revitalizaci antigenů, dobou a teplotními podmínkami inkubace protilátek či reagií, v koncentraci kyseliny mravenčí či odlišným ředěním protilátky. Přitom každé pracoviště validuje postupy dle vlastních podmínek.

7.2.1 Příprava preparátu, deparafinace a rehydratace

Z parafinových bloků se na mikrotomu krájí řezy silné ideálně 3 μm , které se napínají na skla se speciálně upraveným povrchem pro dobrou přilnavost řezu. Řezy se poté suší v termostatu při 56 °C a později deparafinují pomocí xylenu. Následně se řezy postupně promyjí v isopropylalkoholu, 96% ethanolu, 70% ethanolu za účelem vymytí zbytků xylenu a zajištění plynulého přechodu do hydrofilní fáze. Následuje oplach v destilované vodě (**rehydratace**) (Ramos-Vara J. A., 2017; Strítecká D. a Jeřábková L., 2018).

7.2.2 Revitalizace antigenu

Fixace a prosycení tkáně parafinem může zamaskovat nebo ovlivnit struktury epitopů pro protilátky. Proto je nutné nejprve uvolnit přístup antigenních epitopů protilátce. Jedním ze způsobů revitalizace antigenu je **teplem indukované zpřístupnění epitopů** (z angl. Heat induced epitope retrieval, **HIER**). Tkáňově řezy se ponoří do nádoby s předehřátým pufrem a za použití vodní lázně je teplota pufru udržována v rozmezí 95-99 °C. Po tepelném ošetření tkáňových řezů (40 minut) se nádoba s pufrem a tkáňovými řezy nechá 20 minut zchladnout při pokojové teplotě. Následuje odstranění nežádoucích komponent a zbytků pufru pomocí promývacího činidla a oplach destilovanou vodou (Ramos-Vara J. A., 2017; Strítecká D. a Jeřábková L., 2018). Optimální podmínky se mohou lišit v závislosti na konkrétní protilátce. Pro účely odmaskování epitopů patologicky konformovaných proteinů v mozkové tkáni se nejčastěji používá citrátový pufr s pH 6,1.

7.2.3 Aplikace 96% kyseliny mravenčí

Ošetření řezu pomocí 96% kyseliny mravenčí se provádí pro lepší odmaskování antigenních epitopů ve formalínem fixované tkáni. Kyselina mravenčí rozbíjí proteinové příčné vazby způsobené působením fixačního roztoku a odkrývá tak antigenní epitopy a umožňuje zvýšit vaznost protilátek a s ní intenzitu barvení (Kitamoto T. et al., 1987).

7.2.4 Zablokování endogenní aktivity enzymů

Dalším stěžejním krokem je zablokování endogenní aktivity enzymů. Standartně se používají protilátky značené enzymy (peroxidáza, alkalická fosfatáza a další). Tyto

enzymy se rovněž přirozeně vyskytují ve tkáních a mohly by tak vykázat falešně pozitivní výsledek reakce. Jako blokovací činidlo se používá 3% roztok peroxidu vodíku v pufru či metanolu nebo komerčně připravená reagentie. Následuje oplach promývacím činidlem (Střítecká D. a Jeřábková L., 2018; Magaki S. et al., 2019).

7.2.5 Aplikace protilátek a inkubace

Primární protilátku je nutno naředit na optimální validovanou koncentraci. Po aplikaci primární protilátky na tkáňový řez se preparát inkubuje při požadované teplotě. V tomto kroku dochází k navázání primární protilátky (tedy protilátky proti hledanému antigenu) na vazebné místo antigenu. Následuje oplach a poté inkubace preparátu se sekundární protilátkou, která je značena enzymem, nejčastěji křenovou peroxidázou. Dochází k vazbě sekundárních protilátek na protilátky primární (Beranová M. a Tonar Z., 2002; Střítecká D. a Jeřábková L., 2018; Magaki S. et al., 2019).

7.2.6 Aplikace chromogenního substrátu

Pro zviditelnění imunokomplexů značených peroxidázou se využívá jako substrát peroxid vodíku s chromogenem diaminobenzidinem (DAB). V přítomnosti enzymu dochází k oxidaci DAB a vzniká stabilní hnědý nerozpustný produkt, jež se během dehydratace před montováním řezů nevyplaví. Následuje oplach promývacím činidlem (Beranová M. a Tonar Z., 2002; Střítecká D. a Jeřábková L., 2018; Magaki S. et al., 2019).

7.2.7 Kontrastní barvení

Jako kontrastní barvení se používá základní barvení hematoxylinem. Slouží k dobarvení jader pro snazší orientaci v preparátu a přesnou lokalizaci pozitivní imunohistochemické reakce (Balko J. et al., 2017; Magaki S. et al., 2019).

7.2.8 Odvodnění, projasnění, montování

Obarvené preparáty se odvodní v 96% ethanolu a projasní v xylenu. Poté se řezy buď manuálně překryjí krycím sklem za použití montovacího média (solakrylu) nebo se

přístrojově pokryjí speciálním filmem s optickými vlastnostmi skla v montovacím automatu.

7.3 Imunohistochemický panel

Tabulka 4 – Imunohistochemický panel pro diferenciální diagnostiku neurodegenerací (Rohan Z. a Matěj R., 2015)

	tau			Ab	aSyn	p62	Ub	fTDP43	PrP	polyQ
	AT8	DR3	DR4							
AN	++			++	+		+			
LBD	+				++					
MSA					++					
FTLD-tau	++	++	++	+		++	+			
FTLD-TDP/ALS	+			+	+	++	++	++		
CJD, GGS	+			+					++	
polyQ						+	+			++

++ *obligatorní pro diagnózu*; + *vhodné*

Zkratky: *Ab amyloid beta; AN Alzheimerova nemoc; ALS amyotrofická laterální skleróza; aSyn alfa-synuklein; CJD Creutzfeldtova-Jakobova nemoc; fTDP43 fosforylovaný TDP-43; LBD nemoci s Lewyho tělísky; FTLD-tau/-TDP frontotemporální lobární degenerace s tau/TDP-43 pozitivními inkluzemi; GGS Gerstmannův-Sträusslerův-Scheinkerův syndrom; MSA multisystémová atrofie; polyQ nemoci s polyglutaminovými expanzemi; PrP prionový protein; Ub ubikvitin.*

Neuropatologická diagnostika je v současnosti založena na širokém panelu imunohistochemických protilátek namířených proti patologicky konformovaným proteinům, jež definují jednotlivá neurodegenerativní onemocnění. Imunohistochemický panel zahrnuje jednak protilátky namířené proti molekulám účastnícím se procesu

degradace proteinů (ubikvitin, p62), jež tvoří u řady neurodegenerací nespecifickou součást inkluzí. Zároveň zahrnuje protilátky proti specifickým komponentám depozit a inkluzí (hyperfosforylovaný protein tau a jeho DR3 a DR4 izoformy, amyloid-beta, alfa-synuklein, fosforylovaný protein TDP-43, prionový protein, huntigtin, FUS atd.) (Rohan Z. a Matěj R., 2015) - viz. **Tab. 4.**

8 Patologická depozita a inkluze a klíčové proteiny, které je formují

Frontotemporální lobární degenerace je heterogenní skupina onemocnění. Typizace se odvíjí od abnormálně změněného proteinu, který tvoří v neuronovém prostoru agregáty. Imunohistochemické metody umožňují tyto specifické molekulární proteinové inkluze či depozita identifikovat a podrobněji popsat.

Téměř většina případů FTLD vykazuje v imunohistochemickém barvení přítomnost jednoho ze tří klíčových proteinů, které toto onemocnění způsobují. Nejčastěji se jedná o depozita hyperfosforylované formy tau proteinu (40-45 % případů), depozita proteinu TDP-43 (40-45 % případů) a vzácněji protein FUS (5 % případů). Minoritní počet případů se rozvíjí na podkladu alternativní patologie. Proteinové agregáty na podkladě proteinu, jež je tvoří, mají rozdílnou morfologii a mají sklon se kumulovat ve specifických regionech mozkové tkáně (Younes K., 2020).

8.1 Tau protein a jeho hyperfosforylovaná forma

Název bílkoviny je odvozený od anglického označení tubulin-associated unit. Tato bílkovina ve své defosforylované podobě hraje roli při polymerizaci tubulinových monomerů do podoby mikrotubulů a významně se účastní intracelulárního transportu. Tau protein je kódován genem MAPT na 17. chromosomu. Za patologických okolností dochází na určitých vazebných místech bílkoviny k acetylaci a hyperfosforylaci a to vede ke vzniku velmi obtížně odbouratelných agregátů a následné neurotoxicitě. Ukládání hyperfosforylované formy tau proteinu je příčinou vzniku tauopatií (Kovacs G. G., 2015; Kovacs G. G. 2017).

8.2 TDP-43

TDP-43 je intranukleární protein, který hraje roli v regulaci genové exprese. Pokud se nahromadí v cytoplazmě je hyperfosforylován, ubikvitinován a štěpen. Inkluzní tělíčka obsahující hyperfosforylovanou formu TDP-43 jsou charakteristickým znakem pro tau-negativní podskupiny FTLD (FTLD-TDP) a FTLD-MND (Neumann M. a Mackenzie I. R. A., 2019; Younes K., 2020).

FTLD-TDP se dělí na 4 hlavní odlišné podtypy:

- 1) **TDP-43 typ A** má podobu malých srpkovitých neuronálních inkluzí, které jsou lokalizované v povrchových vrstvách kůry. Jedná se o nejběžnější typ TDP-43 inkluzí. Tvoří asi 50 % případů a je obvykle způsobena genetickou mutací GRN nebo C9orf72.
- 2) **TDP-43 typ B** je spojen s difúzní granulární cytoplazmatickou podobou inkluzí, které jsou umístěné v povrchových i hlubších korových oblastech. Je nejčastější příčinou FTD-MND a pravděpodobně se jedná o sporadickou formu. Genetické příčiny se vyskytují asi u třetiny případů, přičemž mutace genu C9orf72 je nejčastější.
- 3) **TDP-43 typ C** je spojován s dlouhými, klikatými dystrofickými neurity v povrchových kortikálních vrstvách. Neurozobrazovací metody ukazují obraz dominující a asymetrické atrofie frontálního a temporálního laloku.
- 4) **TDP-43 typ D** má podobu lentiformních neuronálních intranukleárních inkluzí a je přítomen ve všech vrstvách kůry.

8.3 FUS

FUS protein je podobně jako TDP-43 intranukleární DNA a RNA vázající protein, který agreguje v cytoplazmě. Je kódovaný genem FUS, jehož genetická mutace může způsobit ALS. Většina FTLD-FUS je sporadická a projevuje se v mladém věku (20 – 40let) (Younes K., 2020).

8.4 Ubikvitin

Ubikvitin je protein, který je významný pro nitrobuněčný rozklad ostatních proteinů. Jsou dvě cesty, kterými se buňka může zbavit špatně poskládaných proteinů, aby zabránila

jejich akumulaci: UPS a proces autofágie. Obě tyto degradační cesty závisí na označení cílových proteinů ubikvitinem. Při procesu stárnutí dochází obecně ke snížení aktivity UPS i lysozomů. Tím se zvyšuje sklon ke tvorbě neurotoxických agregátů, jejichž složkou je právě ubikvitin. Tato skutečnost může být důkazem adaptivní odpovědi na toxické, špatně poskládané, proteiny. Stejně tak může svědčit o poruše UPS, což následně může vést ke vzniku toxických agregátů (Schmidt M. F., 2021).

Ubikvitin a ubikvitin vázající proteiny jsou hlavní komponentou patologických proteinových agregátů, které charakterizují mnoho neurodegenerativních onemocnění. V případě FTLD je přítomnost ubikvitinu charakteristická pro FTLD-UPS (Schmidt M. F., 2021).

9 Molekulárně genetický průkaz

Nedávné pokroky v oblasti genetických metod, mezi nichž patří sekvenování nové generace (NGS), umožnilo zrychlení a usnadnilo identifikaci známých i nových genetických aberací, které souvisí s rozvojem neurodegenerativních onemocnění. V případě dědičných forem FTLD se na rozvoji onemocnění nejčastěji podílí mutace v genu MAPT, GRN a genu pro otevřený čtecí rámec 72 na chromosomu 9 (C9orf72). Vzácněji jsou mutace lokalizované v genech TARDBP, CHMP2B, FUS, VCP a superoxid dismutáza typ 1 (Parobková E. et al., 2019; Rainero I. et al., 2017).

9.1 Hlavní geny

9.1.1 MAPT

Mutace v genu MAPT je nejčastější příčinou dědičných forem tauopatií. MAPT je gen lokalizovaný na chromozomu 17, který se skládá z nekódujícího exonu následovaného 14 kódujícími exony. Jedná se o gen kódující protein asociovaný s mikrotubuly – tau. Hlavní funkcí tau proteinu je stabilizace mikrotubulů tvořících síť cytoskeletu neuronu a udržení funkce transportního systému axonu. V dospělém mozku je produkováno celkem 6 izoform proteinu tau, které se liší délkou řetězce aminokyselin. Oblast proteinu zvaná mikrotubuly-vázající doména, která se váže na mikrotubuly, je v jednotlivých izoformách odlišná. Ve třech izoformách obsahuje 3 opakující se segmenty, v ostatních třech se nacházejí 4 opakující se aminokyselinové repetice. Typicky má mozek přibližně

stejné množství izoforem DR3 a DR4, což je nezbytné pro normální funkci (Strang K. H. et al., 2019; Rainero I. et al., 2017).

Podstatný počet mutací genu MAPT se nachází v sestřihové oblasti exonu 10, což vede k abnormálním poměrům izoforem DR3 ku DR4 a selektivnímu ukládání repetitivních tau v neuronech a gliích. Rovněž se objevují záměnné mutace v exonech 9-13, které ovlivňují normální funkci tau proteinu v rámci stabilizace mikrotubulů a tím podporují tendenci tau tvořit neurotoxické agregáty (Rainero I. et al., 2017; van Swieten J. a Spillantini M. G., 2007).

9.1.2 GRN

Mutace v genu GRN jsou nejčastější příčinou familiárních forem FTLD (tvoří až 20 % případů s pozitivní rodinou anamnézou) a jsou příčinou rozvoje onemocnění až 5 % sporadických forem FTLD. GRN je gen se 13 exony, lokalizovaný na chromozomu 17p21 (Mackenzie I. R. et al., 2010). GRN kóduje protein progranulin, který se podílí na širokém spektru biologických procesů jako je zánět a hojení ran. Neaktivnější je v kožních buňkách, buňkách imunitního systému a některých buňkách mozkové tkáně. Pomáhá regulovat růst, dělení a přežití těchto buněk. Nejběžnější mutace v genu GRN vedou k zastavení produkce progranulinu. Nedostatek progranulinu vede k defektní ubikvitinaci a je spojován s hromaděním proteinu TDP-43 v mozkových buňkách (Rainero I. et al., 2017; Pottier C. et al., 2016).

9.1.3 C9orf72

C9orf72 je gen s 10 kódujícími a 2 nekódujícími exony, lokalizovaný na chromozomu 9p21. V oblasti nekódujících exonů byl identifikován hexanukleotidový segment GGGGCC. Opakování tohoto segmentu je běžné v rozmezí 2-20 opakování. Za patologickou expanzi tohoto segmentu je považováno opakování v rozmezí 400 až několika tisíc. Několik studií prokázalo, že patologická expanze C9orf72 je příčinou až 25 % familiárních forem FTLD a asi 5 % sporadických forem FTLD. Z neuropatologického hlediska souvisí expanze C9orf72 s FTLD-TDP, konkrétně podtypem A a B, nicméně bylo popsáno i několik pacientů FTLD-TDP podtypem C (Costa B. et al., 2020; Pottier C. et al., 2016).

9.2 Vzácné geny

9.2.1 TARDBP

Mutace v genu TARDBP jsou spojeny s rozvojem FTLD-TDP a s FTD-MND u 1 % případů. Gen TARDBP je lokalizovaný na chromozómu 1p36.2 a skládá se z pěti kódujících a jednoho nekódujícího exonu. Kóduje protein TDP-43, jež se nachází v buněčném jádře a podílí se na regulaci exprese proteinů. TDP-43 reguluje transkripci vazbou na DNA, vazbou na RNA zajišťuje stabilitu RNA (Mackenzie I. R. et al., 2010; Sellami L. et al., 2020) Je rovněž součástí heterogenního jaderného ribonukleoproteinového komplexu (hnRNP) a podílí se tak na zpracování m-RNA, která slouží jako genetická šablona pro tvorbu proteinů (Rainero I. et al., 2017).

Většina mutací TARDBP zahrnuje záměny nukleotidů (z angl. missenses) soustředěné v C-koncové doméně bohaté na glycin, kódované exonem 6, která proteinu umožňuje vázat se na jednovláknovou DNA, RNA a proteiny. Jelikož je TDP-43 součástí hnRNP, předpokládá se, že narušení funkce hnRNP ovlivňuje některé procesy, které vedou k dysfunkci a degeneraci neuronů (Rainero I. et al., 2017; Mackenzie I. R. et al., 2010).

9.2.2 CHMP2B

CHMP2B je gen lokalizovaný na chromozomu 3p11.2 a má celkem 6 exonů. Tento gen kóduje nabitý multivezikulární protein 2B, jež je součástí proteinového komplexu, tzv. endosomálního třídícího komplexu nutného pro transport (ESCRT-III). Ten je exprimován v neuronech všech hlavních oblastí mozku. Komplex ESCRT-III se podílí na endocytóze proteinů, které musí buňka degradovat. Mutace v genu CHMP2B, konkrétně záměna několik bazí v genu, vede k neustálé aktivitě komplexu ESCRT-III, jeho hromadění v buňkách a narušení transportu a degradace proteinů. Tato abnormalita vede v důsledku k zániku neuronů v mozku. Neuropatologické nálezy jsou konzistentní s FTLD-UPS (Pottier C. et al., 2016; Isaacs A. M. et al., 2011).

9.2.3 FUS

FUS je gen umístěný na chromozomu 16p11.2, kódující protein FUS, jež je složkou hn-RNP. FUS protein se podílí na regulaci genové exprese. Mutace v genu FUS jsou

příčinou asi 3 % familiárních forem ALS. Mutace v genu FUS byly u pacientů s průkazem FTLD-FUS vysoce předpokládané, nicméně dosud nebyly v těchto případech identifikovány (Pottier C. et al., 2016).

9.2.4 VCP

VCP je gen lokalizovaný na chromozomu 9p13.3 kódující protein obsahující valosin (VCP) (Rainero I. et al. 2017). VCP je enzym, jež se nachází ve všech tkáních těla. Je součástí UPS. Mutace genu VCP vede k zhoršené funkci UPS. Výsledkem je akumulace abnormálních proteinů ve svalových, kostních a mozkových buňkách. Mutace VCP jsou velmi vzácné, vyskytují se u méně než 1 % případů familiárních FTLD. Neuropatologicky se prezentují jako FTLD-TDP subtyp D. Komplexní klinický obraz může zahrnovat myopatii s inkluzními tělisky (IBM), Pagetovu chorobu kostí (PDB) a autosomálně dominantní FTLD (IBMPFD) (Wani A. et al., 2021; Pottier C. et al., 2016).

9.3 Princip molekulárně genetických metod

Vyšetření mutací vybraných genů, které se podílí na neurodegenerativních onemocnění, se rutinně provádí metodou přímého sekvenování PCR produktů, zahrnující kompletní sekvenci kódující protein. Materiálem pro analýzu je **periferní nesrážlivá krev**. Pro analýzu post mortem se odebírá vzorek parenchymové tkáně, nejčastěji **kostní dřevě** (viz. kapitola 6.1.1) (Parobková E. et al., 2019).

9.3.1 Metoda přímého sekvenování (Sangerova sekvenace)

Sekvenování je metoda molekulární biologie sloužící k určení přesného pořadí bází v řetězci DNA. Využívá se k odhalení odchylek – substitucí, delecí, inzercí či duplikací v genech, které hrají důležitou roli v rozvoji dědičných i sporadických onemocnění člověka (Šedivcová M. et al., 2013).

Principem Sangerovy metody je amplifikace zkoumaného úseku DNA pomocí PCR, fragmentace vláken, dostavění primeru a následná terminace syntézy nových DNA řetězců prostřednictvím náhodné inkorporace modifikovaných nukleotidů, tzv. dideoxynukleotidů (ddNTPs). Řetězce se poté separují a vizualizují pomocí kapilární elektroforézy (Šedivcová M. et al., 2013).

Extrakce nukleových kyselin

Výchozím materiálem pro molekulárně genetické vyšetření je vodný extrakt vyšetřované DNA zbavený podílu bílkovin a balastních látek. Izolace DNA se provádí šetrnou extrakcí z buněčného jádra nebo mitochondrií. Při extrakci jsou pomocí reagensů rozrušeny komplexy DNA a proteinů (Beránek M., 2016).

• Rozrušení celistvosti buněčné stěny a jaderné membrány

Ke zvýšení propustnosti buněčných membrán a k disociaci nukleoproteinových komplexů se používá lyzační pufr (TRIS pufr s EDTA, pH 8-9) v kombinaci s detergentem/denaturačním činidlem (dodecyl síran sodný) (Beránek M., 2016).

• Oddělení vodné fáze s DNA od degradovaných proteinů a balastních látek

Jednou z variant extrakce je fenol-chloroformová extrakce, při které dochází přidavkem fenolu do lyzačního pufru k vytvoření prostředí dvou nemísitelných fází, organické a vodné. Balastní látky jako jsou lipidy, polysacharidy, volné nukleotidy a zbytky membrán přechází do organické fáze, zatímco obnažená DNA zůstává ve vodné fázi. Následným odpipetováním fáze vodné do chloroformu se následně odseparovaný podíl DNA zbaví případných zbytků fenolu (Beránek M., 2016).

• Precipitace a purifikace DNA

Vysrážení DNA z vodné fáze se provádí přidavkem chlazeného absolutního či 96% ethanolu, následuje centrifugace, při níž DNA sedimentuje a vytváří pelet. Supernatant se odstraní, vysrážená DNA se přečistí přidavkem 70% ethanolu. Pelet DNA se vysuší na vzduchu a rozpustí v ultračisté vodě (Gupta N., 2019; Beránek M., 2016).

• Měření koncentrace a čistoty nukleových kyselin

Měření čistoty a koncentrace izolované DNA se provádí spektrofotometricky. DNA absorbuje v roztoku UV světlo v rozmezí vlnové délky od 210 do 500 nm, s absorpčním maximem 260 nm. Informace o čistotě DNA, z hlediska kontaminace bílkovinami, se získává změřením poměru absorbancí při vlnových délkách 260 a 280 nm (A_{260}/A_{280}), při němž mají absorpční maximum bílkoviny. Optimální hodnota tohoto poměru se pohybuje v rozmezí 1,7-1,9. Kontaminace nízkomolekulárními látkami se určuje poměrem absorbancí při vlnových délkách 260 a 230 nm (A_{260}/A_{230}), při nichž mají absorpční maximum nízkomolekulární látky jako např. fenol, polysacharidy a EDTA.

Hodnota tohoto poměru je optimální, pokud je vyšší než 2,0. Koncentraci DNA udáváme v jednotkách ng/μl (Beránek M., 2016).

1. Sekvenování

• Příprava fragmentů a jejich amplifikace pomocí real time PCR

Provádí se přípravou reakční směsi pro PCR, která zahrnuje dva primery komplementární k specifické části sekvence vyšetřovaných genů a Taq polymerázu. Ke směsi se přidá DNA a směs je vložena do termocykleru (Staněk L., 2013).

1. **Denaturace:** Nejprve je dvouvláknová DNA (dsDNA, z angl. double-stranded DNA) denaturována na dvě molekuly jednovláknové DNA (ssDNA, z angl. single stranded DNA).
2. **Annealing primerů:** Následuje nasednutí primerů na specifické místa DNA. Na dvouvláknové úseky DNA-primer se posléze váže Taq polymeráza.
3. **Syntéza DNA pomocí DNA polymerázy:** V tomto kroku dochází k nasedání deoxynukleotidtrifosfátů (dNTPs) a syntéze DNA ve směru od 5' ke 3' konci za vzniku komplementární molekuly DNA.

Tyto kroky se v termocykleru cyklicky opakují, standardně je zapotřebí asi 30-35 cyklů. PCR produkty se poté přečistí pomocí enzymů, nukleas a alkalické fosfatázy. Nukleasy štěpí jednovláknovou DNA (nezabudované primery) a fosfatáza odstraní přebytečné deoxyribonukleotidtrifosfáty (dNTPs) (Staněk L., 2013; Bybee S. M. et al., 2011; Beránek M., 2016).

• Sekvenační reakce

Dle množství PCR produktů se připraví sekvenační mix, který obsahuje čtyři dNTPs (A, C, G a T) a čtyři ddNTPs (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP) značené fluorescenčním barvivem. V této fázi dojde k dostavění primeru začleněním dNTPs pomocí polymerázy a k zakončení řetězců náhodným zabudováním značeného ddNTP. Ve srovnání s dNTP má ddNTP odstraněný atom kyslíku z ribonukleotidu, a proto nemůže vytvořit spojení s dalším nukleotidem. Výsledkem sekvenační reakce je směs různě dlouhých řetězců DNA, z nichž je každý fluorescenčně označen barvou podle toho, kterou bazí končí (Sikkema-Raddatz B. et al., 2013; Beránek M., 2016) Produkty sekvenační reakce musí být přečištěny od neinkorporovaných ddNTPs a dNTPs (Šedivcová M. et al., 2013).

• Rozdělení kapilární elektroforézou

Výsledné fragmenty DNA jsou denaturovány na jednořetězcové molekuly DNA, činí se tak přidavkem denaturačního činidla (formamidu) do vzorku současně i tepelně (95 °C). Poté jsou vzorky aplikovány z mikrotitračních destiček elektrokineticky čili pohybem záporně nabitých fragmentů NK směrem k anodě. Rychlost pohybu fragmentů závisí na jejich velikosti, délce. Identifikace NK je možná díky jejich značení. Každý ze čtyř ddNTPs je označen fluorescenční značkou, jež emituje záření při rozdílné vlnové délce. Zdrojem excitačního záření bývá argonový laser, helium-neonový či polovodičový laser. Emise fluorescenčního značení je snímána detektorem umístěným na konci kapiláry. (Beránek M., 2016; Šedivcová M. et al., 2013). Software data vyhodnotí a vytvoří grafický výstup získaných dat, tzv. sekvenogram (Šedivcová M. et al., 2013).

2. Vyhodnocení sekvenačních elektroforetických dat

Sekvence vyšetřovaných genů se porovnává s referenční sekvencí příslušných genů. Při nálezů odchylky od referenční sekvence je patogenita vyhledána v mutační databázi, případně analyzována za využití predikčního programu (Bybee S. M. et al., 2011; Šedivcová M. et al., 2013).

9.3.2 Masivní paralelní sekvenování nové generace

NGS neboli masivně paralelní sekvenování je označení moderních metod sekvenování, které umožňují sekvenovat velký počet (tisíce až miliony) molekul DNA paralelně najednou. S příchodem této moderní technologie došlo k výraznému progresu v procesu identifikace známých i nových genetických mutací. Výhodou NGS je všestrannost, tuto metodu lze použít v rozsáhlém spektru aplikací: celogenomová sekvenace, exomová sekvenace, analýza transkriptomu (sekvenována RNA po přepisu do cDNA), ampliconové sekvenování a další. Značným přínosem je možnost masivně sekvenovat větší počet kandidátních genů, včetně jejich nekódujících oblastí, v nichž se nacházejí regulační oblasti exprese (Parobková E. et al., 2019; Froňková E., 2013).

Aplikace

NGS umožňuje simultánní analýzu většího počtu kandidátních genů při nižších nákladech na gen. Pro vyšetření neurodegenerativních onemocnění se využívají cílené genové panely založené na NGS se širokým pokrytím genů asociovaných s hlavními neurodegenerativními onemocněními (Illumina, 2023; Koriath C. et al., 2020).

Sangerovo sekvenování je stále ekonomicky úspornější přístup pro cílenou analýzu genů v případě známého familiárního výskytu mutace či pro potvrzení mutace nalezené prostřednictvím NGS (Goldman J. S a Van Deerlin V. M., 2018).

Princip

Principy sekvenování i způsoby amplifikace sekvenovaných fragmentů DNA jsou u jednotlivých výrobců NGS technologií odlišné (Beránek M., 2017). Jedním ze způsobů vyšetření mutací neurodegenerativních genů je použití sekvenátoru firmy Illumina, který využívá princip sekvenování pomocí syntézy ve spojení s klonální amplifikací pomocí „můstkové“ PCR. Tato základní NGS metoda zahrnuje naštěpení DNA či RNA na fragmenty o velikosti mostění, přidání adaptérů, sekvenování knihoven a jejich opětovné sestavení do genomické sekvence. Principiálně je koncept podobný kapilární elektroforéze. Stěžejní rozdíl je v tom, že pomocí NGS lze sekvenovat miliony fragmentů masivně paralelním způsobem (Illumina, 2023).

ZÁVĚR

V úvodu je práce zaměřena na etiopatogenezi neurodegenerativních onemocnění. Největší prostor je věnován poruše proteinové hemostázy a metabolismu proteinů, jelikož přímo potencuje tvorbu proteinových agregátů. Další část je zaměřena na morfologický obraz jednotlivých podskupin FTLD, které se vzájemně liší charakterem proteinových inkluzí, topografickým šířením patologie, popřípadě další alternativní patologií ve specifických oblastech mozku. V další části je uveden vzhled do klinických obrazů FTLD v projekci oblastí zasažených patologií a úbytkem neuronů. Součástí práce je i stručný přehled klinické diagnostiky, neboť je nedílnou součástí komplexního diagnostického přístupu, zejména s ohledem na klinicko-patologické korelace neuropatologických nálezů. V poslední části se práce zabývá shrnutím principů imunohistochemických metod a metod molekulární genetiky. Metody imunohistochemie jsou vysoce významné pro přesnou diagnostiku onemocnění. Metody molekulární genetiky umožňují detekovat patogenní mutace či genové polymorfismy klíčových proteinů a odlišit tak dědičné formy onemocnění od sporadických typů. Právě přesná diagnostika neurodegenerací na morfologické a molekulárně-genetické úrovni je zásadní zpětnou vazbou pro klinické studie léčiv či biomarkerů a je nezbytná pro vývoj nových diagnostických přístupů.

SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 – Reaktivní formy kyslíku (zdroj: Halliwell B. a Guteridge J.M., 2007)	11
Tabulka 2 – Klasifikace neurodegenerativních onemocnění dle patofyziologického podkladu (Matěj R. et al., 2019)	17
Tabulka 3 – Klinická klasifikace FTLD (Matěj R. et al., 2019)	29
Tabulka 4 – Imunohistochemický panel pro diferenciální diagnostiku neurodegenerací (Rohan Z. a Matěj R., 2015)	45

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Pozitivní imunohistochemická reakce Pickových tělísek v cytoplazmě zduřelých balónových neuronů v oblasti hipokampu s protilátkou proti hyperfosforylovanému tau proteinu s predominancí izoformy DR3 s rovněž patrnou difúzní synaptickou pozitivitou (zdroj: archiv prof. MUDr. Radoslava Matěje, Ph.D.).....	22
Obrázek 2 - Pozitivní imunohistochemická reakce s protilátkou proti AT8 tau proteinu, patrna gliální patologie, včetně tzv. tufted astrocytů v oblasti mozečku. (zdroj: archiv prof. MUDr. Radoslava Matěje, Ph.D.)	23
Obrázek 3 - Pozitivní intraneuronální inkluze v imunohistochemickém průkazu s protilátkou proti hyperfosforylované formě proteinu TDP-43 v oblasti hipokampu, u pacienta s prokázanou mutací v genu C9orf72. (zdroj: archiv prof. MUDr. Radoslava Matěje, Ph.D.)	26
Obrázek 4 - V imunohistochemickém průkazu proti hyperfosorylované formě TDP-43 pozitivní tzv. skein-like inkluze (protaženého či vláknitého tvaru) v cytoplazmě motorického neuronu. (zdroj. archiv prof. MUDr. Radoslava Matěje, Ph.D.).....	27

SEZNAM LITERATURY

ABBAS R., LARISCH S. Killing by Degradation: Regulation of Apoptosis by the Ubiquitin-Proteasome-System. *Cells*. 2021 Dec 8;10(12):3465. PMID: 34943974; PMCID: PMC8700063. <https://doi.org/10.3390/cells10123465>

AHMED, Z., Bigio, E. H., Budka, H., Dickson, D. W., Ferrer, I., Ghetti, B., Giaccone, G., Hatanpaa, K. J., Holton, J. L., Josephs, K. A., Powers, J., Spina, S., Takahashi, H., White, C. L., 3rd, Revesz, T., & Kovacs, G. G. (2013). Globular glial tauopathies (GGT): consensus recommendations. *Acta neuropathologica*, 126(4), 537–544. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1171-0>

AJMAL, Mohammad Rehan. 2023. "Protein Misfolding and Aggregation in Proteinopathies: Causes, Mechanism and Cellular Response" *Diseases* 11, no. 1: 30. <https://doi.org/10.3390/diseases11010030>

AL SHWEIKI, M. R., Steinacker, P., Oeckl, P., Hengerer, B., Danek, A., Fassbender, K., Diehl-Schmid, J., Jahn, H., Anderl-Straub, S., Ludolph, A. C., Schönfeldt-Lecuona, C., & Otto, M. (2019). Neurofilament light chain as a blood biomarker to differentiate psychiatric disorders from behavioural variant frontotemporal dementia. *Journal of psychiatric research*, 113, 137–140. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.03.019>

ALAFUZZOFF I., Pikkarainen M, Neumann M, et al. Neuropathological assessments of the pathology in frontotemporal lobar degeneration with TDP43-positive inclusions: an inter-laboratory study by the BrainNet Europe consortium [published correction appears in *J Neural Transm (Vienna)*. 2015 Jul;122(7):973-4]. *J Neural Transm (Vienna)*. 2015;122(7):957-972. <https://doi.org/10.1007/s00702-014-1304-1>

ANDERSON J. An introduction to Routine and special staining. 2011. Retrieved 1 března 2023 z: <http://www.leicabiosystems.com/pathologyleaders/an-introduction-to-routine-and-special-staining>

AVWIORO, Godwin. Histochemical Uses of Haematoxylin - A Review. *JPCS*. 2011;1:24-34. Dostupné z: www.arpapress.com/Volumes/JPCS/Vol1/JPCS_1_05.pdf

- BABORIE**, Atik & Griffiths, Timothy et al. (2010). Pathological correlates of Frontotemporal Lobar Degeneration in the elderly. *Acta neuropathologica*. 121. 365-71. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0765-z>.
- BALABAN**, Robert S et al. "Mitochondria, oxidants, and aging." *Cell* vol. 120,4 (2005): 483-95. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.001>
- BALKO J.**, Tonar Z., Varga I. a kolektiv. *Memorix histologie*. Triton. 2017. 511-516. ISBN: 978-80-7553-249-7
- BANG**, J., Spina, S., & Miller, B. L. (2015). Frontotemporal dementia. *Lancet* (London, England), 386(10004), 1672–1682. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00461-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00461-4)
- BARTHEL**, H., Schroeter, M. L., Hoffmann, K. T., & Sabri, O. (2015). PET/MR in dementia and other neurodegenerative diseases. *Seminars in nuclear medicine*, 45(3), 224–233. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2014.12.003>
- BERÁNEK** Martin. *Molekulární genetika pro bioanalytiku*. Praha: Karolinum. 2016. ISBN: 978-80-246-3224-7.
- BERANOVÁ** Milena, Tonar Zbyněk. *Principy a příklady imunohistochemie, příručka pro studenty*. Ústav histologie a embryologie LF UK v Plzni. 2002. (cit. 1. března 2023). Dostupné z: http://histologie.lfp.cuni.cz/education/guides/ihc_low_res.pdf
- BLANCAS-MEJÍA** LM., Ramirez-Alvarado M. Systemic amyloidoses. *Annu Rev Biochem*. 2013;82:745-74. Epub 2013 Feb 28. PMID: 23451869; PMCID: PMC4044913. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-072611-130030>
- BLASZCZYK**, Janusz Wiesław. "Energy Metabolism Decline in the Aging Brain- Pathogenesis of Neurodegenerative Disorders." *Metabolites* vol. 10,11 450. 7 Nov. 2020, <https://doi.org/10.3390/metabo10110450>
- BOTT** N. T., Radke A., Stephens, M. L., & Kramer, J. H. (2014). Frontotemporal dementia: diagnosis, deficits and management. *Neurodegenerative disease management*, 4(6), 439–454. <https://doi.org/10.2217/nmt.14.34>
- BÜRGER**, K., Arzberger, T., Stephan, J. et al. Pathomechanismen und klinische Aspekte der frontotemporalen Lobärdegeneration. *Nervenarzt* 88, 163–172 (2017). <https://doi.org/10.1007/s00115-016-0259-x>

BYBEE SM, Bracken-Grissom H, Haynes BD, et al. Targeted amplicon sequencing (TAS): a scalable next-gen approach to multilocus, multitaxa phylogenetics. *Genome Biol Evol.* 2011;3:1312-1323. <https://doi.org/10.1093/gbe/evr106>

CAMANDOLA, Simonetta, and Mark P Mattson. “Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration.” *The EMBO journal* vol. 36,11 (2017): 1474-1492. <https://doi.org/10.15252/emboj.201695810>

CAO Q, Tan CC, Xu W, Hu H, Cao XP, Dong Q, Tan L, Yu JT. The Prevalence of Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis.* 2020;73(3):1157-1166. PMID: 31884487. <https://doi.org/10.3233/JAD-191092>

CARREL, R W, and D A Lomas. “Conformational disease.” *Lancet (London, England)* vol. 350,9071 (1997): 134-8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)02073-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)02073-4)

COSTA B, Manzoni C, Bernal-Quiros M, et al. C9orf72, age at onset, and ancestry help discriminate behavioral from language variants in FTL D cohorts. *Neurology.* 2020;95(24):e3288-e3302. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000010914>

COYLE-GILCHRIST, I. T., Dick, K. M., Patterson, K., Vázquez Rodríguez, P., Wehmann, E., Wilcox, A., Lansdall, C. J., Dawson, K. E., Wiggins, J., Mead, S., Brayne, C., & Rowe, J. B. (2016). Prevalence, characteristics, and survival of frontotemporal lobar degeneration syndromes. *Neurology*, 86(18), 1736–1743. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002638>

CRIMMINS E. M. (2015). Lifespan and Healthspan: Past, Present, and Promise. *The Gerontologist*, 55(6), 901–911. <https://doi.org/10.1093/geront/gnv130>

CSÉFALVAY Z., Bajtošová R., Keller J., Straková E., Matěj R., Rusina R., Primární progresivní afázie, *Cesk Slov Ne urol N* 2020; 83/ 116(3): 127–139. ISSN: 1210-7859. <https://doi.org/10.14735/amcsnn2020226>

DALSGAARD, Mads K et al. “Cerebral metabolism is influenced by muscle ischaemia during exercise in humans.” *Experimental physiology* vol. 88,2 (2003): 297-302. <https://doi.org/10.1113/eph8802469>

DAS, S., & ISHAQUE, A. (2018). Argyrophilic grain disease: a clinicopathological review of an overlooked tauopathy. *Folia neuropathologica*, 56(4), 277–283. <https://doi.org/10.5114/fn.2018.80859>

DAVE, A., Hansen, N., Downey, R., & Johnson, C. (2020). FDG-PET Imaging of Dementia and Neurodegenerative Disease. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, 41(6), 562–571. <https://doi.org/10.1053/j.sult.2020.08.010>

DE, S., and KLENERMAN D., “Imaging individual protein aggregates to follow aggregation and determine the role of aggregates in neurodegenerative disease.” *Biochimica et biophysica acta. Proteins and proteomics* vol. 1867,10 (2019): 870-878. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2018.12.010>

DEVENNEY, E., Vucic, S., Hodges, J. R., & Kiernan, M. C. (2015). Motor neuron disease-frontotemporal dementia: a clinical continuum. *Expert review of neurotherapeutics*, 15(5), 509–522. <https://doi.org/10.1586/14737175.2015.1034108>

DICKSON D. W. (2001). Neuropathology of Pick's disease. *Neurology*, 56(11 Suppl 4), S16–S20. https://doi.org/10.1212/wnl.56.suppl_4.s16

DICKSON, D. W., Bergeron, C., Chin, S. S., Duyckaerts, C., Horoupian, D., Ikeda, K., Jellinger, K., Lantos, P. L., Lippa, C. F., Mirra, S. S., Tabaton, M., Vonsattel, J. P., Wakabayashi, K., Litvan, I., & Office of Rare Diseases of the National Institutes of Health (2002). Office of Rare Diseases neuropathologic criteria for corticobasal degeneration. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 61(11), 935–946. <https://doi.org/10.1093/jnen/61.11.935>

DICKSON, Dennis W et al. “Neuropathology of variants of progressive supranuclear palsy.” *Current opinion in neurology* vol. 23,4 (2010): 394-400. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32833be924>

DIEHL-SCHMID, J., Perneczky, R., Koch, J., Nedopil, N., & Kurz, A. (2013). Guilty by suspicion? Criminal behavior in frontotemporal lobar degeneration. *Cognitive and behavioral neurology : official journal of the Society for Behavioral and Cognitive Neurology*, 26(2), 73–77. <https://doi.org/10.1097/WNN.0b013e31829cff11>

DIEHL-SCHMID, J., Pohl, C., Ruprecht, C., Wagenpfeil, S., Foerstl, H., & Kurz, A. (2007). The Ekman 60 Faces Test as a diagnostic instrument in frontotemporal dementia. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists*, 22(4), 459–464. <https://doi.org/10.1016/j.acn.2007.01.024>

DOBSON, Christopher M. “Getting out of shape.” *Nature* vol. 418,6899 (2002): 729-30. <https://doi.org/10.1038/418729a>

DOBSON, Christopher M. “Protein folding and misfolding.” *Nature* vol. 426,6968 (2003): 884-90. <https://doi.org/10.1038/nature02261>

ESLINGER, P. J., Moore, P., Anderson, C., & Grossman, M. (2011). Social cognition, executive functioning, and neuroimaging correlates of empathic deficits in frontotemporal dementia. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 23(1), 74–82. <https://doi.org/10.1176/jnp.23.1.jnp74>

FINGER E. C. (2016). Frontotemporal Dementias. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 22(2 Dementia), 464–489. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000300>

FORMAN, M. S., Farmer, J., Johnson, J. K. et al. (2006). Frontotemporal dementia: clinicopathological correlations. *Annals of neurology*, 59(6), 952–962. <https://doi.org/10.1002/ana.20873>

FORREST, S. L., Kril, J. J., & Kovacs, G. G. (2021). Association Between Globular Glial Tauopathies and Frontotemporal Dementia-Expanding the Spectrum of Gliocentric Disorders: A Review. *JAMA neurology*, 78(8), 1004–1014. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2021.1813>

FROŇKOVÁ E., Sekvenování nové generace, *Cesk Patol* 2013; 49(3): 129–132, ISSN 1210-7875

FU H, Hardy J, Duff KE. Selective vulnerability in neurodegenerative diseases. *Nat Neurosci*. 2018 Oct;21(10):1350-1358. Epub 2018 Sep 24. PMID: 30250262; PMCID: PMC6360529. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0221-2>

GANDHI J, Antonelli AC, Afridi A, Vatsia S, Joshi G, Romanov V, Murray IVJ, Khan SA. Protein misfolding and aggregation in neurodegenerative diseases: a review of pathogenesis, novel detection strategies, and potential therapeutics. *Rev Neurosci*. 2019 May 27;30(4):339-358. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2016-0035> . PMID: 30742586.

GOLDMAN, J. S., & VAN DEERLIN, V. M. (2018). Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia: The Current State of Genetics and Genetic Testing Since the Advent of Next-Generation Sequencing. *Molecular diagnosis & therapy*, 22(5), 505–513. <https://doi.org/10.1007/s40291-018-0347-7>

- GOLDMAN**, J. S., Farmer, J. M., Wood, E. M., Johnson, J. K., Boxer, A., Neuhaus, J., Lomen-Hoerth, C., Wilhelmsen, K. C., Lee, V. M., Grossman, M., & Miller, B. L. (2005). Comparison of family histories in FTLN subtypes and related tauopathies. *Neurology*, 65(11), 1817–1819. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000187068.92184.63>
- GOOSSENS**, Joery et al. “EEG Dominant Frequency Peak Differentiates Between Alzheimer's Disease and Frontotemporal Lobar Degeneration.” *Journal of Alzheimer's disease : JAD* vol. 55,1 (2017): 53-58. <https://doi.org/10.3233/JAD-160188>
- GORNO-TEMPINI ML**, Hillis AE, Weintraub S, et al. Classification of primary progressive aphasia and its variants. *Neurology*. 2011;76(11):1006-1014. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31821103e6>
- GORNO-TEMPINI**, M. L., Brambati, S. M., Ginex, V., Ogar, J., Dronkers, N. F., Marcone, A., Perani, D., Garibotto, V., Cappa, S. F., & Miller, B. L. (2008). The logopenic/phonological variant of primary progressive aphasia. *Neurology*, 71(16), 1227–1234. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000320506.79811.da>
- GROSSMAN** M. (2010). Primary progressive aphasia: clinicopathological correlations. *Nature reviews. Neurology*, 6(2), 88–97. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2009.216>
- GROSSMAN** M. (2012). The non-fluent/agrammatic variant of primary progressive aphasia. *The Lancet. Neurology*, 11(6), 545–555. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70099-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70099-6)
- GUO**, Jing L, and Virginia M Y Lee. “Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases.” *Nature medicine* vol. 20,2 (2014): 130-8. <https://doi.org/10.1038/nm.3457>
- GUPTA** N. (2019). DNA Extraction and Polymerase Chain Reaction. *Journal of cytology*, 36(2), 116–117. https://doi.org/10.4103/JOC.JOC_110_18
- HALLIWELL** B., GUTTERIDGE M. J., *Free radicals in biology and medicine*. 4th ed. New York: Oxford University Press, 2007, 851 s., ISBN 978-019-8568-681.
- HANUS**, C., & SCHUMAN, E. M. (2013). Proteostasis in complex dendrites. *Nature reviews. Neuroscience*, 14(9), 638–648. <https://doi.org/10.1038/nrn3546>

HAZENBERG B. P. (2013). Amyloidosis: a clinical overview. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 39(2), 323–345. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2013.02.012>

HEBERT, Daniel N, and Maurizio Molinari. “In and out of the ER: protein folding, quality control, degradation, and related human diseases.” *Physiological reviews* vol. 87,4 (2007): 1377-408. <https://doi.org/10.1152/physrev.00050.2006>

HERCZENIK, E., & Gebbink, M. F. (2008). Molecular and cellular aspects of protein misfolding and disease. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 22(7), 2115–2133. <https://doi.org/10.1096/fj.07-099671>

HODGES, J. R., Davies, R., Xuereb, J., Kril, J., & Halliday, G. (2003). Survival in frontotemporal dementia. *Neurology*, 61(3), 349–354. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000078928.20107.52>

CHAN J. K. (2014). The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology. *International journal of surgical pathology*, 22(1), 12–32. <https://doi.org/10.1177/1066896913517939>

CHUNG, D. C., Carlomagno, Y., Cook, C. N., Jansen-West, K., Daugherty, L., Lewis-Tuffin, L. J., Castanedes-Casey, M., DeTure, M., Dickson, D. W., & Petrucelli, L. (2019). Tau exhibits unique seeding properties in globular glial tauopathy. *Acta neuropathologica communications*, 7(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0691-9>

ILLUMINA | Next-Generation Sequencing for Beginners | NGS basics for researchers.| Sequencing and array-based solutions for genetic research [online]. Copyright © 2023 Illumina, Inc. All rights reserved. [cit. 03.05.2023]. Dostupné z: <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/beginners.html>

ILLUMINA |AmpliSeq for Illumina Dementia Research Gene Panel. Sequencing and array-based solutions for genetic research [online]. Copyright © 2023 Illumina, Inc. All rights reserved. [cit. 03.05.2023]. Dostupné z: <https://www.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/community-panels/dementia.html>

IMAI, Shin-Ichiro, and GUARANTE Leonard. “It takes two to tango: NAD⁺ and sirtuins in aging/longevity control.” *NPJ aging and mechanisms of disease* vol. 2 16017. 18 Aug. 2016, <https://doi.org/10.1038/npjamd.2016.17>

IRWIN, David J et al. “Deep clinical and neuropathological phenotyping of Pick disease.” *Annals of neurology* vol. 79,2 (2016): 272-87. <https://doi.org/10.1002/ana.24559>

ISAACS AM, Johannsen P, Holm I, Nielsen JE; FReJA consortium. Frontotemporal dementia caused by CHMP2B mutations. *Curr Alzheimer Res.* 2011;8(3):246-251. <https://doi.org/10.2174/156720511795563764>

JANKOVSKÁ N., MATĚJ R., Molecular Pathology of ALS: What We Currently Know and What Important Information Is Still Missing. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(8):1365. Published 2021 Jul 29. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081365>

JENSEN, B. C., & Willis, M. S. (2016). The Head and the Heart: The Alzheimer's Connection. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(22), 2408–2411. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.09.934>

JOSEPHS, K. A., Petersen, R. C., Knopman, D. S., Boeve, B. F., Whitwell, J. L., Duffy, J. R., Parisi, J. E., & Dickson, D. W. (2006). Clinicopathologic analysis of frontotemporal and corticobasal degenerations and PSP. *Neurology*, 66(1), 41–48. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000191307.69661.c3>

JURCAU, Anamaria. “Insights into the Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases: Focus on Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress.” *International journal of molecular sciences* vol. 22,21 11847. 31 Oct. 2021, <https://doi.org/10.3390/ijms222111847>

KATISKO, K., Cajanus, A., Jääskeläinen, O., Kontkanen, A., Hartikainen, P., Korhonen, V. E., Helisalmi, S., Haapasalo, A., Koivumaa-Honkanen, H., Herukka, S. K., Remes, A. M., & Solje, E. (2020). Serum neurofilament light chain is a discriminative biomarker between frontotemporal lobar degeneration and primary psychiatric disorders. *Journal of neurology*, 267(1), 162–167. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09567-8>

KATISKO, K., Cajanus, A., Korhonen, T., Remes, A. M., Haapasalo, A., & Solje, E. (2019). Prodromal and Early bvFTD: Evaluating Clinical Features and Current Biomarkers. *Frontiers in neuroscience*, 13, 658. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00658>

KITAMOTO, T., Ogomori, K., Tateishi, J., & Prusiner, S. B. (1987). Formic acid pretreatment enhances immunostaining of cerebral and systemic amyloids. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 57(2), 230–236. PMID: 2441141

KLOTZ S, GELPI E. Neuropathologie der Demenzen [Neuropathology of dementia]. *Wien Med Wochenschr.* 2021 Sep;171(11-12):257-273. German. Epub 2021 Jun 15. PMID: 34129141; PMCID: PMC8397629. <https://doi.org/10.1007/s10354-021-00848-4>

KNOPMAN, David S, and Rosebud O Roberts. “Estimating the number of persons with frontotemporal lobar degeneration in the US population.” *Journal of molecular neuroscience : MN* vol. 45,3 (2011): 330-5. <https://doi.org/10.1007/s12031-011-9538-y>

KOBYLECKI, C., Langheinrich, T., Hinz, R., Vardy, E. R., Brown, G., Martino, M. E., Haense, C., Richardson, A. M., Gerhard, A., Anton-Rodriguez, J. M., Snowden, J. S., Neary, D., Pontecorvo, M. J., & Herholz, K. (2015). 18F-florbetapir PET in patients with frontotemporal dementia and Alzheimer disease. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 56(3), 386–391. <https://doi.org/10.2967/jnumed.114.147454>

KOGA H, Kaushik S, Cuervo AM. Protein homeostasis and aging: The importance of exquisite quality control. *Ageing Res Rev.* 2011 Apr;10(2):205-15. Epub 2010 Feb 10. PMID: 20152936; PMCID: PMC2888802. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2010.02.001>

KOLANKO, M. A., Win, Z., Loreto, F., Patel, N., Carswell, C., Gontsarova, A., Perry, R. J., & Malhotra, P. A. (2020). Amyloid PET imaging in clinical practice. *Practical neurology*, 20(6), 451–462. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2019-002468>

- KORIATH C.**, Kenny J., Adamson G., et al. Predictors for a dementia gene mutation based on gene-panel next-generation sequencing of a large dementia referral series. *Mol Psychiatry*. 2020;25(12):3399-3412. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0224-0>
- KOUKOLÍK, F.;** JIRÁK, R. Alzheimerova nemoc a další demence. Praha: GRADA, 1998. ISBN 80-7169-615-3
- KOURI, N.**, Whitwell, J. L., Josephs, K. A., Rademakers, R., & Dickson, D. W. (2011). Corticobasal degeneration: a pathologically distinct 4R tauopathy. *Nature reviews. Neurology*, 7(5), 263–272. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2011.43>
- KOVACS G. G.** (2015). Invited review: Neuropathology of tauopathies: principles and practice. *Neuropathology and applied neurobiology*, 41(1), 3–23. <https://doi.org/10.1111/nan.12208>
- KOVACS G. G.** (2017). Tauopathies. *Handbook of clinical neurology*, 145, 355–368. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802395-2.00025-0>
- KOVACS GG.** Molecular Pathological Classification of Neurodegenerative Diseases: Turning towards Precision Medicine. *Int J Mol Sci*. 2016 Feb 2;17(2):189. <https://doi.org/10.3390/ijms17020189>. PMID: 26848654; PMCID: PMC4783923.
- KOVACS, Gabor G et al.** “Distribution patterns of tau pathology in progressive supranuclear palsy.” *Acta neuropathologica* vol. 140,2 (2020): 99-119. <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02158-2>
- KOVACS, Gabor G.** “Concepts and classification of neurodegenerative diseases.” *Handbook of clinical neurology* vol. 145 (2017): 301-307. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802395-2.00021-3>
- LE BER, I.**, Guedj, E., Gabelle, A., et al. (2006). Demographic, neurological and behavioural characteristics and brain perfusion SPECT in frontal variant of frontotemporal dementia. *Brain : a journal of neurology*, 129(Pt 11), 3051–3065. <https://doi.org/10.1093/brain/awl288>
- LEITHNER C, ROYL G.** The oxygen paradox of neurovascular coupling. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014 Jan;34(1):19-29. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.181>. Epub 2013 Oct 23. PMID: 24149931; PMCID: PMC3887356.

LEORA M. Fox, AI Yamamoto, “Macroautophagy of Aggregation-Prone Proteins in Neurodegenerative Disease“, Academic Press, 2015, Pages 117-137, ISBN 9780128010433, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801043-3.00007-8>.

LEUZY, A., Chiotis, K., Lemoine, L., Gillberg, P. G., Almkvist, O., Rodriguez-Vieitez, E., & Nordberg, A. (2019). Tau PET imaging in neurodegenerative tauopathies-still a challenge. *Molecular psychiatry*, 24(8), 1112–1134. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0342-8>

LING, Helen et al. “Astrogliopathy predominates the earliest stage of corticobasal degeneration pathology.” *Brain : a journal of neurology* vol. 139,Pt 12 (2016): 3237-3252. <https://doi.org/10.1093/brain/aww256>

LIVINGSTON, G., Huntley, J., Sommerlad, A. et al. (2020). Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *Lancet* (London, England), 396(10248), 413–446. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30367-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30367-6)

LOGROSCINO G, Piccininni M, Graff C, Hardiman O, Ludolph AC, Moreno F, Otto M, Remes AM, Rowe JB, Seelaar H, Solje E, Stefanova E, Traykov L, Jelic V, Rydell MT, Pender N, Anderl-Straub S, Barandiaran M, Gabilondo A, Krüger J, Murley AG, Rittman T, van der Ende EL, van Swieten JC, Hartikainen P, Stojmenovic GM, Mehrabian S, Benussi L, Alberici A, Dell'Abate MT, Zecca C, Borroni B; FRONTIERS group. Incidence of Syndromes Associated With Frontotemporal Lobar Degeneration in 9 European Countries. *JAMA Neurol.* 2023 Jan 30:e225128. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2022.5128>. Epub ahead of print. PMID: 36716024; PMCID: PMC9887528.

LOTTEs, E. N., & COX, D. N. (2020). Homeostatic Roles of the Proteostasis Network in Dendrites. *Frontiers in cellular neuroscience*, 14, 264. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00264>

MACKENZIE IR, Rademakers R, Neumann M. TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *Lancet Neurol.* 2010;9(10):995-1007. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70195-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70195-2)

MACKENZIE, I. R., & NEUMANN, M. (2012). FET proteins in frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Brain research*, 1462, 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.12.010>

- MACKENZIE, I. R., & NEUMANN, M.** (2017). Reappraisal of TDP-43 pathology in FTL-D-U subtypes. *Acta neuropathologica*, 134(1), 79–96. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1716-8>
- MACKENZIE, I. R., Neumann, M., Baborie, A., Sampathu, D. M., Du Plessis, D., Jaros, E., Perry, R. H., Trojanowski, J. Q., Mann, D. M., & Lee, V. M.** (2011). A harmonized classification system for FTL-D-TDP pathology. *Acta neuropathologica*, 122(1), 111–113. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0845-8>
- MAGAKI, S., Hojat, S. A., Wei, B., So, A., & Yong, W. H.** (2019). An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1897, 289–298. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_25
- MARSHALL, C. R., Hardy, C. J. D., Volkmer, A., Russell, L. L., Bond, R. L., Fletcher, P. D., Clark, C. N., Mummery, C. J., Schott, J. M., Rossor, M. N., Fox, N. C., Crutch, S. J., Rohrer, J. D., & Warren, J. D.** (2018). Primary progressive aphasia: a clinical approach. *Journal of neurology*, 265(6), 1474–1490. <https://doi.org/10.1007/s00415-018-8762-6>
- MASSIMO, L., Powers, C., Moore, P., Vesely, L., Avants, B., Gee, J., Libon, D. J., & Grossman, M.** (2009). Neuroanatomy of apathy and disinhibition in frontotemporal lobar degeneration. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 27(1), 96–104. <https://doi.org/10.1159/000194658>
- MATĚJ R., Rusina R. a kol.,** Neurodegenerativní onemocnění. Praha: Mladá fronta, 2019. ISBN 978-80-204-5123-1.
- MATTSON, M P.** “Apoptosis in neurodegenerative disorders.” *Nature reviews. Molecular cell biology* vol. 1,2 (2000): 120-9. <https://doi.org/10.1038/35040009>
- McKHANN, G. M., Albert, M. S., Grossman, M., Miller, B., Dickson, D., Trojanowski, J. Q., & Work Group on Frontotemporal Dementia and Pick's Disease** (2001). Clinical and pathological diagnosis of frontotemporal dementia: report of the Work Group on Frontotemporal Dementia and Pick's Disease. *Archives of neurology*, 58(11), 1803–1809. <https://doi.org/10.1001/archneur.58.11.1803>
- MENDEZ, M. F., Chen, A. K., Shapira, J. S., & Miller, B. L.** (2005). Acquired sociopathy and frontotemporal dementia. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 20(2-3), 99–104. <https://doi.org/10.1159/000086474>

- MESULAM**, M. M., Rogalski, E. J., Wieneke, C., Hurley, R. S., Geula, C., Bigio, E. H., Thompson, C. K., & Weintraub, S. (2014). Primary progressive aphasia and the evolving neurology of the language network. *Nature reviews. Neurology*, 10(10), 554–569. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.159>
- MILTIADOUS** A, Tzimourta KD, Giannakeas N, et al. Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia: A Robust Classification Method of EEG Signals and a Comparison of Validation Methods. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(8):1437. Published 2021 Aug 9. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081437>
- MORIMOTO** RI. Proteotoxic stress and inducible chaperone networks in neurodegenerative disease and aging. *Genes Dev*. 2008 Jun 1;22(11):1427-38. <https://doi.org/10.1101/gad.1657108>. PMID: 18519635; PMCID: PMC2732416.
- MÜLLER-PUTZ** G. R. (2020). Electroencephalography. *Handbook of clinical neurology*, 168, 249–262. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63934-9.00018-4>
- NARDONE**, R., Sebastianelli, L., Versace et al. (2018). Usefulness of EEG Techniques in Distinguishing Frontotemporal Dementia from Alzheimer's Disease and Other Dementias. *Disease markers*, 2018, 6581490. <https://doi.org/10.1155/2018/6581490>
- NEUMANN**, M., & MACKENZIE, I. R. A. (2019). Review: Neuropathology of non-tau frontotemporal lobar degeneration. *Neuropathology and applied neurobiology*, 45(1), 19–40. <https://doi.org/10.1111/nan.12526>
- NEUMANN**, M., Roeber, S., Kretschmar, H. A., Rademakers, R., Baker, M., & Mackenzie, I. R. (2009). Abundant FUS-immunoreactive pathology in neuronal intermediate filament inclusion disease. *Acta neuropathologica*, 118(5), 605–616. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0581-5>
- OLNEY**, N. T., Spina, S., & Miller, B. L. (2017). Frontotemporal Dementia. *Neurologic clinics*, 35(2), 339–374. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2017.01.008>
- ONYIKE** C. U. (2011). What is the life expectancy in frontotemporal lobar degeneration?. *Neuroepidemiology*, 37(3-4), 166–167. <https://doi.org/10.1159/000333347>

- ONYIKE, C. U., & DIEHL-SCHMID, J.** (2013). The epidemiology of frontotemporal dementia. *International review of psychiatry* (Abingdon, England), 25(2), 130–137. <https://doi.org/10.3109/09540261.2013.776523>
- PAROBKOVÁ E.,** Rusina R., Matějčková M., Gregor V., Matěj R. Genetika neurodegenerativních demencí v deseti bodech – co může neurolog očekávat od molekulárního genetika? *Cesk Slov Ne urol N* 2019; 82/ 115(1): 100– 105. <https://doi.org/10.14735/amcsnn2019100>
- PEET, B. T.,** Spina, S., Mundada, N., & La Joie, R. (2021). Neuroimaging in Frontotemporal Dementia: Heterogeneity and Relationships with Underlying Neuropathology. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 18(2), 728–752. <https://doi.org/10.1007/s13311-021-01101-x>
- PICKEN, Maria M.** “The Pathology of Amyloidosis in Classification: A Review.” *Acta haematologica* vol. 143,4 (2020): 322-334. <https://doi.org/10.1159/000506696>
- POTTIER C,** Ravenscroft TA, Sanchez-Contreras M, Rademakers R. Genetics of FTLTD: overview and what else we can expect from genetic studies. *J Neurochem*. 2016;138 Suppl 1:32-53. <https://doi.org/10.1111/jnc.13622>
- RAINERO I,** Rubino E, Michelerio A, D'Agata F, Gentile S, Pinessi L. Recent advances in the molecular genetics of frontotemporal lobar degeneration. *Funct Neurol*. 2017;32(1):7-16. <https://doi.org/10.11138/fneur/2017.32.1.007>
- RAMOS-VARA J. A.** (2017). Principles and Methods of Immunohistochemistry. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1641, 115–128. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7172-5_5
- RAMROOP, H., & CRUZ, R.** (2022). Electrodiagnostic Evaluation Of Motor Neuron Disease. In *StatPearls*. StatPearls Publishing 2022 Nov 5. PMID: 33085325.
- RESPONDEK, G.,** Stamelou, M., Kurz, C. et al. & Movement Disorder Society-endorsed PSP Study Group (2014). The phenotypic spectrum of progressive supranuclear palsy: a retrospective multicenter study of 100 definite cases. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 29(14), 1758–1766. <https://doi.org/10.1002/mds.26054>

- REYNAUD**, Enrique. (2010) Protein Misfolding and Degenerative Diseases. Nature Education 3(9):28 Dostupné z: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/protein-misfolding-and-degenerative-diseases-14434929/>
- RODRIGUEZ**, R. D., & GRINBERG, L. T. (2015). ArgYROphilic grain disease: An underestimated tauopathy. *Dementia & neuropsychologia*, 9(1), 2–8. <https://doi.org/10.1590/S1980-57642015DN9100002>
- ROHAN Z.** a **MATĚJ R.**, Pitva mozku a míchy při diagnóze neurodegenerativního onemocnění – praktický postup pro optimalizaci vyšetření, *Čes.-slov. Patol.*, 51, 2015, No. 4, p. 199-204, ISSN: 1210-7859. PMID: 26585112
- ROHAN Z.**, Rusina R., Matěj R., Neuropatologické post mortem vyšetření mozku a míchy v deseti bodech – co může neurolog od neuropatologa očekávat při verifikaci klinické diagnózy neurodegenerativního onemocnění?, *Cesk Slov Neurol N* 2018; 81(1): 109-114, ISSN: 1210-7859, <https://doi.org/10.14735/amcsnn2018109>
- ROHAN**, Z., & **MATĚJ**, R., Current concepts in the classification and diagnosis of frontotemporal lobar degenerations: a practical approach. *Archives of pathology & laboratory medicine*, *Arch Pathol Lab Med* (2014) 138 (1): 132–138. <https://doi.org/10.5858/arpa.2012-0510-RS>
- ROHEGER**, M., Xu, H., Hoang, M. T., Eriksdotter, M., & Garcia-Ptacek, S. (2022). Conversion Between the Mini-Mental State Examination and the Montreal Cognitive Assessment for Patients With Different Forms of Dementia. *Journal of the American Medical Directors Association*, 23(12), 1986–1989.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2022.03.018>
- ROSSO**, S. M., Roks, G., Stevens, M., de Koning, I., Tanghe HLJ, Kamphorst, W., Ravid, R., Niermeijer, M. F., & van Swieten, J. C. (2001). Complex compulsive behaviour in the temporal variant of frontotemporal dementia. *Journal of neurology*, 248(11), 965–970. <https://doi.org/10.1007/s004150170049>
- RUBIN D. I.** (2019). Needle electromyography: Basic concepts. *Handbook of clinical neurology*, 160, 243–256. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64032-1.00016-3>
- RUSINA R.**, Matěj R., Cséfalvay Z., Keller J., Franková V., Vyhnálek M., Frontotemporální demence, *Cesk Slov Neurol N* 2021; 84/117(1): 9-29, ISSN: 1210-7859, <https://doi.org/10.48095/cccsnn20219>

RUSINA R., Matěj R., Růžička E., Roth J., Diferenciální diagnostika tauopatií – klinický pohled. *Cesk Slov Neurol N* 2015; 78/111(5): 526-534. ISSN: 1802-4041. doi: 10.14735/amcsnn2015526

SANTANA, I., Duro, D., Lemos, R., Costa, V., Pereira, M., Simões, M. R., & Freitas, S. (2016). Mini-Mental State Examination: Avaliação dos Novos Dados Normativos no Rastreo e Diagnóstico do Défice Cognitivo [Mini-Mental State Examination: Screening and Diagnosis of Cognitive Decline, Using New Normative Data]. *Acta medica portuguesa*, 29(4), 240–248. <https://doi.org/10.20344/amp.6889>

SEELEY W. W. (2019). Behavioral Variant Frontotemporal Dementia. *Continuum* (Minneapolis, Minn.), 25(1), 76–100. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000698>

SELLAMI, L., Saracino, D., & Le Ber, I. (2020). Genetic forms of frontotemporal lobar degeneration: Current diagnostic approach and new directions in therapeutic strategies. *Revue neurologique*, 176(7-8), 571–581. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2020.02.008>

SHEIKH-BAHA EI, N., Sajjadi, S. A., & Pierce, A. L. (2017). Current Role for Biomarkers in Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease and Frontotemporal Dementia. *Current treatment options in neurology*, 19(12), 46. <https://doi.org/10.1007/s11940-017-0484-z>

SHIELDS, Hazel J et al. “Beneficial and Detrimental Effects of Reactive Oxygen Species on Lifespan: A Comprehensive Review of Comparative and Experimental Studies.” *Frontiers in cell and developmental biology* vol. 9 628157. 11 Feb. 2021, <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.628157>

SHPILYUKOVA, Y. A., Fedotova, E. Y., & Illarioshkin, S. N. (2020). *Molekuliarnaia biologii*, 54(1), 17–28. <https://doi.org/10.31857/S0026898420010139>

SCHAICH, C. L., Maurer, M. S., & Nadkarni, N. K. (2019). Amyloidosis of the Brain and Heart: Two Sides of the Same Coin?. *JACC. Heart failure*, 7(2), 129–131. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2018.12.014>

SCHMIDT, Marlene F et al. “Ubiquitin signalling in neurodegeneration: mechanisms and therapeutic opportunities.” *Cell death and differentiation* vol. 28,2 (2021): 570-590. <https://doi.org/10.1038/s41418-020-00706-7>

SCHWARZ C. G. (2021). Uses of Human MR and PET Imaging in Research of Neurodegenerative Brain Diseases. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 18(2), 661–672. <https://doi.org/10.1007/s13311-021-01030-9>

SIKKEMA-RADDATZ B, Johansson LF, de Boer EN, et al. Targeted next-generation sequencing can replace Sanger sequencing in clinical diagnostics. *Hum Mutat.* 2013;34(7):1035-1042. <https://doi.org/10.1002/humu.22332>

SINGH, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules*, 24(8), 1583. <https://doi.org/10.3390/molecules24081583>

SMITH, H. L., Li, W., & Cheetham, M. E. (2015). Molecular chaperones and neuronal proteostasis. *Seminars in cell & developmental biology*, 40, 142–152. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.03.003>

SNOWDEN, J., Neary, D., & Mann, D. (2007). Frontotemporal lobar degeneration: clinical and pathological relationships. *Acta neuropathologica*, 114(1), 31–38. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0236-3>

SOTO, Claudio, and Sandra Pritzkow. “Protein misfolding, aggregation, and conformational strains in neurodegenerative diseases.” *Nature neuroscience* vol. 21,10 (2018): 1332-1340. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0235-9>

STANĚK L., Polymerázová řetězová reakce: princip metody a využití v molekulární patologii, *Cesk Patol* 2013; 49(3): 119–121, ISSN 1210-7875

STRANG KH, Golde TE, Giasson BI. MAPT mutations, tauopathy, and mechanisms of neurodegeneration. *Lab Invest.* 2019;99(7):912-928. <https://doi.org/10.1038/s41374-019-0197-x>

STŘÍTECKÁ D. a **JEŘÁBKOVÁ** L., Základní imunohistochemické metody. První vydání. NCO NZO. Brno. 2018. ISBN: 978-80-7013-595-2

SWIFT, I. J., Sogorb-Esteve, A., Heller, C., Synofzik, M., Otto, M., Graff, C., Galimberti, D., Todd, E., Heslegrave, A. J., van der Ende, E. L., Van Swieten, J. C.,

Zetterberg, H., & Rohrer, J. D. (2021). Fluid biomarkers in frontotemporal dementia: past, present and future. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 92(2), 204–215. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2020-323520>

ŠEDIVCOVÁ M., Martínek P., Stehlík J., Grossmann P., Kašpírková J., Vaněček T., Sekvenování – klasická metodika, *Cesk Patol* 2013; 49(3): 122–128, ISSN 1210-7875

TABBARAH, A. Z., Robert Bell, W., Sun, M., Gelwan, E., Pletnikova, O., Hillis, A. E., Troncoso, J. C., Lin, M. T., & Chen, L. (2016). A rapidly progressive dementia case with pathological diagnosis of FTLD-UPS. *Acta neuropathologica*, 132(2), 309–311. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1584-7>

TORRALVA, T., Roca, M., Gleichgerrcht, E., Bekinschtein, T., & Manes, F. (2009). A neuropsychological battery to detect specific executive and social cognitive impairments in early frontotemporal dementia. *Brain : a journal of neurology*, 132(Pt 5), 1299–1309. <https://doi.org/10.1093/brain/awp041>

TRNKOVÁ, L et al. “Oxidation as an important factor of protein damage: Implications for Maillard reaction.” *Journal of biosciences* vol. 40,2 (2015): 419-39. <https://doi.org/10.1007/s12038-015-9523-7>

TRONCONE L, Luciani M, Coggins M, Wilker EH, Ho CY, Codispoti KE, Frosch MP, Kaye R, Del Monte F. Aβ Amyloid Pathology Affects the Hearts of Patients With Alzheimer's Disease: Mind the Heart. *J Am Coll Cardiol*. 2016 Dec 6;68(22):2395-2407. PMID: 27908343; PMCID: PMC5142757. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.08.073>

TSAI, R.M., Bejanin, A., Lesman-Segev, O. et al. 18F-flortaucipir (AV-1451) tau PET in frontotemporal dementia syndromes. *Alz Res Therapy* 11, 13 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13195-019-0470-7>

TURNER, M. R., & UK MND Clinical Studies Group (2022). Diagnosing ALS: the Gold Coast criteria and the role of EMG. *Practical neurology*, 22(3), 176–178. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2021-003256>

VACEK Zdeněk. Histologie a histologická technika. Histologie a histologická technika II. část. NCO NZO, 1. vydání. 1996. ISBN: 80-7013-202-7

- VAN SWIETEN J., SPILLANTINI MG.** Hereditary frontotemporal dementia caused by Tau gene mutations. *Brain Pathol.* 2007;17(1):63-73. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00052.x>
- VYHNÁLEK M.,** Frontotemporální demence. *Psychiatr. praxi* 2017; 18(3): 140–142. *PSYCHIATRIE PRO PRAXI / Psychiatr. praxi* 2017; 18(3): 140–142. ISSN 1803-5272. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/psy/2017/03/10.pdf>
- WANI A, Zhu J, Ulrich JD, et al.** Neuronal VCP loss of function recapitulates FTL-DTP pathology. *Cell Rep.* 2021;36(3):109399. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109399>
- WANKHEDE, Nitu L et al.** “Involvement of molecular chaperone in protein-misfolding brain diseases.” *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* vol. 147 (2022): 112647. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112647>
- WELLS, Cameron et al.** “The role of amyloid oligomers in neurodegenerative pathologies.” *International journal of biological macromolecules* vol. 181 (2021): 582-604. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.113>
- WHITWELL, J. L., Sampson, E. L., Loy, C. T., Warren, J. E., Rossor, M. N., Fox, N. C., & Warren, J. D.** (2007). VBM signatures of abnormal eating behaviours in frontotemporal lobar degeneration. *NeuroImage*, 35(1), 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.12.006>
- WILTFANG J., Feneberg, E., Anderl-Straub S., Otto M.** (2016). Frontotemporale Lobärdegeneration – Prägnanztypen, Diagnosekriterien und Therapieansätze. *PSYCH up2date*. 10. 179-190. <https://doi.org/10.1055/s-0042-102275>
- YOUNES, Kyan, and Bruce L Miller.** “Frontotemporal Dementia: Neuropathology, Genetics, Neuroimaging, and Treatments.” *The Psychiatric clinics of North America* vol. 43,2 (2020): 331-344. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2020.02.006>
- ZIA A, Pourbagher-Shahri AM, Farkhondeh T, Samarghandian S.** Molecular and cellular pathways contributing to brain aging. *Behav Brain Funct.* 2021 Jun 12;17(1):6. PMID: 34118939; PMCID: PMC8199306. <https://doi.org/10.1186/s12993-021-00179-9>.