

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Alžbeta Katonová

Role biomarkerů v diferenciální diagnostice neurodegenerativních onemocnění
The role of biofluid biomarkers in the differential diagnosis of neurodegenerative diseases

Bakalářská práce

Školitelka: Mgr. et Mgr. Kateřina Čechová, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Petr Telenský, Ph.D.

Praha, 2021

Pod'akovanie

Rada by som sa pod'akovala mojej školiteľke Mgr. et Mgr. Kateřině Čechovej, Ph.D. za vedenie, záujem, za jej podnetné pripomienky a čas, ktorý mi v priebehu písania práce venovala. Tiež by som sa chcela pod'akovať za možnosť vyskúšať si prácu v laboratóriu a nahliadnuť do klinického prostredia, čo je príležitosť, ktorú si nesmierne vážim a ktorá mi umožnila prepojiť teoretické znalosti s praxou. Moje pod'akovanie patrí taktiež Mgr. Petrovi Telenskému, Ph.D. za jeho ochotu a odbornú pomoc pri spracovaní práce.

Prehlásenie

Prehlasujem, že som záverečnú prácu spracovala samostatne a že som uviedla všetky použité informačné zdroje a literatúru. Táto práca ani jej podstatná časť neboli predložené k získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu.

V Prahe, 25. 04. 2021

Alžbeta Katonová

Abstrakt

Do nedávnej doby bola diagnostika Alzheimerovej choroby a ďalších neurodegeneratívnych ochorení závislá iba na klinickom prejave, ktorého definitívne potvrdenie bolo možné iba post-mortem. V súčasnej dobe predstavujú biofluidné biomarkery spoľahlivý zdroj pre diagnostiku závažných neurodegeneratívnych ochorení už behom života pacienta. Identifikácia spoľahlivých biomarkerov je nevyhnutná pre zvýšenie diagnostickej presnosti, monitorovanie klinického stavu, presnejší výber jedincov do klinických štúdií a s tým spojený aj vývoj kauzálnej liečby. Cieľom bakalárskej práce bolo vypracovať dôkladnú literárnu rešerš so zameraním na klinicky aj experimentálne využívané biologické markery v diagnostike neurodegeneratívnych ochorení a ich roli v patofyziológii týchto ochorení.

Kľúčové slová: Neurodegeneratívne ochorenie, biomarkery, proteinopatie, neurokognitívna porucha, kognícia

Abstract

Until recently, the diagnosis of Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases was dependent only on clinical expression, the definitive confirmation of which was possible only post-mortem. Currently, biofluid biomarkers represent a reliable source for the diagnosis of serious neurodegenerative diseases already during the patient's lifetime. The identification of reliable biomarkers is essential for increasing diagnostic accuracy, monitoring the clinical condition, more precise selection of individuals for clinical trials and the associated development of causal treatment. The aim of the bachelor's thesis was to conduct a thorough literature review focusing on clinically and experimentally used biological markers in the diagnosis of neurodegenerative diseases and their role in the pathophysiology of these diseases.

Key words: Neurodegenerative diseases, biomarkers, proteinopathies, neurocognitive impairment, cognition

ZOZNAM SKRATIEK

α -Syn	alfa-Synukleín
A β	amyloid beta
ACH	Alzheimerova choroba
ALS	amyotrofická laterálna skleróza
APP	amyloidový prekurzorový proteín
bvFTD	behaviorálna varianta FTLD
CaM	kalmodulín
CJD	Creutzfeldova-Jakobova choroba
CNS	centrálna nervová sústava
CSF	mozgomiešny mok
EOAD	Alzheimerova choroba so skorým nástupom
FTD	frontotemporálna demencia
FTLD	frontotemporálna lobárna degenerácia
GRN	Granulin Precursor gén
IMR	imunomagnetická redukcia
LB	Lewyho telieska
LBD	ochorenie s Lewyho telieskami
LOAD	Alzheimerova choroba s neskorým nástupom
MAPT	Microtubule Associated Protein Tau gén
MCI	mierna kognitívna porucha
MRI	zobrazovanie magnetickou rezonanciou
MSA	multisystémová atrofia
Nf	neurofilamenty
NfH	ťažké reťazce neurofilamentového proteínu
NfL	ľahké reťazce neurofilamentového proteínu
NfM	stredne ťažké reťazce neurofilamentového proteínu
NFT	neurofibrilárne kľbká

Ng	neurogranín
NRGN	Neurogranin gén
o- α -Syn	oligomérený α -Syn
p- α -Syn	fosforylovaný α -Syn
PET	pozitrónová emisná tomografia
PCH	Parkinsonova choroba
PKC	proteínkináza C
PPA	primárna progresívna afázia
p-tau	hyperfosforylovaný tau proteín
RBD	porucha spánkového správania v REM fázi
RT-QuIC	konverzia vyvolaná trasením v skutočnom čase
SUV	štandardizovaná hodnota absorpcie
SUVR	pomer štandardizovanej hodnoty absorpcie
t- α -Syn	celkový α -Syn
TARDBP	TAR DNA binding protein gén
TDP-43	TAR DNA-viažúci proteín 43
t-tau	celkový tau proteín

OBSAH

1 Úvod.....	1
2 Biomarkery neurodegeneratívnych ochorení.....	2
2.1 Amyloid beta.....	2
2.2 Tau proteín.....	4
2.3 Alfa-Synukleín.....	5
2.4 Ľahké reťazce neurofilamentového proteínu	5
2.5 Neurogranín	6
2.6 TAR DNA-viažúci proteín 43.....	7
3 Metódy k detekcií biomarkerov	8
3.1 ELISA.....	8
3.2 SIMOA	9
3.3 Amyloid PET	9
4 Biomarkery pri diferenciálnej diagnostike neurodegeneratívnych ochorení.....	10
4.1 Alzheimerova choroba.....	10
4.1.1 Klasifikačná schéma AT(N)	11
4.1.2 Biomarkery Alzheimerovej choroby	12
4.1.2.1 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau	12
4.1.2.1.1 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau v mozgomiešnom moku	12
4.1.2.1.2 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau v krvi	14
4.1.2.2 Neurogranín.....	15
4.1.2.3 Ľahké reťazce neurofilamentového proteínu	16
4.2 Ochorenie s Lewyho telieskami	16
4.2.1 Biomarkery ochorenia s Lewyho telieskami.....	17
4.2.1.1 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau	17
4.2.1.2 Alfa-Synukleín.....	18
4.3 Frontotemporálna lobárna degenerácia	19
4.3.1 Biomarkery frontotemporálnej lobárnej degenerácie	20
4.3.1.1 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau	20
4.3.1.2 Ľahké reťazce neurofilamentového proteínu	20
4.3.1.3 TAR DNA-viažúci proteín 43	20
4.3.1.4 Progranulín	21
5 Záver	22
Zoznam literatúry	23

1 ÚVOD

Neurodegeneratívne ochorenia predstavujú rozsiahlu skupinu porúch so širokou škálou klinických a patologických prejavov, ich spoločnou charakteristikou je však progresívna strata štruktúry a funkcie neurónov vedúca ku kognitívnemu poklesu a napokon aj demencii. Spoločne so stále rastúcou priemernou dĺžkou života sa zvyšuje aj prevalencia neurodegeneratívnych ochorení, ktoré v dnešnom svete predstavujú obrovskú ekonomickú a spoločenskú záťaž a sú jednou z vedúcich príčin zdravotného postihnutia a smrti starších ľudí po celom svete.

Biomarkery sú potrebné pri diagnostike a liečbe neurodegeneratívnych ochorení, pretože sú dôležitými ukazovateľmi normálnych i abnormálnych biologických procesov a odrážajú centrálné patogénne procesy. Väčšina neurodegeneratívnych ochorení sa vyvíja postupne a samotnému nástupu prvých príznakov predchádza dlhé asymptomatické obdobie, počas ktorého dochádza k hromadeniu patologických proteínov v mozgu. Detekcia počiatočných fáz patofyziologických kaskád je kľúčová pre účinnú liečbu, pretože v momente, kedy sa objavia prvé symptómy, je ochorenie už častokrát v štádiu progresie, ktorú je ťažké zvrátiť. Je preto kľúčové vyvinúť taký spôsob diagnostikovania, ktorý by umožnil včasnú liečbu a zastavenie, či aspoň spomalenie progresie týchto smrteľných ochorení. Identifikácia biomarkerov ako objektívnych, ľahko merateľných a presných ukazovateľov patogénnych procesov pri tom nepochybne zohráva kľúčovú úlohu.

Cieľom bakalárskej práce je zhrnúť najdôležitejšie poznatky o úlohe biomarkerov v diagnostike a patofyziológii vybraných neurodegeneratívnych ochorení. V prvej časti tejto práce je stručne popísaná štruktúra a funkcia proteínov a mechanizmy vedúce k ich patologickému ukladaniu v mozgovom tkanive. Ďalej popisujem najpoužívanejšie metódy na detekciu abnormálnych hladín patologických proteínov v ľudskom tele. V poslednej časti práce sa zameriavam na konkrétne ochorenia a úlohu týchto proteínov pri ich diferenciálnej diagnostike.

2 BIOMARKERY NEURODEGENERATÍVNYCH OCHORENÍ

Neurodegeneratívne ochorenia sú označované ako proteínopatie, pretože pri nich dochádza nesprávnemu skladaniu a hromadeniu proteínov, ktoré sú v zdravom mozgu neštruktúrované a ich následnému ukladaniu v mozgovom tkanive vo forme oligomérnych či fibrilárnych agregátov. Takto modifikované proteíny strácajú svoje fyziologické funkcie, stávajú sa toxickými a vedú k postupnej neurodegenerácii. Schopnosť detekovať hladiny proteínov odrážajúcich procesy odohrávajúce sa v mozgu v biologických tekutinách ako mozgomiešneho moku (CSF; z angl. cerebrospinal fluid) alebo krv má potenciál vysoko spresniť diagnostiku týchto ochorení, pretože diagnóza je z dôvodu prekrývajúcich sa klinických prejavov naprieč ochoreniami častokrát nejednoznačná.

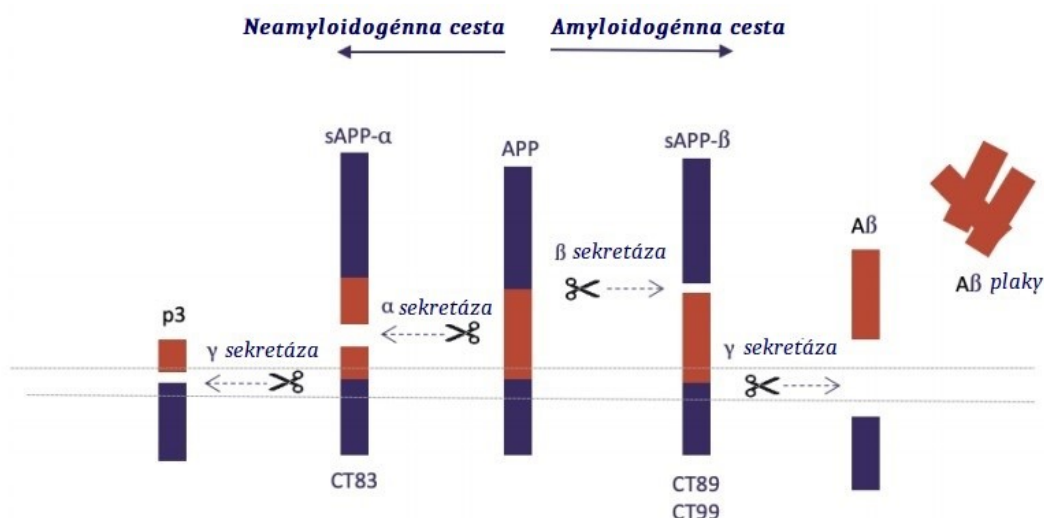
Biomarker je definovaný ako „objektívne merateľná a vyhodnotiteľná charakteristika, ktorá slúži ako indikátor normálnych biologických procesov, patologických procesov alebo farmakologických odpovedí na liečbu“ (Atkinson, 2001). Ideálny biomarker by mal mať isté vlastnosti, vďaka ktorým je vhodný pre presnú diagnostiku a sledovanie progresie konkrétneho ochorenia. Mal by 1) priamo súvisieť so základnými črtami patológie, 2) byť validovaný v neuropatologicky potvrdených prípadoch, 3) schopný detekovať ochorenie skoro v jeho priebehu a odlíšiť ho od iných neurodegeneratívnych ochorení, 4) byť neinvasívny, ľahko použiteľný a lacný (Lewczuk et al., 2018).

U fluídnych biomarkerov sa môže líšiť kinetika toho, akou sa vyskytujú vo vzorkách (t.j. ako je proteín spracovaný a akým spôsobom prechádza do CSF alebo krvi) (Ehrenberg et al., 2020). Zatiaľ čo v CSF dochádza k voľnej výmene molekúl z mozgu, do krvi z nich prúdi iba zlomok. Z tohto dôvodu odrážajú proteíny v krvi molekulárne mechanizmy odohrávajúce sa v mozgu pri oveľa nižších koncentráciách ako proteíny v CSF, čo predstavuje hlavnú výzvu pri vývoji spoľahlivých krvných biomarkerov (Blennow, 2017). Pretože je ale krv prístupnejšia ako CSF a jej odber je omnoho menej invazívny, je vhodnejším nástrojom pre klinickú diagnostiku a skrining (Blennow a Zetterberg, 2015).

2.1 AMYLOID BETA

Amyloid beta ($A\beta$) je bežný produkt bunkového metabolizmu (Haass et al., 1993), ktorý vzniká proteolytickým štiepením transmembránového amyloidového prekursorového proteínu (APP) pomocou β - a γ -sekretáz. K štiepeniu APP môže dochádzať dvoma alternatívnymi cestami (Obr. 1). V neamyloidogénnej ceste je APP v jeho plnej dĺžke štiepený α - a γ -sekretázami. Amyloidogénne štiepenie prostredníctvom β - a γ -sekretáz môže byť rôznorodé a produkuje niekoľko druhov fragmentov $A\beta$ (Sadigh-Eteghad et al., 2015). Prevládajúcimi formami $A\beta$ produkovanými amyloidogénnou cestou sú $A\beta_{38}$, $A\beta_{40}$ a $A\beta_{42}$, pričom posledný z vymenovaných má tendenciu agregovať sa a je zárodkom pre ukládanie plakov (Iwatsubo et al., 1994).

$A\beta$ zahŕňa skupinu peptidov s veľkosťou od 37 do 49 aminokyselinových zvyškov (Chen et al., 2017). Monoméry $A\beta$ sa agregujú do rôznych typov štruktúr a na základe dĺžky, molekulovej hmotnosti a mikroskopických rozmerov sú rozdelené do troch skupín: 1) krátke oligoméry, 2) amyloidové fibrily, 3) protofibrily (Sadigh-Eteghad et al., 2015). Amyloidové fibrily sú väčšie, nerozpustné a môžu sa ďalej zhromažďovať do amyloidových plakov charakteristických pre Alzheimerovu chorobu (ACH), zatiaľ čo amyloidové oligoméry sú rozpustné a môžu sa šíriť po mozgu (Chen et al., 2017).



Obrázok 1: Schematické znázornenie tvorby amyloidu beta (Aβ). Neamyloidogénnou cestou je amyloidový prekurzorový proteín (APP) štiepený α sekretázou na solubilný APP (sAPP-α) a karboxyterminálny fragment 83 (CT83). Amyloidogénnou cestou dochádza k štiepeniu APP β sekretázou na sAPPβ a CT89 a CT99. CT99 je následne štiepený γ sekretázou za tvorby Aβ (prevzaté z Čechová et al. 2019).

Sekundárna štruktúra Aβ je dôležitým determinantom jeho toxicity. Aβ sa skladá do prevažne α-helikálnej štruktúry, avšak v počiatočných štádiách tvorby amyloidových plakov pri ACH môže dochádzať aj k jeho prechodu do štruktúry β-listu (Talafofus et al., 1994). Rozpustený Aβ je maximálne toxický práve keď zaujíma β-konformáciu (Simmons et al., 1994). Aβ40 a Aβ42 môžu zaujímať niekoľko konformácií obsahujúcich ako α-helixy, tak aj β-listy, a medzi týmito štruktúrnymi stavmi dokážu rýchlo prechádzať. β-štruktúra Aβ42 je stabilnejšia ako Aβ40 a jeho konformačná rovnováha ho posúva smerom k β-štruktúre, čo môže byť dôvodom, prečo má Aβ42 väčší sklon k tvorbe plakov (Yang et al., 2008).

Napriek tomu, že v posledných rokoch bola amyloidová kaskádová hypotéza z niekoľkých dôvodov spochybnená, stále ostáva prevládajúcou a všeobecne uznávanou teóriou vysvetľujúcou patogenézu ACH. Podľa tejto hypotézy je práve agregácia Aβ do plakov spúšťačom, ktorý vedie k následnej depozícii tau, strate neurónov a synaptických vlákien a kognitívnemu poklesu pri ACH (Hardy & Higgins, 1992). Mnoho úsilia pri vývoji liečby ACH sa zameralo práve na odstránenie domnelého kauzálneho Aβ z mozgu. Žiadnemu z testovaných liečiv sa však v klinických štúdiách zatiaľ nepodarilo zastaviť priebeh choroby (Cao et al., 2018).

Ďalšou z možných hypotéz je, že za narušenie synaptickú plasticitu a zhoršenie pamäti sú skôr než nerozpustné fibrily či plaky zodpovedné rozpustné oligoméry Aβ (Walsh et al., 2002). Rozpustný Aβ sa môže viazať na početné molekuly v extracelulárnom priestore, vrátane receptorov na bunkovom povrchu. Akonáhle Aβ interaguje s receptorom, toxický signál sa prenáša do neurónov, čo vedie k stresu endoplazmatického retikula a mitochondriálnej dysfunkcii (Carillo-Mora et al., 2014). Nie je však známe, či sa oligoméry zhromažďujú do fibríl alebo sú len v rovnováhe s monomérmi, ktoré sami priamo vytvárajú fibrily, bez prechodnej oligomérskej štruktúry (Chen et al., 2017).

Posledné dôkazy však naznačujú, že skôr než tvorba fibríl, je hlavným spoluúčastníkom prispievajúcim k toxickému ukladaniu proteínu v mozgu zlyhanie alebo nerovnováha v odstraňovaní Aβ. Produkcia Aβ je obvykle vyvážená jeho elimináciou prostredníctvom proteolytickej degradácie, bunkami sprostredkovaného čistenia, pasívneho a aktívneho transportu z mozgu a depozície do nerozpustných

agregátov (Saido & Leissring, 2012), pričom pacienti s ACH skutočne vykazujú poruchy v odstraňovaní A β v centrálnej nervovej sústave (CNS) (Mawuenyega et al., 2010).

2.2 TAU PROTEÍN

Tau je neuronálny proteín objavený v roku 1975 ako hlavný regulátor zostavovania mikrotubulov v bunkách (Weingarten et al., 1975). V nervových bunkách je tau koncentrovaný hlavne v axónoch, kde stabilizuje mikrotubulové zväzky (Binder et al., 1985), ale fyziologickú úlohu zohráva aj v dendritoch (Ittner et al., 2010).

V mozgu dospelého človeka je exprimovaných šesť tau izoformiem (Goedert et al., 1989), ktoré sú produkované alternatívnym zostrihom mRNA génu MAPT (Microtubule Associated Protein Tau). Tau izoformy sa od seba navzájom líšia prítomnosťou alebo neprítomnosťou jednej či oboch inzercii: 29- alebo 58-aminokyselín dlhšej sekvencie v amino-koncovnej polovici (Goedert et al., 1989) a 31-aminokyselinovej repetície kódovanej exómom 10 MAPT génu v karboxy-koncovnej polovici proteínu. Inklúzia exómu 10 generuje izoformu so štyrmi mikrotubuly-viažúcimi doménami (4R), zatiaľ čo absencia tejto inklúzie produkuje izoformu s tromi mikrotubuly-viažúcimi doménami (3R) (Avila et al., 2016). V zdravom mozgu dospelého človeka sa izoformy 3R a 4R nachádzajú v rovnakom pomere. 4R tau je izofoma účinnejšia v podpore zostavovania mikrotubulov než 3R tau (Goedert & Jakes, 1990).

Väzba tau na mikrotubuly, rovnako ako jeho sklon k agregácii, je ovplyvnená mutáciami a posttranslačnými modifikáciami, najmä hyperfosforyláciou. Fosforylácia hrá rozhodujúcu úlohu pri regulácii fyziologických funkcií, pričom tau má veľké množstvo potenciálnych fosforylačných miest a stav jeho fosforylácie je vývojovo regulovaný (Avila et al., 2016). Hyperfosforylácia znižuje afinitu a schopnosť tau interagovať s mikrotubulmi (Lindwall & Cole, 1984). Abnormálne fosforylovaný tau inhibuje polymerizáciu mikrotubulov nielen tým, že je funkčne neaktívny pri väzbe na tubulín, ale aj preto, že interaguje s normálnym, nefosforylovaným tau v bunke, čo spôsobuje, že ani ten následne nie je k dispozícii pri podpore zhromažďovania tubulínu do mikrotubulov (Alonso et al., 1994). Aj keď sa predpokladá, že posttranslačné úpravy podporujú agregáciu tau – nie je však známe, či sú modifikácie samotné dostatočné na vyvolanie agregácie. Je vysoko pravdepodobné, že sú k tomu sú potrebné aj ďalšie kofaktory (Wang et al., 2016).

Tau je v jeho natívnom stave rozvinutý proteín, ktorý sa zhromažďuje do vlákien prostredníctvom svojich tandemových repetícií (Wischik et al., 1988). Natívne rozvinutý tau vykazuje nízku tendenciu k agregácii, ale jeho agregácia do párových helikálnych filament a neurofibrilárnych klobiek (NFT; z angl. neurofibrillary tangles) charakterizuje širokú škálu neurodegeneratívnych chorôb známych ako tauopatie (Wang et al., 2016). Tvorba fibrilárnych tau agregátov je škodlivá a môže vyvolať neurotoxicitu (Khlistunova et al., 2006), aj keď NFT sú do istej miery bežné aj pri normálnom starnutí (Braak & Braak, 1997). Ako možné toxické látky boli tiež opísané väčšie granulované tau oligoméry zložené z približne 36 molekúl tau, ktoré môžu predchádzať tvorbe tau filamentov (Maeda et al., 2007). Stále je nejasné, či je agregácia tau toxická, aké sú mechanizmy toxicity a či je odstránenie agregátov prospešné (Khlistunova et al., 2006).

2.3 ALFA-SYNUKLEIN

Alfa-Synukleín (α -Syn) je malý, 140 aminokyselín dlhý proteín, exprimovaný najmä v neurónoch CNS, koncentrujúci sa na presynaptickom terminále (Jakes et al., 1994). In vitro má α -Syn prirodzenú tendenciu polymerizovať do fibríl (Giasson et al., 1999). Za oligomerizáciu α -Syn je zodpovedná jeho 12 aminokyselín dlhá centrálna hydrofóbná oblasť (Giasson et al., 2001). Práve náchylnosť α -Syn oligomerizovať pravdepodobne súvisí s jeho škodlivým pôsobením na mozog (Fauvet et al., 2012) a vysvetľuje jeho prítomnosť v patológii skupiny ochorení súhrnne nazývaných ako synukleíopatie.

Vo svojom monomérom stave je α -Syn rozpustný a predstavuje najbežnejšiu formu nachádzajúcu sa v cytoplazme (Fauvet et al., 2012). Agregácia niekoľkých monomérov α -Syn vedie k vzniku oligomérov, ktoré môžu zaujímať rôzne morfológie. Trojrozmerná štruktúra, ktorú môže α -Syn vytvárať, sa líši od monomérov a oligomérov až po fibrilárne agregáty, pričom štúdie naznačujú, že skôr než samotné fibrily môže byť neurotoxická najmä akumulácia oligomérov (Conway et al., 2000).

Proces agregácie zahŕňajúci väzbu medzi α -Syn a inými proteínovými komplexmi, ako sú tau proteín a A β , nazývaný „cross-seeding“, je hlavným mechanizmom tvorby Lewyho teliesok (LB; z angl. Lewy bodies) (Ono et al., 2012). LB sú abnormálne neuronálne intracytoplazmatické inklúzie pozostávajúce z viac ako 70 proteínov, ktorých jadro tvoria hlavne α -Syn fibrilárne agregáty (Spillantini et al., 1998). Charakteristická konformácia α -Syn fibríl je vo forme paralelne usporiadaných β -listov (Serpell et al., 2000). Sieť α -Syn vlákien môže slúžiť ako molekulárna „pasca“ na proteíny určené na transport v axónoch, zabraňujúca ich prechodu z tela neurónu do terminálnych častí axónu. Vo výsledku tak môžu byť distálne oblasti axónov a dendritov pripravené o proteíny nevyhnutné pre ich fungovanie, čo má za následok stratu ich štruktúrnej a molekulárnej integrity (Galvin et al., 2001).

V súčasnosti je známe, že α -Syn je hlavnou súčasťou patologických zhlukov rozmanitej skupiny neurodegeneratívnych ochorení tiež známych ako synukleíopatie, vrátane Parkinsonovej choroby (PCH), ochorenie s Lewyho telieskami (LBD; z angl. Lewy body disease), multisystémovej atrofie (MSA) a variante ACH s Lewyho telieskami (Galvin et al., 2001). V neurónoch môže abnormálny α -Syn tvoriť LB, Lewyho neurity, gliové cytoplazmatické inklúzie a axonálne sféroidy (Giasson et al., 2001). Úsilie v liečbe synukleopatií je zacielené na α -Syn a prevenciu jeho nesprávneho poskladania sa a agregácie buď: 1) znížením jeho expzie, 2) podporou jeho vylučovania, 3) stabilizáciou monomérskej formy proteínu alebo blokovaním jeho zhromažďovania do toxických oligomérov a fibríl (Fauvet et al., 2012).

2.4 LAHKÉ REŤAZCE NEUROFILAMENTOVÉHO PROTEÍNU

Lahké reťazce neurofilamentového proteínu (NfL; z angl. neurofilament light chain) sú jednou z troch podjednotiek neurofilamentov (Nf). Nf sú obligátne heteropolyméry patriace do rodiny intermediárnych filament a pozostávajú z ľahkej (NfL), stredne ťažkej (NfM; z angl. neurofilament medium chain) a ťažkej (NfH; z angl. neurofilament heavy chain) podjednotky (Petzold, 2005). Podjednotky majú rozdielne biochemické vlastnosti, pričom najvýraznejšími znakom, ktorý ich od seba odlišuje, je ich koncová karboxylová doména. NfL má túto oblasť vysoko acidickú (Lee & Cleveland, 1996). Všetky podjednotky ale zdieľajú α -helikálnu centrálnu doménu, ktorá je spoločne s N-koncovou doménou nevyhnutná pre správne zostavenie Nf. α -helikálna doména je ohraničená hlavovou (N-koniec) a koncovou (C-koniec) doménou, ktoré sa líšia svojou dĺžkou aj postupnosťou podjednotiek

a zodpovedajú za funkčné vlastnosti Nf, ako sú napr. interakcie s ďalšími proteínmi (Lee & Cleveland, 1996; Petzold, 2005). Tvorba intermediárneho filamenta s priemerom 10 nm je podmienená správnym zostavením podjednotiek. NfL in vitro polymerizuje aj sám, zatiaľ čo NfM a NfH to nedokážu (Liem & Hutchinson, 1982) a polymerizovať môžu iba v spojení s NfL (Geisler & Weber, 1981). Potenciál NfL polymerizovať aj samotný, bez prítomnosti ostatných podjednotiek, môže viesť k akumulácii proteínov, tvorbe agregátov a následnému chorobnému patologickému stavu (Petzold, 2005).

Nf sú hlavnými zložkami neuronálneho cytoskeletu a hrajú dôležitú úlohu v neuronálnej štruktúre (Petzold, 2005). Sú vnútorným determinantom radiálneho rastu axónov. Po úspešnej tvorbe synapsií je expresia Nf výrazne zvýšená, začína myelinizácia a počas radiálneho rastu sa Nf stávajú najhojnejším cytoskeletálnym prvkom (Lee & Cleveland, 1996). Zväčšenie axonálneho priemeru je dôležité pre normálnu funkciu nervu, pretože priemer je hlavným determinantom rýchlosti, akou sa nervové impulzy šíria pozdĺž axónu. K degradácii Nf dochádza potom, čo príde na koniec axónu. Rozpad Nf závisí od ich štiepenia proteázou (Schlaepfer et al., 1985) – za fyziologických podmienok je to sprostredkované kalmodulínom (CaM) (Maxwell et al., 1997). Citlivosť Nf na štiepenie proteázou klesá so zvyšovaním fosforylácie (Goldstein et al., 1987). To má dôsledky najmä pre NfL a nefosforylované formy NfM a NfH v telesných tekutinách bohatých na proteázy, ako je CSF (Petzold, 2005).

Za normálnych podmienok sú nízke hladiny NfL neustále uvoľňované z axónov, pričom vo vyššom veku dochádza k uvoľňovaniu vyšších hladín NfL, čo sa dá najlepšie vysvetliť pokračujúcou, vekom podmienenou neuronálnou degeneráciou (Vågberg et al., 2015; Disanto et al., 2017). Avšak v reakcii na axonálne poškodenie CNS v dôsledku neurodegeneratívneho ochorenia sa uvoľňovanie NfL prudko zvyšuje (Deisenhammer et al., 2009). Pretože NfL sa nachádza hlavne vo veľkých myelinizovaných axónoch, jeho zvýšená hladina v CSF odráža patologické zmeny v bielej hmote mozgu a axonálnu degeneráciu (Sjorgen et al., 2001). Uvoľňovaný NfL sa dostáva do intersticiálnej tekutiny, ktorá voľne komunikuje s CSF a do krvi, kde je jeho koncentrácia zhruba 40-krát nižšia ako v CSF (Disanto et al., 2017). NfL je najhojnejšou, najmenšou a najrozpuštnejšou z podjednotiek, čo z neho robí zároveň aj najspoľahlivejšie merateľnú podjednotku Nf v biofluidoch (Petzold, 2005).

2.5 NEUROGRANÍN

Neurogranín (Ng) je relatívne malý, postsynaptický proteín, pozostávajúci zo 78 aminokyselín (Watson et al., 1990). Je exprimovaný primárne v mozgu, kde dochádza k jeho hromadeniu najmä v dendritických trňoch neostriálnych neurónov, ale možno ho pozorovať aj v tele neurónov, zriedkavo v axónoch (Represa et al., 1990; Watson et al., 1992). V ľudskom tele ho kóduje gén NRG1 (Neurogranin), pričom hormóny štítnej žľazy sú hlavným fyziologickým regulátorom expresie tohto génu (Martínez de Arrieta et al., 1999).

Ng je termo- a acido-stabilný (Huang et al., 1993). Pri absencii CaM alebo proteinkinázy C (PKC) sa vyskytuje v nezloženej forme, iba jeho centrálna oblasť vykazuje pohybové obmedzenia zhodné s prítomnosťou helikálnej štruktúry. Helikálna štruktúra pomáha znížiť stratu entropie pri väzbe Ng na svoje ciele (Ran et al., 2003) a vykazuje vysokú homológiu s inými proteínmi obsahujúcimi IQ motívy, ako je napríklad neuromodulín (Baudier et al., 1991).

IQ motív Ng obsahuje fosforylačné miesto pre PKC a umožňuje interakciu s CaM (Baudier et al., 1991; Huang et al., 1993). Interakcia má dva afinitné stavy - vysoko afinitný stav v neprítomnosti Ca^{2+} a nízkoafinitný stav pri vyšších koncentráciách Ca^{2+} . V prítomnosti sekundárneho posla Ca^{2+} je Ng fosforylovaný, CaM sa uvoľní a môže interagovať s inými proteínmi a aktivovať následné signálne molekuly (Gerendasy et al., 1994). PKC fosforyluje Ng na jedinom mieste - Ser36 - v rámci IQ motívu (Baudier et al., 1991; Huang et al., 1993).

Práve reguláciou lokálnej dostupnosti CaM a riadením časopriestorových vzorcov postsynaptickej Ca^{2+} /CaM signalizácie Ng reguluje synaptický prenos, plasticitu a synaptickú funkciu (Kubota et al., 2007; Zhong & Gerges, 2010). Ng reguluje kinetiku väzby Ca^{2+} na CaM a ovplyvňuje tak priemernú dobu, ktorú molekula CaM potrebuje na to, aby dosiahla svoj Ca^{2+} -nasýtený stav (Kubota et al., 2007). Zvýšenie synaptickej sily sprostredkované Ng je dané jeho schopnosťou zacieliť a naviazať sa na CaM v dendritických trňoch, čím CaM posúva bližšie k synaptickej membráne (Petersen & Gerges, 2015). Prostredníctvom modulácie Ca^{2+} /CaM dependentných signalizačných dráh sa taktiež podieľa na regulácii dlhodobej potenciácie, procesu dôležitého pre učenie a pamäť (Zhong & Gerges, 2010).

2.6 TAR DNA-VIAŽÚCI PROTEÍN 43

TAR DNA-viažúci proteín 43 (TDP-43) je 414 aminokyselín dlhý RNA-viažúci proteín kódovaný génom TARDBP (TAR DNA Binding Protein). Tvorí ho niekoľko funkčných domén: N-terminálna doména s jadrovým lokalizačným signálom, dva RNA rozpoznávajúce motívy, jadrový exportný signál a C-terminálna doména bohatá na glycín (Prasad et al., 2019). TDP-43 je multifunkčný podieľa sa na mnohých aspektoch metabolizmu RNA (Freibaum et al., 2010). Fyziologický stav TDP-43 v jadre je oligomérny, sprostredkovaný jeho N-terminálnou doménou. Táto oligomerizácia je nepostrádateľná pre funkčnú rolu proteínu v metabolizme RNA a antagonizuje tvorbu patologických agregátov (Afroz et al. 2017).

Keďže TDP-43 interaguje s niekoľkými proteínmi v jadre aj cytoplazme (Freibaum et al., 2010), jeho bunková koncentrácia je prísne autoregulovaná pomocou mechanizmu negatívnej spätnej väzby, aby sa udržali jeho stabilné hladiny (Ayala et al., 2011). Jedným z významných znakov TDP-43 proteínopatie je strata funkčného TDP-43 v jadre a jeho nadmerné ukladanie do cytoplazmatických inklúzných teliesok v neurónoch (Arai et al., 2006; Neumann et al., 2006). TDP-43 v inklúziách je hyperfosforylovaný, polyubikvitínovaný a nachádza sa v nich ako zmes kompletného a fragmentovaného proteínu (Neumann et al., 2006). Aj keď sa predpokladá, že práve tento jav spôsobuje značnú stratu funkcie TDP-43 a následnú neuronálnu dysfunkciu (Neumann et al., 2006), Wobst a kolegovia neboli schopní reprodukovať patológiu prostou delokalizáciou TDP-43 do cytoplazmy (Wobst et al., 2017).

C-koncová doména sa zdá byť mimoriadne relevantná pre patologické správanie TDP-43. Doména ukrýva väčšinu mutácií génu TARDBP asociovaných s amyotrofickou laterálnou sklerózou (ALS) a má vysoký sklon k vlastnej agregácii (Neumann et al., 2006; Dewey et al., 2011). Generovanie C-koncových fragmentov proteolytickým štiepením kaspázou a kalpainovými proteázami sa javí ako jeden z hlavných mechanizmov spôsobujúcich toxicitu TDP-43 (Zhang et al., 2009). C-terminálna oblasť tiež obsahuje krátku, vysoko dynamickú a nestabilnú oblasť helix-turn-helix (Jiang et al., 2013). Peptidy z tejto oblasti môžu účinne vytvárať amyloidné fibrily, ktoré môžu vykazovať priónovú infekčnú

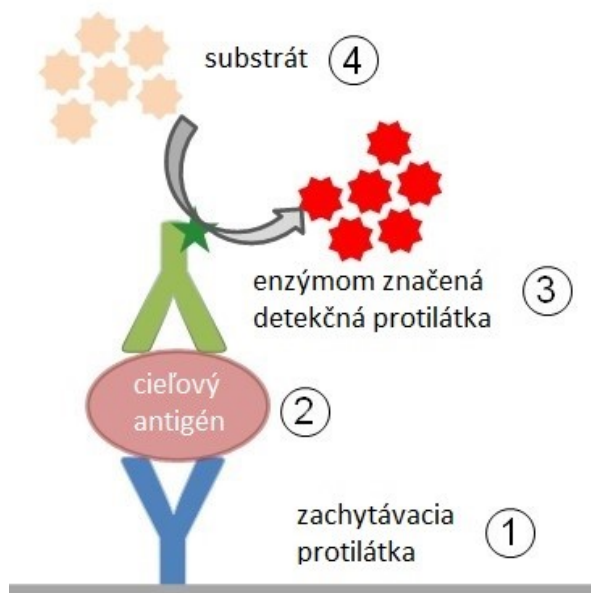
očkovaciu schopnosť (Chen et al., 2010). Napriek intenzívnemu výskumu stále neexistuje jednoznačný konsenzus o tom, čo spôsobuje nesprávnu lokalizáciu a agregáciu TDP-43, ani ako prispieva k neuronálnej toxicite (Afroz et al., 2017).

3 METÓDY K DETEKCII BIOMARKEROV

3.1 ELISA

ELISA (z angl. **E**nzyme-**L**inked **I**mmuno**S**orbent **A**ssay) je citlivá a jednoduchá imunochemická metóda využívajúca protilátky na detekciu prítomnosti a na kvantifikáciu antigénu vo vzorke. Prvkrát ju použili a popísali švédski vedci Engvall a Perlmann v roku 1972 (Engvall & Perlmann, 1972) ako alternatívu k rádioimunotestovým metódam. V súčasnosti ELISA jednoznačne dominuje oblasti detekcie a kvantifikácie proteínov a je široko využívaná v laboratóriách po celom svete na rutinné merania množstva rôznych analytov vo vzorkách pacientov (Aydin, 2015). Medzi vzorky rutinne používané pri ELISA testoch patrí napríklad sérum, plazma, CSF, sliny alebo moč. Hlavné výhody ELISA testu spočívajú v dlhej životnosti používaných reagentií, nízkej cene a možnosti analyzovať viacero vzoriek v krátkom časovom období (Aydin, 2015).

Existuje viacero typov ELISA testov, líšiacich sa modifikáciami v základných krokoch testu (Voller et al., 1978). Každý z rôznych typov má svoje výhody aj nevýhody. Medzi 4 základné typy patrí priama ELISA, nepriama ELISA, sendvičová ELISA a kompetitívna ELISA (Lin, 2015). Všetky typy však využívajú rovnaký základný princíp založený na väzbe antigénu na špecifickú protilátku, čo umožňuje detekciu aj veľmi malého množstva antigénu (ako sú napr. proteíny, peptidy, hormóny alebo protilátky), vo vzorke tekutiny (Gan & Patel, 2013).



Obrázok 2: **Schematické znázornenie sendvičového ELISA testu.** Jednotlivé kroky protokolu sú označené číslom 1-4 podľa poradia, v ktorom sa odohrávajú. Krok 1 – Pokrytie doštičky zachytávacou protilátkou. Krok 2 – Pridanie vzorky a naviazanie cieľového antigénu na zachytávaciu protilátku. Krok 3 – Pridanie enzýmom označenej detekčnej protilátky a jej naviazanie na komplex zachytávacia protilátka-antigén. Krok 4 – Pridanie substrátu, v reakcii s enzýmom značenou protilátkou dochádza k zmene farby substrátu (prevzaté a upravené podľa www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/experimental-techniques/enzyme-linked-immunosorbent-assay).

Protokol ELISA testu zahŕňa postupné pridávanie činidiel medzi krokmi premývania (Voller et al. 1978). Antigén, testovaná vzorka, konjugovaná enzýmom-značená protilátka a substrát sa obvykle pridávajú postupne (Obr. 2) (Schrijver & Kramps, 1998). Zvyčajne sa používajú 96-jamkové mikrotitračné doštičky, ktorých povrch je pokrytý imobilizovaným antigénom. Antigén môže byť buď naviazaný priamo na jamky mikrotitračných doštičiek, alebo môže byť zachytený antigén-špecifickými protilátkami imobilizovanými na doštičke (Schrijver & Kramps, 1998). Cieľový antigén je následne inkubovaný s enzýmom značenou protilátkou. Aktivita enzýmu sa meria pomocou substrátu, ktorý po modifikácii enzýmom zmení farbu. Zmena farby alebo svetelný signál koreluje s množstvom antigénu prítomného vo vzorke (Lin, 2015).

3.2 SIMOA

SIMOA (z angl. **S**ingle **M**ollecule **A**rray) je ultrasenzitívna technológia na detekciu biomarkerov založená na použití drobných magnetických guľôčok. V porovnaní s tradičnými testami založenými na princípe väzby ligandu využíva na zvýšenie citlivosti digitálne počítanie. Aj keď princíp je veľmi podobný sendvičovej ELISE, v porovnaní s ňou ponúka SIMOA až 1000x väčšiu citlivosť a umožňuje detekciu až na úrovni fentogramu na mililiter v CSF a krvi (Fischer et al., 2015).

Protokol SIMOA testu sa skladá z dvoch fáz. Prvým krokom je zachytenie antigénu, ktoré je sprostredkované paramagnetickými guľôčkami pokrytými zachytávacou protilátkou, ktoré sú pridané do biologickej vzorky. Ďalej sa pridáva sekundárna, enzýmom-značená detekčná protilátka, pričom cieľom je vytvoriť imunokomplex pozostávajúci z magnetickej guľôčky a naviazaného proteínu označeného detekčnou protilátkou (Rissin et al., 2010). Len čo sa vytvorí imunokomplex, enzýmová značka transformuje substrát na fluorescenčný produkt.

Po pridaní substrátu s enzýmom-značenou protilátkou je vzorka rozprestretá na špeciálnu doštičku, ktorá obsahuje až 239 000 mikroskopických jamiek. Každá jamka je dostatočne veľká na to, aby pojala iba jednu guľôčku. Jednotlivé guľôčky sa usadzujú do jamiek na doštičke, pričom každá guľôčka môže naviazať iba jednu, príp. žiadnu molekulu proteínu. Po usadení guľôčok sa pridá olejový roztok, ktorý slúži na zapečatenie každej jamky a na odstránenie prebytočných guľôčok. Na detekciu aktivity enzýmu sa používa jeho fluorescenčná aktivita (Fischer et al., 2015). Fluorescenčný obraz získaný rozptylom bieleho svetla na doštičku a následne zachytenie obrazu kamerou identifikuje jamky obsahujúce guľôčky s naviazaným enzýmom, pretože rozptyľujú svetlo inak, ako tie bez neho. Spočítaním jamiek obsahujúcich guľôčku s fluorescenčným produktom vo vzťahu k celkovému počtu jamiek možno určiť koncentráciu proteínov testovanej vzorky (Rissin et al., 2010).

3.3 AMYLOID PET

Pozitronová emisná tomografia (PET; z angl. **P**ositron **E**mission **T**omography) je vysoko senzitívna, neinvasívna zobrazovacia metóda. Umožňuje trojrozmerné mapovanie konkrétneho orgánu alebo tkaniva pomocou pozitron emitujúcich rádiofarmák, ktoré sú podávané v minimálnych (mg) množstvách bez toho, aby spôsobovali akékoľvek nežiaduce fyziologické či farmakologické účinky. PET vizualizuje a meria zmeny v metabolizme, čo umožňuje vyhodnotiť informácie o prípadných abnormalitách vo fyziológii, anatómii alebo biochemických vlastnostiach tkaniva (Lameka et al., 2016).

Po dlhé roky bolo možné prítomnosť alebo neprítomnosť amyloidových plakov hodnotiť iba post-mortem pomocou farbív, ktoré dokázali tieto mikroskopické štruktúry v mozgu identifikovať. S objavom amyloid-PET však už dnes možno túto patológiu detekovať aj ante-mortem. V súčasnosti sú komerčne dostupné a pre klinické použitie schválené tri amyloid PET rádioaktívne indikátory, ktoré umožňujú presnú detekciu amyloidových plakov in vivo: 18F-Florbetapir, 18F-Florbetaben a 18F-Flutemetamol (Barthel & Sabri, 2017).

Dáta získané pomocou PET sú v klinickej rutine hodnotené vizuálne. Hodnotia sa na binárnej úrovni, to znamená, že zobrazené mozgy sa interpretujú buď ako amyloid pozitívne alebo negatívne (Barthel & Sabri, 2017). Na vyhodnotenie PET skenu sa používa aj štandardizovaná hodnota absorpcie (SUV; z angl. standardized uptake value), pomocou ktorej sa meria absorpcia rádioaktívnych indikátorov v orgáne alebo tkanive. Konkrétne sa využíva pomer štandardizovaných hodnôt absorpcie (SUVR; z angl. standardized uptake value ratio) z dvoch rôznych oblastí – cieľovej, ktorou sú oblasti mozgu najčastejšie postihnuté amyloidózou ako čelný, temenný a spánkový lalok; a referenčnej, ktorou je najčastejšie celý mozog – v rámci rovnakej PET snímky. Využitie SUVR navyše znižuje variabilitu medzi čitateľmi pri vyhodnocovaní 18F-Florbetapir PET skenov (Nayate et al., 2015). PET rádiofarmaká môžu taktiež poskytovať údaje o prúde krvi v mozgu. Meria sa mozgová perfúzia, ktorá je u pacientov s ACH v dôsledku ukladania A β plakov znížená (Johnson et al., 1987; Maier et al., 2014).

Amyloid-PET môže byť obzvlášť užitočná pri diagnostike ACH v inkonkluzívnych prípadoch, rovnako aj zvýšené ukládanie amyloidových plakov detekovateľné pomocou amyloid-PET u mladých pacientov s genetickou náchylnosťou k ACH môže byť dobrým prognostickým markerom rozvoja ACH so skorým nástupom (EOAD; z angl. Early onset Alzheimer's disease) (Suppiah et al., 2019).

4 BIOMARKERY PRI DIFERENCIÁLNEJ DIAGNOSTIKE NEURODEGENERATÍVNYCH OCHORENÍ

Neurodegeneratívne ochorenia sú charakterizované progresívnym poklesom motorických a/alebo kognitívnych funkcií spôsobeným selektívnou dysfunkciou a stratou neurónov. Postupná klinická progresia ochorenia odráža pokračujúcu stratu nervových buniek a mozgovú dysfunkciu. Kognitívne príznaky neurodegeneratívnych ochorení sú častokrát nejednoznačné a prelínajú sa s inými poruchami, ich klinická progresia je pomalá a variabilná, a to aj medzi pacientmi s rovnakým ochorením.

Používanie laboratórne meraných biomarkerov v klinickom výskume je stále pomerne novou praxou a najlepšie prístupy sa stále vyvíjajú a zdokonaľujú. V kombinácii so základnými vedeckými poznatkami a neuropatologickým vyšetrením sú biomarkery nedoceneným nástrojom pre budovanie celkového obrazu o patofyziológii, etiológii a stratégiách intervencie neurodegeneratívnych ochorení (Ehrenberg et al., 2020). V nasledujúcej kapitole zhrniem doteraz známe poznatky o úlohe rôznych biomarkerov pri diferenciálnej diagnostike vybraných neurodegeneratívnych ochorení.

4.1 ALZHEIMEROVA CHOROBA

Alzheimerova choroba (ACH) je najbežnejšou príčinou demencie. V roku 2005 medzinárodná skupina odborníkov dosiahla konsenzus o prevalencii demencie v dôsledku ACH – výsledky naznačujú, že v tom čase žilo s demenciou 24,2 milióna ľudí, pričom každý rok odhadovali pribudnutie zhruba 4,6

milióna nových prípadov. To znamená, že v minulom roku sa toto číslo vyšplhalo na 42,3 milióna a v roku 2040 to môže byť až 81,1 miliónov ľudí s demenciou v dôsledku ACH (Ferri et al., 2005). Miera prevalencie ACH taktiež stúpa exponenciálne s vekom a po dosiahnutí 65 rokov sa výrazne zvyšuje: 3 % ľudí vo veku 65-74 rokov, 17 % ľudí vo veku 75-84 rokov a 32 % ľudí vo veku 85 rokov alebo viac trpí demenciou spôsobenou ACH (Hebert, 2013).

Demencia spôsobená ACH je charakterizovaná citeľnou poruchou pamäti, myslenia alebo správania, ktorá sa zhoršuje a eventuálne znemožňuje pacientovi samostatne fungovať v každodennom živote. Spolu s patologickými zmenami v mozgu sa objavuje aj množstvo rôznych symptómov, ktoré sa v priebehu rokov menia a odrážajú stupeň poškodenia neurónov v rôznych častiach mozgu. Rýchlosť, akou symptómy demencie postupujú z miernej na stredne ťažkú až ťažkú je individuálna (Alzheimer's Association, 2020).

Na základe veku nástupu sa ACH klasifikuje na ACH so skorým nástupom (EOAD, nástup < 65 rokov, 1–5 % prípadov) a ACH s neskorým nástupom (LOAD, nástup > 65 rokov, > 95 % prípadov) (Alzheimer's Association, 2020). Rozsah patológie ACH (tj. A β plaku a NFT) je najväčší u pacientov s EOAD, zatiaľ čo u pacientov s LOAD sa závažnosť neuropatologických zmien medzi prípadmi značne líši a vo vyššom veku sa navyše úroveň zmien prekrýva so zisteniami u starších osôb s neporušenou kogníciou (Mann et al., 1984; Price et al., 2009). Väčšina LOAD pacientov netrpí čistou patológiou ACH, ale vykazujú tiež rôznu mieru a kombináciu depozitov α -Syn, TDP-43 a ďalších mikrovaskulárnych zmien v mozgu (Kovacs et al., 2013). Patofyziologická heterogenita ochorenia spôsobuje, že klinické príznaky sú variabilné a nešpecifické a z tohto dôvodu existuje značná potreba nástrojov na podporu presnej klinickej diagnózy ACH, ktorými môžu byť práve biomarkery.

4.1.1 Klasifikačné schéma AT(N)

V roku 2018 pracovná skupina Národného inštitútu pre starnutie a ACH aktualizovala a zjednotila svoje smernice diagnostických odporúčaní pre ACH. Zjednocujúcu aktualizáciu označili ako „výskumný rámec“, pretože zatiaľ nie je určený pre všeobecnú klinickú prax, ale iba pre potreby výskumu, a pred zavedením do bežnej klinickej rutiny je potrebné ho otestovať a v prípade potreby modifikovať (Jack et al., 2018). Revolučnosť tohto výskumného rámca spočíva v tom, že ACH je v ňom možné definovať ako biologický konštrukt, ktorý je možné identifikovať hodnotením zmien v hladinách biomarkerov odrážajúcich neuropatológiu ochorenia nezávisle od klinických príznakov. Vzniká tak nový algoritmus na identifikáciu a klasifikáciu patologických štádií v celom spektre ochorenia. V tomto rámci sú biomarkery zoskupené do tried podľa klasifikácie AT(N) (Jack et al., 2018).

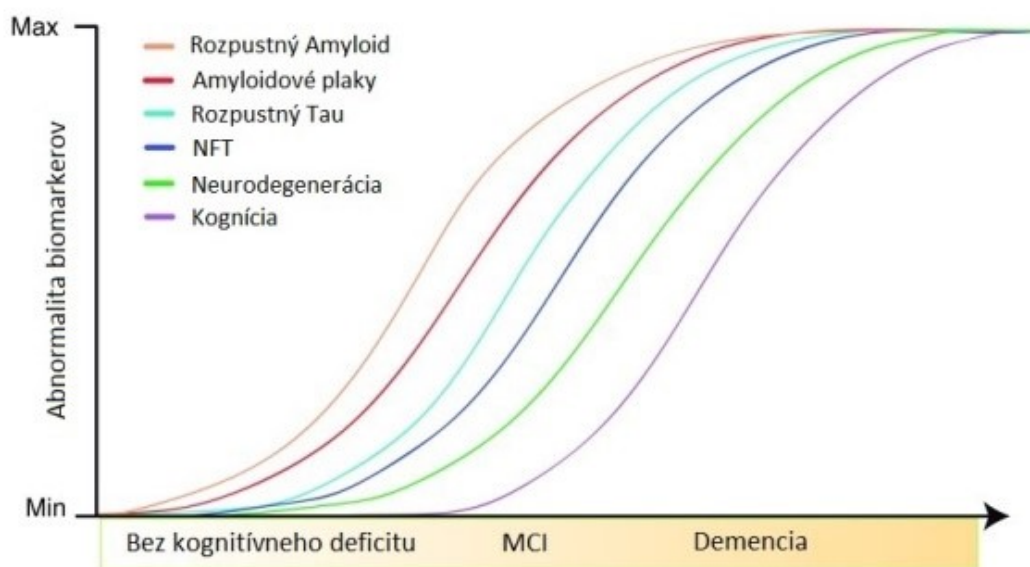
V AT(N) systéme sú hlavné biomarkery ACH rozdelené do 3 binárnych kategórií na základe povahy a patofyziológie, ktorú každý z nich odzrkadľuje. „A“ označuje biomarkery pre A β (amyloid PET alebo CSF A β 42); „T“, označuje biomarker tau (CSF hyperfosforylovaný tau proteín (p-tau) alebo tau PET); a „N“ označuje biomarkery neurodegenerácie alebo poškodenia neurónov ([¹⁸F]-fluorodeoxyglukóza–PET, štruktúrne zobrazovanie magnetickou rezonanciou (MRI; z angl. magnetic resonance imaging), CSF celkový tau proteín (t-tau)). Každá z kategórií je hodnotená ako pozitívna (+) alebo negatívna (-) v závislosti na prítomnosti alebo neprítomnosti danej patológie, pričom validácia špecifických hraničných hodnôt je stále prebiehajúcim procesom. Napríklad abnormálne hodnoty A β

v kombinácii s normálnymi hodnotami p-tau definujú „Alzheimerovskú patologickú zmenu“, zatiaľ čo depozícia A β a patologického p-tau súčasne už identifikujú „Alzheimerovu chorobu“, čím sa rozlišuje skoršia a neskoršia fáza „Alzheimerovského kontinua“ (Jack et al., 2016). Použitím nezaujatého deskriptívneho prístupu možno systém AT(N) použiť v akomkoľvek súbore diagnostických kritérií, ktoré v súčasnosti existujú alebo sa vyvinú v budúcnosti. Aj keď sa systém zameriava na kľúčové biomarkery ACH, je možné do neho pridať biomarkery iných proteínopatií, keď budú dostupné.

4.1.2 Biomarkery Alzheimerovej choroby

4.1.2.1 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau

A β 42, t-tau a p-tau tvoria základnú skupinu biomarkerov ACH, a to z dôvodu, že odrážajú kľúčové aspekty patogenézy ochorenia - agregáciu a depozíciu A β 42 do plakov; fosforyláciu tau a tvorbu NFT a neuronálnu degeneráciu (Obr. 3) (Blennow & Hampel, 2003). Tieto biomarkery boli hodnotené v stovkách štúdií s mimoriadne konzistentnými výsledkami, pričom pri ACH je pozorované výrazné zvýšenie t-tau aj p-tau v CSF, sprevádzané poklesom A β 42 (Olsson et al., 2016). Dôležitou skutočnosťou je aj to, že táto základná skupina biomarkerov rovnako preukazuje veľmi vysokú diagnostickú citlivosť až 95 % pri predikcii ACH ešte v prodromálnom štádiu ochorenia a s vysokou špecifickosťou dokáže odlíšiť ACH od frontotemporálnej lobárnej degenerácie (FTLD) alebo LBD (Hansson et al., 2006).



Obrázok 3: *Hypotetický model vývoja zmien v hladinách biomarkerov v priebehu času pri AN. Ako prvé sa stávajú abnormálne hladiny solubilného A β 42 v CSF, následne dochádza k tvorbe A β plakov detekovateľných pomocou amyloid-PET. Nasleduje zvýšenie hladiny solubilného p-tau v CSF, neskôr sa tvoria NFT viditeľné aj na Tau PET. Eventuálne dochádza k neurodegenerácii, ktorá sa dá detekovať pomocou zvýšených hladín CSF t-tau, MRI alebo [18F]FDG PET. Nakoniec v dôsledku neurodegenerácie dôjde ku kognitívnemu poklesu (prevzaté z Leuzy et al., 2018; upravené podľa Jack et al., 2010).*

4.1.2.1.1 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau v mozgomiešnom moku

Depozícia A β do plakov je pomalá a zdĺhavá. Jej začiatok môže nastať už 15–20 rokov pred samotným klinickým prejavom ochorenia a v dobe, kedy dôjde k nástupu kognitívneho poklesu, dosahuje

svoje plató (Villemagne et al., 2013). Kognitívne zdraví jedinci s vyššou depozíciou A β sú vystavení významne vyššiemu riziku kognitívneho poklesu (Petersen et al., 2016). Amyloidová patológia je však prítomná aj u kognitívne zdravých osôb, pričom prevalencia sa s vekom zvyšuje – u 10 % osôb vo veku 50 rokov, ale až u 44 % osôb vo veku 90 rokov sa v mozgu nachádzajú A β plaky (Jansen et al., 2015). Zatiaľ nezodpovedanou otázkou preto zostáva, či by prítomnosť amyloidnej patológie u osôb bez ACH nakoniec do ochorenia vyústila a tejto progresie sa daní jedinci jednoducho nedožili, alebo je depozícia A β so zvyšujúcim sa vekom prirodzeným javom, ktorý nemá vplyv na rozvoj ACH.

Nízke hladiny A β 42 v CSF silno korelujú s mierou zaťaženia amyloidovým plakom v neokortexe a hipokampe (Strozyk et al., 2003). Na detekciu depozície A β v mozgu a na rozlíšenie ACH od iných typov neurodegeneratívnych ochorení sa javí ako ešte účinnejší než samotný CSF A β 42, pomer CSF A β 42/A β 40 a A β 42/A β 38. Pomery lepšie odrážajú patológiu ACH, pretože pri ostatných neurodegeneratívnych ochoreniach dochádza k poklesu všetkých CSF A β , vrátane A β 42 (Janelidze et al., 2016a). A β 40 v kombinácii s A β 42 navyše môže slúžiť ako ukazovateľ celkových hladín A β v mozgu a ako akýsi „normalizačný faktor“ pre celkovú produkciu A β . Vďaka tomu je výrazne nižšia pravdepodobnosť falošne pozitívne alebo falošne negatívnych výsledkov u jedincov s vysokou alebo naopak nízkou celkovou produkciou A β (Lewczuk et al., 2014). CSF A β 42 môže slúžiť ako skorší biomarker amyloidózy než amyloid PET (Palmqvist et al., 2016), čo naznačuje, že CSF A β 42 sa stáva abnormálnym vo veľmi skorých štádiách ACH, ešte pred samotným začiatkom neurodegenerácie a predtým, než ho dokáže detekovať amyloid PET.

T-tau a p-tau v CSF sú najmä biomarkermi stavu ochorenia, neurodegenerácie a fosforylácie tau proteínu a k zvýšeniu ich hladín dochádza podobne ako u CSF A β 42 ešte v preklinickom štádiu ochorenia predtým, ako je možné identifikovať agregáty tau na PET skenoch (Mattsson et al., 2017a). V spektre ACH predpovedajú vyššie hladiny t-tau a p-tau v CSF rýchlejšiu klinickú progresiu ochorenia (Wallin et al., 2010).

V CSF možno citlivo detekovať rôzne fosfoepitopy tau. Najnovší výskum sa zameriava na skutočnosť, že niektoré z nich môžu byť špecifické pre konkrétne ochorenie a môžu odrážať základné patofyziologické procesy. Pozorované zvýšené hladiny p-tau sú pravdepodobne dôsledkom aktívnej produkcie a sekrécie z neurónov v reakcii na A β patológiu pri ACH (Sato et al., 2018). Zvýšené hladiny t-tau sú oproti tomu pozorované naprieč mnohými neurodegeneratívnymi ochoreniami. Je to spôsobené tým, že zatiaľ čo p-tau je markerom stavu fosforylácie tau a jeho agregácie do NFT, t-tau je nešpecifickým markerom odrážajúcim celkovú mieru neurodegenerácie, o čom svedčí aj skutočnosť, že k prudkému zvýšeniu hladín t-tau dochádza pri pacientoch s akútnou mozgovou príhodou (Hesse et al., 2001). Napriek tomu, že CSF t-tau nedokáže spoľahlivo diagnostikovať ACH, môže zohrávať prognostickú úlohu pri hodnotení stavu pacienta a v kombinácii s ďalšími biomarkermi sa môže uplatniť aj pri diferenciálnej diagnostike. Príkladom môže byť diferenciálna diagnostika Creutzfeldtovej-Jakobovej choroby (CJD; z angl. Creutzfeldt-Jacobs disease), kedy pomer p-tau/t-tau spoľahlivo odlišuje CJD od pacientov s ACH a FTLD (Riemenschneider et al., 2003).

Pravdepodobne najrozsiahlejšie preskúmanou formou hyperfosforylovaného tau pri diferenciálnej diagnostike AN je p-tau181. Ten sa preukázal ako spoľahlivý marker na rozlíšenie pacientov s ACH od pacientov s LBD (Vanmechelen et al., 2000). Štúdia skúmajúca diagnostický výkon 3 rôznych epitopov

tau (p-tau231, p-tau181 a p-tau199) v CSF súčasne potvrdila, že koncentrácia všetkých epitopov je významne zvýšená u pacientov s ACH v porovnaní s LBD, FTLD a ostatnými neurodegeneratívnymi ochoreniami. P-tau199 síce nedosiahol požadovanú hladinu špecificity, avšak p-tau231 aj p-tau181 spĺňajú kritériá pre senzitivitu aj špecificitu (Hampel et al., 2004). Epitop p-tau231 významne zlepšuje diferenciálnu diagnostiku medzi ACH a FTLD, kde správne rozdelil až 91 % pacientov, v porovnaní so 66 % pri použití len CSF t-tau (Buerger et al., 2002b). Koncentrácia p-tau231 v CSF klesá v priebehu času počas klinickej progresie ACH a koreluje s kognitívnym výkonom na začiatku liečby (Hampel et al., 2001), pričom zvýšené hladiny CSF p-tau231 pri počiatočnom vyšetrení predpovedajú kognitívny pokles u pacientov s miernou kognitívnou poruchou (MCI; z angl. Mild Cognitive Impairment) (Buerger et al., 2002a).

4.1.2.1.2 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau v krvi

A β je možné merať aj v plazme, ale korelácia s cerebrálnou β -amyloidózou je buď neprítomná, alebo len slabá. Štúdie plazmatického A β 42 ako biomarkeru odrážajúceho amyloidovú patológiu v mozgu prinášajú protichodné výsledky, s veľkými presahmi hladín A β 42 a A β 40 medzi pacientmi a kontrolami (Olsson et al., 2016). Pomer A β 42/A β 40 v plazme však môže slúžiť ako prekursor identifikujúci rané patologické zmeny ACH u kognitívne zdravých jedincov so subjektívnym kognitívnym poklesom - nižší pomer sa vyskytuje u jedincov s abnormálnymi hladinami CSF A β a je spojený s až 2-násobne zvýšeným rizikom progresie do štádia MCI alebo demencie v dôsledku ACH (Verberk, 2018). Posledné štúdie rovnako naznačujú, že nielen pomer fragmentu A β 42/A β 40, ale aj APP669-711/A β 42 v krvnej plazme identifikuje A β -pozitívnych jedincov s 96 % citlivosťou a 81 % špecifickosťou (Nakamura et al., 2018). Problémom zostáva značná variabilita medzi štúdiami – zatiaľ čo štúdia analyzujúca vzorky pomocou SIMOA technológie zistila u pacientov trpiacich ACH slabú pozitívnu koreláciu medzi hladinami A β 42 v CSF a plazme (Janelidze et al., 2016b), ďalšia štúdia používajúca metódu imunomagnetickéj redukcie (IMR) prišla k opačnému záveru a zistila miernu negatívnu koreláciu (Teunissen et al., 2018). Na stanovenie úlohy plazmatického A β ako spoľahlivého biomarkeru je preto potrebný ďalší výzkum.

Okrem CSF tau má potenciál pre využitie pri klinickej diagnóze aj plazmatický tau. Rozsiahla meta-analýza z roku 2016 zistila, že plazmatický t-tau je jediným krvným biomarkerom, ktorý odlišuje pacientov s demenciou pri ACH od kognitívne zdravých kontrol (Olsson et al., 2016). Vyššie hladiny plazmatického t-tau sú spojené s väčším kognitívnym poklesom u pacientov v štádiu MCI, ale asociácia medzi celkovými t-tau v plazme a kogníciou je nezávislá od zvýšenej hladiny A β v mozgu (Mielke et al., 2017).

Skutočne špecifickým biomarkerom ACH, ktorý ju dokáže odlíšiť od iných neurodegeneratívnych ochorení a môže slúžiť na predikciu nielen tau, ale aj A β patológie, je p-tau181. K zvyšovaniu jeho hladín v plazme dochádza ešte v preklinickom štádiu ACH a tento trend ďalej pokračuje pri progresii do štádia MCI a napokon demencie pri ACH, takže môže identifikovať ACH aj v priebehu jej klinického kontinua. Hladina plazmatického p-tau181 dokáže s vysokou presnosťou odlíšiť pacientov s ACH od pacientov s FTLD a koreluje s depozíciou kortikálneho tau meranou pomocou tau-PET. Okrem toho hladiny p-tau181 v plazme korelujú s cerebrálnou A β patológiou, pričom vyššie hladiny sú asociované s A β -pozitívnosťou, čo znamená, že plazma p-tau181 by mohol byť lacnejším a dostupnejším nástrojom na identifikáciu A β -pozitívnych jednotlivcov než amyloid-PET (Karikari et al., 2020; Thijssen et al., 2020).

Kombinácia plazmatického p-tau181 a NfL sa ukazuje ako vysoko účinná pri identifikácii pacientov v štádiu MCI, u ktorých v najbližších 4 rokoch dôjde k rozvoju demencie v dôsledku ACH. Prognostický výkon kombinácie týchto plazmatických biomarkerov nielenže nie je horší v porovnaní CSF biomarkermi, ale preukázal sa minimálne ako rovnako dobrý alebo dokonca lepší (Cullen et al., 2021).

Novým nádejným kandidátom na diferenciálnu diagnostiku ACH za použitia biomarkeru získaného z krvi je p-tau217. Nedávna štúdia potvrdila, že hladiny plazmatického p-tau217 dokážu rozlíšiť nielen pacientov s ACH od iných neurodegeneratívnych ochorení, ale aj pacientov s preklinickou ACH a ACH v štádiu MCI od A β -negatívnych kontrol a A β -negatívnych pacientov v štádiu MCI. Podobne ako sa postupne zvyšujú hladiny p-tau181 v priebehu progresie ochorenia, dochádza aj k zvyšovaniu hladín p-tau217. Diagnostická presnosť p-tau217 pri rozlíšení jedincov s ACH a identifikácií, či sú amyloid-PET alebo tau-PET pozitívni či negatívni je dokonca vyššia ako pri použití p-tau181 (Palmqvist et al., 2020). Plazmatický p-tau217 sa preto zdá byť vhodným adeptom na krvný biomarker špecificky sledujúci progresiu a schopný odlíšiť ACH od iných neurodegeneratívnych ochorení a v budúcnosti by mohol nahradiť v súčasnosti pri diferenciálnej diagnostike najviac využívanú formu p-tau181.

4.1.2.2 Neurogranín

Aj keď základné biomarkery ACH odrážajú centrálné patogénne mechanizmy ochorenia, jednou z ďalších dôležitých zložiek patofyziológie ACH je synaptická dysfunkcia, ktorá je pravdepodobne priamou príčinou kognitívneho poklesu. Miera kognitívneho poklesu pri ACH totižto viac koreluje so závažnosťou straty synapsí ako s množstvom plakov či NFT (DeKosky et al., 1990). Spôľahlivý biomarker na sledovanie synaptických a dendritických funkcií a straty priamo u pacientov s ACH by preto bol cenným doplnkom do základného súboru diagnostických biomarkerov.

Práve hladina Ng v CSF môže slúžiť ako marker synaptickej degenerácie. Množstvo štúdií uskutočnených v posledných rokoch prišlo k rovnakému zisteniu – hladina Ng v krvi a CSF úzko súvisí s výskytom a následnou progresiou ACH (Liu et al., 2020). Pri patologických stavoch spôsobených neurodegeneratívnym ochorením dochádza k zníženiu hladiny Ng v mozgu a jeho hladina v CSF naopak stúpa, čo je spojené so zhoršenou kognitívnou výkonnosťou (Thorsell et al., 2010). Vysoké hladiny Ng v CSF sú podľa všetkého špecifické pre ACH a nevyskytujú sa pri iných neurodegeneratívnych poruchách ako FLTD, LBD, PCH, progresívnej supranukleárnej obrne alebo MSA (Wellington et al., 2016). Zvýšené hladiny Ng v CSF taktiež korelujú s rýchlosťou kognitívneho poklesu v prodromálnom štádiu ACH (Kvartsberg et al., 2015). Najmä pomer CSF Ng P75 a beta-sekretázy BACE1 môže slúžiť ako potenciálny marker kognitívneho poklesu pri progresii ACH (de Vos et al., 2016). Zvýšená koncentrácia Ng v CSF koreluje s nadmernou tvorbou A β plakov v hipokampe a amygdale, čo pravdepodobne odráža synaptické poškodenie vyvolané agregáciou A β a jeho akumuláciou v plakoch (Portelius et al., 2018). Taktiež je pozorovaná silná pozitívna korelácia medzi Ng, t-tau a p-tau v CSF pacientov s ACH (Wellington et al., 2016). Hlavné oblasti mozgu postihnuté pri ACH (temenný a spánkový lalok, amygdala, hipokampus) sú taktiež oblasťami s najvyššou expresiou Ng (Represa et al., 1990), čo môže byť dôvodom zjavnej špecificity zvýšených hladín CSF Ng pri ACH (Wellington et al., 2016).

Exozómy sú transportné mikročastice vylučované mnohými typmi buniek, vrátane neurónov. Vďaka svojej malej veľkosti (30-100 nm) môžu ľahko prechádzať hematoencefalickou bariérou (Wood et

al., 2011) a odstraňovať patologické proteíny z CNS (Rajendran et al., 2006). Koncentrácia Ng v exozómoch krvnej plazmy sa ukazuje ako spoľahlivý marker kognitívneho poklesu u pacientov s ACH (Liu et al., 2020). Koncentrácia Ng v exozómoch krvnej plazmy pacientov s ACH je signifikantne nižšia a koreluje s progresiou od MCI do syndrómu demencie (Winston et al., 2016; Liu et al., 2020). Kombinácia neuroexozomálnych synaptických proteínov v neurónových exozómoch v krvnej plazme dokáže predikovať ACH v asymptomatickej fázi 5 až 7 rokov pred nástupom kognitívneho poklesu. Ng odlišuje pacientov so syndrómom demencie pri ACH od pacientov s amnestickou MCI a zdravých kontrol s najvyššou presnosťou spomedzi proteínov GAP43, SNAP25 a synaptotagminu 1 (Jia et al., 2021).

Na objasnenie potenciálnej úlohy Ng ako patofyziologického biomarkeru je potrebná ďalšia klasifikácia a dlhodobé štúdie. V porovnaní so zaužívanými biomarkermi ACH však dokáže detekovať patologické zmeny v skoršom štádiu. Ng má preto potenciál monitorovať progresiu ochorenia a môže slúžiť ako biomarker pri sledovaní účinkov liečby (Headley et al., 2018).

4.1.2.3 Ľahké reťazce neurofilamentového proteínu

Na rozdiel od tau proteínu je korelácia medzi plazmatickými hladinami a hladinami CSF NfL veľmi tesná (Gisslén et al., 2015). Sledovanie hladiny NfL v CSF môže hrať úlohu v diagnostickom vyšetrení pacientov s EAOD a FTLD, najmä v kombinácii s analýzou biomarkerov A β 42 a p-tau181 (De Jong et al., 2007). Pri FTLD sú hladiny NfL v CSF zvýšené a v kombinácii s p-tau181 a A β 42 má analýza pridanú diagnostickú hodnotu pri diferenciacii EOAD od FTLD. Pozitívna korelácia medzi hladinami NfL v CSF a stupňom kognitívneho poškodenia bola zistená u LOAD a FTLD (Sjorgen et al., 2000). Pri LBD v porovnaní s LOAD však hladiny NfL v CSF od seba tieto dve ochorenia neodlišujú (De Jong et al., 2007).

Nedávna štúdia preukázala výrazné zvýšenie plazmatického NfL pri ACH (149 % kontrolných hladín) s hodnotou AUC 0,87, čo je porovnateľné so základnými CSF biomarkermi ACH (Mattsson et al., 2017b). Vyššie hladiny NfL v plazme sú spojené s vyšším rizikom rozvoja ACH, pričom u jedincov, u ktorých sa neskôr došlo k rozvoju ACH sa tieto hladiny začínajú zvyšovať už 10 rokov pred diagnózou a zvyšujú až 3,4x rýchlejšie (de Wolf et al., 2020).

Pretože NfL je citlivým, ale nešpecifickým markerom axonálneho poškodenia (Sjorgen et al., 2000; Disanto et al., 2017), jeho diagnostická hodnota nespočíva v schopnosti rozlišovať medzi neurodegeneratívnymi ochoreniami charakterizovanými podobným stupňom straty neurónov, ale skôr medzi ochoreniami CNS s rôznym stupňom poškodenia veľkých myelizovaných axónov, s inou rýchlosťou progresie alebo intenzitou ochorenia (Gaetani et al., 2019). Tesná pozitívna korelácia medzi hladinami CSF NfL a NfL v sére potvrdzuje, že sérové hladiny úzko odrážajú uvoľňovanie NfL v CNS (Disanto et al., 2017). Pri ACH spočíva potenciál NfL najmä v monitorovaní stupňa neurodegenerácie a rýchlosti progresie ochorenia.

4.2 OCHORENIE S LEWYHO TELIESKAMI

Ochorenie s Lewyho telieskami (LBD) sa spolu s PCH radí do skupiny neurodegeneratívnych ochorení nazvaných ako synukleínopatie, pretože pri nich dochádza k akumulácii patogénneho α -Syn v mozgu do LB. Po ACH je LBD druhou najbežnejšou príčinou demencie u ľudí starších ako 65 rokov,

pričom odhady prevalencie hovoria, že by mohlo tvoriť až 30,5 % zo všetkých prípadov demencie (Zaccai et al., 2005). Pacienti s LBD môžu vykazovať patologickú heterogenitu, najmä pokiaľ ide o prítomnosť sprievodnej patológie ACH (Colom-Cadena et al., 2017).

LBD je v mnohých svojich klinických prejavoch podobná ACH, avšak existujú určité kľúčové znaky, ktoré ich od seba odlišujú. Medzi hlavné klinické prejavy LBD patria nápadné fluktuácie v kognícií s výraznými zmenami pozornosti a bdlosti, ktoré sa môžu vyskytovať v priebehu niekoľkých hodín alebo dokonca minút. Ďalším distinktným symptómom sú opakujúce sa vizuálne halucinácie. Rovnako sa u pacientov s LBD často objavujú znaky parkinsonizmu a porucha spánkového správania v REM fázi (RBD; z angl. REM sleep behaviour disorder), ktorá môže predchádzať kognitívnemu poklesu (McKeith et al., 2017).

4.2.1 Biomarkery ochorenia s Lewyho telieskami

4.2.1.1 AB42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau

Zatiaľ čo FTLD nevykazuje žiadnu A β patológiu, veľký počet pacientov s LBD vykazuje kortikálny distribučný profil depozície A β do plakov podobný ACH (Gomperts et al., 2008). Zhruba 40 % všetkých pacientov s LBD má pri pitve dostatočne rozsiahlu patológiu A β plaku a NFT na sprievodnú diagnózu ACH (Irwin et al., 2018). Preto je logické, že úloha základného súboru biomarkerov využívaných na diagnostiku ACH je rozsiahlo preštudovaná aj ako nástroj diferenciálnej diagnostiky u pacientov s LBD. Veľká multicentrická kohortová štúdia zistila u takmer 25 % pacientov s LBD profil CSF biomarkerov kompatibilný s ACH (tzn. nízky A β 42 v kombinácii s vysokým t-tau a / alebo p-tau) (Van Steenoven et al., 2016).

Napriek tomu, že pacienti s LBD vykazujú nižšie hladiny CSF A β 42 v porovnaní so zdravými kontrolami, samotná hladina CSF A β 42 ich už neodlišuje od pacientov s ACH. Čo ale tieto dve ochorenia od seba odlišíť dokáže je pomer A β 42/A β 40, s 85% senzitivitou aj špecificitou (Spies et al., 2010). Pomer A β 42/A β 40 je rovnako veľmi dobrým nástrojom na rozlišovanie LBD od ACH ešte v prodromálnom štádiu ochorenia (AUC=0,95) (Bousiges et al., 2018).

U pacientov s LBD sú priemerné hladiny t-tau v CSF signifikantne nižšie ako u pacientov s ACH, ale vyššie ako u zdravých kontrol, a pozitívne korelujú s mierou závažnosti demencie (Vanderstichele et al., 2006; Kaerst et al., 2014). Hladina p-tau181 je pri LBD signifikantne nižšia než pri ACH a samotný p-tau181 je najdôležitejšou premennou spomedzi t-tau, p-tau181 a A β 42 v diskriminácii medzi ACH od LBD, vykazujúci 80% senzitivitu a 79% špecificitu (Vanderstichele et al., 2006).

Hladiny t-tau a p-tau181 sa u pacientov s LBD významne nemenia bez ohľadu na štádium ochorenia. V priebehu ochorenia ale dochádza k významnému poklesu hladín A β 42 v CSF, na rozdiel od ACH, kde hladiny CSF A β 42 dosahujú veľmi nízke hodnoty už pri prodromálnom štádiu, u pacientov s LBD nastáva pokles až neskôr, medzi štádiom MCI a štádiom demencie (Bousiges et al., 2018). Nízke hladiny CSF A β 42 navyše u pacientov s LBD predikujú rýchlejší kognitívny pokles (Abdelnour et al., 2016). Neskorší pokles hladín CSF A β 42 u pacientov s LBD možno vysvetliť skutočnosťou, že depozity A β sa objavia neskôr, tj. až po agregácii α -Syn (Ballard et al., 2006), čo naznačuje silné prepojenie medzi

synukleopatou a amyloidopatiou (Colom-Cadena et al., 2017), ktoré ale ešte musí byť ďalej preskúmané.

4.2.1.2 Alfa-Synukleín

Znížené hladiny CSF α -Syn sú zaznamenané nielen pri patologických stavoch spojených so synukleopatami, ale aj u starších, zdravých jedincov, pričom vek je nezávisle spájaný s nižšími úrovňami α -Syn. Pozorované zníženie CSF α -Syn môže byť spôsobené jeho intracelulárnou agregáciou a následnou akumuláciou v postihnutých neurónoch (Tokuda et al., 2006). Ďalšie z možných vysvetlení je, že dochádza k zvýšeniu rýchlosti absorpcie α -Syn z CSF do neurónov, čo potenciálne umožňuje tvorbu intracelulárnych inklúzií a šírenie synukleinopatie z bunky na bunku (Mollenhauer et al., 2011).

Ako biomarker synukleínopatií môže mať diagnostickú niekoľko rôznych foriem α -Syn vrátane celkového (t- α -Syn), oligoméneho (o- α -Syn), fosforylovaného (p- α -Syn) a pro-agregujúceho α -Syn. Všeobecným trendom sú relatívne rovnomerné hladiny CSF t- α -Syn pacientov so synukleopatami, ktoré sú ale celkovo nižšie ako u pacientov s ACH (Tateno et al., 2012). Oproti tomu hladiny CSF o- α -Syn sú pri LBD aj PCH vyššie v porovnaní s pacientami s ACH. V hladinách p- α -Syn nie je medzi LBD, PCH, ACH či zdravými kontrolami žiadny rozdiel (Van Steenoven et al., 2018). Kombinácia rôznych foriem α -Syn s ďalšími biomarkermi môže zlepšiť ich výkon pri diferenciálnej diagnostike LBD. Najmä v kombinácii s t-tau sú dobrým prediktorom LBD – pomer t-tau/t- α -Syn má výrazne lepšiu presnosť pri rozlišovaní LBD od kontrol v porovnaní s použitím samotného t- α -syn alebo t-tau (Llorens et al., 2016). Test na t- α -Syn v CSF teda môže byť relevantný pri diferenciálnej diagnostike medzi LBD a ACH, ale je už výrazne menej užitočný v prípade samotnej etiologickej diagnózy LBD.

Ďalším kandidátom pre diferenciálnu diagnostiku LBD je α -syn fosforylovaný na seríne 129 (pSer129- α -Syn). pSer129- α -Syn je špecificky spojený s patológiou LB, pretože približne 90 % nahromadeného α -Syn v LB pozostáva z pSer129- α -Syn (Anderson et al., 2006). Zvýšené hladiny pSer129- α -Syn boli zistené v CSF pacientov s PCH v porovnaní s kontrolami (Wang et al., 2012), na štúdie skúmajúce hladiny pSer129- α -Syn v CSF pacientov s LBD si ale ešte musíme počkať.

Detekcia pro-agregujúcich sa foriem α -Syn pomocou ultrasenzitívnych testov má potenciál diagnostikovať pacientov ešte v asymptomatickej fáze. Štúdiu merajúcej stupeň agregácie α -Syn pomocou metódy konverzie vyvolanej trasením v skutočnom čase (RT-QuIC; z angl. Real-time quaking-induced conversion) sa podarilo detekovať agregáty vo vzorkách CSF u pacientov postihnutých RBD, u ktorých sa synukleinopatie vyvinuli až o niekoľko rokov neskôr. Detekcia pomocou RT-QuIC dokázala zistiť agregáciu α -Syn u pacientov trpiacich LBD so senzitivitou 92 % a pri PCH so senzitivitou 95 %, s celkovou špecificitou 100 % v porovnaní s ACH a zdravými kontrolami (Fairfoul et al., 2016).

Podobne ako pri CSF α -Syn, aj jeho hladina v plazme je u pacientov s PCH a LBD nižšia ako u ACH alebo zdravých kontrol, ale jeho senzitivita a špecificita pri odlišení pacientov so synukleopatami od pacientov s ACH či kontrol je iba 58 % a 85 %, v tomto poradí (Senanarong et al., 2020).

Aj keď α -Syn kľúčovú úlohu patogeneze LBD, jeho spoľahlivosť pri diferenciálnej diagnostike tohto ochorenia je diskutabilná. Hladina CSF α -Syn, a špeciálne jeho rôznych foriem, môže byť užitočná

pri diskriminácii synukleínopatií od ACH, ale už nedokáže odlišiť jednotlivé synukleínopatie od seba navzájom. Doposiaľ nebol objavený žiadny jediný biomarker, ktorý by vykazoval skutočnú špecifickosť pre LBD, nádejné sa ale zdajú testy sledujúce stupeň jeho agregácie v CSF či kombinácie jeho foriem s ďalšími biomarkermi. V súčasnosti sú vyvíjané nové testy, ktoré dokážu s vysokou citlivosťou a špecifickosťou detekovať aj malé množstvá patogénneho oligomérneho α -Syn cirkulujúceho v CSF pacientov (Shahnawaz et al., 2017; Kang et al., 2019). Takéto testy majú potenciál ponúknuť konkrétnu diagnózu, rozlíšiť aj pacientov so zmiešanými patológiami (Shahnawaz et al., 2017), a keďže sledujú proces ústredný pre patogenézu ochorenia, môžu slúžiť aj na vyhodnotenie účinkov variant liečby zameraných na sledovanie hladiny alebo agregáciu α -Syn (Kang et al., 2019).

4.3 FRONTOTEMPORÁLNA LOBÁRNA DEGENERÁCIA

Frontotemporálna lobárna degenerácia (FTLD) je zastrešujúcim výrazom pre klinicky, patologicky a geneticky rôznorodú skupinu ochorení postihujúcich predovšetkým frontálne a temporálne laloky mozgu (Hernandez et al., 2017). Syndrómy spôsobené FTLD majú vysoko heterogénne a prekrývajúce sa klinické príznaky a netvorí samostatné navzájom sa vylučujúce kategórie, ale naopak existujú vo viacrozmerom spektre (Murley et al., 2020). Stanovenie správnej diagnózy FTLD nie je z dôvodu klinickej heterogenity a prekryvu s inými neurodegeneratívnymi ochoreniami ľahkou úlohou.

Neuropatológia FTLD sa môže prejavíť ako jeden z troch klinických syndrómov frontotemporálnej demencie (FTD): behaviorálna varianta (bvFTD), ktorá je zároveň aj najčastejším fenotypom (Perry et al., 2017); rečová varianta - primárna progresívna afázia (PPA), ktorá sa ďalej delí na sémantickú, agramatickú a logopenickú variantu (McKhann et al., 2001; Gorno-Tempini et al., 2011); alebo ako motorická porucha - FTD so syndrómom progresívnej supranukleárnej obrny, FTD s kortikobazálnym syndrómom, alebo FTD s ochorením motorických neurónov (Neary et al., 1990; Lomen-Hoerth et al., 2002).

BvFTD sa prejavuje zmenou osobnosti, často spojenou s impulzívnym alebo nevhodným správaním sa, apatiou, stratou záujmu o svoj zovňajšok. Pre PPA sú charakteristické ťažkosti s vyjadrovaním sa, problém nájsť vhodné slová, vrátane pomenovania osôb a vecí. Objavujú sa aj ťažkosti pri písaní a čítaní (McKhann et al., 2001). U behaviorálneho aj rečového variantu zostáva najmä v počiatočných štádiách ochorenia pamäť relatívne zachovaná (Forman et al., 2006).

FTLD je narozdiel od ACH prevažne ochorením presenia. Priemerný vek pri nástupe symptómov je 58 rokov a medzi jednotlivými syndrómami FTLD sa významne nelíši, s výnimkou agramatickej primárnej progresívnej afázie, ktorá má priemerný vek nástupu takmer o 10 rokov vyšší (Rosso et al., 2003; Hodges et al., 2003). Pacienti postihnutí FTLD majú pomalý a progresívny priebeh ochorenia, pričom doba prežitia po stanovení diagnózy je priemerne 6 rokov (Hodges et al., 2003).

Syndrómy FTLD je možné subkategorizovať do troch molekulárnych skupín v závislosti na proteínovom zložení inklúzných teliesok v bunkách CNS: FTLD-Tau, FTLD-TDP, FTLD-FUS (MacKenzie et al., 2010). Každá patologická skupina je ďalej rozdelená na niekoľko subkategórií v závislosti od distribúcie v mozgových lalokoch a špecifických histologických charakteristikách.

4.3.1 Biomarkery frontotemporálnej lobárnej degenerácie

4.3.1.1 A β 42, celkový tau, hyperfosforylovaný tau

FTLD nie je patologicky charakterizovaná cerebrálnou amyloidózou, a výrazné tau inklúzie sú charakteristické iba pre FTLD-tau. Meranie hladiny CSF t-tau a A β 42 preto môže mať diagnostickú užitočnosť najmä pri vylúčení neuropatológie ACH (Irwin et al., 2013). FTLD v porovnaní s ACH vykazuje nižšie hladiny t-tau a p-tau181 v CSF, špeciálne p-tau181 má vysokú diagnostickú presnosť (Koopman et al., 2009). Nielen CSF p-tau181, ale aj plazmatický p-tau181 je zvýšený pri ACH, ale nie pri FTLD (Thijssen et al., 2020). Pomer t-tau/A β 42 má lepšiu senzitivitu a špecificitu (78,9 % a 96,6 %, v tomto poradí) v porovnaní so samotným t-tau v CSF pri odlíšení pacientov s FTLD od pacientov s ACH (Grossman et al., 2005; Bian et al., 2008). I keď tieto biomarkery odlišujú FTLD od ACH, pri diferenciácii FTLD od zdravých kontrol už nie sú také účinné (Grossman et al., 2005). Pri diagnostike FTLD sú teda okrem biomarkerov, ktoré sú používané pri diagnostike ACH potrebné aj ďalšie, prediktívne špecificky pre FTLD.

4.3.1.2 Ľahké reťazce neurofilamentového proteínu

NfL sú štruktúrne axonálne proteíny a ich zvýšené hladiny v CSF sú znakom neurodegenerácie a neuronálneho poškodenia (Petzold, 2005). Hladina NfL je signifikantne vyššia pri FTLD než pri ACH, čo zvyšuje diagnostickú presnosť dosiahnutú iba so samotnou skupinou biomarkerov ACH (Goossens et al., 2018). Navyše by NfL mohol slúžiť na rozlíšenie jednotlivých molekulárnych subtypov FTLD. Pacienti s patológiou typu FTLD-TDP majú vyššie hladiny NfL ako pacienti s FTLD-tau (Abu-Rumeileh et al., 2018), aj keď iné štúdie zatiaľ nemohli tieto výsledky potvrdiť (Goossens et al., 2018; Meeter et al., 2018). U pacientov s FTLD je pozorovaná zvýšená koncentrácia NfL rovnako aj v krvnom sére, avšak koncentrácia vykazuje veľkú variabilitu v rámci každej klinickej skupiny. Vyššie koncentrácie NfL odrážajú mieru intenzity ochorenia a sú spojené s rýchlejšou atrofiou čelných lalokov (Rohrer et al., 2016). Aj keď je NfL nešpecifickým biomarkerom, jeho hladiny v krvi a CSF sa dynamicky menia a spoľahlivo odrážajú mieru neuroaxonálneho poškodenia v CNS, čo z neho robí dobrý prognostický marker prebiehajúcej neurodegenerácie nielen pri FTLD, ale aj pri mnohých ďalších neurologických ochoreniach.

4.3.1.3 TAR DNA-viažúci proteín 43

TDP-43 je hlavnou proteínovou zložkou patologických ubikvitinovaných cytoplazmatických inklúzií pri FTLD-U a ALS (Neumann et al., 2006). Imunoreaktivita TDP-43 spojená s patológiou v mozgovom tkanive sa odráža na zvýšených úrovniach TDP-43 v CSF. Aj keď existuje signifikantný rozdiel v hladinách CSF TDP-43 medzi FTLD, ALS a kontrolnými skupinami, TDP-43 nevykazuje dostatočnú diagnostickú presnosť na odlíšenie týchto ochorení od seba navzájom (Steinacker et al., 2008). Ďalšej štúdií sa však podarilo detekovať zvýšené hladiny CSF TDP-43 u pacientov s ALS v porovnaní s FTLD (Junttila et al., 2016), a aj keď neskorší výskum toto zistenie potvrdil, rozdiely medzi týmito dvoma hodnotami nedosiahli štatistickú významnosť (Bourboli et al., 2017). Kombinovaná analýza TDP-43 a pomeru t-tau/ p-tau181 v CSF sa ale preukázala užitočnou na rozlíšenie medzi ALS a FTLD (Bourboli et al., 2017). Samotná hladina TDP-43 CSF teda pravdepodobne nie je dostatočne špecifická na použitie

proteínu ako diagnostického biomarkera, avšak v kombinácii s inými biomarkermi neurodegenerácie môže mať výpovednú hodnotu.

Hlavná frakcia CSF TDP-43 je odvodená z krvi (Feneberg et al., 2014). Keď bol TDP-43 meraný v plazme pacientov s FTLD a ACH, zvýšené plazmatické hladiny sa zistili u 46 % pacientov s FTLD a 22 % pacientov s ACH, v porovnaní s kognitívne zdravými jedincami a pacientmi s ACH majú teda pacienti s FTLD vyššie absolútne hladiny TDP-43 v plazme (Foulds et al., 2008). Pacienti s tauopatiami majú tendenciu mať nižšiu hladinu p-tau a t-tau ako pacienti s TDP-43 proteínopatiami (Bian et al., 2008). TDP-43 by preto mohol slúžiť pri odlíšení pacientov FTLD s ubikvitín-pozitívnou patológiou od prípadov s tauopatiou. Zatiaľ je ale jeho diagnostická presnosť obmedzená najmä z dôvodu nedostatku vysoko citlivých kvantifikačných metód, a vyžaduje si ďalšie štúdium a validáciu. Sľubným prístupom pre budúci výskum by mohlo byť bližšie sa pozrieť na TDP-43 v krvných exozómoch pochádzajúcich z mozgu, pretože pravdepodobne lepšie odrážajú mozgovú patológiu (Feneberg et al., 2014).

4.3.1.4 Progranulín

Hladiny progranulínu v CSF a krvnom sére závisia od stavu mutácie génu pre progranulín GRN (Granulin Precursor). Nízky sérový progranulín môže identifikovať pacientov trpiacich FTLD s patogénnou mutáciou v GRN, ktorá vedie k haploinsuficiencii progranulínu (Ghidoni et al., 2008). Nosiči tejto mutácie majú významne nižšie hladiny progranulínu v porovnaní s inými pacientmi s FTLD, s ACH i s kontrolami a sú postihnutí závažnejšou neurodegeneráciou (Goosens et al., 2018). Znížené hladiny sú navyše so 100 % senzitivitou a špecificitou detekovateľné nielen u pacientov s klinickou FTLD, ale aj u presymptomatických nosičov (Ghidoni et al., 2008; Goosens et al. 2018).

5 ZÁVER

Za uplynulé roky výzkum biomarkerov výrazne zlepšil naše chápanie komplexnej patofyziológie mnohých neurodegeneratívnych ochorení. Z dôvodu vysokého stupňa prekryvu rôznych patológií a variability klinických fenotypov týchto ochorení spočíva prínos biomarkerov v schopnosti identifikovať patologické substráty naprieč rôznymi klinickými fenotypmi, dokážu poukázať na skryté mechanizmy chorôb a interakcie medzi rôznymi patológiami. Biomarkery môžu v klinickej praxi v kombinácií s neurologickým, neuropsychologickým vyšetrením a zobrazovacími metódami mozgu významne zvýšiť diagnostickú presnosť. Dobre validované biomarkery sú kritické nielen pre diagnostiku a prognózu u pacientov, ale zohrávajú dôležitú úlohu aj v procese vývoja liečiv. Začlenenie biomarkerov do plánovania klinických štúdií umožňuje vytvoriť homogénnejšiu skupinu pacientov, ktorá v prvom rade zahŕňa iba tých, ktorí konkrétnym ochorením naozaj trpia, a v druhom rade aj pacientov v presymptomatických štádiách ochorenia, u ktorých ešte nedochádza k rozsiahlej strate neurónov, takže liečba má v tomto štádiu najvyššiu pravdepodobnosť byť účinná.

Je teda zrejmé, že je nevyhnutné pokračovať v hľadaní spoľahlivých biomarkerov, ktoré môžu nielen zlepšiť diagnostickú presnosť, ale aj predikovať a monitorovať progresiu ochorenia a odpoveď na liečbu a usmerniť vývoj liečiv pre mnohé neurodegeneratívne ochorenia. Do dnešného dňa je vo výskume validovaných niekoľko biomarkerov odrážajúcich patológiu konkrétnych ochorení (A β , tau, α -Syn), rozsah neurodegenerácie (NfL), či rozsah synaptického poškodenia (neurogranín). Aj keď vytváranie citlivých a spoľahlivých testov na presné meranie agregujúcich proteínov je problematické, dnes už môžeme vďaka ultrasenzitívnym detekčným technikám, ako je IMR či SIMOA, presne analyzovať biomarkery nielen v mozgomiešnom moku, ale aj v krvných vzorkách. Výskum sa v súčasnosti zameriava najmä na hľadanie krvných biomarkerov, ktoré by mohli slúžiť na jednoduché a široko dostupné skriningové testy, pri ktorých by sa určilo, či by sa u pacientov s príznakmi kognitívneho poklesu mala začať liečba.

Používanie biomarkerov nielen vo výskume, ale aj v klinickom prostredí si vyžaduje nepretržité úsilie o ich validáciu a preukázanie špecificity pre dané ochorenie. Oblasť biomarkerov bude nepochybne naďalej napredovať a bude čoraz dôkladnejšie preskúmaná. Keďže je stále pomerne novou a neustále sa inovuje a vyvíja, budúce výzvy zahŕňajú okrem iného aj štandardizáciu spôsobu, akým sa zbierajú, spracúvajú a skladujú biologické vzorky. Dlhodobé štúdie odoberajúce vzorky od tých istých pacientov v priebehu času a prepájanie meniacich sa hladín biomarkerov s klinickými informáciami umožnia určiť, ako sa menia hladiny špecifických biomarkerov počas progresie ochorenia a ako korelujú s jeho klinickými prejavmi.

Zoznam literatúry

- Abdelnour, C. *et al.* (2016) 'Alzheimer's disease cerebrospinal fluid biomarkers predict cognitive decline in Lewy body dementia', *Movement Disorders*, 31(8), pp. 1203–1208.
- Abu-Rumeileh, S. *et al.* (2018) 'Cerebrospinal fluid biomarkers in patients with frontotemporal dementia spectrum: A single-center study', *Journal of Alzheimer's Disease*, 66(2), pp. 551–563.
- Afroz, T. *et al.* (2017) 'Functional and dynamic polymerization of the ALS-linked protein TDP-43 antagonizes its pathologic aggregation', *Nature Communications*, 8, 45.
- Alonso, A. D. C. *et al.* (1994) 'Role of abnormally phosphorylated tau in the breakdown of microtubules in Alzheimer disease', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(12), pp. 5562–5566.
- Alzheimer's Association. (2020) '2020 Alzheimer's disease facts and figures', *Alzheimer's and Dementia*, 16(3), pp. 391–460.
- Anderson, J. P. *et al.* (2006) 'Phosphorylation of Ser-129 is the dominant pathological modification of α -synuclein in familial and sporadic Lewy body disease', *Journal of Biological Chemistry*, 281(40), pp. 29739–29752.
- Arai, T. *et al.* (2006) 'TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 351(3), pp. 602–611.
- Atkinson, A. J. *et al.* (2001) 'Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework', *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 69(3), pp. 89–95.
- Avila, J. *et al.* (2016) 'Tau Structures', *Frontiers in Aging Neuroscience*, 8, 262.
- Ayala, Y. M. *et al.* (2011) 'TDP-43 regulates its mRNA levels through a negative feedback loop', *EMBO Journal*, 30(2), pp. 277–288.
- Aydin, S. (2015) 'A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA', *Peptides*, 72, pp. 4–15.
- Ballard, C. *et al.* (2006) 'Differences in neuropathologic characteristics across the Lewy body dementia spectrum', *Neurology*, 67(11), pp. 1931–1934.
- Barthel, H. and Sabri, O. (2017) 'Clinical use and utility of amyloid imaging', *Journal of Nuclear Medicine*, 58(11), pp. 1711–1717.
- Baudier, J. *et al.* (1991) 'Purification and characterization of a brain-specific protein kinase C substrate, neurogranin (p17).', *Journal of Biological Chemistry*, 266(1), pp. 229–237.
- Bian, H. *et al.* (2008) 'CSF biomarkers in frontotemporal lobar degeneration with known pathology', *Neurology*, 70(19 Pt 2), pp. 1827–1835.
- Binder, L. I., Frankfurter, A. and Rebhun, L. I. (1985) 'The distribution of tau in the mammalian central nervous central nervous', *Journal of Cell Biology*, 101(4), pp. 1371–1378.
- Blennow, K. (2017) 'A Review of Fluid Biomarkers for Alzheimer's Disease: Moving from CSF to Blood', *Neurology and Therapy*. 6(Suppl 1), pp. 15–24.
- Blennow, K. and Hampel, H. (2003) 'CSF markers for incipient Alzheimer's disease', *Lancet Neurology*, 2(10), pp. 605–613.

- Blennow, K. and Zetterberg, H. (2015) 'Understanding Biomarkers of Neurodegeneration: Ultrasensitive detection techniques pave the way for mechanistic understanding', *Nature Medicine*, 21(3), pp. 217–219.
- Bourbouli, M. *et al.* (2017) 'Cerebrospinal Fluid TAR DNA-Binding Protein 43 Combined with Tau Proteins as a Candidate Biomarker for Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Dementia Spectrum Disorders', *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 44(3–4), pp. 144–152.
- Bousiges, O. *et al.* (2018) 'Cerebrospinal fluid Alzheimer biomarkers can be useful for discriminating dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease at the prodromal stage', *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 89(5), pp. 467–475.
- Braak, H. and Braak, E. (1997) 'Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories', *Neurobiology of Aging*, 18(4), pp. 351–357.
- Buerger, K. *et al.* (2002a) 'CSF tau protein phosphorylated at threonine 231 correlates with cognitive decline in MCI subjects', *Neurology*, 59(4), pp. 627–629.
- Buerger, K. *et al.* (2002b) 'Differential diagnosis of Alzheimer disease with cerebrospinal fluid levels of tau protein phosphorylated at threonine 231', *Archives of Neurology*, 59(8), pp. 1267–1272.
- Cao, J. *et al.* (2018) 'Advances in developing novel therapeutic strategies for Alzheimer's disease', *Molecular Neurodegeneration*, 13, 64.
- Carrillo-Mora, P., Luna, R. and Colín-Barenque, L. (2014) 'Amyloid beta: Multiple mechanisms of toxicity and only some protective effects?', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 795375.
- Colom-Cadena, M. *et al.* (2017) 'Regional Overlap of Pathologies in Lewy Body Disorders', *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 76(3), pp. 216–224.
- Conway, K. A. *et al.* (2000) 'Acceleration of oligomerization, not fibrillization, is a shared property of both α -synuclein mutations linked to early-onset Parkinson's disease: Implications for pathogenesis and therapy', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(2), pp. 571–576.
- Cullen, N. C. *et al.* (2021) 'Individualized prognosis of cognitive decline and dementia in mild cognitive impairment based on plasma biomarker combinations', *Nature Aging*, 1, pp. 114–123.
- Čechová, K. *et al.* (2019) *V bludišti jménem Alzheimer*. 1st edn. Praha: Management Press.
- De Jong, D. *et al.* (2007) 'CSF neurofilament proteins in the differential diagnosis of dementia', *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 78(9), pp. 936–938.
- De Vos, A. *et al.* (2016) 'The Cerebrospinal Fluid Neurogranin/BACE1 Ratio is a Potential Correlate of Cognitive Decline in Alzheimer's Disease', *Journal of Alzheimer's Disease*, 53(4), pp. 1523–1538.
- Deisenhammer, F. *et al.* (2009) 'EFNS guidelines on disease-specific CSF investigations', *European Journal of Neurology*, 16(6), pp. 760–770.
- DeKosky, S. T. and Scheff, S. W. (1990) 'Synapse loss in frontal cortex biopsies in Alzheimer's disease: Correlation with cognitive severity', *Annals of Neurology*, 27(5), pp. 457–464.
- Dewey, C. M. *et al.* (2011) 'TDP-43 Is Directed to Stress Granules by Sorbitol, a Novel Physiological Osmotic and Oxidative Stressor', *Molecular and Cellular Biology*, 31(5), pp. 1098–1108.
- Disanto, G. *et al.* (2017) 'Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis', *Annals of Neurology*, 81(6), pp. 857–870.

- Ehrenberg, A. J. *et al.* (2020) ‘Relevance of biomarkers across different neurodegenerative diseases’, *Alzheimer’s Research and Therapy*, 12(1), 56.
- Engvall E. and Perlmann P. (1972). ‘Enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa. 3. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes’, *Journal of Immunology*, 109(1), pp. 129–135.
- Fairfoul, G. *et al.* (2016) ‘Alpha-synuclein RT-QuIC in the CSF of patients with alpha-synucleinopathies’, *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 3(10), pp. 812–818.
- Fauvet, B. *et al.* (2012) ‘ α -Synuclein in central nervous system and from erythrocytes, mammalian cells, and *Escherichia coli* exists predominantly as disordered monomer’, *Journal of Biological Chemistry*, 287(19), pp. 15345–15364.
- Feneberg, E. *et al.* (2014) ‘Limited role of free TDP-43 as a diagnostic tool in neurodegenerative diseases’, *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*, 15(5–6), pp. 351–356.
- Ferri, C. P. *et al.* (2005) ‘Global prevalence of dementia: A Delphi consensus study’, *Lancet*, 366(9503), pp. 2112–2117. d
- Fischer, S. K. *et al.* (2015) ‘Emerging Technologies to Increase Ligand Binding Assay Sensitivity’, *AAPS Journal*, 17(1), pp. 93–101.
- Forman, M. S. *et al.* (2006) ‘Frontotemporal dementia: Clinicopathological correlations’, *Annals of Neurology*, 59(6), pp. 952–962.
- Foulds, P. *et al.* (2008) ‘TDP-43 protein in plasma may index TDP-43 brain pathology in Alzheimer’s disease and frontotemporal lobar degeneration’, *Acta Neuropathologica*, 116(2), pp. 141–146.
- Freibaum, B. D. *et al.* (2010) ‘Global analysis of TDP-43 interacting proteins reveals strong association with RNA splicing and translation machinery’, *Journal of Proteome Research*, 9(2), pp. 1104–1120.
- Gaetani, L. *et al.* (2019) ‘Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders’, *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 90(8), pp. 870–881.
- Galvin, J. E., Lee, V. M. Y. and Trojanowski, J. Q. (2001) ‘Synucleinopathies: Clinical and pathological implications’, *Archives of Neurology*. American Medical Association, pp. 186–190.
- Gan, S. D. and Patel, K. R. (2013) ‘Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay’, *Journal of Investigative Dermatology*, 133(9), e12.
- Geisler, N. and Weber, K. (1981) ‘Self-assembly in vitro of the 68,000 molecular weight component of the mammalian neurofilament triplet proteins into intermediate-sized filaments’, *Journal of Molecular Biology*, 151(3), pp. 565–571.
- Gerendasy, D. D. *et al.* (1994) ‘Mutational and biophysical studies suggest RC3/neurogranin regulates calmodulin availability’, *Journal of Biological Chemistry*, 269(35), pp. 22420–22426. doi: 10.1016/s0021-9258(17)31806-9.
- Ghidoni, R. *et al.* (2008) ‘Low plasma progranulin levels predict progranulin mutations in frontotemporal lobar degeneration’, *Neurology*, 71(16), pp. 1235–1239.
- Giasson, B. I. *et al.* (1999) ‘Mutant and wild type human α -synucleins assemble into elongated filaments with distinct morphologies in vitro’, *Journal of Biological Chemistry*, 274(12), pp. 7619–7622.
- Giasson, B. I. *et al.* (2001) ‘A Hydrophobic Stretch of 12 Amino Acid Residues in the Middle of α -Synuclein Is Essential for Filament Assembly’, *Journal of Biological Chemistry*, 276(4), pp. 2380–2386.

- Gisslén, M. *et al.* (2016) 'Plasma Concentration of the Neurofilament Light Protein (NFL) is a Biomarker of CNS Injury in HIV Infection: A Cross-Sectional Study', *EBioMedicine*, 3, pp. 135–140.
- Goedert, M. and Jakes, R. (1990) 'Expression of separate isoforms of human tau protein: Correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization', *EMBO Journal*, 9(13), pp. 4225–4230.
- Goedert, M. *et al.* (1989) 'Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease', *Neuron*, 3(4), pp. 519–526.
- Goldstein, M. E., Sternberger, N. H. and Sternberger, L. A. (1987) 'Phosphorylation protects neurofilaments against proteolysis', *Journal of Neuroimmunology*, 14(2), pp. 149–160.
- Gomperts, S. N. *et al.* (2008) 'Imaging amyloid deposition in Lewy body diseases', *Neurology*, 71(12), pp. 903–910.
- Goossens, J. *et al.* (2018) 'Diagnostic value of cerebrospinal fluid tau, neurofilament, and progranulin in definite frontotemporal lobar degeneration', *Alzheimer's Research and Therapy*, 10, 31.
- Gorno-Tempini, M. L. *et al.* (2011) 'Classification of primary progressive aphasia and its variants', *Neurology*, 76(11), pp. 1006–1014.
- Grossman, M. *et al.* (2005) 'Cerebrospinal fluid profile in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease', *Annals of Neurology*, 57(5), pp. 721–729.
- Haass, C. *et al.* (1993) 'Normal Cellular Processing of the β -Amyloid Precursor Protein Results in the Secretion of the Amyloid β Peptide and Related Molecules', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 695(1), pp. 109–116.
- Hampel, H. *et al.* (2001) 'Tracking of Alzheimer's disease progression with cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at threonine 231', *Annals of Neurology*, 49(4), pp. 545–546.
- Hampel, H. *et al.* (2004) 'Measurement of Phosphorylated Tau Epitopes in the Differential Diagnosis of Alzheimer Disease: A Comparative Cerebrospinal Fluid Study', *Archives of General Psychiatry*, 61(1), pp. 95–102.
- Hansson, O. *et al.* (2006) 'Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: A follow-up study', *Lancet Neurology*, 5(3), pp. 228–234.
- Hardy, J. A. and Higgins, G. A. (1992) 'Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis', *Science*, 256(5054), pp. 184–185.
- Headley, A. *et al.* (2018) 'Neurogranin as a predictor of memory and executive function decline in MCI patients', *Neurology*, 90(10), pp. 887–895.
- Hebert, L. E. *et al.* (2013) 'Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census', *Neurology*, 80(19), pp. 1778–1783.
- Hernandez, I. *et al.* (2017) 'Frontotemporal Lobar Degeneration (FTLD): Review and Update for Clinical Neurologists', *Current Alzheimer Research*, 15(6), pp. 511–530.
- Hesse, C. *et al.* (2001) 'Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke', *Neuroscience Letters*, 297(3), pp. 187–190.
- Hodges, J. R. *et al.* (2003) 'Survival in frontotemporal dementia', *Neurology*, 61(3), pp. 349–354.
- Huang, K. P., Huang, F. L. and Chen, H. C. (1993) 'Characterization of a 7.5-kDa Protein Kinase C Substrate (RC3 Protein, Neurogranin) from Rat Brain', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 305(2), pp. 570–580.

- Chen, A. K. H. *et al.* (2010) 'Induction of amyloid fibrils by the C-terminal fragments of TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis', *Journal of the American Chemical Society*, 132(4), pp. 1186–1187.
- Chen, G. F. *et al.* (2017) 'Amyloid beta: Structure, biology and structure-based therapeutic development', *Acta Pharmacologica Sinica*, 38(9), pp. 1205–1235.
- Irwin, D. J. *et al.* (2018) 'CSF tau and β -amyloid predict cerebral synucleinopathy in autopsied Lewy body disorders', *Neurology*, 90(12), pp. 1038–1046.
- Irwin, D. J., Trojanowski, J. Q. and Grossman, M. (2013) 'Cerebrospinal fluid biomarkers for differentiation of frontotemporal lobar degeneration from Alzheimer's disease', *Frontiers in Aging Neuroscience*, 5, 6.
- Ittner, L. M. *et al.* (2010) 'Dendritic function of tau mediates amyloid- β toxicity in Alzheimer's disease mouse models', *Cell*, 142(3), pp. 387–397.
- Iwatsubo, T. *et al.* (1994) 'Visualization of A β 42(43) and A β 40 in senile plaques with end-specific A β monoclonals: Evidence that an initially deposited species is A β 42(43)', *Neuron*, 13(1), pp. 45–53.
- Jack, C. R. *et al.* (2010) 'Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade', *The Lancet Neurology*, 9(1), pp. 119–128.
- Jack, C. R. *et al.* (2018) 'NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease', *Alzheimer's and Dementia*. Elsevier Inc., pp. 535–562.
- Jakes, R., Spillantini, M. G. and Goedert, M. (1994) 'Identification of two distinct synucleins from human brain', *FEBS Letters*, 345(1), pp. 27–32.
- Janelidze, S. *et al.* (2016a) 'CSF A β 42/A β 40 and A β 42/A β 38 ratios: Better diagnostic markers of Alzheimer disease', *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 3(3), pp. 154–165.
- Janelidze, S. *et al.* (2016b) 'Plasma β -amyloid in Alzheimer's disease and vascular disease', *Scientific Reports*, 6, 26801.
- Jansen, W. J. *et al.* (2015) 'Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: A meta-analysis', *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 313(19), pp. 1924–1938.
- Jia, L. *et al.* (2021) 'Blood neuro-exosomal synaptic proteins predict Alzheimer's disease at the asymptomatic stage', *Alzheimer's and Dementia*, 17(1), pp. 49–60.
- Jiang, L. L. *et al.* (2013) 'Structural transformation of the amyloidogenic core region of TDP-43 protein initiates its aggregation and cytoplasmic inclusion', *Journal of Biological Chemistry*, 288(27), pp. 19614–19624.
- Johnson, K. A. *et al.* (1987) 'Cerebral Perfusion Imaging in Alzheimer's Disease: Use of Single Photon Emission Computed Tomography and Iofetamine Hydrochloride I 123', *Archives of Neurology*, 44(2), pp. 165–168.
- Junttila, A. *et al.* (2016) 'Cerebrospinal Fluid TDP-43 in Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients with and without the C9ORF72 Hexanucleotide Expansion', *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders Extra*, 6(1), pp. 142–149. doi:
- Kaerst, L. *et al.* (2014) 'Using cerebrospinal fluid marker profiles in clinical diagnosis of dementia with lewy bodies, Parkinson's disease, and Alzheimer's disease', *Journal of Alzheimer's Disease*, 38(1), pp. 63–73.
- Kang, U. J. *et al.* (2019) 'Comparative study of cerebrospinal fluid α -synuclein seeding aggregation assays for diagnosis of Parkinson's disease', *Movement Disorders*, 34(4), pp. 536–544.

- Karikari, T. K. *et al.* (2020) 'Blood phosphorylated tau 181 as a biomarker for Alzheimer's disease: a diagnostic performance and prediction modelling study using data from four prospective cohorts', *The Lancet Neurology*, 19(5), pp. 422–433.
- Khlistunova, I. *et al.* (2006) 'Inducible expression of tau repeat domain in cell models of tauopathy: Aggregation is toxic to cells but can be reversed by inhibitor drugs', *Journal of Biological Chemistry*, 281(2), pp. 1205–1214.
- Koopman, K. *et al.* (2009) 'Improved discrimination of autopsy-confirmed Alzheimer's disease (AD) from non-AD dementias using CSF P-tau181P', *Neurochemistry International*, 55(4), pp. 214–218.
- Kovacs, G. G. *et al.* (2013) 'Non-Alzheimer neurodegenerative pathologies and their combinations are more frequent than commonly believed in the elderly brain: A community-based autopsy series', *Acta Neuropathologica*, 126(3), pp. 365–384.
- Kubota, Y., Putkey, J. A. and Neal Waxham, M. (2007) 'Neurogranin controls the spatiotemporal pattern of postsynaptic Ca²⁺/CaM signaling', *Biophysical Journal*, 93(11), pp. 3848–3859.
- Kvartberg, H. *et al.* (2015) 'Cerebrospinal fluid levels of the synaptic protein neurogranin correlates with cognitive decline in prodromal Alzheimer's disease', *Alzheimer's and Dementia*, 11(10), pp. 1180–1190.
- Lameka, K., Farwell, M. D. and Ichise, M. (2016) 'Positron Emission Tomography' in Masdeu J. C., González R. G. *Handbook of Clinical Neurology*. Vol. 135 (3rd series). Elsevier B. V. pp. 209–227.
- Lee, M. K. and Cleveland, D. W. (1996) 'Neuronal Intermediate Filaments', *Annual Review of Neuroscience*, 19(1), pp. 187–217.
- Leuzy, A. *et al.* (2018) 'In vivo Detection of Alzheimer's Disease', *Yale Journal of Biology and Medicine*, 91(3), pp. 291–300.
- Lewczuk, P. *et al.* (2014) 'Amyloid- β 42/40 cerebrospinal fluid concentration ratio in the diagnostics of Alzheimer's disease: Validation of two novel assays', *Journal of Alzheimer's Disease*, 43(1), pp. 183–191.
- Lewczuk, P. *et al.* (2018) 'Cerebrospinal fluid and blood biomarkers for neurodegenerative dementias: An update of the Consensus of the Task Force on Biological Markers in Psychiatry of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry', *The World Journal of Biological Psychiatry*, 19(4), pp. 244–328.
- Liem, R. K. H. and Hutchison, S. B. (1982) 'Purification of Individual Components of the Neurofilament Triplet: Filament Assembly from the 70 000-Dalton Subunit', *Biochemistry*, 21(13), pp. 3221–3226.
- Lin, A. V. (2015) 'Indirect ELISA', *Methods in Molecular Biology*, 1318, pp. 51–59.
- Lindwall, G. and Cole, R. D. (1984) 'Phosphorylation affects the ability of tau protein to promote microtubule assembly', *Journal of Biological Chemistry*, 259(8), pp. 5301–5305.
- Liu, W. *et al.* (2020) 'Neurogranin as a cognitive biomarker in cerebrospinal fluid and blood exosomes for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment', *Translational Psychiatry*, 10(1), pp. 125–134.
- Llorens, F. *et al.* (2016) 'Cerebrospinal α -synuclein in α -synuclein aggregation disorders: tau/ α -synuclein ratio as potential biomarker for dementia with Lewy bodies', *Journal of Neurology*, 263(11), pp. 2271–2277.
- Lomen-hoerth, C., Anderson, T. and Miller, B. (2002) 'The overlap of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia', *Neurology*, 59, pp. 1077–1079.
- MacKenzie, I. R. A. *et al.* (2010) 'Nomenclature and nosology for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration: An update', in *Acta Neuropathologica*, 119(1) pp. 1–4.

- Maeda, S. *et al.* (2007) 'Granular tau oligomers as intermediates of tau filaments', *Biochemistry*, 46(12), pp. 3856–3861.
- Maier, F. C. *et al.* (2014) 'Longitudinal PET-MRI reveals β 2-amyloid deposition and rCBF dynamics and connects vascular amyloidosis to quantitative loss of perfusion', *Nature Medicine*, 20(12), pp. 1485–1492.
- Mann, D. M. A., Yates, P. O. and Marcyniuk, B. (1984) 'Alzheimer's Presenile Dementia, Senile Dementia of Alzheimer Type and Down's Syndrome in Middle Age Form an Age Related Continuum of Pathological Changes', *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 10(3), pp. 185–207.
- Martínez de Arrieta, C. *et al.* (1999) 'The Human RC3 Gene Homolog, NRG1 Contains a Thyroid Hormone-Responsive Element Located in the First Intron', *Endocrinology*, 140(1), pp. 335–343.
- Mattsson, N. *et al.* (2017a) '18 F-AV-1451 and CSF T-tau and P-tau as biomarkers in Alzheimer's disease', *EMBO Molecular Medicine*, 9(9), pp. 1212–1223.
- Mattsson, N. *et al.* (2017b) 'Association of plasma neurofilament light with neurodegeneration in patients with Alzheimer disease', *JAMA Neurology*, 74(5), pp. 557–566.
- Mawuenyega, K. G. *et al.* (2010) 'Decreased clearance of CNS β -amyloid in Alzheimer's disease', *Science*, 330(6012), 1774.
- Maxwell, W. L., Povlishock, J. T. and Graham, D. L. (1997) 'A mechanistic analysis of nondisruptive axonal injury: A review', *Journal of Neurotrauma*, 14(7), pp. 419–440.
- McKeith, I. G. *et al.* (2017) 'Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies', *Neurology*, 89(1), pp. 88–100.
- McKhann, G. M. *et al.* (2001) 'Work Group on Frontotemporal Dementia and Pick's Disease. Clinical and pathological diagnosis of frontotemporal dementia: report of the Work Group on Frontotemporal Dementia and Pick's Disease', *Archives of Neurology*, 58(11), pp. 1803–1809.
- Meeter, L. H. H. *et al.* (2018) 'Clinical value of neurofilament and phospho-tau/tau ratio in the frontotemporal dementia spectrum', *Neurology*, 90(14), pp. 1231–1239.
- Mielke, M. M. *et al.* (2017) 'Association of plasma total tau level with cognitive decline and risk of mild cognitive impairment or dementia in the Mayo Clinic study on aging', *JAMA Neurology*, 74(9), pp. 1073–1080.
- Mollenhauer, B. *et al.* (2011) ' α -Synuclein and tau concentrations in cerebrospinal fluid of patients presenting with parkinsonism: A cohort study', *The Lancet Neurology*, 10(3), pp. 230–240.
- Murley, A. G. *et al.* (2020) 'Redefining the multidimensional clinical phenotypes of frontotemporal lobar degeneration syndromes', *Brain*, 143(5), pp. 1555–1571.
- Nakamura, A. *et al.* (2018) 'High performance plasma amyloid- β biomarkers for Alzheimer's disease', *Nature*, 554(7691), pp. 249–254.
- Nayate, A. P. *et al.* (2015) 'Use of standardized uptake value ratios decreases interreader variability of [18F] florbetapir PET brain scan interpretation', *American Journal of Neuroradiology*, 36(7), pp. 1237–1244.
- Neary, D. *et al.* (1990) 'Frontal lobe dementia and motor neuron disease', *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry*, 53(1), pp. 23–32.
- Neumann, M. *et al.* (2006) 'Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis', *Science*, 314(5796), pp. 130–133.

- Olsson, B. *et al.* (2016) 'CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis', *The Lancet Neurology*, 15(7), pp. 673–684.
- Ono, K. *et al.* (2012) 'Cross-seeding effects of amyloid β -protein and α -synuclein', *Journal of Neurochemistry*, 122(5), pp. 883–890.
- Palmqvist, S. *et al.* (2020) 'Discriminative Accuracy of Plasma Phospho-tau217 for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders', *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 324(8), pp. 772–781.
- Palmqvist, S., Mattsson, N. and Hansson, O. (2016) 'Cerebrospinal fluid analysis detects cerebral amyloid- β accumulation earlier than positron emission tomography', *Brain: a journal of neurology*, 139(Pt. 4), pp. 1226–1236.
- Perry, D. C. *et al.* (2017) 'Clinicopathological correlations in behavioural variant frontotemporal dementia', *Brain*, 140, pp. 3329–3345.
- Petersen, A. and Gerges, N. Z. (2015) 'Neurogranin regulates CaM dynamics at dendritic spines', *Scientific Reports*, 5, 1135.
- Petersen, R. C. *et al.* (2016) 'Association of elevated amyloid levels with cognition and biomarkers in cognitively normal people from the community', *JAMA Neurology*, 73(1), pp. 85–92.
- Petzold, A. (2005) 'Neurofilament phosphoforms: Surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss', in *Journal of the Neurological Sciences*, 233(1-2), pp. 183–198.
- Portelius, E. *et al.* (2018) 'Cerebrospinal fluid neurogranin concentration in neurodegeneration: relation to clinical phenotypes and neuropathology', *Acta Neuropathologica*, 136(3), pp. 363–376.
- Prasad, A. *et al.* (2019) 'Molecular mechanisms of TDP-43 misfolding and pathology in amyotrophic lateral sclerosis', *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12, 25.
- Price, J. L. *et al.* (2009) 'Neuropathology of nondemented aging: Presumptive evidence for preclinical Alzheimer disease', *Neurobiology of Aging*, 30(7), pp. 1026–1036.
- Rajendran, L. *et al.* (2006) 'Alzheimer's disease β -amyloid peptides are released in association with exosomes', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(30), pp. 11172–11177.
- Ran, X. *et al.* (2003) 'Structural and dynamic characterization of a neuron-specific protein kinase C substrate, neurogranin', *Biochemistry*, 42(17), pp. 5143–5150.
- Represa, A. *et al.* (1990) 'Neurogranin: Immunocytochemical Localization of a Brain-Specific Protein Kinase C Substrate', *The Journal of Neuroscience*, 10(12), pp. 3782–3792.
- Riemenschneider, M. *et al.* (2003) 'Phospho-tau/total tau ratio in cerebrospinal fluid discriminates Creutzfeldt-Jakob disease from other dementias', *Molecular Psychiatry*, 8(3), pp. 343–347.
- Rissin, D. M. *et al.* (2010) 'Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations', *Nature Biotechnology*, 28(6), pp. 595–599.
- Rohrer, J. D. *et al.* (2016) 'Serum neurofilament light chain protein is a measure of disease intensity in frontotemporal dementia', *Neurology*, 87(13), pp. 1329–1336.
- Rosso, S. M. *et al.* (2003) 'Frontotemporal dementia in The Netherlands: Patient characteristics and prevalence estimates from a population-based study', *Brain*, 126(9), pp. 2016–2022.

- Sadigh-Eteghad, S. *et al.* (2015) 'Amyloid-beta: A crucial factor in Alzheimer's disease', *Medical Principles and Practice*, 24(1) pp. 1–10.
- Saido, T. and Leissring, M. A. (2012) 'Proteolytic degradation of amyloid β -protein', *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(6), a006379.
- Sato, C. *et al.* (2018) 'Tau Kinetics in Neurons and the Human Central Nervous System', *Neuron*, 97(6), pp. 1284–1298.
- Senanarong, V. *et al.* (2020) 'Plasma alpha synuclein (a-syn) as a potential biomarker of diseases with synucleinopathy', *Alzheimer's & Dementia*, 16, e044409.
- Serpell, L. C. *et al.* (2000) 'Fiber diffraction of synthetic α -synuclein filaments shows amyloid-like cross- β conformation', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(9), pp. 4897–4902.
- Shahnawaz, M. *et al.* (2017) 'Development of a biochemical diagnosis of Parkinson disease by detection of α -synuclein misfolded aggregates in cerebrospinal fluid', *JAMA Neurology*, 74(2), pp. 163–172.
- Schlaepfer, W. W. *et al.* (1985) 'An Immunoblot Study of Neurofilament Degradation In Situ and During Calcium-Activated Proteolysis', *Journal of Neurochemistry*, 44(2), pp. 502–509.
- Schrijver, R. S. and Kramps, J. A. (1998) 'Critical factors affecting the diagnostic reliability of enzyme-linked immunosorbent assay formats', *Revue scientifique et technique*, 17(2), pp. 550–561.
- Simmons, L. K. *et al.* (1994) 'Secondary structure of amyloid beta peptide correlates with neurotoxic activity in vitro.', *Molecular Pharmacology*, 45(3), pp. 373–379.
- Sjögren, M. *et al.* (2000) 'Cytoskeleton proteins in CSF distinguish frontotemporal dementia from AD', *Neurology*, 54(10), pp. 1960–1964.
- Sjögren, M. *et al.* (2001) 'Neurofilament protein in cerebrospinal fluid: A marker of white matter changes', *Journal of Neuroscience Research*, 66(3), pp. 510–516.
- Spies, P. E. *et al.* (2010) 'The Cerebrospinal Fluid Amyloid $\beta_{42/40}$ Ratio in the Differentiation of Alzheimer's Disease from Non-Alzheimer's Dementia', *Current Alzheimer Research*, 7(5), pp. 470–476.
- Spillantini, M. G. *et al.* (1998) ' α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(11), pp. 6469–6473.
- Steinacker, P. *et al.* (2008) 'TDP-43 in cerebrospinal fluid of patients with frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis', *Archives of Neurology*, 65(11), pp. 1481–1487.
- Strozyk, D. *et al.* (2003) 'CSF A β 42 levels correlate with amyloid-neuropathology in a population-based autopsy study', *Neurology*, 60(4), pp. 652–656.
- Suppiah, S., Didier, M. A. and Vinjamuri, S. (2019) 'The who, when, why, and how of PET amyloid imaging in management of Alzheimer's disease - review of literature and interesting images', *Diagnostics*, 9(2), 65.
- Talafous, J. *et al.* (1994) 'Solution Structure of Residues 1–28 of the Amyloid β -Peptide', *Biochemistry*, 33(25), pp. 7788–7796.
- Tateno, F. *et al.* (2012) 'Alpha-synuclein in the cerebrospinal fluid differentiates synucleinopathies (parkinson disease, dementia with lewy bodies, multiple system atrophy) from Alzheimer disease', *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 26(3), pp. 213–216.

- Teunissen, C. E. *et al.* (2018) 'Plasma Amyloid- β (A β 42) Correlates with Cerebrospinal Fluid A β 42 in Alzheimer's Disease', *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 62(4), pp. 1857–1863.
- Thijssen, E. H. *et al.* (2020) 'Diagnostic value of plasma phosphorylated tau181 in Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration', *Nature Medicine*, 26(3), pp. 387–397.
- Thorsell, A. *et al.* (2010) 'Neurogranin in cerebrospinal fluid as a marker of synaptic degeneration in Alzheimer's disease', *Brain Research*, 1362, pp. 13–22.
- Tokuda, T. *et al.* (2006) 'Decreased α -synuclein in cerebrospinal fluid of aged individuals and subjects with Parkinson's disease', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 349(1), pp. 162–166.
- Vågberg, M. *et al.* (2015) 'Levels and age dependency of neurofilament light and glial fibrillary acidic protein in healthy individuals and their relation to the brain parenchymal fraction', *PLOS ONE*, 10(8), e0135886.
- Van Steenoven, I. *et al.* (2016) 'Cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarkers across the spectrum of Lewy body diseases: Results from a large multicenter cohort', *Journal of Alzheimer's Disease*, 54(1), pp. 287–295.
- Van Steenoven, I. *et al.* (2018) ' α -Synuclein species as potential cerebrospinal fluid biomarkers for dementia with lewy bodies', *Movement Disorders*, 33(11), pp. 1724–1733.
- Vanderstichele, H. *et al.* (2006) 'Analytical performance and clinical utility of the INNOTEST® PHOSPHO-TAU(181P) assay for discrimination between Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies', *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 44(12), pp. 1472–1480.
- Vanmechelen, E. J. M. *et al.* (2000) 'CSF-phospho-tau as a promising marker for discriminating Alzheimer disease from Lewy body dementia', *Neurobiology of Aging*, 21, p. 272.
- Verberk, I. M. W. *et al.* (2018) 'Plasma Amyloid as Prescreener for the Earliest Alzheimer Pathological Changes', *Annals of Neurology*, 84(5), pp. 648–658.
- Villemagne, V. L. *et al.* (2013) 'Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: A prospective cohort study', *The Lancet Neurology*, 12(4), pp. 357–367.
- Voller, A., Bartlett, A. and Bidwell, D. E. (1978) 'Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques', *Journal of Clinical Pathology*, 31(6), pp. 507–520.
- Wallin, Å. K. *et al.* (2010) 'CSF biomarkers predict a more malignant outcome in Alzheimer disease', *Neurology*, 74(19), pp. 1531–1537.
- Walsh, D. M. *et al.* (2002) 'Naturally secreted oligomers of amyloid β protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo', *Nature*, 416(6880), pp. 535–539.
- Wang, Y. and Mandelkow, E. (2016) 'Tau in physiology and pathology', *Nature Reviews Neuroscience*, 17(1), pp. 5–21.
- Wang, Y. *et al.* (2012) 'Phosphorylated α -synuclein in Parkinson's disease', *Science Translational Medicine*, 4(121), 121ra20.
- Watson, J. B. *et al.* (1990) 'Subtractive cDNA cloning of RC3, a rodent cortex-enriched mRNA encoding a novel 78 residue protein', *Journal of Neuroscience Research*, 26(4), pp. 397–408.
- Watson, J. B., Sutcliffe, J. G. and Fisher, R. S. (1992) 'Localization of the protein kinase C phosphorylation/calmodulin-binding substrate RC3 in dendritic spines of neostriatal neurons', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(18), pp. 8581–8585.

- Weingarten, M. D. *et al.* (1975) 'A protein factor essential for microtubule assembly', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72(5), pp. 1858–1862.
- Wellington, H. *et al.* (2016) 'Increased CSF neurogranin concentration is specific to Alzheimer disease', *Neurology*, 86(9), pp. 829–835.
- Winston, C. N. *et al.* (2016) 'Prediction of conversion from mild cognitive impairment to dementia with neuronally derived blood exosome protein profile', *Alzheimer's and Dementia: Diagnosis, Assessment and Disease Monitoring*, 3, pp. 63–72.
- Wischik, C. M. *et al.* (1988) 'Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(12), pp. 4506–4510.
- Wobst, H. J. *et al.* (2017) 'Cytoplasmic relocation of TAR DNA-binding protein 43 is not sufficient to reproduce cellular pathologies associated with ALS in vitro', *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, 46.
- Wood, M. J. A., O'Loughlin, A. J. and Lakhali, S. (2011) 'Exosomes and the blood-brain barrier: Implications for neurological diseases', *Therapeutic Delivery*, 2(9) pp. 1095–1099.
- Yang, M. and Teplow, D. B. (2008) 'Amyloid β -Protein Monomer Folding: Free-Energy Surfaces Reveal Alloform-Specific Differences', *Journal of Molecular Biology*, 384(2), pp. 450–464.
- Zaccai, J., McCracken, C. and Brayne, C. (2005) 'A systematic review of prevalence and incidence studies of dementia with Lewy bodies', *Age and Ageing*, 34(6), pp. 561–566.
- Zhang, Y. J. *et al.* (2009) 'Aberrant cleavage of TDP-43 enhances aggregation and cellular toxicity', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(18), pp. 7607–7612.
- Zhong, L. and Gerges, N. Z. (2010) 'Neurogranin and synaptic plasticity balance', *Communicative & Integrative Biology*, 3(4), pp. 340–342.