

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

Natálie Měchová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Huntingtonova chorea  
Bakalářská práce

2022

Natálie Měchová

University of Pardubice  
Faculty of Chemical Technology

Huntington disease  
Bachelor thesis

2022

Natálie Měchová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2021/2022

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Natálie Měchová**  
Osobní číslo: **C19266**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Huntingtonova choroba**  
Téma práce anglicky: **Huntington's Disease**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se Huntingtonovy choroby.
2. Uvést genetickou podstatu onemocnění.
3. Popsat projevy Huntingtonovy choroby, incidenci a mortalitu.
4. Uvést diagnostiku a možnosti léčby.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.**  
děkan

L.S.

**prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Huntingtonova chorea jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 23. 6. 2022

Natálie Měchová

## **Poděkování**

Chtěla bych mockrát poděkovat vedoucí této práce Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D., za věnovaný čas, veškeré rady, opravy a kontrolu mé práce, její přístup, ochotu a možnosti konzultace.

## **ANOTACE**

Huntingtonova chorea je neurodegenerativní onemocnění, které způsobuje postupné poškození mozku, demenci a poruchy kognitivních funkcí. Jedná se o autozomální genetickou poruchu. Tato práce popisuje genetiku, patogenezi, průběh a diagnostiku onemocnění. Dále se zaměřuje na popis klinických symptomů a možnosti terapie.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Huntingtonova chorea, symptomy, léčba, patogeneze, polyglutaminová expanze, diagnostika

## **TITLE**

Huntington disease

## **ANNOTATION**

Huntington chorea is neurodegenerative disease which causes damages in brain, demention and deficit in cognitive functions. It is autosomal genetic disease. This bachelor's thesis describes genetics, pathogenesis, the course of the disease and diagnostic. Further it focuses on description of clinical features and possible options of therapy.

## **KEYWORDS**

Huntington disease, clinical features, pathogenesis, polyglutamine expansion, diagnosis, medical treatment



## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AD	autozomálně dominantní
AR	autozomálně recesivní
ASO	protismyslné oligonukleotidy (Antisense Oligonukleotides)
BDNF	mozkový neurotrofický faktor (Brain-Derived Neurotrophic Factor)
CAG	kodon glutaminu
CMRglc	cerebrální metabolické hladiny glukózy (Cortical Cerebral Metabolic Rate of Glucose)
CREBBP	vazebný protein vázající aktivní fosforylovanou formu vazebného proteinu cyklického adenosin-5'-monofosfátu odpovědního prvku (Cyclic Adenosine Monophosphate Response Element Binding Protein Binding Protein)
CRISPR	seskupené pravidelně rozložené krátké palindromové repetice (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)
DMB	demethyleneberberin
DNA	deoxyribonukleonová kyselina (Deoxyribonucleic Acid)
ESC	embryonální kmenové buňky (Embryonic Stem Cells)
(FDG)-PET	18-fluorodeoxyglukóza pozitronová emisní tomografie
GABA	kyselina gama-aminomáselná (Gamma-Aminobutyric Acid)
GD	gonozomálně dominantní
GR	gonozomálně recesivní
GST-HD51	glutathion S-transferáza v expanzi 51 glutaminu (Glutathione S-transferase (GST)-Huntington's disease)
HAP1	huntingtin asociovaný protein
HD	Huntingtonova chorea (Huntington disease)
HTT	huntingtin protein
IL-6	interleukin-6

IVF	<i>in vitro</i> fertilizace ( <i>in vitro</i> fertilization)
miRNA	mikroRNA
MPT	mitochondriální permeabilní přechod (Mitochondrial Permeability Transition)
MSC	mezenchymální kmenové buňky (Mesenchymal Stem Cells)
NF-κB	nukleární faktor kappa
NII	intranukleární inkluze (Intranuclear Neuronal Inclusions)
NMDA	N-methyl-D-asparagová kyselina (receptor)
NSC	nervové kmenové buňky (Neural Stem Cells)
OCD	obsedantně kompulzivní porucha (Obsessive Compulsive Disorder)
p53	protein s velikostí 53 kD
PET	pozitronová emisní tomografie
PGC – 1α	koaktivátor gama receptoru aktivizovaný peroxizomovým proliferátorem (Peroxisome Proliferator-activated Receptor Gamma Coactivator 1-alpha)
PGD	prenatální genetická diagnostika
PK11195	N-Butan-2-yl-1-(2-chlorofenyl)-N-methylisochinolin-3-carboxamid
PND	prenatální diagnostika
polyQ	polyglutaminový úsek
PSD-95	postsynaptický hustotní protein (Postsynaptic Density Protein)
RNA	ribonukleová kyselina (Ribonucleic Acid)
RNAi	sloučeniny RNA interference
RT-PCR	polymerázová řetězová reakce v reálném čase (Real Time Polymerase Chain Reaction)
SCA	spinocerebelární ataxie (Spinocerebral Ataxia)
shRNA	krátká vlásenková RNA (Short Hair RNA)
siRNA	krátká interferující RNA (Short Interference RNA)

TBZ	tetrabenzin
TFIIF	transkripční faktor II F
TrkB	kináza B tropomyosinového receptoru (Tropomyosin Receptor Kinase B)
(VMAT)-2	vezikulární monoaminový transportér 2
YAC	umělý kvasinkový chromozom (Yeast Artificial Chromosome)
ZFP	protein se zinkovým prstem (Zinc Finger Protein)
ZFTR Repressor)	transkripční receptor se zinkovým prstem (Zinc Finger Transcriptional

## SEZNAM ILUSTRACÍ

<b>Obrázek 1:</b> Rodokmen autozomálně dominantní choroby .....	18
<b>Obrázek 2:</b> Rodokmen autozomálně recesivní choroby .....	19
<b>Obrázek 3:</b> Rodokmen gonozomálně recesivní choroby .....	20
<b>Obrázek 4:</b> Rodokmen gonozomálně dominantní choroby .....	20
<b>Obrázek 5:</b> Průřez zdravého mozku (vlevo), průřez mozku s atrofií u HD jedince (vpravo) .	40

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>15</b>
<b>1 HISTORIE</b> .....	<b>16</b>
1.1 JEZERO MARACAIBO .....	16
<b>2 GENETIKA</b> .....	<b>18</b>
2.1 AUTOZOMÁLNĚ DOMINANTNÍ CHOROBY .....	18
2.2 AUTOZOMÁLNĚ RECESIVNÍ CHOROBY .....	19
2.3 GONOSOMÁLNĚ RECESIVNÍ CHOROBY.....	19
2.4 GONOSOMÁLNĚ DOMINANTNÍ CHOROBY.....	20
<b>3 ETIOLOGIE</b> .....	<b>21</b>
<b>4 PREVALENCE</b> .....	<b>22</b>
<b>5 PATOGENEZE HD</b> .....	<b>23</b>
5.1 AGREGACE PROTEINŮ A NUKLEÁRNÍ INKLUZE .....	23
5.1.1 <i>Tvorba agregátů proteolytickým štěpením proteinu</i> .....	24
5.1.2 <i>Intracelulární nukleární inkluze u transgenních myší s HD</i> .....	24
5.1.3 <i>Úloha chaperonů v agregaci proteinů</i> .....	25
5.2 PROTEOLYTICKÉ ŠTĚPENÍ HTT PROTEINU.....	25
5.2.1 <i>Aktivace kalpainů u HD</i> .....	26
5.2.2 <i>Absence neuropatologií spojených s toxicitou proteolytických štěpných fragmentů</i> 26	
5.3 POTLAČENÍ TRANSKRIPCE U HD .....	27
5.4 ROLE BDNF FAKTORU V HD.....	27
5.5 DEFEKTY MITOCHONDRIÁLNÍHO MECHANISMU A OXIDATIVNÍ FOSFORYLACE U HD.....	28
5.6 TERMOREGULACE A METABOLICKÉ DEFEKTY U HD MODELŮ .....	28
5.7 AXONÁLNÍ TRANSPORT .....	29
5.8 HUNTINGTIN .....	29
5.8.1 <i>HTT divokého typu</i> .....	30
5.9 EXPRESE HD GENU V NEBUNĚČNÉ TKÁNI .....	31
5.10 ZÁNĚT U HD A ROLE MIKROGLIÍ .....	32

<b>6</b>	<b>KLINICKÉ SYMPTOMY HD .....</b>	<b>34</b>
6.1	MOTORICKÉ ZMĚNY .....	34
6.1.1	<i>Chorea</i> .....	34
6.1.2	<i>Dystonie</i> .....	35
6.1.3	<i>Bradykineze</i> .....	35
6.2	KOGNITIVNÍ FUNKCE.....	35
6.2.1	<i>Deprese</i> .....	36
6.2.2	<i>OCD</i> .....	36
6.2.3	<i>Demence</i> .....	37
6.3	SEBEVRAŽEDNÉ SKLONY.....	37
<b>7</b>	<b>DIAGNOSTICKÉ TESTY KE ZJIŠTĚNÍ HD.....</b>	<b>39</b>
7.1	PREKLINICKÉ TESTOVÁNÍ.....	39
7.2	ZOBRAZOVACÍ TECHNIKY A BIOMARKERY HD.....	39
7.3	PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA .....	40
7.3.1	<i>Reimplantační genetické testy</i> .....	41
7.4	USKLADNĚNÍ DNA DO BANKY PRO BUDOUCÍ TESTOVÁNÍ HD .....	42
7.5	VLIV TESTOVÁNÍ NA PARTNERY .....	42
7.6	VLIV ZJIŠTĚNÍ VÝSLEDKŮ Z TESTOVÁNÍ.....	42
7.7	ANONYMNÍ TESTOVÁNÍ.....	42
7.8	ROLE RODINNÝCH PŘÍSLUŠNÍKŮ A DALŠÍCH V ROZHODOVACÍCH PROCESECH O GENETICKÉM TESTOVÁNÍ U JEDINCŮ OHROŽENÝCH HD .....	43
<b>8</b>	<b>LÉČBA.....</b>	<b>45</b>
8.1	DOSTUPNÉ MOŽNOSTI LÉČBY .....	45
8.2	LÉČBA POHYBOVÝCH SYMPTOMŮ HD .....	45
8.2.1	<i>Neuroleptika</i> .....	45
8.2.2	<i>Myoklonus a tiky u HD</i> .....	46
8.3	LÉČBA KOGNITIVNÍCH FUNKCÍ U HD .....	46
8.4	LÉČBA PSYCHIATRICKÝCH SYMPTOMŮ .....	47
8.5	ÚČINKY DEMETHYLENEBERBERINU .....	47
8.6	STRATEGIE SNIŽOVÁNÍ HLADINY HTT K POTLAČENÍ EXPRESE MUTANTNÍHO HTT .....	48
8.7	LÉČBA HD POMOCÍ KMENOVÝCH BUNĚK.....	50
8.8	NERVOVĚ OTEVŘENÉ VÁPENATÉ KANÁLY JAKO NOVÝ TERAPEUTICKÝ CÍL V LÉČBĚ HD51	

<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>52</b>
<b>POUŽITÁ LITERATURA.....</b>	<b>53</b>

## ÚVOD

Huntingtonova chorea je nevyléčitelné autozomálně dominantní onemocnění, které se zařazuje mezi neurodegenerativní onemocnění centrálního nervového systému. Tuto nemoc způsobuje defektní gen, který vede k degeneraci neuronů v bazálních gangliích. Výsledná degenerace vyvolává řadu psychických a psychiatrických problémů (například demenci, změny nálad či změny v chování) [1].

Huntingtonův syndrom se projevuje v dospělosti převážně ve 40 letech, ale může se projevit i v dětském věku u obou pohlaví. U dětí dochází k neobvyklým pohybům těla, případně se může projevit epilepsie. Začátek onemocnění, postupná progrese a projevení symptomů se u každého člověka liší [1].



# 1 HISTORIE

George Huntington publikoval první kompletní popis Huntingtonovy chorey (HD) v roce 1872. Tato lékařská zpráva popisovala onemocnění u matky a dcery, které trpěly tímto syndromem. George Huntington vysvětlil hlavní znaky syndromu, mezi které patří choreatické pohyby, mentální postižení, dědičnost a postup onemocnění, které vede až ke smrti [2].

Johan Christian Lund zaznamenal vysokou prevalenci demence spolu s choreatickými pohyby u lidí, kteří žili v Norsku v roce 1860 [2].

Nemoc se objevila v mnoha generacích u rodin, které pocházely z kolonií Nové Anglie. Tyto rodiny byly známy pod názvy „magrums“ podle původních obyvatel. Kvůli projevům nemoci byli postižení lidé označováni za čarodějnice a poté upáleni. Také se udává, že mnoho lidí zabitých během Salemských procesů bylo postiženo tímto syndromem. Z důvodu choreatických pohybů si lidé mysleli, že tito jedinci jsou posedlí samotným ďáblem [2].

Lékaři nacházeli během 19. století pacienty trpící HD dříve, než George Huntington popsal příznaky HD. Charles Waters publikoval své studie pozorování pacientů v Dunglison's „Practise of Medicine“ v roce 1842 [2].

Zmapování původu nemoci v rodinách sledovali Smith Jelliffe a Tilney. Zjistili, že pacienti měli spojení s lidmi pocházejícími z Anglie, kteří emigrovali do Spojených států amerických. Do USA byla nemoc zavlečena z Anglie v roce 1630. Nemoc se šířila kvůli ženě, která touto nemocí byla postižena. Nemocná žena spolu s manželem emigrovala do USA, tím pádem se nemoc mohla dále rozšiřovat [2].

Dědičnost onemocnění bylo prokázána, kvůli dědičnosti přes 12 generací po dobu 300 let. Nemoc s největší pravděpodobností byla přenesena párem, který odjel do Ameriky. Zdegenerovaný gen se tak mohl šířit dalšími generacemi po celé Americe [2].

## 1.1 Jezero Maracaibo

Venezuelský lékař, biochemik a umělec Americo Negrette objevil zvláštní pohyby, které připomínaly tanec, v roce 1592. Americo Negrette získal od místních obyvatel informace, že v dalších dvou městech blízko jezera Maracaibo se tato nemoc také vyskytuje. Tento stav místní obyvatelstvo nazývalo „el mal“. Poté Negrette usoudil, že diagnóza těchto pacientů bude odpovídat spíše HD [3].

Negrette definoval vzorec onemocnění u pacientů s „el mal“ v době, kdy pracoval ve vesnicích mimo oblast Maracaibo. Všiml si toho, že pacienti mají problémy se spánkem, především u starších pacientů byl problém s nespavostí. Mezi další symptomy patřily bolesti hlavy následované choreatickými pohyby či tancem. V dřívějších stádiích nemoci se také mohly projevit stavy, kdy pacienti padali [3].

Negrette poté zkoumal nemocné jedince a zjistil, že trpí demencí a choreatickými pohyby. Později došel na základě pozorování rodinné historie k závěru, že by onemocnění mohlo být přenášeno přes generace na další generace, to potvrdilo autozomální dominanci, což prokázalo, že má co dočinění s případy HD. Své objevy sepsal do publikace s názvem „Chorea de Huntington. Maracaibo, Venezuela: University of Zulia 1958“ [2].

Další, kdo se zajímal o případ jezera Maracaibo, byla psychoanalytička Nancy Wexler, která provedla průzkum této oblasti. Průzkum se týkal nalezení dvou genových kopií s mutací HD a také objevu, že HD je onemocnění týkající se trinukleotidové polyglutaminové repetice. Tento výzkum trval po dobu 20 let, získáno bylo přes 4 000 vzorků krve a zdokumentováno bylo přes 18 000 různých pacientů [2, 3].

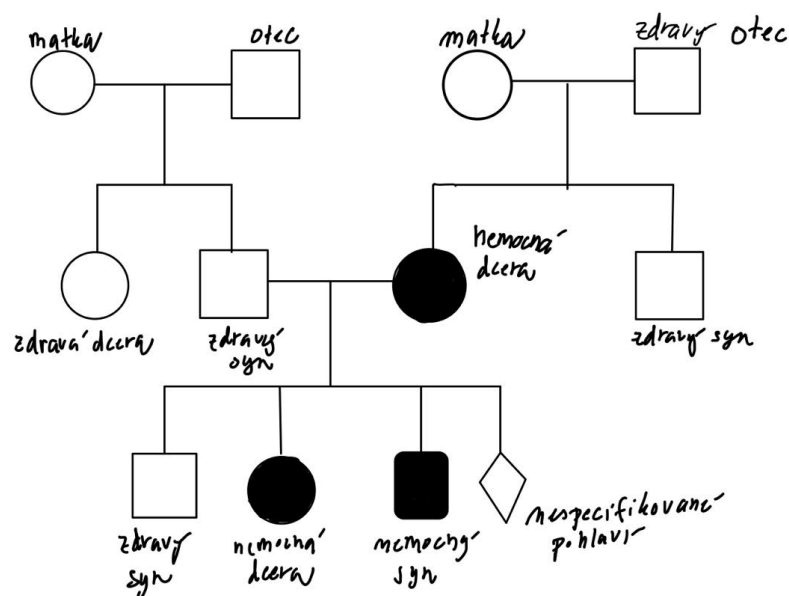
## 2 GENETIKA

Genetika je věda, která se zabývá dědičností a schopností se lišit určitými znaky od rodičovské generace. Základní jednotka zkoumání je gen, každý jedinec má jeden gen ze spermie a druhý z vajíčka.

Geny se vyskytují v různých formách. Patří sem strukturní geny, které kódují primární strukturu deoxyribonukleové kyseliny (DNA), nebo regulační geny, jež působí jako řídicí složka. Dědičnost se dělí podle síly působení genů stejného páru na dominantní a recesivní. Podle lokace genů v chromozomech rozlišujeme dědičnost autozomální a gonozomální. Pokud geny v páru jsou shodné, tak je jedinec označován jako homozygot. Jakmile se geny odlišují, tak se používá označení heterozygot [4].

### 2.1 Autozomálně dominantní choroby

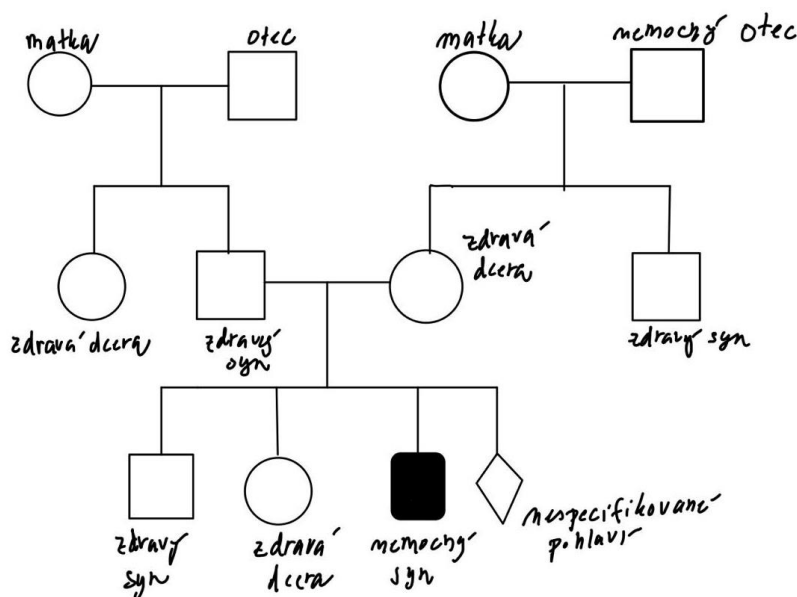
Autozomálně dominantní (AD) choroby se vyskytují u obou typů jedince. Pravděpodobnost zdědění genu se udává u možnosti jednoho homozygota a druhého heterozygota jako 50% šance onemocnění. U heterozygotů se riziko zvýší na 75 %. U jedinců se může projevit neúplná penetrance, kdy jedinci nemusí mít určité projevy či znaky nemoci. Vyskytuje se také u některých případech nekompletní dominance, kdy homozygoti mívají horší postižení než heterozygoti. Mezi AD choroby můžeme zařadit například familiární hypercholesterolémii, Marfanův syndrom, HD a achondroplazii [4, 5, 6]. Příklad rodokmenu rodiny s autozomálně dominantní chorobou je uveden na obrázku 1.



Obrázek 1: Rodokmen autozomálně dominantní choroby [6]

## 2.2 Autozomálně recesivní choroby

Autozomálně recesivní (AR) choroby se projevují u recesivních homozygotů. Heterozygotní jedinci zdědili od každého rodiče mutaci na obou homologních nepohlavních chromozomech. Procenta zdědění nemoci se odlišují podle různých kombinací. Pokud jsou rodiče heterozygoti pouze přenašeči, tak jejich děti mají 25% pravděpodobnost přenosu onemocnění. Jako příklady onemocnění AR můžeme zmínit cystickou fibrózu, fenylketonurii a srpkovitou anémii [4, 5, 6]. Příklad rodokmenu s autozomálně recesivní nemocí ukazuje obrázek 2.

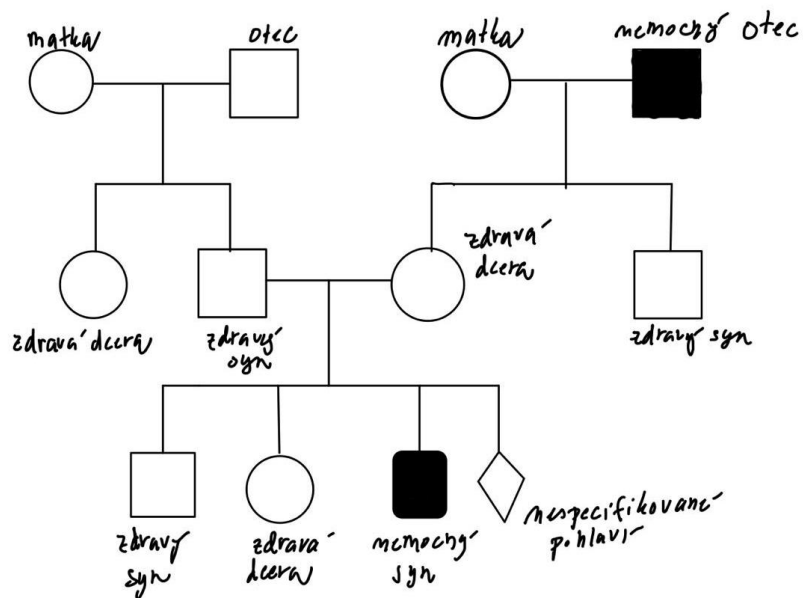


Obrázek 2: Rodokmen autozomálně recesivní choroby [6]

## 2.3 Gonozomálně recesivní choroby

Gonozomální choroby jsou spojené s geny lokalizovanými na pohlavních chromozomech. U tohoto typu dědičnosti je zásadní rozdíl mezi homogametním a heterogametním pohlavím. Otec předává X chromozom dcerám a Y chromozom synům. Matka předává X chromozom oběma potomkům. Gonozomálně recesivní (GR) onemocnění se týká chromozomu X, kdy je na něm lokalizována široká stupnice genů [4, 5, 6].

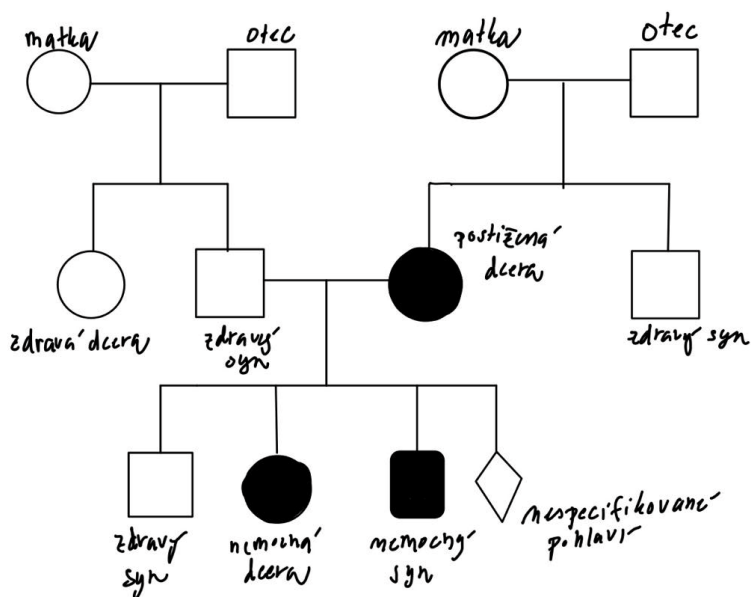
Nemoc se projeví u synů, kteří získali zmutovaný chromozom X od matky. U dcer přenašeček se onemocnění projeví z 50 %, pokud otec bude zdravý. Mezi GR choroby se řadí Duchennova svalová dystrofie nebo hemofilie A, B [4, 5, 6]. Příklad rodokmenu s gonozomálně recesivní chorobou je na obrázku 3.



Obrázek 3: Rodokmen gonozomálně recesivní choroby [6]

## 2.4 Gonozomálně dominantní choroby

Gonozomálně dominantní (GD) onemocnění zasahuje heterozygotní ženy a homozygotní muže. Dcery získají onemocnění od postiženého otce. Postižená homozygotní žena přeneše nemoc na všechny své děti a postižená heterozygotní žena přeneše nemoc z 50 % na své potomky obojího pohlaví. Nemocný muž přeneše nemoc na všechny své dcery a všichni synové jsou zdraví. Mezi GD se řadí vitamin D dependentní rachitis [4, 5, 6]. Příklad rodokmenu s GD chorobou lze vidět na obrázku 4.



Obrázek 4: Rodokmen gonozomálně dominantní choroby [6]

### 3 ETIOLOGIE

Huntingtonův syndrom je autozomálně dominantní onemocnění, které je způsobené mutací huntigtin genu. Mutace je prodloužení kodonu glutaminu (CAG) na krátkém raménku chromozomu 4p16.3. Huntigtin gen kóduje huntingtin protein (HTT). HTT divokého typu hraje roli v synaptické funkci a je nezbytný v postembryonálním období. S největší pravděpodobností má antiapoptotické funkce a je možné, že chrání proti toxickému mutantu HTT. Mutace proteinu vede k adici funkce či k její ztrátě [7, 8].

Divoký typ obsahuje CAG repetici kódující polyglutaminový úsek v proteinu v místě v rozsahu 6–26. Normální alely v tomto místě obsahují repetice CAG, ale když tyto repetice dosáhnou 41 nebo více, je onemocnění plně penetrantní. U pacientů s rozsahem 36–39 vede k neúplné penetraci nemoci nebo také k pozdějšímu nástupu onemocnění. U pacientů s rozsahem mezi 29–35 nevykazují fenotyp onemocnění, ale alely jsou nestabilní. To znamená, že alely jsou více náchylné ke změně během reprodukce. Kopírování genu může vést k chybě a velmi často vede k elongaci, jen málokdy ke zkracování. Tento fenomén je převážně vídán v mužské linii reprodukce. U mužů dochází k velkým expanzím repetice CAG, tím pádem se zvyšuje i nestabilita při replikaci. U dětí s juvenilními symptomy se očekává, že věk nástupu projevu nemoci bude dřívější a zvyšuje se pravděpodobnost otcovské dědičnosti v následujících generacích [7, 8].

Byla popsána inverzní korelace mezi délkou opakování repetice a věkem nástupu onemocnění, kdy se projeví u jedince. Čím delší CAG repetice, tím dřívější počátek nemoci. Při počtu 55 repetice tak začíná onemocnění ve věku 20 let, kdy se nemoc nazývá juvenilní Huntingtonův syndrom. Délka opakování určuje asi 70 % rozptylu ve věku na začátku a nedává vůbec žádnou informaci o počátečním příznaku, průběhu nebo době trvání onemocnění. Ztráta váhy byla detekována u pacientů a také transgenních myší s HD. Byly provedeny studie na zjištění příčiny hubnutí u HD, nicméně příčina ztráty váhy u pacientů s HD není známa. Mohlo by to být způsobeno sníženým kalorickým příjmem, zvýšenou motorickou aktivitou či zvýšeným metabolismem. V této studii byly sledováni pacienti ve věku 25–65 let s délkou CAG větší než 36. Ze získaných výsledků vyplývá, že zvýšená ztráta hmotnosti souvisí s rostoucí délkou opakování CAG. Tento hypermetabolický stav je pravděpodobně způsobený interferencí mutantního proteinu s molekulární energetickou homeostázou. CAG představuje asi 60 % variace ve věku nástupu, zbytek představují modifikující geny a prostředí [7, 8, 9].

## 4 PREVALENCE

Ke zjištění celosvětové prevalence HD byly provedeny analýzy 13 sledovaných oblastí (Asie, Evropa, Severní Amerika a Austrálie). Na základě těchto studií byla zjištěna celosvětová prevalence 2,71 na 100 000 obyvatel. Jednotlivé analýzy zjistily, že prevalence v Asii je 0,40 na 100 000. V Evropě, Severní Americe a Austrálii je prevalence vyšší, a to 5,70 na 100 000 [10, 11].

Prevalence nemoci je závislá na mnoha faktorech, mezi které můžeme zařadit smíšené manželství mezi jednotlivými rasami obyvatelstva, předky, možnosti zdravotnictví a zdravotních služeb a také celkové schopnosti diagnostikovat onemocnění. Sice můžeme vidět, že u bílé rasy je prevalence vyšší, ale to zcela nevylučuje to, že záleží na typu rasy. U lidí černé rasy, kteří žijí v Americe, byla hodnota počtu procent prevalence velmi podobná jako u lidí bílé rasy v Americe. Příčina vyšší prevalence u černé rasy žijící v Americe může být taková, že zde došlo ke smíšenému manželství v minulých generacích [10, 11].

Čím kvalitnější bude diagnostika, sledování a zaznamenávání nemoci, tím se bude zvyšovat následná prevalence onemocnění v různých státech. Také pacienti, kteří žijí s touto nemocí dlouhou dobu, zvyšují prevalenci nemoci, ačkoliv incidence zůstává stejná. Další možnost, která pravděpodobně ovlivňuje nárůst prevalence, je dostupnost léků, které napomáhají zmírnit symptomy nemoci, mezi něž spadá deprese, psychózy atd. [10, 11].

## 5 PATOGENEZE HD

Polyglutaminová expanze specifických proteinů způsobuje různá neurodegenerativní onemocnění, mezi která také patří Huntingtonova chorea. V roce 1991 byla objevena nestabilní trinukleotidová repetice u jedinců s křehkým syndromem X, spinální a bulbární muskulární atrofie. U těchto nemocí se zvyšuje repetice CAG [12, 13].

Spojovací patogenní mechanismus neurodegenerativních chorob a jejich charakteristické rysy vyplývají ze samotné expanze polyglutaminového úseku (polyQ). Onemocnění HD je charakterizované agregací špatně složených proteinů, mezi které se řadí amyloidní fibrily. Expandované patogenní a agregované glutaminové repetice u polyQ onemocnění selektivně rozpoznává monoklonální protilátka 1C2 stejně jako i vazby na polyleucin. Výzkum se zabýval testováním kinetiky agregace monomerních proteinů *in vivo* a *in vitro*. Byly využity metody Western blot a testování mrtvých buněk. Nalezly se rozdíly v dobách agregčního zpoždění (odlišných délek polyQ) a polyleucinových úseků závislých na délce opakování. Tyto rozdíly byly spojeny s integrací intenzity signálu anti-1C2 na rozpustných monomerech proteinů. Věk nástupu HD pacientů přesně odráží vzájemný vztah mezi dobou zpoždění agregace polyQ úseků a intenzitou signálu anti-1C2. Protilátky anti-1C2 jsou přítomné na rozpustných monomerech HTT [14].

Změny ve struktuře povrchu proteinů způsobované polyQ expanzní mutací v monomerních proteinech působí jako epitop. Při určení nástupu nemoci je kritický patologický epitop, který je detekovaný za pomoci 1C2 [14].

### 5.1 Agregace proteinů a nukleární inkluze

Vzhledem k tomu, že není znám mechanismus neurodegenerace, byl z toho důvodu zaveden výzkum spinální cerebrální ataxie typu 3 (SCA) ke zkoumání modelů CAG/polyglutaminové repetice. Patologické nálezy se objevily převážně v bazálních gangliích, páteřní míše a také mozečku. Gen zakóduje intracelulární protein. Teprotein (ataxin-3) je nejmenší polyglutaminový protein s molekulovou hmotností 42 kDa. CAG repetice se nachází v blízkosti karboxylového konce, kde normální počet CAG repetice je 12–37. U postižených jedinců se počet repetic zvyšuje na 61–84. Tato studie SCA3 se zaměřuje na předložení důkazu možné agregace polyglutaminových proteinů v nemocné lidské tkáni [15].



Je možné, že agregace polyglutaminových proteinů by mohla být katalyzovaná či iniciována prostřednictvím glutaminového fragmentu proteinu. Ataxin-3 je cytoplazmatický protein, který se hromadí v ubikvitin nukleární inkluzi. Byl předložen důkaz pro modely s nemocí, ve kterých rozšířený fragment s glutaminem získává protein plné délky ve formě nerozpustných agregátů [15].

### 5.1.1 Tvorba agregátů proteolytickým štěpením proteinu

Studie, která se zabývala fúzními proteiny obsahujícími sekvence polyQ různých délek, ukázala, že určitá délka úseku polyQ je nezbytná pro tvorbu amyloidních fibril *in vitro*. Byl využit exon 1 genu HD s rozšířenou repeticí CAG pro produkci proteinů glutathion S-transferázy (GST) v *Escherichia coli*. Proteolýza proteinu GST-HD51 (expanze v rozsahu 51 glutaminů) vedla ke tvorbě zmíněných agregátů s fibrilární nebo páskovitou morfologií. Z analýzy pomocí elektroforézy v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsírany sodného se odhaduje, že kritická délka polyglutaminu ve fúzních proteinech by měla přesahovat 51 glutaminů, aby se vytvořily agregáty. Předběžné experimenty provedené v laboratořích naznačují, že práh je mezi 35–48 glutaminy [16].

### 5.1.2 Intracelulární nukleární inkluze u transgenních myší s HD

S využitím imunohistochemické analýzy byl identifikován nový molekulární mechanismus, který je zodpovědný za progresivní dysfunkci u transgenních HD myší. Analýzou HTT v mozku dospělých kontrolních myší bylo zjištěno, že se obarvila celá oblast šedé hmoty. Neuronální značení bylo nalezeno v mozkové kůře, striatu, mozečku a míše. Intracelulární nukleární inkluze (NII) se objevily u transgenních myší, které vykazují symptomy (R6/2, R6/1 hemizygoti a R6/1, R6/5 homozygoti). U asymptotických myší nebyly nalezeny NII. NII se objevují v mozkové kůře dříve a zvyšují svou velikost a hustotu barvení jak pro HTT, tak pro imunoreaktivitu ubikvitinu. Zdá se, že frekvence a progresivní nárůst velikosti NII se mezi různými třídami neuronů dramaticky odlišují. Největší inkluze lze nalézt v mozkové kůře, striatu a mozečku [17].

Metodou polymerázové řetězcové reakce v reálném čase (RT-PCR) byla nalezena exprese ubikvitinu v modelech R6/1, R6/2 a R6/5 v 18 oblastech mozku a somatické tkáni. Imunocytochemická lokalizace ubikvitinu u 6/1, 6/2 a 6/5 homozygotních myší odhaluje prominentní jadernou inkluzi. Řezy analyzované z kontrolních myší, HDex27, HDex6 nebo z 6/5 hemizygotních zvířat odhalily nízkou úroveň cytoplazmatického značení bez známek jaderného barvení [17].

### 5.1.3 Úloha chaperonů v agregaci proteinů

Ve všech buňkách se nachází proteiny tepelného šoku (chaperony), které zvyšují schopnost buňky zabránit agregaci proteinů, disociovat takové agregáty po jejich vytvoření a znovu poskládat denaturované molekuly a také degradovat abnormální polypeptidy. K degradaci proteinů byly vyvinuty propracované enzymatické mechanismy, které zajišťují, aby rozpad proteinů byl velmi selektivní proces. V tomto procesu má úlohu kofaktor ubikvitin, který označuje proteiny. Proteazom 26S je komplex, který katalyzuje degradaci většiny proteinů. Skládá se ze hlavní partikule 20S a 19S, což je regulační komplex. Substráty se vážou prostřednictvím ubikvitinových řetězců na regulační komplex 19S. V tomto komplexu jsou přítomny AAA+ ATPázy. ATPáza rozvine globulární proteiny a přenesení je do proteazomu 20S k degradaci. Tato struktura obsahuje 6 proteolytických míst, kdy se jednotlivé kyselé, bazické a hydrofobní zbytky štěpí na dva zbytky od každého typu [18].

Vzhledem k tomu, že chaperony chrání organismus před abnormálními proteiny, je možné, že zrovna u starších jedinců je tato schopnost snížena. To může být důležitý faktor, který přispívá ke zvýšené citlivosti starších jedinců k propuknutí nemoci HD. U hlodavců bylo zjištěno, že při vystavení tkání tepelnému šoku byla exprese chaperonů snížena u starších jedinců ve srovnání s mláďaty. Tím pádem je možné, že starší populace má menší schopnost indukovat chaperony v reakci na dané podmínky [18].

Tyto úvahy předpokládají, že neurony u starších lidí by měly být postižené při indukci chaperonů. Při snížené expresi chaperonů by se mutantní proteiny měly více hromadit v buňkách starších jedinců, což by mělo vést k větší tendenci tvořit nukleární inkluze, spouštět apoptózu a způsobovat neurodegeneraci [18].

## 5.2 Proteolytické štěpení HTT proteinu

K detekci kaspázových štěpných produktů HTT byly vyvinuty nové protilátky. Tyto protilátky jsou specifické pro detekci N-terminálních HTT fragmentů. N-terminální HTT fragmenty jsou generovány kaspázovým štěpením na aminokyselině 513 nebo 552. Toto bylo ověřeno u transgenních myší a také u *post mortem* odebrané tkáně pacientů s HD, které exprimovaly rozšířený lidský HTT. Tento lidský HTT se štěpil na aminokyselině 552. Nejčastěji se štěpení proteinu vyskytovalo v kortikálních neuronech, což může naznačovat narušení kortikostriální dráhy. Kortikostriální dysfunkce může vést k selektivní degeneraci striatia. Proteolytické štěpení bylo také pozorováno u homozygotů [19].

### 5.2.1 Aktivace kalpainů u HD

Kaspázy představují jednu z tříd proteáz, které mohou zahajovat štěpení HTT u HD. V mozku byly pozorovány důkazy o aktivaci kaspázy, dále také, že exprese expandované polyglutaminové formy HTT podporuje buněčnou smrt. Byla také sledována role kalpainů u štěpení HTT. Štěpení HTT předchází vstupu tohoto proteinu do jádra. Tento vstup do jádra může být umožněn díky kalpainům, které generují kaskádu fragmentů a meziproductů odvozených z proteinu HTT plné délky. Velikosti produktů štěpení kaspáz se pohybují od 70 do 80 kDa, z toho důvodu je můžeme najít v perinukleárních agregátech v cytoplazmě. Kaspázy produkují jednotlivé produkty štěpení, které nejsou dále zkráceny [20].

### 5.2.2 Absence neuropatologií spojených s toxicitou proteolytických štěpných fragmentů

Vzhledem k tomu, že nebyla zodpovězena otázka, zda jsou inkluze HTT toxické *in vivo* během života daného organismu, je tedy klinicky významné pro pacienty s HD tuto otázku zodpovědět. Tuto otázku se vědci snažili zodpovědět s využitím myších modelů, neboť není možné examínovat lidskou tkáň u pacientů v průběhu onemocnění. Byl využit model HD 128 s umělým kvasinkovým chromozomem (YAC). Model exprimoval mutantní HTT v rozsahu 128 CAG repetit. U něj byly nalezeny inkluze 12 měsíců po nástupu nemoci a 6 měsíců po degeneraci striatálních neuronů. Generováním dalších linií YAC myších modelů s délkou CAG expanze v rozsahu 128 repetit bylo zaznamenáno, že u jedné z linií chybělo levé rameno YAC. To mohlo vzniknout během množení YAC modelů v kvasinkách. Tyto výsledky vykazují, že tyto modely exprimovaly krátký fragment HTT, proto jim byla udělena přezdívka „shortstop“. Nebyly zde nalezeny žádné behaviorální abnormality nebo důkaz neuropatologie, tím pádem inkluze HTT jsou v případě *in vivo* netoxické [21].

Absence neurodegenerativního fenotypu u „shortstop“ myši by mohla být vykládána tak, že hypotéza toxického fragmentu není zcela pravdivá. Toto zjištění může naznačovat, že existuje jistá specifita ve velikosti N-terminálního fragmentu. N-terminální fragment může zahajovat cyklus toxického fragmentu. HTT je štěpen kaspázami, kalpainy a aspartylproteázami, čímž vznikají různé N-terminální fragmenty HTT, které mohou vykazovat různou toxicitu [21].

Důležitost dalších částí nebo domén HTT v neurodegeneraci související s HD byla nedávno prokázána ve studii náchylnosti k excitotoxicitě. Myš YAC 128 vykazovala větší excitotoxické léze ve srovnání se shortstop myšmi, které dostaly stejnou dávku [21].

Excitotoxicita u modelu YAC 128 vykazovala neuronální degeneraci, oproti tomu u shortstop myši nebyla nalezena žádná excitotoxicita, také myši byly bez neuropatologie. Tento vzájemný vztah naznačuje, že k zahájení patologie HD je nutná excitotoxicita [21].

### 5.3 Potlačení transkripce u HD

Cytoplazmatické štěpení proteinu a uvolnění amino-terminálního fragmentu schopného nukleární inkluze a také zachycení transkripčních faktorů v agregátech má podíl v patogenezi HD. Amino-terminální část zůstává po štěpení v jádře a obsahuje oblast bohatou na prolin. Je pravděpodobné, že HTT je schopen přímých interakcí s transkripčními faktory a měl by umožňovat změny v transkripci. Bylo zjištěno, že mutantní HTT exon 1 s rozšířenou repeticí koagreguje s proteinem o velikosti 53 kD (p53) v inkluzích v buněčných kulturách a také interaguje *in vitro* korepresorem mSin3a a s vazebným proteinem. Tento vazebný protein se váže na aktivní fosforylovanou formu vazebného proteinu cyklického adenosin-5'-monofosfátu odpovědného prvku (CREBBP) [22, 23].

Nádorový supresorový protein p53 hraje roli v určování, zda buňka podstoupí diferenciaci, senescenci nebo apoptózu. Zprostředkovává transkripci a interaguje s CREBBP a mSin3a. Tyto transkripční faktory pomáhají p53 regulovat transkripci. CREBBP se nachází v neuronálních intranukleárních inkluzích transgenních myši HD, kdy jeho transkripční aktivita je v časných bodech potlačena mutantním huntingtinem. Mutantní HTT se váže daleko silněji než normální, oproti tomu mutantní HTT neovlivňuje aktivitu p300 [22, 23].

Je možné, že rozšířená repetice HTT způsobuje aberantní transkripční regulaci prostřednictvím své interakce s buněčnými transkripčními faktory, což může vést k neuronální dysfunkci a buněčné smrti u HD [22].

### 5.4 Role BDNF faktoru v HD

BDNF (mozkový neurotrofický faktor) napomáhá k přežití periferních a centrálních nervů. Jeho snížená schopnost funkce v postiženém mozku vykazuje, že také má roli v neuropatologických nemocech. Normální HTT se podílí na fyziologické kontrole a syntéze transportu tohoto faktoru, udržuje kortikální transkripci genu BDNF a řídí třídění vezikulů BDNF v neuronových buňkách. U onemocnění HD jsou tyto procesy narušeny. Deficit striatálního BDNF u HD může být způsoben sníženou transkripcí genu BDNF v mozkové kůře nebo sníženým transportem BDNF vezikulem [24].

U studie R6/1 myši se zkoumal účinek snížené hladiny BDNF v nigrostriatálním systému. Snížené hladiny BDNF mohou být zodpovědné za dysfunkce v nigrostriatálním systému, což může přispět k motorickým změnám, které se objevují u pacientů s HD [24].

Exprese HTT může také vést ke snížené expresi tyrosin kinázového receptoru (TrkB), kdy účinnost faktoru BDNF je na tomto receptoru závislá. U testovaných modelů myši s HD byla prokázána snížená hladina TrkB. Ukázalo se také, že toto snížení není závislé na proteolytickém štěpení či agregátech nebo inkluzích mutantního proteinu [25].

## **5.5 Defekty mitochondriálního mechanismu a oxidativní fosforylace u HD**

Bylo navrženo tvrzení, že defekty v mitochondriálním metabolismu hrají určitou roli ve ztrátě neuronů u HD. Za pomoci pozitronové emisní tomografie (PET) bylo zjištěno výrazné snížení v metabolismu glukózy a produkci laktátu u HD pacientů. Dále byly *post mortem* zkoumány mozky pacientů s HD, u kterých byla hodnocena aktivita metabolických enzymů. Dále byla pozorována povaha a neuroanatomický profil defektů oxidativní fosforylace. Výsledkem se ukázala být snížená aktivita komplexu II a III v kaudatu a putamen, ale v jiných oblastech s nižší ztrátou neuronů byla aktivita beze změny. Další faktor, který má vliv na dysfunkce metabolismu, je oxidativní stres. V kaudatu mozku byla nalezena snížená aktivita superoxiddismutázy a také zvýšené hladiny 8-hydroxydeoxyguanosinu [26, 27].

## **5.6 Termoregulace a metabolické defekty u HD modelů**

V roce 1933 byl podáván HD potkaním modelům mitochondriální toxin, který způsobil degeneraci v putamen a kaudatu. Stejná degenerace putamenu a kaudatu je přítomná u jedinců a zvířecích modelů s HD. Tímto zjištěním bylo naznačeno, že mitochondriální dysfunkce je základem patogeneze u onemocnění HD. U myších HD modelů byla nalezena metabolická abnormalita ve formě hluboké hypotermie. Reakci těla na nízkou teplotu umožňuje hnědá tuková tkáň, kterou mají hlodavci. Mediátor adaptivní termogeneze je transkripční faktor koaktivátor gama receptoru aktivovaný peroxizomovým proliferátorem (PGC-1 $\alpha$ ). Na základě studie, která sledovala funkci tohoto faktoru, bylo zjištěno, že hypertermie u HD modelů byla způsobena vlivem interference transkripce PGC-1 $\alpha$ . Další analýza zkoumala průkaz zhoršené funkce koaktivátoru PGC-1. Kdy se pomocí microarray a RT-PCR analýzy myších a lidských striatálních ribonukleových kyselin (RNA) odhalilo významné snížení PGC-1 $\alpha$  [28].

Snížení bylo zpozorováno u 24 z 26 cílových genů PGC-1 $\alpha$ , které byly vybrány pro tento výzkum. Monitorování tělesné teploty u HD modelů bylo sledováno pomocí rektální sondy. Teplota myši dosahovala hodnot  $<27$  °C [28].

PGC-1 $\alpha$  reguluje několik klíčových metabolických procesů. Řídí expresi myofibrilárních proteinů, expresi genů zapojených do mitochondriální  $\beta$  oxidace mastných kyselin a oxidativní fosforylace buněk a mitochondriální biogenezi. Je exprimován v mozku [29].

## 5.7 Axonální transport

Neurony jsou velmi specializované buňky, které se skládají z axonu a dendritu. Správný transport biologických esenciálních materiálů skrze neuron je důležitý pro životaschopnost neuronu a jeho funkce. Délka axonu v periferním nervovém systému lidského těla dosahuje jednoho metru. Poruchy axonálního transportu tedy mohou přispět ke vzniku neurodegenerativních onemocnění. Axon řídí přenos akčních potenciálů z těla buňky k synapsi. Axonální transport je závislý na mikrotubulech. Dráhy mikrotubulů v axonu mají vlastní polaritu a jsou orientovány s rychle rostoucími konci směřujícími k synapsi a pomalu rostoucími konci směrem k tělu buňky. Motorické proteiny pohánějí transport a řadí se mezi ně kinesiny a dyneiny. Axonální transport by měl být ovlivněn dvěma mechanismy. Mechanismus by mohl být specifický pro funkci HTT v intracelulárním transportu. Je možné, že jednou z funkcí HTT je zvýšení intracelulárního transportu vezikul obsahující BDNF. Tato funkce je změněna v případě, že je snížena exprese HTT, anebo v momentu, kdy HTT obsahuje polyQ expanze [30, 31].

HTT je spojován s vezikulárními strukturami a mikrotubuly, reaguje s huntingtinem-asociovaným proteinem-1 (HAP1). Tento protein se asociuje s p150<sup>Glued</sup> dynaktinovou podjednotkou. Vazba HTT a p150<sup>Glued</sup> vytvářejí komplex vyžadující přítomnost HAP1. HAP1 narušuje asociaci klíčových komponent motorického aparátu s mikrotubuly. Tyto komponenty mají roli v regulaci transportu podél mikrotubulů. Výzkumem HD modelů bylo zjištěno, že proteinový cytoplazmatický komplex htt/p150<sup>Glued</sup>/dynaktin je pozměněn u tohoto onemocnění [30, 31].

## 5.8 Huntingtin

HTT je cytoplazmický protein v somato-dendritické oblasti a v axonech. HTT není spojován s mitochondriemi. Je obsažen v cytoplazmě a jaderných kompartmentech. Vysoké hladiny HTT jsou ve velkých striatálních interneuronech a také ve středních trnitých neuronech.

Nalezneme ho v kortikálních pyramidových buňkách a cerebrálních Purkyňových buňkách či cytoplazmě kortikálních neuronů. HAP1 byl prvním proteinem, u kterého byla zjištěna interakce s HTT. Interakce sílí se zvětšující se délkou polyQ. HTT může interagovat s ubikvitin-kódujícím enzymem. Tato interakce není závislá na délce polyglutaminu [32].

HTT může hrát důležitou roli v oblasti buněčných událostí, protože interaguje s mnoha identifikovanými proteiny. Mutantní HTT tedy může narušit buněčné funkce. Jak už bylo v předchozích kapitolách zmíněno, tak exprimovaný expandovaný protein způsobuje přítomnost NII nebo agregáty [32].

Expanze HTT způsobuje uvolnění proapoptického interagujícího huntingtin proteinu, který je toxický pro neurony. K napomáhání buněčné smrti může přispět protein Hippi, který aktivuje kaspázu-8 [33].

Studie *in vitro* poskytla přímé spojení mezi transkripčním faktorem II F (TFIIF) a transkripční represí, kterou indukuje mutantní HTT. Toto bylo zjištěno transkripčním testem. Specifické prvky transkripční sady (TFIIF a transkripční faktor II D) jsou přímo zacíleny mutantním HTT. Mutantní HTT může fungovat jako selektivní represor nebo korepresor [34].

Narušení normální biologické funkce proteinu vede ke vzniku symptomů HD. Postsynaptický hustotní protein 95 (PSD-95) se podílí na excitotoxicitě, kterou zprostředkovávají glutamátové receptory. Zvýšená excitotoxicita způsobuje ztrátu neuronů, což je typické pro HD onemocnění. Normální HTT se váže na PSD-95 a to vede k inhibici aktivity NMDA receptoru (receptor, kde agonistou je N-methyl-D-asparagová kyselina, NMDA). Nadměrná exprese normálního HTT N konce zeslabuje neuronální toxicitu, která je indukována NMDA a také mutovaným HTT. Schopnost normálního HTT vázat se na PSD-95 je narušena a množství proteinu je sníženo. Mutovaný HTT není schopen se vázat na PSD-95 a inhibuje vazbu HTT na skeletový protein PSD-95 v mozku [35].

### **5.8.1 HTT divokého typu**

Zvýšené hladiny plné délky HTT divokého typu chrání před excitotoxicitou zprostředkovanou NMDA. Přímé štěpení HTT zprostředkované kaspázou-3 a apoptotická neurodegenerace nastávají *in vivo* jako odpověď na stimulaci NMDA receptorů ve striatu. Proteolytické štěpení zprostředkované kaspázou snižuje endogenní hladiny HTT divokého typu a může predisponovat striatální neurony k degeneraci. Naopak zvýšení hladiny HTT divokého typu v neuronech má protektivní funkci a může představovat nový terapeutický účinek při léčbě

neurodegenerativních onemocnění. Transgenní myši YAC18 s expresí HTT divokého typu vykazovaly ochranu proti apoptické neurodegeneraci [36].

## 5.9 Exprese HD genu v nebuněčné tkáni

HD a jiná neurodegenerativní onemocnění jsou známá tím, že je u nich převážně postižená část centrální nervové soustavy, striatum, mozek a neurony. Ale ukázalo se, že exprese HTT se vyskytuje v nebuněčné tkáni. Nízké hladiny exprese HTT byly v pankreatu, hepatocytech a v části tlustého střeva [37].

U transgenních myší byl demonstrován nebuněčný autonomní mechanismus, který poškozuje astrocyty a mikroglie. U hlodavců je mechanismus založen na patologické interakci buňka–buňka. Striatokortikální patologie a motorické deficity byly pozorovány pouze při aktivaci exprese mutantního HTT. Mutantní HTT je exprimován v mnoha typech buněk, a to včetně zmíněných astrocytů. Mutantní HTT se akumuluje v astrogliálním jádře v postiženém mozku, kde je hladina glutamátového transportéru snížena [38].

Sledováním poklesu exprese glutamátového transportéru u modelu *Drosophila* byl poskytnut důkaz, že polyQ antagonizují signalizaci receptoru epidermálního růstového faktoru v gliových buňkách. Expandované polyQ narušují signální dráhu receptoru epidermálního růstového faktoru tím, že zabraňují aktivaci extracelulární regulované kinázy. Z toho vyplývá možnost, že dysfunkce gliových buněk mohou ovlivnit poškození neuronů [39].

Pomocí metody PET bylo provedeno měření cerebrální metabolické hladiny kyslíku a glukózy (CMRglc) vybraných pacientů s HD. Hodnoty CMRglc byly snižené, což naznačuje možné selektivní poškození glykolytického metabolismu. Glykolýza je astrocytární metabolický proces a její narušení je způsobeno v dysfunkci astrocytů. Astrocyty vychytávají glutamát. U transgenních myší se mutantní HTT hromadí v gliových buňkách a snížené vychytávání glutamátu se sníženou expresí glutamátových transportérů vede k neuronální smrti buněk [40].

Morfometrickými studiemi vzorků kaudatu od jedinců s rizikem zdědění HD byla odhalena zvýšená hustota oligodendrocytů. Nebyly zde však patrné rozdíly v hustotě neuronů, astrocytů a mikrogliových buněk mezi jedinci přenášejícími HD a jedinci, kteří nemoc nepřenášejí [41].



## 5.10 Zánět u HD a role mikroglíí

Zánět u této poruchy může být způsoben vlivem výskytu proteinových agregátů, akumulací jiných abnormálně modifikovaných buněčných složek či uvolněnými molekulami z poškozených neuronů. Nahromadění neobvyklých proteinů může být spouštěč zánětu či buněčného stresu. Mikroglie a astrocyty jsou hlavní efektorové buňky vrozené imunitní odpovědi centrální nervové soustavy. U neurodegenerativních nemocí jsou mikroglie aktivovány, produkují zánětlivé mediátory a aktivují kaskádu komplementu. Astrocyty se podílejí na ohraničení fagocytárních procesů [42].

Mikroglie mohou být v tzv. „klidovém“ stavu, kdy jsou vysoce dynamické molekuly nejenom během jejich aktivace. Aktivované mikroglie zastávají neuroprotektivní a neurotoxickou funkci. Pomocí receptorů vnímají mikroglie své prostředí. Receptory poté zaznamenávají změny prostředí. Na tyto změny reagují skrze exprese neurotrofních faktorů nebo uvolněním cytokinů. Cytokiny slouží k buněčné komunikaci, kdy informaci přenášejí prostřednictvím tělesné tekutiny [43, 44].

Imunohistochemickou metodou se dvěma protilátkami proti thymosinu beta-4 a s protilátkou, která rozpoznává lidské antigeny druhé třídy, byly sledovány kontrolní a HD mozky ke zjištění lokalizace mikroglíí. Aktivované mikroglie se vyskytovaly v kortexu a striatu. Tyto buňky se objevily v časném stádiu nemoci v oblastech mozku, kde se degenerace projevuje jako první – putamen a kaudatu [45].

Využitím metody *in vivo* s použitím isochinolinkarboxamidu (PK11195) PET byla nalezena aktivace mikroglíí ve striatu presymptomatických HD pacientů a sledoval se také její vztah s neuronální striatální dysfunkcí. Mikroglíální aktivace je tedy spojena s progresí onemocnění. PK PET by tedy mohl sloužit jako biomarker subklinického onemocnění [46].

Proteomickým profilováním lidské a transgenní myši plazmy byly sledovány neuro zánětlivé procesy a také hladiny interleukinu-6 (IL-6) pomocí metody ELISA. Také byly sledovány proteiny, které by mohly sloužit jako biomarkery při zjišťování nástupu onemocnění. V lidské plazmě byl nalezen IL-6, který uvolňuje proteiny akutní fáze. IL-6 se podílí na energetické bilanci prostřednictvím snížení příjmu potravy a zvýšením výdeje energie. Tyto fenotypové projevy tedy mohou vysvětlit ztrátu hmotnosti, která se projevuje u HD pacientů [47].

Imunologickým značením u transgenních myších modelů R6/2 a modelů s divokým typem genotypu byla sledována lokalizace feritinu v oblastech mozku. Feritin byl přítomen v gliových buňkách, neuronech, oligodendrocytech a mikroglíích. Nejvíce se vyskytoval v mikroglíích. R6/2 modely měly výraznější zbarvení feritinu ve striatu v období 2. až 4. týdne. Mikroglie u R6/2 myších modelů následně podlely morfologickým změnám [48].

## 6 KLINICKÉ SYMPTOMY HD

Mezi klasické projevy u HD můžeme zařadit progresivní problémy s pohybem (choreatické pohyby), progresivní kognitivní změny, které mohou dojít až k demenci, a různé změny v chování jedince [49].

### 6.1 Motorické změny

Slovo „chorea“ je odvozené z řeckého slova označujícího tanec. Zpočátku jedinec působí neklidně a vykazuje letmé potlačitelné pohyby. V průběhu progresu nemoci se tento pohyb stává více viditelný. Dalšími pohybovými problémy jsou dystonie, bradykineze a ataxie. Také se objevuje problém s pohybem očí související s udržení fixace oka. Aby postižená osoba mohla zaměřit svůj zrak na nový objekt, musí začít mrkat [49].

Progresivní problémy s pohybem a zvyšující se selhání motorického systému přispívají k psychické nerovnováze a snižují délku života HD jedinců. Běžná příčina smrti spojená s těžkou formou HD je aspirační pneumonie [49].

#### 6.1.1 Chorea

Výbor pro klasifikaci Světové federace neurologie definoval choreu jako stav nadměrných, nepravidelně načasovaných a spontánních pohybů. Tento stav může mít různé stupně projevů – od gest a vrtění rukou až po pohyby připomínající tanec [50].

Typickým rysem je neschopnost udržet stabilní pozici či pohyb. Při uchopení věcí má jedinec tendence střídat úchop předmětu, kdy buď předmět mačká, či uvolňuje úchop. Pacienti také mohou mít problémy s udržení vypláznutého jazyka [50].

Trvání jednotlivých pohybů je krátké, typicky v rozmezí 50 až 300 ms. Přítomnost chorey často dává dítěti „nervový“ vzhled se zjevnou neschopností zůstat v klidu. Pokud jsou pohyby velké a silné, jsou ovlivněny klouby, které jsou blíže k trupu, to vede k máchání končetinami. Tyto prudké pohyby, škubání a máchání končetin nazýváme balismus. Balismus je součástí spektra chorey. Pokud balismus ovlivňuje jednu stranu těla, tak se označuje jako hemibalismus. Hemibalismus je klasickým projevem poranění postihujícího subtalamické jádro, ale může být spojen s lézemi v jiných částech bazálních ganglií [51].

Druhý pohyb, který je součástí chorey, se nazývá atetóza. Atetóza zahrnuje mimovolné pohyby, které vedou k pomalým, nepřetržitým a nesilovým pohybům distálních částí těla. Tyto pohyby brání udržení stabilní polohy jedince. Absence identifikovatelných pohybových fragmentů a postižení stejných částí těla opakovaně odlišuje atetózu od chorey. Termín choreoatetóza běžně používají lékaři k popisu pohybů, které je obtížné plně klasifikovat jako chorea nebo atetóza [51].

Termín choreyform je často používán v odkazu na choreatické pohyby s velmi nízkou amplitudou. Chorea je klasickým výsledkem dysfunkce komplexních neuronových sítí. Tyto sítě propojují bazální ganglia (striatum, globus pallidus, subthalamické jádro, substantia nigra), thalamus a související kortikální oblasti čelního laloku [51].

### **6.1.2 Dystonie**

Dystonie je definována nedobrovolnou udržovanou kontrakcí svalů agonisty a antagonisty, která způsobuje abnormální držení těla, kroucení a opakované pohyby. Závažnost poruchy se mění v závislosti na aktivitě a držení těla. Mezi projevy patří nadměrná extenze či nadměrná flexe ruky, torze páteře s vyklenutím a zkroucením zad, násilné zavírání očí nebo fixované grimasy [52].

### **6.1.3 Bradykineze**

Termín bradykineze se spojuje s dalšími dvěma termíny – akineze a hypokineze. Bradykineze popisuje zpomalení prováděného pohybu a akineze označuje nedostatek spontánního pohybu. Hypokineze označuje to, že pohyby jsou pomalé a zároveň menší, než by bylo žádoucí [53].

## **6.2 Kognitivní funkce**

V průběhu nemoci je také přítomná kognitivní porucha. V ranějším stádiu nemoci je většina postižených kognitivních domén spojena s dysfunkcí bazálních ganglií. Oproti tomu prostorové povědomí a orientace jsou v pořádku. S postupující nemocí se patologický proces šíří do kortikálních oblastí, což vede ke změně profilu kognitivní poruchy. U pokročilých stádií pacienti s HD trpí demencí s globální poruchou kognice [54].

Deprese je zvláště častá u pacientů s HD. Depresi u pacientů zmírňuje podávání antidepressiv. Mohou nastat změny osobnosti, které zhoršují pracovní výkon a sociální interakce v době, kdy nebyla ještě stanovena diagnóza. To může vést k neklidu v chování, úzkosti,

užívání alkoholu a antisociálnímu chování. U HD pacientů jsou také běžné obsedantně kompulzivní poruchy. Ty se mohou překrývat s rysy rigidity a ulpíváním v myšlení, které lze také pozorovat u jedinců s dysfunkcí frontálního laloku. Obsedantně-kompulzivní porucha (OCD), rigidita a perseverativní rysy pravděpodobně všechny odrážejí striatální dysfunkci [54].

Analýzou 29 pacientů ve věku 20 let s abnormální CAG repeticí byly objeveny psychiatrické a kognitivní problémy (u 19 z 29 jedinců). Dva jedinci trpěli závislostí na alkoholu nebo drogách. U jednoho byla zjištěna psychotická porucha či porucha se spaním. Z toho vyplývá, že u juvenální formy HD se častěji vyskytují psychiatrické stavy [55].

Existují také nedávné studie o sociální kognici v HD. Analýzou 2 226 HD pacientů a 998 zdravých jedinců, kteří sloužili jako kontrolní skupina, bylo zjištěno, že pacienti s HD mají vážné poruchy v rozpoznávání negativních emocí, zejména hněvu, znechucení a strachu. Kognitivní funkce byly sledovány testy, které zahrnovaly rozpoznávání emocí z obličeje a vokální emoce. Premanifestní HD jedinci měli také problémy s rozpoznáváním negativních emocí [56].

### **6.2.1 Deprese**

Deprese je porucha nálady, která způsobuje přetrvávající pocit smutku a ztráty zájmu. Společnými rysy všech depresivních poruch jsou smutek, prázdnota nebo podrážděnost, jež jsou doprovázené somatickými a kognitivními změnami. Všechny tyto stavy významně ovlivňují schopnost jedince normálně fungovat v běžném životě [57].

Životní události a potíže fungují jako spouštěče rozvoje deprese. Mezi stresory, které mohou vyvolat depresi, řadíme například traumatické události, jako je smrt nebo ztráta milovaného člověka, nedostatek nebo snížená sociální podpora, mezilidské potíže a finanční problémy [57].

### **6.2.2 OCD**

OCD je stav, který se projevuje obtěžujícími rušivými myšlenkami, jež nakonec v jedinci vyvolávají pocit neklidu a nepohodlí. K tomu, aby jedinec potlačil úzkosti spojené s těmito obtěžujícími myšlenkami, si většinou sestaví nějaký rituál, který ho uklidňuje. Rituál může mít různou podobu (pacient může být sám nebo je v rituálu zahrnuta další osoba) [58].

Mezi nejčastější posedlosti se řadí strach z kontaminace, strach z agrese/ublížení, sexuální strach či náboženské obavy. Pacient má poté kompenzační nutkání dělat určité činnosti – například mytí a čištění, kontrolování, hledání ujištění, objednávání a zařizování [58].

### 6.2.3 Demence

Demence je charakterizována kognitivním poklesem, kdy jedinec ztratí paměť a například část osobnosti, abstraktní myšlení nebo sociální a vizuálně prostorové dovednosti. S větším progresem nemoci se schopnost fungovat v každodenním životě naruší a jedinec nemá přehled o zhoršujícím se stavu a deficitech v paměti [59].

V současnosti trpí demencí 47 milionů lidí na světě a očekává se, že se počet zdvojnásobí. Demence představuje významnou zátěž pro veřejné zdraví a výrazně zvyšuje náklady na péči, a to jak pro jednotlivce, tak pro společnost [59].

Prognóza demence je špatná, protože se jedná o progresivní stav bez možnosti léčby. Roční úmrtnost byla 30 až 40 %, zatímco 5letá úmrtnost byla 60–65 %. Vyšší riziko je u mužů než u žen. Úmrtnost mezi přijatými pacienty s demencí byla vyšší než u pacientů s kardiovaskulárními chorobami [59].

### 6.3 Sebevražedné sklony

Jedno z rizik u HD pacientů je spáchání sebevraždy. Kvůli obavám z pravděpodobné možnosti spáchání sebevraždy byla zkoumána frekvence pokusů sebevražd, psychiatrické hospitalizace a provedených sebevražd. Do center, kde se provádí prediktivní testování pacientů, byly zaslány dotazníky. Z 4 527 jedinců spáchalo 5 osob sebevraždu, 21 se pokusilo o sebevraždu, 44 osob trpělo predispozicemi k sebepoškození a 18 jedinců bylo hospitalizováno z psychiatrických důvodů. Mnoho jedinců trpících sebevražednými sklony bylo nezaměstnaných [60].

Mezi rizikové faktory, které přispívají k sebevraždám, se řadí deprese, úzkosti, agrese a předchozí pokusy o sebevraždu apod. Také byla provedena studie, která se věnovala tomu, zda je myšlenka sebevraždy spojená s pohlavím. Čtyři studie zjistily, že sebevražda je častější u mužů, ale jiné studie objevily to, že častější je u žen. Spojitost s pohlavím tedy není daná. Délka repetice CAG podle jednoho zjištění ovlivňuje možný pokus o sebevraždu, kdy jedinci s 27–35 repeticemi byli více náchylní k pokusu o sebevraždu než jedinci s méně než 27 repeticemi. Je nedostatek důkazů o účinných lékařských intervencích ke zvládnutí sebevražedných myšlenek a chování u HD pacientů. Pouze některé studie se zabývaly využitím farmak k zahnání sebevražedných myšlenek. Proto je nutné provést rozsáhlejší výzkum v této oblasti, aby byly poskytnuty důkazy postačující ke zlepšení příznaků HD. Studie, jež se zabývaly rozdílnými faktory, které ovlivňují sebevražedné myšlenky mezi premanifestními

a manifestními HD jedinci, nejsou dostačující. Buď je málo důkazů, nebo jiná studie toto tvrzení vyvrací. Obě skupiny vykazovaly sebevražedné myšlenky v podobné míře, ale důvody mohou být různé. Například u premanifestní skupiny byl důvod sebevražedných myšlenek spojen s každodenními činnostmi. Manifestní skupina projevovала sebevražedné myšlenky z důvodu dalších psychiatrických nemocí, jako je například dystymie, agorafobie a OCD [61].

## **7 DIAGNOSTICKÉ TESTY KE ZJIŠTĚNÍ HD**

### **7.1 Preklinické testování**

Preklinické diagnostické postupy ke zjištění HD jsou významné pro genetické poradenství a patogenetický výzkum. Samotné diagnostické testy dokážou detekovat nemoc většinou až po prvních plodných letech. Pomocí CT a magnetické rezonance byly nalezeny striatální atrofie u pacientů s HD. Před zjevnými motorickými a kognitivními defekty nebyla nalezena poškození neuronů. V preklinické diagnostice byla také využita metoda pozitronové emisní tomografie, která sledovala subkortikální oblasti. V roce 1983 bylo odhaleno spojení mezi HD a polymorfismem restričních fragmentů na chromozomu 4. Toto nám poskytuje preklinický diagnostický marker s až 98% přesností. Mezi významnější zjištění patří objev HD mutace a expanze trinukleotidu v genu IT-15, který se nachází na chromozomu 4. Přítomnost této expanze byla nalezena u 114 jedinců s rozsahem 36 až 82 trinukleotidů. Screening pomocí markerového polymorfismu má i své nevýhody. Lze využít pouze v případě, že postižený jedinec má příbuzné, kteří by byli ochotni podstoupit screeningové testy. Prenatální testování má své etické problémy. Pro lidi je obtížné se rozhodnout, zda mají podstoupit testování z důvodu potřeby mít děti a zda by jejich děti trpěli stejnou nemocí [62].

### **7.2 Zobrazovací techniky a biomarkery HD**

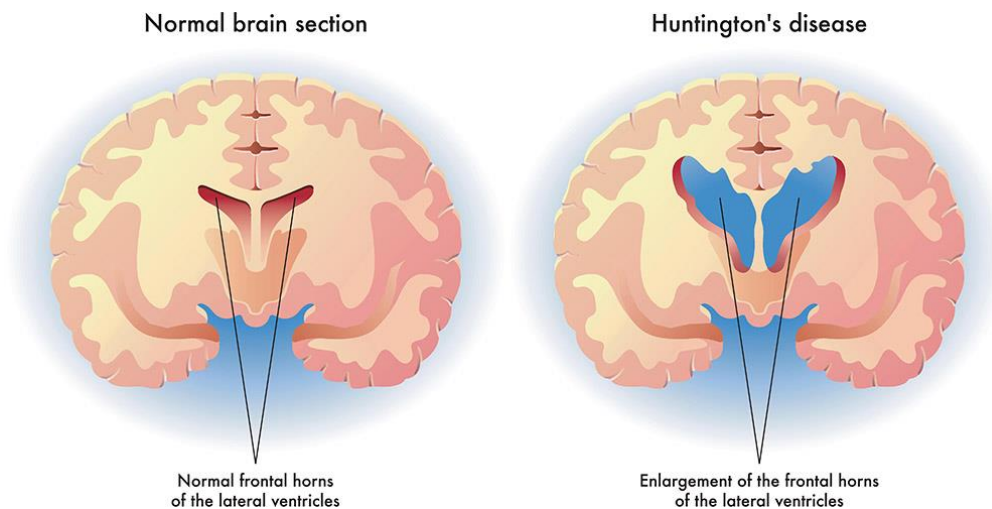
Zobrazovací techniky byly využity ke sledování změn u manifestních a premanifestních HD jedinců, kdy strukturální magnetické rezonanční techniky ukázaly rozsáhlé objemové změny v oblastech striata. Manifestní a premanifestní jedinci měli rychlejší tempo poklesu objemu než kontrolní jedinci. Jiné oblasti (globus pallidum, thalamus, hipokampus) vykazovaly také známky atrofie [63].

Difuzní tenzní zobrazování odhalilo abnormality v orientaci neuronových vláken a integritě v bílé hmotě a subkortikálních struktur šedé hmoty u manifestních a premanifestních jedinců [63].

Počáteční studie 18 F-fluorodeoxyglukózy (FDG)-PET u pacientů s HD vykazovaly hypometabolismus glukózy ve striatu. Nedávná studie zaznamenala pokles metabolismu glukózy u pacientů, kteří měli rychle progresivní HD [63].



Je možné, aby metoda FDG-PET v kombinaci s nástroji síťové analýzy mohla určit specifické vzorce abnormální funkce mozku u jedinců s prodromálními stádii HD. Vzorce metabolických změn u preklinických HD jedinců tedy mohou sloužit jako ukazatel rychlosti progresu nemoci u raných stádií [63].



**Obrázek 5:** Průřez zdravého mozku (vlevo), průřez mozku s atrofií u HD jedince (vpravo) [64; upraveno]

### 7.3 Prenatální diagnostika

Vzorky fetální DNA se odebírají od 11. týdne odběrem choriových klků a pomocí aminocentézy od 15. týdne těhotenství, které jsou určené pro presymptomatické prediktivní testování (PND) a prenatální diagnostiku (PGD). Bohužel u zvýšeného rizika nemoci plodu je jediná terapeutická možnost ukončit těhotenství. Pokud páry už vědí, že jsou nositelem genu HD, tak se PND provádí pomocí přímého testování na patogenní variantu HD genu. U jedinců, kteří si nepřejí zjistit, zda sami mají tuto nemoc, tak podstupují testování ve formě nepřímého testování. Zjišťovalo se, který prarodič od rizikového rodiče přispěl postiženým genem, který byl předán na plod. Ke stanovení byly použity DNA markery spojené s genem HD. Vylučovací testování umožňuje rizikovým rodičům vyhnout se odhalení jejich genetického rizika u následných potomků. Toto testování není zcela přesné z důvodu, že může poskytnout falešnou pozitivitu. Existuje 50% šance, že embryo zdědilo zmutovaný gen od prarodiče [65].

Na přístup PND dohlížejí správní rady a profesionální síť Národní zdravotní služby ve Spojeném království. Přímá i vyloučená PND jsou zdarma v místě péče prostřednictvím veřejné zdravotní péče Národní zdravotní služby od roku 1993, ale záleží na různých faktorech. Financování PGD je omezeno na dva až tři cykly nebo jedno úspěšné těhotenství. Financování také ovlivňují další faktory, které zahrnují například věk partnerky, kouření, užívání alkoholu

či index tělesné hmotnosti. Od roku 1988 do roku 2015 bylo provedeno 479 prenatalních studií ve 23 centrech v Británii. Míra testování byla v průměru 18 testovaných za jeden rok v letech 1995 až 2015. Nemoc HD se stala jednou z nejčastějších indikací pro monogenní PGD v Británii. Přímé testování bylo provedeno u 62,5 % testovaných a oproti tomu vylučovací metoda byla použita u 37,5 %. Plod byl postižen HD v 53 % případů a těhotenství ukončilo 90,2 % párů. Zbylé páry těhotenství neukončily a byly si vědomy toho, že dítě v budoucnosti bude postiženo touto nemocí. Při výběru mezi PND a prenatalní genetickou diagnostikou páry berou v úvahu osobní, etické, kulturní a zdravotní problémy. Mnoho párů považuje koncept PGD za atraktivnější než PND při plánování budoucího těhotenství, protože se vyhnou ukončení těhotenství v případě, že plod je postižen. [65].

Způsoby využití odběru choriových klků a amniocentézy se rychle mění s příchodem neinvazivního prenatalního screeningu pro screening Downova syndromu a dalších aneuploidii a neinvazivní prenatalní diagnostiky pro některé monogenní poruchy pomocí volné fetální DNA. Diagnostika volné fetální DNA u HD je možná, ale jsou zde technické problémy v sekvenování tripletové repetice u HD, kdy tato technika není dostupná ve většině evropských států [65].

### **7.3.1 Reimplantační genetické testy**

S objevem mutace HD vznikla další možnost diagnostiky nemoci dostupné pro rizikové páry. PGD kombinuje výhody genetiky s technologií *in vitro* fertilizace (IVF). Ženský reprodukční měsíční cyklus je manipulovaný skrze hormony, které stimulují vaječníky. Stimulace vaječníků pomocí hormonů napomáhá zrání více vajíček v jednom období těhotenství. Vajíčka jsou sesbírána a fertilizována spolu s partnerovým spermatem v Petriho misce. V momentě, kdy embryo dosáhne stádia moruly, je poté testováno na přítomnost či absenci genetické mutace, jež způsobuje tuto nemoc. Embrya bez mutace jsou znovu vložena do lůna ženy. Tento proces zajišťuje to, že rodiče mohou mít své vlastní děti bez rizika možnosti vzniku nemoci HD či ukončení těhotenství. Cena tohoto procesu zahrnuje léky pro stimulaci ovulace, poplatky za IVF, biopsii, genetickou analýzu a další. Částka tak může narůst až na hodnotu 17 250 dolarů. Některé pojišťovny poskytují pokrytí určité částky za provedenou metodu, jiné však nikoliv [66].

## **7.4 Uskladnění DNA do banky pro budoucí testování HD**

Po úspěšném zmapování genu HD byla založena banka pro uschování vzorků DNA sloužící k následnému testování. Rodiny s HD mohly uložit vzorky od ovlivněných příbuzných či příslušníků, kteří nebyli ovlivněni. Poté vzorky byly k dispozici pro testování propojení v případě, že se příbuzní rozhodnou testovat. Jedinci s dětmi jsou také žádáni o skladování DNA v případě jejich předčasné smrti, kdy se poté vzorky testují k určení hladiny rizika nemoci u jejich dětí [66].

## **7.5 Vliv testování na partnery**

Prokázalo se, že partneři jedinců, kteří podstupují genetické testování, trpí úzkostmi a depresemi stejně jako postižení jedinci s HD. Srovnáním partnerů přenašečů s partnery lidí, kteří nepřenašejí nemoc, se ukázalo, že stresem a úzkostí trpí partneři přenašečů v období 1 týdne, 6 měsíců a 3 roky po odhalení nemoci [66].

## **7.6 Vliv zjištění výsledků z testování**

Sledováním přenašečů a jedinců, kteří nepřenaší nemoc, se provedla studie zaměřená na psychologický vliv v ohledu získání výsledků z testování na HD. Většími sklony k depresím trpěli rizikovní jedinci, kteří podstoupili testování a nedostali výsledky z důvodu, že testování vazby bylo neinformativní. V případě obdržení pozitivního výsledku je jedinec v lepším psychologickém stavu, protože to poskytuje příležitost pro plánování v jeho následujícím životě a snižuje to také nejistotu a obavy z pravděpodobné nemoci [66].

## **7.7 Anonymní testování**

Někteří jednotlivci požadující anonymní testování z důvodu, že se bojí diskriminace. Některá centra odmítají poskytovat anonymní informace o testování. Nejsou přímo určena pravidla, co to znamená být anonymní, proto se musí vypracovat podrobnosti mezi jednotlivcem požadujícím testování a osobou, která toto testování poskytuje. Jedinec si ale musí být vědom toho, že pro potřeby pojištění či z jiných důvodů musí být testování provedeno pod jeho jménem, osobními informacemi a také pod jménem osoby, která vyšetření vykonala [66].

## **7.8 Role rodinných příslušníků a dalších v rozhodovacích procesech o genetickém testování u jedinců ohrožených HD**

Metodou dotazníků v určitých intervalech byla prováděna studie, která získávala informace od 21 jedinců, kteří měli pozitivní výsledek na mutaci, byli negativní či nebyli vůbec testováni. Cílem bylo porozumět postiženým jedincům a tomu, jak pohlíží na své rodinné příslušníky v okamžiku, kdy přijde čas se rozhodnout, zda podstoupit genetické testování. Rodinní příslušníci se často silně zajímali o to, zda by se měl jedinec nechat testovat. Zdravotní pracovníci poskytovali informace a pomoc s rozhodováním a doporučeními pro duševní zdraví, což bylo často užitečné [67].

Jedinci byli vybíráni z kliniky, která poskytuje program prediktivního testování. S každým účastníkem se vedl rozhovor, který trval 2 hodiny, v prostředí vyhovujícím pacientovi. Dotazník poté sloužil k získání podrobného popisu procesu rozhodování o testování a dalších okolností. Během probíhajícího procesu rozsáhlých rozhovorů bylo prozkoumáváno, jak se účastníci podobali nebo lišili jeden od druhého ve svých rozhodnutích a ve svém sociálním kontextu, zda tato rozhodnutí a kontexty mohou spolu souviset. Jedinci byli mezi sebou různě porovnáváni. Srovnávali se jedinci, kteří byli rozhodnutí se testovat, s jedinci, kteří rozhodnutí o testování neustále odkládali či nechtěli podstoupit testování [67].

Mezi členy rodiny, kteří se podíleli na těchto rozhodnutích, patřili manželé, sourozenci, rodiče a dospělí potomci. Někteří jedinci, kteří byli v ohrožení této nemoci, byli pod tlakem svých rodinných příslušníků, ti je nutili z různých důvodů se nechat jít testovat. Tento nucený tlak měl poté negativní vliv na psychiku rizikového jedince. Jiní jedinci se nechali testovat z důvodu obav svých vlastních potomků a jejich případných budoucích potomků. Dospělí potomci tak mohli zjistit, zda jsou ohroženi HD, aniž by podstoupili PGD. Naopak obavy o členy rodiny vedly některé jedince k rozhodnutí se netestovat, a to z obav, že pozitivní výsledek na mutaci HTT genu by mohl rozrušit jejich potomky. Objevil by se také problém v případě snahy získání pojištění na PGD. Špatné zprávy by mohly negativně ovlivnit rodinné příslušníky, a proto se jedinci rozhodli netestovat [67].

V případě vlivu na rozhodování o testování jedinců měli svůj podíl zdravotní pracovníci, kteří různými druhy interakcí, poskytováním informací o výsledku testu či pomáháním s rozhodováním ovlivnili jedince. Pracovníci s malými znalostmi o této nemoci byli spíše proti testování jedinců. Specializovaní zdravotní pracovníci mohli poskytnout důležité informace, výhody a nevýhody testování. Genetická centra dávají většinou návrhy, kdy se pacienti mají

testovat, a poskytují doporučení, aby se nechali testovat až v momentě, kdy jsou pojištěni. Při podstoupení testování bez pojištění mají rizikovní jedinci poté problémy s možností pokrytí částky testu [67].

## 8 LÉČBA

### 8.1 Dostupné možnosti léčby

Dosud není objeven žádný lék, který by vyléčil HD. Jsou zde medikamenty, které zmírňují projevy nemoci. Chorea reaguje na léčbu tetrabenzinem. Tetrabenzin (TBZ) je lék schválený Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv pro léčbu chorey u HD. TBZ reverzně inhibuje vezikulární monoaminový transportér 2 (VMAT-2) v CNS. Inhibice VMAT-2 vede k degradaci monoaminů – serotoninu, dopaminu a norepinefrinu. Nedostatek dopaminu snižuje choreatické pohyby, ale negativně působí na depresi a úzkosti pacientů. Dalším možným prostředkem ke zmírnění je deutetrabenzin (DEU) – strukturně příbuzná molekula s deuteriem. Deuterace prodlužuje poločas rozpadu. Použití deutetrabenzinu místo tetrabenzinu by bylo výhodnější z důvodu menšího počtu dávkování. Dávkování tetrabenzinu je třikrát za den. Antidepressiva a antipsychotika se využívají k léčbě psychiatrických symptomů. Mezi antipsychotika můžeme zařadit haloperidol, pimizid, risperidon a aripiprazol [68, 69, 70].

### 8.2 Léčba pohybových symptomů HD

#### 8.2.1 Neuroleptika

Neuroleptika slouží k potlačení pohybu. V dnešní době se nejčastěji podávají olanzapin, risperidon či kvetiapin. Tyto medikamenty jsou lépe snášeny a je zde menší pravděpodobnost výskytu vedlejších účinků spojených s dystonií a rigiditou. Atypická neuroleptika podporují přibírání na váze, což je žádoucí u pacientů s HD z důvodu, že u těchto jedinců tělesná hmotnost klesá. Také zlepšují spánek a snižují podrážděnost. U olanzapinu a risperidonu je důležité si dávat pozor na jiné anamnézy pacientů, protože zvyšují hladiny cholesterolu a koncentrace plazmatických lipoproteinů. Jedná se o anamnézy cévní mozkové příhody a tranzitorní ischemické ataky, u těchto nemocí se mění hladiny glukózy a lipidů [71].

Sulprid a haloperidol také potlačují choreu s možnými vedlejšími účinky, jako je neklid a parkinsonismus nebo tardivní dyskineze. Tato neuroleptika řadíme pod typická neuroleptika [71].

### **8.2.2 Myoklonus a tiky u HD**

Myoklonus je náhlé krátké škubnutí svalů. K tlumení těchto záškubů můžeme využít podávání klonazepamu nebo valproátu sodného [71].

Tiky jsou krátké a přerušované pohyby. Mezi tiky patří například škubání hlavou, mrkání nebo abnormální přechodné polohy. Samotné tiky mohou doprovázet zvuky – chrčení, kašel, smrkání. Léčba samotných tiků není možná, ale lze je potlačit pomocí neuroleptik či benzodiazepiny [71].

### **8.3 Léčba kognitivních funkcí u HD**

Jedinci s postupující nemocí HD ztrácejí schopnosti si zapamatovat různé věci a úkony a učení se novým dovednostem je pro ně velmi obtížné. Jediná dostupná terapie je zavedení deníků a denní rutiny, kdy jedinec funguje podle daných úkonů. Můžou také pomoci různé vymyšlené podněty sloužící k probuzení paměti [71].

S cílem potlačení kognitivních poruch u HD bylo navrženo použití rivastigminu. Rivastigmin byl podáván pacientům po dobu 2 let. U pacientů léčených rivastigminem došlo ke zlepšení globálních motorických úkonů. U jiné studie sledovali reakční dobu jedinců. U neurodegenerativních nemocí je reakční doba prodloužená. Léčba rivastigminem způsobila zkrácení této doby. Snášitelnost léčiva byla u testovaných jedinců dobrá. Dlouhodobé užívání rivastigminu by mohlo mít prospěšné účinky na jedince s HD [72, 73].

Ke sledování kognitivních funkcí jedinců léčených rivastigminem byly využity neuropsychologické nástroje k hodnocení pozornosti, psychomotoriky, rychlosti a paměti. Zlepšení se projevilo u rozpoznávání verbálních informací ve formě rozpoznávání ano/ne. Donepezil byl další látkou, která byla podávána vybraným jedincům s HD, bohužel ale nezlepšila kognitivní funkce ani choreu [74, 75].

Glutamát se podílí na vývoji nervové tkáně, ale jeho zvýšené množství způsobuje excitotoxicitu, která je zodpovědná za neurodegeneraci u HD. Memantin stabilizuje glutámatergní tonus, působí jako antagonist NMDA receptoru. Bylo prokázáno, že dávka memantinu napomáhá zlepšit motorické příznaky a výsledky naznačují, že léčba pomocí memantinu může být užitečná ve zpomalení progresu nemoci [76, 77].

## 8.4 Léčba psychiatrických symptomů

Deprese je jedním ze symptomů, který můžeme potlačit pomocí antidepresiv. Ale i tak se našli jedinci s HD, kteří antidepresiva nepoužívali. Sledováním 1 993 jedinců s HD bylo zjištěno, že 54,9 % z nich je na antidepresivech. I přenašeči byli nedostatečně léčeni, neboť pouze 54,5 % z nich dostávalo antipsychotické léky. S používáním antipsychotik se objevuje riziko výskytu apatií u pacientů. Z toho důvodu u apatických pacientů je doporučováno omezit užívání antipsychotik. Antipsychotika mají sedativní a otupující účinky. Deprese je jedním z nejčastějších psychiatrických symptomů, protože jedinci postupem času ztrácí samostatnost a musí se spoléhat na své rodinné příslušníky [78].

Pomocí systematického přehledu farmakologických způsobů léčby deprese u HD, které byly zkoumány u 190 pacientů, nebyly poskytnuty dostatečné důkazy účinnosti léčby HD antidepresivy. Sledoval se zde například venlafaxin, citalopram a lithium. Studie neměly adekvátní trvání, výsledek či kontrolovaný proces u depresivní populace s pozitivními výsledky poklesu deprese. U jedné studie byl sledován antidepresivní vliv venlafaxinu. U jedinců došlo k poklesu depresivních stavů, ale tento test nebyl dostatečně kontrolován a doba léčby byla neadekvátní ve srovnání s konvenčními studiemi antidepresiv [79].

Fluoxetin je selektivní inhibitor zpětného vychytávání serotoninu, který má široké spektrum antidepresivních účinků. Byla provedena studie fluoxetinu s dávkováním 20–40 mg/den u lidí bez známek deprese a jedinců s placebem. U skupiny jedinců s fluoxetinem se zvýšila hodnota u stupnice hodnocení kognitivních funkcí a zlepšení potřeby mít rutinu ve svém životě [80].

Dalším inhibitorem zpětného vychytávání je venlafaxin XR. Je rutinně předepisován pacientům s velkou depresí a úzkostnou poruchou. Na základě sledování pacientů, kterým bylo podáváno léčivo venlaxin, byla zkoumána hodnota deprese. Byly využity metody s názvem Beckova škála deprese a Hamiltonova škála deprese, které byly vyplněné před podáváním léčiva a po 4 týdnech měření. Míra deprese u pacientů klesla v obou škálách [81].

## 8.5 Účinky demethyleberberinu

Zatím nebyl nalezen žádný lék, který by úspěšně vyléčil HD. Jedna z hypotéz popisuje neuroprotektivní účinky demethyleberberinu (DMB), kdy by se zastavila produkce reaktivních forem kyslíku a dusíku, které způsobují mitochondriální dysfunkci a vychytávání volných radikálů produkovaných mikrogliovými buňkami [82].



DMB je metabolickým produktem berberinu, který působí jako mitochondriální antioxidant. Berberin snižuje hladinu markerů oxidačního stresu. DMB má lepší schopnost procházet hematoencefalickou bariérou než berberin. Z tohoto důvodu byl vybrán jako možný prostředek k léčbě HD. DMB může procházet mitochondriální membránou, kde se akumuluje v mitochondriích *in vitro* nebo *in vivo*. Hypotézou je, že DMB způsobuje inhibici mitochondriálního dýchání a snížení kapacity zatěžování vápníkem prostřednictvím indukce mitochondriálního permeabilního přechodu (MPT) [82].

U mikrogliových buněk může DMB potlačit neurozánětlivé reakce a zmírnit vývoj zánětlivých mediátorů potlačením toll-like receptoru 4 a nukleárního faktoru kappa B (NF- $\kappa$ B). Díky zapojení agregovaného proteinu HTT jsou mikroglie stimulovány a přispívají k upregulaci jejich buněčných povrchových antigenů a sekreci prozánětlivých cytokinů. Hypotéza se opírá o skutečnost, že DMB by měl být účinný při inhibici uvolňování oxidu dusnatého z primární mikroglie. Tím dojde ke snížení produkce tumor nekrotizujícího faktoru alfa, interleukinu-1 $\beta$  a prostaglandinu E2, intracelulární reaktivní formy kyslíku a aktivace NF- $\kappa$ B. Tímto procesem by se zastavil proces úmrtí neuronů [82].

## 8.6 Strategie snižování hladiny HTT k potlačení exprese mutantního HTT

Vývoj terapeutik pro léčbu HD je zaměřen na patogenní procesy blízké její genetické příčině. Expanze CAG v genu je výsledkem exprese proteinu HTT, takže terapeutická činidla jsou zaměřena na snižování produkce HTT, to by mělo zmírnit patogenezi HD [83, 84].

Ke snižování množství produkovaného mutantního HTT dochází skrze terapeutické strategie. Pod ně spadají antisense oligonukleotidy (ASO) a sloučeniny RNA interference (RNAi), které urychlují rozpad transkriptu. Mezi látky, které přímo reagují s HTT DNA, patří transkripční represory se zinkovým prstem (ZFTR), seskupené pravidelně rozložené krátké palindromové repetice a doprovodný CRISPR-asociovaný systém (CRISPR/Cas9) [83, 84].

Messenger RNA je přístupná v jádře nebo cytosolu. Snížení translace HTT mRNA by měl být jednodušší proces než modulace transkripce nebo změna genu. RNAi je molekula, která se selektivně váže na mRNA podle komplementarity bází nukleotidů. Tím dojde ke spuštění degradace RNA sloužící k likvidaci transkriptu. RNAi obsahuje molekuly krátké interferující RNA (siRNA), mikroRNA (miRNA) a krátkou vlásenkovou RNA (shRNA). Krátké molekuly miRNA se vážou na část mRNA, tím spustí proces degradace. RNAi terapie spočívá v dodávání miRNA pomocí adeno-asociovaných virových vektorů. Jde o upravené viry, ze kterých byly

odstraněny geny způsobující onemocnění, ty byly nahrazeny miRNA. Tento proces je náročnější než dávání injekcí ASO, ale je výhodnější z důvodu umožnění léčby prostřednictvím jedné dávky [83, 84].

Snižování HTT je možné také pomocí ASO, což jsou krátké, syntetické a jednovláknové molekuly. Skládají se z 16–22 bází, které se dle komplementarity váží na RNA v jádře. Mohou vést k modulaci genové exprese prostřednictvím řady různých drah. Je velmi obtížné, aby se oligonukleotidy dostaly na přesné místo, kde je to potřeba, protože by došlo k jejich zničení pomocí štěpícího enzymu. Jednou z variant k dosažení cílové koncentrace ve tkáni je použití vyššího dávkování léku nebo navázání oligonukleotidu na monoklonální protilátku. Dodávání léků je skrze podávání injekcí ASO do mozkomíšního moku prostřednictvím lumbální aplikace. Injekce ASO u jednovláknové DNA vede k dobře rozšířenému transportování léku do mozku, u dvouvláknové DNA dochází ke špatné difuzi a buněčné absorpci v CNS [83, 84].

Testování těchto terapeutických metod, aby byly účinné u lidí, je obtížné. U primátů sice můžeme dosáhnout široké distribuce léčiva a snížení HTT, ale primáti jsou neúplné modely a nemohou nás úplně informovat o účinku léčiva. Z toho důvodu se začaly používat také modely ovcí a prasat. Kombinace testování na malých a větších modelech zvířat musí být spojena s opatrným přístupem ke klinickému testování, aby byla zaručena maximální bezpečnost a šance na úspěšný překlad. Musí být zaznamenána konkrétní použitelnost a omezení u každého zvířecího modelu k dosažení úspěšnosti a bezpečnosti [84].

Terapie proteinů se zinkovým prstem (ZFP) a CRISP/Cas9 využívají sekvenci kódujícího proteinu, která je zapouzdřená ve virovém vektoru. Virový vektor je injikován intrakraniálně, transdukuje buňky a způsobuje, že buňky produkují funkční a nenativní terapeutický protein. ZFP se váží na specifické sekvence DNA, mohou být vytvořeny synteticky a použity jako prvky zacílené na DNA. Obsahují pole zinkových prstů, které jsou specifické pro požadovanou sekvenci DNA. Nukleázy se zinkovým prstem jsou schopné cílené úpravy genomu, ale proces není dostatečně přesný. Pole zinkových prstů se musí vázat v blízkosti 3'-konce vlákna DNA, aby se transkripční represor dostal do blízkosti promotoru HTT. Tím se omezí výběr cílových sekvencí a sníží se riziko nežádoucí vazby na jiné geny. Tento typ terapie je jediný alelově selektivní přístup ke snížení HTT. Z toho vyplývá, že jediné terapeutické činidlo by mohlo selektivně potlačovat mutantní HTT u všech nosičů mutace. Terapeutika se zinkovým prstem mají i své nevýhody v tom, že vzniká produkce nepřírodních proteinů, tím by mohlo dojít ke spuštění zánětlivé a imunitní reakce [84].

CRISPR a jeho doprovodný asociovaný systém rozpoznává a ničí cizí DNA. Nukleáza 9 může být kombinovaná s vodící RNA za vzniku konstruktů. Konstrukt je schopen štěpit DNA s velmi vysokou přesností na daném místě. Strategie CRISPR může mít více možností. Může vyříznout CAG, aby alela měla délku, která nezpůsobuje mutace a poškození organismu. Dále může způsobit inaktivaci mutantní alely skrze vložení stop kodonů. Poprvé se terapie využila v inaktivaci alely ve fibroblastech z pacienta. Byly použity dva konstrukty k vyříznutí rozsáhlé oblasti HTT DNA. Tím bylo docíleno snížení RNA i mutantního HTT proteinu [84].

## **8.7 Léčba HD pomocí kmenových buněk**

Kmenové buňky jsou nediferencované buňky, které se mění na různé druhy buněk. Terapie pomocí kmenových buněk slouží k doplnění ztracených buněk, zpždění postupu nemoci či zvýšení přežití buněk. Transplantace kmenových buněk je příhodná u nemoci HD. Transplantované kmenové buňky jsou schopny poskytnout trofickou podporu a působení těchto buněk by mohlo přispět k redukci protizánětlivého procesu, který se vyskytuje u HD [85].

Mezenchymální kmenové buňky (MSC) jsou multipotentní kmenové buňky nacházející se v pupečníku, kostní dřeni a tukové tkáni. Mohou se diferencovat na různé typy buněk a mají parakrinní účinky. Vylučují neurotrofní faktory a cytokiny. Ve zvířecích modelech HD s použitím lidských MSC byly provedeny studie, zda se sníží degenerace striata alepší se motorické deficity u myších modelů. Různé modely myší a potkanů měly také výrazné zmenšení neuropatologických změn. Modely neposkytly informace o imunologických účincích MSC a musí se provést další studie protizánětlivých a imunitních mechanismů u HD modelů [85].

Izolace nervových kmenových buněk (NSC) je zprostředkována z fetální nervové tkáně, z mozků po smrti pacientů a z vyříznutých mozkových lézí obsahujících neurogenní oblasti. NSC se diferencují na neurony, astrocyty a oligodendrocyty. Různé studie a výzkumy se zabývaly sledováním modelů, kterými byly implantovány NSC, ukázalo se snížení poškození buněk a zlepšení motorických funkcí [85].

Embryonální kmenové buňky (ESC) se diferencují ze zárodků ektodermu, mezodermu nebo endodermu. Lidské ESC jsou odvozeny z blastocytů. Do striata potkanů s lézí chinolonové kyseliny byly vpraveny lidské gama-aminomáselné (GABA) neurony. ESC se diferencovaly na GABAergické neurony. To napomohlo k opravě pohybových poruch [86].

Lidské motoneurony GABA přijímají dopaminergní a glutamatergní vstupy a promítají se do určitých oblastí mozku. Neurony mají schopnost najít svůj cíl a opravit neuronální obvody, to by mohl být základ k léčbě motorických deficitů [86].

## **8.8 Nervově otevřené vápenaté kanály jako nový terapeutický cíl v léčbě HD**

Objevování potenciálních HD terapeutik se provádí pomocí platformy pro screening fenotypů léčiv. Fenotyp byl využit z modelu *Drosophila*, který exprimoval čtyři exony lidského HTT s délkou expanze 128. Následně si model *Drosophila* vyvinul motorický fenotyp, který mouchy *Drosophila* získaly po indukci exprese HTT transgenu. Metoda screeningu byla použita ke screeningu molekul odvozených od chinolinu. Pomocí zobrazovacích a elektrofyzilogických experimentů byla sledována aktivita dráhy vápníku. Dráha vápníku je řízená vápenatými kanály. Model *Drosophila* měl kultivované neurony pocházející od YAC128 transgenních myších modelů a linii lidských buněk neuroblastomu s HTT-138. Sloučeniny odvozené od chinolinu, které byly nalezeny v modelu *Drosophila*, inhibují dráhu vápenatých kanálů a chrání HD neurony před toxicitou. Tím by mohly být v budoucnu prospěšné jako terapeutické činidlo u neurodegenerativních poruch. Role přechodného receptoru kanonického při podpoře dráhy sodných otevřených kanálů je velmi klíčová v HD neuronech [87].

## ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá tématem Huntingtonovy chorey. V úvodní části se zaměřuje na popis nemoci v průběhu historie, první záznamy jedinců s HD a mapování jedinců. Dále se zabývá výskytem v populaci v rámci celého světa, etiologií, symptomy rozdělenými do daných kapitol a dědičností. Další část se věnuje patogenezi nemoci, metabolickým příčinám a celkovému vlivu nemoci na daného jedince. Poslední část se soustředí na různé druhy diagnostiky a možnosti léčebných terapií v oblasti možného budoucího vyléčení nemoci.

Nemoc je způsobená mutací genu na krátkém raménku chromozomu, kdy se jedná o zmnoženou trojici nukleotidů. Kvůli zvýšenému počtu nukleotidů obsahuje protein HTT dlouhý řetězec, čímž získá jiné vlastnosti. Samotná příčina degenerace mozku není jednotně definována, může se jednat například o nahromadění bílkoviny, apoptózu buněk nebo nedostatek neurotrofních faktorů, které hrají důležitou roli pro životaschopnost a správný vývoj nervové soustavy. Jednotlivé mechanismy možné patogeneze se stále sledují a zkoumají, aby se prohloubily a získaly další informace, jež by mohly poté přispět vývoji léčiv.

Vzhledem k tomu, že stále není k dispozici žádné léčivo, které by tuto nemoc vyléčilo, je důležité dále pátrat a vést výzkumy, aby se našla varianta možné léčby této nemoci. Nynější léčba se pouze zaměřuje na zmírnění symptomů, kterými jedinec trpí.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. BHATTACHARYYA, K. B. George *Huntington. Eminent Neuroscientists Their Lives and Works* [online]. New Delhi: Academic Publishers, 2011, s. 116–117 [cit. 2022-04-01]. ISBN 978-93-80599-28-1. Dostupné z: [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=ASG5E2UaTwC&oi=fnd&pg=PA1&ots=RRrwwfmP10&sig=\\_Egm9PMDvoaumiXcAEp1gXI1g4&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Huntington&f=false](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=ASG5E2UaTwC&oi=fnd&pg=PA1&ots=RRrwwfmP10&sig=_Egm9PMDvoaumiXcAEp1gXI1g4&redir_esc=y#v=onepage&q=Huntington&f=false).
2. BHATTACHARYYA, K. B. The story of George Huntington and his disease. *Ann Indian Acad Neurol* [online]. 2016, **19**(1), 25–28 [cit. 2021-11-12]. DOI: 10.4103/0972-2327.175425. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4782548/>.
3. OKUN, S. M. a N. THOMMI. Americo Negrette (1924 to 2003): Diagnosing Huntington disease in Venezuela. *Historical Neurology* [online]. 2004, **63**(2), 340–343 [cit. 2022-04-06]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000129827.16522.78>.
4. VRBA, M. *Genetika pro zdravotní laboranty: [učební text]*. 2., přeprac. vyd. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1994. ISBN 80-7013-184-5.
5. BERÁNEK, Martin. Molekulární genetika pro bioanalytiku. Praha: Karolinum, 2016. Učební texty Univerzity Karlovy v Praze. ISBN 978-80-246-3224-7.
6. OTOVÁ, B., R. MIHALOVÁ a J. VYMLÁTIL. *Základy biologie a genetiky: vývoj a růst člověka*. 2., přeprac. vyd. Praha: Karolinum, 2006. ISBN 80-246-1100-7.
7. ROOS, AC R. Huntington's disease: a clinical review. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2010, **5**(40) [cit. 2022-03-24]. DOI: 10.1186/1750-1172-5-40. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1750-1172-5-40>.
8. AJITKUMAR A, DE O JESUS, 2021. Huntington Disease. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559166/>.
9. AZIZ, N. A. et al. Weight loss in Huntington disease increases with higher CAG repeat number. *Neurology* [online]. 2008, **71**(19) [cit. 2022-04-06]. DOI: 10.1212/01.wnl.0000334276.09729.0e. Dostupné z: <https://n.neurology.org/content/71/19/1506>.
10. PRINGSHEIM, T. et al. The incidence and prevalence of Huntington's disease: A systematic review and meta-analysis. *Movement Disorders* [online]. 2012, **27**(9), 1083–1091 [cit. 2022-03-30]. DOI: 10.1002/mds.25075. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mds.25075>.

11. RAWLINGS, D. M. et al. The Prevalence of Huntington's Disease. *Neuroepidemiology* [online]. 2016, **46**(2), 144–153 [cit. 2022-03-30]. DOI: 10.1159/000443738. Dostupné z: <https://doi.org/10.1159/000443738>.
12. MACDONALD, E. M. et al. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. The Huntington's Disease Collaborative Research Group. *Cell* [online].1993, **72**(6), 971–983 [cit. 2022-04-08]. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90585-e. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90585-e](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90585-e).
13. WARREN, S. T. The Expanding World of Trinucleotide Repeats. *Science* [online]. 1996, **271**(5254), 1374–1375 [cit. 2022-05-16]. DOI: 10.1126/science.271.5254.1374. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.271.5254.1374>.
14. SUGAYA, K. et al. Polyglutamine Expansion Mutation Yields a Pathological Epitope Linked to Nucleation of Protein Aggregate: Determinant of Huntington's Disease Onset. *PLoS ONE* [online]. 2007, **2**(7), 1–7 [cit. 2022-04-10]. DOI: 10.1371/journal.pone.0000635. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000635>.
15. PAULSON, H. L. et al. Intranuclear Inclusions of Expanded Polyglutamine Protein in Spinocerebellar Ataxia Type 3. *Neuron* [online]. 1997, **19**(2), 333–344 [cit. 2022-04-12]. DOI: 10.1016/S0896-6273(00)80943-5. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80943-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80943-5).
16. SCHERZINGER, E. et al. Huntingtin-Encoded Polyglutamine Expansions Form Amyloid-like Protein Aggregates In Vitro and In Vivo. *Cell* [online]. 1997, **90**(3), 549–558 [cit. 2022-04-14]. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80514-0. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80514-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80514-0).
17. DAVIES, S. et al. Formation of Neuronal Intranuclear Inclusions Underlies the Neurological Dysfunction in Mice Transgenic for the HD Mutation. *Cell* [online]. 1997, **90**(3), 537–548 [cit. 2022-04-13]. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80513-9. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80513-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80513-9).
18. SHERMAN, M. Y. a A. L. GOLDBERG. Cellular Defenses against Unfolded Proteins. *Neuron* [online]. 2001, **29**(1), 15–32 [cit. 2022-04-14]. DOI: 10.1016/S0896-6273(01)00177-5. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(01\)00177-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(01)00177-5).
19. WELLINGTON, C. L. et al. Caspase Cleavage of Mutant Huntingtin Precedes Neurodegeneration in Huntington's Disease. *The Journal of Neuroscience* [online]. 2002, **22**(18), 7862–872 [cit. 2022-04-14]. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-18-07862.2002. Dostupné z: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-18-07862.2002>.

20. GAFNI, J. a L. M. ELLERBY. Calpain Activation in Huntington's Disease. *The Journal of Neuroscience* [online]. 2002, **22**(12), 4842–4849 [cit. 2022-04-14]. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-12-04842.2002. Dostupné z: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-12-04842.2002>.
21. SLOW, E. J. et al. Absence of behavioral abnormalities and neurodegeneration in vivo despite widespread neuronal huntingtin inclusions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2005, **102**(32), 11402–11407 [cit. 2022-04-14]. DOI: 10.1073/pnas.0503634102. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.0503634102>.
22. STEFFAN, J. S. et al. The Huntington's disease protein interacts with p53 and CREB-binding protein and represses transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2000, **97**(12), 6763–6768 [cit. 2022-04-15]. DOI: 10.1073/pnas.100110097. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.100110097>.
23. CONG, S. Y. et al. Mutant huntingtin represses CBP, but not p300, by binding and protein degradation. *Mol Cell Neurosci* [online]. 2005, **30**(4), 560–571 [cit. 2022-04-15]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16456924/>.
24. ZUCCATO, C. a E. CATTANEO. Role of brain-derived neurotrophic factor in Huntington's disease. *Progress in Neurobiology* [online]. 2007, **81**(5-6), 294–330 [cit. 2022-04-15]. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2007.01.003. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2007.01.003>.
25. GINÉS, S. et al. Reduced expression of the TrkB receptor in Huntington's disease mouse models and in human brain. *European Journal of Neuroscience* [online]. 2006, **23**(3), 649–658 [cit. 2022-04-20]. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2006.04590.x. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04590.x>.
26. GU, M. et al. Mitochondrial defect in Huntington's disease caudate nucleus. *Annals of Neurology* [online]. 1996, **39**(3), 385–389 [cit. 2022-04-28]. DOI: 10.1002/ana.410390317. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ana.410390317>.
27. BROWNE, S. E. et al. Oxidative damage and metabolic dysfunction in Huntington's disease: Selective vulnerability of the basal ganglia. *Annals of Neurology* [online]. 1997, **41**(5), 646–653 [cit. 2022-04-28]. DOI: 10.1002/ana.410410514. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ana.410410514>.
28. WEYDT, P. et al. Thermoregulatory and metabolic defects in Huntington's disease transgenic mice implicate PGC-1 $\alpha$  in Huntington's disease neurodegeneration. *Cell Metabolism* [online]. 2006, **4**(5), 349–362 [cit. 2022-04-27]. DOI: 10.1016/j.cmet.2006.10.004. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.10.004>.



29. LIN, J. et al. Defects in Adaptive Energy Metabolism with CNS-Linked Hyperactivity in PGC-1 $\alpha$  Null Mice. *Cell* [online]. 2004, **119**(1), 121–135 [cit. 2022-04-27]. DOI: 10.1016/j.cell.2004.09.013. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.09.013>.
30. DUNCAN, J. E. a L. S. B GOLDSTEIN. The Genetics of Axonal Transport and Axonal Transport Disorders. *PLoS Genet.* [online]. 2006, **2**(9), e124 [cit. 2022-04-28]. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020124. Dostupné z: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020124>.
31. GAUTHIER, L. R. et al. Huntingtin Controls Neurotrophic Support and Survival of Neurons by Enhancing BDNF Vesicular Transport along Microtubules. *Cell* [online]. 2004, **118**(1), 127–138 [cit. 2022-04-28]. DOI: 10.1016/j.cell.2004.06.018. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.06.018>.
32. ZOGHBI, H. Y. a H. T. ORR. Glutamine Repeats and Neurodegeneration. *Annual Review of Neuroscience.* 2000. **23**(1), 217–247. DOI: 10.1146/annurev.neuro.23.1.2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.2>.
33. GERVAIS, F. G. et al. Recruitment and activation of caspase-8 by the Huntingtin-interacting protein Hip-1 and a novel partner Hipp1. *Nature Cell Biology* [online]. 2002, **4**(2), 95–105 [cit. 2022-04-28]. DOI: 10.1038/ncb735. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ncb735>.
34. ZHAI, W. et al. In Vitro Analysis of Huntingtin-Mediated Transcriptional Repression Reveals Multiple Transcription Factor Targets. *Cell* [online]. 2005, **123**(7), 1241–1253 [cit. 2022-04-28]. DOI: 10.1016/j.cell.2005.10.030. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.030>.
35. SUN, Y. et al. Polyglutamine-expanded Huntingtin Promotes Sensitization of N-Methyl-d-aspartate Receptors via Post-synaptic Density 95. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2001, **276**(27), 24713–24718 [cit. 2022-04-28]. DOI: 10.1074/jbc.M103501200. Dostupné z: <https://doi.org/10.1074/jbc.M103501200>.
36. LEAVITT, B. R. et al. Wild-type huntingtin protects neurons from excitotoxicity. *Journal of Neurochemistry* [online]. 2006, **96**(4), 1121–1129 [cit. 2022-04-28]. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2005.03605.x. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03605.x>.
37. STRONG, T. V. et al. Widespread expression of the human and rat Huntington's disease gene in brain and nonneural tissues. *Nature Genetics* [online]. 1993, **5**(3), 259–265 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1038/ng1193-259. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/ng1193-259>.

38. LOBSIGER, Ch. S. a D. W. CLEVELAND. Glial cells as intrinsic components of non-cell-autonomous neurodegenerative disease. *Nature Neuroscience* [online]. 2007, **10**(11), 1355–1360 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1038/nn1988. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nn1988>.
39. LIÉVENS, J. C. et al. Expanded polyglutamine peptides disrupt EGF receptor signaling and glutamate transporter expression in Drosophila. *Human Molecular Genetics* [online]. 2005, **14**(5), 713–724 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1093/hmg/ddi067. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi067>.
40. POWERS, W. J. et al. Selective defect of in vivo glycolysis in early Huntington's disease striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2007, **104**(8), 2945–2949 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1073/pnas.0609833104. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.0609833104>.
41. MACDONALD, M. E. et al. Quantitative neuropathological changes in presymptomatic Huntington's disease. *Ann Neurol* [online]. 2001, **49**(1), 29–34 [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11198293/>.
42. WYSS-CORAY, T. a L. MUCKE. Inflammation in Neurodegenerative Disease—A Double-Edged Sword. *Neuron* [online]. 2002, **35**(3), 419–432 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1016/S0896-6273(02)00794-8. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(02\)00794-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(02)00794-8).
43. NIMMERJAHN, A., F. KIRCHHOFF a F. HELMCHEN. Resting Microglial Cells Are Highly Dynamic Surveillants of Brain Parenchyma in Vivo. *Science* [online]. 2005, **308**(5726), 1314–1318 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1126/science.1110647. Dostupné z: <https://doi.org/10.1126/science.1110647>.
44. HANISCH, U. K. Microglia as a source and target of cytokines. *Glia* [online]. 2002, **40**(2), 140–155 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1002/glia.10161. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/glia.10161>.
45. SAPP, E. et al. Early and Progressive Accumulation of Reactive Microglia in the Huntington Disease Brain. *PubMed* [online]. 2001, **60**(2), 161–172 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1093/jnen/60.2.161. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/jnen/60.2.161>.
46. TAI, Y. F. et al. Microglial activation in presymptomatic Huntington's disease gene carriers. *Brain* [online]. 2007, **130**(7), 1759–1766 [cit. 2022-04-29]. DOI: 10.1093/brain/awm044. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/brain/awm044>.
47. DALRYMPLE, A. et al. Proteomic Profiling of Plasma in Huntington's Disease Reveals Neuroinflammatory Activation and Biomarker Candidates. *Journal of Proteome Research*

- [online]. 2007, **6**(7), 2833–2840 [cit. 2022-04-30]. DOI: 10.1021/pr0700753. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/pr0700753>.
48. SIMMONS, D. A. et al. Ferritin accumulation in dystrophic microglia is an early event in the development of Huntington's disease. *Glia* [online]. 2007, **55**(10), 1074–1084 [cit. 2022-04-30]. DOI: 10.1002/glia.20526. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/glia.20526>.
  49. LO, D. C. a R. HUGHES. *Neurobiology of Huntington's Disease: Applications to Drug Discovery* [online]. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2011 [cit. 2022-05-02]. ISBN 978-0-8493-9000. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21882415/>.
  50. MERICAL, B a JC SÁNCHEZ-MANSO, 2022. Chorea. StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 17. 7. 2021, 1-7 [cit. 2022-05-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430923/>.
  51. YILMAZ, S. a J. W. MINK. Treatment of Chorea in Childhood. *Pediatric Neurology* [online]. 2020, **102**, 10–19 [cit. 2022-05-04]. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.08.013. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2019.08.013>.
  52. PANA, A a BM SAGGU, 2022. Dystonia. StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 9. 9. 2021, 1-11 [cit. 2022-05-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448144/>.
  53. BERARDELLI, A. et al. Pathophysiology of bradykinesia in Parkinson's disease. *Brain* [online]. 2011, **124**(11), 2131–2146 [cit. 2022-05-04]. DOI: 10.1093/brain/124.11.2131. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/brain/124.11.2131>.
  54. CARDOSO, F., 2017. Nonmotor Symptoms in Huntington Disease. *International Review of Neurobiology* [online]. 2017, **134**, 1397–1408 [cit. 2022-05-02]. DOI: 10.1016/bs.irm.2017.05.004. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/bs.irm.2017.05.004>.
  55. RIBAĽ, P. et al.. Psychiatric and Cognitive Difficulties as Indicators of Juvenile Huntington Disease Onset in 29 Patients. *Archives of Neurology* [online]. 2007, **64**(6), 813–819 [cit. 2022-05-02]. DOI: 10.1001/archneur.64.6.813. Dostupné z: <https://doi.org/10.1001/archneur.64.6.813>.
  56. BORA, E., D. VELAKOULIS a M. WALTERFANG. Social cognition in Huntington's disease: A meta-analysis. *Behavioural Brain Research* [online]. 2016, **297**(15), 131–140 [cit. 2022-05-02]. DOI: 10.1016/j.bbr.2015.10.001. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.10.001>.

57. CHAND, SP a H ARIF, 2022. Depression. StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 26. 7. 2021, 1-10 [cit. 2022-05-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430847/>.
58. BROCK, H a M HANY, 2022. Obsessive-Compulsive Disorder. StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 10. 10. 2022, 1-12 [cit. 2022-05-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553162/>.
59. EMMADY, PD a P TADI, 2022. Dementia. StatPearls [online] [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 20. 11. 2021, 1-11 [cit. 2022-05-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557444/>.
60. ALMQVIST, E. W. et al. A Worldwide Assessment of the Frequency of Suicide, Suicide Attempts, or Psychiatric Hospitalization after Predictive Testing for Huntington Disease. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 1999, **64**(5), 1293–1304 [cit. 2022-05-02]. DOI: 10.1086/302374. Dostupné z: <https://doi.org/10.1086/302374>.
61. KACHIAN, Z. R. et al. Suicidal ideation and behavior in Huntington's disease: Systematic review and recommendations. *Journal of Affective Disorders* [online]. 2019, **250**, 319–329 [cit. 2022-05-02]. DOI: 10.1016/j.jad.2019.03.043. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2019.03.043>.
62. PURDON, S. E. et al. Huntington's disease: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*. 1994, **19**(5), 359–367. ISSN 1488-2434.
63. ROSS, C. A. et al. Huntington disease: natural history, biomarkers and prospects for therapeutics. *Nature Reviews Neurology* [online]. 2014, **10**(4), 204–216 [cit. 2022-05-06]. DOI: 10.1038/nrneurol.2014.24. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.24>.
64. HEALTHDIRECT. Huntington's disease. *Healthdirect.gov.au* [online]. 15. 10. 2021 [cit. 2022-05-08]. Dostupné z: <https://www.healthdirect.gov.au/huntingtons-disease>.
65. PIÑA-AGUILAR, R. E. et al. 27 years of prenatal diagnosis for Huntington disease in the United Kingdom. *Genetics in Medicine* [online]. 2019, **21**(7), 1639–1643 [cit. 2022-05-06]. DOI: 10.1038/s41436-018-0367-z. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0367-z>.
66. QUAID, K. A. Genetic testing for Huntington disease. *Handbook of Clinical Neurology* [online]. 2017, **144**, 113–126 [cit. 2022-05-07]. DOI: 10.1016/B978-0-12-801893-4.00010-9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801893-4.00010-9>.
67. KLITZMAN, R. et al. The roles of family members, health care workers, and others in decision-making processes about genetic testing among individuals at risk for Huntington

- disease. *Genetics in Medicine* [online]. 2007, **9**(6), 358–371 [cit. 2022-05-08]. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3180653c5a. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/GIM.0b013e3180653c5a>.
68. WYANT, K. J., A. J. RIDDER a P. DAYALU. Huntington's Disease—Update on Treatments. *Current Neurology and Neuroscience Reports* [online]. 2017, **17**(4), 33 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1007/s11910-017-0739-9. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0739-9>.
69. RODRIGUES, F. B. et al. Tetrabenazine Versus Deutetrabenazine for Huntington's Disease: Twins or Distant Cousins? *Movement Disorders Clinical Practice* [online]. 2017, **4**(4), 582–585 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1002/mdc3.12483. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mdc3.12483>.
70. DEVADIGA, S. J. a S. S. BHARATE. Recent developments in the management of Huntington's disease. *Bioorganic Chemistry* [online]. 2022, **120** [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1016/j.bioorg.2022.105642. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105642>.
71. NOVAK, M. J.U. a S. J. TABRIZI. Huntington's Disease: Clinical Presentation and Treatment. *International Review of Neurobiology* [online]. 2011, 297–323 [cit. 2022-05-10]. DOI: 10.1016/B978-0-12-381328-2.00013-4. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381328-2.00013-4>.
72. DE TOMMASO, M. et al. Two Years' Follow-up of Rivastigmine Treatment in Huntington Disease. *Clinical Neuropharmacology* [online]. 2007, **30**(1), 43–46 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1097/01.wnf.0000240945.44370.f0. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/01.wnf.0000240945.44370.f0>.
73. ROT, U. et al. Rivastigmine in the treatment of Huntington's disease. *European Journal of Neurology* [online]. 2002, **9**(6), 689–690 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1046/j.1468-1331.2002.00447\_4.x. Dostupné z: [https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2002.00447\\_4.x](https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2002.00447_4.x).
74. SEŠOK, S. et al. Cognitive function in early clinical phase huntington disease after rivastigmine treatment. *Psychiatria Danubina*. 2014, **26**(3), 239–248. ISSN 1849-0867.
75. CUBO, E. et al. Effect of donepezil on motor and cognitive function in Huntington disease. *Neurology* [online]. 2006, **67**(7), 1268–1271 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1212/01.wnl.0000238106.10423.00. Dostupné z: <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000238106.10423.00>.
76. ONDO, W. G., N. I. MEJIA a C. B. HUNTER. A pilot study of the clinical efficacy and safety of memantine for Huntington's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*

- [online]. 2007, **13**(7), 453–454 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2006.08.005. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2006.08.005>.
77. CANKURTARAN, E. S. et al. Clinical experience with risperidone and memantine in the treatment of Huntington's disease. *Journal of the National Medical Association*. 2006, **98**(8), 1353–1355. ISSN 0027-9684.
  78. VAN DUIJN, E. et al. Neuropsychiatric symptoms in a European Huntington's disease cohort (REGISTRY). *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* [online]. 2014, **85**(12), 1411–1418 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1136/jnnp-2013-307343. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/jnnp-2013-307343>.
  79. MOULTON, C. D., C.W.P. HOPKINS a W. R. BEVAN-JONES. Systematic review of pharmacological treatments for depressive symptoms in Huntington's disease. *Movement Disorders* [online]. 2014, **29**(12), 1556–1561 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1002/mds.25980. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mds.25980>.
  80. COMO, P. G. et al. A controlled trial of fluoxetine in nondepressed patients with Huntington's disease. *Movement Disorders* [online]. 1997, **12**(3), 397–401 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1002/mds.870120319. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mds.870120319>.
  81. HOLL, A. K. et al. Combating depression in Huntington's disease: effective antidepressive treatment with venlafaxine XR. *International Clinical Psychopharmacology* [online]. 2010, **25**(1), 46–50 [cit. 2022-05-09]. DOI: 10.1097/YIC.0b013e3283348018. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/YIC.0b013e3283348018>.
  82. GUPTA, S. et al. Demethyleneberberine: A possible treatment for Huntington's disease. *Medical Hypotheses* [online]. 2021, **153** [cit. 2022-05-08]. DOI: 10.1016/j.mehy.2021.110639. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2021.110639>.
  83. TABRIZI, S. J., R. GHOSH a B. R. LEAVITT. Huntingtin Lowering Strategies for Disease Modification in Huntington's Disease. *Neuron* [online]. 2019, **101**(5), 801–819 [cit. 2022-05-10]. DOI: 10.1016/j.neuron.2019.01.039. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.01.039>.
  84. WILD, E. J. a S. J. TABRIZI. Therapies targeting DNA and RNA in Huntington's disease. *The Lancet Neurology* [online]. 2017, **16**(10), 837–847 [cit. 2022-05-11]. DOI: 10.1016/S1474-4422(17)30280-6. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30280-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30280-6).



85. COLPO, G. D. et al. Immunomodulatory Strategies for Huntington's Disease Treatment *CNS Neurol Disord Drug Targets* [online]. 2018, **16**(8), 936–944 [cit. 2022-05-11]. DOI: 10.2174/1871527316666170613084801. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1871527316666170613084801>.
86. MA, L. et al. Human Embryonic Stem Cell-Derived GABA Neurons Correct Locomotion Deficits in Quinolinic Acid-Lesioned Mice. *Cell Stem Cell* [online]. 2012, **10**(4), 455–464 [cit. 2022-05-11]. DOI: 10.1016/j.stem.2012.01.021. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.01.021>.
87. WU, J. et al. Neuronal Store-Operated Calcium Entry Pathway as a Novel Therapeutic Target for Huntington's Disease Treatment. *Chemistry & Biology* [online]. 2011, **18**(6), 777–793 [cit. 2022-05-12]. DOI: 10.1016/j.chembiol.2011.04.012. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2011.04.012>.