

**SEMMELWEIS EGYETEM**  
**DOKTORI ISKOLA**

**Ph.D. értekezések**

**2915.**

**CSABÁN DÓRA**

**Klinikai idegtudományok**  
című program

Programvezető: Dr. Molnár Mária Judit, egyetemi tanár

Témavezető: Dr. Molnár Mária Judit, egyetemi tanár

# A korai kezdetű demencia genetikai architektúrájának elemzése

Doktori értekezés

**Csabán Dóra**

Semmelweis Egyetem  
Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Molnár Mária Judit, D.Sc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Gunda Bence Barna, Ph.D., egyetemi adjunktus  
Dr. Valikovics Attila, Ph.D., egyetemi docens

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Kovalszky Ilona, D.Sc., professor emerita

Tagok: Dr. Pikó Henriett, Ph.D., biológus

Dr. Vastagh Ildikó, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest  
2023

**Tartalomjegyzék**

1	Bevezetés.....	9
1.1	A demencia .....	9
1.2	Az EOD hátterében álló leggyakoribb patomechanizmusok.....	11
1.2.1	Az Alzheimer-kór patomechanizmusa .....	11
1.2.2	Frontotemporális demencia patomechanizmusa.....	14
1.3	A korai kezdetű demencia klasszifikációja és differenciáldiagnózisa.....	18
1.4	A korai kezdetű demencia genetikai háttere .....	23
1.4.1	A monogénes EOD genetikai architektúrája .....	23
1.4.2	A genetikai hajlamosító tényezők.....	28
2	Célkitűzések .....	32
3	Módszerek .....	33
3.1	A vizsgált betegek.....	33
3.2	A korai kezdetű demencia kohort .....	33
3.3	Az AD kohort az $\alpha$ KGDH alegységeinek vizsgálata során .....	34
3.4	Kontroll csoportok .....	34
3.5	Alkalmazott módszerek .....	35
3.5.1	DNS izolálása, minőség-ellenőrzése és tárolása.....	35
3.5.2	Restrikciós fragmenthossz polimorfizmus vizsgálat.....	36
3.5.3	<i>C9ORF72</i> hexanukleotid repeat expanszió vizsgálat.....	36
3.5.4	Sanger szekvenálás .....	36
3.5.5	Újgenerációs szekvenálás .....	37
3.5.6	Bioinformatikai elemzés.....	38
3.5.7	Statisztika .....	39
4	Eredmények.....	41
4.1	Az azonosított monogénes demenciák.....	44
4.1.1	A ritka károsító variánsok AD-vel vagy FTD-vel asszociált autoszomális domináns öröklésmenttel járó génekben.....	44
4.1.2	A <i>C9ORF72</i> hexanukleotid repeat expanszió szerepe az egyes EOD csoportokban.....	50
4.1.3	Az egyéb neurodegeneratív kórképekkel asszociált gének károsító variánsai mint a monogénes demencia okai .....	51

4.2	Az AD-val asszociált genetikai rizikófaktorok gyakoriságának vizsgálata.....	54
4.3	Neurodegeneratív kórképekkel asszociált autoszomális recesszív öröklésmentű génekben detektált heterozigóta károsító variánsok elemzése.....	59
5	Megbeszélés .....	66
5.1	Az AD és FTD-asszociált gének variánsainak elemzése monogénes demencia esetén (1. csoport).....	71
5.2	Az ismert AD rizikófaktorok szerepe a magyar EOD kohortban (2. csoport).	74
5.3	Egyéb neurodegeneratív kórképekkel asszociált gének szerepe a demenciában	77
5.3.1	Monogénes etiológia: átfedő fenotípus, közös patomechanizmus vagy spektrum betegség? (3. csoport) .....	77
5.3.2	Heterozigóta károsító variánsok mint a neurodegeneratív kórképek általános rizikófaktorai (4. csoport).....	80
5.3.3	Az $\alpha$ KGDH alegységeit kódoló gének ritka eltéréseinek szerepe AD betegekben .....	82
6	Következtetések.....	84
7	Összefoglalás.....	87
8	Summary .....	88
9	Irodalomjegyzék.....	89
10	Saját publikációk jegyzéke .....	114
11	Köszönetnyilvánítás .....	116
12	Mellékletek.....	117

## Rövidítések jegyzéke

1KGP	1000 Genomes Project
<i>ABCA7</i>	ATP Binding Cassette Subfamily A Member 7
AChE	acetilkolin-észteráz
ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
AD	Alzheimer-kór (Alzheimer-disease)
AD-RF	Alzheimer-kórral korábban már asszociált rizikó gének
ALS	amyotrophias later sclerosis
ALSP	felőttkori axonális spheroidokkal és pigmentált gliával járó leukoencephalopathia
ANOVA	varianciaanalízis (analysis of variance)
AOO	életkor a tünetek megjelenésekor (age of onset)
<i>APOE</i>	apolipoprotein E
ApoE	apolipoprotein E fehérje
<i>APP</i>	amyloid prekursor protein
AR	autoszomális recesszív
AtD	atípusos demencia
ATN	A $\beta$ lerakódás (A), a tau patológia (T), neurodegeneráció (N)
AutD	autoszomális domináns
A $\beta$	amyloid- $\beta$
B	benignus
BChE	butil-kolinészteráz
bp	bázispár
bvFTD	magatartási zavarokkal járó FTD (behavioral variant of frontotemporal dementia)
<i>C19ORF12</i>	chromosome 19 open reading frame 12
<i>C9ORF72</i>	chromosome 9 open reading frame 72
CBD	corticobasalis degeneráció
CBS	corticobasalis szindróma
ChEI	kolinészteráz-gátlók
CI	konfidencia intervallum
CIoP	patogenitás szempontjából ellentmondásos (Conflicting

	interpretations of pathogenicity)
CJD	Creutzfeldt-Jakob-szindróma
CLA	congenital lactic acidosis
CLN11	Neuronal Ceroid Lipofuscinosis 11 (neuronal ceroid lipofuscinosis)
CNS	központi idegrendszer (central nervous system)
CT	komputertomográfia (Computed Tomography)
CSF	agy-gerincvelői folyadék/ liquor (cerebrospinal fluid)
<i>CSF1R</i>	Colony Stimulating Factor 1 Receptor
D	károsító (damaging)
<i>DLD</i>	Dihydrolipoamide Dehydrogenase
<i>DLST</i>	Dihydrolipoamide S-Succinyltransferase
dsDNS	duplaszálú DNS
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav
EEG	elektroencefalogram
Egyéb NDD-M	monogénes demenciát okozó más neurodegeneratív kórképpel asszociált gének
Egyéb NDD-RF	lehetséges rizikófaktor, mely egyéb neurodegeneratív kórképpel asszociált (nem AD/FTD gén)
EMG	elektromiográfia
EOAD	korai kezdetű Alzheimer-kór (early onset Alzheimer's disease)
EOD	korai kezdetű demencia (early onset dementia)
ESP	Exome Sequencing Project
F	familiáris
FDG-PET	<sup>18</sup> F-fluorodeoxiglükóz- PET
fEOD	familiáris korai kezdetű demencia (familial early onset dementia) RNS kötő fehérjék családja a FUS-t is beleértve (family of RNA-binding proteins including FUS)
FET	
ffi	férfi
FTD	frontotemporalis demencia
FTD-ALS	frontotemporalis demencia-amyotrophias later sclerosis
FTD-FUS	frontotemporalis demencia FUS variáns

FTD-MND	FTD-motoneuron betegség
FTLD	frontotemporalis lebeny degeneráció
<i>FUS</i>	fused in sarcoma
GFAP	plazma gliális fibrilláris acidikus protein (Glial Fibrillary Acidic Protein)
GGT	globuláris gliális tauopathia
gnomAD	Genome Aggregation Database
<i>GRN</i>	granulin precursor
GWAS	genom szintű asszociációs tanulmányok (genome wide association study)
HBTB	Humán Agyszövet Bank
HD	Huntington-kór (Huntington disease)
HP-tau	hiperfoszforilált tau
HRE	hexanukleotid repeat expanszió
<i>HTT</i>	huntingtin
I-EOD	ismeretlen genetikai etiológiájú demenciában szenvedő páciensek
iPSC	indukált pluripotens őssejt (induced Pluripotent Stem Cell)
LBD	Lewy testes demencia (Lewy body dementia)
LOAD	késői kezdetű Alzheimer-kór (late onset Alzheimer's disease)
LOF	loss of function
LP	valószínűleg patogén
<i>LRRK2</i>	leucine rich repeat kinase 2
LSD	lizoszómális tárolási betegség (Lysosomal storage disorders)
lvPPA	logopeniás primer progresszív aphasia
MAF	minor allél frekvencia (Non-neuro)
MAP	mikrotubulus-asszociált fehérje (microtubule-associated protein)
<i>MAPT</i>	microtubule associated protein tau
MLD	metachromasiás leukodystrophia
MMSE	Mini-Mental teszt (Mini-Mental State Examination)
MND	motoneuron betegeésg
MoCa	Montreal Kognitív Felmérés
MRI	mágneses rezonancia képalkotás (Magnetic Resonance Imaging)

mtsai	munkatársai
NBIA	neurodegeneráció agyi vasfelhalmozódással (neurodegeneration with brain iron accumulation)
NDD	neurodegeneratív kórkép (Neurodegenerative disorder)
NfL	neurofilamentum-könnyűlánc-fehérje (neurofilament light)
NFT	neurofibrilláris köteg
nfv	non-fluens változat
nfvPPA	non-fluens PPA
NGS	újgenerációs szekvenálás (next generation sequencing)
NHD	Nasu-Hakola betegség
nM-fEOD	nem monogénes familiáris EOD
nM-sEOD	nem monogénes sporadikus EOD
<i>OGDH</i>	Oxoglutarate Dehydrogenase
OR	esély hányados (odds ratio)
P	patogén
<i>PARK7</i>	Parkinsonism associated deglycase
PCA	posterior corticalis atrophia
PCR	polimeráz láncreakció
PD	Parkinson-kór (Parkinson's disease)
PET	pozitronemissziós tomográfia (positron emission tomography)
PiD	Pick-kór
PPA	primer progresszív aphasia (Primary Progressive Aphasia)
<i>PRKN</i>	parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase
<i>PRNP</i>	prion protein
PrP	prionfehérje (prion protein)
<i>PSAP</i>	prosaposin
<i>PSEN1</i>	presenilin-1
<i>PSEN2</i>	presenilin-2
PSP	progresszív supranuclearis bénulás (progressive supranuclear palsy)
PSP-RS	progresszív supranuclearis bénulás -Richardson-szindróma
PSP-S	progresszív supranuclearis bénulás szindróma



p-tau	foszforilált tau (phosphorylated tau)
PTC	korai STOP mutáció (Premature termination codons)
RDV	ritka károsító variáns (rare damaging variant )
RDV-M	monogénes demenciát okozó ritka károsító variáns
RDV-M pozitív	monogénes demenciát okozó ritka variánst hordozó beteg
RDV-RF	lehetséges rizikófaktornak számító ritka károsító variáns
RDV-RF pozitív	lehetséges rizikófaktornak számító ritka károsító variánst hordozó beteg
RFLP	restrikciós fragmenthossz polimorfizmus (Restriction Fragment Length Polymorphism)
ROS	reaktív oxigén gyök
RP-PCR	repeat-primed PCR
S	sporadikus
SAP	sphingolipid aktivátor protein
sAPP $\beta$	szolubilis amyloid prekursor fehérje fragmens (soluble amyloid precursor protein fragment)
SCA	spinocerebellaris ataxia
SD	standard deviáció
sEOD	sporadikus EOD
<i>SORL1</i>	Sortilin Related Receptor 1
SPECT	egyfoton-emissziós komputertomográfia (single photon emission computed tomography)
<i>SPG11</i>	SPG11 vesicle trafficking associated, spatacsin
sv	szemantikus változat
svPPA	szemantikus PPA
<i>TDP-43</i>	transzaktivációs válasz-DNS-kötő fehérje 43 (TAR DNA-binding protein 43)
<i>TREM2</i>	triggering receptor expressed on myeloid cells 2
t-tau	teljes tau
UPS	ubiquitin-proteaszóma rendszer
VCF	Variant Call Format
VCP	valozin-tartalmú fehérje

VUS	bizonytalan jelentőségű variáns
WES	teljes exom szekvenálás
YKL-40	chitinase-3-like protein-1
$\alpha$ KGDH	$\alpha$ -ketoglutarát-dehidrogenáz

## 1 Bevezetés

### 1.1 A demencia

A demencia a neurodegeneráció következtében kialakuló klinikai állapot, egy tünetegyüttes, amely magába foglalhatja többek között a kognitív funkciók, a térbeli tájékozódás, a problémamegoldás és a nyelvi képességek romlását is (1,2). A demencia világszerte 55 millió embert érint és évente 1 millió új esetet regisztrálnak, emiatt egyre nagyobb hangsúlyt kap a demencia háttérében álló patomechanizmusok és genetikai eltérések vizsgálata (3). Bár az esetek csak kis százalékát teszik ki a mendeli öröklődésű, familiáris korai kezdetű demenciák (fEOD), ezen kórképek vizsgálatai már eddig is kulcsfontosságú szerepet töltek be a demencia háttérében álló patológiai folyamatok megértésében, majd az állatmodellek és a kísérleti terápiák fejlesztésében (4). A kutatók továbbra is számtalan, ezidáig tisztázatlan kérdésre keresik a választ a demencia heterogén tünetegyüttese mögött húzódó patomechanizmust, biokémiai kölcsönhatásokat és genetikai hátteret illetően.

A leggyakoribb neurodegeneratív demencia kórkép az Alzheimer-kór (AD). Az AD a demenciák 50-75%-át teszi ki, a tünetek megjelenések ideje (AOO) szerint beszélhetünk korai (EOAD) és késői kezdetű Alzheimer-kórról (LOAD:  $AOO \geq 65$  év) (1). A LOAD egy komplex, heterogén genetikai etiológiájú betegség 70-80%-os heritabilitással, míg az EOAD esetén az örökletesség hatása jelentősen magasabb (92-100%). Az EOAD-val eddig asszociált leggyakoribb gének (amyloid prekursor protein - *APP*, presenilin 1 - *PSEN1*, presenilin 2 - *PSEN2*) azonban csak az esetek 5-10%-ában magyarázzák a betegség genetikai hátterét, így további kutatások szükségesek a területen (1).

A második leggyakoribb korai kezdetű demencia (EOD) a frontotemporalis demencia (FTD), melynél szintén jelentős családi halmozódásról beszélhetünk és az esetek 10-30%-ában autoszomális domináns öröklésment figyelhető meg. Ez is rávilágít a genetika szerepére az FTD etiológiájában (5). A familiáris FTD esetén a kialakult tünetegyüttest jelentősen magasabb arányban (30-75%) magyarázza a kórképpel asszociált leggyakoribb gének (chromosome 9 open reading frame 72 - *C9ORF72*, granulin precursor - *GRN*, microtubule associated protein tau - *MAPT*) egyikének eltérése (5). Az elmúlt években számos további gén szerepét vizsgálták mind az AD,

mind pedig az FTD patomechanizmusában. Ezek a kutatások a gyakori demencia formák esetében elősegíthetik a kórkép kialakulásában szerepet játszó biokémiai útvonalak megértését, megnyitva ezzel az utat új terápiás célpontok azonosításához.

Tovább árnyalja a képet, hogy a demenciát mint tünetet számos további neurodegeneratív kórkép (Neurodegenerative disorder - NDD) esetén leírták, többek között a Huntington-kór (HD), a Parkinson-kór (PD), az amyotrophias lateralis sclerosis (ALS), és a Creutzfeldt–Jakob-szindróma (CJD) esetében is (6). Az NDD-k igen heterogén betegségecsoportot alkotnak, klasszifikálhatjuk őket akár az elsődleges klinikai tünet alapján (parkinsonizmus, demencia, motoneuron kórkép) vagy a neurodegeneráció anatómiai eloszlása (extrapiramidális betegségek, spinocerebellaris vagy frontotemporális degenerációk) vagy a molekuláris szintű eltéréseik szerint (7,8). A klinikai kép alapján azonban csak hozzávetőlegesen osztályozhatók ezek a kórképek (extrapiramidális és piramidális mozgászavarok; kognitív- vagy viselkedészavarok), általában kevés páciens esetén jelenik meg tisztán csak az egyik szindrómára jellemző tünetegyüttes (7). Az NDD-k közös jellemzője a neuronok szelektív működési zavara és elvesztése, valamint bizonyos fehérjék megváltozott konformációjuk miatti aggregálódása (főként az agyban és a gerincvelőben). Fontos megjegyezni, hogy a kóros fehérjeaggregátumok nem csak a neuronokat, hanem a glia sejteket is érintik valamint a különböző kóros fehérjék egyidejű jelenléte egy betegben nem kivételnek számít, mint inkább szabálynak (6–8). A klinikai és patológiai vizsgálatok alapján jelentős átfedéseket figyeltek meg az NDD-k között, ez pedig egyes felvetések szerint akár genetikai szinten is jelen lehet. Éppen ezekből a fenotípusos és neuropatológiai hasonlóságokból adódik, hogy az egyes demencia típusok differenciáldiagnóza kihívást jelent, amit igazol a hibás diagnózisok igen magas aránya is, AD betegek esetében például elérheti a 17-30%-ot is (2). Ezek alapján tehát kiemelten fontos a lehető legtöbb, különböző demencia formával asszociált gén együttes vizsgálata korai kezdetű demencia esetén -főként az atípusos tünetekkel rendelkező betegeknél- a kóros variáns azonosítása mellett a betegségek patomechanizmusának megértése érdekében is. A neurodegeneratív rendellenességek genetikai szerkezetét vizsgáló átfogó tanulmányok hozzájárulhatnak az optimálisabb diagnosztikai munkafolyamat kialakításához, a diagnózis gyorsabb felállításához a pontosabb orvosi döntések támogatásán keresztül, valamint a tünetek hátterében álló patológiai folyamatok

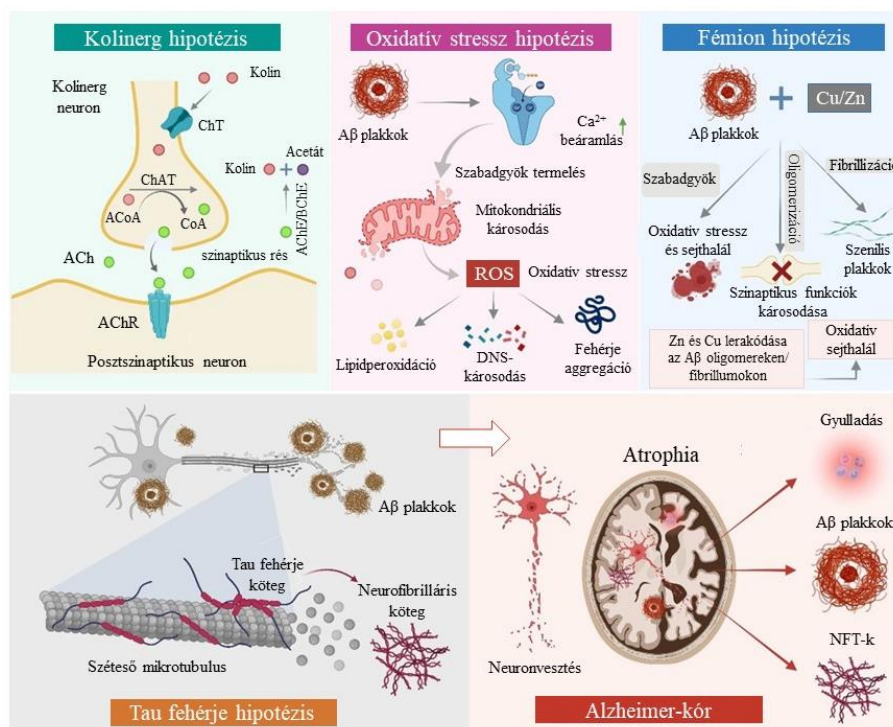
mélyebb megértésével az esetleges új terápiás célpontok azonosítása is felgyorsulhat. A molekuláris biológiai metodikák fejlődése lehetővé teszi a komprehenzív genetikai vizsgálatok gyors és költséghatékony elvégzését, ennek köszönhetően pedig lehetőség nyílik a demenciához kapcsolódó komplex tünetegyüttesel jellemzett betegségcsoportok genetikai alapú stratifikációjára.

## **1.2 Az EOD háttérében álló leggyakoribb patomechanizmusok**

Az NDD-k osztályozásának alapja a klinikai megjelenés, az etiológia, az érintett anatómiai régiók és sejttípusok mellett a patogenetikai folyamatban részt vevő megváltozott konformációjú fehérjék. A molekuláris patológiai klasszifikáció főként a kóros fehérjék szinaptikus, intracelluláris és extracelluláris felhalmozódásának eltéréseire fókuszál (8). A leggyakrabban az alábbi fehérjéket asszociálják a sporadikus és örökletes NDD-kkel: amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ),  $\alpha$ -synuclein, prionfehérje (PrP), mikrotubulus-asszociált tau, a transzaktivációs válasz-DNS-kötő fehérje 43 (TAR DNA-binding protein 43 - TDP-43) és a fused in sarcoma (FUS) (7,8). A klinikai tüneteket azonban nem feltétlenül a kóros fehérjék eloszlása határozza meg, ezért a legjobb megközelítés az anatómiai, sejtes és fehérje szintű mintázat együttes vizsgálata. A dolgozat fókuszában álló AD és FTD patomechanizmusait az alábbiakban részletezzük.

### **1.2.1 Az Alzheimer-kór patomechanizmusa**

Az Alzheimer-kór patogenezisének két jellegzetes fehérje markerei az extracelluláris amyloid- $\beta$  szenilis plakkok és a hiperfoszforilált tau fehérje neurofibrilláris kötegek (NFT) (9,10). Az amyloid hipotézis alapja az amyloid prekursor protein  $\beta$ -szekretáz (BACE1) és  $\gamma$ -szekretáz által végzett hibás hasításakor keletkező  $A\beta_{40}$  és  $A\beta_{42}$  monomerek, amelyek oligomerizálódnak és plakkokban aggregálódnak. Megállapították, hogy már az  $A\beta$ -plakkok és a tau lerakódás előtt az  $A\beta$  oligomerek és a hiperfoszforilált tau is hozzájárulhat a neuronális funkciózavarhoz és a kognitív hanyatláshoz (11).



**1. ábra: Az Alzheimer-kór különböző hipotézisei és patomechanizmusa**

Az Alzheimer-kór (AD) a kutatások fókuszában elsőként a kolinerg neurotranszmitterek hidrolíziséért felelős enzimek, a butiril-kolinészteráz (BChE) és az acetilkolin-észteráz (AChE) álltak. Az enzimek gátlása klinikailag hatékonynak bizonyult, így a kolinerg rendszer jelentős terápiás célpont lett (Kolinerg hipotézis). Az amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) az APP fehérjéből képződik, az amyloid kaszkád szerint a folyamat hibás működése esetén azonban  $A\beta$  monomerek, majd oldhatatlan  $A\beta$  plakkok keletkeznek. Az  $A\beta$  plakkok megváltoztatják többek között a  $Ca^{2+}$  szintet és a mitochondriális károsodás révén növelik az oxidatív stresszt (Oxidatív stressz hipotézis). A fémionok is a reaktív oxigén gyökök (ROS) révén növelik az oxidatív stresszt és az  $A\beta$  neurotoxicitását (Fémion hipotézis). A tau hiperfoszforilációjában és a mikrotubulusok destabilizációjában is szerepet játszanak az  $A\beta$  plakkok. A hiperfoszforilált tau fehérje neurofibrilláris kötegekbe akkumulálódik, ezáltal a mikrotubulus instabilitásához majd a neuronok kommunikációjának megszakításával sejthalálhoz vezet (Tau fehérje hipotézis). Rövidítésjegyzék: ACh:acetilkolin; AChE:acetilkolin-észteráz; AChR:acetilkolin receptor; ACoA:acetil-koenzim-A;  $A\beta$ :amyloid- $\beta$ ; BChE:butiril-kolinészteráz; ChAT:kolin-acetiltransferáz; ChT:kolin transzporter; CoA:koenzim-A; NFT:neurofibrilláris köteg; ROS:reaktív oxigén gyök. Ankit és munkatársai (mtsai.) nyomán, módosítva (10).

A később kialakuló  $A\beta$  plakkok gátolják a proteaszóma funkcióit, limitálják a mitochondriális aktivitást és ezen folyamatok révén neurotoxicitáshoz vezetnek (10). Az

AD  $\text{Ca}^{2+}$  hipotézise szerint az amyloid útvonal aktiválása hatással van az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  homeosztázisra is. A  $\text{Ca}^{2+}$  szintje pedig befolyásolhatja többek között az APP-feldolgozást, az A $\beta$  termelődést és az NFT-képződést. Több AD-val asszociált génről is igazolták, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$  jelátviteli útvonalát befolyásolják (12). A  $\text{Ca}^{2+}$  homeosztázisának zavara mellett a  $\text{Cu}^{2+}$  és a  $\text{Fe}^{2+}$  mennyisége is reaktív oxigén gyökök (ROS) és reaktív nitrogén gyökök révén növeli az A $\beta$  neurotoxicitását, a kóros fehérje aggregációja pedig szintén fokozza a ROS termelődést, ami pedig oxidatív stresszhez vezet (1. ábra) (10). Az APP hasítási folyamatát többek között az *APP*, *PSENI* és *PSEN2* gének szabályozzák, így az A $\beta$  katabolizmusán és anabolizmusán keresztül résztvesznek az A $\beta$  felhalmozódásban és a neurodegeneráció indukciójában (12).

Az A $\beta_{42}$ /A $\beta_{40}$  arány változása befolyásolja az A $\beta$  fibrillumok keletkezését, ami a tau patológia (tau hipotézis) folyamatát is indukálja és végül sejthalálhoz vezet. A tau egy mikrotubulus-asszociált fehérje (MAP), melyet a *MAPT* gén kódol. A fehérje az axonokban koncentrálódik, de jelen van a dendritekben is és a mikrotubulusok stabilizálásában játszik szerepet. A felnőtt emberi agyban 6 izoformája expresszálódik az mRNS alternatív splicingja miatt. Kiemelten fontos a 3R és 4R izoforma, amik a 10. exon splicingjában különböznek és arányuk megváltozása tauopathiahoz vezet (12,13). A 3R és 4R hiperfoszforilált állapotban halmozódik fel AD esetén. Az akkumulálódó fehérjéket a dendritekben vagy axonokban neuropil fonalagnak, míg a neuron sejtestében neurofibrilláris kötegnak (NFT) nevezzük (12). A tau hiperfoszforilációja következtében sérül a tau és a mikrotubulus közötti kapcsolat, ami a mikrotubulus instabilitáshoz, az APP neuron sejtestekbe történő axonális transzportjának zavarához és a neuronok kommunikációjának megszakításával sejthalálhoz vezet (10,13).

Az elmúlt évek kutatásai alapján az amyloid és tau patológia mellett a neuroinflammáció is jelentős mozgatórugója az AD progressziójának (14). Számos bizonyíték támasztja alá, hogy a központi idegrendszerben (central nervous system - CNS) a mikroglia és az asztrociták a gyulladások mediátorai, ezáltal pedig a két sejttípus vizsgálata elsődleges az AD neuroinflammatorikus folyamatainak megismerése során (14). A mikroglia a CNS makrofágjai, melyek elsődleges feladata az immunvédelem, és csak ezt követi a neurogenesisben, a neuronális plaszticitásban és a regenerációban betöltött szerepe (12). A CNS-ben a mikroglia mediálja az akut immunválaszt pl. a kóros A $\beta$  fehérjék esetén. Azonban ha az akut választ kiváltó káros

inger nem szűnik meg, akkor az akut mikroglia-aktiváció előnyei és fiziológiai funkciói megszűnhetnek. Ezek alapján a mikroglia aktiváció egyszerre előnyös és hátrányos az AD patogenezisét tekintve. A sejt aktivációja fokozza a fagocitózist, így hozzájárul az A $\beta$  felhalmozódás csökkentéséhez. Viszont abban az esetben ha a krónikus mikroglia-aktiváció szabályozatlan neuroinflammatorikus választ idézhet elő. A hibás mikroglia funkció több proinflammatorikus kaszkádon keresztül neuronális distresszhez, szinapszis vesztéshez, A $\beta$ -termeléshez és neurotoxicitáshoz vezethet (14). Az aktivált mikroglia mellett hipertrófiás asztrociták felhalmozódását is megfigyelték a szenilis plakkok körül post-mortem AD agyszövetben. Az asztrociták neurotranszmittereket termelnek, serkentik a szinaptogenezist és a szinaptikus neurotranszmissziót, valamint a vér-agy gát részét képezik. Továbbá az asztrociták szabályozzák az A $\beta$  és a tau kiürülést (15). Egyre több bizonyíték utal arra, hogy a mikroglia és az asztrocita aktiváció elősegíti a kóros neuroinflammációs válaszokat, beleértve a szekretált citokineket és az immun szignalizációs útvonalakat is (12,14). Korábban a tanulmányok nagyrésze az A $\beta$  aggregációjára fókuszált, de a klinikai eredmények hiányában kénytelenek voltak más meghatározó faktorokat keresni. A mikroglia, az asztrociták és a neuroinflammáció új út jelenthet a célzott terápiák kidolgozásában (14).

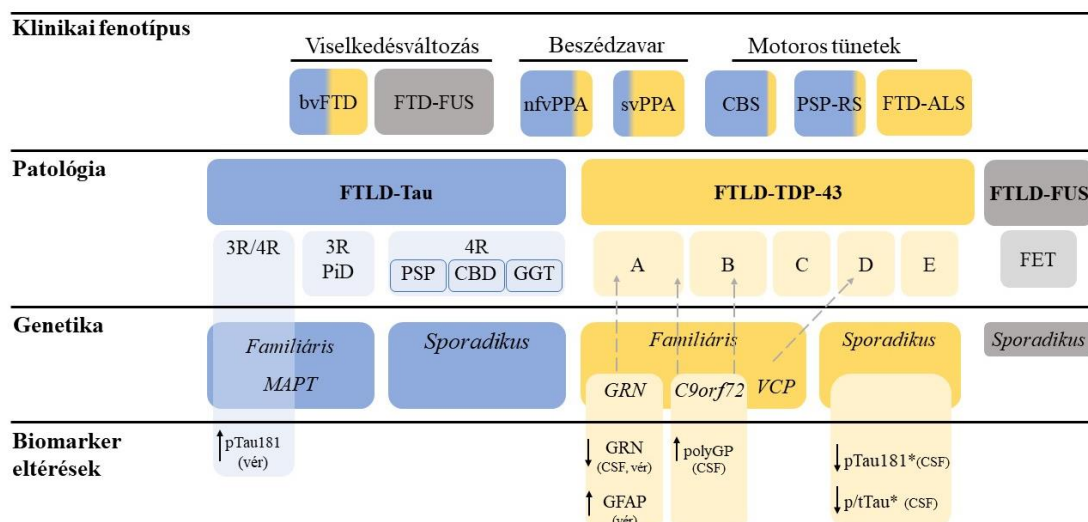
A kolinerg rendszer az agy általános homeosztázisában, plaszticitásában, a memória, a tanulás, a figyelem és további magasabb rendű agyi funkciókban betöltött szerepe miatt szintén az AD patogenezisét vizsgáló kutatások fókuszában áll (12). Két enzim funkciójának azonosítására összpontosítottak és a vizsgálatok alapján feltételezték, hogy a kolinerg neurotranszmitterek hidrolíziséért felelős acetilkolinészteráznak (AChE) és butiril-kolinészteráznak (BChE) szerepe lehet az AD terápiájában (1. ábra) (10). Ezt a feltételezést támasztja alá az a megfigyelés is miszerint a kolinészteráz-gátlók (ChEI) használata klinikailag hatékonynak bizonyultak, így a kolinerg rendszer jelentős terápiás célpont lett az AD elleni harcban (12).

### **1.2.2 Frontotemporális demencia patomechanizmusa**

Az FTD klinikai szindrómák egy csoportját foglalja magában, melyek makroszkópos szinten a frontális és temporalis cortex fokális degenerációjával járnak, míg mikroszkópos szinten gliózis, mikrovakuolizáció, szinaptikus és neuronális pusztulás/degradáció/nekrózis jellemzi (16). Ezeket a makroszkópos patológiás



elváltozásokat a frontotemporalis lebeny degeneráció (frontotemporal lobar degeneration –FTLD) megnevezés foglalja össze (16)(17). Az FTD egyes klinikai megjelenései nem specifikusak a makro- és mikroszkopikus eltérések terén, az FTLD-ben az immunhisztokémia segítségével lehet azonosítani a jellemző fehérjeaggregátumokat (16). Valamennyi FTLD esetében a 3 fő fehérje típusból az egyik kimutatható: TDP-43 (~50%); tau (~45%); vagy FUS (~5%) (16,17). A fehérjeaggregátumok eltérő morfológiával rendelkeznek és jellemzően adott anatómiai régiókban fordulnak elő (cortex sejtrétegei, neuronok, gliasejtek). Az FTLD a fehérjeaggregátumok eloszlásától és sűrűségétől függően FTLD –tau; FTLD –TDP és FTLD -FUS altípusokra osztható (2. ábra) (17).



## 2. ábra: Az FTD spektrum klinikopatológiai és genetikai osztályozása

Az FTD egyes klinikai megnyilvánulásai, az azokhoz kapcsolódó patológiai, genetikai és biomarker eltérések, melyek jól demonstrálják a betegség spektrumot. A kék szín jelöli a tau, a sárga a TDP-43 (transzaktivációs válasz-DNS-kötő fehérje 43), a szürke pedig a FET (family of RNA-binding proteins including FUS – RNS kötő fehérjék családja a FUS-t is beleértve) patológiát. A szürke nyilak az immunhisztokémiai változatok és a genetikai eltérések közötti összefüggéseket jelölik. A 'Biomarker eltérések' egységben, olyan markerek vannak feltüntetve, melyek az FTD és a kontroll csoportok vagy a különböző FTLD alcsoportok (\*) között különbségeket mutatnak. Rövidítésjegyzék: Aβ: amyloid-β; bvFTD: magatartási zavarokkal járó FTD; CBD: corticobasalis degeneráció; CBS: corticobasalis szindróma; CSF: agy-gerincvelői folyadék/liquor; FET: RNS-kötő fehérjék családja, beleértve a FUS, Ewing-sarcoma és TAF15; FTD: frontotemporalis demencia; FTD-ALS: frontotemporalis demencia-amyotrophias later sclerosis; FTD-FUS: frontotemporalis demencia FUS variáns; FTLD: frontotemporalis lebeny degeneráció; GFAP: gliális fibrilláris savas fehérje; GGT: globuláris gliális tauopathia; NfL: neurofilamentum-könnyűlánc-fehérje; nfv: non-fluens változat; PiD: Pick-kór; PPA: primer progresszív aphasia; PSP-RS: progresszív supranuclearis bénulás-Richardson-szindróma; p-tau: foszforilált tau; sv: szemantikus változat; TDP-43: transzaktivációs válasz-DNS-kötő fehérje 43. Marta del Campo és mtsai. nyomán, módosítva (17)

A TDP-43 egy főként nukleáris fehérje, amely DNS/RNS-kötő funkcióján keresztül szabályozza a transzkripciót és az alternatív splicingot (16,17). Az FTLD-ben megfigyelhető patológiás granulumok kialakulásához vezető lépések a következők: a fehérje felhalmozódása a citoplazmában, a fehérje hiperfoszforilálódása és a fehérje ubiquitinálódása (16,17). Az FTLD-TDP különböző klinikai fenotípusokkal

jelentkezhet, mint például a primer progresszív aphasia (PPA) vagy a magatartási zavarokkal járó FTD (bvFTD). A legújabb kutatások szerint az FTD-betegek pszichiátriai tünetei összefüggnek a mögöttes TDP-patológiával (17). A TDP-43 zárványok az ALS több mint 95%-ában is jelen vannak, ezzel is alátámasztva, hogy az FTLT-DTP és az ALS egy klinikopatológiai spektrum része (17). A TDP-43-pozitív granulomokat morfológiájuk és eloszlási mintázatuk alapján klinikai szindrómákkal és betegséget okozó genetikai eltérésekkel asszociálták (16). A szövettani mintázatnak megfelelően 5 különböző FTLT-DTP alosztályt állapítottak meg (FTLT A, B, C, D és E típus) (17). Az egyes típusok nemcsak szövettani szinten térnek el egymástól, például az A típusú az egyetlen *GRN* variánssal társuló altípus, emellett klinikailag heterogén bvFTD, corticobasalis szindróma (corticobasal syndrome - CBS), non-fluens PPA (non fluent variant PPA - nfvPPA) és FTD-MND (FTD-motoneuron betegség) is jellemző rá. Az FTD-MND hátterében leggyakrabban a TDP-43 B típusa áll, amely legtöbbször sporadikus, és csak az esetek egyharmadában azonosítható genetikai ok, ami általában a *C9ORF72* gén eltérése. A TDP-43 D típus csak a valozin-tartalmú fehérjét kódoló gén (VCP) variánsai miatt kialakult bvFTD-vel és Paget-kórral előforduló változat (16).

A tau fehérje, ahogy korábban részleteztük szerepet játszik a sejt alakjának stabilitásában, az axonális transzportban, valamint összeköti a mikrotubulusokat más fehérjékkel. Az aggregált tau kóros intracelluláris zárványok kialakulásához és a mikrotubulusok destabilizációjához vezet (17). Az aggregátumokban jelenlévő domináns tau izoforma és a zárványok morfológiája alapján az FTLT-tau csoport további neuropatológiai diagnózisokra osztható fel. A klinikai képet tekintve sokféle kórkép tartozhat az FTLT-tau csoportba többek között a bvFTD, a CBD és a Pick-betegség (17).

A FUS a TDP-43 fehérjéhez hasonlóan egy nukleáris DNS/RNS-kötő fehérje és a citoplazmában aggregálódik FTLT esetén (16,17). A fehérjének szerepe van a transzkripció szabályozásában, az RNS transzportjában és a sejtnövekedésben. A *FUS* gén kóros variánsai ALS kialakulásához vezetnek, azonban FTLT-FUS patológia sporadikus és nagyon korai kezdetű kórképeknél is megjelenik és ezen betegek gyakran megfelelnek a bvFTD diagnosztikus kritériumainak (16,17).

Ezek az adatok is rávilágítanak, hogy a neuropatológiai eltérések alapján nem lehet egyértelműen azonosítani a klinikai kórképet, bár egyes patológiai eltérések erős

prediktív értékkel rendelkezhetnek bizonyos szindrómák esetén (17). Az AD különböző hipotéziseinek tárgyalása és az FTD háttérében álló különböző kóros fehérjeaggregátumok elemzése is igazolja, hogy a heterogén kórképek esetén kulcsfontosságú, hogy feltárjuk a tünetek háttérében álló kóros elváltozást makroszkópos, mikroszkópos és genetikai szinten is. Továbbá a klinikai és a patológiai diagnózisok közötti összefüggések és eltérések megértése mindenképp szükséges a biomarkerek használhatóságának fejlesztéséhez illetve új terápiás célpontok megtalálásához.

### **1.3 A korai kezdetű demencia klasszifikációja és differenciáldiagnózisa**

A korai kezdetű demencia kifejezés a progresszív neurodegeneratív betegségek egy igen heterogén csoportját foglalja magába az AD-tól az FTD-n át a Lewy testes demenciáig (Lewy body dementia - LBD) (18). Az EOD prevalenciáját 119/100 000-re becsülik, és az összes demencia körülbelül 5-7%-át teszi ki (18,19). A késői, 65 év felett induló demenciához képest EOD esetén sokkal komplexebb betegségcsoportról beszélhetünk, mind a klinikai képet mind a tünetek háttérében álló patomechanizmusok széles spektrumát nézve (19). Ez pedig szignifikánsan megnehezíti a korai és pontos diagnózis felállítását. A két leggyakoribb EOD az AD és az FTD, melyek egyes fenotípus jegyei nem csak egymással átfedőek, de más neurodegeneratív kórképekkel is klinikai és patológiai hasonlóságokat mutatnak (2). A továbbiakban ezen EOD-k klasszifikációját tárgyalja a dolgozat.

Az Alzheimer-kór a demencia leggyakoribb oka, egy progresszív neurodegeneratív betegség, ami kognitív hanyatláshoz, memória és viselkedés- zavarokhoz, tájékozódásbeli és nyelvi nehézségekhez is vezet (20,21). A 65 éves életkor előtt induló AD csak az összes AD igen kis hányadát teszi ki és számos olyan tünet és szindróma jelentkezhet a betegeknél, ami nem hasonlít a LOAD-ban leírt amnesztikus szindrómára (20). A LOAD és az EOAD esetek között a memória-típusú fenotípusok klinikai képe átfed egymással. Azonban az EOAD esetek egyes alcsoportjai atípusos megjelenést mutatnak: az epizodikus memória funkciója nem sérül, viszont a nyelvi, vizuospatialis, exekutív és motoros funkciók károsodása, vagy a viselkedés zavara is megjelenhet (20,22). Emiatt az igen heterogén klinikai kép miatt gyakori a téves diagnózis, illetve jelentősen megnő a diagnózis felállításáig eltelt idő (20). Az EOAD a fenotípusos

megjelenés szempontjából egy spektrumnak tekinthető az egyik végén a specifikus nem-amnesztikus szindrómákkal, amiket atípusos fenotípusnak is neveznek (23). A spektrum ezen oldalán található például a posterior corticalis atrophia (PCA); a Balint-szindróma; a Gerstmann-szindróma. Az AD nyelvi képességeket érintő formája a logopeniás primer progresszív aphasia (lvPPA). Az előbbieket mellett beszélhetünk még frontális AD-nek nevezett formáról, mely az exekutív funkciókat és a viselkedést érintő AD változat. A frontális AD-t nehéz elkülöníteni a bvFTD-től a nagymértékben átfedő klinikai megjelenés miatt. Azonban a bvFTD-vel szemben az AD viselkedési-változatára kevésbé jellemző a kényszeresség, a hiperoralitás, a téveszmék és a hallucináció. Továbbá kiemelhetjük, hogy a mendeli öröklődésű EOAD esetén a nem-kognitív neurológiai tünetek (myoclonus, rohamok, spasticus paraparesis, extrapyramidalis jelek) nagyobb prevalenciával vannak jelen. Valamint az EOAD-ra általában agresszívabb klinikai lefolyás jellemző, mint a LOAD-ra (20,23).

Az AD patofiziológias folyamataihoz kapcsolódó oldható molekuláris komponensek, mint biomarkerek hasznos információt szolgáltathatnak a diagnózishoz vagy a prognózishoz (20). Az AD diagnosztizálásában az elmúlt harminc év egyik nagy előrelépése, hogy liquorban mérhető AD biomarkerekkel már premortem igazolható az A $\beta$  és a tau jelenléte, melyek segítik az AD elkülönítését más neurodegeneratív betegségektől (9,20). Jelenleg az AD biomarker alapú diagnózisának két lehetséges metodikája az agyi képpalkotó eljárások és a folyadékbiopszia-vizsgálatok. Már évtizedekkel a tünetek megjelenése előtt eltérést mutatnak az A $\beta$  patológiájának liquor és pozitronemissziós tomográfia (positron emission tomography - PET) biomarkerei (24). A liquorban az A $\beta$ -plakk felhalmozódása esetén az A $\beta$ , különösen az A $\beta_{42}$  szintjének csökkenését lehet detektálni, azonban az A $\beta_{42}$  koncentrációja a liquorban lévő A $\beta$ -peptidek teljes mennyiségétől is függ, így fontos az A $\beta_{42}$ -koncentrációjának az összes A $\beta$ -peptid szintjére való normalizálása az A $\beta_{42}$ /A $\beta_{40}$  arány segítségével (9).

A liquorban mérhető p-tau (foszforilált tau) és t-tau (teljes tau) szint emelkedése közvetlen összefüggést mutat a tau agyi akkumulációjával és a neurodegenerációval. A liquor p-tau szintje az agyban felhalmozódó hiperfoszforilált tau mennyiségével arányos, a t-tau pedig a neurodegeneráció mértékét jelzi (21). Az AD biomarker-modell szerint elsőként az A $\beta$  biomarkerek válnak kórossá (csökkent liquor A $\beta_{42}$ -szint és/vagy A $\beta$  PET-pozitivitás), majd ezt követi a tau patológia (megnövekedett liquor p-tau

és/vagy tau PET-pozitivitás), a neurodegeneratív biomarkerek és végül a kognitív tünetek megjelenése (25,26). Vizsgálták a liquor biomarkereket az EOAD egyes atípusos klinikai szindrómái esetében is, az lvPPA és a CBS szindrómáknál is megközelítőleg hasonló értékeket figyeltek meg, mint az amnesztikus EOAD (és általában az AD) esetében, míg PCA esetén további vizsgálatokra van szükség (20).

Az AD differenciáldiagnózist támogathatják különböző képalkotó eljárások is. Az EOAD esetén megjelenő komplex klinikai fenotípusnak megfelelően az adott szindróma által érintett agyi régiókra lokalizálódnak a különböző neuroanatómiai jelek. Tipikus amnesztikus LOAD esetén enyhe vagy mérsékelt tau-PET jelet láthatunk, a temporalis és parietalis lebenyekben, míg amyloid-PET esetén globalis corticalis jelet kapunk. EOAD esetén a tau-PET jelszint alacsonyabb, mint LOAD esetén és az agyi régiók közötti megoszlása tükrözheti a klinikai szindrómát is. Az amnesztikus forma esetén medio-temporalis, a PCA betegeknél parieto-occipitalis, míg lvPPA-nál baloldali dominanciájú mintázat figyelhető meg (20). A csökkent agyi anyagcsere mintázatát pedig a  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxiglükóz- PET (FDG-PET) segítségével vizsgálhatjuk (21).

Az AD neuropatológiai változásait jelző biomarkerek komponenseit három csoportba sorolják (együttesen ATN biomarkerek): az A $\beta$  lerakódás (A), a tau patológia (T) és a neurodegeneráció vagy sérülés (N) (9) Az ATN egyes komponenseinek meghatározása 7 markerrel történik: a liquor A $\beta_{1-42}$ , a liquor p-tau és a liquor t-tau értéke valamint az amyloid PET, a tau-PET, az FDG-PET és a mágneses rezonancia képalkotás (Magnetic Resonance Imaging - MRI) eredménye alapján. Ezen biomarkerek együttes értékelése növelheti az AD progresszió egyedi meghatározásának lehetőségét. Az elmúlt években több tanulmány jelent meg az ATN osztályozására szolgáló, véralapú biomarkerekkel kapcsolatban, amelyek ugyan még validálásra szorulnak, de ezt követően a költségek csökkentésével és a nagyobb hozzáférhetőség biztosításával megkönnyíthetik az AD-ben szenvedő betegek korai diagnózisát (9).

Az FTD a második leggyakoribb fiatalkori neurodegeneratív demencia (AOO<65), amely komplex és összetett kórkép (17). A különböző klinikai fenotípusai több neuropatológiai entitáshoz társulnak (27). Az FTD betegek esetében a leggyakrabban viselkedésbeli változásokat, exekutív funkció-sérülést (bvFTD) vagy nyelvi zavarokat (PPA) írtak le. A PPA magában foglalja a szemantikus PPA (svPPA), a nfvPPA, és a lvPPA klinikai képet, bár ez utóbbi általában AD-kórképpel társul. Az FTD különböző

klínikai szindrómái nem csak AD-vel, de pszichiátriai rendellenességekkel is átfedhetnek, tovább nehezítve a gyors és pontos diagnózis felállítását (17).

A bvFTD-re a vielkedés és a személyiség korai változása, az érzelmek és exekutív kontroll zavara jellemző. A bvFTD klínikai diagnózisának kritériuma szerint az alábbi 6 tünetből legalább háromnak kell együttesen jelen lennie: gátlástalanság, apathia, empátia hiánya, kényszeresség, hiperoralitás és exekutív funkciózavar (27). Az agyi képalkotók (MRI vagy komputertomográfia - CT) megerősíthetik a bvFTD diagnózisát a frontális és/vagy anterio-temporalis lebenyi atrophia detektálásával, illetve a PET vagy egyfoton-emissziós komputertomográfia (single photon emission computed tomography - SPECT) vizsgálat során megállapított hipometabolizmussal (27).

Az svPPA klínikai megjelenés továbbosztható két altípusra: baloldali és jobboldali svPPA-ra. A baloldali svPPA esetén a bal temporalis lebeny érintett inkább és elsősorban a nyelvi képességek sérülnek, a szemantikus tudás lassú elvesztésével jár. A főként jobb oldali temporalis lebeny érintettsége esetén a viselkedésbeli változások dominálnak. Idővel mindkét oldal érintetté válik, a két altípus tünetei is átfedést kezdenek mutatni (28). A tünetek megjelenése után 5-7 évvel a frontális lebeny struktúrái még jobban sérülnek és bvFTD tünetek jelennek meg. Az svPPA a legritkább az FTD 3 alapvető klínikai típusából, és a legkisebb genetikai meghatározottság jellemző rá (28). Az MRI-n az anterio-temporalis lebeny atrophia, míg a funkcionális képalkotók esetén a hipoperfúzió detektálása támogathatja a diagnózist (27).

Az nvPPA betegség szótalálási problémákkal kezdődik, majd a beszéd nehézkessé, lassúvá, elmosódottá válik. A képalkotó vizsgálatok során az MRI-n atrophia, a PET- vagy SPECT-képen hipometabolizmus látható a bal inferio-frontális gyrusban, a perisylvianus terület közelében és a Broca-területen (27).

Az FTD spektrum része továbbá az FTD-ALS, az FTD-MND a CBS és a progresszív supranuclearis bénulás (progressive supranuclear palsy - PSP). Az FTD betegek 15%-ánál tapasztalható átfedés a motoneuron betegségekkel. Az MND kórképek diagnózisának alapja a leggyakrabban szimultán fennálló alsó- és felső motoneuron károsodásból fakadó elektrofiziológiai jelek azonosítása.

A corticobasalis degeneráció (CBD) neuropatológiájának előrejelzése komoly diagnosztikai kihívást jelent, jelenleg a klínikai entitás leírására a CBS kifejezést használják. A CBS klínikai formáját azonban számos más kórkép patológiájával is

asszociálták már (AD, PSP, LBD). A CBD-t korábban a bvFTD, az nvPPA és egy exekutív motoros kórkép együttes szindrómájaként írták le. A betegeknél viselkedésbeli és nyelvi képességek zavarával kezdődnek a tünetek így bvFTD vagy nvPPA gyanújához vezet, majd később jelentkeznek motoros tünetek, parkinsonizmus axialis rigiditással. Az MRI képen látott nagyobb posterior atrophia AD patológiára, míg a jelentősebb frontalis atrophia CBD tau-patológiára utalhat. A dorsalis atrophia segíthet a mögöttes CBD 4R tau-patológia előrejelzésében, különösen a bvFTD-ként jelentkező esetekben (27,29).

A PSP szindrómák (PSP-S) esetén a betegség indulásánál még jelentős átfedéseket mutatnak a tünetek más kórképekkel, de végül igen magas arányban születik pontos diagnózis. A PSP-S klinikai diagnózis mögött több mint 90%-ban igazolódik PSP, a többi eset nagyrészt CBD-t diagnosztizálnak. A lehetséges PSP kritériumai között van a vertikális szupranukleáris tekintetbénulás, a lassú vertikális szakkádok és a testtartási instabilitás is. A kezdeti bvFTD-re vagy az nvPPA-re jellemző klinikai megjelenés átfordulhat PSP-be, illetve a PSP kezdeti megjelenése is lehet később bvFTD vagy nvPPA (27). A képalkotók jelentős segítséget adhatnak például a CBD és a PSP elkülönítésében a középagy, az agytörzs és a ventralis diencephalon atrophijának mértéke alapján (30). Bár vitatott, de egyes bizonyítékok alapján a kolibri jel segíthet a PD-től és a multisztémás atrophiatól való differenciálásban (31).

Az FTD spektrumába tartozó esetek pontos azonosítása és megkülönböztetése a hasonló klinikai képet mutató kórképektől (AD, primer pszichiátriai betegségek) a rutin diagnosztika és a klinikai kutatás szempontjából is kiemelten fontos kihívás (17). Az elmúlt években előrelépés történt bizonyos biomarkerek szérum- és liquor-szintjének mérésében, és korrelációjukban a különböző neurodegeneratív típusokkal és azok súlyosságával (16). Az AD és az FTD differenciálására a specifikus AD markerek alkalmasak lehetnek, mivel kimutatták, hogy FTD esetén a t-tau, p-tau181 és a p-tau217 szintje nem emelkedik szignifikánsan. Így a tau/A $\beta$ <sub>42</sub> szintje AD specifikus marker lehet. Azonban fontos megjegyezni, hogy sok esetben az FTD-hez másodlagos AD patológia is társul, ezért FTD klinikai képet mutató betegeknél az AD biomarkerek vizsgálata során figyelembe kell venni az összes rendelkezésre álló vizsgálat eredményét (pl. képalkotó eredmények), annak megállapítása érdekében, hogy az AD patológia az elsődleges vagy csak társuló másodlagos eltérés (32,33).



Számos tanulmány igazolt az AD-ban mértnél magasabb neurofilamentum-könnyűlánc-fehérje (NfL- neurofilament light) szintet liquorban, szérumban és plazmában is FTD esetén, mely a betegség progressziójával is jól korrelálhat (17). Az elmúlt években az FTD esetén a liquor NfL, YKL-40 (chitinase-3-like protein-1) és a szolubilis amyloid prekursor fehérje fragmens (sAPP $\beta$ ) szintjének méréseit kombinálva magas diagnosztikai pontosságot értek el (34). A legújabb eredmények alapján a plazma gliális fibrilláris acidikus protein (GFAP), egy asztrogliózis-marker, és mind AD, mind FTD esetén emelkedett szintje korrelál a tünetek mértékével, így a specifikus biomarkerekkel együtt vizsgálva a betegség progressziójának követésére és a kognitív hanyatlás előrejelzésére is használható lehet (35). A specifikus biomarkerek kutatását tovább nehezíti, hogy az egyes FTD altípusokban kevés a pontos és megfelelő diagnózissal rendelkező beteg, valamint fontos, hogy az egyes markereket külön vizsgálni kell örökletes és sporadikus FTD esetén is.

A közelmúltban elért kutatási eredmények a biomarkerek, a képalkotás és a genetika terén javították az EOD típusainak diagnosztikai rátáját., azonban a hozzáférhetőség terén még egyenlőtlenségek vannak (19). Az EOD tünetei lehetnek atípusosak és a differenciáldiagnózisa igen széles körű, magába foglalhatja a neurológiai, neurodegeneratív és primer pszichiátriai kórképeket is. A diagnózis felállítása frontális tünetek vagy fehérállományi eltérések esetén a legnehezebb, amelyeket a bvFTD vagy a leukodystrophia fennállásakor tapasztalhatunk (36). Több retrospektív tanulmány is rámutatta az EOD diagnosztizálásnak nehézségére a korai stádiumban, 28-49%-ban változott meg a betegek diagnózisa a követés során (36–38), amely leggyakrabban bvFTD eseteket érintett (36). Ezek az esetek és számok felhívják a figyelmet a megfelelő diagnózist támogató biomarkerek, képalkotók és molekuláris vizsgálatok fejlesztésének szükségességére.

## **1.4 A korai kezdetű demencia genetikai háttere**

### **1.4.1 A monogénes EOD genetikai architektúrája**

A demencia klinikailag heterogén betegségek csoportja, melyek között különböző mértékű hasonlóságokat találhatunk a tünetek, a patológiai folyamatok vagy a genetikai háttér esetén is. A betegeknél megfigyelhető komplex klinikai kép és az egyes

demenciával járó kórképek közötti átfedések komoly diagnosztikai kihívást jelentenek. Ugyan rendelkezésre állnak a korábban ismertetett folyadékbiopsziából vizsgálható illetve képkeltő módszerekkel analizálható biomarkerek, de ezek alapján a legtöbb esetben vagy nem, vagy csak a késői szakaszban lehet pontos diagnózist felállítani. A mendeli öröklődésű demenciák vizsgálata elősegítheti a biomarkerek és az új terápiák fejlesztését. A familiáris forma háttérben álló genetikai eltérés azonosítása lehetőséget nyújt a még tünetmentes hordozók átfogó vizsgálatára, hozzájárulhat a tünetek háttérben zajló patomechanizmusok megértéséhez (39). Az elmúlt évtizedben jelentős változást hozott a genetikai vizsgálómódszerek terén az újgenerációs szekvenálás (next generation sequencing - NGS) elterjedése. Az NGS technológia segítségével egyidejűleg több gén szekvenálása is lehetséges, így adott fenotípussal asszociált gének nagyobb csoportja is gyorsan és költséghatékonyan vizsgálható. A legtöbb laboratóriumban jelenleg célzott génpaneleket vagy teljes exom szekvenálást követően virtuális paneleket alkalmaznak a demencia genetikai háttérének vizsgálatára.

A demencia háttérben álló leggyakoribb kórkép az AD, melynek legjelentősebb biológiai rizikófaktora az életkor, a betegek 90%-ánál a 65. életév után indul a betegség (LOAD). Az EOAD esetén a betegség korai indulása és a nagyszámú familiáris eset (35-60%) jelentős genetikai meghatározottságra utal. Az EOAD esetek háttérben azonosított három, az amyloid- $\beta$  útvonalban kulcsszerepet játszó gén: az *APP*, a *PSEN1* és a *PSEN2* (40,41).

Az *APP* gén a 21. kromoszómán található és az amyloid prekursor proteint kódolja. Az APP egy transzmembrán glikoprotein, amely kulcsfontosságú szerepet játszik a neuronális homeosztázisban, a neuronok fejlődésében és az intracelluláris transzportban. Az APP proetolízise amyloidogén és nem-amyloidogén útvonalon történik. Utóbbi esetén az  $\alpha$ -szekretáz hasítja a fehérjét az  $A\beta$  szekvencián belül. Az amyloidogén útvonalon pedig a  $\beta$ -szekretáz (*BACE1* gén kódolja) végzi a fehérje hasítását oldható APP (sAPP) fragmensekre, majd a maradék APP-t tovább hasítja a  $\gamma$ -szekretáz. Az így keletkezett fragmenseket pedig a sejt gyorsan ki tudja üríteni (42). A folyamat sérülése során alakulnak ki az AD-re jellemző  $A\beta$  plakkok, ez lehet a magyarázata, hogy az *APP* génben leírt legtöbb kóros misszensz variáns az  $A\beta$  szekvencia vagy a  $\beta$ -,  $\gamma$ -szekretáz hasítóhelyének közelében található (670-724 aminosavak). A patogén variánsok az  $A\beta$  túltermeléséhez vagy az  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  arány toxikus,  $A\beta_{42}$  irányába való eltolódásához

vezetnek. Az *APP* variánst hordozó betegek első tünetei átlagosan 45-60 éves koruk között jelentkeznek. A gén különböző méretű duplikációja esetén csökkent penetranciát és az AOO nagyobb variabilitást figyelték meg (1). Az *APP* gén kóros eltéréseit az EOAD esetek kevesebb mint 1%-ában detektálták. A p.A673T eltérést protektív faktorként riportálták egy kohortban, az eltérés csökkentette az A $\beta$ <sub>40</sub> és A $\beta$ <sub>42</sub> termelődést (40,43).

A presenilin1 és presenilin2 fehérjék a  $\gamma$ -szekretáz komplex kulcsfontosságú fehérjéi, hibás működésük a A $\beta$ <sub>42</sub> termelés növekedését és A $\beta$ <sub>40</sub> csökkenését okozza, így az A $\beta$ <sub>42</sub>/A $\beta$ <sub>40</sub> arány eltolódik. A két gén szekvenciája 66%-os homológiát mutat, de a *PSEN1* jelentősége szignifikánsan nagyobb AD esetén (44).

A *PSEN1* gén eltérései a leggyakoribb EOAD mutációk (~6%), eddig már több mint 300 variánst írták le, amelyek szerepet játszhatnak a neurodegenerációban (44). A legtöbb patogén eltérést AD-vel asszociálták, de leírták már FTD és PD klinikai fenotípus esetén is. A kóros variánsait túlnyomórészt heterozigóta formában azonosították, de összetett heterozigóta és homozigóta formában is detektálták már, utóbbi esetben még súlyosabb volt a betegség megjelenése mint a heterozigóta eltéréseknél. A *PSEN1* gén variánsai esetén jelentősen korábban indulnak a páciensek tünetei, mint a másik két AD-vel asszociált génnél. A patogén variánst hordozó páciensek gyakran atípusos tüneteket mutatnak (pl.: rohamok, motoros-, viselkedésbeli vagy nyelvi képességek zavara). Az *APP* kóros eltérést hordozó betegekkel összehasonlítva a képzővizsgálatok során itt kisebb fokú a hippocampalis atrophia, viszont más agyi régiókat is érinthet a károsodás (pl. neocortex, fehérállomány) (44).

A *PSEN2* pozitív esetek az *APP* génhez hasonlóan csak kevesebb mint 1%-át adják az EOAD betegeknek. A gén több patogén variánsa esetén inkomplett penetranciát írtak le, a tünetek megjelenésének ideje nagyon széles skálán mozog (40-75 év) és még egy családon belül is nagy variabilitást mutathat a hordozó családtagok között (40,45). *PSEN2* eltérést LOAD, FTD illetve LBD klinikai diagnózissal rendelkező betegnél is azonosították már, valamint egyes variánsairól feltételezik, hogy rizikófaktorként a környezeti faktorokkal együttesen növeli az AD kialakulásának kockázatát (45).

Az FTD az NDD-k egyik magas heritabilitású csoportja, a betegek közel 40%-ánál a családban leírtak valamilyen neurodegeneratív betegséget vagy tünetet (demencia, motoros vagy pszichiátriai tünetek). Az FTD spektrumhoz tartozó kórképek esetén igen

változó a heritabilitás mértéke, bvFTD esetén elérheti a 48%-ot, míg PPA betegknél csak 12% (16,46). Az FTD háttérében leírt három leggyakoribb autoszomális domináns öröklődésmentű gén a *MAPT*, a *GRN* és a *C9ORF72*. Ezeken felül még számos gént asszociáltak FTD-vel: *VCP*, *CHMP2B*, *ITM2B*, *TBP*, *DCTN1*, *SQSTM1*, *TREM2*, *UBQLN2*, *CHCHD10*, *TBK1*, ezen gének variánsai az összes FTD eset kevesebb, mint 5%-át adják. Azonban fontos populációnként megvizsgálni az egyes gének szignifikanciáját, mert bizonyos esetekben már igazolódott populáció specifikus prevalencia: Belgiumban a *TBK1* gén patogén variánsai a harmadik leggyakoribb ok FTD esetén (47).

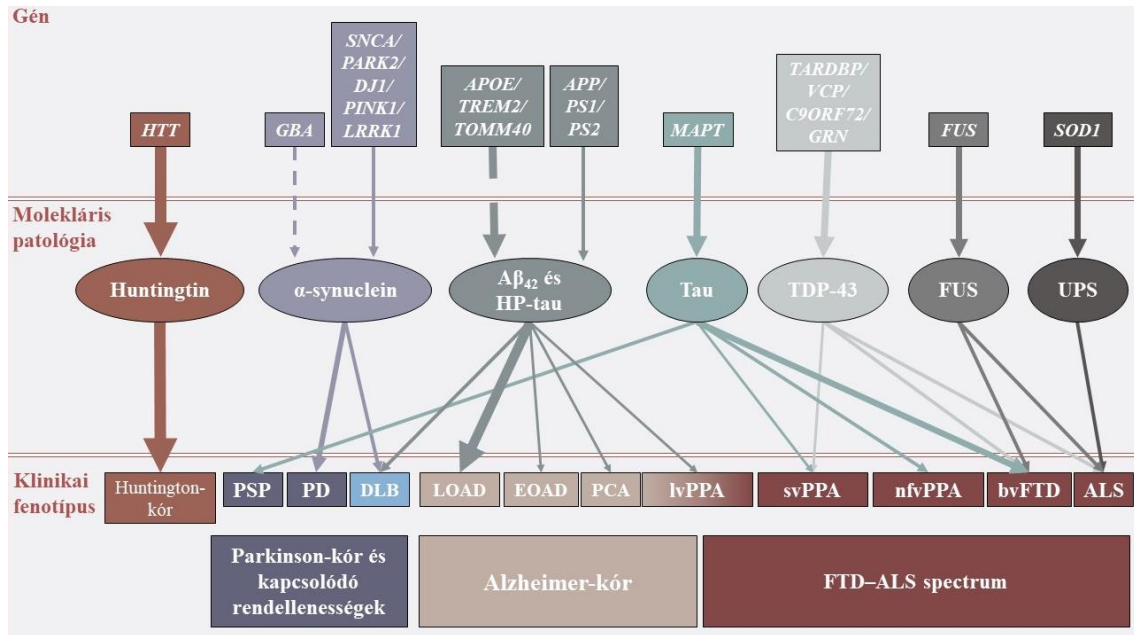
A 17. kromoszómán elhelyezkedő *MAPT* gén volt az első, amelyet több mint 20 évvel ezelőtt az FTD egy autoszomális domináns parkinsonizmussal járó formájával asszociáltak (5). Populációtól függően a familiáris esetek 5-20%-át teszik ki, az AOO széles skálán mozog (20-80 éves kor), de átlagosan a páciensek 50-es éveire tehető (5,16). A gén kóros variánsait hordozó betegek fenotípusa még családon belül is eltérő lehet, és a hibás gén okozhat bvFTD, svPPA, CBS, PSP vagy akár amnesztikus AD-szerű klinikai képet is (16). Míg az MND nem jellemző a *MAPT*-pozitív FTD betegekre (41). Patogén *MAPT* variáns esetén a tau patológia minden esetben megtalálható és a mutáció helye alapján 4R tau vagy 3R és 4R tau jellemzi. A képzőanyag a betegeknél szimmetrikus anterio-frontotemporalis és basalis ganglion atrophiat, valamint hipometabolizmust írnak le (16,41). Ugyan a *MAPT* gén eltéréseit legtöbbször teljes penetranciával írják le. Egyes variánsait, mint a p.A152T, nvPPA, CBS, PSP és bvFTD hajlamosító tényezőjeként jegyezték fel (16).

A *GRN* gén a progranulin fehérjét kódolja, amelynek szerepe van a sejtciklus progressziójában, a gyulladási folyamatokban és a lizoszomális útvonalban (16). Szintén a 17. kromoszómán található, mutációi az autoszomális domináns FTD kb. 25%-áért, és a tisztán sporadikus esetek 5%-áért felelősek (41). A hibás *GRN* gén, a *MAPT*-tal ellentétben TDP-43 patológiával társul, és a tünetek megjelenésének ideje valamivel későbbi (30-as és 80-as életévek között) (16). A képzőanyag jellemzően aszimmetrikus atrophiat mutat, amely nagyobb valószínűséggel érinti a dorsalis frontoparietalis régiókat, míg az FDG-PET már a preszimptomás esetben is hipometabolizmust mutat a frontális és temporális régiókban. A klinikai kép itt is változatos akár egy családon belül is, a legjellemzőbb az apathiával járó bvFTD,

valamint az nfPPA és a CBS is gyakori (16,41). A *GRN* eltérések azonosítása FTD-ben a mikroglia szerepére hívták fel a figyelmet, majd 2012-ben a gén homozigóta mutációt a neuralis ceroid lipofuscinosis (neuronal ceroid lipofuscinosis- CLN11) kórképpel asszociálták. Ez pedig a lizoszómális homeosztázis szerepét hangsúlyozta az FTD patogenezisében (5).

A *C9ORF72* gén nem kódoló régiójában található hexanukleotid (GGGGCC) repeat expanszió (HRE) a familiáris FTD közel 30%-áért, a familiáris ALS több mint 50%-áért és az FTD-ALS esetek mintegy 88%-áért felel (16,41). Az eltérésre a TDP-43 patológia jellemző, az ismétlődésszám egészséges egyéneknél 20 alatti, 20 és 30 között a patogenitás kérdéses, 30 felett kóros és a betegeknél elérheti akár az 1600-at is. A klinikai megjelenés igen változatos, a leggyakoribb a bvFTD, ALS, FTD-ALS, parkinsonizmus és gyakran jelentkeznek hallucinációk és téveszmék. Az AOO mediánja 50 év, a penetrancia az életkorral nő, és egyes vizsgálatok szerint anticipációt mutat. A képalkotók enyhe szimmetrikus dorsalis, frontalis és parietalis atrophia mellett jellemzően kisagyi érintettséget is mutatnak (16,41).

Az eddig taglalt genetikai, molekuláris patológiai és klinikai fenotípusos kórképek összefoglalása a 3. ábrán szerepel.



### 3. ábra: Az egyes neurodegeneratív kórképek háttérében álló molekuláris patológiai és genetikai tényezők

Az egyes neurodegeneratív betegségekből nemcsak fenotípus hasonlóságokat lehet megfigyelni, hanem a molekuláris patológia területén is átfedéseket mutatnak a kórképek. Az egyes kóros fehérjék számos klinikai megjelenéssel társulhatnak. Ezek a különböző szinten jelentkező hasonlóságok pedig felvetik, hogy akár genetikai szinten is spektrumról beszélhetünk (a szaggatott nyilak jelölik, hogy ha az adott gén csak a betegség kialakulásának kockázatát növeli). Rövidítésjegyzék: ALS: amyotrophias later sclerosis; Aβ: amyloid-β; bvFTD magatartási zavarokkal járó FTD; DLB: Lewy testes demencia; EOAD: korai kezdetű Alzheimer-kór; FTD-ALS: frontotemporalis demencia-amyotrophias later sclerosis; HP-tau: hiperfoszforilált tau; LOAD: késői kezdetű Alzheimer-kór; lvPPA: logopeniás primer progresszív aphasia; nvPPA: non-fluens PPA; PCA: posterior corticalis atrophia; PD: Parkinson-kór; svPPA: szemantikus PPA; UPS: ubiquitin-proteaszóma rendszer. Michela Pievani és mtsai. nyomán, módosítva (48).

#### 1.4.2 A genetikai hajlamosító tényezők

Az EOD esetén a korai indulás és a magas heritabilitás ellenére is nagyon magas a száma azon eseteknek, ahol nem tudnak monogénes genetikai okot azonosítani a betegség háttérében. Ennek a komplex és sokszor atípusos klinikai kép mellett a poligénes genetikai etiológia lehet az egyik magyarázata. A genetikai rizikófaktorok és

a környezeti hatások együttesen befolyásolhatják a betegség megjelenését, az AOO-t, vagy akár a tünetek progresszióját is.

A genom szintű asszociációs vizsgálatok (genome wide association study - GWAS) az AD legerősebb rizikó génjeként az *APOE*-t (Apolipoprotein E) azonosították. Az *APOE* gén az apolipoprotein E (ApoE) fehérjét kódolja, amely egy lipid szállító protein és 9 útvonalon keresztül játszhat szerepet az AD patológiájában; többek között az A $\beta$  kiürítésen, a tau patológián, a lipid metabolizmuson és a szinaptikus plaszticitáson keresztül (40). Az *APOE* három izoformája az *APOE*  $\epsilon$ 2  $\epsilon$ 3 és  $\epsilon$ 4. A leggyakoribb genotípus a  $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 3, ami nem játszik szerepet az AD kialakulásában, míg az  $\epsilon$ 2 allélról úgy gondolják, hogy védőfaktoroként csökkentheti a betegség kialakulásának esélyét. Az *APOE*  $\epsilon$ 4 allél pedig heterozigóta formában háromszorosra, míg homozigóta formában akár 15-szörösére is emelheti az AD kialakulásának kockázatát. Az *APOE* szerepét vizsgálták az AD különböző altípusaiban is, a LOAD mellett az ismeretlen etiológiájú familiáris AD esetében is az  $\epsilon$ 4 szignifikáns dúsulását tapasztalták. Egyes tanulmányok szerint a tünetek megjelenésének idejét is befolyásolta az igazoltan monogénes EOAD betegeknél (1,49).

A GWAS vizsgálatok további lókusztokat asszociáltak AD-vel, a genetikai vizsgálatok fejlődése pedig tovább növelte ezek számát. A nagy áteresztőképességű technológiák révén pedig lehetőség nyílt több, feltehetően a betegség patomechanizmusában szerepet játszó gén egyidejű költségkímélő vizsgálatára és ezzel lehetséges, új terápiás célpontok kijelölésére. Már több mint 20 ilyen lehetséges rizikófaktort azonosítottak, amelyek többek között az agyi immunrendszerben (*TREM2*; *ABCA7*; *CLU*; *CRI1*), a szinaptikus funkciókban (*PICALM*), az endocitózisban (*PICALM*; *SORL1*), a lipid metabolizmusban (*APOE*; *CLU*; *ABCA7*) vagy a mitochondriális homeosztázisban (Parkin/PINK1 útvonal,  $\alpha$ -ketoglutarát dehidrogenáz -  $\alpha$ KGDH) játszanak szerepet (50–52). Az azonosított rizikó gének esetében különböző mértékű asszociációt írtak le, illetve egyes esetekben a tanulmányok ellentmondásosak a variánsok betegségre gyakorolt hatását illetően.

A *SORL1* (Sortilin Related Receptor 1) gént 2007-ben asszociálták először AD-vel (53), a későbbi nagy esetszámú vizsgálatok alapján úgy vélik a korai STOP mutációk (PTC) esetén nagyobb kockázat növelő hatása van, mint a misszensz variánsok esetén, amik csökkent penetranciát mutatnak. A *SORL1* génhez hasonló AD rizikónak számíthatnak

az *ABCA7* (ATP Binding Cassette Subfamily A Member 7) gén eltérései is. Ebben az esetben is a PTC variánsoknál találtak erősebb asszociációt, azonban mindkét génnél hangsúlyozni kell, hogy a kontroll csoportban is azonosították az eltéréseiket, ami megkérdőjelezheti a variánsok szerepét, vagy inkább penetranciára utalhat.(40).

A *TREM2* gént 2013-ban, egymástól függetlenül két munkacsoport is azonosította, mint AD rizikófaktor (54,55). A *TREM2* (triggering receptor expressed on myeloid cells 2) a 2-es típusú myeloid sejteken expresszálandó trigger receptort kódolja és az egyik specifikus liganduma az ApoE. Ez utóbbi jellemzője, illetve a neuroinflamációban betöltött szerepe alapján feltételezik, hogy kóros variánsai befolyásolhatják a demencia kialakulásának kockázatát. A *TREM2* p.R47H variánst az *APOE* heterozigóta  $\epsilon 4$  alléljával egyenértékű rizikófaktornak tartják, viszont a tanulmányok alapján populáció specifikus (40,56).

A mitochondriális eltérések lehetséges kulcsszerepére az AD kialakulásában és progressziójában egyre több bizonyítékot írnak le. Többek között hibás mitochondriális biogenezist, a mitofágia, a mitochondriális proteosztázis és az endoplazmatikus retikulum - mitochondrium kölcsönhatás károsodását figyelték meg AD-vel összefüggésben (57). Egy korábbi tanulmányban a mitochondriális dinamika károsodásának hátterében a hiperfoszforilált és aggregálódott tau patológiáját írták le (58). Továbbá az FDG PET vizsgálatok már az AD korai szakaszában glükóz hipometabolizmust detektáltak (59). Ezek alapján a mitochondriális homeosztázis fenntartásában szerepet játszó enzimeket kódoló géneket, mint lehetséges AD rizikófaktorokat vizsgálhatjuk.

FTD esetén is számos eltérést azonosítottak genetikai rizikófaktorként. A TDP-43 patológia esetén a *TMEM106B* bizonyult a legjelentősebb genetikai kockázati tényezőnek. A gén SNP-it *GRN* pozitív betegek esetén mint lehetséges protektív faktor azonosították, valamint a *C9ORF72* eltérést hordozó betegeknél is későbbi AOO-t igazoltak a *TMEM106B* variánsai esetén. Egyelőre nem tisztázott, hogy milyen mechanizmuson keresztül fejti ki védőhatását a gén, de egyes tanulmányok szerint a lizoszomális funkciókra gyakorolt hatásával. Érdekesség, hogy az FTD-vel asszociált gének polimorfizmusait AD, PD, LBD esetén is leírták lehetséges rizikófaktornak. A *MAPT* egy ritka, alacsony penetrációjú variánsa például bizonyítottan növeli mind az FTD, mind az AD kialakulásának kockázatát (41). Az NGS metodika széleskörű



elterjedésének köszönhetően várhatóan további gének merülnek fel a demencia lehetséges monogénes okaként vagy különböző erősségű rizikófaktoraként. Ezek vizsgálatai pedig elősegíthetik a patomechanizmusok megértését és célzott gyógyszerek fejlesztését.

## 2 Célkitűzések

A korai kezdetű demenciát nagyon magas heritabilitás jellemzi, azonban az esetek kis százalékában azonosítható csak monogénes etiológia az eddig AD-val és FTD-vel asszociált gének elemzésével. A megoldatlan EOD esetek magyarázata lehet többek között az átfedő fenotípus, a multifaktoriális etiológia, vagy a kórképpel korábban még nem asszociált gének szerepe. Az elmúlt években a molekuláris biológia módszereinek fejlődése, az NGS technológia széleskörű elterjedése komoly előrelépést jelentett ebben a kérdéskörben. Kutatásunk során célunk volt a korai kezdetű demenciák genetikai hátterének feltérképezése; az AD és FTD hátterében jól ismert gének szerepének vizsgálata; esetenként új, eddig még nem asszociált gének azonosítása az adott fenotípussal.

A doktori munkám célkitűzéseit az alábbi pontokban foglalhatjuk össze:

1. A korai kezdetű demencia genetikai hátterének elemzése a magyar betegek körében. Ajánlás kidolgozása a monogénes demencia formák genetikai diagnosztikai útvonalára.
2. Az azonosított genetikai variánsok klasszifikációja, a kórképpel való asszociáció mértékének megállapítása és előfordulási gyakoriságának analízise.
3. A magyar EOD betegek genotípus-fenotípus korrelációjának elemzése.
4. A demencia és más neurodegeneratív kórképek közötti átfedő patomechanizmus vizsgálata.
5. Az EOD betegek regiszterének kiépítése, *trial-ready* kohort kialakítása.

### 3 Módszerek

#### 3.1 A vizsgált betegek

#### 3.2 A korai kezdetű demencia kohort

Vizsgálatunkba a 2009 és 2020 közötti időszakból 120 EOD beteg került beválasztásra a Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézetének betegspecifikus biobankjából (NEPSYBANK) (60). A tünetek megjelenésekor a betegek átlagéletkora  $56,05 \pm 6,95$  év volt. A pácienseket minden esetben neurológus szakorvos vizsgálta. Az EOD kohorton belül megkülönböztettünk EOAD (n=49), FTD (n=49) és atípusos demencia (n=22) alcsoportokat. Az alcsoportokba való besorolást a klinikai kép, a rendelkezésre álló képalkotók és kognitív tesztek eredményei alapján végeztük. A családi anamnézist abban az esetben tekintettük pozitívnak, ha első- vagy másodfokú rokon esetében valamilyen neurodegeneratív kórképről számoltak be pácienseink. A 48 familiáris halmozódást mutató esetből 42-nél elsőfokú rokonnál írtak le demenciára, vagy más neurodegeneratív kórképre jellemző tünetet. A családi érintettség, a nem szerinti eloszlást, valamint az AOO adatokat az 1. táblázat mutatja. A vascularis demenciával vagy típusos familiáris CJD-vel diagnosztizált betegeket kizártuk a kohortból. A kutatást a Magyar Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (44599-2/2013/EKU szám) hagyta jóvá. A genetikai vizsgálatok a pácienseknél minden esetben diagnosztikai célból készültek.

#### 1. táblázat: Az EOD kohort adatai

Rövidítésjegyzék: AOO: életkor a tünetek megjelenésekor (age of onset); F: familiáris esetek; FTD: frontotemporalis demencia; S: Sporadikus esetek; SD: standard deviáció

	Alzheimer-kór		FTD		Atípusos demencia	
	F.	S.	F.	S.	F.	S.
	AOO $\pm$ SD	AOO $\pm$ SD	AOO $\pm$ SD	AOO $\pm$ SD	AOO $\pm$ SD	AOO $\pm$ SD
<b>Nő</b>	15 $55,7 \pm 7,7$	18 $54,2 \pm 14,2$	12 $54,9 \pm 5,6$	13 $57,1 \pm 6,1$	7 $57,9 \pm 5,43$	4 $53,3 \pm 9,4$
<b>Férfi</b>	6 $58,2 \pm 26,4$	10 $52,6 \pm 18,7$	5 $57,4 \pm 2,4$	19 $54,49 \pm 6,03$	3 $58,0 \pm 1,73$	8 $58,9 \pm 4,8$

### 3.3 Az AD kohort az $\alpha$ KGDH alegységeinek vizsgálata során

Az  $\alpha$ KGDH komplex három alegységét 46 beteg esetén vizsgáltuk. Az alegységeket kódoló gének vizsgálata az intézetünk egy korábbi projektjének folytatása volt. Első körben 22 AD betegeknél perifériás vérből izolált DNS-t és 11 AD páciens esetében post mortem agyszövetből izolált DNS-t vizsgáltunk Sanger szekvenálással (61). Ezeket az adatokat bővítettük ki 13 AD beteg teljes exom szekvenálási adatainak elemzésével. Az agyszövetből végzett vizsgálatoknál minden esetben részletes neuropatológiai vizsgálat igazolta az Alzheimer-kórt, a mintákat a Semmelweis Egyetem Humán Agyszövet Bankjából (HBTB) kaptuk. Ezt a kutatást az Egészségügyi Minisztérium Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága (6008/8/2002/ETT) és a Semmelweis Egyetem Regionális Tudomány- és Kutatásetikai Bizottsága (32/1992/TUKEB szám), majd a Magyar Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (44599-2/2013/EKU szám) engedélyezte. A kohort adatait a 2. táblázat mutatja be.

#### 2. táblázat: Vizsgált kohort az $\alpha$ KGDH alegységeinek analízise esetén

Rövidítésjegyzék: AOO: életkor a tünetek megjelenésekor (age of onset); SD: standard deviáció; WES: teljes exom szekvenálás

	Perifériás vérminta		Agyszövet
	Sanger szekvenálás (átlag AOO $\pm$ SD)	WES (átlag AOO $\pm$ SD)	Sanger szekvenálás (átlag AOO $\pm$ SD)
<b>Nő</b>	16 (55,8 $\pm$ 10 év)	11 (62 $\pm$ 8 év)	6 (77 $\pm$ 8 év)
<b>Férfi</b>	6 (63 $\pm$ 4,6 év)	2 (72 $\pm$ 13 év)	5 (69,5 $\pm$ 9 év)

### 3.4 Kontroll csoportok

A kontroll személyek biológiai mintái az Intézet NEPSYBANK és a NEGSTAR biobankjaiból kerültek kiválasztásra (60,62). Előbbi biobank az intézet betegségpecifikus biobankja, ahonnan 82 beteget választottunk ki, akik nem rendelkeztek neurodegeneratív tünetegyüttessel és rendelkezésünkre álltak a DNS

mintájukból korábban elkészült teljes exom szekvenálások (WES) adatai. A NEGSTAR egészséges idős – legalább 70. életévüket betöltött - egyének mintáit foglalja magába, innen 55 személy került beválasztásra, akiknél teljes genom szekvenálási (WGS) adatokat tudunk elemezni. A teljes kontroll csoportunk 137 főből állt, az átlagéletkor  $52,93 \pm 17,88$ . Az *APOE* genotipizáláshoz a NEGSTAR biobankból választottunk 100 egészséges, 70 évnél idősebb egyént a kontroll csoportba. A mintavételt és a molekuláris genetikai vizsgálatot megelőzően, mind a betegek, mind a kontroll egyének tájékoztatva lettek és beleegyező nyilatkozatot írtak alá a Helsinki Nyilatkozatnak megfelelően. A vizsgálatot a Magyar Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (44599-2/2013/EKU szám) hagyta jóvá.

### **3.5 Alkalmazott módszerek**

#### **3.5.1 DNS izolálása, minőség-ellenőrzése és tárolása**

A vizsgálatban résztvevő személyektől EDTA (etilén-diamin-tetraecetsav) véralvadásgátlót tartalmazó csövekbe gyűjtöttük a perifériás vérmintát. A DNS izolálása vérminta esetén a QIAamp DNA Blood kit segítségével történt a gyártói protokoll szerint (QIAGEN, Hilden, Germany). Az agyszövetek esetén a QIAamp DNA tissue kittel történt a DNS izolálása, szintén a protokoll szerint. Az izolált DNS tisztaságát és mennyiségét NanoDrop 2000 (ThermoFisher Scientific, MA, USA) spektrofotométer készülékkel ellenőriztük. Az izolált DNS-eket akkor fogadtuk el megfelelő minőségűként, ha a tisztasági értéke, a 260/280 abszorbancia hányadosa 1,8-as értéknél magasabb volt. Az újgenerációs szekvenálást megelőzően a minták koncentrációját Qubit 2.0 Fluorometer (ThermoFisher Scientific, MA, USA) készülékkel is megmértük, a könyvtárkészítéshez szükséges pontos kiindulási koncentráció beállításának érdekében. A duplaszálú DNS (dsDNS) méréséhez a Qubit dsDNA BR Assay Kit-et használtuk a gyártói protokoll szerint. A gyűjtött perifériás vér és rövidtávon az izolált DNS minták tárolása  $-20^{\circ}\text{C}$ -os fagyasztóban történt, majd hosszú távon  $-80^{\circ}\text{C}$ -os ultramélyhűtőben kerültek tárolásra a DNS-ek. A beteg kohort, a vizsgált rokonok és kontrollok mintáit, valamint a hozzájuk tartozó adatok az intézet biobankjaiban kerültek tárolásra (NEPSYBANK, NEGSTAR) (60,62).

### 3.5.2 Restriktációs fragmenthossz polimorfizmus vizsgálat

Az *APOE* genotípus vizsgálatát minden betegnél és kontroll személynél elvégeztük. Azoknál az egyéneknél, ahol nem készült NGS vizsgálat a gén alléljainak meghatározása restriktációs fragmenthossz polimorfizmus (RFLP) módszerrel történt. A PCR reakciót enzim hasítás és 37 °C-on 3 órás inkubálás követte. A polimeráz láncreakcióhoz (PCR) használt primer szekvenciák és az emésztéshez használt HhaI restriktációs endonukleáz hasítópelye a [https://semmelweis.hu/genomikai-medicina/files/2023/06/PCR\\_program\\_primer\\_melleklet.pdf](https://semmelweis.hu/genomikai-medicina/files/2023/06/PCR_program_primer_melleklet.pdf) linken érhető el. A vizsgálat kiértékelése 4% agaróz gélelektroforézis segítségével történt. A kiértékeléshez szükséges digitális képet UVITEC készülék és szoftver (Cleaver Scientific LTD) használatával készítettük el.

### 3.5.3 *C9ORF72* hexanukleotid repeat expanszió vizsgálat

A *C9ORF72* hexanukleotid repeat expansziójának vizsgálatát repeat-primed PCR-t (RP-PCR) követően fragment analízissel végeztük. Az RP-PCR elvégzéséhez három primert használtunk: az anchor és a sense primer segítségével amplifikáltuk az adott DNS régiót, a 4 db GGCCCC ismétlődést tartalmazó FAM-mal jelölt antisense primer pedig magához az ismétlődő szakaszhoz kötődött be. A primerek szekvenciája az alábbi linken található: [https://semmelweis.hu/genomikai-medicina/files/2023/06/PCR\\_program\\_primer\\_melleklet.pdf](https://semmelweis.hu/genomikai-medicina/files/2023/06/PCR_program_primer_melleklet.pdf). A fragmentek hosszát az RP-PCR-t követően kapilláris elektroforézissel határoztuk meg, az Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer készülék (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) segítségével. Az eredmények elemzését a GeneMapper (Waltham, MA, USA) szoftverrel végeztük. A szakirodalom alapján pozitív eredménynek a 30 ismétlődést meghaladó repeat szám minősült.

### 3.5.4 Sanger szekvenálás

Az intézetünkbe érkezett EOD minták esetében az AD-vel és FTD-vel asszociált leggyakoribb gének vizsgálatát 2009 és 2019 között Sanger szekvenálással végeztük. Ezt követően a *PSENI*, *PSEN2*, *APP*, *MAPT* és *GRN* gének analízise is NGS metodikával történt. A vizsgálatához használt primerek szekvenciái a Genomikai

Medicina és Ritka Betegségek Intézetének honlapján találhatóak meg. A Sanger szekvenálás az Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer készülék segítségével történt. A kapott szekvenciákat a Sequence Scanner Software v1.0 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) segítségével elemeztük, a humán referencia genomhoz illesztésüket az NCBI – BLAST programmal végeztük (*APP*: ENST00000346798.8, NM\_000484.4; *PSENI*: ENST00000324501.10, NM\_000021.4, *PSEN2*: ENST00000366783.8, NM\_000447.3, *GRN*: ENST00000053867.8, NM\_002087.4; *MAPT*: ENST00000344290.9, NM\_001123066.3).

Az  $\alpha$ KGDH komplex alegységeit kódoló gének esetén (*DLD* - Dihydrolipoamide Dehydrogenase, *OGDH* - Oxoglutarate Dehydrogenase, *DLST*- Dihydrolipoamide S-Succinyltransferase) a primerek és a PCR program a Genomikai Medicina és Ritka Betegségek Intézetének honlapján találhatóak meg. Az agyszövetek esetén minden betegnél több agyi régióból származó mintából is elvégeztük a vizsgálatot (parietális és parahippocampális lebenyek, temporális Brodman 20-21, prefrontális Brodman 9). A kiértékelés során a szekvenciákat humán referencia genomhoz illesztettük GRCh37/hg19 (*OGDH*: ENST00000222673.5, NM\_002541.4, *DLST*: GRCh37/hg19, ENST00000334220.4, NM\_001933.5, *DLD*: GRCh37/hg19, ENST00000205402.5, NM\_000108.5). A szekvenciák értékelését szintén a Sequence Scanner Software v1.0 szoftverrel végeztük.

### 3.5.5 Újgenerációs szekvenálás

Újgenerációs szekvenálással 54 beteg és 137 kontroll egyén genetikai vizsgálatát végeztük el. A vizsgált beteg kohorton belül 38 beteg esetén volt lehetőségünk célzott panel szekvenálására. Az általunk tervezett panel összesen 127 gént tartalmazott (1. melléklet), melyek mindegyikét összefüggésbe hozták már demenciával, vagy más neurodegeneratív kórképpel. A gének szelekciója során elsőként a korai demencia hátterében már monogénes okként, vagy rizikófaktorként leírt génekre fókuszáltunk. Emellett igyekeztünk olyan géneket kiválasztani, melyeket korábban más neurodegeneratív betegséggel asszociáltak, azonban kóroki variánsaik a különféle demencia típusokkal átfedő fenotípust is eredményezhetnek. Teljes exom szekvenálást további 16 betegnél volt lehetőségünk elvégezni.

A könyvtárkészítés, a célzott panel esetén a SureSelectQXT Target Enrichment for the Illumina Platform (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) reagenssel, a WES vizsgálat esetén pedig az Agilent SureSelectQXT Human All Exon v5 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) reagenssel készült a gyártói leírás alapján. A könyvtárkészítés előtt meghatároztuk a DNS minták pontos koncentrációját Qubit 2.0 készülék segítségével és a protokoll által meghatározott bemérendő DNS mennyiségnek megfelelően hígítottuk a mintákat. A könyvtárkészítést követően a kész könyvtárak minőségét Agilent 2100 Bioanalyzer készüléken High Sensitivity DNA Assay kittel, a koncentrációjukat Qubit 2.0 eszköz segítségével ellenőriztük. A megfelelő minőségű könyvtárakat ekvimoláris mennyiségben összemértük és hígítást követően az amplikon mindkét irányba történő szekvenálása (ciklus szám: 151-8-8-151) a MiSeq készüléken történt MiSeq Reagent Kit v2 (300-cycles) reagenssel. A teljes exom szekvenáláshoz történő könyvtárkészítés szintén az Agilent gyártó által előírt lépések szerint történt. A WES esetén a cluster generálás a cBot készüléken HiSeq PE Cluster Kit v4 kittel, a szekvenálás pedig a HiSeq SBS Kit v4 reagenssel az Illumina HiSeq 2500 platformon történt (Illumina, San Diego, CA, USA).

Intézetünkben, a rutin diagnosztikában 2019-től kezdődően a gold standardnak számító Sanger szekvenálást a *PSEN1*, *PSEN2*, *APP*, *MAPT* és *GRN* gének analízise esetén az újgenerációs szekvenálás váltotta fel. A könyvtárkészítés a QIAseq Targeted DNA Custom Panels kittel történik (QIAGEN, Hilden, Germany), a szekvenálás Illumina platformon a MiSeq Reagent Micro Kit v2 (300-cycles) reagenssel, minden esetben a gyártói protokoll szerint.

### **3.5.6 Bioinformatikai elemzés**

A nyers NGS adatok elsődleges elemzése a szekvenátorokon történik, az általuk előállított FASTQ fájlok minőségét a FastQC program segítségével ellenőriztük (63). Az adatok minőségi szűrése után, a szekvenciákat a GRCh37/hg19 referencia genomhoz illesztettük a BWA-MEM alapértelmezett paraméterei alapján (64). A VCF (Variant Call Format) fájlok előállítása a GATK Best Practices Guidelines alapján a GATK HaplotypeCaller (version 3.3-0) szoftver alkalmazásával történt (65). A VCF fájlok annotálását többek között az SnpEff szoftverrel (66), ClinVar adatbázissal (67),



populációs adatbázisokkal (Genome Aggregation Database - gnomAD v2.1 (68), 1000 Genomes Project (69)) és saját adatbázissal is elvégeztük.

Az annotált variánsok szűréséhez a Budapesti Műszaki Egyetem munkatársai által fejlesztett VariantAnalyzer programot használtuk. A detektált új, még nem leírt variánsok klasszifikálását az ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) által kiadott ajánlás alapján végeztük el (70). A lehetséges ritka, károsító variánsokat a különböző adatbázisok alapján történő szűréssel határoztuk meg. Ritka eltérésnek akkor tekintettünk egy variánst, ha a minor allél frekvenciája (MAF) nem haladta meg az 1%-ot. A MAF értékét különböző populációs adatbázisok alapján határoztuk meg: gnomAD v2.1, Exome sequencing project (ESP), 1000 Genomes Project (1KGP). A ritka nem-szinonim variánsok klasszifikációjához a Franklin (71) és a Varsome (72) programokat használtuk, melyek az ACMG kritériumrendszert alkalmazva 5 kategóriába sorolták az eltéréseket: benignus, valószínűleg benignus, bizonytalan jelentőségű variáns (VUS), valószínűleg patogén és patogén. Azokat a variánsokat, amelyek az ACMG alapján az utolsó 3 kategóriába tartoznak, vagy ismert klinikai jelentőséggel bírnak és a kontroll csoportban nem azonosítottuk ritka károsító variánsnak (rare damaging variant - RDV) minősítettük, valamint a dolgozat könnyebb érthetősége kedvéért a repeat expansziók jellemzésére is az RDV rövidítést használtuk. Ezeket az eltéréseket minden esetben megvizsgáltuk a családtagoknál is, amennyiben erre volt lehetőségünk.

### 3.5.7 Statisztika

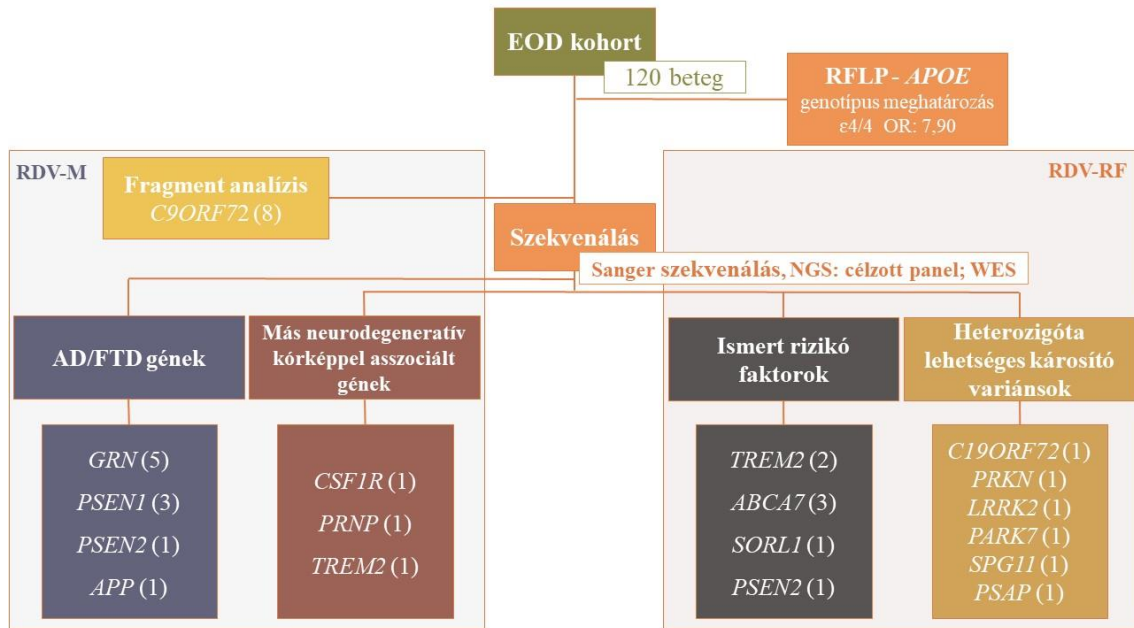
A kutatásban résztvevők jellemzőit leíró statisztikával összegeztük pl. az életkor a tünetek megjelenésekor, a betegek neme. A kvantitatív változók (AOO) leírására az átlag  $\pm$  standard eltérést (SD- standard deviáció) használtuk, míg a kategóriális változóknál elemszámot és arányt adtunk meg. A bináris logisztikus regresszió modell segítségével értékeltük a detektált RDV-k és az *APOE* egyes genotípusainak hatását a betegség kialakulására a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az esélyhányados (odds ratio - OR) és a 95%-os konfidencia intervallum (CI) számítását a MedCalc szoftverrel végeztük (73). A rizikófaktorkok statisztikai elemzése során a szignifikancia szintet  $p < 0.05$  -nél határoztuk meg. Az *APOE* gén esetén az EOD kohorton belül kialakított

alcsoporthoz (sporadikus, familiáris, meghatározott és ismeretlen genetikai etiológiájú) között is vizsgáltuk az  $\epsilon 4$  allél és  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotípus hatását a betegség kialakulására.

Megvizsgáltuk az egyes RDV típusok hatását a tünetek megjelenésének idejére. Az EOD kohortba tartozó betegeket 3 alcsoportra osztottuk a detektált variánsok alapján: 1. monogénes demenciát okozó RDV-t hordozó betegek (RDV-M pozitív  $n=20$ ); 2. lehetséges rizikófaktort hordozó páciensek (RDV-RF pozitív  $n=9$ ), 3. lehetséges károsító variánst nem hordozó beteg ( $n=90$ ). Az elemzésből a monogénes demenciát okozó RDV-t és rizikófaktor variánst együttesen hordozó páciens (P45) kizártuk. A 3 csoport AOO-jait ANOVA teszt segítségével hasonlítottuk össze.

#### 4 Eredmények

Vizsgálataink során az EOD kohortban Sanger és újgenerációs szekvenálások eredményeinek elemzése során 15 génben összesen 25 ritka károsító variánst (RDV) azonosítottunk. Ezen variánsok közül patogén eltérésként 10-et, valószínűleg patogénként 6-ot, VUS-ként 8-at és benignusként 1 variánst klasszifikáltunk az ACMG ajánlása szerint (3-7. táblázat). A detektált RDV-k alapján 13 beteg (10,8%) esetében azonosítottunk monogénes demencia formát. További 10 páciensnél (8,3%) azonosítottunk olyan RDV-eket, amelyek rizikófaktorként (RDV-RF) szerepet játszhattak a betegnél kialakult tünetek megjelenésében (4. ábra). A *C9ORF72* génben 8 páciensnél (6,7%) találtunk kóros számú hexanukleotid ismétlődést (4. táblázat). A teljes EOD kohortból így összesen 21 beteg (17,5%) sorolható a monogénes demencia alcsoportba. Az  $\alpha$ KGDH alegységeit kódoló gének (*OGDH*, *DLST*, *DLD*) esetén összesen három heterozigóta ritka misszensz variánst azonosítottunk (8. táblázat).

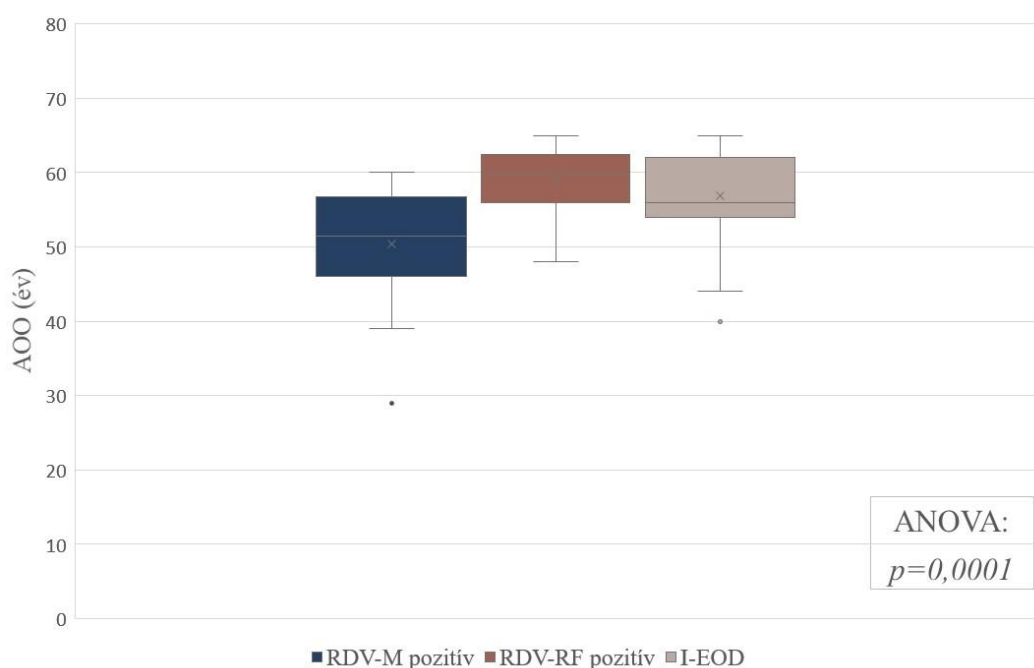


**4. ábra: Az EOD betegekben azonosított eltérések megoszlása szerepük és a vizsgálati módszer szerint**

Az ábrán a zárójelben lévő érték mutatja azon betegek számát, akik az adott génben RDV-t hordoznak. A talált variánsok a betegség kialakulásában játszott szerepük szerint is csoportosíthatóak: monogénes demenciát okozó eltérések (RDV-M, bal oldali négyzet) és rizikófaktoroként (RDV-RF, jobb oldali négyzet) klasszifikált variánsok. Rövidítésjegyzék: AD: Alzheimer-kór; EOD kohort: korai kezdetű demencia kohort; FTD: frontotemporalis demencia; NGS: újgenerációs szekvenálás; RDV: ritka károsító variáns; RDV-M: monogénes demenciát okozó ritka károsító variáns; RDV-RF: lehetséges rizikó faktornak számító ritka károsító variáns; RFLP: restriktív fragmenthossz polimorfizmus; WES: teljes exom szekvenálás. (Saját ábra.)

Az azonosított károsító eltérések, és a tünetek megjelenésének ideje közötti összefüggést ANOVA (varianciaanalízis - analysis of variance) teszttel vizsgáltuk (5. ábra). Az EOD kohortot a betegekben detektált eltérések alapján 3 alcsoportra osztottuk. Az első csoportba monogénes demenciát okozó ritka variánst (RDV-M) hordozó betegek (5. ábra: kék doboz) tartoztak, mind a tipikus AD és FTD eltéréseket, mind az elsődlegesen más neurodegeneratív kórképpel asszociált gének RDV-it hordozó pácienseket ide soroltuk. A második csoportot szintén további két részre oszthatjuk a páciensekben azonosított variáns szerint: a demencia háttérében ismert rizikó génekben detektált RDV-eket, illetve a recesszív neurodegeneratív kórképekkel asszociált

génekben detektált heterozigóta RDV-ket hordozó betegek (5.ábra: bordó doboz). A harmadik csoportba az ismeretlen genetikai etiológiájú demenciában szenvedő páciensek kerültek (5. ábra: I-EOD, szürke doboz). Az egyes csoportok közötti eltérés statisztikailag szignifikáns ( $p < 0,005$ ). A monogénes demenciában szenvedő betegek esetében a tünetek megjelenésének ideje mind a mediánt, mind az átlagéletkort tekintve alacsonyabb, mint a genetikailag nem meghatározott és a lehetséges rizikófaktorokat hordozó betegek esetén.



### 5. ábra: A genetikai etiológia elemzése a tünetek megjelenésének ideje szerint

Az elemzés a tünetek megjelenésének idejét (AOO) vizsgálja a genetikai meghatározottság függvényében. A legalacsonyabb átlag AOO a monogénes demencia kialakulásához vezető eltéréseket (RDV-M pozitív, kék) hordozó páciensek esetén figyelhető meg. A következő csoportba a vizsgált génekben eltérést nem hordozó, ismeretlen genetikai etiológiájú demens betegek tartoznak (I-EOD; szürke). Míg a legkésőbbi betegség indulást a rizikófaktorokat hordozó betegeknél (RDV-RF pozitív; bordó) figyelhetjük meg. Rövidítésjegyzék: AOO: életkor a tünetek megjelenésekor, I-EOD: ismeretlen genetikai etiológiájú demenciában szenvedő páciensek; RDV-M pozitív: monogénes demenciát okozó ritka károsító variánst hordozó beteg, RDV-RF pozitív: lehetséges rizikó faktornak számító ritka károsító variánst hordozó beteg. (Saját ábra.)

#### 4.1 Az azonosított monogénes demenciák

##### 4.1.1 A ritka károsító variánsok AD-vel vagy FTD-vel asszociált autoszomális domináns öröklésmenettel járó génekben

Az AD-vel vagy FTD-vel asszociált autoszomális domináns öröklésmenetű génekben 10 betegnél találtunk ritka kóroki eltérést (külön tárgyaljuk a kóros *C9ORF72* repeat expánzió által okozott monogénes formákat). A tünetek megjelenésekor az átlagéletkor  $49,31 \pm 9,1$  év volt. A családi anamnézisben 6 betegnél szerepelt demencia az elsőfokú rokonoknál. A variánsok adatait és a betegek jellemző klinikai tüneteit a 3. táblázatban gyűjtöttük össze. A variánsok közül 5 a ClinVar adatbázisban is szerepelt, mint patogén eltérés (*APP* p.V717F; *PSEN2* p.N141I; *GRN* c.708+1G>A; *GRN* p.S226WfsTer28; *GRN* p.R198Gfs\*19). További 4 eltérés a ClinVar adatbázisban ugyan nem szerepelt, de az ACMG kritériumok szerint patogén, vagy valószínűleg patogén (*GRN* c.264+2T>C; *PSENI* p.V89L; *PSENI* p.G206S; *PSENI* p.L166R).

A szakirodalomból ismert kóroki *APP* p.V717F eltérést egy esetben detektáltuk (P59) (74). A P59-es nőbeteg első neurológiai tünetei a negyvenes éveiben jelentek meg, a memóriaromlásával és a nyelvi készség komoly zavarával kezdődött betegsége. Később epilepsziás rohamok, myoclonus-szerű rángások, hypokinézis, bradykinézis és rigiditás is társult a tüneteivel. A variáns szegregációs vizsgálata alátámasztotta az autoszomális öröklésmenetet és kóroki szerepét. Az azonosított eltérést korábban már riportálták más AD betegeknek is, hasonló klinikai manifesztációval (75,76).

A *PSEN2* génben két esetben mutattunk ki AD-val asszociált variánst (1,67%). A P94-es betegnél az MRI eredmények és a klinikai kép alapján FTD-t diagnosztizáltak. A proband anyai nagymamája 59 évesen exitált demencia következtében, valamint anyai nagybátyjánál Alzheimer-kórt diagnosztizáltak, a proband édesanyja viszont 82 éves korában is korának megfelelő kognitív állapotban volt. A páciensnél a *PSEN2* p.N141I patogén eltérést azonosítottuk heterozigóta formában. A másik azonosított *PSEN2* eltérés a p.S130L (P73) szubsztitúció, amelyet korábban mint lehetséges rizikófaktor írtak le (77), így az esetet az RDV-RF csoportnál részletezzük.

A *GRN* c.708+1G>A splice variánst a P11 betegben azonosítottuk. A páciens betegsége 51 éves korában viselkedés-változással és beszédzavarral kezdődött. Négy és fél évvel az első tünetek után már súlyos aphasiája volt, valamint minden végtagra kiterjedő

izommerevsége és a jobb felső végtag gyengesége mellett súlyos dysphagia is kialakult a betegnél. Chiang és munkatársa (mtsai.) hasonló tüneteket írtak le a variánst hordozó pácienseknél (78).

A *GRN* gén egy ismert patogén variánsát (p.S226WfsTer28) a P117 betegben azonosítottuk. A férfi beteg tünetei 49 éves korában jelentkeztek. A páciens betegségét a viselkedésváltozás (amotiváció, depresszió), a beszédzavar és a súlyos kognitív hanyatlása miatt FTD-nek minősítették. Az agyi MRI-n frontális túlsúlyú atrophiat észleltek. Az azonosított p.S226WfsTer28 variánst számos FTD-vel és PPA-val diagnosztizált betegnél megfigyelték már (79–82).

A P89-es páciensnél 51 éves korában dysarthria; egyensúlyzavar; széles alapú járás; posturalis tremor és memória problémák jelentkeztek. Kezdetben a beteg viselkedése, személyisége nem változott, a tünetek megjelenésekor MoCa (Montreal Kognitív Felmérés) teszthe 27/30, másfél évvel később 23/30 volt. A klinikai kép alapján PD, spinocerebellaris ataxia (SCA), valamint a koponya MRI-n leírt kolibri jel jelenléte alapján PSP gyanúja is felmerült. Később személyisége is változott, a neuropszichológiai vizsgálat major neurokognitív zavart írt le prefrontális típusú funkciógyengességgel. A P89-es beteget az EOD kohortunk atípusos demencia al csoportjába soroltuk a klinikai kép alapján. Miután genetikai vizsgálattal kizártuk a gyakori SCA eltéréseket, egy az irodalomból ismert patogén deléciót (p.R198Gfs\*19) detektáltunk a *GRN* génben.

További két esetben találtunk még *GRN* RDV-eket, a *GRN* c.264+2T>C splice variánst két, nem rokon betegben is azonosítottuk. Mindkét esetben a tünetek hasonló életkorban alakultak ki, és a klinikai fenotípus túlnyomórészt megegyezett (pl.: aphasia, amotiváció, súlyos kognitív károsodás). Mindkét betegnél a domináns frontális lebeny atrophia mellett enyhe fehérállományi lesiót írtak le. Az eltérést már leírták FTD-vel és PPA-vel összefüggésben is (83,84) és az ACMG osztályozása alapján patogén, így kóroki mutációként riportáltuk.

A *PSEN1* p.V89L szubsztitúciót a P27 páciensnél detektáltuk. A nőbeteg tünetei 52 évesen jelentkeztek, rövidtávú memóriazavar és szorongás formájában. A koponya MRI és az elektroencefalogram (EEG) nem mutatott kóros eltérést. Később már sérült a verbális, képi és visuospatialis memóriája is, folyamatos progresszió volt megfigyelhető az exekutív funkciók területén is. A beteg édesapja 56 évesen súlyos EOAD miatt

exitált. Nővérének 53 éves korában depresszióval és memóriazavarral indult hasonló betegsége. A probandnál és a variánst szintén hordozó testvérénél a betegség lefolyása 8, illetve 13 év volt. A betegség tünetei és progressziója hasonló volt az irodalomban a variánssal korábban leírtakkal (85). Ochalek és munkatársai vizsgálták a P27 betegből származó iPSC (induced Pluripotent Stem Cell-indukált pluripotens őssejt) sejtvonalat és a kontroll sejtvonalakhoz képest emelkedett tau-foszforylációt és szignifikánsan eltérő  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  arányt találtak (86). A rendelkezésre álló adatok és predikációs szoftverek alapján az észlelt eltérést az ACMG valószínűleg patogén mutációnak minősítette.

A P31 beteget 39 évesen vizsgálták memóriazavar és tájékozódási zavar miatt, MMSE (Mini-Mental State Examination- Mini-Mental teszt) pontszáma ekkor 24/30 volt. Az EEG diffúz corticalis- szubkortikális funkciózavart észlelt a betegség indulásakor. A genetikai vizsgálatok során a *PSENI* génben a p.G206S eltérést detektáltuk, amely ACMG klasszifikációja szerint valószínűleg patogén. Két évvel a betegség kezdete után további tünetek jelentkeztek a páciensnél, többek között pszichotikus epizódok, kevert disszociatív- konverziós zavar, myoclonus, beszédzavar és apraxia. A liquor vizsgálatok során magas tau fehérje és alacsony amyloid- $\beta$  szintet találtak, ami szintén támogatja a *PSENI* variáns kóroki szerepét. A korábbi negatív MRI képhez képest, ekkor már a hippocampus kétoldali szimmetrikus atrophiaja volt megfigyelhető, hasonlóan más, ezzel a variánssal rendelkező betegek eredményeihez (87).

A P111 nőbetegben a *PSENI* p.L166R variánsát azonosítottuk, amely valószínűleg patogén elváltozásnak minősült az ACMG alapján. A páciensnél 35 éves korában spasticus paraparesis jelentkezett. Néhány évvel később dysarthria, majd anarthria, dysphagia, és súlyos kognitív hanyatlás alakult ki. Ekkor jelentkeztek először a páciens paranoid téveszméi és a súlyos depressziója. Az agyi MRI diffúz fehérállományi leziókat mutatott. A proband édesapjánál szintén spasticus paraparesissel indult a kórkép, a kognitív hanyatlás néhány évvel az első tünetek megjelenése után indult és a betegség lefolyása 10 év volt.



### 3. táblázat: Az azonosított ritka károsító variánsokkal asszociált monogénes demenciák

Rövidítésjegyzék: ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; AOO: életkor a tünetek megjelenésekor (age of onset); D: károsító (damaging); F: familiáris; ffi: férfi; het.: heterozigóta; LP: valószínűleg patogén; MAF: minor allél frekvencia (Non-neuro); össz. het.: összetett heterozigóta; P:patogén; Ref.: Referencia; S: sporadikus; VUS: bizonytalan jelentőségű variáns

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Gén	Variáns	Zigotitás	Klinikai jelentőség	ACMG	MAF	EOD kohort	Kontroll csoport	Ref.
P59	F	40	nő	súlyos rövidtávú memóriazavar; nyelvi képességek romlása, epilepsziás roham, myoclonus-szerű rángás, hypokinesis,	<i>APP</i>	p.V717F c.2149G>T rs63750264	het	P	P	-	1/120	0/137	(74)
P94	F	56	nő	memóriazavar, kognitív deficit	<i>PSEN2</i>	p.N141I c.422A>T rs63750215	het	P	P	-	1/120	0/137	(88)
P11	S	60	nő	viselkedésváltozás; súlyos aphasia; rigiditás; dysphagia	<i>GRN</i>	c.708+1G>A rs63749817	het	P/LP	P	-	1/120	0/137	(78)
P117	S	49	ffi	viselkedésváltozás, aphasia	<i>GRN</i>	p.S226WfsTer28 c.675_676delCA rs63751085	het	P	P	-	1/120	0/137	(79)

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Gén	Variáns	Zigotitás	Klinikai jelentőség	ACMG	MAF	EOD kohort	Kontroll csoport	Ref.
P89	S	51	ffi	dysarthria, posturalis tremor, rigor, széles alapú járás, kognitív deficit	<i>GRN</i>	p.R198Gfs*19 c.592_593del rs1555611136	het	P	P	-	1/120	0/137	(89)
P10	S	58	nő	súlyos kognitív deficit, aphasia, apathia, echolália	<i>GRN</i>	c.264+2T>C	het	D	LP	-	2/120	0/137	(78)
P46	F	59	ffi	súlyos kognitív deficit, aphasia, apathia,		-							
P27	F	52	nő	súlyos rövidtávú memóriazavar, szorongás, amnesztikus és exekutív funkciók zavara	<i>PSENI</i>	p.V89L c.265G>C -	het	D	LP	-	1/120	0/137	(85)
P31	S	39	nő	memóriazavar, dezorientáció, hallucinációk, pszichotikus epizódok, vegyes disszociatív-konverziós zavar, myoclonus, apraxia	<i>PSENI</i>	p.G206S c.616G>A rs63750569	het	D	LP	-	1/120	0/137	(87)
P111	F	45	nő	spasticus paraparesis, dysarthria, súlyos kognitív zavar, progresszív beszédzavar	<i>PSENI</i>	p.L166R c.497T>G rs63750265	het	D	LP	-	1/120	0/137	(90)

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Gén	Variáns	Zigozitás	Klinikai jelentőség	ACMG	MAF	EOD kohort	Kontroll csoport	Ref.
P56	S	52	ffi	memóriazavar, progresszív dysphagia, apraxia, tetrapyramidalis jelek, spasticitas, vizelet inkontinencia	<i>CSF1R</i>	c.2646_2654+6del -	het	D	P	-	1/54	0/137	-
P112	F	29	ffi	tanulási nehézség, koncentrációs problémák, járás- és beszédzavar	<i>PRNP</i>	7- OPRI	het	D	P	< 0,01	1/54	0/137	(91)
P14	S	51	ffi	viselkedésváltozás, memóriazavar, kevert aphasia, apathia, epilepsziás rohamok, rigor, nyugalmi tremor, vizelet inkontinencia	<i>TREM2</i>	p.R47C c.139C>T rs753325601 p.A105Rfs*84 c.313delG rs386834141	össz. het	D	VUS	< 0,01	1/54	0/137	(92)
								P	P	< 0,01	1/54	0/137	(93)

#### **4.1.2 A *C9ORF72* hexanukleotid repeat expanszió szerepe az egyes EOD csoportokban**

Az EOD kohortunkban 6,7%-ban, 8/120 esetben volt detektálható kóros hexanukleotid repeat expanszió (HRE). A patogén eltérést hordozó betegek átlagéletkora a tünetek megjelenésekor  $54,63 \pm 6,9$  év, pozitív családi anamnézis az esetek háromnegyedében volt megfigyelhető. A pozitív betegeknél 7 esetben az FTD-re jellemző tünetek mellett többek között parkinsonizmus (P45), hallucináció (P3, P24, P45) és motoneuron betegség tünetei is jelen voltak (4. táblázat). Egy beteg esetében (P45) korábbi NGS vizsgálat során RDV-RF (*TREM2* p.R47H) variánst is azonosítottunk.

**4. táblázat: A kóros C9ORF72 ismétlődés-számmal rendelkező betegek klinikai jellemzői**

Rövidítésjegyzék: AOO: életkor a tünetek megjelenésekor (age of onset); AtD: atípusos demencia, F: familiáris; ffi: férfi; FTD: frontotemporalis demencia; MND: Motorneuron betegség; S: sporadikus

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Klinikai diagnózis
P3	F	56	nő	memóriazavar, apathia, depresszió, exekutív funkciók zavara, hallucináció	FTD
P15	F	56	nő	memóriazavar, aphasia, paraphasia	FTD
P17	S	50	ffi	memóriazavar, aphasia, dyscalculia, téveszmék	AD
P24	S	40	nő	memóriazavar, szorongás, depresszió, hallucináció	AtD
P32	F	55	nő	memóriazavar, szorongás, depresszió	AD
P45	F	62	nő	súlyos kognitív hanyatlás, parkinsonizmus, hallucináció	FTD
P80	F	60	ffi	memóriazavar, aphasia, rigiditas-spasticitas, felső motoneuron károsodás tünetei	FTD/MND
P107	F	58	nő	memóriazavar, apathia	FTD

**4.1.3 Az egyéb neurodegeneratív kórképekkel asszociált gének károsító variánsai mint a monogénes demencia okai**

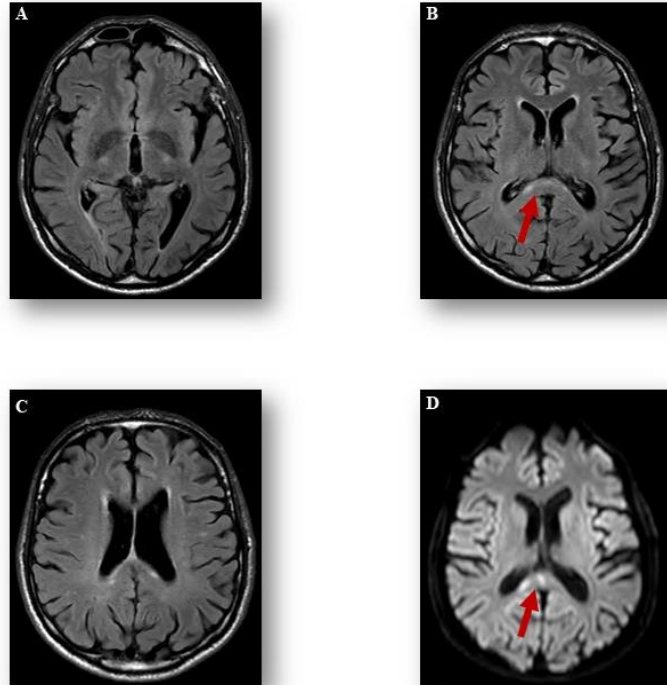
A célzott panel vizsgálatok során az EOD kohortunkban több olyan génben is találtunk eltérést, melyeket elsődlegesen monogénes formában más neurodegeneratív kórképek

hátterében írtak le. A *TREM2*, *CSF1R* (Colony Stimulating Factor 1 Receptor) és a *PRNP* (Prion protein) génekben az esetek 2,5%-ában találtunk összetett heterozigóta, illetve heterozigóta eltéréseket FTD-vel és AD-vel diagnosztizált betegeknél.

A *TREM2* gén heterozigóta RDV-it ugyan, mint lehetséges AD és FTD rizikófaktorokat is számontartják, de elsőként a Nasu-Hakola betegséggel (NHD) asszociálva írták le. A P14-es páciensünkben a *TREM2* gén két ritka variánsát (p.A105Rfs\*, p.R47C) azonosítottuk összetett heterozigóta formában (3. táblázat). A p.A105Rfs\* szubsztitúcióról korábban már beszámoltak NHD estén, mint valószínűleg patogén variáns homozigóta formában (93). A p.R47C eltérés az ACMG szerint VUS, de korábban biállélikus formában leírták mint kóroki variánst egy csontciszta nélküli FTD páciensnél (92). Betegünk (P14) tünetei 51 éves korában kezdődtek a viselkedés változásával, apathiával, depresszióval, anhedóniával, majd a rövidtávú memória enyhe zavarával. Három évvel a tünetek megjelenése után jelentkezett az első epilepsziás rohama, az MRI kép alapján ekkor súlyos kétoldali hippocampalis és corticalis atrophiat írtak le. Néhány évvel később az absztrakt gondolkodás és beszéd is súlyosan érintett lett, a demencia megjelenése után 5 évvel már kevert típusú aphasia is kialakult a betegnél. Az irodalmi adatok és a detektált variánsok klasszifikációja alapján feltételezzük, hogy a *TREM2* génnel összefüggő monogénes betegség áll a páciens tüneteinek hátterében.

Két EOD-s családnál olyan autoszomális domináns öröklésmentű génekben találtunk ritka heterozigóta patogén eltérést, amelyek más neurodegeneratív kórképekkel asszociáltak. A P56-os beteg klinikai diagnózisa FTD volt, a páciens tüneteinek 52 évesen kezdődtek szótalálási nehézséggel és memóriazavarral, valamint az agyi MRI enyhe aszimmetrikus frontális lebeny atrophiaról számolt be. Két évvel a betegség indulása után progresszív dysphagia, apraxia, tetrapiramidális tünetek, spasticitas és inkontinencia alakult ki. Az FTD hátterében ismert gyakori gének elemzésének negatív eredménye után a célzott panel vizsgálat során a *CSF1R* génben a c.2646\_2654+6del ritka variánst detektáltuk. A *CSF1R* gén a kolóniastimuláló faktor-1 receptort kódolja és patogén variánsai az autoszomális domináns öröklésmentű felnőttkori axonális spheroidokkal és pigmentált gliával járó leukoencephalopathia (ALSP) kialakulásához vezetnek. A c.2646\_2654+6del eltérést az ACMG alapján patogén variánsként klasszifikáltuk. A genetikai eredmény fényében újraértékeljük az agyi MRI képeit (6.

ábra), melyeken enyhe kétoldali fehérállományi elváltozás is látható volt. A betegnél leírt tünetek és a képalkotó revidált eredménye megfelel az irodalomban korábban leírt *CSFIR* asszociált leukoencephalopathiának (94).



**6. ábra: A P56-os beteg MRI képe**

*Periventricularisan, illetve subcorticalisan diszkrét, elszórt fehérállományi aspecifikus laesiók. A splenium corporis callosiban szintén ábrázolódik két T2/FLAIR jelfokozott laesio, amelyek a diffúziós képeken gátolt diffúziót mutatnak (nyilak). A,B,C: FLAIR; D: diffúzió-súlyozott MRI. (Saját ábra.)*

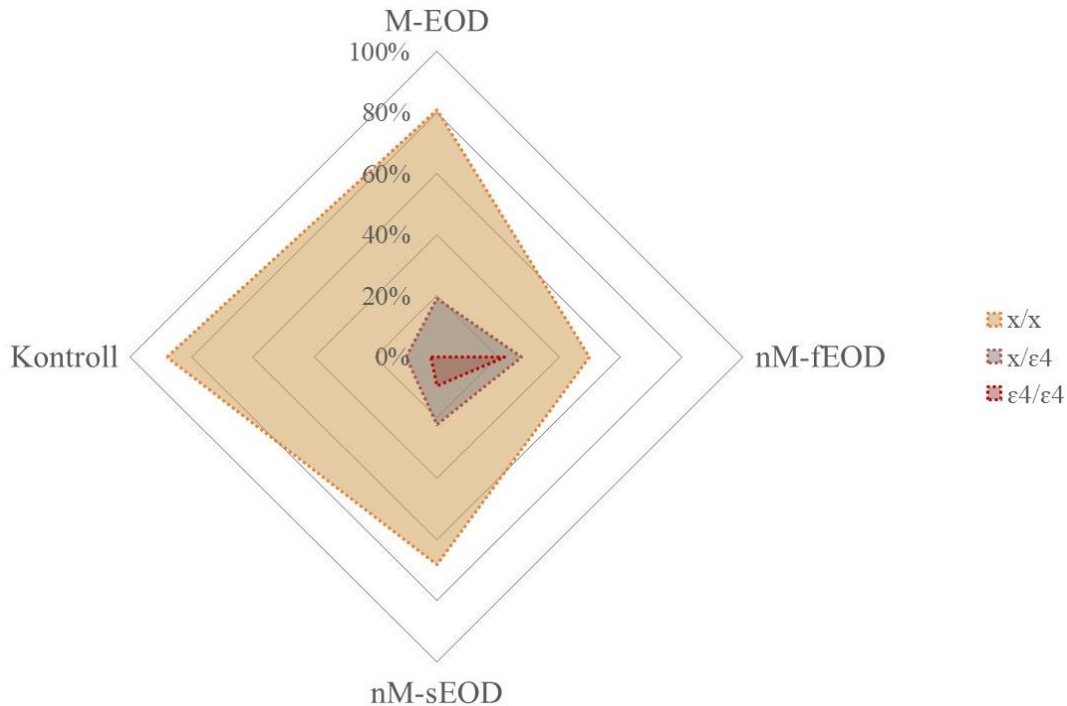
A CJD-vel asszociált *PRNP* génben egy 7-oktapeptidből álló repeat inszerciót azonosítottunk a P112-es betegben. A proband tünetei 29 évesen kezdődtek tanulási és koncentrálási nehézségekkel és járászavarral. Néhány évvel később beszédromlást figyeltek meg nála. Az MRI képeken diffúz atrophia volt látható, az EEG pedig nem detektált prion betegségre specifikus eltérést. A páciens édesapjának kognitív hanyatlása 40 éves korában kezdődött, 3 évvel a betegség kezdete után már súlyos demenciában szenvedett és 50 éves korában exitált. A beteg bátyjánál 33 éves korában szintén hasonló tünetek jelentkeztek. A probandnál és családtagjainál megfigyelhető demencia és a betegség lassú progressziója megegyeznek a *PRNP* 168 bázispáros (bp) inszerciója esetén korábban riportáltakal (91,95,96).

## 4.2 Az AD-val asszociált genetikai rizikófaktorok gyakoriságának vizsgálata

Kutatásunk során elemeztük az EOD kohortunkban az AD legerősebb rizikófaktoraként ismert *APOE*  $\epsilon 4$  allél gyakoriságát (49) és a GWAS vizsgálatok által a betegséggel asszociált további gének (*ABCA7*, *SORL1*, *TREM2*) ritka variánsainak szerepét a korai kezdetű demenciában.

Az *APOE* elemzése során azt találtuk, hogy mind heterozigóta  $\epsilon 4$  allél, mind a  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotípus dúsul a beteg populációban a kontroll csoporthoz képest. Az esélyhányados a teljes EOD kohortot tekintve egyetlen  $\epsilon 4$  allél esetén 3,16 (95%CI=1,44-6,92;  $p=0,004$ ), míg  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotípus esetén OR:7,90 (95%CI=1,74-35,84;  $p=0,0074$ ). Külön az EOAD alcsoportot vizsgálva két  $\epsilon 4$  allél esélyhányadosa jelentősen magasabb, OR: 16,29 (95%CI=3,36-78,98;  $p=0,0005$ ). Továbbá megvizsgáltuk az *APOE*  $\epsilon 4$  allél eloszlását a különböző EOD alcsoportok között is. Első lépésként felosztottuk a kohortot monogénes demenciában szenvedő (M-EOD) és RDV-M eltérést nem hordozó páciensek csoportjára, majd utóbbi betegeket a családi anamnézis szerint további két részre osztottuk: nem monogénes sporadikus EOD (nM-sEOD) és nem monogénes familiáris EOD (nM-fEOD) csoport. A 7. ábrán látható radardiagram jól szemlélteti, hogy a  $\epsilon 4$  allélt nem hordozó egyének ( $x/x$  genotípus és  $x \neq \epsilon 4$ ) száma a kontroll csoport (88%) mellett a monogénes EOD (81%) és a nM-sEOD (68%) csoportokban dúsul, míg a homozigóta  $\epsilon 4$  allél a nem monogénes familiáris EOD (nM-fEOD) betegeknél a leggyakoribb. Egy darab  $\epsilon 4$  allélt hordozó egyének esetén csak az EOD és kontroll csoport között szignifikáns a különbség, a betegcsoportok kis különbséggel követik egymást: nM-fEOD (28%); nM-sEOD (22%); M-EOD (19%).





**7. ábra: Az APOE  $\epsilon 4$  allél gyakorisága az egyes EOD alcsoportokban és a kontroll csoportban**

A radardiagramon látható, hogy az APOE  $\epsilon 4$  allél előfordulási gyakoriságában szignifikáns különbség figyelhető meg az egészséges egyének és a különböző EOD páciensek között is. A  $\epsilon 4$  allélt nem hordozó egyének, azaz az  $x/x$  genotípus ( $x \neq \epsilon 4$ ) gyakorisága a kontroll csoportban és a monogénes EOD (M-EOD) csoportban szinte megegyezik és jelentősen magasabb, mint a nem monogénes EOD csoportok esetén. Az egy darab  $\epsilon 4$  allél ( $x/\epsilon 4$ ) jelenlétét vizsgálva csak a kontroll és a beteg populáció között figyelhető meg nagymértékű különbség, míg két darab  $\epsilon 4$  allél ( $\epsilon 4/\epsilon 4$ ) gyakorisága a nem monogénes familiáris (nM-fEOD) és sporadikus EOD (nM-sEOD) esetén szignifikánsan magasabb, mint az M-EOD és a kontroll csoport esetén. Rövidítésjegyzék: M-EOD: monogénes korai kezdetű demencia, nM-fEOD: nem monogénes familiáris korai kezdetű demencia, nM-sEOD: nem monogénes sporadikus korai kezdetű demencia;  $x/x$ :  $\epsilon 4$  allél-t nem hordozó egyén,  $x/\epsilon 4$ : egy darab  $\epsilon 4$  allélt hordozó egyén. (Saját ábra.)

Az ABCA7, SORL1, TREM2 génekben 5 lehetséges RDV-t azonosítottunk, ezeket az eltéréseket a kontroll csoportban nem detektáltuk. A variánsokat hordozó 6 beteg átlagéletkora a tünetek megjelenésekor  $61,00 \pm 4,24$ , és az esetek felében a családi anamnézis pozitív volt. Az eltéréseket hordozó betegek klinikai jellemzőit és a variánsok adatait az 5. táblázat mutatja be. Az ABCA7 génben 2 ritka heterozigóta

misszensz (p.R1228C –P26, p.D1957Y – P35) és egy ritka nonszensz (p.Y750\* - P75) variánst azonosítottunk. A P33-as páciensben a *SORL1* p.K2044R szubsztitúciót detektáltuk, amely nem szerepel a gnomAD adatbázisban, és a saját kontroll csoportunk genetikai analízise során sem detektáltuk. Kevés információ áll rendelkezésre az azonosított *ABCA7* és *SORL1* variánsokról, azonban ezek alapján az eltérések hozzájárulhatnak az AD kialakulásának kockázatához. A *TREM2* p.R47H régóta ismert mint demencia rizikófaktor (54,97). A magyar kohortban két betegben azonosítottuk (P45, P71), a P45 betegnél a későbbi fragment analízis során kóros *C9ORF72* repeat expenziót is detektáltunk.

A *PSEN2* misszensz eltérései a *PSENI* variánsai után a leggyakoribb kóros eltérések monogénes EOAD-ban. Azonban a kohortunkban detektált *PSEN2* p.S130L szubsztitúció VUS és az eddigi adatok alapján inkább a lehetséges rizikófaktorok közé sorolhatjuk. A p.S130L szubsztitúciót a P73-as betegben azonosítottuk, akinek az első tünetei 59 éves korában jelentkeztek viselkedésváltozás, dezorientáció és depresszió képében. Később súlyos aphasia, rövid- és hosszútávú memória romlása és intenciós tremor is kialakult. A proband édesanyja és egyik nővére is kognitív zavarokkal küzdött, másik nővére 61 évesen exitált súlyos szellemi leépülés következtében. Bátyja vizsgálatunkkor 71 éves volt, egészséges és nem hordozta az eltérést. A variáns szerepe a tünetek kialakulásában azonban megkérdőjelezhető, mivel az eltérés megítélése a szakirodalomban is ellentmondásos, továbbá az ACMG klasszifikációs kritériumai alapján is csak VUS. Ennél a páciensnél további AD genetikai rizikóként a *HFE* gén p.H63D variánsát (MAF: 14,4) és *APOE*  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotípust is azonosítottuk. Feltételezzük, hogy a ritka *PSEN2* variáns és a társuló egyéb genetikai rizikótényezők együttes jelenléte szerepet játszik a klinikai kép kialakításában.

**5. táblázat: Az AD asszociált gének ritka károsító variánsait hordozó betegek**

Rövidítésjegyzék: ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; AOO: életkor a tünetek megjelenésekor (age of onset); B: benignus; D: károsító (damaging); F: familiáris; ffi: férfi; het.: heterozigóta; Klinikai jel: Klinikai jelentőség; MAF: minor allél frekvencia (Non-neuro); Ref.: Referencia; RF: rizikófaktor; S: sporadikus; VUS: bizonytalan jelentőségű variáns

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Gén	Variáns	Zigotizás	Klinikai jel.	ACMG	MAF	EOD kohort	Kontroll csoport	Ref.
P45	F	62	nő	súlyos kognitív zavar, parkinsonizmus, hallucináció	<i>TREM2</i>	p.R47H c.140G>A	het	RF	B	0.025	2/54	0/137	(54)
P71	S	53	ffi	memória zavar, dezorientáció, exekutív funkciók zavara		rs75932628							
P26	F	65	nő	viselkedés változás, kevert aphasia, vizuospatialis zavar	<i>ABCA7</i>	p.R1228C c.3682C>T rs201115102	het	D	VUS	< 0.01	1/54	0/137	-
P35	S	61	ffi	rövidtávú memória zavar, vizuospatialis zavar, discalculia, apraxia	<i>ABCA7</i>	p.D1957Y c.5869G>T -	het	D	VUS	-	1/54	0/137	-

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Gén	Variáns	Zigotitás	Klinikai jel.	ACMG	MAF	EOD kohort	Kontroll csoport	Ref.
P75	S	61	ffi	súlyos kognitív zavar, vertikális tekintésbénulás, rigor, ataxia	<i>ABCA7</i>	p.Y750* c.2250C>A rs757657653	het	D	LP	< 0.01	1/54	0/137	(98)
P33	F	64	ffi	kognitív deficit, vizuospatialis zavar	<i>SORLI</i>	p.K2044R c.6131A>G	het	D	VUS	-	1/54	0/137	-
P73	F	59	nő	kognitív deficit, memóriazavar, aphasia, intenciós tremor	<i>PSEN2</i>	p.S130L c.389C>T rs63750197	het	D	VUS	-	1/120	0/137	-

### 4.3 Neurodegeneratív kórképekkel asszociált autoszomális recesszív öröklésmenetű génekben detektált heterozigóta károsító variánsok elemzése

Az újgenerációs vizsgálatok során számos olyan génben azonosítottunk ritka, lehetséges RDV-eket, amelyek az irodalmi adatok szerint más neurodegeneratív kórképekkel asszociáltan ismertek. A teljes beteg kohort 3,3%-ában, azaz 4 páciens (P35, P50, P52, P81) esetében detektáltunk PD-hez, NBIA-hoz (neurodegeneráció agyi vasfelhalmozódással), ALS-hez vagy MLD-hez (metachromasiás leukodystrophia) társított recesszív öröklésmenetű génben heterozigóta eltérést. Az eltéréseket nem azonosítottuk a kontroll csoportban valamint a *PRKN* (parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase) p.T240M, *SPG11* (SPG11 vesicle trafficking associated, spatacsin) p.V2053M, *PSAP* (Prosaposin) p.E108V variánsok kivételével nem szerepeltek a gnomAD adatbázisban sem. Azoknál a betegeknél, akiknél PD génben találtunk lehetséges kóroki variánsot a PD-re jellemző tünetek is szerepeltek a klinikai képben a kognitív hanyatlás, a viselkedésváltozás vagy a depresszió mellett.

A P81-es betegben egyetlen RDV-t tudtunk detektálni, a *PRKN* p.T240M szubsztitúciót, amelyet már több esetben is azonosítottak PD-s betegek kóroki mutációjaként biallélikus formában. Betegünk klinikai tünetei szorongással, kognitív hanyatlással, bradykinesiával és viselkedészavarral kezdődtek. Egy éven belül a piramispálya érintettségre utaló tünetek is jelentkeztek, izomgyengeség nélkül.

A P52-es páciensnél az első tünet a negyvenes éveiben kezdődő depresszió volt, majd 7 évvel később indult a kognitív zavara. A betegsége lassú lefolyású volt. Az agyi MRI mérsékelt kétoldali fehérállományi elváltozásokat észlelt. Édesanyjánál és anyai nagymamájánál is depressziót és demenciát véleményeztek. Egyik testvére öngyilkos lett, másik testvérénél szintén demencia tünetei jelentkeztek. A betegben azonosított heterozigóta *PSAP* p.E108V variáns az ACMG klasszifikáció szerint VUS.

**6. táblázat: Heterozigóta ritka károsító variánsok, amelyek más autoszomális recesszív öröklésű neurodegeneratív kórképekkel asszociáltak**

Rövidítésjegyzék: ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; AOO: életkor a tünetek megjelenésekor (age of onset); AR: autoszomális recesszív; AutD: autoszomális domináns; D: károsító (damaging); F: familiáris; ffi: férfi; het.: heterozigóta; LP: valószínűleg patogén; MAF: minor allél frekvencia (Non-neuro); Öröklésm.: öröklésű; P: patogén; Ref.: Referencia; S: sporadikus; VUS: bizonytalan jelentőségű variáns

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Gén	Variáns	Zigotizás	Klinikai jelentőség	ACMG	MAF	Öröklésm.	EOD kohort	Kontroll csoport	Ref.
P50	F	60	ffi	rövidtávú memóriazavar; parkinsonizmus, prefrontális tünetek	<i>C19ORF12</i>	p.P60A c.178C>G -	het	D	LP	-	AR, AutD	1/54	0/137	-
P81	S	59	ffi	viselkedésváltozás, szorongás	<i>PRKN</i>	p.T240M c.719C>T rs137853054	het	CIoP	P	< 0.01	AR	1/54	0/137	(99)
P35	S	61	ffi	rövidtávú memóriazavar, visuopatis funkciózavar, dyscalculia, apraxia	<i>LRRK2</i>	p.A1862V c.5585C>T -	het	D	VUS	-	AutD	1/54	0/137	-

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Gén	Variáns	Zigozitás	Klinikai jelentőség	ACMG	MAF	Öröklésm.	EOD kohort	Kontroll csoport	Ref.
P50	F	60	ffi	rövidtávú memóriazavar; parkinsonizmus, prefrontális tünetek	<i>PARK7</i>	p.Ile91_Leu92fs c.273_274insA -	het	D	P	-	AR	1/54	0/137	-
P35	S	61	ffi	rövidtávú memóriazavar, visuospatilis funkciózavar, dyscalculia, apraxia	<i>SPG11</i>	p. V2053M c.6157G>A rs149003934	het	VUS	VUS	< 0.01	AR	1/54	0/137	(100)
P52	F	48	nő	depresszió, memóriazavar	<i>PSAP</i>	p.E108V c.323A>T rs763295469	het	D	VUS	< 0.01	AR	1/54	0/137	-

Két páciens esetében több heterozigóta lehetséges RDV-t is azonosítottunk. A P50-es beteg tünete 60 éves korában kezdődtek, a családi anamnézise pozitív és a genetikai analízis során a *C19ORF12* (Chromosome 19 Open Reading Frame 12) és a *PARK7* (Parkinsonism associated deglycase) génben is találtunk egy-egy ritka variánst (*C19ORF12* p.P60A; *PARK7* p.Ile91\_Leu92fs). Az eltéréseket korábban nem írták le, és a rendelkezésre álló bizonyítékok alapján az ACMG valószínűleg patogénnek illetve patogénnek minősítette őket. A páciens tünete közül kiemelendő a parkinsonizmus, a rövidtávú memóriazavara, a prefrontális tünetek és a térbeli dezorientáció, amelyeket magyarázhat ezen variánsok együttes előfordulása.

A P35-ös férfibetegnél kognitív deficitet, térlátászavart, tükörmozgást, prefrontális tüneteket, tremort és Bálint-szindrómát írták le a hatvanas évei elején. A családi anamnézise negatív volt. Az agyi MRI szimmetrikus temporális lebeny atrophiat mutatott. Esetében három RDV-t azonosítottunk: *ABCA7* p.D1957Y, *LRRK2* (leucine rich repeat kinase 2) p.A1862V és az *SPG11* p.V2053M. A betegek klinikai tüneteit és a variánsok adatait a 6. és a 7. táblázat foglalja össze.



**7. táblázat: A több ritka potenciálisan károsító variánst hordozó beteg klinikuma és genetikai eredménye**

Rövidítésjegyzék: ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; AOO: életkor a tünetek megjelenésekor (age of onset); AR: autoszomális recesszív; AutD: autoszomális domináns; D: károsító (damaging); F: familiáris; ffi: férfi; het.: heterozigóta; LP: valószínűleg patogén; MAF: minor allél frekvencia (Non-neuro); Öröklésm.: öröklésmenet; P: patogén; Ref.: Referencia; RF: rizikófaktor; S: sporadikus; VUS: bizonytalan jelentőségű varián

Beteg azonosító	Forma	AOO	Nem	Tünetek	Gén	Variáns	Zigotitás	Klinikai jelentőség	ACMG	MAF	Öröklésm.	EOD kohort	Kontroll csoport	Ref.
P50	F	60	ffi	rövidtávú memóriazavar; parkinsonizmus, prefrontális tünetek	<i>C19ORF12</i>	p.P60A c.178C>G	het	D	LP	-	AR, AutD	1/54	0/137	-
					<i>PARK7</i>	p.Ile91_Leu92fs c.273_274insA	het	D	P	-	AR	1/54	0/137	-
P35	S	61	ffi	rövidtávú memóriazava, visuospatialis zavar, dyscalculia, apraxia	<i>ABCA7</i>	p.D1957Y c.5869G>T	het	D	VUS	-	AutD	1/54	0/137	-
					<i>LRRK2</i>	p.A1862V c.5585C>T	het	D	VUS	-	AutD	1/54	0/137	-
					<i>SPG11</i>	p.V2053M c.6157G>A rs149003934	het	VUS	VUS	< 0.01	AR	1/54	0/137	(100)

Az  $\alpha$ KGDH alegységeit kódoló gének vizsgálata során összesen 5 misszensz variánst detektáltunk. A kontroll csoport bővítése mellett a beteg csoportban azonosított eltérések reklassifikációját is elvégeztük. Az  $\alpha$ KGDH 1. alegységét kódoló *OGDH* génben kettő benignus, vagy valószínűleg benignus és egy ritka valószínűleg patogén eltérést azonosítottunk. A 2. alegységet kódoló *DLST* és a 3. alegységet kódoló *DLD* génben pedig egy-egy misszensz variánst találtunk, melyek az ACMG klasszifikáció szerint benignus illetve VUS eltérésnek minősültek (8.táblázat). A kontroll csoport vizsgálata során az *OGDH* génben találtuk a legtöbb eltérést (23 szinonim és 6 misszensz variáns), a *DLST* génben két misszensz variánst, a *DLD* génben pedig 10 eltérést azonosítottunk (9 szinonim, 1 misszensz variáns). A beteg kohortban azonosított *DLST* p.P204L eltérés ACMG klasszifikációja az elmúlt évben benignusra változott, a klinikai jelentőségét tekintve korábban sem ítéltük károsítónak a kontroll csoportban lévő magas előfordulási gyakorisága miatt. Az *OGDH* p.P471H eltérés az ACMG szerint valószínűleg patogén, a populációs adatbázisokban nem szerepel, valamint a kontroll csoportban sem azonosítottuk. A *DLD* p.R263H VUS eltérést egy 64 évesen exitált AD-s beteg agyszövetében detektáltuk. A variáns allél gyakorisága a populációs adatbázisokban nagyon alacsony (ExAC 0,0007, 1000G 0,0004, GnomAD 0,0008), a kontroll csoportban nem azonosítottuk. Az irodalomban eddig egy súlyos primer mitochondriális betegnél (CLA - congenital lactic acidosis) írták le. Az azonosított variánsok adatai a 8. táblázatban találhatóak, a variánsoknál a különböző agyi régiók vizsgálata során nem találtunk eltérést.

**8. táblázat: Az *aKGDH* alegységeit kódoló génekben detektált misszensz eltérések**

Az ACMG klasszifikációk közül félkövér, dőlt formázással jelöltük az elmúlt időszakban változott besorolásúakat. Rövidítésjegyzék: ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; AD kohort: Alzheimer-kórral diagnosztizált betegek; B: benignus; CIoP: Conflicting interpretations of pathogenicity- patogenitás szempontjából ellentmondásos; LB: valószínűleg benignus MAF: minor allél frekvencia (Non-Neuro); Ref.:Referencia

Gén	Variáns	Variáns típusa	Klinikai jelentőség	ACMG	MAF	AD kohort	Kontroll	Ref
<i>OGDH</i>	c.164 C>T p. S55L	misszensz	B	LB	1.07%	2/46	4/134	-
	c.1412 C>A P471H	misszensz	D	<b>LP</b>	-	1/46	0/134	-
	c.3052 G>A V1018I	misszensz	B	B	5.05%	2/46	12/134	-
<i>DLST</i>	c.611 C>T P204L	misszensz	B	<b>B</b>	2.27%	1/46	4/134	-
<i>DLG</i>	c.788 G>A R263H	misszensz	<b>CiOP</b>	VUS	≤0.01	1/46	0/134	(101)

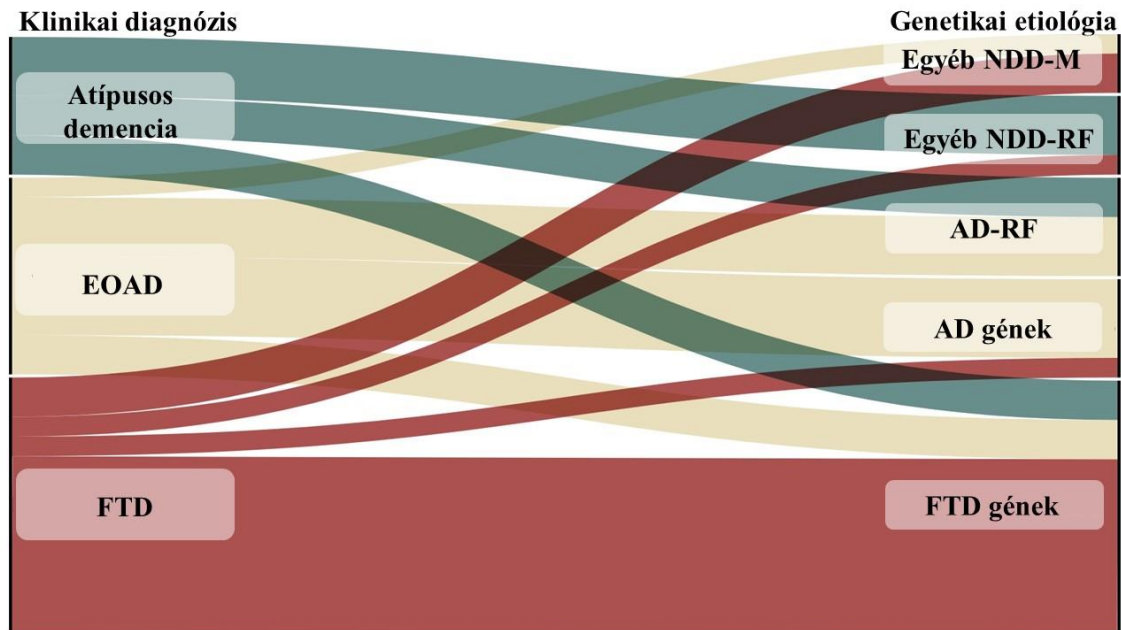
## 5 Megbeszélés

Magyarországon elsőként térképeztük fel a korai kezdetű demencia genetikai hátterét. Monogénes etiológiát a kohort 17,5%-ában azonosítottunk, a leggyakoribb örökletes demencia formák (*C9ORF72*; *GRN*, *PSEN1*; *PSEN2*; *APP* asszociált) ennek 85,7%-át tették ki. A *C9ORF72* génben 8 esetben találtunk kóros hexanukleotid repeat expanziót, egyéb FTD, vagy AD asszociált génekben 10 esetben detektáltunk monogénes RDV-t. További 3 esetben korábban egyéb demenciával társuló kórképpel asszociált génekben (*TREM2*; *CSF1R*; *PRNP*) találtuk meg a páciensnél kialakult klinikai kép genetikai okát. Kiemelendő, hogy az esetek 33,3%-ában a klinikai tünetek és képalkotók alapján született diagnózis szerint elvégzett targetált, egy génre fókuszáló szekvenálás nem vezetett eredményre (8. ábra). Ezt a jelenséget magyarázhatja, hogy bár az egyes demencia típusokat különféle klinikai megjelenési formák jellemzik, mégis számos fenotípusos átfedés és patológiai hasonlóság figyelhető meg közöttük. Mindemellett a különféle demenciák és egyéb neurodegeneratív kórképek (Parkinson-kór, Huntington-kór, ALS) esetén is található átfedő fenotípus jegyeket. A vizsgálatunk során azonosított eltéréseket összevetve a klinikai kép alapján feltételezett diagnózisokkal szintén azt tapasztaltuk, hogy számos esetben más demenciával járó kórképpel asszociált génben detektáltunk kóros variánst, vagy erős genetikai rizikófaktort (8. ábra). Fontos megjegyezni, hogy tovább nehezíti a megfelelő genetikai teszt kiválasztását a pleiotrópia jelensége, mely szerint egy adott gén hibái számos különféle, egymástól nagymértékben eltérő klinikai megjelenéshez is vezethetnek.

A fent említett nehézségek mindegyikére található példát a magyar kohortban. Jól szemlélteti ugyanazon gén hibáinak különböző fenotípusos manifesztációját, valamint a neurodegeneratív kórképek közötti átfedő fenotípust a patogén *GRN* variánst hordozó pácienseink esete. Többségüknél az FTD-re jellemző tipikus tünetek jelentkeztek (P10; P11; P46; P117), azonban egy esetben (P89) a betegnél a széles alapú járás, a tremor és a rigor volt a domináns tünetegyüttes, így a klinikai kép alapján Parkinson-kórra gondolt a kezelőorvos.

Eredményeink egyértelműen rávilágítanak az átfogó genetikai vizsgálatok előnyeire, miszerint ha egyidejűleg elemezzük a jelenlegi tudásunk szerinti összes neurodegenerációval asszociált gént az nagymértékben felgyorsíthatja a pontos genetikai diagnózis felállítását. A nagy áteresztőképességű genetikai vizsgálatokat

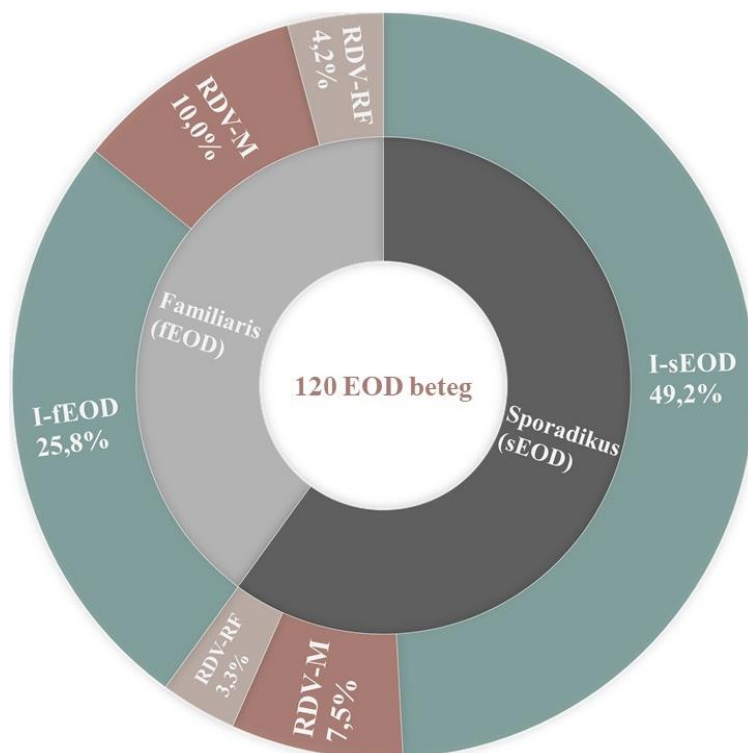
követő fenotípus-genotípus korrelációelemzés pedig feltárhat újabb átfedéseket és összefüggéseket az egyes neurodegeneratív kórképek között, amelyeket ezen adatok alapján akár egyetlen betegség spektrumaként is kezelhetünk, mintsem élesen elhatárolódó külön entitásokként (2).



**8. ábra: A klinikai diagnózis és a genetikai etiológia közötti eltérések az EOD kohortban**

Egyes EOD betegek esetén a klinikai kép alapján megállapított diagnózis (bal oldali beosztás) nem egyezik meg a náluk azonosított ritka károsító variánssal (RDV) elsődlegesen asszociált betegségekkel (jobb oldali beosztás). Az ábra az RDV-t hordozó 30 EOD beteg adatai alapján készült, a vonalak mutatják az egyes diagnózis szerinti csoportok közötti kereszteződést, a vonalak vastagsága pedig korrelál az adott csoportokban lévő betegek számával. Monogénes demenciát okozó más neurodegeneratív kórképpel asszociált gének (Egyéb NDD-M) közé azokat soroltuk, amelyeket elsődlegesen nem AD-vel, vagy FTD-vel társulnak viszont megjelenik a demencia, mint tünet és a detektált variáns zigozitása megfelel a gén öröklésmenetének (CSF1R; TREM2, PRNP). A lehetséges rizikófaktorokat további két csoportba osztottuk: egyrészt az AD háttérben már leírt génekben detektált eltérések (ABCA7, TREM2, SORL1), másrészt a recesszív öröklésmenetű egyéb NDD-vel asszociált génekben detektált heterozigóta RDV-k (Egyéb NDD-RF: LRRK2, PARK7, PRKN, PSAP). A tipikus AD (PSEN1, PSEN2, APP) és FTD gének (GRN, C9ORF72) esetén is megfigyelhető, hogy az elsődleges diagnózistól eltérő csoportban azonosítottuk a kóroki eltérést. A diagram a RAWGraphs platform segítségével készült (102). Rövidítésjegyzék: Egyéb NDD-M: monogénes demenciát okozó más neurodegeneratív kórképpel asszociált gének (nem AD/FTD gén); Egyéb NDD-RF: lehetséges rizikófaktor, mely egyéb neurodegeneratív kórképpel asszociált (nem AD/FTD gén); EOAD: korai kezdetű Alzheimer-kór; FTD: frontotemporalis demencia. (Saját ábra.)

Kutatásunk során az azonosított RDV-eket, illetve a találati arányt megvizsgáltuk a betegek családi anamnézisének tükrében is (9. ábra). A teljes EOD kohort 60%-a sporadikus alcsoportba (sEOD) tartozott, azaz nem fordult elő a családjukban demencia, vagy nem állt rendelkezésre ilyen jellegű adat. Az sEOD betegek 18,1%-ában detektáltunk RDV-t, míg a pozitív családi anamnézissel rendelkező betegeknél (fEOD alcsoport) 35,4%-ában. Az RDV-eket tovább bontottuk a betegség kialakulásában játszott szerepük szerint: monogénes demenciát okozó RDV-k (RDV-M), lehetséges rizikófaktorok (RDV-RF). Ahogy várható volt a familiáris demenciák esetén nagyobb arányban detektáltunk RDV-M-t (25%), de a sporadikus esetek 12,5%-ában is monogénes okot azonosítottunk a betegség hátterében. Hasonló arányt írtak le Lacour és mtsai. egy francia kohortot vizsgálva (103). A monogénes etiológiájú sporadikus esetek magyarázata lehet: (1.) a de novo variánsok, (2.) a betegség autoszomális recesszív öröklődése (P14-*TREM2*) és (3.) a kevés rendelkezésre álló információ (pl. a szülők korai halála) (40,103).



**9. ábra: A ritka károsító variánsok eloszlása az EOD kohortban a családi anamnézis tükrében**

Kohortunkban a sporadikus EOD (sEOD) nagyobb arányban volt jelen, mint a pozitív családi anamnézissel (fEOD) rendelkező betegek (sEOD:60%; fEOD:40%). A kördiagramon látható, hogy a teljes kohortot tekintve mekkora százalékban találtunk az adott RDV típusokból a familiáris és a sporadikus alcsoportban. Ahogy az előzetesen is várható volt a familiáris demens esetekben a monogénes demencia háttérében álló eltérések (RDV-M) gyakoribbak, azonban a sporadikus esetekben is meglepően nagy arányban detektáltuk RDV-M-t. Rövidítésjegyzék: EOD: korai kezdetű demencia; RDV-M: monogénes demenciát okozó ritka károsító variáns; RDV-RF: lehetséges rizikófaktor; I-fEOD: ismeretlen genetikai etiológiájú familiáris korai kezdetű demencia; I-sEOD: ismeretlen genetikai etiológiájú sporadikus korai kezdetű demencia. (Saját ábra.)

Az EOD kohort vizsgálatainak értékelésénél, a diagnosztikai arány megítélésénél két fontos szempontot vettünk figyelembe, az adott gén és a fenotípus közötti korrelációt, valamint a variáns jellemzőit. Az említettek alapján 4 csoportba soroltuk az RDV-eket hordozó betegeket, ahol az egyes csoportokban eltérő a genetikai találat és a betegség kialakulása közötti korreláció szintje. Ezek alapján az, hogy a vizsgálatunk kapcsán milyen diagnosztikai arányról beszélhetünk függ attól, hogy mely csoportokat vonjuk be



az elemzésbe mint „pozitív genetikai találat”. Az 1. csoportba azok az esetek tartoznak, amelyeknél egyértelmű a monogénes demencia szindróma. Abban az esetben soroltunk ide egy beteget, ha a genetikai vizsgálat során demencia génben patogén vagy valószínűleg patogén eltérést azonosítottunk; domináns gén esetében heterozigóta, recesszív öröklődésű gén esetében pedig homozigóta vagy együttes heterozigóta formában. A 2. csoportba azok a betegek tartoznak, akik olyan génekben hordoznak RDV-eket, amelyekben a ritka heterozigóta eltérések inkább erős rizikófaktornak számítanak. Azonban a valóságban az 1. és 2. csoport közötti különbség sokszor nem ilyen éles. A következő két csoport az adott gének és a fenotípus közötti kapcsolatban tér el az előbbiektől. Azok a betegek, akiknél patogén vagy valószínűleg patogén eltérést azonosítottunk megfelelő zigozitással, azonban az adott gént korábban más fenotípusokkal asszociálták a 3. csoportba kerültek. A 4. csoportba a legkisebb hatású eltéréseket hordozó betegeket soroltuk, akikben egy vagy több heterozigóta ritka variánst találtunk, más recesszív öröklésű neurodegeneratív kórképekkel asszociált génekben.

### **5.1 Az AD és FTD-asszociált gének variánsainak elemzése monogénes demencia esetén (1. csoport)**

Az EOAD háttérében álló leggyakoribb ismert genetikai ok a *PSEN1* gén meghibásodása (1), vizsgálatunk is ezt támasztja alá, ugyanis a három ismert AD gén (*PSEN1*, *APP*, *PSEN2*) közül a *PSEN1* génben detektáltuk a legtöbb patogén RDV-t. A *PSEN1* variánsok esetén korábban leírt igen korai indulás (30-50 év között) és a nagymértékben diverz, sokszor atípusos klinikai megjelenés (viselkedésváltozás, spasticus paraparesis, hallucináció) (1) is megfigyelhető az EOD kohortunkban azonosított *PSEN1* pozitív betegeknél. A P27-es betegben detektált *PSEN1* c.265G>C (p.V89L) eltérésről korábban egyetlen betegnél számoltak be (85), azonban a c.265G>T nukleotidcserét -ami szintén a p.V89L aminosavcserét eredményezi- már egy spanyol családnál is detektálták és kóroki eltérésként riportálták. (104). Továbbá a p.V89L mutáció patogén hatását igazolták a sejt vizsgálatok is, Ochalek és mts. a P27 betegből származó iPSC sejt vonalat vizsgálva a korábbi tanulmányokkal megegyező A $\beta$ <sub>42</sub>/A $\beta$ <sub>40</sub> arány változást írták le (86,105,106). Érdekes, hogy a p.V89L patogén eltérést hordozó három proband kórtörténetében jelentős eltérések figyelhetők meg.

Betegünknel és az érintett családtagoknál a betegség az 50-es éveik elején indult, a probandnál a rövidtávú és a prospektív memória súlyos károsodása, valamint szorongás voltak az elsőként leírt tünetek. A spanyol családnál valamivel korábban jelentkeztek az első tünetek (44-51 éves kor között), és a kognitív funkciókat érintő zavarokat megelőzte a súlyos viselkedés- és személyiség-változás (apathia, paranoid gondolatok, ingerlékenység) (104). A Liu és mtsai. által bemutatott esetben indult a legkorábban a betegség (AOO: 39), ennél a betegnél a P27 pácienshez hasonlóan a rövidtávú memória romlása volt az első tünet, később azonban nála epilepsziás rohamok és téveszmék is megjelentek az apathia mellett (85). A három betegnél tapasztalt fenotípusbeli eltéréseket egyéb genetikai variánsok, epigenetikai és környezetbeli különbségek magyarázhatják.

A *PSEN1* c.497 pozícióban szintén több különböző szubsztitúcióról beszámoltak már (T>C: p.L166P; T>G: p.L166R; T>A: p.L166H). A P111 páciensnél detektált p.L166R aminosavcsereét korábban már számos európai családban azonosították. Ennél a variánsnál a betegek mindegyik esetben atípusos *PSEN1* fenotípus (spasticus paraparesis) volt a jellemző, csak a tünetek megjelenésének sorrendjében és mértékében voltak eltérések (90,107). A p.G206S eltérést hordozó betegünknel (P31) a tünetek megjelenésének ideje szintén nagyon korai (AOO:39), mint a többi riportált p.G206S eltérést hordozó páciens esetében (30-40) (56). Azonban a P31 betegünknel a pszichotikus és disszociatív zavar volt a vezető tünet és csak később jelentkezett memória probléma és apraxia.

A második leggyakoribb genetikai ok az EOAD háttérében a *PSEN2* gén hibája, azonban ezen gén patogén variánsai is csak megközelítőleg 1%-át teszik ki az összes EOAD esetnek (1). A P94 páciensben azonosított p.N141I aminosavcsere volt az első leírt patogén mutáció a *PSEN2* génben, és az egyik legjobban dokumentált az irodalomban. Az eltérés esetén az AOO spektruma széles, még egy családon belül is, korai és késői AD-ben is előfordul, valamint leírtak tünetmentes 80 év feletti hordozókat is (108)(40). A P94 probandnál és anyai nagymamánál 60 éves koruk előtt indult a betegség, anyai nagybátyjánál LOAD-ot vélelmezttek, míg édesanyja 80 éves kora felett is szellemileg ép. A kohortunkban azonosított család így a *PSEN2* variánsok inkomplett penetranciáját is alátámasztja.

Az EOAD esetek kevesebb mint 1%-áért az *APP* gén eltérései felelnek. A gén legtöbb kóros variánsa a  $\beta$ - vagy  $\gamma$ -szekretáz hasításihelyére vagy az  $A\beta$  szekvenciájára esik (670 - 724 aminosavak) (40), a kohortunkban is a hotspotnak számító 717-es kodont érintő eltérés volt az egyetlen patogén *APP* találat (P59: p.V717F).

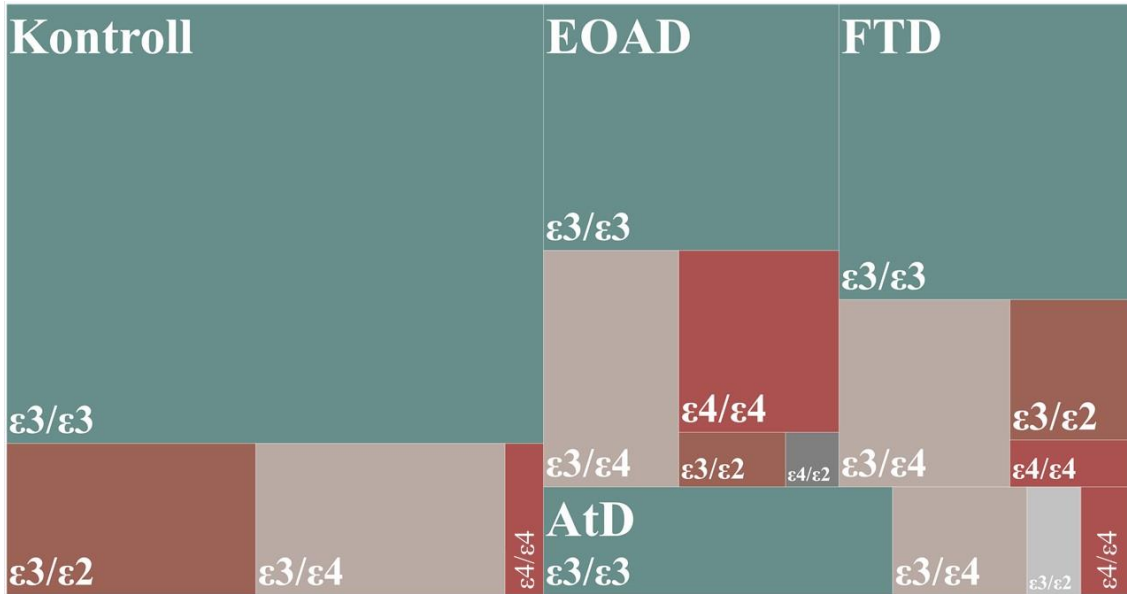
Az FTD betegeknél akár 40%-ot is elérheti a családtagoknál is riportált demencia. A familiáris, biztosan autoszomális domináns öröklésmentű FTD az összes eset kb. 10-30%-át teszi ki (5). Az FTD kórkép hátterében ismert három gén (*C9ORF72*, *GRN* és *MAPT*) jelentősen nagyobb százalékban áll a tünetek megjelenése mögött, mint a fentebb ismertetett három gén (*APP*, *PSEN1*, *PSEN2*) az EOAD hátterében. A *C9ORF72*, *GRN* és *MAPT* gének patogén RDV-i a familiáris FTD kb 60%-áért felelnek, a *C9ORF72* ebből 13-50%-ot, a *GRN* és a *MAPT* 5-20%-ot tesz ki (5,109). A *GRN* génben 4 patogén RDV-t azonosítottunk 5 páciensnél (P10- p.c.264+2T>C; P11- c.708+1G>A; P46- p.c.264+2T>C; P89- p.R198Gfs\*19; P117- p.S226WfsTer28). A betegek többségénél tipikus FTD tünetek jelentkeztek, egyedül a P89 páciens érkezett PD és demencia iránydiagnózissal. Továbbá érdekesség, hogy a *GRN* pozitív betegek 60%-ánál nem fordult elő a családban demencia. A *MAPT* génben nem detektáltunk patogén RDV-t. A *GRN* és *MAPT* gének elemzése intézetünkben már korábban is a rutin diagnosztika részét képezték, az irodalmi adatok alapján pedig megvizsgálatuk a kóros *C9ORF72* hexanukleotid repeat expanszió (HRE) gyakoriságát is. Eredményeink alátámasztották a *C9ORF72* jelentőségét a magyar EOD kohortban, betegeinknél a leggyakoribb patogén genetikai eltérésnek bizonyult. Kóros HRE-t 8 betegnél detektáltunk, ami az azonosított monogénes esetek 38,1%-át teszi ki, külön a familiáris EOD betegeket vizsgálva az eltérés az esetek 12,2%-ában (6/48) volt jelen. Eredményeink erős hasonlóságot mutattak a finn kohortot vizsgáló Pasanen és mtsai. által publikált adatokkal (110). A patogén eltérést hordozó betegek a magyar kohortban sem mind FTD klinikai diagnózissal érkeztek, ugyan a többség a tipikus FTD fenotípus jegyeit mutatta, de AD és atípusos demencia csoportba tartozó páciensnél is azonosítottunk kóros *C9ORF72* HRE-t. A teljes klinikai képet nézve igen változatos tüneteket mutattak a betegek, több páciensnél megfigyelhető volt hallucináció és téveszmék, egy-egy betegnél pedig parkinsonizmus, illetve felső motoneuron tünetek is jelentkeztek, ezen tünetegyüttesek korábban már leírásra kerültek kóros HRE-val asszociálva (109). A családi anamnézis a kóros RDV-t hordozó betegek 75%-ánál (6/8)

pozitív volt. A családi halmozódást mutató esetek közül egy kivétellel különböző mértékű demencia volt megfigyelhető az egyenesági rokonoknál, míg a P3 páciens édesapjánál ALS-t diagnosztizáltak. A kohortban azonosított kóros *C9ORF72* HRE előfordulási gyakorisága, valamint az eltérést hordozó betegek fenotípusos diverzitása megegyezik a nemzetközi irodalomban publikáltakkal (109,110).

## 5.2 Az ismert AD rizikófaktorok szerepe a magyar EOD kohortban (2. csoport)

Az EOAD esetek csak körülbelül 5-10%-ában áll a betegség hátterében a három ismert autoszomális domináns öröklésű gén hibája, a fennmaradó megoldatlan esetekre az egyik lehetséges magyarázat a multifaktoriális etiológia, a genetikai rizikófaktorok jelenléte (20,111).

A legerősebb AD rizikófaktorok számító *APOE*  $\epsilon 4$  allél EOAD és LOAD sporadikus és familiáris formája esetén is szignifikánsan növeli a betegség kialakulásának esélyét (OR: 3-15) (1,103,112). A  $\epsilon 4$  allél szerepének vizsgálata során a magyar EOD kohortban is a korábbi nemzetközi tanulmányokban leírt mértékű dúsulást figyelhettünk meg a kontroll csoporthoz képest. Továbbá az egyes *APOE* genotípusok előfordulási gyakorisága az EOD kohorton belül, az altípusoktól függően jelentős különbségeket mutatott (10. ábra). A teljes kohort esetén a  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotípus esélyhányadosa 7,9, míg külön csak az EOAD diagnózisú pácienseket vizsgálva 16,3-szorosára emelkedett a betegség kialakulásának kockázata. Külön vizsgáltuk a  $\epsilon 4$  allél szerepét az FTD alcsoportban is, mivel egy korábbi egérmodellel végzett vizsgálat szerint az allél jelenléte az amyloid- $\beta$ -től függetlenül befolyásolja a tauopathiát (113). A tünetek megjelenésének ideje és az allél jelenléte között Rosas és mtsai-hoz (114) hasonlóan mi sem találtunk szignifikáns összefüggést, viszont a kontroll csoporthoz viszonyítva jelentősen nagyobb előfordulási gyakoriságot rögzítettünk ( $\epsilon 4$  OR: 2.7). Az *APOE* fehérje pontos szerepének és patomechanizmusának egyes részei továbbra is tisztázatlanok, de a  $\epsilon 4$  allél általunk detektált magas előfordulási gyakorisága a teljes EOD kohortban alátámaszthatja azokat a felvetéseket (113,115), melyek szerint bizonyos mértékben az amyloid- $\beta$ -től független útvonalakon is szerepet játszhat a neurodegenerációban.



**10. ábra: Az APOE genotípus eloszlása az EOD altípusokban és a kontroll csoportban**  
 Az APOE genotípusokat vizsgálva szignifikáns különbséget detektáltunk az EOD alcsoportok között is. Míg a  $\epsilon 3/\epsilon 3$  genotípus esetén az EOD kohortok közel azonos mértékben térnek el a kontroll csoportban megfigyelhető gyakoriságtól, addig a  $\epsilon 4/\epsilon 4$  esetén az EOAD csoport kiemelkedik. Rövidítésjegyzék: EOAD: korai kezdetű Alzheimer- kór, FTD: frontotemporalis demencia, AtD: atípusos demencia. (Saját ábra.)

Az elmúlt évek GWAS és NGS vizsgálatainak köszönhetően egyre bővül az AD-vel asszociált rizikófaktorok listája, mára már több mint 20 rizikó gént közöltek (111,116). Ezen tanulmányok alapján választottuk ki kutatásunk során azokat a géneket, melyekről feltételeztük, hogy mint genetikai rizikófaktorok kohortunkban növelhetik a genetikai háttér feltárásának esélyét. A magyar EOD kohortban is a nemzetközi vizsgálatok során leggyakoribb rizikófaktoroként riportált géneket detektáltunk eltéréseket: *TREM2*, *ABCA7*, *SORL1* (98,117).

A *TREM2* gén szerepéről a demencia patogenezisében az elmúlt években egyre több közlemény született (118,119). A tanulmányok a *TREM2* fehérje funkciójának elemzésével, illetve epidemiológiai vizsgálatokkal támasztották alá, hogy a gén heterozigóta eltérései az AD jelentős rizikófaktorai (54,97,118,120). Kohortunkban két betegnél detektáltunk p.R47H variánst, melyet 2013-ban asszociáltak először AD-vel, majd több európai AD kohortban megerősítették, hogy hasonló jelentőségű rizikó tényező lehet, mint egyetlen *APOE*  $\epsilon 4$  allél jelenléte (56). Azonban a variánst hordozó betegeink egyikének sem AD volt a klinikai diagnózisa, a P45 beteg az FTD míg a P71

páciens az atípusos demencia alcsoportba tartozott. A P45 páciensnél a kutatás későbbi szakaszában elvégzett *C9ORF72* HRE vizsgálat kóros repeat számot igazolt, tehát a betegnél kialakult súlyos, parkinsonizmussal társult demencia kialakulásának hátterében egy monogénes eltérés állt. A *TREM2* p.R47H variáns hatását korábban vizsgálták már több kohortban is más neurodegeneratív betegséggel összefüggésben (pl. PD, FTD), azonban ezek esetében nem sikerült szignifikáns összefüggést igazolni. A *TREM2* gén homozigóta eltéréseit több esetben leírták már FTD-szerű fenotípussal (121–123)(119). A *TREM2* fehérje funkciós vizsgálatai is azt támogatják, hogy a gén eltérései szerepet játszhatnak a kórkép kialakulásában, amely feltételezést a variáns alacsony előfordulási gyakorisága, az alacsony esetszámú és a nem pontosan karakterizált kohortok miatt egyelőre nem sikerült alátámasztani (119). Ugyan a kontroll csoportban nem azonosítottuk az eltérést, de az EOD kohortban detektált p.R47H gyakoriság alacsony (1,6%) volt így a mi vizsgálatunkban sem bizonyult szignifikánsnak a variáns szerepe. Az eddigi eredmények alapján úgy véljük, a *TREM2* variáns rizikófaktorként befolyásolhatja az AD-n kívül más demencia típusok esetén is a tünetek típusát és megjelenésük idejét.

További lehetséges rizikófaktorokat detektáltunk a *SORL1* és *ABCA7* génekben, melyek egyes variánsait közepes vagy magas kockázatú AD-faktorként írták le (98,117). Az *ABCA7* gén esetében kiemelten vizsgálták a korai stop kodon (premature termination codon - PTC) mutációkat, a legtöbb tanulmány magas gyakoriságot írt le heterozigóta PTC-kre a kontroll csoporthoz képest. Valamint a PTC eltéréseket vizsgálták PD és nem-AD demens kohortban is, mindkét esetben dúszult a PTC eltérés a kontroll csoporthoz képest és a nem-AD csoportban szignifikánsnak minősült a különbség. Ezek alapján felmerül, hogy az *ABCA7* heterozigóta PTC variánsai esetleg általánosabb szerepet játszhatnak a neurodegenerációban (98). A kohortunkban azonosított esetek is ezt támasztják alá: 3 *ABCA7* variánsból egy tartozik csak az AD csoportba és a PTC eltérést hordozó betegnél (P75) rigor, vertikális tekintésbénulás, ataxia és apraxia is jelentkezett.

A *PSEN2* az egyike a három ismert familiáris EOAD-val asszociált génnek, a *PSEN1* és *APP* gének variánsaihoz hasonlóan legnagyobb részben autoszomális domináns öröklésű AD kialakulásához vezet. A *PSEN2* több szempontból is eltér a másik két említett géntől. A mutációt hordozók AOO-je szélesebb skálán mozog (40-80 év),

egyed autoszomális domináns öröklődésű variánsai esetén inkomplett penetranciáról számoltak be, az eltéréseihez kapcsolt klinikai megjelenés nagyon diverz (pl. LOAD, FTD, DLB, mellrák, kardiomiopátia) és számos variánsa VUS és lehetséges benignus klasszifikációjú az adatbázisokban. Ezek alapján feltételezik, hogy a *PSEN2* variánst hordozó betegeknél az egyéb genetikai- és környezeti hatások is szerepet játszhatnak az AD vagy egyéb neurodegeneratív kórképek kialakulásában (45,124). A kohortunkban talált két *PSEN2* variánst hordozó páciens is ilyen eltérésekre szolgáltat példát. Az előző pontban (5.1: 1.csoport) részletezett autoszomális domináns öröklésű p.N141I variáns az inkomplett penetranciára, míg a P73 páciensben azonosított p.S130L az egyéb genetikai- és környezeti faktorokra hívja fel a figyelmet. A p.S130L eltérés szerepéről a betegség kialakulásában ellentmondásos az irodalom, több AD-val diagnosztizált esetet közöltek (125–127). Az *in vitro* vizsgálatok alapján a mutációnak nincs hatása az  $A\beta_{42}/A\beta_{40}$  arányra, azonban számítógépes modellezések alapján a protein kináz C által végzett foszforilációhoz szükséges szignál elvesztéséhez vezet és így a kalcium jelátvitel megszakadásához. A variáns betegségkókozó szerepét támasztja alá a P73 beteg családi anamnézise és genetikai eredménye is. A páciensnél a p.S130L variáns detektálását követően végeztünk WES vizsgálatot is, annak érdekében, hogy megvizsgáljuk találunk-e egyéb monogénes okot vagy rizikófaktort, ami részt vehet a betegnél kialakult súlyos autoszomális domináns öröklésű AD-ben. A p.S130L eltérés mellett további két genetikai rizikófaktort azonosítottunk (*APOE*  $\epsilon 4/\epsilon 4$ , *HFE* p.H63D (128)) a korábbi irodalmi adatok alapján úgy véljük ezen rizikófaktorok együttes jelenléte szerepet játszhat a páciensnél kialakult tünetegyüttes kialakulásában.

### **5.3 Egyéb neurodegeneratív kórképekkel asszociált gének szerepe a demenciában**

#### **5.3.1 Monogénes etiológia: átfedő fenotípus, közös patomechanizmus vagy spektrum betegség? (3. csoport)**

Kutatásunk során elemeztünk olyan géneket is a magyar demens kohortban, melyeket elsősorban más neurodegeneratív kórképpel asszociáltak, azonban akár a riportált esetek fenotípusa, akár a betegség patomechanizmusa valamilyen mértékű átfedést mutatott korai kezdetű demenciával.

A *TREM2* gént elsőként a recesszív öröklésű NHD betegséggel asszociálták, amely egy csont cisztákkal, patológiás csonttörésekkel és korai kezdetű demenciával járó kórkép (129). Ezt követően egyes heterozigóta eltéréseit mint AD rizikófaktor azonosították (54), valamint számos tanulmány vizsgálta hatását más neurodegeneratív kórképek esetén is (119,130). Ugyan nem minden esetben tudták a heterozigóta rizikófaktoroknál igazolni a szignifikáns összefüggést az egyes populációkban variáns szinten, viszont egyre több tanulmány taglalja a lehetséges gén szintű korrelációt, például FTD esetén (119). Az elmúlt években több esetet is publikáltak, ahol a betegeknek biallélikus *TREM2* eltérés mellett súlyos FTD-szerű klinikai kép alakult ki, viszont egyáltalán nem jelentkezett csontelváltozás (92,130). A magyar kohortban egy, FTD klinikai tüneteivel jellemzett páciens esetében (P14) detektáltunk biallélikus *TREM2* eltérést (p.R47C; p.A105Rfs\*84). Mindkét azonosított RDV-t publikálták már korábban homozigóta formában FTD-szerű fenotípussal (92,93), a leírt tünetek nagymértékben egyeznek a P14 betegnél tapasztalttal, de egy-egy jelentősebb eltérés is megfigyelhető. A homozigóta korai stop mutációt (p.A105Rfs\*84) hordozó betegnél sem fordult elő csontfájdalom és csonttörés, viszont többszörös cisztás csontelváltozásokat leírtak (93), a biallélikus p.R47C eltérést pedig egy tisztán FTD tüneteit mutató betegnél azonosították (92). Betegünknek csontelváltozásokat egyáltalán nem azonosítottak, a homozigóta p.R47C variánst hordozó pácienssel szinte teljesen megegyező klinikai képhez azonban a P14 betegnél epilepsziás rohamok, rigiditás, és nyugalmi tremor társult. A *TREM2* variánsok funkcionális vizsgálatai során az egyes variánsok esetén eltérő funkciózavart figyeltek meg: az AD rizikófaktorként ismert p.R47H eltérés a fehérje ligand kötésének károsodásához vezet és a sejtfelszíni expresszióra nincs hatása, míg a p.R47C esetén a fehérje sejtfelszíni expressziója, szignifikánsan lecsökken (131,132). Abban az esetben, ha további vizsgálatok alapján az expressziót érintő mutációk nem károsítják a fehérje ligand kötő képességét, potenciális terápiás célpontokká válhatnak, a sejtfelszíni expresszió helyreállítására összpontosítva (131). A *TREM2* gén mutációi esetén a klinikai manifesztáció széles spektruma figyelhető meg, amelyre magyarázatul szolgálhatnak a betegek egyéb genetikai eltérései, epigenetikai és környezeti hatások is, valamint az egyes *TREM2* mutációk eltérő hatása a fehérjére. A *TREM2* szerepét jelezheti a neurodegenerációban a megváltozott mikroglia funkció, ami a neurodegeneratív kórképek patogenezisének



fontos eleme (130,133). Azonban ahhoz, hogy pontosan megértsük a *TREM2* szerepét és a különböző neurodegeneratív kórképek genetikai architektúrájára gyakorolt hatását további nagy esetszámú vizsgálatokat szükséges végezni (119,130).

A *CSF1R* génben egy új, eddig még nem leírt deléciót (c.2646\_2654+6del) detektáltunk a P56 betegnél. A variáns a gén TKD domainjében található funkcióvesztéses (loss of function- LOF) eltérés és az ACMG szerint patogén. Azonban ahhoz, hogy megítéljük a variáns szerepét a páciensnél kialakult betegségben elsőként mély fenotipizálást („deep phenotyping”) kellett végeznünk, ugyanis a P56 beteg FTD diagnózissal és annak megfelelő MRI eredményekkel került a kohortunkba. A *CSF1R* gén pedig elsősorban az autoszomális domináns öröklésű ALSP kórképpel asszociált, melynek tünetei számos más neurológia kórképpel átfednek és főként a korai stádiumban a nem specifikus tünetek megnehezítik a differenciálását más demencia-asszociált kórképektől (134). A *CSF1R* pozitív betegeknél jelentkező tünetek, akár egy családon belül is igen széles skálán mozoghatnak, ami tovább növeli a téves diagnózis esélyét. Számos epidemiológiai tanulmányt és esetismertetést közöltek, melyben FTD-vel diagnosztizált pácienseknél *CSF1R* eltérést azonosítanak kóroki variánsként (94,135,136). Ezen eredmények alapján pedig azt is felvetik, hogy nem csak a klinikai kép hanem a genetikai háttér esetén is átfedés lehet az FTD és az ALSP között, tehát az FTD háttérében álló gének spektrumát szükséges lehet bővíteni a *CSF1R* génnel (94,135). Az irodalmi adatokat összevetve a P56 páciensnél leírt tünetegyüttesel valamint a revideált MRI eredmény alapján az azonosított *CSF1R* variánst kórokinak minősítettük.

A P112 betegnél egy ritka, de nagyon jellegzetes klinikai manifesztációval járó *PRNP* RDV-t (7-OPRI) azonosítottunk. A páciensnél a prion betegség klasszikus tünetei hiányoztak, a kór progressziója kifejezetten lassú volt így az egy génes vizsgálatokkal AD irányba kezdtünk el vizsgálgódn. Egy későbbi diagnosztikai lépés során azonosítottuk a 7-OPRI eltérést, melyhez az irodalomban leírt klinikai kép teljes mértékben megegyezett a páciensünk tüneteivel (91,137).

A csoportban ismertett esetek rávilágítanak, hogy az olyan heterogén genetikai háttérrel rendelkező betegségek esetén, mint a demenciával asszociált neurodegeneratív kórképek szükséges a genetikai vizsgálatok palettájának bővítése, egy átfogóbb, több gént tartalmazó NGS panel kialakítása és rutin diagnosztikába való bevezetése.

### 5.3.2 Heterozigóta károsító variánsok mint a neurodegeneratív kórképek általános rizikófaktora (4. csoport)

Számos neurodegeneratív kórkép esetén figyelhetünk meg klinikai, patológiai és molekuláris átfedést, ami alapján felvetődik a kérdés, hogy esetleg a genetikai faktorokban is találhatunk közös metszetet (2,111). A PD esetén például az *LRRK2* variánsait asszociálták már AD-szerű patológiával, ami felveti, hogy részleges átfedés lehet a neurodegeneratív útvonalak között AD és PD esetében (2,138), így a monogénes PD háttérben leírt gének (*LRRK2*, *PINK1*, *PRNK*) variánsai is hozzájárulhatnak az AD-betegnél kialakuló tünetegyütteshez (2). Kutatásunk megtervezésekor ezeket a hipotéziseket is figyelembe véve állítottuk össze a vizsgálni kívánt gének listáját. Ennek köszönhetően olyan génekben is azonosítottunk RDV-eket, amelyeket korábban elsődlegesen más neurodegeneratív rendellenességekkel asszociáltak, mint például az előző fejezetben tárgyalt *CSF1R*, *TREM2*, *PRNP* vagy a *C19ORF12*, *PRKN*, *LRRK2*, *PARK7* és *SPG11* gének. Utóbbi csoportot az öröklésmenetnek nem megfelelő zigozítás miatt külön kezeltük az elemzések során (RDV-RF). Ezekben a génekben négy betegnél (P35; P50; P52; P81) detektáltunk eltérést, és két betegnél pedig együttesen fordultak elő az RDV-RF variánsok (P50: *C19ORF12* és *PARK7* RDV, P35: *ABCA7*; *LRRK2* és *SPG11* RDV). Ezen gének demenciában betöltött szerepe, illetve a nem megfelelő zigozítású variánsaik patogenitása még nem tisztázott.

A *C19ORF12* gén heterozigóta variánsai esetén például már felvetették, hogy rizikófaktorként növelheti a tünetek megjelenésének kockázatát, vagy akár monogénes genetikai okként a kórkép kialakulásáért felelhet (139,140). A gén monoallélikus RDV-it már PD-szerű klinikai képpel is asszociáltak (140). Fontos kiemelni, hogy a P35 és a P50 betegnél is a prefrontális tünetek mellett kifejezett parkinsonizmus volt megfigyelhető. A P50 páciensnél a *C19ORF12* RDV mellett egy *PARK7* variánst azonosítottunk, és mivel a *PARK7* gént korábban már DLB esetén leírták (2,141), úgy véljük az RDV-k együttes jelenléte hozzájárulhat a betegnél kialakult klinikai képhez.

A P35 páciensnél egy AD rizikófaktort (*ABCA7*), egy PD-asszociált (*LRRK2*) és egy ALS-asszociált (*SPG11*) RDV-t detektáltunk. A legújabb publikációk mind az *LRRK2*, mind az *SPG11* gént asszociáltak AD/FTD fenotípussal (2,142). Ezeket a komplex fenotípusokat és az erős, monogénes variáns hiányát magyarázhatják az RDV-k együttes előfordulása. Mivel ezek a gének különböző fokú korrelációt mutattak a

demenciával, a fehérjék funkciójának vizsgálata mellett, nagyobb mintaszámú epidemiológiai vizsgálatok szükségesek tisztázni a potenciális szerepüket a neurodegeneratív demencia patomechanizmusában.

Egy FTD-vel diagnosztizált betegnél, a *PSAP* génben detektáltunk lehetséges károsító variánst (P52- *PSAP* p.E108V). A *PSAP* autoszomális recesszív formában többek között leukodystrophiával asszociált, valamint heterozigóta variánsait lehetséges PD rizikófaktorként is leírták már (143,144). A *PSAP* a prosaposint kódolja, amely prekursor fehérjéje az úgynevezett sphingolipid aktivátor proteineknek (SAPs) (145,146). A prosaposin mint lizoszomális szabályozó fehérje fontos neuroprotektív jelentőséggel bír, és az utóbbi években igazolták a *GRN* és *PSAP* közötti interakciók hatását a fehérjék lizoszomába történő transzportjára (147). Továbbá vizsgálták, hogy a *GRN* haploinsufficiencia hogyan befolyásolja *PSAP* transzportját *GRN* pozitív FTD betegeknél: a *PSAP* szint emelkedett a mikrogliaokban és asztorcitákban, a neuronokban pedig csökkenést tapasztaltak (148). Transzgenikus egerek esetében pedig csökkent *PSAP* expresszió esetén a *GRN* pozitív egereknél is megfigyelhető FTD-szerű patológiát írtak le (148). Ezenfelül fontos megjegyezni, hogy ugyan a legtöbb lizoszomális tárolási betegség (Lysosomal storage disorders-LSD) esetén a heterozigóta kóroki eltérések által kiváltott enzim aktivitás-csökkenés a szervezet számára jól tolerálható, de van legalább két kivétel (149).

A *GRN* gén biallélikus patogén eltérései a neuralis ceroid lipofuscinosis 11 (*CLN11*) kórkép kialakulásához vezetnek, míg ugyanezen gén heterozigóta mutációi FTD-vel asszociáltak. A másik kivétel a *GBA*, melynek biallélikus RDV-i Gaucher-kór kialakulását eredményezik, monoallélikus formában pedig a PD kialakulásának kockázatát növelik szignifikánsan. Ezek alapján tehát lehetséges, hogy míg a *PSAP* gén variánsai biallélikus formában szintén egy LSD kórképet okoznak, a heterozigóta RDV-i az FTD kialakulásának kockázatát növelik (149). Összességében tehát, az eddigi tanulmányok alapján a prosaposin és a progranulin közötti kapcsolat és a *PSAP* és a leukodystrophia közötti asszociáció egyrészt kiemeli a progranulinhoz kapcsolódó fehérjék szerepét a fehérállomány integritásában, másrészt felveti *PSAP* heterozigóta variánsainak jelentőségét a neurodegenerációban (145). Ezen adatok fényében feltételeztük, hogy a p.E108V eltérés a P52 betegnél növelhette a demencia kialakulásának kockázatát.

Kutatási eredményeink alapján új molekuláris diagnosztikai útvonalat dolgoztunk ki intézetünkben az EOD betegek számára. Abban az esetben ha a demencia tünetegyüttesel rendelkező páciens betegsége 65 éves kora előtt indult elsőként *C9ORF72* vizsgálatot végzünk. Kivétel ez alól az a beteg, akinél a fenotípus Huntington vagy Prion kórképnek megfeleltethető, itt a HRE vizsgálatot megelőzi a megfelelő célzott egy génes vizsgálat és negatív eredmény esetén következik a *C9ORF72* analízis. Amennyiben a betegeknél nem detektálunk kóros repeat expanziót egy célzott NGS panel vizsgálata az ajánlott, melyben nem csak a leggyakoribb AD és FTD gének szerepelnek, hanem lehetőség szerint minél több NDD-vel asszociált gén. Abban az esetben ha ez sem vezet eredményre és erős a családi halmozódás vagy komplex a fenotípus WES vizsgálattal léphetünk tovább.

### **5.3.3 Az $\alpha$ KGDH alegységeit kódoló gének ritka eltéréseinek szerepe AD betegeknél**

Az Alzheimer-kórban szenvedő betegeknél megfigyelt szerkezeti és funkcionális mitochondriális eltérések, a kutatók figyelmét az AD-asszociált mitochondriális diszfunkció okainak és hatásának elemzésére irányította (150,151). A vizsgálatok eredményei alapján felvetették, hogy a mitochondriális változások valamilyen mértékben közre játszhatnak az AD patológiájában (150). Az AD korai fázisában észlelt glükóz hipometabolizmus az oxidatív foszforiláció következtében fellépő károsodott energia-anyagcserének tulajdonították (152). Az  $\alpha$ KGDH csökkenését pedig korábban számos neurodegeneratív kórképnél leírták pl. AD, PD és SCA1 (153). Ezen eredmények alapján feltételeztük, hogy a  $\alpha$ KGDH alegységeinek variánsai akár rizikófaktorként szerepet játszhatnak az AD kialakulásában. Az *OGDH*, *DLST* és *DLD* génekben összesen 5 non-szinonim variánst detektáltunk, melyek közül kettőt ítéltünk lehetséges kórokinak. A *DLD* génben azonosított p.R263H eltérés heterozigóta formában volt jelen egy 64 évesen exitált AD páciensnél. Az eltérést egyetlen publikációban említik, egy súlyos primer mitochondriális betegséggel (CLA) diagnosztizált betegnél, akinél pszichomotoros retardációt és epileptikus encephalopathiát írtak le. A kontroll egyéneknél nem azonosítottuk az eltérést, viszont intézetünkben egy - a kohortban nem szereplő - súlyos mitochondriális betegségben szenvedő páciensnél is azonosítottuk az eltérést, akinél epilepsziát, spasticus

paraparesist és kognitív diszfunkciókat is lejegyeztünk. A variáns ClinVar besorolása az utóbbi évben megváltozott VUS kategóriáról CIoP -re (Conflicting interpretations of pathogenicity- patogenitás szempontjából ellentmondásos), és továbbra sem szerepel homozigóta formában a populációs adatbázisokban. Az *OGDH* génben detektált p.P471H RDV-ről még kevesebb információ áll rendelkezésünkre. Az ACMG besorolása VUS kategóriáról valószínűleg patogén klasszifikációra változott az elmúlt években. Magát az *OGDH* gént több vizsgálatban is asszociálták AD-val (154).

Összegezve, az  $\alpha$ KGDH alegységeit kódoló gének vizsgálatainak eredményei alapján feltételezhetjük, hogy a ritka heterozigóta variánsaik rizikófaktoroként hozzájárulhattak a pácienseknél kialakult tünetekhez, azonban mindenképp szükségesek további nagyobb mintaszámú vizsgálatok ennek alátámasztására.

A detektált és korábban általunk RDV-nek minősített két eltérés ACMG, illetve ClinVar besorolásának változása felhívja a figyelmet az adatok időközönként újraelmzésére és amennyiben szükséges az adott variánsok reklasszifikációjára. Ez a folyamat kiemelten fontos minden olyan eltérés esetén, ahol nincs egyértelmű bizonyíték a patogenitásra, illetve minden olyan beteg esetén, ahol nem tudtunk kóroki variánst detektálni. Ennek pontos menetét és a megfelelő interpretációját a jövőben szükséges kidolgozni.

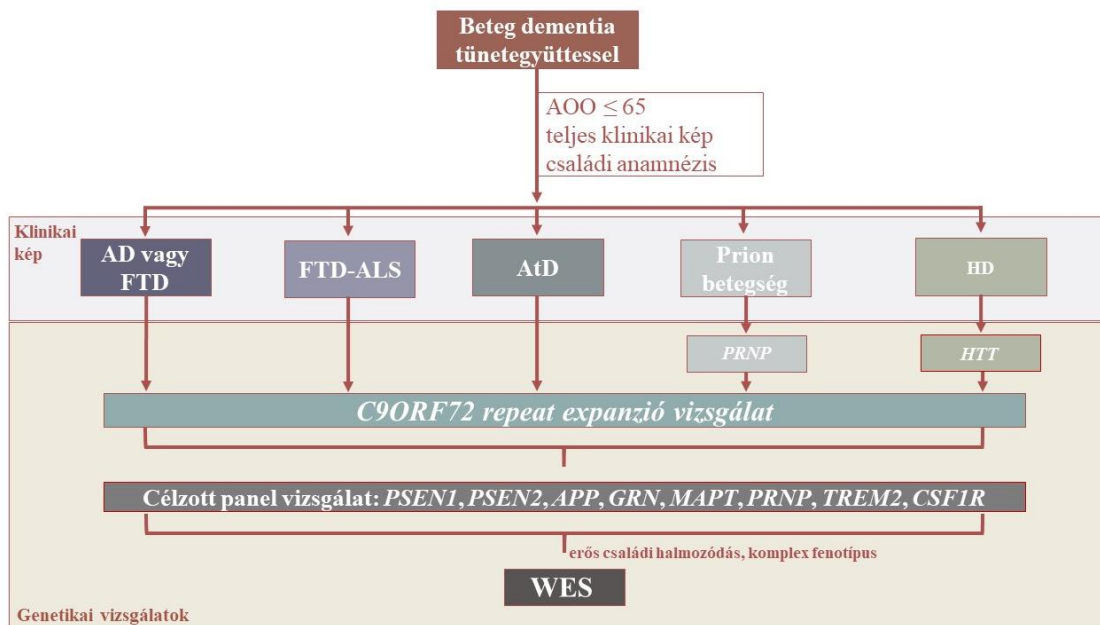
## 6 Következtetések

Kutatásunk során az alábbi új információkat állapítottuk meg:

1. Elsőként végeztünk Magyarországon átfogó genetikai vizsgálatot korai kezdetű demenciákban (EOD). A teljes EOD kohort 17,5%-ában detektáltunk monogénes demenciát és további 8.3%-ban ritka károsító variánst (rare damaging variant-RDV).
2. Ismert korábban már Alzheimer-kór genetikai rizikófaktoraként azonosított gének (*TREM2*; *ABCA7*; *SORL1*) mellett más, neurodegeneratív kórképekkel asszociált génekben (*C19ORF12*; *PRKN*; *LRRK2*; *PARK7*; *SPG11*; *PSAP*) is azonosítottunk genetikai rizikófaktorok számító eltéréseket az EOD-ben rávilágítva arra, hogy nem csak a neurodegeneratív betegségek tünete, hanem a háttérben álló genetikai hibák is átfedésben lehetnek, ezzel alátámasztva a neurodegeneratív spektrum betegség létezését.
3. Az egyes károsító variánsok klasszifikációja és fenotípus-genotípus korreláció elemzése alapján, ezek a ritka károsító variánsok, mint genetikai hajlamosító tényezők szerepet játszhatnak a betegeknél kialakult tünetegyüttesekben.
4. Az  $\alpha$ KGDH komplex alegységeinek vizsgálata alapján úgy véljük az alegységet kódoló gének ritka variánsai rizikófaktoroként növelhetik az AD kialakulásának kockázatát. Azonban a variánsok nagyon alacsony előfordulási gyakorisága miatt további nagy esetszámú tanulmányok vagy funkcionális vizsgálatok szükségesek ennek alátámasztására.
5. Megvizsgáltuk az AD legerősebb genetikai rizikófaktoraként számolt *APOE* gént, a  $\epsilon 4/\epsilon 4$  alléljai a nemzetközi adatokkal megegyezően AD-ban mutatták a legnagyobb kockázatonövelő hatást (OR: 16,3). A frontotemporalis demencia (FTD) alcsoport esetén is szignifikáns dúsulást figyelhettünk meg egy  $\epsilon 4$  allél esetén, valamint a  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotípus szignifikáns dúsulását igazoltuk a nem monogénes familiáris EOD esetekben.
6. Igazoltuk, hogy a magyar EOD betegeknél magas a káros *C9ORF72* hexanukleotid repeat expanzio (HRE) előfordulási gyakorisága. Kiemelendő, hogy nem csak FTD-vel diagnosztizált betegeknél detektáltuk patogén HRE-t.

Ezek az eredmények felhívták a figyelmet a gén jelentőségére nemcsak az FTD, de a teljes korai kezdetű demencia kohort esetén.

7. Több olyan eltérést is azonosítottunk, melyek monogénes betegség kialakulásához vezetnek, azonban más neurodegeneratív kórképpel asszociáltak. A *CSF1R*, *TREM2* és *PRNP* génekben detektált RDV-k kiemelik, hogy ezeket a klinikai és patológiai átfedéseket mutató neurodegeneratív kórképeket csupán csak a klinikai kép alapján nehéz differenciálni, így a pontos és gyorsabb diagnosztizálás érdekében fontos bővíteni a molekuláris vizsgálatok során fókuszba kerülő gének listáját.
8. Eredményeik alapján új molekuláris diagnosztikai útvonalat dolgoztunk ki az EOD betegek számára (11. ábra).



### 11. ábra: Javaslat a demenciával diagnosztizált betegek molekuláris vizsgálatára

Eredményeink alapján új diagnosztikai útvonalat dolgoztunk ki a 65. életév előtti betegségindulású (AOO<65), demencia tünetegyüttesel jelentkező páciensek számára. A klinikai kép és pontos családi anamnézis felvétele után elsőként a *C9ORF72* repeat expanziót vizsgáljuk a betegeknél. Kivételt képez a típusos Prion betegségekre vagy Huntington-kórra jellemző tüneteket mutató beteg, ezekben az esetekben elsőként a betegség hátterében álló egy-egy gént vizsgáljuk és negatív eredményt követően folytatjuk a *C9ORF72* analízissel. Negatív fragment analízis eredmény esetén célzott panel vizsgálat következik, amely során nem csak a leggyakoribb AD és FTD géneket vizsgáljuk, hanem lehetőség szerint minél több, neurodegeneratív kórképpel asszociált gént. Abban az esetben, ha a panel vizsgálatl sem

*találunk kóroki eltérést és erős családi halmozódást, komplex fenotípust írtak le a betegnél teljes exom vizsgálattal folytathatjuk. Rövidítésjegyzék: AD: Alzheimer-kór; AtD: atípusos demencia; AOO: életkor a tünetek megjelenésekor; FTD: frontotemporalis demencia; FTD-ALS: frontotemporalis demencia-amyotrophias later sclerosis; HD: Huntington-kór (Huntington disease); HTT: huntingtin; PRNP: prion protein; WES: teljes exom szekvenálás. (Saját ábra.)*



## 7 Összefoglalás

A korai kezdetű demencia (EOD) annak ellenére, hogy magas heritabilitású betegség, a háttérben álló kóroki eltérések ma még nagy százalékban ismeretlenek, de a komprehenzív genetikai/genomikai vizsgálatoknak köszönhetően jelentősen felgyorsulhat a kórképek genetikai háttérének megismerése. Kutatásunk célja volt a különböző EOD típusok genetikai architektúrájának feltérképezése a magyar kohortban. A leggyakoribb már a rutin diagnosztika részeként is vizsgált Alzheimer-kórral (AD) és frontotemporalis demenciával (FTD) asszociált géneken felül NGS technológiával célzott panel és teljes exom szekvenálás során további gének szerepét vizsgáltuk a kohortban. A célzott NGS panel tervezésénél fontos szempont volt, hogy a már jól ismert demencia-asszociált gének mellett megvizsgáljunk új célpontokat is, melyek olyan neurodegeneratív kórképekkel asszociáltak, ahol a demencia szintén megjelenik mint tünet. Ezzel az átfedő klinikai kép és patomechanizmus mögötti esetleges közös genetikai háttérre kerestünk bizonyítékot. Az EOD kohort vizsgálatai során összesen 15 génben 25 ritka károsító variánst (RDV) detektáltunk. A betegek 17,5%-ában azonosítottunk monogénes demenciát, és 8,3%-ban olyan RDV-t, ami hozzájárulhat a páciens betegségének kialakulásához. Az  $\alpha$ KGDH alegységeinek vizsgálata során két lehetséges RDV-t azonosítottunk, melyek hozzájárulhattak a betegeknél kialakult AD-hoz. Az *APOE*  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotípus az irodalmi adatokkal összhangban a korai kezdetű AD (EOAD) alcsoportban bizonyult a legerősebb kockázati tényezőnek, de a  $\epsilon 4$  allélt vizsgálva az FTD betegek esetében is szignifikáns különbséget találtunk a kontroll csoporthoz képest. A magyar kohortban is igazolódott a *C9ORF72* kóros hexanukleotid repeat expansziójának (HRE) magas előfordulási gyakorisága. Az elsődlegesen más neurodegeneratív kórképekkel asszociált géneken detektált kóroki mutációk (7,5%) alátámasztják a szükségességét a minél szélesebb körű genetikai vizsgálatoknak. Az egyes RDV-k klasszifikációja és a hozzá tartozó irodalom áttekintése után a genotípus-fenotípus korreláció több esetben magyarázatot adott a betegnél tapasztalt atípusos tünetekre vagy bizonyos esetekben megváltoztatta a páciens diagnózisát. Intézetünkben eredményeink alapján új genetikai diagnosztikai megközelítést dolgoztunk ki a korai kezdetű demencia genetikai vizsgálatára.

## 8 Summary

Early onset dementia (EOD) remains largely unknown in terms of the underlying genetic alterations, despite its high heritability and the availability of comprehensive genetic or genomic investigations. Our research aimed to map the genetic architecture of different EOD types within the Hungarian cohort. In addition to the commonly studied genes associated with AD and FTD as part of routine diagnostics, we explored the role of additional genes through targeted panel sequencing and whole exome sequencing using NGS technology. When designing the targeted NGS panel, we considered not only well-established dementia-associated genes but also novel targets associated with other neurodegenerative disorders that feature dementia as a symptom. We found evidence for a potential shared genetic background underlying overlapping clinical presentations and pathomechanisms. In our investigations of the EOD cohort, we identified a total of 25 rare damaging variants (RDV) in 15 genes. Monogenic dementias were identified in 17.5% of the patients, and RDVs potentially contributing to the patients' diseases were found in 8.3% of the cases. During the examination of the subunits of  $\alpha$ KGDH, we identified two possible RDVs that could contribute to the development of AD in patients. Consistent with literature data, the *APOE*  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotype emerged as the strongest risk factor for early-onset AD subgroups. However, when examining the  $\epsilon 4$ , significant differences were also observed in FTD patients compared to the control group. The high frequency of pathogenic hexanucleotide repeat expansions in *C9ORF72* was confirmed in the Hungarian cohort as well. The identification of pathogenic mutations (7.5%) primarily associated with other neurodegenerative disorders supports the need for a broad genetic investigations.

After classifying each RDV and reviewing the relevant literature, genotype-phenotype correlations provided explanations for atypical symptoms observed in some patients or, in certain cases, led to a change in the patient's diagnosis.

Based on our findings, we have developed a new genetic diagnostic approach for early onset dementia at our institution.

## 9 Irodalomjegyzék

1. Cacace R, Slegers K, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimer's Dement.* 2016 Jun 23;12(6):733–748.
2. Giau V, Senanarong V, Bagyinszky E, An S, Kim S. Analysis of 50 Neurodegenerative Genes in Clinically Diagnosed Early-Onset Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2019 Mar 26;20(6):1514.
3. Dementia [Internet]. [accessed 2023 Jan 17]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
4. Koriath C, Kenny J, Adamson G, Druyeh R, Taylor W, Beck J, Quinn L, Mok TH, Dimitriadis A, Norsworthy P, Bass N, Carter J, Walker Z, Kipps C, Coulthard E, Polke JM, Bernal-Quiros M, Denning N, Thomas R, Raybould R, Williams J, Mummery CJ, Wild EJ, Houlden H, Tabrizi SJ, Rossor MN, Hummerich H, Warren JD, Rowe JB, Rohrer JD, Schott JM, Fox NC, Collinge J, Mead S. Predictors for a dementia gene mutation based on gene-panel next-generation sequencing of a large dementia referral series. *Mol Psychiatry.* 2020 Dec 2;25(12):3399–3412.
5. Sirkis DW, Geier EG, Bonham LW, Karch CM, Yokoyama JS. Recent Advances in the Genetics of Frontotemporal Dementia. *Curr Genet Med Rep.* 2019 Mar 30;7(1):41–52.
6. Szatmari B, Balicza P, Nemeth G, Molnar MJ. The Panomics Approach in Neurodegenerative Disorders. *Curr Med Chem.* 2019;26(10):1712–1720.
7. Dugger BN, Dickson DW. Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017 Jul;9(7):a028035.
8. Kovacs GG. Molecular pathology of neurodegenerative diseases: Principles and practice. *J Clin Pathol.* 2019;72(11):725–735.
9. Mankhong S, Kim S, Lee S, Kwak H bum, Park D ho, Joa K lim, Kang J hee. Development of Alzheimer's Disease Biomarkers: From CSF- to Blood-Based Biomarkers. *Biomedicines.* 2022 Apr 5;10(4):850.
10. Jana A, Bhattacharjee A, Das SS, Srivastava A, Choudhury A, Bhattacharjee R,

- De S, Perveen A, Iqbal D, Gupta PK, Jha SK, Ojha S, Singh SK, Ruokolainen J, Jha NK, Kesari KK, Ashraf GM. Molecular Insights into Therapeutic Potentials of Hybrid Compounds Targeting Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol.* 2022 Jun 26;59(6):3512–3528.
11. Korte N, Nortley R, Attwell D. Cerebral blood flow decrease as an early pathological mechanism in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 2020 Dec 31;140(6):793–810.
  12. Neha, Parvez S. Emerging therapeutics agents and recent advances in drug repurposing for Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev.* 2023 Mar;85(November 2022):101815.
  13. Götz J, Halliday G, Nisbet RM. Molecular Pathogenesis of the Tauopathies. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2019 Jan 24;14(1):239–261.
  14. Si ZZ, Zou CJ, Mei X, Li XF, Luo H, Shen Y, Hu J, Li XX, Wu L, Liu Y. Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease: from mechanisms to clinical applications. *Neural Regen Res.* 2023;18(4):708–715.
  15. Heneka MT, Carson MJ, Khoury J El, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, Jacobs AH, Wyss-Coray T, Vitorica J, Ransohoff RM, Herrup K, Frautschy SA, Finsen B, Brown GC, Verkhratsky A, Yamanaka K, Koistinaho J, Latz E, Halle A, Petzold GC, Town T, Morgan D, Shinohara ML, Perry VH, Holmes C, Bazan NG, Brooks DJ, Hunot S, Joseph B, Deigendesch N, Garaschuk O, Boddeke E, Dinarello CA, Breitner JC, Cole GM, Golenbock DT, Kummer MP, Heneka M. Neuroinflammation in Alzheimer's Disease HHS Public Access. *Lancet Neurol.* 2015;14(4):388–405.
  16. Younes K, Miller BL. Frontotemporal Dementia. *Psychiatr Clin North Am.* 2020 Jun;43(2):331–344.
  17. del Campo M, Zetterberg H, Gandy S, Onyike CU, Oliveira F, Udeh-Momoh C, Lleó A, Teunissen CE, Pijnenburg Y. New developments of biofluid-based biomarkers for routine diagnosis and disease trajectories in frontotemporal dementia. *Alzheimer's Dement.* 2022 Nov 1;18(11):2292–2307.
  18. Bonvicini C, Scassellati C, Benussi L, Di Maria E, Maj C, Ciani M, Fostinelli S,

- Mega A, Bocchetta M, Lanzi G, Giacopuzzi E, Ferraboli S, Pievani M, Fedi V, Defanti CA, Giliani S, Frisoni GB, Ghidoni R, Gennarelli M. Next Generation Sequencing Analysis in Early Onset Dementia Patients. *J Alzheimer's Dis.* 2019;67(1):243–256.
19. Loi SM, Pijnenberg Y, Velakoulis D. Recent research advances in young-onset dementia. *Curr Opin Psychiatry.* 2022 Dec 29;Publish Ah(2):126–133.
  20. Sirkis DW, Bonham LW, Johnson TP, La Joie R, Yokoyama JS. Dissecting the clinical heterogeneity of early-onset Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry.* 2022 Jun 7;27(6):2674–2688.
  21. Porsteinsson AP, Isaacson RS, Knox S, Sabbagh MN, Rubino I. Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. *J Prev Alzheimer's Dis.* 2021 Jul 1;8(3):371–386.
  22. Ayodele T, Rogaeva E, Kurup JT, Beecham G, Reitz C. Early-Onset Alzheimer's Disease: What Is Missing in Research? *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2021 Feb 19;21(2):4.
  23. Graff-Radford J, Yong KXXX, Apostolova LG, Bouwman FH, Carrillo M, Dickerson BC, Rabinovici GD, Schott JM, Jones DT, Murray ME. New insights into atypical Alzheimer's disease in the era of biomarkers. *Lancet Neurol.* 2021 Mar 1;20(3):222–234.
  24. Teunissen CE, Verberk IMW, Thijssen EH, Vermunt L, Hansson O, Zetterberg H, van der Flier WM, Mielke MM, del Campo M. Blood-based biomarkers for Alzheimer's disease: towards clinical implementation. *Lancet Neurol.* 2022 Jan;21(1):66–77.
  25. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Shaw LM, Aisen PS, Weiner MW, Petersen RC, Trojanowski JQ. Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol.* 2010 Jan;9(1):119–128.
  26. Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TLS, Fagan AM, Goate A, Fox NC, Marcus DS, Cairns NJ, Xie X, Blazey TM, Holtzman DM, Santacruz A, Buckles V, Oliver A, Moulder K, Aisen PS, Ghetti B, Klunk WE, McDade E, Martins RN, Masters CL, Mayeux R, Ringman JM, Rossor MN, Schofield PR, Sperling RA,

- Salloway S, Morris JC. Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2012 Aug 30;367(9):795–804.
27. Olney NT. Frontotemporal Dementia.
  28. Seeley WW, Bauer AM, Miller BL, Gorno-Tempini ML, Kramer JH, Weiner M, Rosen HJ. The natural history of temporal variant frontotemporal dementia. *Neurology*. 2005 Apr 26;64(8):1384–1390.
  29. Lee SE, Rabinovici GD, Mayo MC, Wilson SM, Seeley WW, DeArmond SJ, Huang EJ, Trojanowski JQ, Growdon ME, Jang JY, Sidhu M, See TM, Karydas AM, Gorno-Tempini ML, Boxer AL, Weiner MW, Geschwind MD, Rankin KP, Miller BL. Clinicopathological correlations in corticobasal degeneration. *Ann Neurol*. 2011 Aug;70(2):327–340.
  30. Boxer AL, Geschwind MD, Belfor N, Gorno-Tempini ML, Schauer GF, Miller BL, Weiner MW, Rosen HJ. Patterns of Brain Atrophy That Differentiate Corticobasal Degeneration Syndrome From Progressive Supranuclear Palsy. *Arch Neurol*. 2006 Jan 1;63(1):81.
  31. Kim YE, Kang SY, Ma H Il, Ju YS, Kim YJ. A Visual Rating Scale for the Hummingbird Sign with Adjustable Diagnostic Validity. *J Parkinsons Dis*. 2015 Jan 1;5(3):605–612.
  32. Lleó A, Irwin DJ, Illán-Gala I, McMillan CT, Wolk DA, Lee EB, Van Deerlin VM, Shaw LM, Trojanowski JQ, Grossman M. A 2-Step Cerebrospinal Algorithm for the Selection of Frontotemporal Lobar Degeneration Subtypes. *JAMA Neurol*. 2018 Jun 1;75(6):738.
  33. Toledo JB, Brettschneider J, Grossman M, Arnold SE, Hu WT, Xie SX, Lee VMY, Shaw LM, Trojanowski JQ. CSF biomarkers cutoffs: the importance of coincident neuropathological diseases. *Acta Neuropathol*. 2012 Jul 22;124(1):23–35.
  34. Alcolea D, Vilaplana E, Suárez-Calvet M, Illán-Gala I, Blesa R, Clarimón J, Lladó A, Sánchez-Valle R, Molinuevo JL, García-Ribas G, Compta Y, Martí MJ, Piñol-Ripoll G, Amer-Ferrer G, Noguera A, García-Martín A, Fortea J, Lleó A. CSF sAPP $\beta$ , YKL-40, and neurofilament light in frontotemporal lobar

- degeneration. *Neurology*. 2017 Jul 11;89(2):178–188.
35. Zhu N, Santos-Santos M, Illán-Gala I, Montal V, Estellés T, Barroeta I, Altuna M, Arranz J, Muñoz L, Belbin O, Sala I, Sánchez-Saudinós MB, Subirana A, Videla L, Pegueroles J, Blesa R, Clarimón J, Carmona-Iragui M, Fortea J, Lleó A, Alcolea D. Plasma glial fibrillary acidic protein and neurofilament light chain for the diagnostic and prognostic evaluation of frontotemporal dementia. *Transl Neurodegener*. 2021 Dec 10;10(1):50.
  36. Tsoukra P, Velakoulis D, Wibawa P, Malpas CB, Walterfang M, Evans A, Farrand S, Kelso W, Eratne D, Loi SM. The Diagnostic Challenge of Young-Onset Dementia Syndromes and Primary Psychiatric Diseases: Results From a Retrospective 20-Year Cross-Sectional Study. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2022 Jan 1;34(1):44–52.
  37. Woolley JD, Khan BK, Murthy NK, Miller BL, Rankin KP. The Diagnostic Challenge of Psychiatric Symptoms in Neurodegenerative Disease. *J Clin Psychiatry*. 2011 Feb 15;72(02):126–133.
  38. Krudop WA, Dols A, Kerssens CJ, Eikelenboom P, Prins ND, Möller C, Schouws S, Rhebergen D, van Exel E, van der Flier WM, Sikkes S, Scheltens P, Stek ML, Pijnenburg YAL. The Pitfall of Behavioral Variant Frontotemporal Dementia Mimics Despite Multidisciplinary Application of the FTDC Criteria. Shinagawa S, editor. *J Alzheimer's Dis*. 2017 Oct 3;60(3):959–975.
  39. Koriath CAM, Kenny J, Ryan NS, Rohrer JD, Schott JM, Houlden H, Fox NC, Tabrizi SJ, Mead S. Genetic testing in dementia — utility and clinical strategies. *Nat Rev Neurol*. 2021 Jan 9;17(1):23–36.
  40. Hoogmartens J, Cacace R, Van Broeckhoven C. Insight into the genetic etiology of Alzheimer's disease: A comprehensive review of the role of rare variants. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit*. 2021 Jan 20;13(1):1–14.
  41. Goldman JS, Van Deerlin VM. Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia: The Current State of Genetics and Genetic Testing Since the Advent of Next-Generation Sequencing. *Mol Diagn Ther*. 2018 Oct 3;22(5):505–513.
  42. Sehar U, Rawat P, Reddy AP, Kopel J, Reddy PH. Amyloid Beta in Aging and

- Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 26;23(21):12924.
43. Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, Snaedal J, Jonsson P V., Bjornsson S, Stefansson H, Sulem P, Gudbjartsson D, Maloney J, Hoyte K, Gustafson A, Liu Y, Lu Y, Bhangale T, Graham RR, Huttenlocher J, Bjornsdottir G, Andreassen OA, Jonsson EG, Palotie A, Behrens TW, Magnusson OT, Kong A, Thorsteinsdottir U, Watts RJ, Stefansson K. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature.* 2012;488(7409):96.
  44. Bagaria J, Bagyinszky E, An SSA. Genetics, Functions, and Clinical Impact of Presenilin-1 (PSEN1) Gene. *Int J Mol Sci.* 2022 Sep 19;23(18):10970.
  45. Yang Y, Bagyinszky E, An SSA, Kim S. PSEN2 Thr421Met Mutation in a Patient with Early Onset Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci.* 2022;23(21):13331.
  46. Greaves C V, Rohrer JD. An update on genetic frontotemporal dementia. *J Neurol.* 2019;266:2075–2086.
  47. Gijssels I, Van Mossevelde S, van der Zee J, Sieben A, Philtjens S, Heeman B, Engelborghs S, Vandenbulcke M, De Baets G, Bäumer V, Cuijt I, Van den Broeck M, Peeters K, Mattheijssens M, Rousseau F, Vandenberghe R, De Jonghe P, Cras P, De Deyn PP, Martin JJ, Cruts M, Van Broeckhoven C. Loss of TBK1 is a frequent cause of frontotemporal dementia in a Belgian cohort. *Neurology.* 2015 Dec 15;85(24):2116–2125.
  48. Pievani M, Filippini N, van den Heuvel MP, Cappa SF, Frisoni GB. Brain connectivity in neurodegenerative diseases—from phenotype to proteinopathy. *Nat Rev Neurol.* 2014 Nov 7;10(11):620–633.
  49. Jia L, Xu H, Chen S, Wang X, Yang J, Gong M, Wei C, Tang Y, Qu Q, Chu L, Shen L, Zhou C, Wang Q, Zhao T, Zhou A, Li Y, Li F, Li Y, Jin H, Qin Q, Jiao H, Li Y, Zhang H, Lyu D, Shi Y, Song Y, Jia J. The APOE  $\epsilon$ 4 exerts differential effects on familial and other subtypes of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2020 Dec 3;16(12):1613–1623.
  50. Han Y, Liu D, Cheng Y, Ji Q, Liu M, Zhang B, Zhou S. Maintenance of mitochondrial homeostasis for Alzheimer's disease: Strategies and challenges.



- Redox Biol. 2023 Jul;63(May):102734.
51. Robinson M, Lee BY, Hane FT. Recent Progress in Alzheimer's Disease Research, Part 2: Genetics and Epidemiology. *J Alzheimer's Dis.* 2017 Mar 21;57(2):317–330.
  52. Gibson GE, Blass JP, Beal MF, Bunik V. The  $\alpha$ -Ketoglutarate–Dehydrogenase Complex: A Mediator Between Mitochondria and Oxidative Stress in Neurodegeneration. *Mol Neurobiol.* 2005;31(1–3):043–064.
  53. Rogaeva E, Meng Y, Lee JH, Gu Y, Kawarai T, Zou F, Katayama T, Baldwin CT, Cheng R, Hasegawa H, Chen F, Shibata N, Lunetta KL, Pardossi-Piquard R, Bohm C, Wakutani Y, Cupples LA, Cuenco KT, Green RC, Pinessi L, Rainero I, Sorbi S, Bruni A, Duara R, Friedland RP, Inzelberg R, Hampe W, Bujo H, Song YQ, Andersen OM, Willnow TE, Graff-Radford N, Petersen RC, Dickson D, Der SD, Fraser PE, Schmitt-Ulms G, Younkin S, Mayeux R, Farrer LA, St George-Hyslop P. The neuronal sortilin-related receptor SORL1 is genetically associated with Alzheimer disease. *Nat Genet.* 2007 Feb 14;39(2):168–177.
  54. Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, Carrasquillo M, Rogaeva E, Majounie E, Cruchaga C, Sassi C, Kauwe JSK, Younkin S, Hazrati L, Collinge J, Pocock J, Lashley T, Williams J, Lambert JC, Amouyel P, Goate A, Rademakers R, Morgan K, Powell J, St. George-Hyslop P, Singleton A, Hardy J. TREM2 Variants in Alzheimer's Disease. *N Engl J Med.* 2013 Jan 10;368(2):117–127.
  55. Jonsson T, Stefansson H, Steinberg S, Jonsdottir I, Jonsson P V., Snaedal J, Bjornsson S, Huttenlocher J, Levey AI, Lah JJ, Rujescu D, Hampel H, Giegling I, Andreassen OA, Engedal K, Ulstein I, Djurovic S, Ibrahim-Verbaas C, Hofman A, Ikram MA, van Duijn CM, Thorsteinsdottir U, Kong A, Stefansson K. Variant of TREM2 Associated with the Risk of Alzheimer's Disease. *N Engl J Med.* 2013 Jan 10;368(2):107–116.
  56. ALZFORUM|NETWORKING FOR A CURE [Internet]. [accessed 2023 Jan 21]. Available from: <https://www.alzforum.org/papers/csf-and-blood-biomarkers-diagnosis-alzheimers-disease-systematic-review-and-meta-analysis>
  57. Wang W, Zhao F, Ma X, Perry G, Zhu X. Mitochondria dysfunction in the pathogenesis of Alzheimer's disease: recent advances. *Mol Neurodegener.* 2020

Dec 29;15(1):30.

58. Eckert A, Nisbet R, Grimm A, Götz J. March separate, strike together — Role of phosphorylated TAU in mitochondrial dysfunction in Alzheimer’s disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2014 Aug;1842(8):1258–1266.
59. Bell SM, Barnes K, De Marco M, Shaw PJ, Ferraiuolo L, Blackburn DJ, Venneri A, Mortiboys H. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer’s disease: A biomarker of the future? *Biomedicines.* 2021;9(1):1–26.
60. Molnar MJ, Bencsik P. Establishing a Neurological-Psychiatric Biobank: Banking, informatics, ethics. *Cell Immunol.* 2006 Dec;244(2):101–104.
61. Pentelényi K. Az intergenomiális hatások és gén - környezet interakciók vizsgálata mitochondriális diszfunkció következtében kialakuló kórképekben. Semmelweis Egyetem Budapest; 2016.
62. Vera V, Viktor M, András G, Péter S, Péter A, Judit MM. Hungarian genomic data warehouse supporting the healthy ageing research. *Orv Hetil.* 2021;62(27):1079–1088.
63. de Sena Brandine G, Smith AD. Falco: high-speed FastQC emulation for quality control of sequencing data. *F1000Research.* 2021 Jan 27;8:1874.
64. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics.* 2009 Jul 15;25(14):1754–1760.
65. Van der Auwera GA, Carneiro MO, Hartl C, Poplin R, del Angel G, Levy-Moonshine A, Jordan T, Shakir K, Roazen D, Thibault J, Banks E, Garimella K V., Altshuler D, Gabriel S, DePristo MA. From FastQ Data to High-Confidence Variant Calls: The Genome Analysis Toolkit Best Practices Pipeline. *Curr Protoc Bioinforma.* 2013 Oct 15;43(1):1–33.
66. Cingolani P, Platts A, Wang LL, Coon M, Nguyen T, Wang L, Land SJ, Lu X, Ruden DM. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. *Fly (Austin).* 2012 Apr;6(2):80–92.
67. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown G, Chao C, Chitipiralla S, Gu B, Hart J, Hoffman D, Hoover J, Jang W, Katz K, Ovetsky M, Riley G, Sethi A, Tully R,

- Villamarin-Salomon R, Rubinstein W, Maglott DR. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res.* 2016 Jan;44(D1):D862-8.
68. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, Collins RL, Laricchia KM, Ganna A, Birnbaum DP, Gauthier LD, Brand H, Solomonson M, Watts NA, Rhodes D, Singer-Berk M, England EM, Seaby EG, Kosmicki JA, Walters RK, Tashman K, Farjoun Y, Banks E, Poterba T, Wang A, Seed C, Whiffin N, Chong JX, Samocha KE, Pierce-Hoffman E, Zappala Z, O'Donnell-Luria AH, Minikel EV, Weisburd B, Lek M, Ware JS, Vittal C, Armean IM, Bergelson L, Cibulskis K, Connolly KM, Covarrubias M, Donnelly S, Ferreira S, Gabriel S, Gentry J, Gupta N, Jeandet T, Kaplan D, Llanwarne C, Munshi R, Novod S, Petrillo N, Roazen D, Ruano-Rubio V, Saltzman A, Schleicher M, Soto J, Tibbetts K, Tolonen C, Wade G, Talkowski ME, Aguilar Salinas CA, Ahmad T, Albert CM, Ardissino D, Atzmon G, Barnard J, Beaugerie L, Benjamin EJ, Boehnke M, Bonnycastle LL, Bottinger EP, Bowden DW, Bown MJ, Chambers JC, Chan JC, Chasman D, Cho J, Chung MK, Cohen B, Correa A, Dabelea D, Daly MJ, Darbar D, Duggirala R, Dupuis J, Ellinor PT, Elosua R, Erdmann J, Esko T, Färkkilä M, Florez J, Franke A, Getz G, Glaser B, Glatt SJ, Goldstein D, Gonzalez C, Groop L, Haiman C, Hanis C, Harms M, Hiltunen M, Holi MM, Hultman CM, Kallela M, Kaprio J, Kathiresan S, Kim BJ, Kim YJ, Kirov G, Kooner J, Koskinen S, Krumholz HM, Kugathasan S, Kwak SH, Laakso M, Lehtimäki T, Loos RJF, Lubitz SA, Ma RCW, MacArthur DG, Marrugat J, Mattila KM, McCarroll S, McCarthy MI, McGovern D, McPherson R, Meigs JB, Melander O, Metspalu A, Neale BM, Nilsson PM, O'Donovan MC, Ongur D, Orozco L, Owen MJ, Palmer CNA, Palotie A, Park KS, Pato C, Pulver AE, Rahman N, Remes AM, Rioux JD, Ripatti S, Roden DM, Saleheen D, Salomaa V, Samani NJ, Scharf J, Schunkert H, Shoemaker MB, Sklar P, Soininen H, Sokol H, Spector T, Sullivan PF, Suvisaari J, Tai ES, Teo YY, Tiinamaija T, Tsuang M, Turner D, Tusie-Luna T, Vartiainen E, Vawter MP, Ware JS, Watkins H, Weersma RK, Wessman M, Wilson JG, Xavier RJ, Neale BM, Daly MJ, MacArthur DG. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature.* 2020 May 28;581(7809):434–443.

69. Auton A, Abecasis GR, Altshuler DM, Durbin RM, Abecasis GR, Bentley DR, Chakravarti A, Clark AG, Donnelly P, Eichler EE, Flicek P, Gabriel SB, Gibbs RA, Green ED, Hurles ME, Knoppers BM, Korbel JO, Lander ES, Lee C, Lehrach H, Mardis ER, Marth GT, McVean GA, Nickerson DA, Schmidt JP, Sherry ST, Wang J, Wilson RK, Gibbs RA, Boerwinkle E, Doddapaneni H, Han Y, Korchina V, Kovar C, Lee S, Muzny D, Reid JG, Zhu Y, Wang J, Chang Y, Feng Q, Fang X, Guo X, Jian M, Jiang H, Jin X, Lan T, Li G, Li J, Li Y, Liu S, Liu X, Lu Y, Ma X, Tang M, Wang B, Wang G, Wu H, Wu R, Xu X, Yin Y, Zhang D, Zhang W, Zhao J, Zhao M, Zheng X, Lander ES, Altshuler DM, Gabriel SB, Gupta N, Gharani N, Toji LH, Gerry NP, Resch AM, Flicek P, Barker J, Clarke L, Gil L, Hunt SE, Kelman G, Kulesha E, Leinonen R, McLaren WM, Radhakrishnan R, Roa A, Smirnov D, Smith RE, Streeter I, Thormann A, Toneva I, Vaughan B, Zheng-Bradley X, Bentley DR, Grocock R, Humphray S, James T, Kingsbury Z, Lehrach H, Sudbrak R, Albrecht MW, Amstislavskiy VS, Borodina TA, Lienhard M, Mertes F, Sultan M, Timmermann B, Yaspo ML, Mardis ER, Wilson RK, Fulton L, Fulton R, Sherry ST, Ananiev V, Belaia Z, Beloslyudtsev D, Bouk N, Chen C, Church D, Cohen R, Cook C, Garner J, Hefferon T, Kimelman M, Liu C, Lopez J, Meric P, O'Sullivan C, Ostapchuk Y, Phan L, Ponomarov S, Schneider V, Shekhtman E, Sirotkin K, Slotta D, Zhang H, McVean GA, Durbin RM, Balasubramaniam S, Burton J, Danecek P, Keane TM, Kolb-Kokocinski A, McCarthy S, Stalker J, Quail M, Schmidt JP, Davies CJ, Gollub J, Webster T, Wong B, Zhan Y, Auton A, Campbell CL, Kong Y, Marcketta A, Gibbs RA, Yu F, Antunes L, Bainbridge M, Muzny D, Sabo A, Huang Z, Wang J, Coin LJM, Fang L, Guo X, Jin X, Li G, Li Q, Li Y, Li Z, Lin H, Liu B, Luo R, Shao H, Xie Y, Ye C, Yu C, Zhang F, Zheng H, Zhu H, Alkan C, Dal E, Kahveci F, Marth GT, Garrison EP, Kural D, Lee WP, Fung Leong W, Stromberg M, Ward AN, Wu J, Zhang M, Daly MJ, DePristo MA, Handsaker RE, Altshuler DM, Banks E, Bhatia G, del Angel G, Gabriel SB, Genovese G, Gupta N, Li H, Kashin S, Lander ES, McCarroll SA, Nemes J, Poplin RE, Yoon SC, Lihm J, Makarov V, Clark AG, Gottipati S, Keinan A, Rodriguez-Flores JL, Korbel JO, Rausch T, Fritz MH, Stütz AM, Flicek P, Beal K, Clarke L, Datta A, Herrero J, McLaren WM, Ritchie GRS, Smith RE, Zerbino D, Zheng-

Bradley X, Sabeti PC, Shlyakhter I, Schaffner SF, Vitti J, Cooper DN, Ball E V., Stenson PD, Bentley DR, Barnes B, Bauer M, Keira Cheetham R, Cox A, Eberle M, Humphray S, Kahn S, Murray L, Peden J, Shaw R, Kenny EE, Batzer MA, Konkel MK, Walker JA, MacArthur DG, Lek M, Sudbrak R, Amstislavskiy VS, Herwig R, Mardis ER, Ding L, Koboldt DC, Larson D, Ye K, Gravel S, Swaroop A, Chew E, Lappalainen T, Erlich Y, Gymrek M, Frederick Willems T, Simpson JT, Shriver MD, Rosenfeld JA, Bustamante CD, Montgomery SB, De La Vega FM, Byrnes JK, Carroll AW, DeGorter MK, Lacroute P, Maples BK, Martin AR, Moreno-Estrada A, Shringarpure SS, Zakharia F, Halperin E, Baran Y, Lee C, Cerveira E, Hwang J, Malhotra A, Plewczynski D, Radew K, Romanovitch M, Zhang C, Hyland FCL, Craig DW, Christoforides A, Homer N, Izatt T, Kurdoglu AA, Sinari SA, Squire K, Sherry ST, Xiao C, Sebat J, Antaki D, Gujral M, Noor A, Ye K, Burchard EG, Hernandez RD, Gignoux CR, Haussler D, Katzman SJ, James Kent W, Howie B, Ruiz-Linares A, Dermitzakis ET, Devine SE, Abecasis GR, Min Kang H, Kidd JM, Blackwell T, Caron S, Chen W, Emery S, Fritsche L, Fuchsberger C, Jun G, Li B, Lyons R, Scheller C, Sidore C, Song S, Sliwerska E, Taliun D, Tan A, Welch R, Kate Wing M, Zhan X, Awadalla P, Hodgkinson A, Li Y, Shi X, Quitadamo A, Lunter G, McVean GA, Marchini JL, Myers S, Churchhouse C, Delaneau O, Gupta-Hinch A, Kretzschmar W, Iqbal Z, Mathieson I, Menelaou A, Rimmer A, Xifara DK, Oleksyk TK, Fu Y, Liu X, Xiong M, Jorde L, Witherspoon D, Xing J, Eichler EE, Browning BL, Browning SR, Hormozdiari F, Sudmant PH, Khurana E, Durbin RM, Hurler ME, Tyler-Smith C, Albers CA, Ayub Q, Balasubramaniam S, Chen Y, Colonna V, Danecek P, Jostins L, Keane TM, McCarthy S, Walter K, Xue Y, Gerstein MB, Abyzov A, Balasubramaniam S, Chen J, Clarke D, Fu Y, Harmanci AO, Jin M, Lee D, Liu J, Jasmine Mu X, Zhang J, Zhang Y, Li Y, Luo R, Zhu H, Alkan C, Dal E, Kahveci F, Marth GT, Garrison EP, Kural D, Lee WP, Ward AN, Wu J, Zhang M, McCarroll SA, Handsaker RE, Altshuler DM, Banks E, del Angel G, Genovese G, Hartl C, Li H, Kashin S, Nemes J, Shakir K, Yoon SC, Lihm J, Makarov V, Degenhardt J, Korbel JO, Fritz MH, Meiers S, Raeder B, Rausch T, Stütz AM, Flicek P, Paolo Casale F, Clarke L, Smith RE, Stegle O, Zheng-Bradley X, Bentley DR, Barnes B, Keira Cheetham R, Eberle M, Humphray S,

Kahn S, Murray L, Shaw R, Lameijer EW, Batzer MA, Konkel MK, Walker JA, Ding L, Hall I, Ye K, Lacroute P, Lee C, Cerveira E, Malhotra A, Hwang J, Plewczynski D, Radew K, Romanovitch M, Zhang C, Craig DW, Homer N, Church D, Xiao C, Sebat J, Antaki D, Bafna V, Michaelson J, Ye K, Devine SE, Gardner EJ, Abecasis GR, Kidd JM, Mills RE, Dayama G, Emery S, Jun G, Shi X, Quitadamo A, Lunter G, McVean GA, Chen K, Fan X, Chong Z, Chen T, Witherspoon D, Xing J, Eichler EE, Chaisson MJ, Hormozdiari F, Huddleston J, Malig M, Nelson BJ, Sudmant PH, Parrish NF, Khurana E, Hurles ME, Blackburne B, Lindsay SJ, Ning Z, Walter K, Zhang Y, Gerstein MB, Abyzov A, Chen J, Clarke D, Lam H, Jasmine Mu X, Sisu C, Zhang J, Zhang Y, Gibbs RA, Yu F, Bainbridge M, Challis D, Evani US, Kovar C, Lu J, Muzny D, Nagaswamy U, Reid JG, Sabo A, Yu J, Guo X, Li W, Li Y, Wu R, Marth GT, Garrison EP, Fung Leong W, Ward AN, del Angel G, DePristo MA, Gabriel SB, Gupta N, Hartl C, Poplin RE, Clark AG, Rodriguez-Flores JL, Flicek P, Clarke L, Smith RE, Zheng-Bradley X, MacArthur DG, Mardis ER, Fulton R, Koboldt DC, Gravel S, Bustamante CD, Craig DW, Christoforides A, Homer N, Izatt T, Sherry ST, Xiao C, Dermitzakis ET, Abecasis GR, Min Kang H, McVean GA, Gerstein MB, Balasubramanian S, Habegger L, Yu H, Flicek P, Clarke L, Cunningham F, Dunham I, Zerbino D, Zheng-Bradley X, Lage K, Berg Jepsersen J, Horn H, Montgomery SB, DeGorter MK, Khurana E, Tyler-Smith C, Chen Y, Colonna V, Xue Y, Gerstein MB, Balasubramanian S, Fu Y, Kim D, Auton A, Marcketta A, Desalle R, Narechania A, Wilson Sayres MA, Garrison EP, Handsaker RE, Kashin S, McCarroll SA, Rodriguez-Flores JL, Flicek P, Clarke L, Zheng-Bradley X, Erlich Y, Gymrek M, Frederick Willems T, Bustamante CD, Mendez FL, David Poznik G, Underhill PA, Lee C, Cerveira E, Malhotra A, Romanovitch M, Zhang C, Abecasis GR, Coin L, Shao H, Mittelman D, Tyler-Smith C, Ayub Q, Banerjee R, Cerezo M, Chen Y, Fitzgerald TW, Louzada S, Massaia A, McCarthy S, Ritchie GRS, Xue Y, Yang F, Gibbs RA, Kovar C, Kalra D, Hale W, Muzny D, Reid JG, Wang J, Dan X, Guo X, Li G, Li Y, Ye C, Zheng X, Altshuler DM, Flicek P, Clarke L, Zheng-Bradley X, Bentley DR, Cox A, Humphray S, Kahn S, Sudbrak R, Albrecht MW, Lienhard M, Larson D, Craig DW, Izatt T, Kurdoglu AA, Sherry ST, Xiao C, Haussler D, Abecasis GR,

- McVean GA, Durbin RM, Balasubramaniam S, Keane TM, McCarthy S, Stalker J, Chakravarti A, Knoppers BM, Abecasis GR, Barnes KC, Beiswanger C, Burchard EG, Bustamante CD, Cai H, Cao H, Durbin RM, Gerry NP, Gharani N, Gibbs RA, Gignoux CR, Gravel S, Henn B, Jones D, Jorde L, Kaye JS, Keinan A, Kent A, Kerasidou A, Li Y, Mathias R, McVean GA, Moreno-Estrada A, Ossorio PN, Parker M, Resch AM, Rotimi CN, Royal CD, Sandoval K, Su Y, Sudbrak R, Tian Z, Tishkoff S, Toji LH, Tyler-Smith C, Via M, Wang Y, Yang H, Yang L, Zhu J, Bodmer W, Bedoya G, Ruiz-Linares A, Cai Z, Gao Y, Chu J, Peltonen L, Garcia-Montero A, Orfao A, Dutil J, Martinez-Cruzado JC, Oleksyk TK, Barnes KC, Mathias RA, Hennis A, Watson H, McKenzie C, Qadri F, LaRocque R, Sabeti PC, Zhu J, Deng X, Sabeti PC, Asogun D, Folarin O, Happi C, Omoniwa O, Stremlau M, Tariyal R, Jallow M, Sisay Joof F, Corrah T, Rockett K, Kwiatkowski D, Kooner J, Tinh Hiên T, Dunstan SJ, Thuy Hang N, Fonnier R, Garry R, Kanneh L, Moses L, Sabeti PC, Schieffelin J, Grant DS, Gallo C, Poletti G, Saleheen D, Rasheed A, Brooks LD, Felsenfeld AL, McEwen JE, Vaydylevich Y, Green ED, Duncanson A, Dunn M, Schloss JA, Wang J, Yang H, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Min Kang H, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA, Abecasis GR. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015 Oct 1;526(7571):68–74.
70. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405–423.
71. Franklin by Genoox [Internet]. [accessed 2022 Jan 17]. Available from: <https://franklin.genoox.com>
72. Kopanos C, Tsiolkas V, Kouris A, Chapple CE, Albarca Aguilera M, Meyer R, Massouras A. VarSome: the human genomic variant search engine. *Bioinformatics*. 2019;35(11):1978–1980.
73. MedCalc Software Ltd. Odds ratio calculator, Version 20.210 [Internet]. [accessed 2023 Jan 2]. Available from:

[https://www.medcalc.org/calc/odds\\_ratio.php](https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php)

74. Zádori D, Füvesi J, Timár E, Horváth E, Bencsik R, Szépfalusi N, Must A, Vécsei L, Molnár MJ, Klivényi P. The Report of p.Val717Phe Mutation in the APP Gene in a Hungarian Family With Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2017 Oct;31(4):343–345.
75. Finckh U, Kuschel C, Anagnostouli M, Patsouris E, Pantos G V., Gatzonis S, Kapaki E, Davaki P, Lamszus K, Stavrou D, Gal A. Novel mutations and repeated findings of mutations in familial Alzheimer disease. *Neurogenetics.* 2005;6(2):85–89.
76. Murrell J, Farlow M, Ghetti B, Benson MD. A mutation in the Amyloid Precursor Protein Associated with Hereditary Alzheimer's Disease. *Science (80-).* 1991 Oct 4;254(5028):97–99.
77. Karch CM, Hernández D, Wang JC, Marsh J, Hewitt AW, Hsu S, Norton J, Levitch D, Donahue T, Sigurdson W, Ghetti B, Farlow M, Chhatwal J, Berman S, Cruchaga C, Morris JC, Bateman RJ, Pébay A, Goate AM. Human fibroblast and stem cell resource from the Dominantly Inherited Alzheimer Network. *Alzheimer's Res Ther.* 2018;10(1):1–11.
78. Chiang HH, Forsell C, Lilius L, Öijerstedt L, Thordardottir S, Shanmugarajan K, Westerlund M, Nennesmo I, Thonberg H, Graff C. Novel progranulin mutations with reduced serum-progranulin levels in frontotemporal lobar degeneration. *Eur J Hum Genet.* 2013;21(11):1260–1265.
79. Chen-Plotkin AS, Martinez-Lage M, Sleiman PMA, Hu W, Greene R, Wood EM, Bing S, Grossman M, Schellenberg GD, Hatanpaa KJ, Weiner MF, White CL, Brooks WS, Halliday GM, Kril JJ, Gearing M, Beach TG, Graff-Radford NR, Dickson DW, Rademakers R, Boeve BF, Pickering-Brown SM, Snowden J, van Swieten JC, Heutink P, Seelaar H, Murrell JR, Ghetti B, Spina S, Grafman J, Kaye JA, Woltjer RL, Mesulam M, Bigio E, Lladó A, Miller BL, Alzualde A, Moreno F, Rohrer JD, Mackenzie IRA, Feldman HH, Hamilton RL, Cruts M, Engelborghs S, De Deyn PP, Van Broeckhoven C, Bird TD, Cairns NJ, Goate A, Frosch MP, Riederer PF, Bogdanovic N, Lee VMY, Trojanowski JQ, Van Deerlin VM. Genetic and Clinical Features of Progranulin-Associated



- Frontotemporal Lobar Degeneration. *Arch Neurol*. 2011 Apr 11;68(4):488.
80. Gass J, Cannon A, Mackenzie IR, Boeve B, Baker M, Adamson J, Crook R, Melquist S, Kuntz K, Petersen R, Josephs K, Pickering-Brown SM, Graff-Radford N, Uitti R, Dickson D, Wszolek Z, Gonzalez J, Beach TG, Bigio E, Johnson N, Weintraub S, Mesulam M, White CL, Woodruff B, Caselli R, Hsiung GY, Feldman H, Knopman D, Hutton M, Rademakers R. Mutations in progranulin are a major cause of ubiquitin-positive frontotemporal lobar degeneration. *Hum Mol Genet*. 2006;15(20):2988–3001.
  81. Kim G, Ahmadian SS, Peterson M, Parton Z, Memon R, Weintraub S, Rademaker A, Bigio E, Mesulam MM, Geula C. Asymmetric pathology in primary progressive aphasia with progranulin mutations and TDP inclusions. *Neurology*. 2016 Feb 16;86(7):627–636.
  82. Van Deerlin VM, Wood EM, Moore P, Yuan W, Forman MS, Clark CM, Neumann M, Kwong LK, Trojanowski JQ, Lee VMY, Grossman M. Clinical, Genetic, and Pathologic Characteristics of Patients With Frontotemporal Dementia and Progranulin Mutations. *Arch Neurol*. 2007 Aug 1;64(8):1148.
  83. Gijssels I, Van Broeckhoven C, Cruts M. Granulin mutations associated with frontotemporal lobar degeneration and related disorders: An update. *Hum Mutat*. 2008 Dec;29(12):1373–1386.
  84. Ramos EM, Dokuru DR, Van Berlo V, Wojta K, Wang Q, Huang AY, Miller ZA, Karydas AM, Bigio EH, Rogalski E, Weintraub S, Rader B, Miller BL, Gorno-Tempini ML, Mesulam M, Coppola G. Genetic screen in a large series of patients with primary progressive aphasia. *Alzheimer's Dement*. 2019 Apr 29;15(4):553–560.
  85. Liu CY, Ohki Y, Tomita T, Osawa S, Reed BR, Jagust W, Van Berlo V, Jin LW, Chui HC, Coppola G, Ringman JM. Two Novel Mutations in the First Transmembrane Domain of Presenilin1 Cause Young-Onset Alzheimer's Disease. *J Alzheimer's Dis*. 2017 Jan 1;58(4):1035–1041.
  86. Ochalek A, Mihalik B, Avci HX, Chandrasekaran A, Téglási A, Bock I, Giudice M Lo, Táncoš Z, Molnár K, László L, Nielsen JE, Holst B, Freude K, Hyttel P, Kobolák J, Dinnyés A. Neurons derived from sporadic Alzheimer's disease

- iPSCs reveal elevated TAU hyperphosphorylation, increased amyloid levels, and GSK3B activation. *Alzheimer's Res Ther.* 2017;9(1):1–19.
87. Liu J, Wang Q, Jing D, Gao R, Zhang J, Cui C, Qiao H, Liang Z, Wang C, Rosa-Neto P, Wu L, Jia J, Gauthier S. Diagnostic Approach of Early-Onset Dementia with Negative Family History: Implications from Two Cases of Early-Onset Alzheimer's Disease with de Novo PSEN1 Mutation. *J Alzheimer's Dis.* 2019;68(2):551–558.
  88. Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettingell WH, Yu C en, Jondro PD, Schmidt SD, Wang K, Crowley AC, Fu YH, Guenette SY, Galas D, Nemens E, Wijsman EM, Bird TD, Schellenberg GD, Tanzi RE. Candidate Gene for the Chromosome 1 Familial Alzheimer's Disease Locus. *Science* (80- ). 1995 Aug 18;269(5226):973–977.
  89. Finch N, Baker M, Crook R, Swanson K, Kuntz K, Surtees R, Bisceglia G, Rovelet-Lecrux A, Boeve B, Petersen RC, Dickson DW, Younkin SG, Deramecourt V, Crook J, Graff-Radford NR, Rademakers R, Neill D, Graff-Radford R. Plasma progranulin levels predict progranulin mutation status in frontotemporal dementia patients and asymptomatic family members. *A J Neurol.*
  90. Ezquerra M, Carnero C, Blesa R, Oliva R. A novel presenilin 1 mutation (Leu166Arg) associated with early-onset Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2000;57(4):485–488.
  91. Jansen C, Voet W, Head MW, Parchi P, Yull H, Verrips A, Wesseling P, Meulstee J, Baas F, Van Gool WA, Ironside JW, Rozemuller AJM. A novel seven-octapeptide repeat insertion in the prion protein gene (PRNP) in a Dutch pedigree with Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease phenotype: Comparison with similar cases from the literature. *Acta Neuropathol.* 2011;121(1):59–68.
  92. Ng ASL, Tan YJ, Yi Z, Tandiono M, Chew E, Dominguez J, Macas M, Ng E, Hameed S, Ting S, Tan EK, Foo JN, Kandiah N. Targeted exome sequencing reveals homozygous TREM2 R47C mutation presenting with behavioral variant frontotemporal dementia without bone involvement. *Neurobiol Aging.* 2018 Aug;68(January 2015):160.e15-160.e19.
  93. Klunemann HH, Ridha BH, Magy L, Wherrett JR, Hemelsoet DM, Keen RW, De

- Bleecker JL, Rossor MN, Marienhagen J, Klein HE, Peltonen L, Paloneva J. The genetic causes of basal ganglia calcification, dementia, and bone cysts: DAP12 and TREM2. *Neurology*. 2005 May 10;64(9):1502–1507.
94. Lok HC, Kwok JB. The Role of White Matter Dysfunction and Leukoencephalopathy/Leukodystrophy Genes in the Aetiology of Frontotemporal Dementias: Implications for Novel Approaches to Therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 3;22(5):2541.
  95. Kim MO, Takada LT, Wong K, Forner SA, Geschwind MD. Genetic PrP Prion Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018 May;10(5):a033134.
  96. Brown P, Goldfarb LG, McCombie WR, Nieto A, Squillacote D, Sheremata W, Little BW, Godec MS, Gibbs CJ, Gajdusek DC. Atypical Creutzfeldt-Jakob disease in an American family with an insert mutation in the PRNP amyloid precursor gene. *Neurology*. 1992 Feb;42(2):422–422.
  97. Jonsson T, Stefansson H, Steinberg S, Jonsdottir I, Jonsson P V., Snaedal J, Bjornsson S, Huttenlocher J, Levey AI, Lah JJ, Rujescu D, Hampel H, Giegling I, Andreassen OA, Engedal K, Ulstein I, Djurovic S, Ibrahim-Verbaas C, Hofman A, Ikram MA, van Duijn CM, Thorsteinsdottir U, Kong A, Stefansson K. Variant of TREM2 Associated with the Risk of Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 2013;368(2):107–116.
  98. De Roeck A, Van Broeckhoven C, Sleegers K. The role of ABCA7 in Alzheimer's disease: evidence from genomics, transcriptomics and methylomics. *Acta Neuropathol*. 2019 Aug 22;138(2):201–220.
  99. Foroud T, Uniacke SK, Liu L, Pankratz N, Rudolph A, Halter C, Shults C, Marder K, Conneally PM, Nichols WC, the Parkinson Study Group. Heterozygosity for a mutation in the parkin gene leads to later onset Parkinson disease. *Neurology*. 2003 Mar 11;60(5):796–801.
  100. Del Bo R, Di Fonzo A, Ghezzi S, Locatelli F, Stevanin G, Costa A, Corti S, Bresolin N, Comi G Pietro. SPG11: A consistent clinical phenotype in a family with homozygous Spatacsin truncating mutation. *Neurogenetics*. 2007;8(4):301–305.

101. Bravo-Alonso I, Navarrete R, Vega AI, Ruíz-Sala P, García Silva MT, Martín-Hernández E, Quijada-Fraile P, Belanger-Quintana A, Stanescu S, Bueno M, Vitoria I, Toledo L, Couce ML, García-Jiménez I, Ramos-Ruiz R, Martín MÁ, Desviat LR, Ugarte M, Pérez-Cerdá C, Merinero B, Pérez B, Rodríguez-Pombo P. Genes and Variants Underlying Human Congenital Lactic Acidosis—From Genetics to Personalized Treatment. *J Clin Med*. 2019 Nov 1;8(11):1811.
102. Mauri M, Elli T, Caviglia G, Uboldi G, Azzi M. RAWGraphs. In: Proceedings of the 12th Biannual Conference on Italian SIGCHI Chapter. New York, NY, USA: ACM; 2017. p. 1–5.
103. Lacour M, Quenez O, Rovelet-Lecrux A, Salomon B, Rousseau S, Richard AC, Quillard-Muraine M, Pasquier F, Rollin-Sillaire A, Martinaud O, Zarea A, de la Sayette V, Boutoleau-Bretonniere C, Etcharry-Bouyx F, Chauviré V, Sarazin M, le Ber I, Epelbaum S, Jonveaux T, Rouaud O, Ceccaldi M, Godefroy O, Formaglio M, Croisile B, Auriacombe S, Magnin E, Sauvée M, Marelli C, Gabelle A, Pariente J, Paquet C, Boland A, Deleuze JF, Champion D, Hannequin D, Nicolas G, Wallon D. Causative Mutations and Genetic Risk Factors in Sporadic Early Onset Alzheimer’s Disease Before 51 Years. *J Alzheimer’s Dis*. 2019 Sep 3;71(1):227–243.
104. Queralt R, Ezquerro M, Lleó A, Castellví M, Gelpí J, Ferrer I, Acarín N, Pasarín L, Blesa R OR. A novel mutation (V89L) in the presenilin 1 gene in a family with early onset Alzheimer’s disease and marked behavioural disturbances. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002 Feb 1;72(2):266–269.
105. Liu L, Lauro BM, He A, Lee H, Bhattarai S, Wolfe MS, Bennett DA, Karch CM, Young-Pearse T, Selkoe DJ. Identification of the A $\beta$ 37/42 peptide ratio in CSF as an improved A $\beta$  biomarker for Alzheimer’s disease. *Alzheimer’s Dement*. 2023 Jan 12;19(1):79–96.
106. Petit D, Fernández SG, Zoltowska KM, Enzlein T, Ryan NS, O’Connor A, Szaruga M, Hill E, Vandenberghe R, Fox NC, Chávez-Gutiérrez L. A $\beta$  profiles generated by Alzheimer’s disease causing PSEN1 variants determine the pathogenicity of the mutation and predict age at disease onset. *Mol Psychiatry*. 2022 Jun 1;27(6):2821–2832.

107. Ryan NS, Nicholas JM, Weston PSJ, Liang Y, Lashley T, Guerreiro R, Adamson G, Kenny J, Beck J, Chavez-Gutierrez L, de Strooper B, Revesz T, Holton J, Mead S, Rossor MN, Fox NC. Clinical phenotype and genetic associations in autosomal dominant familial Alzheimer's disease: a case series. *Lancet Neurol.* 2016 Dec;15(13):1326–1335.
108. Jayadev S, Leverenz JB, Steinbart E, Stahl J, Klunk W, Yu CE, Bird TD. Alzheimer's disease phenotypes and genotypes associated with mutations in presenilin 2. *Brain.* 2010 Apr;133(4):1143–1154.
109. Bang J, Spina S, Miller BL. Frontotemporal dementia. *Lancet.* 2015 Oct 10;386(10004):1672–1682.
110. Pasanen P, Myllykangas L, Pöyhönen M, Kiviharju A, Siitonen M, Hardy J, Bras J, Paetau A, Tienari PJ, Guerreiro R, Verkkoniemi-Ahola A. Genetics of dementia in a Finnish cohort. *Eur J Hum Genet.* 2018 Jun 23;26(6):827–837.
111. Ramos-Campoy O, Antonell A, Falgàs N, Balasa M, Borrego-Écija S, Rodríguez-Santiago B, Datta D, Armengol L, Fernández-Villullas G, Bosch B, Olives J, Muñoz-García C, Castellví M, Tort-Merino A, Sánchez-Valle R, Lladó A. Screening of dementia genes by whole-exome sequencing in Spanish patients with early-onset dementia: likely pathogenic, uncertain significance and risk variants. *Neurobiol Aging.* 2020 Sep;93:e1–e9.
112. Bellenguez C, Charbonnier C, Grenier-Boley B, Quenez O, Le Guennec K, Nicolas G, Chauhan G, Wallon D, Rousseau S, Richard AC, Boland A, Bourque G, Munter HM, Olaso R, Meyer V, Rollin-Sillaire A, Pasquier F, Letenneur L, Redon R, Dartigues JF, Tzourio C, Frebourg T, Lathrop M, Deleuze JF, Hannequin D, Genin E, Amouyel P, Debette S, Lambert JC, Campion D, Hannequin D, Campion D, Wallon D, Martinaud O, Zarea A, Nicolas G, Rollin-Sillaire A, Bombois S, Mackowiak MA, Deramecourt V, Pasquier F, Michon A, Le Ber I, Dubois B, Godefroy O, Etcharry-Bouyx F, Chauviré V, Chamard L, Berger E, Magnin E, Dartigues JF, Auriacombe S, Tison F, Sayette V de la, Castan D, Dionet E, Sellal F, Rouaud O, Thauvin C, Moreaud O, Sauvée M, Formaglio M, Mollion H, Roullet-Solignac I, Vighetto A, Croisile B, Didic M, Félician O, Koric L, Ceccaldi M, Gabelle A, Marelli C, Labauge P, Jonveaux T,

- Vercelletto M, Boutoleau-Bretonnière C, Castelnovo G, Paquet C, Dumurgier J, Hugon J, De Boissgueheneuc F, Belliard S, Bakchine S, Sarazin M, Barrellon MO, Laurent B, Blanc F, Pariente J, Jurici S. Contribution to Alzheimer's disease risk of rare variants in *TREM2*, *SORL1*, and *ABCA7* in 1779 cases and 1273 controls. *Neurobiol Aging*. 2017 Nov 1;59:220.e1-220.e9.
113. Shi Y, Yamada K, Liddel SA, Smith ST, Zhao L, Luo W, Tsai RM, Spina S, Grinberg LT, Rojas JC, Gallardo G, Wang K, Roh J, Robinson G, Finn MB, Jiang H, Sullivan PM, Baufeld C, Wood MW, Sutphen C, McCue L, Xiong C, Del-Aguila JL, Morris JC, Cruchaga C, Fagan AM, Miller BL, Boxer AL, Seeley WW, Butovsky O, Barres BA, Paul SM, Holtzman DM. ApoE4 markedly exacerbates tau-mediated neurodegeneration in a mouse model of tauopathy. *Nature*. 2017 Sep 20;549(7673):523–527.
114. Rosas I, Martínez C, Coto E, Clarimón J, Lleó A, Illán-Gala I, Dols-Icardo O, Borroni B, Almeida MR, van der Zee J, Van Broeckhoven C, Bruni AC, Anfossi M, Bernardi L, Maletta R, Serpente M, Galimberti D, Scarpini E, Rossi G, Caroppo P, Benussi L, Ghidoni R, Binetti G, Nacmias B, Sorbi S, Piaceri I, Bagnoli S, Antonell A, Sánchez-Valle R, De la Casa-Fages B, Grandas F, Diez-Fairen M, Pastor P, Ferrari R, Queimaliños-Perez D, Pérez-Oliveira S, Álvarez V, Menéndez-González M. Genetic variation in *APOE*, *GRN*, and *TP53* are phenotype modifiers in frontotemporal dementia. *Neurobiol Aging*. 2021 Mar 1;99:99.e15-99.e22.
115. Koriath C, Lashley T, Taylor W, Drueyeh R, Dimitriadis A, Denning N, Williams J, Warren JD, Fox NC, Schott JM, Rowe JB, Collinge J, Rohrer JD, Mead S. Genetics ApoE4 lowers age at onset in patients with frontotemporal dementia and tauopathy independent of amyloid- $\beta$  copathology. 2019 [accessed 2023 Feb 5]; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2019.01.010>
116. Cuyvers E, Sleegers K. Genetic variations underlying Alzheimer's disease: evidence from genome-wide association studies and beyond. *Lancet Neurol*. 2016 Jul;15(8):857–868.
117. Champion D, Charbonnier C, Nicolas G. *SORL1* genetic variants and Alzheimer disease risk: a literature review and meta-analysis of sequencing data. *Acta*

- Neuropathol. 2019 Aug 25;138(2):173–186.
118. Qin Q, Teng Z, Liu C, Li Q, Yin Y, Tang Y. TREM2, microglia, and Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev.* 2021 Apr 1;195.
  119. Shafi S, Singh A, Ibrahim AM, Alhajri N, Abu Izneid T, Pottoo FH. Role of triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (TREM2) in neurodegenerative dementias. *Eur J Neurosci.* 2021 May 26;53(10):3294–3310.
  120. Kulkarni B, Kumar D, Cruz-Martins N, Sellamuthu S. Role of TREM2 in Alzheimer's Disease: A Long Road Ahead. *Mol Neurobiol.* 2021 Oct 1;58(10):5239–5252.
  121. Rayaprolu S, Mullen B, Baker M, Lynch T, Finger E, Seeley WW, Hatanpaa KJ, Lomen-Hoerth C, Kertesz A, Bigio EH, Lippa C, Josephs KA, Knopman DS, White CL, Caselli R, Mackenzie IR, Miller BL, Boczarska-Jedynak M, Opala G, Krygowska-Wajs A, Barcikowska M, Younkin SG, Petersen RC, Ertekin-Taner N, Uitti RJ, Meschia JF, Boylan KB, Boeve BF, Graff-Radford NR, Wszolek ZK, Dickson DW, Rademakers R, Ross OA. TREM2 in neurodegeneration: evidence for association of the p.R47H variant with frontotemporal dementia and Parkinson's disease. *Mol Neurodegener.* 2013 Dec 21;8(1):19.
  122. Borroni B, Ferrari F, Galimberti D, Nacmias B, Barone C, Bagnoli S, Fenoglio C, Piaceri I, Archetti S, Bonvicini C, Gennarelli M, Turla M, Scarpini E, Sorbi S, Padovani A. Heterozygous TREM2 mutations in frontotemporal dementia. *Neurobiol Aging.* 2014 Apr;35(4):934.e7-934.e10.
  123. Cuyvers E, Bettens K, Philtjens S, Van Langenhove T, Gijssels I, van der Zee J, Engelborghs S, Vandenbulcke M, Van Dongen J, Geerts N, Maes G, Matheijssens M, Peeters K, Cras P, Vandenberghe R, De Deyn PP, Van Broeckhoven C, Cruts M, Sleegers K. Investigating the role of rare heterozygous TREM2 variants in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Neurobiol Aging.* 2014 Mar;35(3):726.e11-726.e19.
  124. An SS, Cai Y, Kim S. Mutations in presenilin 2 and its implications in Alzheimer's disease and other dementia-associated disorders. *Clin Interv Aging.* 2015 Jul;10:1163.

125. Tomaino C, Bernardi L, Anfossi M, Costanzo A, Ferrise F, Gallo M, Geracitano S, Maletta R, Curcio SAM, Mirabelli M, Colao R, Frangipane F, Puccio G, Calignano C, Muraca MG, Paonessa A, Smirne N, Leotta A, Bruni AC. Presenilin 2 Ser130Leu mutation in a case of late-onset “sporadic” Alzheimer’s disease [3]. *J Neurol*. 2007;254(3):391–393.
126. Lohmann E, Guerreiro RJ, Erginel-Unaltuna N, Gurunlian N, Bilgic B, Gurvit H, Hanagasi HA, Luu N, Emre M, Singleton A. Identification of PSEN1 and PSEN2 gene mutations and variants in Turkish dementia patients. *Neurobiol Aging*. 2012 Aug;33(8):1850.e17-1850.e27.
127. Tedde A, Nacmias B, Ciantelli M, Forleo P, Cellini E, Bagnoli S, Piccini C, Caffarra P, Ghidoni E, Paganini M, Bracco L, Sorbi S. Identification of New Presenilin Gene Mutations in Early-Onset Familial Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. 2003 Nov 1;60(11):1541.
128. Guerreiro RJ, Bras JM, Santana I, Januario C, Santiago B, Morgadinho AS, Ribeiro MH, Hardy J, Singleton A, Oliveira C. Association of HFE common mutations with Parkinson’s disease, Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment in a Portuguese cohort. *BMC Neurol*. 2006 Dec 6;6(1):24.
129. Paloneva J, Manninen T, Christman G, Hovanes K, Mandelin J, Adolfsson R, Bianchin M, Bird T, Miranda R, Salmaggi A, Tranebjaerg L, Kontinen Y, Peltonen L. Report Mutations in Two Genes Encoding Different Subunits of a Receptor Signaling Complex Result in an Identical Disease Phenotype. *Am J Hum Genet*. 2002;71:656–662.
130. Zhou SLL, Tan CCC, Hou XHH, Cao XPP, Tan L, Yu JTT. TREM2 Variants and Neurodegenerative Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Alzheimer’s Dis*. 2019;1(3):1–14.
131. Sirkis DW, Bonham LW, Aparicio RE, Geier EG, Ramos EM, Wang Q, Karydas A, Miller ZA, Miller BL, Coppola G, Yokoyama JS. Rare TREM2 variants associated with Alzheimer’s disease display reduced cell surface expression. *Acta Neuropathol Commun*. 2016 Dec 2;4(1):98.
132. Kleinberger G, Yamanishi Y, Suárez-Calvet M, Czirr E, Lohmann E, Cuyvers E, Struyfs H, Pettkus N, Wenninger-Weinzierl A, Mazaheri F, Tahirovic S, Lleó A,



- Alcolea D, Fortea J, Willem M, Lammich S, Molinuevo JL, Sánchez-Valle R, Antonell A, Ramirez A, Heneka MT, Slegers K, van der Zee J, Martin JJ, Engelborghs S, Demirtas-Tatlidede A, Zetterberg H, Van Broeckhoven C, Gurvit H, Wyss-Coray T, Hardy J, Colonna M, Haass C. TREM2 mutations implicated in neurodegeneration impair cell surface transport and phagocytosis. *Sci Transl Med*. 2014 Jul 2;6(243).
133. Redaelli V, Salsano E, Colleoni L, Corbetta P, Tringali G, Del Sole A, Giaccone G, Rossi G. Frontotemporal Dementia and Chorea Associated with a Compound Heterozygous TREM2 Mutation. *J Alzheimers Dis*. 2018;63(1):195–201.
134. Papapetropoulos S, Pontius A, Finger E, Karrenbauer V, Lynch DS, Brennan M, Zappia S, Koehler W, Schoels L, Hayer SN, Konno T, Ikeuchi T, Lund T, Orthmann-Murphy J, Eichler F, Wszolek ZK. Adult-Onset Leukoencephalopathy With Axonal Spheroids and Pigmented Glia: Review of Clinical Manifestations as Foundations for Therapeutic Development. *Front Neurol*. 2022 Feb 3;12:788168.
135. Kim EJ, Kim YE, Jang JH, Cho EH, Na DL, Seo SW, Jung NY, Jeong JH, Kwon JC, Park KH, Park KW, Lee JH, Roh JH, Kim HJ, Yoon SJ, Choi SH, Jang JW, Ki CS, Kim SH. Analysis of frontotemporal dementia, amyotrophic lateral sclerosis, and other dementia-related genes in 107 Korean patients with frontotemporal dementia. *Neurobiol Aging*. 2018 Dec 1;72:186.e1-186.e7.
136. Kawakami I, Iseki E, Kasanuki K, Minegishi M, Sato K, Hino H, Shibuya K, Fujisawa K, Higashi S, Akiyama H, Furuta A, Takanashi M, Li Y, Hattori N, Mitsuyama Y, Arai H. A family with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids caused by a novel c.2442 + 2T > C mutation in the CSF1R gene. *J Neurol Sci*. 2016 Aug;367:349–355.
137. Goldfarb LG, Brown P, McCombie WR, Goldgaber D, Swergold GD, Wills PR, Cervenakova L, Baron H, Gibbs CJ, Gajdusek DC. Transmissible familial Creutzfeldt-Jakob disease associated with five, seven, and eight extra octapeptide coding repeats in the PRNP gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(23):10926–10930.
138. Zhao Y, Ho P, Yih Y, Chen C, Lee WL, Tan EK. LRRK2 variant associated with

- Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2011 Nov;32(11):1990–1993.
139. Monfrini E, Melzi V, Buongarzone G, Franco G, Ronchi D, Dilena R, Scola E, Vizziello P, Bordoni A, Bresolin N, Comi G Pietro, Corti S, Di Fonzo A. A de novo C19orf12 heterozygous mutation in a patient with MPAN. *Park Relat Disord*. 2018;48:109–111.
  140. Balicza P, Bencsik R, Lengyel A, Gal A, Grosz Z, Csaban D, Rudas G, Danics K, Kovacs GG, Molnar MJ. Novel dominant MPAN family with a complex genetic architecture as a basis for phenotypic variability. *Neurol Genet*. 2020 Oct 5;6(5):e515.
  141. Taipa R, Pereira C, Reis I, Alonso I, Bastos-Lima A, Melo-Pires M, Magalhães M. DJ-1 linked parkinsonism (PARK7) is associated with Lewy body pathology. *Brain*. 2016;139(6):1680–1687.
  142. Faber I, Martinez ARM, de Rezende TJR, Martins CR, Martins MP, Lourenço CM, Marques W, Montecchiani C, Orlacchio A, Pedroso JL, Barsottini OGP, Lopes-Cendes Í, França MC. SPG11 mutations cause widespread white matter and basal ganglia abnormalities, but restricted cortical damage. *NeuroImage Clin*. 2018;19(February):848–857.
  143. Cesani M, Lorioli L, Grossi S, Amico G, Fumagalli F, Spiga I, Filocamo M, Biffi A. Mutation Update of ARSA and PSAP Genes Causing Metachromatic Leukodystrophy. *Hum Mutat*. 2016;37(1):16–27.
  144. Oji Y, Hatano T, Ueno SI, Funayama M, Ishikawa K ichi, Okuzumi A, Noda S, Sato S, Satake W, Toda T, Li Y, Hino-Takai T, Kakuta S, Tsunemi T, Yoshino H, Nishioka K, Hattori T, Mizutani Y, Mutoh T, Yokochi F, Ichinose Y, Koh K, Shindo K, Takiyama Y, Hamaguchi T, Yamada M, Farrer MJ, Uchiyama Y, Akamatsu W, Wu YR, Matsuda J, Hattori N. Variants in saposin D domain of prosaposin gene linked to Parkinson's disease. *Brain*. 2020 Apr 1;143(4):1190–1205.
  145. Sirkis DW, Bonham LW, Yokoyama JS. The role of microglia in inherited white-matter disorders and connections to frontotemporal dementia. *Appl Clin Genet*. 2021;14:195–207.

146. Mendsaikhan A, Tooyama I, Serrano GE, Beach TG, Walker DG. Loss of Lysosomal Proteins Progranulin and Prosaposin Associated with Increased Neurofibrillary Tangle Development in Alzheimer Disease.
147. Mendsaikhan A, Tooyama I, Bellier JP, Serrano GE, Sue LI, Lue LF, Beach TG, Walker DG. Characterization of lysosomal proteins Progranulin and Prosaposin and their interactions in Alzheimer's disease and aged brains: Increased levels correlate with neuropathology. *Acta Neuropathol Commun.* 2019;7(1):1–26.
148. Zhou X, Sun L, Bracko O, Choi JW, Jia Y, Nana AL, Brady OA, Hernandez JCC, Nishimura N, Seeley WW, Hu F. Impaired prosaposin lysosomal trafficking in frontotemporal lobar degeneration due to progranulin mutations. *Nat Commun.* 2017 May 25;8(1):15277.
149. Simon MJ, Logan T, DeVos SL, Di Paolo G. Lysosomal functions of progranulin and implications for treatment of frontotemporal dementia. *Trends Cell Biol.* 2022 Oct 13;
150. Swerdlow RH. Mitochondria and Mitochondrial Cascades in Alzheimer's Disease. Perry G, Avila J, Tabaton M, Zhu X, editors. *J Alzheimer's Dis.* 2018 Mar 13;62(3):1403–1416.
151. Wang X, Wang W, Li L, Perry G, Lee H gon, Zhu X. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2014 Aug;1842(8):1240–1247.
152. Mosconi L, Pupi A, De Leon MJ. Brain Glucose Hypometabolism and Oxidative Stress in Preclinical Alzheimer's Disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Dec 8;1147(1):180–195.
153. Gibson GE, Park LC., Sheu KFR, Blass JP, Calingasan NY. The  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase complex in neurodegeneration. *Neurochem Int.* 2000 Feb;36(2):97–112.
154. Huang Z, Wang H, Wang D, Zhao X, Liu W, Zhong X, He D, Mu B, Lu M. Identification of core genes in prefrontal cortex and hippocampus of Alzheimer's disease based on mRNA-miRNA network. *J Cell Mol Med.* 2022 Dec 19;26(23):5779–5793.

## 10 Saját publikációk jegyzéke

### A disszertációhoz kapcsolódó publikációk

Csaban D, Illes A, Renata TB, Balicza P, Pentelenyi K, Molnar V, Gezsi A, Grosz Z, Gal A, Kovacs T, Klivenyi P, Molnar MJ. Genetic landscape of early-onset dementia in Hungary. *Neurol Sci.* 2022 Sep;43(9):5289-5300. doi: 10.1007/s10072-022-06168-8. Epub 2022 Jun 25. PMID: 35752680; PMCID: PMC9385840.

Csaban D, Pentelenyi K, Toth-Bencsik R, Illes A, Grosz Z, Gezsi A, Molnar MJ. The Role of the Rare Variants in the Genes Encoding the Alpha-Ketoglutarate Dehydrogenase in Alzheimer's Disease. *Life (Basel).* 2021 Apr 6;11(4):321. doi: 10.3390/life11040321. PMID: 33917565; PMCID: PMC8067443.

### A disszertációhoz nem kapcsolódó publikációk

Molnár E, Kovács G, Varga L, Tasnády S, Bors A, Tankó L, Csabán D, Kapócs K, Nemes-Nagy Z, Andrikovics H. Nem malignus, nem infectiosus lymphoproliferatio: kihívások az autoimmun lymphoproliferatív szindróma diagnosztikájában és kezelésében. *Orv Hetil.* 2022 Jan 23;163(4):123–131.

Melicher D, Illés A, Littvay L, Domonkos Tárnoki Á, László Tárnoki D, Bikov A, Kunos L, Csabán D, Buzás EI, Molnár MJ, Falus A. Positive association and future perspectives of mitochondrial DNA copy number and telomere length – a pilot twin study. *Arch Med Sci.* 2019;17(5):1191–1199.

Nagy Á, Andrikovics H, Kajtár B, Ujfalusi A, László Z, Kotmayer L, Csabán D, Bors A, Makkos-Weisz A, Kapitány E, Sulák A, Bödör C. Az IGHV-mutációs státusz vizsgálata a Magyar Hematológiai és Transzfuziológiai Társaság Molekuláris Diagnosztika Munkacsoportjának laboratóriumaiban. *Hematológia–Transzfuziológia.* 2021 Jun 30;54(2):75–80.

Balicza P, Bencsik R, Lengyel A, Gal A, Grosz Z, Csaban D, Rudas G, Danics K, Kovacs GG, Molnar MJ. Novel dominant MPAN family with a complex genetic architecture as a basis for phenotypic variability. *Neurol Genet.* 2020 Oct 5;6(5):e515.

Illés A, Balicza P, Gál A, Pentelényi K, Csabán D, Gézsi A, Molnár V, Molnár MJ. Az örökletes Parkinson-kór mint a POLG-gén károsodásának új klinikai megjelenési formája. *Orv Hetil.* 2020 May;161(20):821–828.

Stengl R, Bors A, Ágg B, Pólos M, Matyas G, Molnár MJ, Fekete B, Csabán D, Andrikovics H, Merkely B, Radovits T, Szabolcs Z, Benke K. Optimising the mutation screening strategy in Marfan syndrome and identifying genotypes with more severe aortic involvement. *Orphanet J Rare Dis.* 2020 Dec 15;15(1):290.

Andrikovics H, Kövy P, Bors A, Csabán D, Meggyesi N, Örfi Z, Borsy A, Kozma A, Dolgos J, Harasztdombi J, Mikala G, Reményi P, Vályi-Nagy I. [Importance of next generation sequencing in precision oncology approach of acute myeloid leukemia]. *Magy Onkol.* 2019 Dec 9;63(4):282–287.

Illés A, Csabán D, Grosz Z, Balicza P, Gézsi A, Molnár V, Bencsik R, Gál A, Klivényi P, Molnár MJ. The role of genetic testing in the clinical practice and research of early-onset parkinsonian disorders in a hungarian cohort: Increasing challenge in genetic counselling, improving chances in stratification for clinical trials. *Front Genet.* 2019;10(OCT).

Balicza P, Grosz Z, Molnár V, Illés A, Csabán D, Gézsi A, Dézsi L, Zádori D, Vécsei L, Molnár MJ. NKX2-1 New Mutation Associated With Myoclonus, Dystonia, and Pituitary Involvement. *Front Genet.* 2018 Aug 22;9(AUG):1–5.

## 11 Köszönetnyilvánítás

Elsőként szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek **Prof. Dr. Molnár Mária Juditnak**, hogy PhD képzésem során irányította és segítette kutatómunkámat, valamint lehetővé tette a doktori munkám elkészítését.

Szeretném külön megköszönni **Dr. Illés Anettnek**, **Bencsik Renátának**, **Dr. Pentelényi Klárának** és **Kovács Margitnak** az első laboratóriumi munkáktól a publikációk elkészítésén át a disszertáció megírásáig nyújtott segítséget és támogatást. Köszönöm a bioinformatikai munkában nyújtott segítséget Dr. Gézsi Andrásnak, Dr. Molnár Viktornak és Dr. Balicza Péternek. Valamint köszönöm a Semmelweis Egyetem Genomikai Medicina és Ritka Betegégek Intézetének valamennyi munkatársának – biológus-, asszisztens- és orvoskollégáknak, valamint az Intézet életét szervező valamennyi kollégának-, az együtt eltöltött szorgos hétköznapiakat és a kutatómunkámhoz nyújtott segítséget.

Végül, de nem utolsó sorban köszönettel tartozom **férjemnek**, **családomnak** és **barátaimnak**, hogy a PhD képzés éve alatt végig segítettek.

Kutatásomhoz anyagi támogatást nyújtott a KTIA\_13\_NAP-A-III/6 Nemzeti Agykutatási Program, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH, Grant No. OTKA139010, és a TKP2021-EGA-25, TKP2021-NVA-15.

## 12 Mellékletek

## 1.melléklet: Újgenerációs szekvenálással vizsgált gének célzott panel esetén

<i>Gén</i>	<i>Gén név</i>
<b><i>ABCA7</i></b>	ATP binding cassette subfamily A member 7
<b><i>ABI3</i></b>	ABI Family Member 3
<b><i>ADAM10</i></b>	ADAM metallopeptidase domain 10
<b><i>ADORA1</i></b>	Adenosine A1 receptor
<b><i>AKT1</i></b>	AKT serine/threonine kinase 1
<b><i>ALS2</i></b>	Alsin Rho guanine nucleotide exchange factor ALS2
<b><i>ANG</i></b>	Angiogenin
<b><i>APOE</i></b>	Apolipoprotein E
<b><i>APP</i></b>	Amyloid precursor protein
<b><i>APTX</i></b>	Aprataxin
<b><i>ATM</i></b>	ATM serine/threonine kinase
<b><i>ATP13A2</i></b>	ATPase cation transporting 13A2
<b><i>ATPIA3</i></b>	ATPase Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> transporting subunit alpha 3
<b><i>ATP6AP2</i></b>	ATPase H <sup>+</sup> transporting accessory protein 2
<b><i>ATXN2</i></b>	Ataxin 2
<b><i>BACE1</i></b>	Beta-secretase 1
<b><i>BINI</i></b>	Bridging integrator 1
<b><i>C19ORF12</i></b>	Chromosome 19 open reading frame 12
<b><i>C21ORF2</i></b>	Chromosome 21 open reading frame 2
<b><i>C9ORF72</i></b>	Chromosome 9 open reading frame 72
<b><i>CASS4</i></b>	Cas Scaffold Protein Family Member 4
<b><i>CD2AP</i></b>	CD2 associated protein
<b><i>CD33</i></b>	CD33 molecule
<b><i>CELF1</i></b>	CUGBP Elav-Like Family Member 1
<b><i>CFL1</i></b>	Cofilin 1
<b><i>CHCHD10</i></b>	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 10
<b><i>CHCHD2</i></b>	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 2

<b><i>CHMP2B</i></b>	Charged multivesicular body protein 2B
<b><i>CLU</i></b>	Clusterin
<b><i>COASY</i></b>	Coenzyme A Synthase
<b><i>CP</i></b>	Ceruloplasmin
<b><i>CRI</i></b>	Complement C3b/C4b receptor 1
<b><i>CTSD</i></b>	Cathepsin D
<b><i>CSF1R</i></b>	Colony stimulating factor 1 receptor
<b><i>CST3</i></b>	Cystatin C
<b><i>DCAF17</i></b>	DDB1 and CUL4 associated factor 17
<b><i>DCC</i></b>	DCC netrin 1 receptor
<b><i>DCTN1</i></b>	Dynactin subunit 1
<b><i>DNAJC13</i></b>	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C13
<b><i>DNAJC5</i></b>	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C5
<b><i>DNAJC6</i></b>	DnaJ heat shock protein family (Hsp40) member C6
<b><i>DNAL4</i></b>	Dynein Axonemal Light Chain 4
<b><i>DNMT1</i></b>	DNA methyltransferase 1
<b><i>EIF4G1</i></b>	Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 1
<b><i>ELAVL1</i></b>	ELAV like RNA binding protein 1
<b><i>EPHA1</i></b>	EPH receptor A1
<b><i>EPHA4</i></b>	EPH receptor A4
<b><i>ERBB4</i></b>	Erb-b2 receptor tyrosine kinase 4
<b><i>FA2H</i></b>	Fatty Acid 2-Hydroxylase
<b><i>FBXO7</i></b>	F-box protein 7
<b><i>FIG4</i></b>	FIG4 phosphoinositide 5-phosphatase
<b><i>FTL</i></b>	Ferritin light chain
<b><i>FUS</i></b>	FUS RNA binding protein
<b><i>GBA</i></b>	Glucosylceramidase beta
<b><i>GCH1</i></b>	GTP cyclohydrolase 1
<b><i>GIGYF2</i></b>	GRB10 interacting GYF protein 2
<b><i>GRN</i></b>	Granulin precursor
<b><i>HNRNPA1</i></b>	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1



<b><i>HNRNPA2B1</i></b>	Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein A2/B1
<b><i>HTRA2</i></b>	HtrA serine peptidase 2
<b><i>ITM2B</i></b>	Integral Membrane Protein 2B
<b><i>LRRK2</i></b>	Leucine rich repeat kinase 2
<b><i>MAPT</i></b>	Microtubule associated protein tau
<b><i>MARK2</i></b>	microtubule affinity regulating kinase 2
<b><i>MARK4</i></b>	Microtubule Affinity Regulating Kinase 4
<b><i>MATR3</i></b>	Matrin 3
<b><i>MS4A4A</i></b>	Membrane Spanning 4-Domains A4A
<b><i>MS4A4E</i></b>	membrane spanning 4-domains A4E
<b><i>MS4A6A</i></b>	membrane spanning 4-domains A6A
<b><i>MS4A6E</i></b>	Membrane Spanning 4-Domains A6E
<b><i>NEFH</i></b>	Neurofilament Heavy Chain
<b><i>NEU1</i></b>	Neuraminidase 1
<b><i>NOTCH3</i></b>	Notch receptor 3
<b><i>OPTN</i></b>	Optineurin
<b><i>PANK2</i></b>	Pantothenate kinase 2
<b><i>PARK2/PRKN</i></b>	Parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase
<b><i>PARK7</i></b>	Parkinsonism associated deglycase
<b><i>PFN1</i></b>	Profilin 1
<b><i>PICALM</i></b>	Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein
<b><i>PINK1</i></b>	PTEN induced kinase 1
<b><i>PLA2G6</i></b>	Phospholipase A2 group VI
<b><i>POLG</i></b>	DNA polymerase gamma, catalytic subunit
<b><i>PRKRA</i></b>	Protein activator of interferon induced protein kinase
<b><i>PRNP</i></b>	Prion protein
<b><i>PRPH</i></b>	Peripherin
<b><i>PSAP</i></b>	Prosaposin
<b><i>PSEN1</i></b>	Presenilin 1
<b><i>PSEN2</i></b>	Presenilin 2
<b><i>PTK2B</i></b>	Protein tyrosine kinase 2 beta

<b><i>RAD51</i></b>	RAD51 recombinase
<b><i>SCP2</i></b>	Sterol Carrier Protein 2
<b><i>SETX</i></b>	Senataxin
<b><i>SIGMAR1</i></b>	Sigma Non-Opioid Intracellular Receptor 1
<b><i>SLC30A10</i></b>	Solute carrier family 30 member 10
<b><i>SLC6A3</i></b>	Solute carrier family 6 member 3
<b><i>SNCA</i></b>	Synuclein alpha
<b><i>SNCB</i></b>	synuclein beta
<b><i>SOD1</i></b>	Superoxide dismutase 1
<b><i>SORL1</i></b>	Sortilin related receptor 1
<b><i>SPG11</i></b>	SPG11 vesicle trafficking associated, spatascin
<b><i>SPR</i></b>	Sepiapterin reductase
<b><i>SQSTM1</i></b>	Sequestosome 1
<b><i>SYNJ1</i></b>	Synaptojanin 1
<b><i>TAF1</i></b>	TATA-box binding protein associated factor 1
<b><i>TARDBP</i></b>	TAR DNA binding protein
<b><i>TBK1</i></b>	TANK binding kinase 1
<b><i>TBP</i></b>	TATA-box binding protein
<b><i>TFG</i></b>	Trafficking From ER To Golgi Regulator
<b><i>TH</i></b>	Tyrosine hydroxylase
<b><i>THAP1</i></b>	THAP Domain Containing 1
<b><i>TMEM106B</i></b>	Transmembrane protein 106B
<b><i>TMEM230</i></b>	Transmembrane protein 230
<b><i>TOMM40</i></b>	Translocase of outer mitochondrial membrane 40
<b><i>TOR1A</i></b>	Torsin family 1 member A
<b><i>TPPI</i></b>	Tripeptidyl peptidase 1
<b><i>TREM2</i></b>	Triggering receptor expressed on myeloid cells 2
<b><i>TUBA4A</i></b>	Tubulin Alpha 4a
<b><i>TYROBP</i></b>	TYRO protein tyrosine kinase binding protein
<b><i>UBE3A</i></b>	Ubiquitin protein ligase E3A
<b><i>UBQLN2</i></b>	Ubiquilin 2

<b><i>UCHL1</i></b>	Ubiquitin C-terminal hydrolase L1
<b><i>UNC13A</i></b>	Unc-13 Homolog A
<b><i>VAPB</i></b>	VAMP associated protein B and C
<b><i>VCP</i></b>	Valosin containing protein
<b><i>VPS13C</i></b>	Vacuolar protein sorting 13 homolog C
<b><i>VPS35</i></b>	VPS35 retromer complex component
<b><i>WDR45</i></b>	WD repeat domain 45