

Rastúci význam genetiky a koncept genetického testovania v oblasti Alzheimerovej choroby a príbuzných demencií. Skúsenosti z jedného centra

prof. MUDr. Stanislav Šutovský, PhD.¹, MUDr. Patrik Karapin, PhD.¹, RNDr. Róbert Petrovič, PhD.², RNDr. Katarína Kolejková, PhD.², prof. MUDr. Peter Turčáni, PhD.¹

¹I. neurologická klinika LF UK a UNB, Bratislava

²Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava

Vedecká obec postupne rozuzluje etiologické faktory a patogenetické mechanizmy neurodegeneratívnych ochorení. Z roka na rok pribúdajú dôkazy o čoraz väčšej sile genetického pozadia ako etiologického faktora. V našom príspevku integrujeme dve roviny pohľadu na genetiku Alzheimerovej choroby a príbuzných demencií. V prvej časti článku sumarizujeme súčasné poznatky o genetickom pozadí neurodegeneratívnych demencií s hlavným zameraním sa na Alzheimerovu chorobu. Okrem „klasických“ kauzálnych génov a génov susceptibility prinášame prehľad vybraných „nových“ génov, ktorých polymorfizmy môžu zvyšovať náchylnosť na Alzheimerovu chorobu. V druhej časti – Skúsenosti z jedného centra – prinášame pohľad na vývoj a súčasný koncept genetického testovania na I. neurologickej klinike v Bratislave. Predstavujeme panel génov pre demencie, ktorý v súčasnosti zahŕňa 45 génov zapojených do patogenézy Alzheimerovej choroby, frontotemporálnej demencie, Parkinsonovej choroby a zriedkavých demencií. V blízkej budúcnosti ho plánujeme rozšíriť na 150-génový panel a postupne kontinuálne aktualizovať. Rozsah genetického testovania, ktorý prinášame v tomto príspevku, sa vzťahuje hlavne na kliniky špecializované na demencie a špecializované centrá pre demencie. Načrtávame koncept, akým by sa mohlo testovanie uberať do budúcnosti na príklade konceptu testovania na našej I. neurologickej klinike. V každom prípade sa snažíme priblížiť problematiku aj ostatným neurologickým klinikám, oddeleniam a ambulanciám, ktoré sa rovnako môžu zapojiť do tohto systému, ak majú vhodných pacientov. Článok ukončujeme kapitolou o relatívite súčasných poznatkov, ktorá odzrkadľuje turbulentnú tému genetiky Alzheimerovej choroby, ktorá sa neustále mení, rozširuje, aktualizuje a možno prinesie odpovede na množstvo v súčasnosti nezodpovedaných otázok.

Kľúčové slová: Alzheimerova choroba, apolipoproteín E4, genetické testovanie, panel génov.

The growing importance of genetics and the concept of genetic testing in Alzheimer's disease and related dementias. Experience from one center

The scientific community is gradually unraveling the etiological factors and pathogenetic mechanisms of neurodegenerative diseases. From year to year there is the robust evidence of the increasing power of the genetic background as an etiological factor. In our paper, we integrate two levels of insight into the genetics of Alzhei-

DECLARATIONS:

Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18th WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

Conflict of interest:

Not applicable.

Consent for publication:

Not applicable.

Authors' contributions:

Not applicable.

Cit. zkr: *Neurol. praxi.* 2024;25(2):97-106

<https://doi.org/10.36290/neu.2024.014>

Článok prijat redakci: 4. 8. 2023

Článok prijat k publikaci: 1. 3. 2024

prof. MUDr. Stanislav Šutovský, PhD.
nilusuto@gmail.com

mer's disease and related dementias. In the first part of the article, we summarize current knowledge about the genetic background of neurodegenerative dementias, with the main focus on Alzheimer's disease. In addition to "classic" causal genes and susceptibility genes, we provide an overview of selected "new" genes whose polymorphisms can increase susceptibility to Alzheimer's disease. In the second part – Experience from one center – we present an insight into the development and current concept of genetic testing at the I. Neurological Clinic. We present a dementia gene panel that currently includes 45 genes involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease, Frontotemporal dementia, Parkinson's disease and rare dementias. In the near future, we plan to expand it to a 150 gene panel and gradually update it continuously. The scope of genetic testing that we present in this manuscript mainly applies to dementia clinics and dementia centers. We outline the concept of how testing should proceed in the future using the example of the testing concept at our I. Neurological Clinic. In any case, we are trying to bring this issue closer to other neurological clinics, departments and outpatient clinics, which can also join this system if they have suitable patients. We conclude the article with a chapter on the relativity of current knowledge, which reflects the turbulent topic of the genetics of Alzheimer's disease, which is constantly changing, expanding and updating, and may bring answers to a number of currently unanswered questions.

Key words: Alzheimer's disease, apolipoprotein E4, genetic testing, gene panel.

I. Genetika Alzheimerovej choroby

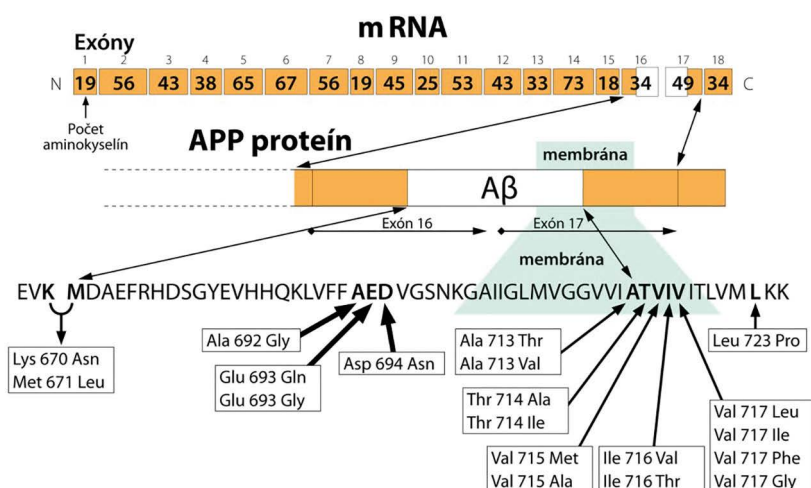
Od Aloisa Alzheimerova po súčasnosť

Neurodegeneratívne ochorenia predstavujú unikátnu skupinu ochorení, pri ktorých degenerujú špecifické populácie neurónov, charakteristické pre konkrétne ochorenie, s postupným rozšírením podmienujúcej patológie do väčšiny mozgových teritórií. Až do 80. rokov 20. storočia vychádzala histológia neurodegeneratívnych

ochorení z klasických histopatologických farbení (H & E, Bielschowského impregnácia striebrom a podobne), ktoré pri Alzheimerovej chorobe detegovali neurofibrilárne kľbká a senilné plaky, pri Pickovej chorobe Pickove telieska, pri Parkinsonovej chorobe Lewyho telieska, a mohli by sme pokračovať ďalšími neurodegeneratívnymi ochoreniami. Patológie, ktoré neboli identifikovateľné týmito farbeniami, ostávali nerozpoznané a dokonca bol pre ne rezervovaný názov *dementia lacking distinctive histopathology*. Až rozvoj poznania na konci ose-

mdesiatych rokov odhalil proteíny, z ktorých sú tieto histopatologické morfy zložené. Boli vytvorené protilátky proti patologickým formám proteínov, ktoré omnoho presnejšie detegovali molekulárnu patológiu v post mortem vzorkách. V priebehu ďalších piatich rokov boli objavené a osekvenované ich kódujúce gény – gén pre amyloidový prekurzorový proteín (APP), tau proteín (MAPT) a neskôr presenilín 1 a 2 (PSEN1 a PSEN2). Familiárne prípady Alzheimerovej a Pickovej choroby boli známe už od tridsiatych rokov minulého storočia. Až v roku 1991 sa tímu okolo Alison Goate podarilo preukázať prvú mutáciu APP génu vo veľkej rodine s familiárnym výskytom Alzheimerovej choroby (Goate, 1991). Týmto seminálnym objavom bola odštartovaná éra genetiky Alzheimerovej choroby a neurodegeneratívnych demencií.

Obr. 1. Mutácie amyloidového prekurzorového proteínu (APP)



Variácie histopatologického obrazu pri jednotlivých mutáciách APP

- | | |
|---------------------------------|---|
| ■ Ala692Gly (Flemish) | veľké denzné plaky |
| ■ Glu693Gly (Arctic) | prstencovité plaky |
| ■ Asp694Asn (Iowa); Ala 713 Thr | výrazná CAA |
| ■ Glu693Gln (Dutch) | CAA, minimálne plaky a kľbká, len CAA |
| ■ Val717Ile, Phe, Gly Leu | najčastejšia mutácia, k histopatologickému obrazu patria aj Lewyho telieska |

Didaktické rozdelenie Alzheimerovej choroby na základe veku nástupu ochorenia a genetiky

Alzheimerova choroba so skorým začiatkom (do 65. roku života) zahŕňa familiárnu autozomálne dominantnú Alzheimerovu chorobu a takisto sporadické prípady, ktoré sa vyskytujú do 65. roku života.

Familiárna autozomálne dominantná Alzheimerova choroba (FAD)

Amyloidový prekurzorový proteín (APP), tau proteín, presenilín 1 (PS1) a presenilín 2 (PS2)

Familiárna autozomálne dominantná Alzheimerova choroba je spôsobená

mutáciami tzv. veľkých génov (*APP*, *PSEN1* a *PSEN2*). Tieto mutácie síce predstavujú len menej ako 5 % všetkých prípadov AD, avšak priniesli okno do patogenézy ochorenia. Slúžili ako nástroje na produkciu transgénnych zvierat, hlavne myši, ako animálnych modelov pre Alzheimerovu chorobu.

Amyloidový prekurzorový proteín (APP) je transmembránový glykoproteín, ktorý je kódovaný génom na 21. chromozóme. Alternatívnym zostrihom vznikajú tri izoformy s dĺžkou 770, 751 a 695 aminokyselín, pričom posledná z menovaných izoformiem je najviac zastúpená v neurónoch. *APP* gén pozostáva z 18 exónov, pričom exón 16 a 17 zodpovedá úseku beta amyloidu, je najčastejšie postihnutý bodovými mutáciami, ktoré sú vo väčšine prípadov asociované s patologickým fenotypom (Obr. 1). Vek nástupu príznakov varíruje v závislosti od typu mutácie, ale aj v rámci tej istej mutácie sú prítomné inter-individuálne variability, pravdepodobne na podklade epistatickej interakcie s inými génmi, napr. ApoE4 (Bu, 2009). Napríklad nositelia mutácie p. Val717Ile vyvíjajú prvé príznaky ochorenia vo veku okolo 35 – 40 rokov, ochorenie má rýchlu progresiu a v priebehu 5 rokov končí letálne alebo vedie do stavu akinetického mutizmu. Mutácie *APP* predstavujú približne 10 % prípadov familiárnej Alzheimerovej choroby (Goate et Hardy, 2011).

Mutácie presenilínu 1 a presenilínu 2 majú podobnú fenotypovú prezentáciu ako v prípade *APP*, ochorenie však spravidla začína neskôr a priebeh je benígnejší. Presenilín 1 a 2 sú transmembránové glykoproteíny s enzymatickou aktivitou proteáz. Lokalizované sú v membráne endoplazmatického retikula a sú hlavnými jednotkami gama-sekretázového komplexu, ktorý štiepi *APP* za vzniku patologického amyloidu beta. Mutácie presenilínu sú spojené s nadprodukciou amyloidu beta (Herz, 2000). V géne pre presenilín 1 bolo doposiaľ identifikovaných vyše 180 bodových mutácií a defektný presenilín 1 je zodpovedný až za 69 % prípadov familiárnej Alzheimerovej choroby (Schelberg et Montine, 2012; Ali et al., 2023). Pri presenilíne 2 je známych 16 bodových mutácií a sú zodpovedné približne za 5 % prípadov familiárnej Alzheimerovej choro-

by. Penetrancia *APP*, *PSEN1* a *PSEN2* mutácií je prakticky 100 %, to znamená, že do 65. roku života každý nositeľ patologickej mutácie rozvinie patologický fenotyp. Približne u 15 % pacientov s FAD neboli zistené mutácie v žiadnom z vyššie uvedených troch génov. V týchto prípadoch prichádzajú do úvahy zriedkavejšie mutácie v génoch pre Alzheimerovu chorobu so skorým začiatkom, ktoré preberáme nižšie.

Na Slovensku sme za dvadsaťročné obdobie testovania doposiaľ identifikovali dve rodiny s familiárnou Alzheimerovou chorobou spojenou s mutáciami týchto génov. Prvá rodina je zo Záhoria s familiárnym výskytom Alzheimerovej choroby v minimálne piatich generáciách s vekom začiatku medzi 35. a 50. rokom života. Sekvenčnou analýzou sme u postihnutých identifikovali mutáciu v *APP* géne s následnou zámenou p. Val717Phe. Druhá rodina je z východného Slovenska, kde sme vyšetrili pacienta, u ktorého ochorenie začalo v 37. roku života a zomrel ako 44-ročný. V rodokmeni sme identifikovali segregáciu patogénnej alely v 4 generáciách. U pacienta sme zistili mutáciu v géne pre *PSEN1* s následnou zámenou p. Thr116Asn. Histopatologickým rozborom post mortem sme identifikovali typický vzorec distribúcie tau proteínovej (6/6 štádium podľa Braaka) aj beta amyloidnej patológie (5/6 štádium podľa Thala) v mozgu pacienta (Šutovský et al., 2018).

Alzheimerova choroba s neskorým začiatkom (po 65. roku života) predstavuje viac ako 85 % všetkých prípadov Alzheimerovej choroby. Na jej rozvoji sa podieľajú gény, ktoré zvyšujú susceptibilitu na Alzheimerovu chorobu, hlavne $\epsilon 4$ alela apolipoproteínu E, tzv. ApoE4, a množstvo ďalších génov. Je potrebné uviesť, že delenie na AD so skorým začiatkom a AD s neskorým začiatkom sa používa do veľkej miery z didaktických dôvodov, vo svetle nových poznatkov by sa dalo skôr hovoriť o určitom kontinuu.

Gény zvyšujúce susceptibilitu (vnímavosť) na Alzheimerovu chorobu

Gény zvyšujúce susceptibilitu na Alzheimerovu chorobu predstavujú veľkú skupinu génov, ktorých génové produkty sú zapojené do molekulárnych dráh Alzheimerovej

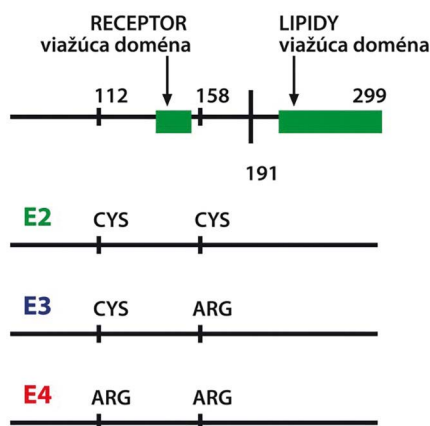
choroby. Dodnes ich bolo opísaných okolo sto, avšak väčšiu klinickú relevanciu má približne dvadsať z nich. S cieľom bližšej identifikácie sme vybrali päť najdôležitejších génov na základe robustnosti dôkazu ich zapojenia do patogenézy AD, celkového významu a frekvencie ich výskytu v rôznych monocentrických aj multicentrických genetických štúdiách (Bellenguez et al., 2022). Zo všetkých týchto génov má najvýznamnejšie postavenie gén pre apolipoproteín E.

Apolipoproteín E (APOE)

Tím Alana Rosesa v roku 1993 preukázal, že u pacientov s Alzheimerovou chorobou s neskorým začiatkom je signifikantne výraznejšie zastúpená izoforma 4 apolipoproteínu E, neskôr skráteno označovaná ako ApoE4 (Strittmatter et al., 1993), ktorá je kódovaná alelou $\epsilon 4$ *APOE* génu, ktorý je lokalizovaný na 19. chromozóme. V populácii sa vyskytujú tri frekventované alely apolipoproteínu E – $\epsilon 2$ s výskytom 8 %, $\epsilon 3$ vyskytujúca sa v 77 % a $\epsilon 4$ s výskytom 15 %, ktoré kódujú príslušné izoformy apolipoproteínu E, označované ako ApoE2, ApoE3 a ApoE4. Syntetizované izoformy sa rozlišujú na základe prítomnosti cysteínu alebo arginínu na 112. a 158. pozícii v poradí polypeptidového reťazca (Obr. 2), (Strittmatter et al., 1993). ApoE4 dnes vnímame ako suverénne najvýznamnejší rizikový faktor (nielen genetický) pre rozvoj Alzheimerovej choroby s neskorým začiatkom, ktorá býva často označovaná aj ako sporadická. Pojem sporadická sa vo svetle dnešných poznatkov javí ako obsolentný a prekonaný. Mal by byť nahradený pojmom *Alzheimerova choroba s neskorým začiatkom*, v anglickej literatúre *late onset Alzheimer's disease (LOAD)*. V ďalších dvadsiatich rokoch sa postupne hromadili dôkazy o funkcii ApoE a objasňovala sa patologická úloha ApoE4. Zistilo sa, že ApoE4 podporuje tvorbu a ukladanie amyloidu beta viacerými spôsobmi, pričom kľúčovú úlohu zohráva pravdepodobne nízka lipidizácia molekuly ApoE4 a slabá väzba na lipidy (Huang et al., 2016). ApoE4 znižuje klírens, podporuje agregáciu a ukladanie amyloidu beta. ApoE4 tiež prispieva k patogenéze AD mechanizmami nezávislými od amyloidu beta, ktoré zahŕňajú synaptickú plasticitu, homeostázu cholesterolu, neurovaskulárne funkcie

a neurozápal (Liu et al., 2013). Liečba AD zameraná na ApoE by sa mala orientovať na obnovenie fyziologického stavu funkcie ApoE prostredníctvom zvýšenia expresie protektívnej izoformy ApoE2 a/alebo znížením expresie ApoE4 (Liu et al., 2013). Rovnako sú skúmané stratégie zamerané na zvýšenie lipidizácie molekuly ApoE4 a tým inhibíciu jej škodlivých účinkov (Noveir et al., 2022). Stále však neexistuje jednoznačný dôkaz o prepojení amyloidovej a tau proteínovej patológie v mozgu, ako ani presný mechanizmus, akým ApoE4 stimuluje rozvoj tau proteínovej patológie. Ďalšou prominujúcou otázkou naďalej ostáva, čo spôsobuje neurodegeneráciu u ApoE4 nositeľov, ktorých je minimálne 30 % spomedzi LOAD. Od roku 2005 prebieha intenzívne hľadanie ďalších kauzálnych génov pre Alzheimerovu chorobu s neskorým začiatkom, ale aj iné demencie so skorým začiatkom. Postupne boli objavované ďalšie gény.

Obr. 2. Tri izoformy apolipoproteínu E líšiace sa v prítomnosti cysteínu alebo arginínu na 112. a 158. pozícii



Ďalšie významné gény susceptibility na Alzheimerovu chorobu

V ďalšom texte opisujeme tri gény susceptibility na Alzheimerovu chorobu. V literatúre sa uvádzajú ako gény susceptibility na AD so skorým aj neskorým začiatkom. Individuálna vnímavosť a potenciálna interakcia s inými génmi, hlavne s *APOE*, bude pravdepodobne hrať zásadnú úlohu pri vytváraní individuálneho rizika. Gény *TREM2*, *ABCA7* a *SORL1* majú ako „nové“ gény susceptibility najrobustnejšiu podporu významu prostredníctvom celogenómových asoci-

ačných štúdií (GWAS) a metaanalýz (okrem ApoE) (Holstege et al., 2022). Samozrejme je potrebné povedať, že pri porovnaní s významom ApoE predstavujú len menej ako 5 % prípadov LOAD, ich význam však narastá v kategórii EOAD či už s familiárnym, alebo sporadickým výskytom.

TREM2

TREM2 (triggering receptors expressed on myeloid cells – TREMs receptors) predstavujú receptorovú rodinu modulujúcu nešpecifickú imunitu. Sú exprimované na mnohých bunkách imunitného systému vrátane neutrofilov, monocytov, mikroglie a osteoklastov. Napomáhajú odstraňovaniu bunkového detritu a opotrebovaných proteínov bez aktivácie excesívneho zápalu. Zriedkavé mutácie v *TREM2* géne sú asociované s rizikom Alzheimerovej choroby, ale aj s rizikom FTD/ALS komplexu (Winfrey et al., 2023). V našej kohorte 100 pacientov sme identifikovali zatiaľ troch s mutáciou *TREM2* p. R62H, všetci traja boli zároveň nositeľmi ApoE4/3, takže posúdiť mieru patologického efektu je zložitá (Ďurmanová et al., 2022). Hoci mutácie *TREM2* ani zďaleka nedosahujú význam ApoE, ukázali však dovtedy neznáme prepojenie Alzheimerovej choroby s mikrogliou a zápalom a tým aj novú cestu výskumu.

ABCA7

V roku 2011 dve celogenómové asocičné štúdie identifikovali gén *ABCA7* (*ATP binding cassette subfamily A member 7*) ako nový lokus náchylnosti na Alzheimerovu chorobu s neskorým začiatkom (Reitz et al., 2013). Zistenie potvrdili aj ďalšie metaanalýzy (Lambert et al., 2013). V súčasnosti vieme, že *ABCA7* kóduje proteín, ktorý patrí do rodiny ABC transportérov. Podieľa sa na metabolizme fosfolipidov a cholesterolu a pravdepodobne zasahuje do *traffickingu* amyloidu beta. *ABCA7* knock-outované myši akumulovali Aβ40 a Aβ42 omnoho rýchlejšie ako kontroly. *ABCA7* proteín sa tiež podieľa na mikroglialnej fagocytóze a imunitných procesoch (Schelenberg et al., 2012). Na I. neurologickej klinike v Bratislave *ABCA7* mutácie testujeme v rámci panelu génov, ktorý uvádzame nižšie. V našej kohorte sme zatiaľ mutáciu *ABCA7* neodhalili.

V rakúskej kohorte šesťdesiatich pacientov s demenciou so skorým začiatkom identifikovali jedného pacienta s patogénnym variantom v géne *ABCA7* s vekom začiatku v 47. roku života, ktorý však mal zároveň duplikáciu génu pre APP, takže posúdiť mieru patologického efektu je rovnako ťažké (Silvaie et al., 2023).

SORL1

SORL1 (sortilin related receptor 1) patrí medzi kandidátne gény pre EOAD a čiastočne LOAD od roku 2004. Jeho génový produkt je transmembránový receptor, ktorý participuje na transporte vezikúl z bunkovej membrány do Golgiho aparátu a zároveň sa podieľa na *traffickingu* beta amyloidu. Mutácie *SORL1* sú zriedkavou príčinou Alzheimerovej choroby so skorým začiatkom (Schelenberg et al., 2012). Rovnako aj *SORL1* mutácie testujeme v rámci spomínaného panelu génov. V rakúskej kohorte šesťdesiatich pacientov s demenciou so skorým začiatkom identifikovali dvoch pacientov so *SORL1* mutáciou. Jeden z pacientov mal fenotyp logopenickej AD s vekom začiatku v 58. roku života a druhý fenotyp kortikobazálnej degenerácie (CBD) s vekom začiatku v 51. roku života (Silvaie et al., 2023). V našej kohorte sme zatiaľ mutáciu *SORL1* neodhalili.

Deceleračný alebo protektívny gén pre Alzheimerovu chorobu

CD33

Zaujímavým objavom je zapojenie polymorfizmu v géne *CD33*, SNP rs3865444, do patogenézy Alzheimerovej choroby. *CD33*, tiež známy ako imunoglobulín viažuci kyselinu sialovú lektín-3 (Siglec-3), je transmembránový receptor, ktorý hrá dôležitú úlohu v patogenéze AD inhibíciou absorpcie amyloidu beta mikrogliou. Prvotné štúdie preukázali, že rs3865444 polymorfizmus mierne zvyšuje riziko AD (Hollingworth et al., 2011; Naj et al., 2011), ďalšie štúdie a metaanalýzy však preukázali, že znižuje riziko AD, OR 0,80 a predlžuje vek začiatku ochorenia (Ebbert et al., 2014; Lambert et al., 2013). Tento efekt je však prítomný len u ApoE4 nositeľov. V multicentrickej slovenskej štúdii, v ktorej sme vyšetrili vzorky 206 LOAD pa-

Tab. 1. Prehľad genetického pozadia Alzheimerovej choroby v kontexte súčasných informácií. Farebne je uvedená funkcia v organizme a predpokladaný mechanizmus zapojenia do patologických procesov. Legenda farieb korešponduje s Grafom 1 (adaptované podľa Guerreiro et al., 2013; Karch et Goate, 2015)

Oficiálny symbol génu	Názov génu	Lokalizácia génu	Funkcia v organizme a predpokladaný mechanizmus zapojenia do patologických procesov
Gény asociované s FAD/kausálne mutácie			
APP	amyloid β (A4) precursor protein	21q21.3	hlavný účastník amyloidnej kaskády
PSEN1	presenilin 1	14q24.3	APP metabolizmus všeobecne (amyloidná kaskáda); štiepenie APP, štiepenie Notch receptora a iných transmembránových proteínov
PSEN2	presenilin 2	1q31-q42	APP metabolizmus všeobecne (amyloidná kaskáda); štiepenie APP, štiepenie Notch receptora a iných transmembránových proteínov
Rizikové gény			
APOE	apolipoprotein E	19q13.2	cholesterol a lipidový metabolizmus, metabolizmus APP
TREM2	triggering receptor expressed on myeloid cells 2	6p21.1	imunita; chronická inflamácia
ABCA7	ATP-binding cassette, subfamily A (ABC1), member 7	19p13.3	cholesterol a lipidový metabolizmus; imunita a komplementový systém/inflamácia
SORL1	sortilin-related receptor, L(DLR class) A repeats containing	11q23.2-q24.2	endocytóza, triedenie a trafficking molekúl na export, trafficking a metabolizmus APP, transport lipidov
Rizikové lokusy			
CLU	clusterin	8p21-p12	imunita a komplementový systém/inflamácia; cholesterol a lipidový metabolizmus
PICALM	phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein	11q14	clathrinom mediovaná endocytóza
CR1	complement component (3b/4b) receptor 1 (Knops blood group)	1q32	imunita a komplementový systém/inflamácia
BIN1	bridging integrator 1	2q14	endocytóza synaptických vezikúl
MS4A6A	membrane-spanning 4 domains, subfamily A, member 6A	11q12.1	imunita a komplementový systém/inflamácia
MS4A4E	membrane-spanning 4 domains, subfamily A, member 4E	11q12.2	imunita a komplementový systém/inflamácia
CD33	CD33 molecule	19q13.3	imunita a komplementový systém/inflamácia
EPHA1	EPH receptor A1	7q34	imunita a komplementový systém/inflamácia bunková adhézia, migrácia a tvorba axónov
CD2AP	CD2-associated protein	6p12	receptorová endocytóza a cytokinéza
HLA-DRB5 and DRB1	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5 and DR beta 1	6p21.3	imunita a inflamácia
PTK2B	protein tyrosine kinase 2 beta	8p21.1	hipokampálna synaptická funkcia; bunková migrácia
SLC24A4	solute carrier family 24 (sodium/potassium/calcium exchanger), member 4	14q32.12	kardiovaskulárny systém, integrita iónovej rovnováhy
ZCWPW1	zinc finger, CW type with PWWP domain 1	7q22.1	epigenetická regulácia
CELFI	CUGBP, Elav-like family member 1	11p11	fungovanie cytoskeletu a axonálny transport
FERMT2	fermitin family member 2	14q22.1	angiogenéza, tau patológia
CASS4	cas scaffolding protein family member 4	20q13.31	APP patológia, tau patológia; fungovanie cytoskeletu a axonálny transport
INPP5D	inositol polyphosphate-5-phosphatase, 145kDa,	2q37.1	imunita a komplementový systém/inflamácia; APP metabolizmus
MEF2C	myocyte enhancer factor 2C	5q14.3	imunita a komplementový systém/inflamácia; hipokampálna synaptická funkcia
NME8	NME/NM23 family member 8	7p14.1	fungovanie cytoskeletu a axonálny transport
DCTN1	dynactin subunit 1	2p13	fungovanie cytoskeletu a axonálny transport
LRRK2	leucine-rich repeat kinase 2	12q12	transport vezikúl, autofágia, lyzozomálna funkcia
MME	neprilysin syn. membrane metallo-endopeptidase (MME)	3q25.2	APP metabolizmus, štiepenie APP
VPS13C	vacuolar protein sorting 13 homolog C	15q21	autofágia, mitofágia, mitochondriálna funkcia

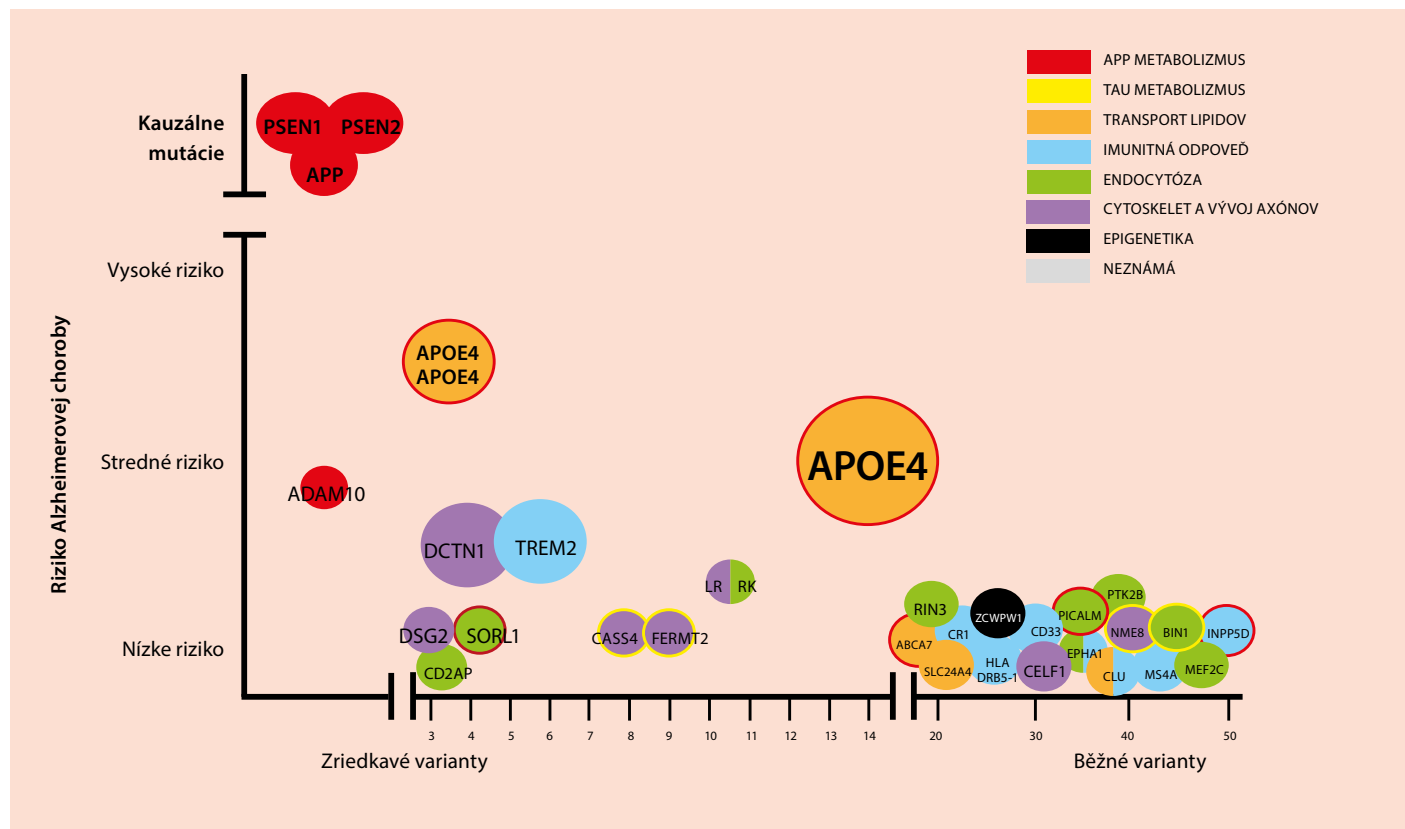
cientov a 487 kontrol, sme potvrdili decele-račný efekt CD33 rs3865444 polymorfizmu na rozvoj AD u ApoE4 nositeľov (Javor et al., 2020).

Každoročne sú publikované ďalšie gé-ny susceptibility na Alzheimerovu choro-

bu na základe multicentrických projektov WES (*whole exome sequencing*), WGS (*whole genome sequencing*), resp. GWAS (*genome wide association studies*). V súčasnosti je ich známych viac ako 100. V ďalšom slede sme vybrali 23 génov na základe dôkazu ich zapo-

jenia sa do patogenézy Alzheimerovej cho-roby a relatívneho rizika. Prehľad uvádzame v Tabuľke 1 a pre lepšiu ilustráciu ich významu aj v Grafe 1. Pri týchto „nových“ génoch suscep-tibility sa miera ich rizikovosti ešte len formuje na základe *real world data* a ich polymorfizmy

Graf 1. Schematické znázornenie frekvencie jednotlivých variantov v populácii a im prislúchajúce riziko Alzheimerovej choroby (adaptované podľa Guerreiro et al., 2013; Karch et Goate, 2015)



ešte nemajú stanovené presné OR ani relatívne riziko. Rovnako nie je presne známa ich frekvencia u pacientov s AD ani v bežnej populácii.

Funkcia génov zapojených do patogenézy Alzheimerovej choroby

Gény zapojené do patogenézy Alzheimerovej choroby môžeme rozdeliť do siedmych hlavných kategórií na základe funkcie proteínov, ktoré tieto gény kódujú:

- APP metabolismus (APP, PSEN1, PSEN2, APOE, SORL1, CASS4, INPP5D, MME),
- tau metabolismus (FERMT2, CASS4),
- cholesterol a lipidový metabolismus (APOE, SORL1, ABCA7, CLU),
- imunita, komplementový systém, inflamácia (TREM2, ABCA7, CLU, CR1, CD33, EPHA1, MEF2C, INPP5D, MS4A6A, MS4A4E, HLA-DRB5 and DRB1),
- endocytóza (SORL1, PICALM, BIN1, CD2AP, LRRK),
- cytoskelet a vývoj axónov, axonálny transport (EPHA1, NME8, MEF2C, BIN1, DCTN1, CELF1),
- epigenetika (ZCWPW1).

Epistatická interakcia genetických variantov pri Alzheimerovej chorobe

Epistáza je fenomén v genetike, pri ktorom je účinok génovej mutácie závislý od prítomnosti alebo neprítomnosti mutácií v jednom alebo viacerých iných génoch, označovaných ako modifikačné gény. Inými slovami, účinok mutácie je závislý od genetického pozadia, v ktorom sa vyskytuje. Ako príklad možno uviesť už spomínaný rs3865444 polymorfizmus génu CD33, ktorého mierny deceleračný efekt na rozvoj AD sa uplatňuje, len ak je jedinec nositeľom ApoE4. Rovnako však efekt dvoch mutácií u jedného jedinca môže byť akceleračný, napríklad výskyt ApoE4 a TREM2 mutácie, ktorý skracuje vek nástupu AD. Súbežné mutácie u jedného jedinca môžu mať preto nielen sumačný, ale až znásobujúci sa efekt na rozvoj patologického fenotypu. Koncept epistázy vznikol v genetike už v roku 1907, ale jeho význam vo svetle nových poznatkov neustále narastá.

Epigenetika Alzheimerovej choroby

Na rozvoj patologického fenotypu má vplyv okrem génovej epistázy aj epigeneti-

ka. V literatúre je množstvo prípadov monozygotných, dizygotných dvojčiat a súrodeneckých párov, z ktorých obaja súrodenci mali ApoE4 izoformu, pričom u jedného z nich sa rozvinula Alzheimerova choroba a u druhého nie, prípadne rozdiel vo veku nástupu ochorenia bol až do 20 rokov. To znamená, že existujú ďalšie faktory, ktoré ovplyvňujú fenotypovú prezentáciu ochorenia. Týmito faktormi sú epigenetické a environmentálne faktory. Pojemom epigenetika sa rozumie súbor zmien génovej expresie, ku ktorým dochádza v priebehu ontogenézy. Majú za následok dlhodobé zmeny v syntéze proteínov, zmeny regulácie bunkového cyklu, ktoré môžu viesť k rozdielnym fenotypom. Ide spravidla o kovalentné modifikácie DNA a histónov, na základe ktorých sa mení expresia génov. K epigenetickým faktorom sa radí metylácia DNA, acetylácia histónov a účinok transkripčných faktorov. Všetky tieto procesy vedú k rozdielnemu vzorcu „zapínania a vypínania“ našich génov. Jedným z génov, ktorého génový produkt sa podieľa na epigenetických reguláciách, je ZCWPW1.

Polygénne rizikové skóre (polygenic risk score)

Vyústením epistatickej interakcie genetických variantov, ktoré nesie každý jedinec predisponovaný na AD, a ich kooperácia s faktormi prostredia dávajú špecifický „podpis“ ich nositeľovi a súhrnne determinujú vek začiatku ochorenia, rýchlosť progresie a množstvo ďalších ukazovateľov. Dá sa povedať, že celý tento *landscape* je pre daného jedinca v danom prostredí jedinečný. Jeho jednovaječné dvojča, ktoré žije v inom prostredí, môže mať tento *landscape* už rozdielny, aj keď je geneticky identické. Pri zohľadnení všetkých genetických variantov u každého jedinca sa dá modelovať tzv. **polygénne rizikové skóre** (*polygenic risk score*). Polygénne rizikové skóre určuje pravdepodobnosť, s akou sa u konkrétneho jedinca s konkrétnou zmesou genetických variantov vyvinie Alzheimerova choroba. Na stanovenie polygénneho rizikového skóre je potrebná znalosť všetkých rizikových variantov príslušného jedinca pre dané ochorenie. Zozbieraním takéhoto množstva údajov od veľkého množstva pacientov, rádovo tisíce až desaťtisíce, sa vytvorí **matematický predikčný model pre predikciu rizika jednotlivca**. Z tohto pohľadu je potenciálna vízia budúcnosti taká, že každý jedinec bude mať vyšetrenú a známu svoju zmes polymorfizmov pre konkrétne ochorenie, ktoré sa v jeho rodine vyskytlo, čo umožní u neho predikovať nielen pravdepodobnosť rozvoja tohto ochorenia, ale aj vek jeho nástupu. Takéto predikčné modely sa už vyvíjajú pre viaceré ochorenia vrátane Alzheimerovej choroby, ale napríklad aj pre dlhovekosť. Polygénne rizikové skóre v súčasnom ponímaní však nezohľadňuje faktory prostredia (ako napríklad fyzickú aktivitu, typ stravy, kalorickú reštrikciu), ktoré môžu zásadne modifikovať epigenetiku a tým aj vek začiatku ochorenia a rýchlosť jeho priebehu.

II. Skúsenosti z jedného centra

20 rokov genetického testovania demencií na I. neurologickej klinike LF UK a UNB, DNA knižnica, mozgová a likvorová banka

Koncept genetického testovania na I. neurologickej klinike LF UK a UNB sme začali v roku 2003. Spolupracovali sme s Ústavom

lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB a s Neuroimunologickým ústavom SAV (NIU SAV). Každý pacient s kognitívnym deficitom mal realizovaný genotyp *APOE*. Pacienti mladší ako 55 rokov s klinicky diagnostikovanou FAD mali realizovaný panel génov *APP*, *PSEN1* a *PSEN2* formou sekvenáčnej analýzy. Obdobne pacienti s klinicky diagnostikovanou familiárnou FTD mali *MAPT* gén vyšetrený sekvenáčnou analýzou. Vzhľadom na počet obyvateľstva a prevalenciu týchto mutácií v populácii sme predpokladali, že na Slovensku bude približne 5 rodín, ktoré nesú tieto mutácie. Do dnešného dňa sme objavili 4 takéto rodiny: dve vyššie uvedené s *APP* a *PSEN1* mutáciou a dve nepríbuzné rodiny s tau mutáciou *MAPT* p. Gly389Arg (nepublikované dáta). V našej databáze máme približne 500 DNA vzoriek od pacientov s Alzheimerovou chorobou, 500 zdravých vekovo primeraných kontrol a viac ako 100 pacientov s inými demenciami, hlavne z okruhu FTLD, ďalej LBD, PSP, CBD a množstvo zriedkavejších neurodegenerácií. Súbežne s *APOE* sme každému pacientovi realizovali profil polymorfizmov génu *MTHFR* kódujúceho enzým metyléntetrahydrofolát reduktáza, vychádzajúc z poznatku, že zvýšený homocysteín zvyšuje riziko Alzheimerovej choroby viacerými mechanizmami (priamy toxický vplyv homocysteínu na endotel a neurotoxický efekt) (Zhang et al., 2010; Mansouri et al., 2012). Súbežne s kreovaním DNA banky sme vytvárali likvorovú a mozgovú banku v spolupráci s Neuroimunologickým ústavom SAV. V súčasnosti v nej máme uložených viac ako 100 vzoriek likvorov od pacientov s demenciami a post mortem vzorky mozgového tkaniva od viac ako 50 pacientov s demenciami. Postupne sme do nášho portfólia zahrňali ďalšie novoobjavené gény, až sme dospeli do súčasného stavu genetického testovania a vytvárania databázy demencií.

Súčasný koncept diagnostiky Alzheimerovej choroby na I. neurologickej klinike LF UK a UNB a integrácia genetického vyšetrenia v diagnostickej batérii

Každý pacient zaradený do skríningu na I. neurologickej klinike pre kognitívny deficit absolvuje počas prvej návštevy po podpísaní informovaného súhlasu batériu psychomet-

rických testov (MMSE, MoCA, RBANS, CDR), odbery biologického materiálu (krv, genetica *APOE*, *TREM2*, *CD33*), ďalej odber krvi na NFL (marker poškodenia a zániku neurónov). Vyšetrenie *TREM2* a *CD33* realizujeme v spolupráci s Imunologickým ústavom LF UK s cieľom zmapovať výskyt mutácií a polymorfizmov týchto génov v slovenskej populácii a v našej kohorte pacientov s Alzheimerovou chorobou. V procese je rozšírenie panelu o GFAP (marker astrocytarnej aktivácie), neurogranín (marker synaptickej dysfunkcie) a odber krvi s následným zamrazením plazmy na ďalšie potenciálne testovanie a výskum v budúcnosti. Pacienti, u ktorých sa preukáže kognitívny deficit zodpovedajúci prodromálnej Alzheimerovej chorobe alebo demencií pri AD, prípadne inej demencii, ďalej absolvujú MR mozgu a amyloidový PET. Následne sa výsledky vyhodnotia a stanoví sa finálna klinická diagnóza. U pacientov, u ktorých vyššie uvedené vyšetrenia nie sú dostatočne konkluzívne, prípadne majú negatívny amyloidový PET napriek klinickému obrazu Alzheimerovej choroby, zvažujeme odber likvoru, kde stanovujeme štandardný alzheimerovský triplet (amyloid beta, htau, ptau).

Zásady genetického testovania pacientov na I. neurologickej klinike LF UK a UNB

Genetické testovanie sa vykonáva v súlade s odporúčaním výboru Slovenskej spoločnosti lekárskej genetiky SLS z roku 2015 a laboratorne vyšetrenie podľa aktuálnych štandardných vyšetrovacích postupov MZ SR z roku 2022. Čiže každému genetickému testovaniu predchádza nedirektívna genetická konzultácia s lekárom atestovaným v lekárskej genetike. V každom prípade sa vyžaduje predchádzajúci slobodný a informovaný súhlas testovanej osoby. Keď táto osoba nie je v pozícii taký súhlas udeliť, má to urobiť zákonný zástupca v najlepšom záujme takejto osoby. Súhlas pacienta je potrebný aj na použitie vzorky DNA na vedecké účely. Presymptomatické genetické testovanie ochorení u neplnoletých/mladistvých, pre ktoré nie je k dispozícii efektívna liečba alebo prevencia, sa odsúva do obdobia dospelosti, keď už sú sami schopní rozhodnúť, či testovanie podstúpia alebo nie. Pričom každý má právo rozhodnúť sa, či chce

alebo nechce byť o výsledku testu informovaný (právo vedieť a nevedieť). Molekulárno-genetické laboratórium realizuje vyšetrenie v rozsahu, ktoré odporúča neurológ a indikuje klinický genetik. Laboratórny diagnostik vykoná analýzu a urobí jednoznačný záver vyšetrenia s interpretáciou príslušných klinicky relevantných DNA variantov s ďalšími molekulárno-genetickými odporúčaniami, ak také existujú (presne sa určí vzťah/asociácia príslušnej zmeny na úrovni DNA k špecifickej patológii). Výsledky genetického testovania sa oznamujú dotknutým osobám pri genetickej konzultácii s lekárom atestovaným v lekárskej genetike, nakoľko výsledky môžu byť dôležité pre prevenciu alebo liečbu aj pre ďalších členov pacientovej rodiny (geneticky príbuzných). V takých situáciách sú pacienti informovaní o význame poskytnúť túto informáciu príslušným členom rodiny v riziku.

Panel génov asociovaných s demenciou

U pacientov s jasnou familiárnou Alzheimerovou chorobou s typickým vekom nástupu medzi 35. a 50. rokom života sme doteraz realizovali sekvenačnú analýzu *APP*, *PSEN1* a *PSEN2* génu. S nástupom modernejších techník týchto pacientov automaticky zaraďujeme na panel génov, v ktorom je okrem týchto troch génov vyšetrených ďalších 42 génov asociovaných s demenciou (pozri nižšie). U pacientov s vekom nástupu Alzheimerovej choroby medzi 50. a 65. rokom života (*early onset dementia* – *EOD*, *early onset Alzheimer's disease* – *EOAD*), ak nemali presvedčivý familiárny výskyt demencie, sme doteraz čakali na výsledok ApoE. V tejto kohorte sa už môže totižto prejaviť efekt ApoE4 homozygoty. V rámci nášho nového konceptu týchto pacientov už rovnako zaraďujeme na panel génov. Vychádzame z poznatku, že okrem ApoE4/4 prípadov v tejto kohorte môžu byť prítomní pacienti s mutáciami a polymorfizmami v zriedkavejších génoch susceptibility (*TREM2*, *ABCA7*, *SORL1* a podobne). Panel génov sme navrhli v spolupráci s Katarínou Kolejkovou z Oddelenia lekárskej genetiky. Vychádzali sme zo seminálnych publikácií a odporúčení veľkých centier – *Dominantly Inherited Alzheimer Network (DIAN)* a *Alzheimer's Disease Genetics Consortium*.

Metódou vyšetrenia je analýza panelu 45 génov asociovaných s ochoreniami s kog-

nitívnym deficitom: AmpliSeq On-Demand Panel for Illumina pomocou sekvenovania novej generácie použitím systému MiniSeq (Illumina). Analyzované sú celé kódujúce a relevantné zosteriové oblasti uvedených génov.

Zoznam génov: *ABCA7*, *ANG*, *APOE*, *APP*, *ATP13A2*, *CCNF*, *CSF1R*, *C9orf72*, *CHCHD10*, *CHMP2B*, *DCTN1*, *DNMT1*, *FUS*, *GBA*, *GRN*, *HTRA2*, *HNRNPA2B1*, *ITM2B*, *LRRK2*, *MAPT*, *NOTCH3*, *OPTN*, *PARK7-DJ1*, *PARK2*, *PINK1*, *PSEN1*, *PSEN2*, *PRNP*, *RNF216*, *SERPINI1*, *SIGMAR1*, *SNCA*, *SNCB*, *SOD1*, *SORL1*, *SQSTM1*, *TAF1*, *TARDBP*, *TBK1*, *TIA1*, *TREM2*, *TUBA4A*, *TYROBP*, *UBQLN2*, *VCP*.

Uvedené gény môžeme rozdeliť do štyroch skupín:

- gény asociované prevažne s Alzheimerovou chorobou (zoradené podľa frekvencie výskytu pri danom ochorení): *APOE*, *PSEN1*, *PSEN2*, *APP*, *TREM2*, *ABCA7*, *SORL1*, *DCTN1*, *LRRK2*,
- gény asociované prevažne s okruhom frontotemporálnej demencie (bv FTD, PNFA, SD) a FTD/ALS komplexom (zoradené podľa frekvencie výskytu pri daných ochoreniach): *C9orf72*, *APOE*, *MAPT*, *GRN*, *PSEN1*, *TARDBP*, *FUS*, *TREM2*, *CHMP2B*, *DCTN1*, *LRRK2*, *TBK1*, *TUBA4A*, *UBQLN2*, *VCP*, *SOD1*, *SORL1*, *PSEN2*,
- gény asociované prevažne s Parkinsonovou chorobou, demenciou s Lewyho telieskami (LBD), progresívnou supranukleárnou obrnou (PSP) a kortikobazálnou degeneráciou (CBD) (zoradené podľa frekvencie výskytu pri daných ochoreniach): *GBA*, *LRRK2*, *SNCA*, *PARK7-DJ1*, *PARK2*, *PINK1*, *APOE*, *ATP13A2*, *HTRA2*, *MAPT*, *APOE*, *SORL1*,
- gény asociované prevažne s prionózami a zriedkavými demenciami (zoradené podľa abecedy): *ANG*, *CCNF*, *CSF1R*, *CHCHD10*, *CHMP2B*, *DNMT1*, *HNRNPA2B1*, *ITM2B*, *NOTCH3*, *OPTN*, *PRNP*, *RNF216*, *SERPINI1*, *SIGMAR1*, *SNCB*, *SQSTM1*, *TAF1*, *TIA1*, *TUBA4A*, *TYROBP*.

V prípravnej fáze je rozšírenie panelu na 150 génov vrátane vyššie uvedených nových génov susceptibility. Rovnako je v pláne kontinuálna aktualizácia panelu. V prípade, ak panel génov neodhalí kauzálnu mutáciu a my sme presvedčení o opodstatnenosti ďalšieho testovania, pristupujeme k WES (*whole exome sequencing*).

Prelínanie klinickej a vedeckej roviny pri genetickom testovaní pacientov s Alzheimerovou chorobou a príbuznými demenciami

Genetické vyšetrenie pri AD a príbuzných demenciách a celkový koncept genetického testovania má syntetický klinicko-vedecký význam, pričom hranice medzi týmito dvomi rovinami sa ťažko stanovujú. V praxi ani nemá zmysel tieto dve zložky oddeľovať, lebo klinická rovina napomáha vedeckej a vedecká rovina zásadne posúva pochopenie komplexnosti ochorenia a posúva klinickú rovinu dopredu. V súčasnosti nie sú vypracované smernice (*guidelines*) pre genetické testovanie pri Alzheimerovej chorobe a príbuzných demenciách, ktoré by mali charakter všeobecného odporúčania na európskej alebo svetovej úrovni. Koncept genetického testovania je značne závislý od konkrétneho centra pre Alzheimerovu chorobu, jeho možností, finančnej a grantovej podpory. Vo veľkých európskych centrách pre Alzheimerovu chorobu, ako Amsterdam, Stockholm, ale aj vo väčšine centier v USA, je odber materiálu na genetiku integrálnou súčasťou protokolu minimálne dve desaťročia. Okrem diagnostiky aktuálne známych génov sa DNA uchováva v ich DNA knižnici, aby slúžila na ďalšie testovania a výskum v budúcnosti. Podobný koncept genetického testovania máme aj v Centre pre kognitívne poruchy a demencie na I. neurologickej klinike LF UK a UNB.

Význam genetického testovania pri Alzheimerovej chorobe a príbuzných demenciách pre konkrétnych pacientov

- U pacientov s familiárnou Alzheimerovou chorobou so skorým začiatkom (FAD) má odhalenie kauzálnej mutácie zásadný význam pre stanovovanie rizika rozvoja ochorenia. Ide predovšetkým o trojicu génov *APP*, *PSEN1* a *PSEN2*. V prípade odhalenia mutácie sa pacientom ponúkne multiodborové poradenstvo zahŕňajúce služby klinických genetikov, psychológov, neurológov a prípadne psychiatrov. Je potrebné mať na pamäti, že penetrancia týchto génov je 100 %. Ak ide o ľudí s potenciálom mať potomstvo, poskytnu

sa im možnosť asistovanej reprodukcie a výberu nepostihnutej blastocysty po fertilizácii in vitro.

- Pacientom s Alzheimerovou chorobou so skorým začiatkom, ale nie jasne detegovateľným familiárnym výskytom, rovnako pacientom s neskorým začiatkom ochorenia pri detekcii potenciálne kauzálnej mutácie alebo polymorfizmu (ApoE4 homozygoti aj heterozygoti, TREM2 mutácie, ďalšie gény susceptibility) a aj ich príbuzným sa adekvátne a zrozumiteľne vysvetlí potenciálny význam mutácie a načrtnú možnosti prevencie (zdravý životný štýl, dostatok spánku a odpočinku, fyzická aktivita, mediteránsky typ diéty, kalorická reštrikcia a mnoho ďalších odporúčaní). Na tomto mieste je potrebné povedať, že testovanie génov susceptibility (vrátane ApoE) má integratívny klinicko-vedecký význam. Klinický význam zahŕňa informáciu pre pacienta a jeho rodinných príslušníkov a vedecký význam zahŕňa zmapovanie výskytu génov susceptibility v populácii a tým lepšie stanovenie ich celkového významu.

Relativita aktuálnych poznatkov

Genetika Alzheimerovej choroby je vo svetle nových a stále pribúdajúcich objavov veľmi turbulentná téma. V tejto téme môžeme detegovať minimálne štyri roviny/množiny poznatkov:

Prvá rovina/množina obsahuje vedomosti o génoch asociovaných s familiárnou Alzheimerovou chorobou (*APP*, *PSEN1* a *PSEN2*). Informácie v tejto množine sú najviac „konzervatívne“ alebo „sedimentované“ v zmysle medicínskeho dôkazu. To znamená, že nie sú pochybnosti o detrimentálnej biologickej funkcii mutácií týchto génov v patogenéze AD.

Rovnako sa všetky štúdie zhodujú, že miera penetrancie týchto mutácií je prakticky 100 %, čo znamená, že ich nositelia majú stopercentné riziko, že do 65. roku života vyvinú AD.

Druhá rovina/množina zahŕňa vedomosti o apolipoproteíne E. Rovnako niet pochyb o významnej úlohe *APOEε4* alely v patogenéze AD. Poznatky v tejto množine sú ešte umocnené frekvenciou výskytu *APOEε4* alely u pacientov s AD, ktorá predstavuje až 65 %. S pribúdajúcimi vedomosťami o patologickej úlohe *ε4* alely v patogenéze AD stúpa aj hodnota *odds ratio* a relatívneho rizika. Vedecká obec však stále nie je úplne jednotná v otázke, či patrí testovanie ApoE4 genotypu do rutinej diagnostiky AD, aj keď trend smeruje k takémuto testovaniu, hlavne v centrách pre demencie. Rovnako v tejto množine chýbajú esenciálne vedomosti o tom, ako ApoE a hlavne ApoE4 zasahuje do tau proteínovej patológie.

Tretia rovina/množina zahŕňa tzv. nové gény susceptibility na čele s *TREM2*. Pri rutinnom testovaní sa ukazuje, že *TREM2* môže byť druhým najvýznamnejším génom susceptibility po *APOE*, čo sa týka miery rizika, ako aj frekvencie výskytu. Pri ostatných génoch susceptibility (uvedených v Tabuľke 1) sa miera rizikovosti ešte len formuje na základe *real world data* a ich polymorfizmy ešte nemajú stanovené presné OR ani relatívne riziko. Rovnako nie je presne známa ich frekvencia u pacientov s AD ani v bežnej populácii. Niektoré z týchto génov sú známe už minimálne dve desaťročia (napr. *SORL1*), iné vyšli z GWAS ako jasné rizikové lokusy, napríklad *ABCA7*, *CLU*, *PICALM* a väčšina ďalších. Testovanie génov sa realizuje len v niektorých centrách pre demencie a v rámci multicentrických genetických projektov. Testovaním však môžeme odpovedať na ďalšie veľké otázky genetiky AD – Čo spôsobuje Alzheimerovu

chorobu u ApoE4 negatívnych pacientov? Má každý pacient s AD nejaký gén susceptibility? a mnoho ďalších, zatiaľ nezodpovedaných otázok.

Štvrtá rovina/množina predstavuje modelovanie polygénneho rizikového skóre (*polygenic risk score*) u konkrétneho pacienta s Alzheimerovou chorobou (Desikan et al. 2017). U viacerých pacientov sa môžeme stretnúť s kombináciami mnohých rizikových alel, génov susceptibility, alebo mutáciami. Rovnako sa však môžeme stretnúť s kombináciou rizikových a protektívnych alel. U každého pacienta teda prebieha špecifická epistatická interakcia, ako sme už spomenuli vyššie. Modelovanie rizika sa bude približovať predikcii vzniku ochorenia (pokiaľ sa bude vykonávať prospektívne). Na takúto predikciu však bude potrebné zozbieranie veľkého množstva genetických dát od pacientov s AD a retrospektívne vyhodnotenie ich epistatických interakcií.

Záver

Genetické testovanie je v súčasnosti integrálnou súčasťou diagnostickej batérie Alzheimerovej choroby a ostatných demencií hlavne v centrách pre Alzheimerovu chorobu. Je potrebné rozlišovať diagnostiku pacienta v bežnej neurologickej ambulancii, na neurologických oddeleniach, na neurologických klinikách a na klinikách, ktoré sú špecializované na demencie. Snažili sme sa nahliadnuť na túto problematiku najmä očami špecializovanej kliniky pre demencie a priniesť pohľad na vývoj genetického testovania demencií na I. neurologickej klinike LF UK a UNB. Veríme, že systematické genetické testovanie sa stane súčasťou diagnostických batérií v centrách pre Alzheimerovu chorobu a príbuzné demencie.

LITERATÚRA

1. Abushakra S, Porsteinsson AP, Sabbagh M, et al. APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ homozygotes with early Alzheimer's disease show accelerated hippocampal atrophy and cortical thinning that correlates with cognitive decline. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2020;6(1):e12117. Published 2020 Dec 4. doi:10.1002/trc2.12117.
2. Ali M, Archer DB, Gorjila P, et al. Large multi-ethnic genetic analyses of amyloid imaging identify new genes for Alzheimer disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2023;11(1):68. Published 2023 Apr 26. doi:10.1186/s40478-023-01563-4.
3. Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE, et al. New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nat Genet*. 2022;54(4):412-436. doi:10.1038/s41588-022-01024-z.

4. Bradshaw EM, Chibnik LB, Keenan BT, et al. CD33 Alzheimer's disease locus: Altered monocyte function and amyloid biology. *Nat Neurosci*. 2013;343:1-19.
5. Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(5):333-44.
6. Desikan RS, Fan CC, Wang Y, et al. Genetic assessment of age-associated Alzheimer disease risk: Development and validation of a polygenic hazard score. *PLoS Med*. 2017;14(3):e1002258. doi:10.1371/journal.pmed.1002258.
7. Durmanova V, Javor J, Parnicka Z, et al. TREM2 coding vari-

- ants in Slovak Alzheimer's disease patients. *J Integr Neurosci*. 2022;21(4):105. doi:10.31083/jjin2104105.
8. Ebber MT, Ridge PG, Wilson AR, et al. Population-based analysis of Alzheimer's disease risk alleles implicates genetic interactions. *Biol Psychiatry*. 2014;75(9):732-737. doi:10.1016/j.biopsych.2013.07.008.
9. Goate A, Hardy J. Twenty years of Alzheimer's disease-causing mutations. *J Neurochem*. 2012;120(Suppl 1):3-8. doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07575.x.
10. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*. 1991;349(6311):704-

706. doi:10.1038/349704a0.

11. Goldman JS, Hahn SE, Catania JW, et al. Genetic counseling and testing for Alzheimer disease: joint practice guidelines of the American College of Medical Genetics and the National Society of Genetic Counselors [published correction appears in *Genet Med*. 2011 Aug;13(8):749]. *Genet Med*. 2011;13(6):597-605.
12. Guerreiro R, Brás J, Hardy J. Snapshot: genetics of Alzheimer's disease. *Cell*. 2013;155(4):968-968.e1. doi:10.1016/j.cell.2013.10.037.
13. Herz J, Beffert U. Apolipoprotein E receptors: linking brain development and Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*. 2000;1(1):51-8.
14. Holstege H, Hulsman M, Charbonnier C, et al. Exome sequencing identifies rare damaging variants in ATP8B4 and ABCA1 as risk factors for Alzheimer's disease. *Nat Genet*. 2022;54(12):1786-1794. doi:10.1038/s41588-022-01208-7.
15. Hollingworth P, Harold D, Sims R, et al. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet*. 2011;43(5):429-435. doi:10.1038/ng.803.
16. Huang YA, Zhou B, Wernig M, et al. ApoE2, ApoE3, and ApoE4 Differentially Stimulate APP Transcription and Aβ Secretion. *Cell*. 2017;168(3):427-441.e21. doi:10.1016/j.cell.2016.12.044.
17. Javor J, Ďurmanová V, Párnická Z, et al. Association of CD33 rs3865444:C>A polymorphism with a reduced risk of late-onset Alzheimer's disease in Slovaks is limited to subjects carrying the APOE ε4 allele. *Int J Immunogenet*. 2020;47(5):397-405. doi:10.1111/iji.12489.
18. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry*. 2015;77(1):43-51. doi:10.1016/j.biopsych.2014.05.006.
19. Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, Harold D, et al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet*. 2013;45(12):1452-1458. doi:10.1038/ng.2802.
20. Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol*. 2013;9(2):106-118. doi:10.1038/nrneurol.2012.263.
21. Mansoori N, Tripathi M, Luthra K, et al. MTHFR (677 and 1298) and IL-6-174 G/C genes in pathogenesis of Alzheimer's and vascular dementia and their epistatic interaction. *Neurobiol Aging*. 2012;33(5):1003.e1-8.
22. Naj AC, Schellenberg GD; Alzheimer's Disease Genetics Consortium (ADGC). Genomic variants, genes, and pathways of Alzheimer's disease: An overview. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2017;174(1):5-26. doi:10.1002/ajmg.b.32499.
23. Noveir SD, Kerman BE, Xian H, et al. Effect of the ABCA1 agonist CS-6253 on amyloid-β and lipoprotein metabolism in cynomolgus monkeys. *Alzheimers Res Ther*. 2022;14(1):87. doi:10.1186/s13195-022-01028-1.
24. Reiman EM. Exceptionally low likelihood of Alzheimer's dementia in APOE2 homozygotes from a 5,000-person neuropathological study. *Nature Communications*. 2020;11:667. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14279-8>.
25. Reitz C, Jun G, Naj A, et al. Variants in the ATP-binding cassette transporter (ABCA7), apolipoprotein E ε4, and the risk of late-onset Alzheimer disease in African Americans. *JAMA*. 2013;309(14):1483-1492. doi:10.1001/jama.2013.2973.
26. Schellenberg GD, Montine TJ. The genetics and neuropathology of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2012;124(3):305-323. doi:10.1007/s00401-012-0996-2.
27. Silveira S, König T, Wurm R, et al. Comprehensive genetic screening of early-onset dementia patients in an Austrian cohort-suggesting new disease-contributing genes. *Hum Genomics*. 2023;17(1):55. Published 2023 Jun 17. doi:10.1186/s40246-023-00499-z.
28. Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, et al. Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(5):1977-81.
29. Sutovsky S, Petrovic R, Fischerova M, et al. Allelic Distribution of Genes for Apolipoprotein E and MTHFR in Patients with Alzheimer's Disease and Their Epistatic Interaction. *J Alzheimers Dis*. 2020;77(3):1095-1105. doi:10.3233/JAD-200321.
30. Sutovsky S, Smolek T, Turcani P, et al. Neuropathology and biochemistry of early onset familial Alzheimer's disease caused by presenilin-1 missense mutation Thr116Asn. *J Neural Transm (Vienna)*. 2018;125(6):965-976. doi:10.1007/s00702-018-1850-z.
31. Winfree RL, Seto M, Dumitrescu L, et al. TREM2 gene expression associations with Alzheimer's disease neuropathology are region-specific: implications for cortical versus subcortical microglia. *Acta Neuropathol*. 2023;145(6):733-747. doi:10.1007/s00401-023-02564-2.
32. Zhang MY, Miao L, Li YS, Hu GY. Meta-analysis of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and susceptibility to Alzheimer's disease. *Neurosci Res*. 2010;68(2):142-50.