

Analýza genů asociovaných s neurodegenerativními onemocněními: praktické zkušenosti neurodegenerativního centra ve FTN

RNDr. Eva Parobková, Ph.D.¹, MUDr. Petr Šuhaj¹, Ing. Hana Šulcová¹, prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.^{1,2,3}

¹Ústav patologie a molekulární medicíny 3. LF UK a FTN, Praha

²Ústav patologie, Ústav patologie 3. LF UK a FNKV, Praha

³Ústav patologie 1. LF UK a VFN, Praha

V roce 2009 se metoda masivního paralelního sekvenování (NGS) prokázala jako velmi účinný nástroj při identifikaci variant, které souvisí s mnoha neurodegenerativními nemocemi. Množství genetických dat mělo významný dopad na klinickou diagnózu a zároveň významně přispělo k objevu molekulárních mechanismů, které jsou základem těchto onemocnění. Nicméně objasnění rolí nalezených variant identifikovaných NGS, a zejména variant nejasného významu (VUS), je náročné a je zcela klíčová spolupráce genetika, neurologa a neuropatologa. Vytvoření konsenzuálních postupů a vývoj veřejných genomických/fenotypových databází jsou proto zásadní pro usnadnění sdílení a ověřování údajů. Práce poskytuje systematický přehled nejčastějších mutací u neuropatologicky diagnostikovaných pacientů s neurodegenerativním onemocněním a shrnuje techniky genetické diagnostiky a význam bioinformatiky při interpretaci výsledků neurodegenerativních onemocnění na příkladu 5 zajímavých kazuistik.

Klíčová slova: neurodegenerativní onemocnění, neurogenetika, sekvenování masivní, paralelní sekvenování, sekvenování celého exomu.

Analysis of associated genes with neurodegenerative diseases: practical experience of neurodegenerative centers in FTN

In 2009, next-generation sequencing (NGS) proved to be a very powerful tool in identifying variants associated with many neurodegenerative diseases. Whole-exome sequencing and whole-genome sequencing are effective for identifying variants in new or unexpected genes responsible for inherited diseases, while targeted sequencing is useful in detecting variants in previously known disease-associated genes. The wealth of genetic data provided by NGS has had a significant impact on clinical diagnoses while contributing to these discoveries of the molecular mechanisms underlying disease. However, elucidating the roles of the found variants identified by NGS, and especially the variants of unclear significance (VUS), is challenging and the cooperation of a geneticist, a neurologist and a neuropathologist is absolutely key. The establishment of consensus guidelines and the development of public genomic/phenotypic databases are therefore essential to facilitate data sharing and validation. In this review article, we will provide a systematic overview of the most frequent mutations in neuropathologically diagnosed patients with neurodegenerative diseases and summarize genetic diagnostic techniques and the importance of bioinformatics in the interpretation of neurodegenerative disease results.

Key words: neurodegenerative disease, neurogenetics, next generation sequencing, targeted sequencing, whole exome sequencing.

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.

Cit. zkr: *Neurol. praxi.* 2024;25(4):289-294

<https://doi.org/10.36290/neu.2024.044>

Článek přijat redakcí: 26. 2. 2024

Článek přijat k publikaci: 10. 6. 2024

prof. MUDr. Radoslav Matěj, Ph.D.

radoslav.matej@ftn.cz

Tab. 1. Nejčastější formy familiárních specifických proteinopatií

Forma neurodegenerace	Mutovaný gen	Proteinová depozita
Alzheimerova nemoc	APP, PSEN1, PSEN2	Amyloid β , tau
Frontotemporální demence	MAPT, GRN, C9ORF72	Tau, TDP-43
Amyotrofická laterální skleróza	TDP-43, C9ORF72	TDP-43
Parkinsonova nemoc	SNCA, LRRK2	α -Synuklein
Huntingtonova nemoc	HTT	Huntingtin
Prionové nemoci	PRNP	Prionový protein

Úvod

Nejrozšířenější technikou masivního paralelního sekvenování – NGS (next-generation sequencing) pro genetickou diagnostiku je WES, který zachycuje všechny známé kódující exony a hranice exon/intron v genomu. „Exom“ představuje všechny exony v lidském genomu, zahrnuje přibližně 180 000 exonů, což je 1 % lidského genomu o velikosti 30 Mb (Ng et al., 2009). Odhaduje se, že 85 % mutací způsobujících onemocnění leží v oblastech kódujících proteiny (Giau et al., 2018). WES byl tedy zaveden jako účinná strategie k identifikaci nových genů spojených se vzácnými mendelovskými poruchami. V současné době se WGS, tedy sekvenování celého genomu, nepoužívá tak široce jako WES kvůli vyšším nákladům a velikosti získaných dat, které mají vysoké nároky na jejich interpretaci, a to především v případech náhodných potenciálně rizikových nálezů (Fan et al., 2020). Nicméně stále více důkazů naznačuje, že nekódující varianty mohou způsobit nebo zvýšit riziko mnoha neurodegenerativních onemocnění. Protože WGS poskytuje mnohem komplexnější pokrytí než WES, bude mít v budoucnu rozhodně rozsáhlejší aplikace (García et Bustos, 2018a).

Na našem pracovišti se molekulární diagnostikou neurodegenerativních chorob zabýváme od roku 2005 (Matej et Rusina, 2019). V počátcích jsme využívali techniku přímého, tzv. Sangerova sekvenování. S postupem času, kdy stoupal zájem ze stran neurologů analyzovat více genů, sehrály klíčovou roli NGS technologie.

Centrum pro diagnostiku a studium neurodegenerativních onemocnění a Národní referenční laboratoř pro diagnostiku lidských prionových onemocnění (NRL CJN) se dlouhodobě věnuje vývoji a aplikacím moderních metod sekvenování a analýzy DNA u neurodegenerací (Matej et Rusina, 2019). Identifikovat genetické příčiny je v mnoha případech neurodegenerací klíčové pro stanovení správné diagnózy vzhledem k vysoké heterogenitě vzácných nemocí

a umožňuje poskytnutí genetického poradenství v rodinách pacientů. Včasné odhalení genetické příčiny řady patologií bývá nezbytné pro zařazení pacienta do vhodné klinické studie nebo přímo podmiňuje úspěšnost a samotnou aplikaci potenciální léčby. V neposlední řadě, díky porozumění patofyziologických mechanismů vzácných nemocí na molekulární úrovni, může být iniciován vývoj kauzální léčby. Předpokládá se, že až 10–15 % specifických proteinopatií má familiární výskyt se známými primárními geny (Giau et al., 2018).

Bylo popsáno několik typů genetických neurodegenerativních onemocnění včetně Alzheimerovy choroby (AD), Parkinsonovy choroby (PD), frontotemporální demence (FTD), amyotrofické laterální sklerózy (ALS), prionových onemocnění a Huntingtonovy choroby, které mohou sdílet klinické a patologické rysy (Wolfe, 2018). Společným rysem neurodegenerativních onemocnění jsou abnormální proteinové agregáty v centrálním nervovém systému (Santiago et al., 2017). U mnoha onemocnění jsou patrné klinické a patologické podobnosti (Ng et al., 2009), které jsou způsobeny překrývajícími se neurodegenerativními entitami se spolupodílem různých genetických faktorů (Lill et Bertram, 2011; Santiago et al., 2017). Navíc k rutinní diagnostice, protože tato onemocnění mají komplexní genetické pozadí, je genetické profilování nezbytné pro přesnou diagnózu a pro odhad budoucího rizika potomků vyšetřeného probanda (Prince et al., 2013).

Koncept molekulárně genetického testování

Koncept, jakým by se mělo genetické testování neurodegenerativních chorob ubírat, jsme vytvořili po diskuzích s odborníky na neurodegenerativní onemocnění a s genetiky.

Pacienti indikovaní k molekulárně genetickému testování se podrobí podrobnému klinicko-genetickému poradenství, a to před i po laboratorním genetickém vyšetření.

Vyšetření v současné době indikuje klinický genetik v úzké spolupráci s kognitivním neurologem (Parobková et al., 2019). Rozhodující roli pro genetické testování má pozitivní rodinná anamnéza, nicméně v případě atypického klinického průběhu onemocnění může být přínosné provést molekulárně genetické vyšetření i přes falešnou „negativitu“ rodinné anamnézy (García et Bustos, 2018 b). V mnoha případech u pacientů s prokázanou kauzální mutací nemusí být příznačná pozitivní rodinná anamnéza, neboť informace mohou být mnohdy zavádějící či neúplné. Kromě toho se patogenní mutace nemusí pouze dědit, ale může i vznikat de novo, potomci takto postižených jedinců pak už dědí nově získanou mutaci standardním způsobem. K posouzení rentability genetického vyšetřování je pak vhodné konzultovat specializované centrum, které má zkušenosti s daným typem onemocnění a úzce spolupracuje s klinickým genetikem

NGS se používá při diagnostice neurodegenerativních onemocnění po odběru biologického materiálu a extrakci DNA za účelem identifikace genetických variant spojených s onemocněním (Jiang et al., 2014). Stanovení správné diagnózy vzácných neurodegenerativních nemocí je klíčové pro možnou iniciaci vývoje kauzální léčby. Genová terapie cílí na neurodegenerativní nemoci je ve 3. fázi klinických studií (Thompson, 2024).

1. Design panelu

Více než sto osmnáct genů bylo vybráno na základě jejich role v monogenních formách neurodegenerativních onemocnění včetně AD, FTD, ALS. Zaměřujeme se na varianty, které mění aminokyseliny; nebo které spadají do sestřihových donorových/akceptorových míst; v oblastech sestřihu nebo v 5' nebo 3' nepřeložených oblastech. Pro každý studovaný gen způsobující onemocnění byla provedena rešerše v literatuře, aby se identifikovaly dříve publikované patogenní mutace uvedené v databázích Varsome a Clinvar. Frekvence populačních variant byla stanovena pomocí gnomAD (v2.1). Navržený sekvenční panel obsahuje dostatečné množství genů, které mohou vést k odhalení varianty, která by vysvětlovala neurologické potíže u pacienta. Dalším krokem v případě, že není detekovaná varianta způsobující onemocnění, doporučujeme sekvenování celého exomu

INZERCE

(WES), protože varianty spojené s onemocněním jsou v kódujících oblastech významně nadměrně zastoupeny. DNA je extrahována z periferní krve standardními metodami. Příprava knihovny se provádí komerčními panely nebo custom panely. Sekvenování knihoven se nejčastěji provádí na NextSeq 550/550Dx společnosti Illumina s použitím 151 bp čtení párového konce. U všech zahrnutých vzorků musí být dosaženo cílového průměrného pokrytí alespoň 30×.

2. NGS a analýza dat

Analýzu dat provádíme podle standardních osvědčených postupů pomocí informačního systému Genovesa a sekvence se porovnávají s lidským referenčním genomem (GRCh38/hg38). Vytvořili jsme si workflow, které zahrnuje kontrolu kvality FASTQ souborů a jejich filtraci (Phred Qual nižší jak 20), filtraci krátkých readů (< 30), filtraci adapterové sekvence, mapování k referenční sekvenci hg38, odstranění PCR duplikátu, kontrola kvality pokrytí (min coverage 20X), analýzu výpadku regionu. Výpočet uniformity, median coverage, on/off target regionu. Hledání variant s frekvencí 25 % (INDELs 10 %), minimální pokrytí 20X, kvalita Phred 20, Mapping kvalita 1, fázování variant, normalizace a SNPs do MNVs, anotace variant Ensembl VEP 107, dbNSFP.

3. Validace variant

K ověřování variant detekovaných pomocí NGS používáme 3 nezávislé techniky genotypizace, jmenovitě (1) alelickou diskriminaci TaqMan; (2) Sangerovo sekvenování; a (3) restriční analýzu. Primery jsou navrženy pomocí softwaru Primer3. Pro zajištění kvality Sangerova sekvenování jsou amplikony navrženy tak, aby měly hranici přibližně 100 bp od varianty. Sekvence jsou porovnávány s referenční sekvencí v NCBI. Všechny nalezené varianty v kódujících oblastech jsou tímto ověřené a potvrzené.

4. Interpretace dat

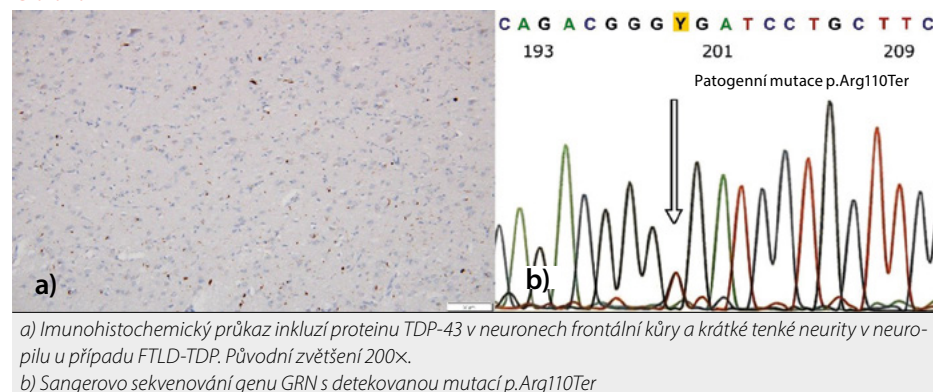
Všechny klinicky relevantní varianty dichotomizujeme od variant s nejistým významem pomocí našeho integrovaného vlastního pracovního postupu bioinformatiky. Obecně postupujeme podle pokynů pro interpretaci sekvenčních variant navržených American College

of Medical Genetics and Genomics a Association for Molecular Pathology (Richards et al., 2015) a vycházíme ze zkušeností spolupracujícího pracoviště Centra pro molekulární neurologii Univerzity v Antverpách. Vyšetřujeme varianty, které byly v naší studii považovány za varianty s MAF < 1 % na základě 1 000 genomů, NHLBI Exome Sequencing Project a databázi ExAC. Varianty jsou také hodnoceny in silico pomocí kompilace predikčních programů: PolyPhen-2, SIFT a CADD. HGMD a ClinVar používáme určení genetické variace se specifickým chorobným stavem.

Studovaná kohorta

Na našem pracovišti byly v letech 2007 až 2023 vyšetřeny vzorky DNA od více než 1 200 jedinců postižených různými neurodegenerativními onemocněními, nejčastěji s diagnózou AD, FTD, ALS a CJD. Všichni pacienti měli klinicky prokázané neurodegenerativní onemocnění, u velké části byla klinická diagnóza potvrzena autopsickým vyšetřením mozku. Tam, kde to bylo možné, byly vzorky DNA získány od postižených a zdravých příbuzných. Pro praktickou ilustraci významu neurogenetického vyšetření uvádíme zajímavé případy, u kterých byla objevena mutace, která v konečném důsledku vysvětlovala neurologické potíže u pacienta a korelovala s neuropatologickým obrazem postižení mozku. Ve studovaných genech jsme identifikovali varianty nesynonymní, synonymní, intronické a UTR a i několik indelů (kódujících a intronických). Po filtraci variant a ověření bylo mezi geny objeveno celkem 27 jednoznačně patogenních missense mutací a několik variant neznámé klinické signifikance.

Obr. 1.



Ilustrativní kazuistiky 5 zajímavých případů

Případ č. 1 Patogenní mutace p. Arg110Ter v genu GRN

Neurologický náález: u probanda přetrvávaly neurologické potíže zhruba 4 roky, nerozuměl mluvenému slovu, prakticky nemluvil. Byl přijat na neurologické oddělení pro progredující kognitivní deficit. Veden jako Alzheimerova nemoc s časným nástupem. Sestra probanda měla podobné neurologické potíže.

Neuropatologický náález: Neurodegenerativní onemocnění spadající mezi frontotemporální lobární degenerace (FTLD) s fosfoTDP-43 pozitivními inkluzemi (FTLD-TDP) s převahou znaků typu A v harmonizované klasifikaci dle Mackenzieho (Mackenzie et al., 2019).

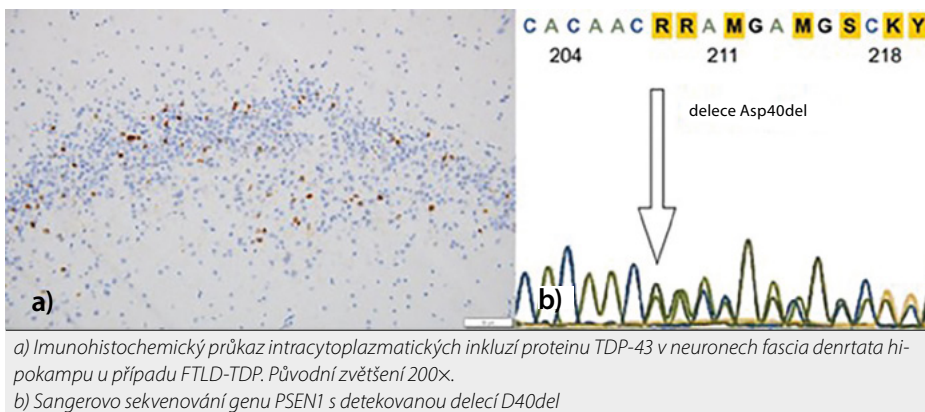
Genetický náález: V kódující sekvenci genu GRN (NM_002087) byla nalezena varianta p. Arg110Ter (c.328C>T). Nalezená varianta je popsána u jedinců s autozomálně dominantní frontotemporální demencí (Van Deerlin et al., 2007; Jin et al., 2012) a také byla detekována u jedince s klinickou diagnózou zadní kortikální atrofie se zrakovým deficitem, apercepční zrakovou agnozií a okcipitální kortikální atrofií (Caroppo et al., 2015). Stejný náález je popsán i u sestry probanda (Obr. 1).

Definitivní náález: FTLT-TDP s detekovanou patogenní variací genu GRN p. Arg110Ter. Vzhledem k nálezu identické mutace u sestry jde o genetickou formu postižení. Následně bylo postižení mozku sestry neuropatologicky verifikováno.

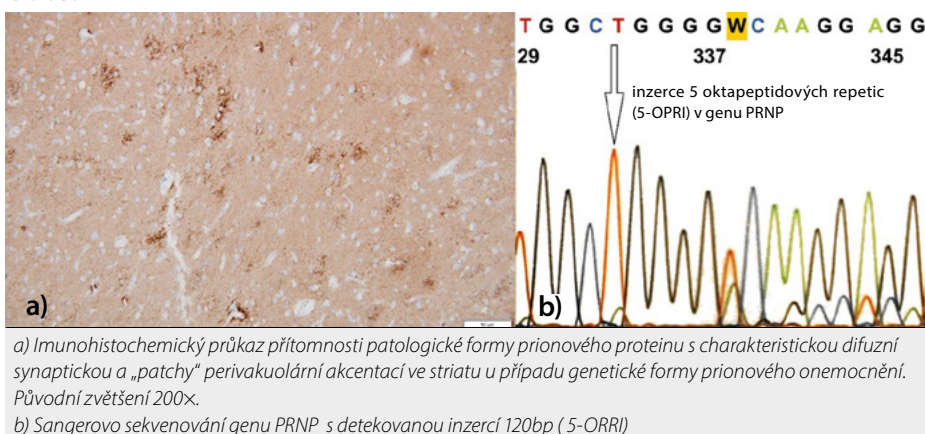
Případ č. 2 Patogenní mutace Asp40del v genu PSEN1

Neurologický náález: v rodině je pozitivní anamnéza s velkou genetickou zátěží.

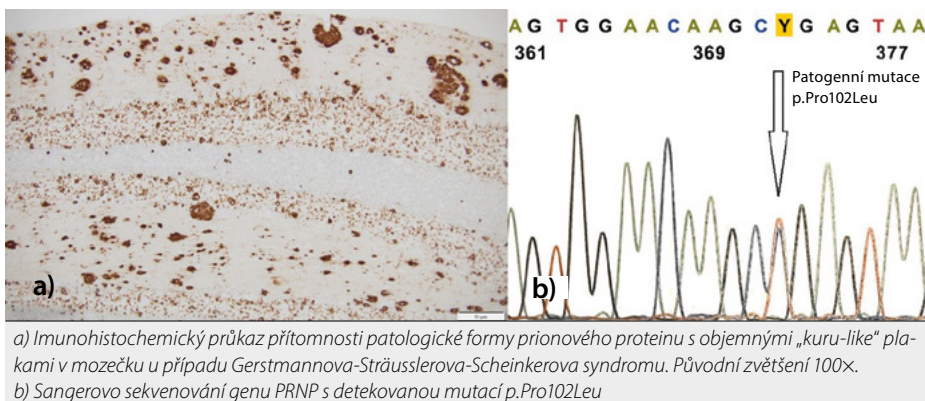
Obr. 2.



Obr. 3.



Obr. 4.



Dlouhodobě před vznikem nemoci byly patrné neadekvátní reakce na emoční události, utíká z domu, zapomíná, co chtěl říct, pohnutí řeči, mívá sny o lidech, kteří jsou již mrtví. Neurologicky mírně euforické ladění, dominuje změna osobnosti charakteru deliberace. Středně těžká demence, výrazné narušení běžných denních aktivit.

Neuropatologický náález: Frontotemporální lobární degenerace s inkluzemi proteinu TDP-43 (FTLD-TDP), nejspíše subtypu B v Harmonizované klasifikaci dle Mackenzieho a neurodegenerace spadající do širšího rámce tauopatií, tzv. na věk váza-

nou primární tauopatií (primary age-related tauopathy – PART; dříve též tzv. senilní demence s tangles).

Genetický náález: Genetickým vyšetřením jsme v kódující sekvenci genu PSEN1 (NM_000021) v kodonu 40 exonu 4 prokázali delecí Asp40del (delGAC) v heterozygotním stavu (Obr. 2).

Definitivní náález: FTLD-TDP s detekovanou patogenní variací genu PSEN1 D40del, tedy překvapivě s patogenní variací v literatuře dávanou spíše do souvislosti s Alzheimerovou nemocí než s onemocněním z okruhu FTLD (Nygaard et al., 2014).

Případ č. 3 Patogenní mutace 120bp inzerce v genu PRNP

Neurologický náález: V rodině je pozitivní anamnéza s velkou genetickou zátěží, několik let progredující kognitivní deficit s převahou v oblasti mnestických funkcí, zrakově-prostorových a exekutivních funkcí a pozornosti; MRI s atrofií s maximem frontotemporálně.

Neuropatologický náález: Creutzfeldtova-Jakobova nemoc, při prokázané genetické zátěži odpovídá genetické formě CJD.

Genetický náález: V kódující sekvenci genu PRNP (NM_000311) byla Sangerovým sekvenováním identifikovaná inzerce 5 oktapeptidových repetit, tedy inzerce 120 bp (5-OPRI) (R2-R2-R2-R3-R4) (Obr. č. 3).

Definitivní náález: Genetická Creutzfeldtova-Jakobova nemoc s nově popsanou patogenní inzercí 120 bp (OPRI). Následně bylo genetické postižení potvrzeno u dvou sester, z nichž u jedné bylo onemocnění verifikováno neuropatologicky. Následně bylo onemocnění retrospektivě popsáno u bratra, který zemřel již v roce 2001.

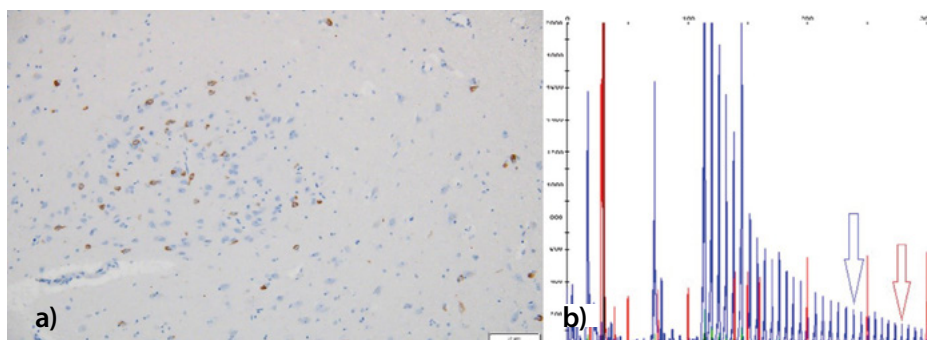
Případ č. 4 Patogenní mutace p. Pro102Leu v genu PRNP a p. Arg110Ter v genu GRN

Neurologický náález: Pacientka s prokázanou mutací v genu PRNP progredovala pod obrazem mozečkového syndromu a postupným kognitivním deficitem, postupně ke zhoršení stavu, schopnost sedět jen s oporou, nechodící. Následně byla přijata na neurologické oddělení, zmírňování projevů onemocnění a tlumení diskomfortu a pacientka umírá.

Neuropatologický náález: Při pitvě potvrzena klinická diagnóza Gerstmannova-Sträusslerova-Scheinkeroва syndromu (GSS) při známé genetické zátěži. Doprovodným nálezem byla depozita patologicky změněného proteinu TDP-43 a ubikvitinu charakteru vývoje FTLD s fosfoTDP-43 pozitivními neuronálními změnami (FTLD-TDP).

Genetický náález: U probandky byla prokázána mutace v genu PRNP (NM_000311) p.Pro102Leu (c.305C>T) v heterozygotním stavu, která svědčí pro hereditární formu prionového onemocnění charakteru GSS. V kódující sekvenci genu GRN (NM_002087) byla navíc nalezena patogenní varianta p. Arg110Ter (c.328C>T). Dle dostupné literatury byla tato varianta popsá-

Obr. 5.



a) Imunohistochemický průkaz ozřejmující různou morfologii intracytoplasmatických inkluzí proteinu TDP-43 v neuronech amygdaly u případu FTLD-MND-TDP. Původní zvětšení 200x.
b) Hexanukleotidová expanze genu C9orf72 prokázána fragmentační analýzou. Modrá šipka ukazuje místo 20 GGGGCC repetice a červená znázorňuje místo 30 a více repetice

na u jednotlivců s frontotemporální demencí (Piaceri et al., 2018) (Obr. 4).

Definitivní náález: Genetická prionová nemoc charakteru GSS s průkazem patogenní mutace P102L v kombinaci s obrazem FTLD-TDP podmíněným mutací v genu GRN.

Případ č. 5 Expanze v genu C9orf72

Neurologický náález: Pacientka s pozitivní rodinnou anamnézou (otec a strýc) onemocnění motorického neuronu charakteru amyotrofické sklerózy postupně progreduje, navíc je v průběhu onemocnění patrný progredující kognitivní deficit, umírá ve věku 55 let.

Neuropatologický náález: Změny asociované s familiární formou FTLD MND byly neuropatologicky podmíněny obrazem ubiquitinových inkluzí a inkluzí proteinu TDP-43 (FTLD-MND-TDP a FTLD-UPS) nejspíše typu B v Klasifikaci podle MacKenzieho.

Genetický náález: Prokázána heterozygotní hexanukleotidová expanze v genu C9orf72 (NM_018325) v rozsahu více než 80 GGGGCC repetice může způsobit různé formy FTLD subtypů frontotemporální demence a/nebo amyotrofické laterální sklerózy (Obr. 5).

Definitivní náález: Náález vyvinutého onemocnění ze skupiny FTLD, oproti očekávání však s depozity ubiquitinu a ne proteinu TDP-43 při známé rodinné genetické zátěži s charakteristickou aberací hexanukleotidové expanze C9orf72.

Závěr

Hlavním úkolem bylo zavést do praxe efektivní a ekonomické šetření genetických příčin neurodegenerativních onemocnění jako výsledku komplexního přístupu multidisciplinární spolupráce mezi neurologem, klinickým genetikem, neuropatologem a mo-

lekulárním genetikem. Vyvinut byl speciálně navržený resekvenační neurodegenerativní genový panel založený na metodě NGS, jež jsme následně použili k identifikaci genetických variant v případech neurodegenerativních onemocnění často s neobvyklými nálezy, což dokumentujeme na příkladu 5 zajímavých pacientů. Analýza 120 genů však stále může přinést nadbytek genetických variací, je třeba, aby laboratoř disponovala celým spektrem molekulárně-biologických metodik, jež lze navíc využít k ověření výsledků získaných NGS. Dalším zásadním bodem je zkušenost s určováním klinicky relevantní varianty od variant s nejistým významem pomocí vlastního integrovaného pracovního postupu bioinformatiky. Nálezy v komplexním multidisciplinárním centru pak je možné korelovat s výsledky neuropatologických analýz.

Poděkování:

Velmi si vážíme spolupráce na konceptu molekulárně genetického testování neurodegenerativních chorob se všemi kooperujícími odborníky z oblasti psychiatrie a neurologie a pevně věříme, že budeme i nadále pokračovat v úzké klinicko-patologicko-genetické kooperaci na poli neurodegenerativních onemocnění.

Práce byla podpořena MZ ČR RVO Fakultní Thomayerova nemocnice FTN0064190, projektem Národní ústav pro neurologický výzkum LX22NPO5107 a Univerzitou Karlovou (Projekt Cooperatio Medicínská diagnostika).

LITERATURA

- Caroppo P, Habert M-O, Durrleman S, et al. Lateral Temporal Lobe: An Early Imaging Marker of the Presymptomatic GRN Disease? *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015;47:751-759.
- Van Deerlin VM, Wood EM, Moore P, et al. Clinical, Genetic, and Pathologic Characteristics of Patients With Frontotemporal Dementia and Progranulin Mutations. *Arch Neurol*. 2007;64:1148.
- Fan K-H, Feingold E, Rosenthal SL et al.: Whole-Exome Sequencing Analysis of Alzheimer's Disease in Non-APOE*4 Carriers. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2020;76:1553-1565.
- García J-C, Bustos R-H. The Genetic Diagnosis of Neurodegenerative Diseases and Therapeutic Perspectives. *Brain Sci*. 2018a;8:222.
- García J-C, Bustos R-H. The Genetic Diagnosis of Neurodegenerative Diseases and Therapeutic Perspectives. *Brain Sci*. 2018b;8:222.
- Giau V Van, Bagyinszky E, An SSA, Kim S Clinical genetic strategies for early onset neurodegenerative diseases. *Mol Cell Toxicol*. 2018;14:123-142.
- Jiang T, Tan M-S, Tan L, Yu J-T. Application of next-generation sequencing technologies in Neurology. *Ann Transl Med*. 2014;2:125.
- Jin S, Pastor P, Cooper B, et al. Pooled-DNA sequencing identifies novel causative variants in PSEN1, GRN and MAPT in a clinical early-onset and familial Alzheimer's disease Iberian-American cohort. *Alzheimers Res Ther*. 2012;4:34.
- Lill C, Bertram L. Towards Unveiling the Genetics of Neurodegenerative Diseases. *Semin Neurol*. 2011;31:531-541.
- Matej R, Rusina R. Neurodegenerativní onemocnění. 2. vydání, Mladá fronta 2019.
- Mackenzie IR, Neumann M. Review: neuropathology of non-tau frontotemporal lobar degeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2019;45(1):19-40. doi: 10.1111/nan.12526.
- Ng SB, Turner EH, Robertson PD et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature*. 2009;461:272-276.
- Nygaard HB, Lippa CF, Mehdi D, Baehring JM. A Novel Presenilin 1 Mutation in Early-Onset Alzheimer's Disease With Prominent Frontal Features. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*. 2014;29:433-435.
- Parobková E, Rusina R, Matějčková M, et al. Genetics of neurodegenerative dementias in ten points – what can a neurologist expect from molecular genetics? *Česká a Slo-*

- venská Neurologie a Neurochirurgie. 2019;82/115:100-105.
- Piaceri I, Imperiale D, Ghidoni E, et al. Novel GRN Mutations in Alzheimer's Disease and Frontotemporal Lobar Degeneration. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;62:1683-1689.
- Prince M, Bryce R, Albanese E, et al. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimer's & Dementia*. 2013;9:63.
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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):405-24.
- Santiago JA, Bottero V, Potashkin JA. Dissecting the Molecular Mechanisms of Neurodegenerative Diseases through Network Biology. *Front Aging Neurosci*. 2017;9.
- Thompson T. How CRISPR gene editing could help treat Alzheimer's. *Nature*. 2024;625(7993):13-14.
- Wolfe MS: Solving the Puzzle of Neurodegeneration. The Molecular and Cellular Basis of Neurodegenerative Diseases. Elsevier. 2018.