

## **Vyšetření genů *DNM2*, *GARS*, *MORC2*, *TRPV4* a *SOD1* u českých pacientů s dědičnou neuropatií axonálního typu**

V dizertační práci jsem se zaměřila na diagnostiku axonální formy dědičné neuropatie, protože v té době byla u pacientů s axonální formou CMT výrazně nižší objasnitelnost metodami klasické molekulární genetiky než u pacientů s demyelinizačními typy CMT. Pro další vyšetření u pacientů bez objasněné příčiny axonální formy CMT byly zvoleny geny *DNM2*, *GARS* a *TRPV4*. Cílem bylo zjistit spektrum a frekvenci mutací v těchto genech jako příčiny CMT2 u českých pacientů. Dále jsme v průběhu řešení projektu přidali vyšetření genů *MORC2* a *SOD1*. Kauzální varianty v těchto dvou genech byly prokázány u našich pacientů pomocí celoexomového sekvenování. Proto jsme následně vyšetřili i větší skupinu pacientů na přítomnost variant v těchto dvou genech, s cílem zjistit, jak časté jsou tyto varianty v české populaci.

Klasickým Sangerovým sekvenováním jsem vyšetřila reprezentativní soubor pacientů s CMT2 na přítomnost variant v genech: *DNM2* (37 pacientů), *GARS* (10 pacientů), *TRPV4* (24 pacientů) a *SOD1* (43 pacientů). Metodou RFLP jsem vyšetřila 161 pacientů na přítomnost varianty p.Arg190Trp v genu *MORC2*. Soubor pacientů s CMT2 (50 pacientů) jsme podrobili také analýze metodou MLPA pomocí kitu na detekci duplikací a delecí pro geny *RAB7A*, *GARS*, *HSPB1*, *HSBP8* a *SPTLC1* (kit P406-A1 CMT2). Nenašli jsme žádnou odchylku v počtu kopií (CNV). V té době docházelo k rozvoji masivně paralelního sekvenování (MPS) a po zvážení finanční náročnosti klasického sekvenování versus MPS jsme se rozhodli geny *DNM2*, *GARS*, *MORC2*, *TRPV4* a *SOD1* zařadit do panelu 97 genů v současnosti spojovaných s dědičnými neuropatiemi. Pomocí MPS jsme vyšetřili 217 pacientů. Vedlo to k následujícím zjištěním a objevům u CMT2.

1. Byla nalezena varianta NM\_002047.2(GARS):c.2074A>G (p.Met692Val) v *GARS* genu, která je nejspíše nepatogenní, resp. není příčinou CMT2 v rodině, nesegreguje s onemocněním v rodině.
2. U pacientky s časným začátkem neuropatie v dětství, skoliózou a dušností, MPS objasnilo příčinu onemocnění a to v důsledku kauzální varianty NM\_021625.4(TRPV4):c.557G>A (p.Arg186Gln) v exonu 3 *TRPV4* genu. Mutace již byla popsána jako patogenní (Landoure et al. 2010). Naši kazuistiku jsme publikovali v časopise Neurologie pro praxi (Mazanec et al. 2016).
3. V *DNM2* genu jsme pomocí celoexomového sekvenování zachytili 2 varianty u 2 nepříbuzných pacientů, jednak: NM\_001005360.2(DNM2):c.1102G>A (p.Glu368Lys) v heterozygotním stavu a dále NM\_001005360.2(DNM2):c.1393C>T (p.Arg465Trp), obě varianty byly již popsány jako příčina centronukleární myopatie (Bitoun et al. 2005) a fenotyp našich pacientů této diagnóze odpovídá.
4. MPS nám umožnilo detekovat i jiné varianty a rozšířit tak spektrum mutací spojovaných s axonální CMT a HMN. Příkladem je *MORC2* gen, kde byla pomocí WES nalezena varianta NM\_014941.2(MORC2):c.568C>T (p.Arg190Trp) v heterozygotním stavu u pacienta s obtížnou chůzí, svalovou slabostí a progresí onemocnění, varianta je popisována jako mutační hotspot. Restrikční analýzou navrženou na štěpení wild type alely v souboru 161 pacientů jsme danou variantu našli ještě u jednoho nepříbuzného pacienta.
5. U velké české rodiny s klinickým fenotypem pomalu progredující familiární ALS (FALS) a s výskytem celkem v 5 generacích, jsme pomocí celoexomového sekvenování našli kauzální mutaci NM\_000454.4(SOD1):c.140A>G (p.His47Arg). Všichni postižení členové rodiny nesou v exonu 4 *SOD1* genu mutaci c.140A>G

**(p.His47Arg)** v heterozygotním stavu. Tato mutace byla již popsána jako patogenní a příčina HMN v článku Ostern et al. 2012.