

Přehled poskytovaných vyšetření v Neurogenetické laboratoři:

Laboratoř sama nezajišťuje odběr biologického materiálu. K dalším analýzám jsou přijímány tyto typy vzorků:

- periferní nesrážlivá krev (odběr do zkumavek s obsahem K2EDTA nebo K3EDTA)
- sliny odebrané do odběrového systému ORAGENE
- izolovaná DNA

Termíny vyhotovení vyšetření, tj. časový interval od dodání vzorku do laboratoře do doby uvolnění výsledku vyšetření, se pro jednotlivé diagnózy liší dle povahy požadovaného vyšetření, viz níže.

Vyšetření v režimu STATIM

Laboratoř standardně neprovádí STATIM vyšetření. Pokud je u konkrétního pacienta nutné provést vyšetření ve zrychleném režimu, je třeba toto oznámit předem telefonicky na čísle +420 22 443 6788 a skutečnost označit i v žádance (viz kolonka STATIM). STATIM vyšetření je možné provést pro nabízená vyšetření s výjimkou NGS vyšetření pomocí panelů a exomového vyšetření. Doba odezvy je v případě STATIM vyšetření co nejkratší od doručení vzorku a je upřesněna při telefonické domluvě. Po kontrole je možné výsledky nahlásit indikujícímu lékaři telefonicky (dle povahy vyšetření). Po telefonickém nahlášení je výsledek v tištěné formě předán žadateli standardní cestou pro předávání tištěných výsledků.

Přehled nabízených vyšetření

Pomocí vyšetření DNA lze uvažovanou diagnózu potvrdit, ale v zásadě jí není možné vyloučit. Toto pravidlo platí pro jakékoliv genetické onemocnění. Cesta k nalezení správné diagnózy je mnohdy velmi dlouhá, se souhlasem pacienta proto uchováváme genetický materiál u nás v laboratoři pro další možná vyšetření v budoucnu.

Laboratoř uplatňuje flexibilní přístup k rozsahu akreditace. Žadatelé o vyšetření jsou seznámeni s možnostmi flexibilního rozsahu akreditace uvedením ve formuláři ČIA *11_01-P508_M_Seznam činností v rámci flexibilního rozsahu* vždy v aktuální formě na stránkách <https://www.fnmotol.cz/kliniky-a-ambulance/kliniky-detska-cast/klinika-detske-neurologie-2-lf-uk-a-fn-motol/#roll-neurogeneticka-laborator>.

Ve stejném formuláři na výše uvedeném odkazu je i aktuální seznam genů, které jsou zahrnuty do vyšetření NGS panelem genů (vyhodnocením virtuálního panelu těchto genů z dat exomového sekvenování) pro jednotlivé diagnózy.

V rámci flexibilního rozsahu akreditace má laboratoř implementované 3 stupně volnosti pro všechny 3 akreditované postupy.

Stupeň volnosti A - Flexibilita týkající se dokumentovaného postupu vyšetření / odběru. Zahrnuje např. změnu loga na výsledkové listině.

Stupeň volnosti B - Flexibilita týkající se techniky. Zahrnuje možnost obměny chemikálií, případně změna v interní kontrole kvality, změna v přístrojové technice.

Stupeň volnosti C - Flexibilita týkající se analytů / parametrů. Zahrnuje možnost vyšetření nových variant v genech a zavádění nových genů do analýzy.

Neurogenetická laboratoř nabízí genetická vyšetření těchto vrozených onemocnění:

Název vyšetření	Gen	Poznámka k vyšetření
Dědičné neuropatie		
vyšetření počtu kopií genu PMP22 metodou MLPA, klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>PMP22</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 1, Tomakulózní neuropatie, HNPP
klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>MPZ</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 1B, CMT1B, CMT2J
klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>MFN2</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 2A2, CMT2A2
klasické sekvenování pouze exonu 4 (3. kódujícího) (v rozšířeném rozsahu i všech kódujících exonů)	<i>RAB7</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 2B; CMT2B

cílené vyšetření prevalentní patogenní varianty c.110 G>C (p.R37P) (v rozšířeném rozsahu i všech kódujících exonů)	<i>HINT1</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 2; HMN/CMT2
klasické sekvenování pouze exonů 4 a 6 genu (v rozšířeném rozsahu i všech kódujících exonů), vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>GDAP1</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 4A; CMT4A
cílené vyšetření prevalentní patogenní varianty c.2860 C>T, (p.R954*) klasickým sekvenováním části exonů 11 a 12 (v rozšířeném rozsahu a u heterozygotů sekvenování všech kódujících exonů), vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>SH3TC2</i>	Charcot-Marie Tooth choroba, typ 4C, CMT4C, HMSN
klasické sekvenování pouze exonu c.442C>T (p.R148*) - u pacientů romského etnika	<i>NDRG1</i>	Charcot-Marie Tooth choroba, typ 4D, CMT4D, HMSN Lom
klasické sekvenování pouze intronu 1 (c.-249-3818G>C) - u pacientů romského etnika	<i>HK1</i>	Charcot-Marie Tooth choroba, typ 4G, CMT4G, HMSN Russe
klasické sekvenování pouze exonu 10	<i>FBLN5</i>	Charcot-Marie Tooth choroba, typ 1
klasické sekvenování celého kódujícího exonu (úseku)	<i>GJB1</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, X dominantní
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>MTMR2</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 4B1; CMT4B1
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>SBF2</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 4A; CMT4B2
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>EGR2</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 1D; CMT1D
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>PRX</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba, typ 4F; CMT4F
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>NEFL</i>	Charcot-Marie-Tooth choroba; CMTDIG, CMT1F, CMT2E
klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>HSP22</i>	Hereditární motorická neuropatie, HSPB8, dominantní
klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>HSP27</i>	Hereditární motorická neuropatie, HSPB1, dominantní
klasické sekvenování pouze exonu 5 c.398 G>A (p.C133Y)	<i>SPTLC1</i>	Hereditární senzitivní neuropatie, dominantní
klasické sekvenování pouze exonu 2 c.263 A>G (p.N88S) a c.269 C>T (p.S90L)	<i>BSCL2</i>	Hereditární motorická neuropatie, dominantní
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA, vyšetření vybraných kódujících exonů klasických sekvenováním	<i>SEPT9</i>	Hereditární neuralgická amyotrofie
cílené vyšetření prevalentní patogenní varianty c.757delG klasickým sekvenováním exonu 7 (v rozšířeném rozsahu a u	<i>SORD</i>	Sorbitol dehydrogenase deficiency with peripheral neuropathy

heterozygotů sekvenací všech zbývajících exonů)		
klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>TTR</i>	Familiární transtyrelinová polyneuropatie
Vyšetření NGS panelu genů pro CMT, HMSN, HMN, HSN	CMT panel	k vyšetření je vhodné nezbytné dodat DNA od obou rodičů a výhodou je i od sourozenců - pro následnou interpretaci nalezených variant
Časné a závažné dětské epilepsie, epileptické encefalopatie a benigní familiární epilepsie		
klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>KCNQ2</i>	Benigní familiární neonatální epilepsie, KCNQ2-vázaná epileptická encefalopatie
klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>SCN2A</i>	Benigní familiární infantilní epilepsie, Časná infantilní epileptická encefalopatie
Vyšetření NGS panelu genů	EPI panel	k vyšetření je vhodné dodat DNA od obou rodičů a výhodou je i od sourozenců - pro následnou interpretaci nalezených variant
Dědičná porucha sluchu		
cílené vyšetření delece genu <i>STRC</i> metodou QCFPCR	<i>STRC</i>	Porucha sluchu DFNB16
Klasické sekvenování kódujícího a nekódujícího exonu	<i>GJB2</i>	Porucha sluchu DFNB1A
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>STRC, OTOA, CATSPER2</i>	Porucha sluchu: DFNB16, DFNB22
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA, vyšetření patogenních variant: IVS1+1G>A, c.35delG, c.101T>C, c.167delT, c.235delC, c.313del14 metodou MLPA	<i>GJB2, GJB6, GJB3, WFS1, POU3F4</i>	Porucha sluchu: DFNB - oblast 13q12, DFNA6/14/38, X-vázaná - XLR
Cílené vyšetření prevalentních variant: c.3217C > T, p.(Arg1073*) c.4402C > T, p.(Arg1468*)	<i>STRC</i>	Porucha sluchu typ DFNB16
Cílené vyšetření prevalentní patogenní varianty c.1331+2T>C klasickým sekvenováním. Vyšetření všech kódujících exonů.	<i>MARVELD2</i>	Porucha sluchu typ DFNB49
Cílené vyšetření prevalentní patogenní varianty c. 2158-2A>G klasickým sekvenováním.	<i>MANBA</i>	Onemocnění Beta-manosidóza – porucha sluchu a mentální retardace
Vyšetření NGS panelu genů	HL panel	k vyšetření je vhodné dodat DNA od obou rodičů a výhodou je i od sourozenců - pro následnou interpretaci nalezených variant
Hereditární spastická paraparéza		
Vyšetření NGS panelu genů	HSP (SPG) panel	k vyšetření je vhodné dodat DNA od obou rodičů a výhodou je i od sourozenců - pro následnou interpretaci nalezených variant
Vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>SPAST, ATLI</i>	Spastická paraplegie 4, autozomálně dominantní; Spastická paraplegie 3A, autozomálně dominantní

Vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>SPG11</i>	Spastická paraplegie 11, autozomálně recesivní
Vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>REEP1, SPG7</i>	Spastická paraplegie 31, autozomálně dominantní; Spastická paraplegie 7, autozomálně recesivní
klasičké sekvenování všech kódujících exonů	<i>SPAST</i>	Spastická paraplegie 4, autozomálně dominantní
Vyšetření NGS panelu genů	HSP (SPG) panel	k vyšetření je vhodné dodat DNA od obou rodičů a výhodou je i od sourozenců – pro následnou interpretaci nalezených variant
Poruchy autistického spektra		
Vyšetření NGS panelu genů	PAS panel	k vyšetření je vhodné dodat DNA od obou rodičů a výhodou je i od sourozenců - pro následnou interpretaci nalezených variant
Malformace kortikálního vývoje		
Vyšetření NGS panelu genů	MCD panel	k vyšetření je vhodné dodat DNA od obou rodičů a výhodou je i od sourozenců - pro následnou interpretaci nalezených variant
Ostatní		
cílené vyšetření patogenní varianty c.657del5 metodou fragmentové analýzy fluorescenční PCR a patogenní varianty c.643C>T (p.R215W) klasickým sekvenováním exonu 6	<i>NBN</i>	Syndrom Nijmegen breakage, NBS
cílené vyšetření patogenní varianty c.863+389C>T (IVS6 + 389 C>T) klasickým sekvenováním	<i>CTDP1</i>	Kongenitální katarakta s faciální dysmorfii a neuropatií, CCFDN
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA nebo QCFPCR, klasické sekvenování všech kódujících exonů	<i>PLP1</i>	Pelizaeus Merzbacherova choroba, PMD
vyšetření počtu kopií genu metodou MLPA	<i>MTM1, MTM1</i>	X – vázaná myotubulární myopatie
cílené vyšetření prevalentní patogenní varianty c.92G>C, p.(Gly31Ala) klasickým sekvenováním	<i>EXOSC3</i>	Pontocerebelární hypoplazie typ 1 (PCH1)
Exomové sekvenování - Agilent SureSelect	ES	v indikovaných případech, k vyšetření je nutné dodat DNA od obou rodičů a výhodou je i od sourozenců - pro následnou interpretaci nalezených variant

Dědičná neuropatie Charcot-Marie-Tooth (CMT)

Dědičné neuropatie CMT neboli také hereditární motorické a senzitivní neuropatie (HMSN) jsou nejčastější dědičná nervosvalová onemocnění, které postihují asi 4 tisíce osob v České republice. CMT

je rozšířena celosvětově, dědí se všemi typy mendelovské dědičnosti a vyskytuje se ve všech rasách i etnických skupinách.

Poprvé byla popsána v letech 1856-1868 třemi lékaři (Jean – Marie Charcot, Pierre Marie a Howard Henry Tooth), účinná léčba však dosud není k dispozici.

U pacientů postižených CMT se postupně zhoršuje síla a hybnost dolních a posléze i horních končetin jako následek poškození jejich periferních nervů.

CMT není smrtelné onemocnění a ve většině případů nijak nezkracuje očekávanou délku života. Vede však nezřídka k tělesné invalidizaci.

Projevy CMT choroby jsou velice variabilní a to jak mezi jednotlivými rodinami, tak i v rámci rodiny samotné. Dědí se všemi známými druhy dědičnosti (AD – autosomálně dominantně, AR – autosomálně recesivně, i vázaná na X pohlavní chromozom. CMT choroby jsou způsobovány poruchami velkého počtu genů (více než 100) rozmístěných po celém genomu.

Dědičné neuropatie se klasifikují na základě rychlosti vedení periferním nervem při elektromyografickém vyšetření (EMG) na CMT1 – demyelinizační typ (rychlost vedení nervem medianem pod 38 m/s) a CMT2 – axonální typ (rychlost vedení nad 38 m/s). Proto je pro správnou diagnostiku potřeba elektromyografické (EMG) vyšetření. Další možností je rozdělit dědičné neuropatie na 3 základní skupiny. První a nejčastější - HMSN – dědičné motoricko senzitivní neuropatie, kde je postižen motorický i senzitivní nerv. Druhá skupina dědičných senzitivních neuropatií (HSN), kde jsou výrazněji postiženy senzitivní nervy a třetí skupina dědičných motorických neuropatií (HMN), s větším postižením motorických nervů. Zdaleka nejčastější typ CMT je CMT1A. Je způsoben duplikací 1.4 Mb velké oblasti na chromozomu 17, která obsahuje gen *PMP22*. Vzácně mohou být příčinou tohoto onemocnění i bodové patogenní varianty v genu *PMP22*. CMT1A představuje 60-70% všech neuropatií. Typický nástup obtíží je v 1. dekádě nebo ve školním věku, kdy pacient pozoruje poruchu chůze – zakopávání, případně deformitu nohou – vysoký nárt. Klinicky mírnějším typem CMT je dědičná neuropatie se sklonem k tlakovým parézám tzv. tomakulózní neuropatie (HNPP). Je způsobena delecí 1.4Mb velké oblasti na chromozomu 17. Klinickým projevem jsou opakující se motorické i senzitivní parézy jednotlivých nervů v různých lokalitách. Druhým nejčastějším typem CMT je CMTX1 způsobená kauzálními variantami v genu *GJB1*, který leží na pohlavním chromozomu X. V tomto případě jsou tedy muži postiženi dříve a více než ženy. V laboratoři testujeme pacienty s podezřením na CMT chorobu, kdy postupujeme podle klinických (tíže postižení a věk začátku), genealogických (typ dědičnosti) a elektrofyziologických údajů (typ neuropatie) a podle etnického původu. Při vyšetření pak postupujeme od nejčastěji se vyskytující příčiny onemocnění (duplikace/delece *PMP22* genu) po vzácnější a po neprokázání 3-4 nejčastějších relevantních příčin je obvykle pokračováno vyšetřením NGS panelu všech genů spojených s dědičnými neuropatiemi. Pro rozhodování, který z testovaných genů sekvenovat jsou nezbytná klinická a genealogická data od pacientů včetně všech dostupných výsledků.

Pokud se vyšetřením nejčastějších příčin onemocnění neobjasní, tak laboratoř nabízí [také vyšetření skupiny 283 genů \(viz níže\) spojovaných s CMT](#), vyšetření [je provedeno](#) pomocí cíleného NGS panelu

vybraných genů. [Toto vyšetření probíhá vyhodnocením](#) virtuálního panelu těchto genů z dat exomového sekvenování (ES).

Termíny vyhotovení vyšetření:

cílené vyšetření klasickým sekvenováním	4-6 měsíců
klasické sekvenování kódujících exonů konkrétního genu	4-6 měsíců
delece/duplikace <i>PMP22</i> genu metodou MLPA	4-12 týdnů
MLPA vyšetření ostatních genů	4-12 týdnů
NGS panelu genů spojených s dědičnými neuropatiemi	4-6 měsíců
exomové sekvenování	4-6 měsíců

Časná a závažná dětská epilepsie a epileptické encefalopatie

Epileptické encefalopatie (EE) neboli těžká závažná časná dětská epilepsie jsou extrémně heterogenní skupinou onemocnění, s časným nástupem epileptických záchvatů, obvykle farmakorezistentních, provázených vývojovou stagnací či regresem. Objasnění příčin, kterých je velmi mnoho u těchto epilepsií, umožnilo až masivně paralelní sekvenování. Pravděpodobnost zjištění genetické příčiny se liší u různých typů epilepsie. U vzácných, závažných, sporadických epilepsií s nástupem v dětském věku s nelezionálním nálezem na magnetické rezonanci mozku je v současnosti až 50% pravděpodobnost, že se pomocí genetických metod (NGS panelu genů) podaří příčinu onemocnění objasnit. Ve většině případů (až 90 %) se jedná o *de novo* patogenní varianty s autosomálně dominantní dědičností. U běžných, byť často familiárních epilepsií, je tato pravděpodobnost nesrovnatelně nižší.

Laboratoř nabízí vyšetření genů spojovaných s epilepsiemi a EE. Vyšetření je provedeno pomocí NGS vyhodnocením virtuálního panelu vybraných genů z dat exomového sekvenování (ES). Dále laboratoř nabízí vyšetření variant v kódujících exonech genu *KCNQ2* a *SCN2A* metodou Sangerova sekvenování u EE i benigních familiárních epilepsií.

Termíny vyhotovení vyšetření:

cílené vyšetření známé familiární varianty klasickým sekvenováním	2-4 týdny
klasické sekvenování kódujících exonů genů <i>KCNQ2</i> , <i>SCN2A</i>	2-4 týdny
EPI panel	4-6 měsíců
exomové sekvenování	4-6 měsíců

Malformace kortikálního vývoje

Malformace kortikálního vývoje (malformations of cortical development – MCD) představují širokou skupinu vrozených vad mozku, zejména mozkové kůry, ale i podkorových struktur a mozečku, které se mohou klinicky projevit již od fetálního období s maximem výskytu příznaků v kojeneckém věku. Pacienti s MCD přichází k prvnímu vyšetření pro epileptické záchvaty, opoždění psychomotorického vývoje, poruchy svalového tonu, poruchy krmení, atypický obvod hlavy a další. Zlatým standardem diagnostiky pacientů s MCD je, kromě anamnézy a fyzikálního vyšetření, zejména kvalitní zobrazení

pomocí magnetické rezonance (MRI) vyhodnocené zkušeným neuroradiologem. Bilaterální MCD vznikají nejčastěji v důsledku patogenních variant v některém z genů pro cytoskelet, které kódují proteiny odpovědné za pohyb jádra a cytoplasmatických výběžků při migraci neuronů, proteiny fungující jako molekulární motory pro axonální transport a další. Fokální MCD vznikají na podkladě patogenních somatických variant v genech MTOR signální kaskády a jejich regulátorů. Specifickou skupinu představují pacienti s patogenními variantami v genech GATOR1 komplexu (*DEPDC5*, *NPRL2*, *NPRL3*), u nichž se může projevit fokální epilepsie bez nálezu fokální kortikální dysplázie (focal cortical dysplasia - FCD) anebo mohou mít fokální epilepsii a jednoznačnou FCD na MRI – u těchto pacientů se epilepsie často vyskytuje v rodinách. Genetické vyšetření má taktéž velký význam u pacientů s fokální farmakorezistentní epilepsií, kteří přichází k vyšetření v epileptochirurgickém programu. Pomáhá nám odlišit vybrané pacienty s geneticky podmíněnou fokální epilepsií, u nichž resekční epileptochirurgie není indikována, od pacientů s MRI-negativní FCD, kteří naopak z chirurgické léčby epilepsie mohou profitovat.

Laboratoř nabízí vyšetření pomocí celoexomového sekvenování s vyhodnocením virtuálního panelu genů spojovaných s epilepsiemi, případně vyšetření celého exomu či genomu. Laboratoř je zapojena do českých a evropských výzkumných grantů, které taktéž pokrývají podstatnou část nákladů na tato vyšetření.

Termíny vyhotovení vyšetření:

cílené vyšetření známé familiární varianty klasickým sekvenováním	2-4 týdny
MCD panel	4-6 měsíců
exomové sekvenování	4-6 měsíců

Dědičná, převážně nesyndromová porucha sluchu (HL)

Porucha sluchu je nečastější smyslovou vadou s prevalencí mezi novorozenci 1:800. Více než 60 % případů má genetickou příčinu. Dědičná porucha sluchu je velice různorodá skupina, kde největší zastoupení mají autosomálně recesivně dědičné poruchy sluchu DFNB (75-80 %), které jsou časné a těžší, následované autosomálně dominantními DFNA (20-25 %), které jsou pozdnější a mírnější a X vázanou DNFY (1-1,5 %) poruchou sluchu. V současnosti je známo přes 100 genů, jejichž kauzální varianty způsobují dědičnou poruchu sluchu. Až 40 % pacientů s recesivní poruchou sluchu má bíalelické patogenní varianty v genu *GJB2*, jde o typ DFNB1. Další 5-6 % pacientů je objasněno detekcí bíalelických patogenních variant, převážně delecí, v genu *STRC*, pak jde o typ DFNB16.

Laboratoř nabízí Sangerovo sekvenování genu *GJB2*. ~~metodou QCFPCR nebo~~ Dále nabízí vyšetření genu *STRC* metodou MLPA, který je druhý nejčastěji postižený gen u pacientů s HL. Dále nabízíme vyšetření panelu genů, který obsahuje geny dosud spojované s autosomálně recesivně, dominantně a X-vázanou dědičnou poruchou sluchu. ~~a to ve dvou variantách. Panel HL1 obsahuje geny dosud popsané u autosomálně recesivně dědičné a X-vázané poruchy sluchu, panel HL2 obsahuje geny dosud spojované s autosomálně recesivně, dominantně a X-vázanou dědičnou poruchou sluchu.~~ Vyšetření je provedeno

pomocí NGS vyhodnocením virtuálního panelu těchto genů z dat exomového sekvenování (ES). Laboratoř nabízí také vyšetření prevalentních variant, které se vyskytují v romské populaci a to v genech *MARVELD2* a *MANBA*.

~~Sangerovo sekvenování genu *GJB2* laboratoř neprovádí, toto vyšetření zajišťuje m.j. laboratoř GENNET, s.r.o. (<https://www.gennet.cz/>). Toto vyšetření je vhodné provést vždy před vyšetřením NGS panelu genů, resp. před vyšetřením *STRC* genu.~~

Literatura

Markova SP, Brozkova DS, Lassuthova P, Meszarosova A, Krutova M, Neupauerova J, et al. *STRC Gene Mutations, Mainly Large Deletions, are a Very Important Cause of Early-Onset Hereditary Hearing Loss in the Czech Population. Genet Test Mol Biomarkers. 2018;22(2):127-34.*

Termíny vyhotovení vyšetření:

cílené vyšetření známé familiární varianty klasickým sekvenováním	2-4 týdny
MLPA vyšetření dostupných NSHL genů	4-6 měsíců
HL panel	4-6 měsíců
exomové sekvenování	4-6 měsíců

Hereditární spastická paraparéza/paraplegie (HSP)

HSP (SPG) jsou heterogenní skupinou dědičných onemocnění centrálního motoneuronu, klinicky se projevují oboustranou progredující spasticitou a slabostí dolních končetin. Obtíže postupně progredují a mohou vést až k ztrátě schopnosti samostatné chůze. Symptomy se mohou začít projevovat v kterémkoli věku. Existuje klasifikace na skupinu nekomplikovaných HSP a skupinu tzv. komplikovaných HSP, kdy se kromě popsaných příznaků u pacientů vyskytují další klinické znaky, např. postižení horních končetin, ataxie, atrofie částí mozku, atrofie optického nervu, kognitivní deficit, mentální retardace, epilepsie a další. Příčinou nemoci mohou být patogenní varianty v mnoha genech se všemi typy mendelovské dědičnosti. Spojitost s HSP byla dosud popsána u téměř 200 genů, u 40-60 % pacientů je příčinou onemocnění patogenní varianta v genu *SPAST* s autosomálně dominantní dědičností způsobujících onemocnění typ SPG4. Laboratoř nabízí vyšetření genů dosud popsaných s fenotypem HSP (na základě databáze HGMD Profess. a našich dosavadních výsledků). Vyšetření je provedeno jako vyhodnocení virtuálního panelu těchto genů z dat exomového sekvenování (ES). ~~bodových patogenních variant v genu *SPAST* metodou Sangerova sekvenování a~~ Dále laboratoř nabízí vyšetření velkých delecí v genu *SPAST* (součástí kitu pro MLPA je i gen *ATL1*) metodou MLPA. Velké delecce v genu *SPAST* jsou také relativně často popsány jako příčina HSP, nejčastějšího typu SPG4. Optimální postup je provést toto vyšetření spolu s vyšetřením panelu genů, zejména u pacientů s nástupem onemocnění v dospělosti. Laboratoř nabízí i vyšetření velkých delecí v genech *SPG7*, *SPG11* a *REEP1*. Tato vyšetření je vhodné provést spíše jako doplňkové zejm. u pacientů, u kterých byla nalezena pouze jedna patogenní varianta (v případě genů *SPG7* a *SPG11* s autozomálně recesivní dědičností). ~~Dále nabízí~~

~~vyšetření skupiny genů spojovaných s fenotypem HSP pomocí vyhodnocení virtuálního panelu těchto genů z dat exomového sekvenování (ES).~~

Termíny vyhotovení vyšetření:

cílené vyšetření známé familiární varianty klasickým sekvenováním	2-4 týdny
klasické sekvenování kódujících exonů konkrétního genu	4-6 měsíců
MLPA vyšetření nebo Sangerovo sekvenování	4-6 měsíců
vyhodnocení virtuálního panelu genů	4-6 měsíců
exomové sekvenování	4-6 měsíců

Poruchy autistického spektra

Poruchy autistického spektra (PAS) představují skupinu neurovývojových onemocnění, které jsou charakterizovány narušením sociálních interakcí, komunikace a stereotypními, opakujícími se vzorci chování, zájmů a aktivit. Současná prevalence poruch autistického spektra se odhaduje až na 2,5%. Příčiny vzniku PAS jsou komplexní se zastoupením jak genetických faktorů, tak faktorů vnějšího prostředí, ale mohou být také součástí řady chorob se známou genetickou etiologií. Geneticky jsou velmi heterogenní a mohou být způsobeny jak zděděnými, tak nově vzniklými variantami. V posledním desetiletí byly identifikovány stovky genů, které k onemocnění přispívají. Tyto geny však tvoří pouze 10-20% případů PAS a pacienti s podobnými patogenními variantami mohou být diagnostikováni na velmi rozdílných úrovních spektra.

Laboratoř nabízí vyšetření skupiny genů spojovaných s poruchami autistického spektra i mentální retardací. Vyšetření je provedeno pomocí NGS vyhodnocením virtuálního panelu vybraných genů z dat exomového sekvenování (ES).

Termíny vyhotovení vyšetření:

cílené vyšetření známé familiární varianty klasickým sekvenováním	2-4 týdny
PAS panel	4-6 měsíců
exomové sekvenování	4-6 měsíců

Nijmegen breakage syndrom (NBS)

NBS (OMIM 251260), známý také jako syndrom Seemanové II, je vzácný autosomálně recesivně dědičný syndrom chromozomální instability, častěji se vyskytující ve slovanské populaci.

Klinické projevy zahrnují závažnou kongenitální mikrocefalii, prenatalní a postnatální růstovou retardaci, humorální a celulární imunodeficienci, opakované respirační infekty se sklonem k bronchiektáziím a vývoj většinou lymforetikulární malignity v dětství.

Charakteristická facies s prominencí středních obličejových partií a nosu, ustupujícím nízkým čelem, retromikrognatií a velkými ušními boltci se vyvíjí po 3. roce věku.

Laboratorní nálezy nízkých imunoglobulinů, chromozomálních zlomů s typickými translokacemi chromozomů 7/14, buněčné i chromozomální hyperradiosenzitivity a radiorezistence syntézy DNA podporují diagnózu NBS.

Gen, jehož porucha vede k NBS byl objeven v roce 1998, leží na osmém chromozomu v oblasti 8q21 a byl nazván NBS1 a nověji přejmenován na NBN. Přímá detekce nejčastější patogenní varianty v NBN genu (slovanská c.657del5 delece 5 nukleotidů v pozici 657) umožňuje exaktní diagnózu postnatální i prenatalní. Gen kóduje protein nibrin, jehož funkcí je oprava chromozomálních zlomů po ionizačním záření.

U homozygotů se chybějící nibrin projeví poruchou stability DNA (DNA repair disorder) vedoucí k malignímu procesu. Hyperradiosenzitivita homozygotů má klinické důsledky pro vznik a léčbu malignit a je důvodem k časně diagnostice a zavedení účinné prevence ochranou před ionizací.

Frekvence přenašečů varianty c.657del5, predominantně se vyskytující ve slovanské populaci, byla nalezena mezi 1:90 v Polsku – Novy Sad po 1:314 v Krakově. Mezi českými novorozenci, narozenými před 20 lety, byla zjištěna frekvence heterozygotů 1:128-154.

Testování varianty se provádí u pacientů s mikrocefalií, v rodinách se zvýšeným výskytem malignit, i u např. pracovníků na rizikových pracovištích (RTG).

Včasná diagnóza je zásadní pro odpovídající preventivní péči a terapii. U pacientů s NBS je třeba se důsledně chránit před ionizujícím zářením (RTG zářením a dalšími mutageny). V případě rozvoje malignity, což je u pacientů s NBS bohužel velice pravděpodobné, je třeba léčit sníženou dávkou chemoterapie a vyvarovat se použití radiomimetických cytostatik.

Literatura

Seeman P, Gebertova K, Paderova K, Sperling K, Seemanova E. Nijmegen breakage syndrome in 13% of age-matched Czech children with primary microcephaly. Pediatr Neurol. 2004;30(3):195-200.

Termíny vyhotovení vyšetření:

cílené vyšetření patogenní varianty p.R215W klasickým sekvenováním 4-6 měsíců
cílené vyšetření patogenní varianty c.657del5 fragmentovou analýzou fluorescenční PCR 4-6 měsíců

Syndrom kongenitální katarakty, facielního dysmorfismu a demyelinizační neuropatie (CCFDN)

V roce 1999 byla popsána nová jednotka u Romů v Bulharsku. Kromě neuropatie se vyznačuje dalšími typickými rysy, jako jsou kongenitální katarakta, faciální dysmorfismus, kognitivní deficit a podobně. Z anglického názvu se pro skupinu odvodil název CCFDN (OMIM 604168).

Klinický obraz CCFDN je charakterizován komplexní vývojovou poruchou postihující primárně nervový systém. Onemocnění se nejdříve a vždy projeví kongenitální kataraktou, mikrokorneou a mikroftalmem. V dalším průběhu je patrné opoždění motorického i mentálního vývoje. Stigmatizace

facies je nápadná až během dětství, projevuje se prominující střední partií obličeje, zduřením měkkých tkání rtů a mikrognácií.

Neuropatie je progresivní, distálního typu, převážně motorická a nejdříve postihuje dolní končetiny. Během dětství a adolescence se přidává i postižení horních končetin i páteře (skolióza, většinou výrazná) a nemoc postupně vede až ke skeletálním deformitám.

Postižení CNS se projevuje mírným až středním, neprogresivním kognitivním deficitem. U některých nemocných je lehká chorea, ataxie a tremor horních končetin. Dalším rysem CCFDN je menší vzrůst, hypogonadismus, případně i sekundární amenorea.

Syndrom CCFDN byl dosud pozorován výhradně u romské populace a pouze v důsledku této jediné patogenní varianty. U CCFDN je autozomálně recesivní typ dědičnosti. Metodou genetického homozygotního mapování byla příčina syndromu lokalizována na osmnáctý chromozom do oblasti 18q23. Později byla identifikována i kauzální varianta c.863+389C>T v CTDP1 genu. Leží v intronu za 6. eonem a ovlivňuje správný sestřih mRNA. V romském etniku se předpokládá efekt zakladatele.

Testování varianty se provádí u pacientů s klinickými příznaky CCFDN (vrozená katarakta, opoždění psychomotorického vývoje, romské etnikum).

Literatura

Lassuthova P, Siskova D, Haberlova J, Sakmaryova I, Filous A, Seeman P. Congenital cataract, facial dysmorphism and demyelinating neuropathy (CCFDN) in 10 Czech Gypsy children--frequent and underestimated cause of disability among Czech Gypsies. Orphanet J Rare Dis. 2014;9:46.

Termíny vyhotovení vyšetření:

cílené vyšetření kauzální varianty klasickým sekvenováním

4-6 měsíců

Pelizaues-Merzbacherova choroba (PMD)

PMD je X vázané onemocnění centrálního nervového systému projevující se poruchou myelinizace CNS (OMIM 312080). Způsobují jej varianty v PLP1 genu ležícím na dlouhém raménku X chromozomu v oblasti Xq22.2.

PLP1 gen může být postižen několika typy mutací. Nejčastější mutací je duplikace genu i jeho přilehlé oblasti a vzácně i triplikace či vyšší počet kopií PLP1 genu. Vzácnější příčinou jsou bodové kauzální varianty PLP1 genu a delece celého genu, která byla popsána zatím pouze velmi sporadicky. Projevy nemoci jsou nystagmus od narození (přítomný u všech pacientů), hypotonie, opoždění psychomotorického vývoje, spastická quadruparéza, a později u sedících ataxie, tremor a difuzní leukoencefalopatie na MRI snímcích.

Rozlišuje se několik forem nemoci, podle závažnosti projevů. Od nejlehčích přes klasickou formu nemoci až po velmi těžkou konnatální. Pacienti postižení lehkou formou nemoci nemívají zkrácenou délku života, pacienti s klasickou formou nemoci se dožívají někdy až šesté dekády věku a pacienti postižení nejtěžší formou nemoci umírají v první dekádě života. Těžká forma nemoci (konnatální) je

typicky způsobena missense variantami a dalšími bodovými variantami v silně konzervovaných oblastech PLP1 genu. Méně nebezpečná forma nemoci (lehčí spastická paraparéza) je způsobena variantami, které neumožní tvorbu PLP proteinu – tzv. null syndrom. Nejčastější patogenní varianta (duplikace PLP1 genu) způsobuje klasickou formu nemoci.

PMD se dědí X recesivním způsobem, kdy postižení jsou převážně chlapci, ženy jsou ve většině případů nemanifestní přenašečky. U lehčí formy PMD – tzv. “PLP1null syndromu“ je mírnější postižení u chlapců a je přítomna i periferní neuropatie, která normálně není součástí PMD. V rodinách lehčeji postižených pacientů s tzv. PLP1null syndromem se někdy vyskytují ženy u kterých se v dospělosti manifestují projevy spastické paraparézy typ 2 (SPG2) na rozdíl od rodin s těžkým průběhem nemoci u chlapců na podkladu „těžké patogenní varianty“, kde může být u dívek v útlém věku postižení charakteru PMD, které se postupně upravuje.

V laboratoři testujeme jak nejčastější příčinu nemoci, tak bodové varianty PLP1 genu. DNA vyšetření má sloužit k potvrzení klinické diagnózy. Vyloučení PMD pomocí DNA vyšetření v zásadě možné není. K testování mutací přistupujeme až po studiu klinických a genealogických dat, která jsou pro nás tudíž stěžejní při rozhodování. U rodiny pacienta se známou patogenní variantou je možné v případě zájmu provést prenatální vyšetření. Také je možné v rodinách pacienta se známou patogenní variantou testovat ženy v riziku na přítomnost duplikace.

Literatura

Seeman P, Kršek P, Náměstková K, Malíková M, Belšan T, Prošková M. Pelizaeus Merzbacherova choroba (PMD) - detekce nejčastější mutace proteolipid proteinu genu u českých pacientů a rodin s klasickou formou PMD. Čes a Slov Neurol Neurochir. 2003;66/99(2):95-104.

Taube JR, Sperle K, Banser L, Seeman P, Cavan BC, Garbern JY, et al. PMD patient mutations reveal a long-distance intronic interaction that regulates PLP1/DM20 alternative splicing. Hum Mol Genet. 2014;23(20):5464-78.

Termíny vyhotovení vyšetření:

Cílené vyšetření známé familiární varianty klasickým sekvenováním	2-4 týdny
duplikace <i>PLP1</i> genu metodou MLPA	4-6 měsíců
cílené vyšetření klasickým sekvenováním všech 7 kódujících exonů	4-6 měsíců