

## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0067****Identifikácia nových génových variantov dedičných porúch sluchu na báze celonárodného skriningu**Zodpovedný riešiteľ **prof. MUDr. Milan Profant, CSc.**Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Lekárska fakulta**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Lekárska Fakulta Univerzity Komenského v Bratislave - Klinika otorinolaryngológie a chirurgie hlavy a krku LFUK a UNB  
Biomedicínske centrum SAV - Laboratórium Diabgene, Ústav experimentálnej endokrinológie

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. DNA laboratory, Department of Paediatric Neurology, Second Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic  
2. Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, Paris, France.  
INSERM UMRS 1120, Institut de la Vision, Paris, France  
Unité de Génétique et Physiologie de l'Audition, Institut Pasteur, Paris, France

### Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

N/A

### Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

- Publikácie v zahraničných impaktovaných časopisoch:

Safka Brozkova D, Varga L, Uhrova Meszarosova A, Slobodova Z, Skopkova M, Soltysova A, Ficek A, Jencik J, Lastuvkova J, Gasperikova D, Seeman P. Variant c.2158-2A>G in MANBA is an important and frequent cause of hereditary hearing loss and beta-mannosidosis among the Czech and Slovak Roma population- evidence for a new ethnic-specific variant. Orphanet J Rare Dis. 2020;15(1):222. doi: 10.1186/s13023-020-01508-3.

Varga L, Danis D, Drsata J, Masindova I, Skopkova M, Slobodova Z, Chrobok V, Profant M, Gasperikova D. Novel variants in EDNRB gene in Waardenburg syndrome type II and SOX10 gene in PCWH syndrome. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2021; 140:110499. doi: 10.1016/j.ijporl.2020.110499.

Varga L, Danis D, Skopkova M, Masindova I, Slobodova Z, Demesova L, Profant M, Gasperikova D. Novel EYA4 variant in Slovak family with late onset autosomal dominant hearing loss: a case report. BMC Med Genet. 2019;20(1):84.

- Publikácie v domácich impaktovaných časopisoch:

Varga L, Jovankovicova A, Huckova M, Demesova L, Gasperikova D, Sebova I, Profant M. Hereditary bilateral sudden sensorineural hearing loss. Bratisl Lek Listy. 2019;120(9):699-

702.

- Publikácie v zahraničných recenzovaných časopisoch bez impakt faktora:

Capová Z, Varga L. Hypercholesterolémia ako rizikový faktor pre poruchu sluchu: máme dostatok dôkazov? *Athero Review* 2020; 5(1): 22-24.

Varga L, Bercíková B, Kabátová Z, Profant M. Prvé skúsenosti s implantátom pre kostné vedenie zvuku Sophono. *Otorinolaryngologie a foniatrie* 2021 (in press)

- Monografie/učebnice/učebné texty:

Profant M, Kabátová Z. (eds.) *Otológia*. (in press)

- Príspevky v zahraničných monografiách:

Varga L. Genetické podklady porúch rovnováhy. In: Čada Z. (ed.) *Poruchy rovnováhy v detském věku*. (in press)

- Pozvané prednášky na zahraničných vedeckých podujatiach:

Varga L. Fitting cochlear implants by psychophysics will become the norm. 14 th European Symposium on Pediatric Cochlear Implantation (ESPCI), 16.-19.10.2019, Bucharest, Romania

Varga L et al. Progressive hearing loss: how common is it among candidates for genetic testing? 5th Congress of European ORL-HNS, 30.6.-3.7.2019, Brussels, Belgium

Varga L, Profant M, Kabatova Z. Value of genetic testing in cochlear implantation. Special Session: From basic science to clinical application in otology. 31st POLITZER SOCIETY MEETING & 2nd GLOBAL OTOLOGY RESEARCH FORUM, 21.-25.2.2018, Las Palmas, Spain.

Varga L, Masindova I, Slobodova Z, Demesova L, Danis D, Skopkova M, Huckova M, Kabatova Z, Sebova I, Gasperikova D. Hereditary Hearing Loss in Pediatric Population and its Relevance to Cochlear Implantation. 14th Congress of the European Society of Pediatric Otorhinolaryngology, 2nd-5th June 2018, Stockholm, Sweden.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Výsledky získané počas riešenia projektu nájdu uplatnenie v rezorte zdravotníctva, v rámci starostlivosti o pacientov s poruchami sluchu a dedičnými chorobami, ako aj v pokračujúcom základnom výskume. Nové poznatky o spektre dedičných nesyndrómových porúch sluchu a hluchoty pomôžu k ich včasnej diagnostike a poznaniu ich presných genetických príčin. Tvoria základ pre uplatnenie princípov personalizovanej medicíny a výskum nových terapeutických možností. Vo vybraných prípadoch pomôžu pri rozhodovaní o optimálnom spôsobe rehabilitácie porúch sluchu a výbere vhodného typu sluchového implantátu vo vzťahu k riziku progresiu poruchy sluchu alebo iným možným komplikáciám. Výsledky získané terénnym výskumom v marginalizovaných rómskych osadách, známym častým výskytom recesívnych ochorení, poukazujú na významný podiel porúch sluchu a s nimi asociovaných syndrómov na týchto dedičných ochoreniach. Vzhľadom na ich širší socioekonomický dopad by mali byť implementované do programov zdravotnej starostlivosti v tejto populácii a v budúcnosti ešte podrobnejšie zmapované. Skutočnosť, že za mnohými zdanlivo nesyndrómovými poruchami sluchu a skrývajú potenciálne závažné klinické syndrómy, ktoré unikajú pozornosti pri rutinej diagnostike alebo v dôsledku absencie ďalších príznakov vzhľadom na nízky vek pacienta, opodstatňuje častejšie využitie metódy celoexómového sekvenovania u pacientov s podozrením na dedičnú poruchu sluchu. Nami navrhnutý a zavedený virtuálny génový panel predstavuje vhodný nástroj na zefektívnenie vyhľadávania kandidátnych génov asociovaných s hereditárnou poruchou sluchu. Skúsenosti s bioinformatickou analýzou početného súboru pacientov s geneticky extrémne heterogénnou diagnózou dávajú dobrý predpoklad na ich úspešné uplatnenie aj pri iných dedičných chorobách. Získaný materiál DNA a fenotypové dáta sú reprezentatívne pre územie celého Slovenska a predstavujú unikátny materiál pre ďalší výskum veľkej skupiny dedičných porúch sluchu a zriedkavých chorôb, prípadne v anonymizovanej forme aj na vybrané populačné štúdie.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)**

Počas riešenia projektu sme kombináciou nábora na riešiteľských klinických pracoviskách i priamo v teréne, najmä vo vybraných rómskych osadách, získali bohatý materiál 677 vzoriek

DNA od z 292 rodín s výskytom obojstrannej sensorineurálnej poruchy sluchu (SNHL), vďaka čomu naša DNA banka sensorineurálnej hluchoty aktuálne obsahuje vzorky od viac ako 1550 pacientov z 945 rodín. Z nej sme na analýzu pomocou celexómového sekvenovania a s využitím in-house nadizajnovaného virtuálneho panelu 222 génov asociovaných s poruchami sluchu v prvom kroku vybrali 92 rodín s familiárnym výskytom poruchy sluchu alebo s atypickým klinickým fenotypom, u ktorých sme predtým vylúčili etiológiu poruchy sluchu na podklade génu GJB2. Plánované analýzy boli doposiaľ ukončené v 79 rodinách, v ktorých sme detegovali 27 génov asociovaných so SNHL: ACTG1, ADGRV1, COCH, COL4A5, COL11A1, CREBBP, DIAPH1, EDNRB, EYA1, EYA4, ILDR1, LOXHD1, MYO6, MYO7A, MYO15A, OTOA, OTOG, OTOGL, P2RX2, PTPRQ, SIX1, SOX10, TECTA, TMC1, TMPRSS3, TSPEAR, USH1C. Celkovo sme v týchto génoch identifikovali 46 kauzálnych variantov, z ktorých až 30 bolo nových, doteraz nepublikovaných. Ich patogénny efekt bol v prípade potreby overovaný pomocou in vitro funkčných štúdií. Týmto spôsobom sa podarilo stanoviť presnú genetickú príčinu poruchy sluchu v 53 % analyzovaných patientskych rodín. Odhalili sme nový patogénny variant v géne EYA4, ktorý zodpovedá za zriedkavú formu autozómovo dominantne dedičnej progresívnej poruchy sluchu s oneskoreným nástupom až medzi 3. a 4. dekadou. Podobne sme nálezom dovtedy neznámych variantov v génoch EDNRB a SOX10 objasnili etiológiu fenotypovo atypických prípadov Waardenburgovho syndrómu, z ktorých variant c.900C>A v géne SOX10 sa nakoniec ukázal ako letálny. Preukázali sme tiež, že náhla sensorineurálna porucha sluchu v detskom veku môže byť podmienená aj geneticky, čo nabáda ku zmene zaužívaných diagnostických algoritmov. Dokázali sme tiež vysoký podiel genetickej etiológie pri zriedkavej, audiometrickej špecifickej mediokochleárnej poruche sluchu a charakterizovali gény, ktoré ju vyvolávajú. V spolupráci s partnerskými zahraničnými pracoviskami sme skúmali spektrum génov podieľajúcich sa na Usherovom syndróme v slovenskej populácii, s identifikáciou patogénnych variantov v génoch CDH23, ADGRV1, USH2A, CLRN1, ABHD12 a MYO7A. Navyše sa ukazuje, že aberantný gén CDH23 je hlavnou príčinou Usherovho syndrómu v rómskej populácii. Ďalšiu etnicky špecifickú mutáciu pre rómsku populáciu sme identifikovali v géne MANBA (gén pre beta manozidázu), ktorý sa okrem poruchy sluchu asociuje aj s mentálnou retardáciou a náchylnosťou na respiračné a kožné infekcie. Jej alelovú frekvenciu v slovenskej rómskej populácii sme stanovili na úrovni 1,88 % a frekvenciu prenášačov až na úrovni 3,77 %. Pilotne na Slovensku sme rozpracovali aj niektoré ďalšie syndrómové poruchy sluchu, ako napr. branchio-oto-renálny syndróm alebo Pendredov syndróm. Zistili sme tiež, že významná časť monoalelických heterozygotov pre recesívne mutácie v géne GJB2 (genotyp nevysvetľujúci poruchu sluchu u pacienta) môže mať predtým nerozpoznanú syndrómovú poruchu sluchu. Získané výsledky sú v prevažnej miere nové a originálne, pričom väčšina z nich je relevantná aj na medzinárodnej úrovni, o čom svedčia aj doteraz publikované výstupy v medzinárodných vedeckých časopisoch a pozvané prednášky na zahraničných odborných podujatiach.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)**

Combining patient recruitment at clinical departments and field recruitment particularly focused on selected isolated Roma communities we collected a valuable material of 677 new DNA samples from 292 families with bilateral sensorineural hearing loss (SNHL). By this we have increased the number of samples in our DNA repository of sensorineural hearing loss currently containing more than 1550 patient samples from 945 families. From this material we selected 92 families with familial hearing loss or uncommon phenotypes for whole exome sequencing analysis using in-house designed virtual gene panel of 222 genes associated with hearing loss. GJB2 related hearing loss was previously excluded in all these subjects. All planned analyses have been done in 79 families in who we detected 27 genes associated with SNHL: ACTG1, ADGRV1, COCH, COL4A5, COL11A1, CREBBP, DIAPH1, EDNRB, EYA1, EYA4, ILDR1, LOXHD1, MYO6, MYO7A, MYO15A, OTOA, OTOG, OTOGL, P2RX2, PTPRQ, SIX1, SOX10, TECTA, TMC1, TMPRSS3, TSPEAR, USH1C. In total, we identified 46 causal variants of which 30 were novel, yet unpublished. If necessary, their pathogenic effect was confirmed by in vitro functional studies. Using this pipeline we were able to precisely determine the deafness etiology in 53 % of the analyzed families. We identified a novel pathogenic variant in EYA4 causing a rare form of autosomal dominant progressive hearing loss with delayed onset between 3rd and 4th decade of life. Similarly,

we have uncovered the genetic etiology of Waardenburg syndrome cases with atypical phenotypes which were linked to novel variants in EDNRB and SOX10 gene of which the c.900C>A variant in SOX10 turned out to be lethal. We did also provide evidence that sudden sensorineural hearing loss in childhood may be caused by known genetic factors. This finding should be also considered in the clinical practice and be implemented in the current diagnostic algorithms. Our findings have further shown a high proportion of genetic causes in the rare and audiotically distinct mid-frequency SNHL and we also characterized the genes involved in its etiology. In collaboration with foreign partner laboratories we investigated the genetic spectrum of Usher syndrome in the Slovak population and identified pathogenic variants in the following genes: CDH23, ADGRV1, USH2A, CLRN1, ABHD12 and MYO7A. Moreover, we have shown that aberrant CDH23 gene is the main cause of Usher syndrome in the Roma population. A different ethnic-specific mutation in the Roma population we identified in MANBA gene (a gene for beta mannosidase), which is, apart from hearing loss, also associated with mental retardation and increased sensitivity to respiratory and skin infections. We estimated its allele frequency in the Slovak Roma population at 1.88% and carrier rate of 3.77%. As a pilot research in Slovakia, we also focused on several other syndromic SNHL including branchio-oto-renal syndrome and Pendred syndrome. We found out that a significant number of monoallelic heterozygotes for recessive GJB2 mutations (a genotype that does not explain the hearing loss in a patient) may suffer from previously unrecognized syndromic SNHL. Most of the project outcomes are novel and original, relevant at the international level which is supported by their publication in international peer reviewed scientific journals and several invited lectures given at the renowned scientific meetings abroad.