



XXXV.

IZAKOVIČOV MEMORIÁL

2025

PROGRAM ABSTRAKTY

8. – 10. október 2025
Grandhotel Praha, **Tatranská Lomnica**

Hlavný organizátor: **SSLG, o. z., SLS**, www.sslg.sk
Organizačné zabezpečenie: **SOLEN, s. r. o.**, www.solen.sk

XXXV. IZAKOVIČOV MEMORIÁL 2025

8. – 10. október 2025

Grandhotel Praha, **Tatranská Lomnica**

Hlavný organizátor: **SSLG, o. z., SLS**, www.sslg.sk

Organizačné zabezpečenie: **SOLEN, s. r. o.**, www.solen.sk

Programový výbor podujatia

RNDr. Michal Konečný, PhD. – prezident SSLG, odborný garant podujatia

RNDr. Regína Lohajová Behulová, PhD. – viceprezident SSLG

RNDr. Gabriel Minárik, PhD. – predseda programového výboru

MUDr. Martin Mistrík – hlavný odborník MZ SR pre lekársku genetiku

RNDr. Ján Radvánszky, PhD.

RNDr. Robert Petrovič, PhD.

MUDr. Alica Valachová

MUDr. Katarína Kušíková

RNDr. Renáta Zemjarová Mezenská

Podujatie je ohodnotené 11 kreditmi v SLK a 12 kreditmi v SKIZP.

ODBORNÝ PROGRAM

Streda 8. október 2025

11.00 – 14.00 **Zasadnutie výboru SSLG**

12.00 – 18.00 **Registrácia účastníkov**

15.00 – 15.05 **Slávnostné otvorenie Memoriálu**

Lohajová Behulová R., Konečný M.

**Spomienka na prof. Izakoviča
pri príležitosti 100. výročia narodenia**

15.05 – 16.45 **Plenárne prednášky**

Predsedenstvo: Lohajová Behulová R., Mistrík M., Konečný M.

15.05 – 15.45 **Súčasná možnosť a výzvy bunkovej a génovej liečby** – Kolníková M.

15.45 – 16.05 **Vzácná onemocnění oka – molekulárně genetické příčiny
a nové terapie** – Lišková P.

16.05 – 16.25 **Ako učiť genetiku 160 rokov po Mendelovi?** – Tomáška Ľ.

16.25 – 16.45 **Editace DNA: pravděpodobně nejzávažnější bioetická výzva
současnosti** – Vácha M.

16.45 – 17.00 Prestávka s občerstvením

17.00 – 18.15 **Valné zhromaždenie členov SSLG, o.z.**

18.30 Večera

ODBORNÝ PROGRAM

Štvrtok 9. október 2025

8.00 – 10.20 **Klinická genetika I.**

Predsedenstvo: Minárik G., Mistrík M.

8.00 – 8.15



Molekulárna dynamika kyseliny hyaluronovej počas implantácie: korelácia RNA-seq analýz a *in vitro* modelov receptívneho endometria – Rabajdová M., Kriváková E., Fabianová N., Martonová M., Mareková M., Toporcerová S.

8.15 – 8.27

Klinické výsledky transferů mozaik po PGT-A a význam přesné kategorizace segmentálních změn – Krmelová J., Pozděna J., Činátlová L., Račochová E., Koudová M., Horák J., Stejskal D.

8.27 – 8.39

NIPT – 10 rokov na Slovensku – Minárik G., Hýblová M., Gnip A., Hadžega D., Jagelková M., Forgáčová Jakúbková M.

8.39 – 8.54

Kompletní řešení pro různé NGS aplikace (CES, WES, WGS, custom panels, CGP, cfDNA, somatika, RNA, long-read, methylace, farmakogenetika a další) – Pácalt O.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti 3GENES. Spoločnosť 3GENES žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

8.54 – 9.06

Naše zkušenosti s rutinním exomovým sekvenováním a hodnocením celoexomových dat za použití vyhodnocovací aplikace Franklin (Genoox) v Molekulárně genetické laboratoři, GNTlabs by GENNET – Hrabíková M., Král J., Soldatová I., Chvojka Š., Hodúlová M., Černá L., Urbanová M., Bittóová M., Koudová M.

9.06 – 9.18

Syndróm neurogénnej svalovej slabosti, ataxie a pigmentovej retinopatie (NARP syndróm) – fenotypová heterogenita pri rôznych patogénnych variantoch v géne *MT-ATP6* (kazuistiky) – Drenčáková P., Šaligová J., Lisyová J., Magner M., Chandoga J., Petrovič R.

9.18 – 9.30

Dlouhá cesta k diagnóze 2 – Gregorová A.

9.30 – 9.42

Je Temple syndróm poddiagnostikovaný u detí narodených ako malé na svoj gestačný vek? – Hrčková G., Janečková L., Vitáriušová E., Skalická K.

9.42 – 9.54

S deficitom ATP1A3-asociované ochorenie pod obrazom suspektnej neuroinfekcie – kazuistika – Kušíková K., Vaská A., Zelinková H., Kolníková M.

ODBORNÝ PROGRAM

- 9.54 – 10.06 **Floating-Harbor syndróm, zriedkavá príčina nízkeho vzrastu, kazuistika** – Mistrík M., Urminská M.
- 10.10 – 10.30 Prestávka s občerstvením
- 10.30 – 11.35 **Klinická genetika II.**
30 rokov pôsobenia CLGFN/ULBGaKB LF UK a UNB
Predsedníctvo: Chandoga J., Petrovič R.
-
- 10.30 – 10.45 **Európsky a slovenský príbeh odhaľovania mikroteliesok – od štruktúry a funkcie lyzozómov a peroxizómov až po metabolické ochorenia** – Chandoga J., Petrovič R., Mattošová S.
- 10.45 – 10.57 **Poruchy metabolizmu lyzozómov v SR** – Mattošová S., Jankovičová K., Maceková D., Hlavatá A., Chandoga J.
- 10.57 – 11.09 **Poruchy metabolizmu peroxizómov v SR** – Petrovič R., Makýšová J., Chandoga J.
- 11.09 – 11.21 **Neurogenetické ochorenia – nekončiaci sa diagnostický príbeh** – Lexová Kolejáková K., Juhosová M., Jungová P., Špalek P., Štofko J., Turčáni P., Chandoga J.
- 11.21 – 11.33 **Mitochondriálne metabolické ochorenia – genomický a metabolomický prístup v diagnostike** – Lisýová J., Juhosová M., Repiský M., Petrovič P., Chandoga J.
- 11.35 – 13.00 **Klinická genetika III.**
Predsedníctvo: Petrovič R., Puchmajerová A.
-
- 11.35 – 11.47 **Diagnostika autosomálne dominantní tubulointersticiální nefropatie podmienené mutaciami MUC1: prístupy k detekci posunových mutácií v oblasti tandemových repetící** – Živná M., Vrbáková A., Přistoupilová A., Janoušek V., Barešová V., Hodaňová K., Hartmannová H., Vyleťal P., Kidd K., Bleyer A., Kmoch S.
- 11.47 – 11.59 **Hereditárni hemoragické teleangiektázie – etiologie, možnosti genetického vyšetření** – Puchmajerová A., Černá L., Soldátová I., Hrabíková M., Král J., Honysová B., Bitóová M., Koudová M.

ODBORNÝ PROGRAM

- 11.59 – 12.11 **Vzácní, ale skutoční** – Tvrďá P., Plevová P., Paprskářová M., Porubová P.
- 12.11 – 12.23 **Familiárna stredomorská horúčka – odporúčanie pre manažment MEFV variantov a rozbor slovenskej kohorty** – Markocsy A., Malicherová Jurková E., Bobčáková A., Hrubíšková K., Petrovičová O., Kapustová L., Košturiak R., Genšor D., Dallos T., Jeseňák M.
- 12.23 – 12.35 **Od kandidátní varianty k popisu nového onemocnění: varianty v genu EHMT2 způsobují neurovývojové onemocnění podobné Kleefstra syndromu** – Nosková L., Hnízda A., Gřegořová A., Sikora J., Kmoch S.
- 12.35 – 12.47 **Klinický obraz pacientov s liečiteľnými geneticky podmienenými neurologickými zriedkavým ochoreniami** – Garajová M.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Biogen. Spoločnosť Biogen žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 12.47 – 13.00 **Inovatívne terapie** – Petrovič R.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Biogen. Spoločnosť Biogen žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 13.00 – 13.45 Obed
- 13.45 – 14.45 **Prezentácia posterov**
Predsedníctvo: Radvánzsky J., Sedláčková T.
-
- Poster č. 1 **Metodické přístupy neinvazivního genotypování cfDNA u klinicky významných inkompatibilit krevních skupin matky a plodu v České republice** – Böhmová J., Vodička R., Vrtěl R., Procházka M., Holusková I., Ľubušký M.
- Poster č. 2 **Psychodynamika gravidity a prenatálna diagnostika. Dôležitosť rozhovoru** – Cisárik F.
- Poster č. 3 **Rok s WEsem** – Dohnalová L., Chvojka Š., Hrabíková M., Král J., Zembol F., Šuhajová S., Koudová M., Bittóová M.
- Poster č. 4 **MDM2 – „double minutes“ a úskalí stanovení jeho amplifikace** – Dřimalová H.
- Poster č. 5 **Zastúpenie farmakogeneticky významných DNA variantov vo vybraných génoch kódujúcich enzýmy cytochrómu P450** – Ďurišová K.

ODBORNÝ PROGRAM

- Poster č. 6 **Genetická a fenotypová charakterizácia DNA variantov v géne *UGT1A1* u jedincov s podozrením na Gilbertov syndróm: multimetodický prístup** – Ďurišová P.
- Poster č. 7 **Interpretácia *BRCA1/BRCA2* zárodočných variantov: vyhodnotenie záchytu v GenVias (2018 – 2025)** – Flimelová K., Slezák T., Bognár C.
- Poster č. 8 **Dôležitosť kombinovanej genetickej a biochemickej analýzy pri stanovení diagnózy SLOS pri atypickom alebo miernom fenotype** – Forgáčová N., Hrčková G., Bokorová S., Krampfl W., Sedláčková T., Szemes T., Lojová I., Tóthová Tarová E., Radvánszky J., Zaťková A.
- Poster č. 9 **Molekulárne genetická diagnostika prelingválnej hluchoty: kazuistiky nesyndromové poruchy sluchu a mimiker nesyndromové hluchoty** – Gančarčíková M., Šenkeříková M., Elblová L., Cichrová P., Dršata J., Malá T., Forgáčová L., Morávková P., Farkašová A., Pavlíková L., Hyšpler R.
- Poster č. 10 **Spojené nádoby – kazuistika** – Harkotová D., Paučinová I., Krasňanská G., Konečný M., Břandová G.
- Poster č. 11 **Národní centrum lékařské genomiky České republiky** – Hodaňová K., Hartmannová H., Trešlová H., Nosková L., Stránecký V., Kmoch S.
- Poster č. 12 **Expresia miRNA v súvislosti so skorou karcinogenezou krčka matrice: pilotná štúdia** – Holubeková V., Hornáková A., Rokos T., Kolková Z., Kašubová I., Pribulová T., Kozubík E., Biringer K., Kúdela E.
- Poster č. 13 **Dysregulácia miRNA v duodenálnom tkanive pediatrických pacientov s celiakiou: vplyv bezlepkovej diéty na expresný profil** – Hornáková A., Kolková Z., Suroviaková S., Grendár M., Havlíčeková Z., Holubeková V., Bánovčin P.
- Poster č. 14 **Fokálna faciálna dermálna dysplázia typ III: zriedkavá kazuistika zo Slovenska** – Horváth M., Krištinová D., Demová K., Rózová I., Tomková E., Tóthová K.
- Poster č. 15 **Endometriálny receptivita – jeden z faktorů pro úspěšný embryotransfer v rámci IVF** – Chvojka J., Dohnalová L., Nguyen L., Dvořáčková H., Koudová M., Bittová M.
- Poster č. 16 **Personalizovaný přístup v léčbě AML: kazuistiky s využitím NGS** – Ivan J., Kopcsayová D., Vallová S., Majerová L., Šprincová A.
- Poster č. 17 **Kazuistika: Adenokarcinom appendixu u nositele zárodečné mutace *BRCA1*** – Janíková M., Kolaříková K., Kratochvílová R., Brisudová A., Langerová H., Ritter Ponikelská N., Vrtěl R., Curtisová V., Nesnadná R., Savara J., Procházka M.

ODBORNÝ PROGRAM

- Poster č. 18 **Mutácia v géne *RPGR* ako spoločný základ retinitis pigmentosa a primárnej ciliárnej dyskinézy – kazuistika** – Kolková Z., Ďurdík P., Holubeková V., Ďurdíková A., Jeseňák M., Bánovčin P.
- Poster č. 19 **Kazuistiky z nášho laboratória – Postnatálna diagnostika ring chromozómov 5 a 18** – Kozmér C., Landlová D., Furielová T., Hráček V., Eckertová M., Tomková E., Križan P., Hrčková G.
- Poster č. 20 **Nethertonův syndrom – dlhá cesta k diagnose** – Laštůvková J., Nosková L., Pecková A., Čejnová V.
- Poster č. 21 **Porovnanie analytickej citlivosti molekulárno-biologických prístupov pri detekcii vybraných variantov v mitochondriálnej DNA** – Latka S., Perašín J., Slíž I., Zelinková H.
- Poster č. 22 **Porovnanie kvalitatívnych metrík hodnotiacich NGS analýzy a mieru zhody pri detekcii molekulárnych zmien v rámci párových FF a FFPE vzoriek počas komplexného genomického profilovania pomocou testu TSO 500** – Loderer D., Hornáková A., Tobiašová K., Lešková K., Halašová E., Danková Z., Biringer K., Kúdela E., Rokos T., Dzian A., Miklušica J., Mikolajčík P., Smolár M., Plank L., Grendár M.
- Poster č. 23 **Monogénová príčina nesyndrómového autizmu – 2 kazuistiky** – Lopáčková V.
- Poster č. 24 **Analýza klinického exómu u pacientov s negatívnym nálezom myotonickej dystrofie 1 a 2** – Oravcová L., Cicmanová Palčová L., Medová V., Kádaši L.
- Poster č. 25 **Kto hľadá, nájde... – kazuistika** – Paučinová I., Baldovič M., Konečný M., Bľandová G.
- Poster č. 26 **Genetická príčina recidivujúcich mikrobakteriálnych infekcií** – Pecková A., Laštůvková J., Jílek D., Freiburger T.
- Poster č. 27 **Cri-du-chat a Wolf-Hirschhornov syndróm – pozoruhodné prípadové štúdie** – Pollačeková E., Martineková S., Kantarská D., Chandoga J., Tomka M., Sekelská M., Hýblová M., Križan P.
- Poster č. 28 **Genetická diagnostika Knoblochovho syndrómu u dvoch plodov s mutáciami v géne *COL18A1*: kazuistika** – Purgatová A., Róžová I., Hýblová M., Minárik G., Majerová L., Landlová D., Križan P.
- Poster č. 29 **Hodnotenie polygénneho rizika u detí s poruchami autistického spektra** – Repiská G., Konečný M., Krasňanská G., Belica I., Rašková B., Haramiová J., Janšáková K., Kelemen M., Ostatníková D., Lakatošová S.

ODBORNÝ PROGRAM

- Poster č. 30 **Comparative evaluation of whole-exome library preparation kits and sequencing platforms for next- generation sequencing**
– Rožánková Z., Žižkovičová P., Jurtiková H., Liznerová B., Drábek J., Hajdúch M.
- Poster č. 31 **Naše prvé zkušenosti s digitální PCR** – Ruszová E., Khaznadar Z.
- Poster č. 32 **Optimalizácia analýzy mikrobiómu – porovnávacia štúdia kitov na prípravu NGS knižníc** – Sedláčková T., Zeman M., Rusňáková D., Budiš J., Kajsík M., Szemes T.
- Poster č. 33 **STAT1 asociovaná autoimunitní onemocnění – kazuistika diagnostické odysey** – Srovnal J., Kopřiva F., Rožánková Z., Bouchalová K., Pytelová Z., Vrtěl P., Procházka M., Hajdúch M.
- Poster č. 34 **Copy Number Variation and Clinical Response to Chemotherapy and Bevacizumab of Czech Metastatic Colorectal Cancer Patients**
– Stránská J., Bartaková K., Rožanková Z., Kotková L., Vrbková J., Flodr P., Jurtiková H., Liznerová B., Drábek J.
- Poster č. 35 **Cytogenetika v ére genomiky: keď klasika rozhoduje o diagnóze**
– Štefeková A., Vrbická D., Čapková P., Trávníčková Š., Curtisová V., Šantavá A., Procházka M.
- Poster č. 36 **Molekulárne mechanizmy Zn-NSAID komplexu: vplyv na mitochondriálnu dysfunkciu v endometriálnych bunkách**
– Tóthová I., Badovská Z., Smolko L., Mikulová V., Rabajdová M.
- Poster č. 37 **Variant c.811C>T v géne *POU1F1* pravdepodobne vedie k nedostatku hormónov hypofýzy s hypopláziou** – Vasil M., Urminská M., Zelinková H., Zemjarová Mezenská R., Bašistová K., Buno V., Ferenczová J., Kovalčík L., Doričková A., Lukáčová T.
- Poster č. 38 **Atypická trizómia chromozómu 14** – Verchovodková V., Tóthová K., Rőžová I., Horváth M., Kozmér C., Hercegová A., Ondreičková V., Landlová D., Križan P.
- Poster č. 39 **A novel approach to confirm genetic variants with potential phenotypic impact by amplicon massive parallel sequencing from data obtained by whole genome sequencing in patients with Parkinsonism** – Vodička R., Kolaříková K., Vrtěl R., Menšíková K., Kaňovský P., Ismail H.
- Poster č. 40 **Exómové sekvenovanie – cesta vedúca ku skorej diagnóze**
– Vogelová S., Petříková M., Konečný M., Krasňanská G., Eliáš V.

ODBORNÝ PROGRAM

- Poster č. 41 **Karyotyp kostní dřeně jako metoda první volby u myeloproliferací**
– Vrba D., Bednářová D., Malinová N., Kopsová L., Pelková J.
- Poster č. 42 **Pane, vy jste Turnerka?! – kazuistika** – Vrbická D., Štefeková A.,
Čapková P., Trávníčková Š., Petřková J.
- Poster č. 43 **První fatální prenatalní manifestace deficitu adenylosukcinát lyázy
způsobená novou unsense variantou v genu *ADSL*** – Zikánová M.,
Klapperich A., Karakaya M., Mrázová L., Trešlová H., Stránecký V.,
Škopová V.

20.00 Večera

Piatok 10. október 2025

8.00 – 9.45 **Onkogenetika a onkogenomika**

Predsedenstvo: Jarošová M., Závodná K.

- 8.00 – 8.12 **Optické mapování genomu akutních myeloidních leukémií (AML):
nové pohledy na strukturní varianty a jejich klinický význam**
– Jarošová M., Kotašková J., Ondroušková E., Bohúnová M., Bryjová L.,
Čábelová K., Šmejkal J., Šmuhařová P., Ježíšková I., Žanetová M.,
Weinbergerová B., Bezděková Fillerová R., Pospíšilová Š., Mayer J.
- 8.12 – 8.24 **Optické mapování genomu (OGM) jako pokročilý nástroj pro analýzu
prostorové a klonální heterogenity glioblastomů** – Zemanová Z.,
Lizcová L., Lhotská H., Hodaňová L., Pavlišťová L., Konečná D.,
Soukup J., Netuka D.
- 8.24 – 8.39 **Éra genetiky v skríningu karcinómu krčka matrice:
HPV testovanie ako nový štandard** – Alemayehu A.
*Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Roche.
Spoločnosť Roche žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného
obsahu podporenej prednášky.*

ODBORNÝ PROGRAM

- 8.39 – 8.49 **Výhody prediktívneho testovania somatických mutácií genů *KRAS*, *NRAS*, *BRAF* a *EGFR* pomocí custom panelu na platformě Genexus**
– Dolinová I.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 8.49 – 9.01 **Komplexné genetické testovanie a jeho prínos pre pacientov s nádormi kolorekta** – Závodná K., Mešinová S., Šebest L., Svoboda M., Slamka T., Kostrábová A., Dolešová L., Krascenitsová E., Lohajová Behulová R.
- 9.01 – 9.11 **Aplikované inovace v genomice: Enhanced Exome komplexní end-to-end řešení** – Omelchenko D.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Dynex ČR. Spoločnosť Dynex ČR: žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 9.11 – 9.23 **Využitie exón-proximálnych prób pri komplexnej diagnostike hereditárnych nádorových syndrómov** – Farkašová A., Gančarčíková M., Elblová L., Forgáčová L., Malá T., Morávková P., Pavlíková L., Hyšpler R.
- 9.23 – 9.33 **Zlepšovanie klinických rozhodnutí pomocou rýchleho genómového profilovania: OCA + na Genexus** – Držík F.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 9.33 – 9.43 **Výhody a ústrania analýzy tekutej biopsie v precíznej onkológii**
– Šebest L., Mešinová S., Závodná K., Alemayehu A., Lohajová Behulová R.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 9.45 – 10.15 Prestávka s občerstvením

ODBORNÝ PROGRAM

- 10.15 – 12.10 **Genetika a genomika (varia)**
Predsedenstvo: Vlková B., Radvánszky J.
-
- 10.15 – 10.30 **Extracelulárna DNA pri reumatoidnej artritíde – dôsledok, či príčina?** – Celec P., Macáková K., Šteňová E., Vlková B.
- 10.30 – 10.42 **Extracelulárna DNA a deoxyribonukleázová aktivita** – Vlková B., Macáková K., Tóthová N., Janovičová L., Celec P.
- 10.42 – 10.57 **Unraveling Cellular Complexity and Tissue Architecture with Advanced Transcrip-tomic Tools** – Abaffy P., Kulinich V., Mášová A., Valihrach L.
- 10.57 – 11.09 **Genetická záťaž zriedkavých variantov a behaviorálne fenotypy u detí s autizmom na Slovensku** – Lakatošová S., Konečný M., Krasňanská G., Celušáková H., Belica I., Kopčíková M., Keményová P., Ostatníková D., Repiská G.
- 11.09 – 11.21 **Distribúcia skóre polygénového rizika u jedincov so zápalovými črevnými ochoreniami** – Minárik J., Puterka S., Lojová I., Zaťková A., Gazdarica J., Budiš J., Szemes T., Radvánszky J.
- 11.21 – 11.33 **Využitie genetického skóre DM1 pre efektívnu prioritizáciu pacientov na testovanie monogénového diabetu** – Dobiašová Z., Škopková M., Karhánek M., Greguš F., Lobotková D., Jančová E., Barák L., Staník J., Gašperíková D.
- 11.33 – 11.45 **Genetická analýza a funkčná validácia nových variantov asociovaných s branchiogénnymi malformáciami** – Borecká S., Cipková K., Sklenár M., Varga L., Hrčková G., Ugorová D., Sabo M., Škopková M., Gašperíková D.
- 11.45 – 11.55 **Biologická úloha vybraných genetických faktorov v patogenéze parodontitídy** – Eliaš V.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 11.55 – 12.07 **Analýza TR motívov z genomických dát: na ceste od výskumu ku klinickej aplikácii** – Lojová I., Baláž A., Kucharík M., Zaťková A., Szemes T., Budiš J., Radvánszky J.

ODBORNÝ PROGRAM

12.10 – 12.30 **Hlasovanie, vyhodnotenie súťaží a ocenenia výhercov**
Vyhodnotenie súťaže o najlepšiu odbornú publikáciu za rok 2024

12.30 **Ukončenie konferencie**

12.30 Občerstvenie pred odchodom

Súťaž o Ceny SSLG SLS



1. „Cena SSLG SLS za najlepšiu prednášku autora do 35 rokov v rámci Izakovičovho memoriálu“



2. „Cena SSLG SLS za najlepšiu prednášku v rámci Izakovičovho memoriálu“



3. „Cena SSLG SLS za najlepší poster v rámci Izakovičovho memoriálu“

Streda 8. 10. 2025

Plenárne prednášky

Súčasná možnosť a výzvy bunkovej a gémovej liečby

Kolníková M.

Klinika detskej neurológie LF UK
a NÚDCH Bratislava

Cieľ: V súčasnosti je v EÚ schválených 32 rozličných bunkových a gémovej terapií (z toho päť pre neurologické ochorenia: SMA (spinálna muskulárna atrofia), MLD (metachromatická leukodystrofia), X-ALD (X-adrenoleukodystrofia), AADC (L-amino-acid dekarboxilázový deficit) a SOD1-ALS. Očakáva sa schválenie tiež pre DMD (Duchennovu svalovú dystrofiu).

V priemere je diagnostikovaných so zriedkavými liečiteľnými poruchami len približne 30 % pacientov a iba 15 % z nich dostáva liečbu. Aktuálnou výzvou je, ako zabezpečiť včasnú dostupnosť autoritami schválenej liečby a zaradiť ju do terapeutického postupu. Pri CGT liečbe sú určité kľúčové procesy: od stanovenia diagnózy pacienta až po nájdenie liečby – identifikácia centra, posúdenie vhodnosti, plán liečby, schválenie nákladov a konečná realizácia.

Metódy a výsledky: Uvádžeme liečebné a administratívne údaje pre bunkové a gémovej terapie od diagnózy po podanie liečby. Zaoberáme sa vybranými klinickými jednotkami a opisujeme potrebné postupy na realizáciu liečby v centre gémovej liečby, poukazujeme

na časovú náročnosť včasného podania liečby.

Záver: Načasovanie terapie a okno na jej realizáciu je zvyčajne krátke, situácia často vyžaduje neodkladné riešenie. Bunková a gémovej terapia má vysoko špecifické procesy a koordináciu projektov a liečebných postupov. Jedným z riešení by mohlo byť zavedenie dostupných skríningových metód vrátane NBS pre liečiteľné zriedkavé ochorenia a vybudovanie siete odborníkov zameraných na diagnostiku s možnosťou rýchleho zabezpečenia liečby.

Kľúčové slová: bunková a gémovej terapia, referenčné centrum, procesy, cezhraničná liečba

Vzácná onemocnění oka – molekulárné genetické príčiny a nové terapie

Lišková P.^{1,2}

¹Klinika pediatrie a dedičných metabolických poruch a ²Oční klinika, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha, ČR

Úvod: Monogenně podmíněná onemocnění oka představují heterogenní skupinu více než 800 chorob, z praktického hlediska je dělíme na rohovková, sítnicová, choroby zrakového nervu a vývojové anomálie. Oko je ideální orgán pro nové cílené terapie založené na znalosti molekulárně genetické příčiny jednotlivých onemocnění.

Metody: V uplynulých 15 letech jsme vybudovali v České republice komplexní diagnosticko-výzkumnou plat-

formu pro pacienty se vzácnými onemocněními oka. Oční klinika 1. LF UK a VFN v Praze je jediná členem Evropské referenční sítě pro vzácná onemocnění oka (ERN-EYE). V rámci diagnostiky spolupracujeme se širokým spektrem odborníků z řad lékařů, sociálních a laboratorních pracovníků. V Evropském výzkumném prostoru spolupracujeme s řadou špičkových zahraničních pracovišť. Pacientům bez zjištěné molekulární genetické příčiny v diagnostických laboratořích nabízíme analýzu spočívající v exomovém a genomovém sekvenování, popř. i optického mapování genomu. Podílíme se i na celogenomových asocičních studiích.

Výsledky: V současné době disponujeme vzorky od více než 2500 probandů, nejpočetnější diagnózou je Fuchsova endotelová dystrofie rohovky (540 probandů) a keratokonus (354 probandů). Nejzávažnější diagnózami jsou Leberova kongenitální amauroza a závažné dystrofie sítnice s časnou manifestací (46 jedinců). Diagnostická výtěžnost molekulární genetického testování se různí dle skupin onemocnění, např. u rohovkových dystrofií se pohybuje nad 90 %, u dystrofií sítnice pak kolem 50 %. Vzorky pacientů z České republiky trpícími různými očními onemocněními vedly či napomohly k identifikaci 7 kauzálních genů. Naše kohorta pacientů byla druhou nejpočetnější v největší celogenomové asociční studii keratokonu. náš výzkum zlepšil pochopení podílu a mechanismu patogeneze variant v nekódujících oblastech, například malých nukleárních

RNA, DNÁza I hypersenzitivních míst či trinukleotidových opakování. Komplexní péče o pacienty a výzkumné poznatky přispěly k zavedení nových diagnostických metod a otevření Centra genové terapie na Oční klinice 1.LF UK a VFN v Praze, které v současnosti aplikuje voretigen neparvovek u pacientů s bialelickými mutacemi v genu RPE65.

Závěr: Geneticky podmíněná onemocnění oka mají v porovnání s jinými vzácnými chorobami relativně vysokou objasněnost. Systematická spolupráce lékařů, diagnostických a výzkumných laboratoří umožňuje u této skupiny chorob nalézat stále nové geny a mechanismy.

Podpořeno granty NW24-06-00083 a GACR 24-10324S.

Ako učiť genetiku 160 rokov po Mendelovi?

Tomáška Ľ.

Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského Bratislava

Mendelove pravidlá dedičnosti tradične predstavujú vstupnú bránu študentov do sveta genetiky. Odnášajú si z nej predstavu, že porozumenie základným genetickým princípom sa zrodilo pred približne 160 rokmi v malej záhrade za múrmi augustiniánskeho kláštora v Brne. Tento obraz posilňuje aj fakt, že po Garrodovom objave genetického základu alkaptonúrie sa zoznam monogénne podmienených ľudských ochorení rozšíril na niekoľko tisícok, dnes zdokumentovaných v databáze *Online Mendelian Inheritance in Man*.

Dnes je však zrejmé, že rádovo väčší počet fenotypových prejavov – patologických aj fyziologických – nemožno vysvetliť jednoduchými mendelovskými pravidlami, ale komplexnou interakciou mnohých sekvenčných a/alebo epigenetických variantov v génových aj negénových oblastiach genómu. V tomto svetle sa mendelovské pravidlá javia skôr ako špecifické výnimky, nie univerzálne pravidlá dedičnosti.

V rámci medzinárodnej komunity edukátorov genetiky dnes prebieha diskusia o tom, či súčasné kurikula prírodovedných škôl a etablované učebnice genetiky primerane odrážajú súčasný stav poznania – a či nenastal čas na ich zásadnú revíziu. V čom majú proponenti takejto zmeny pravdu? V čom môžu byť ich návrhy problematické? Je potrebné prehodnotiť obsahovú štruktúru univerzitných kurzov genetiky? A čo výučba genetiky na stredných školách, ktorá je venovaná takmer exkluzívne mendelovským pravidlám? Zvoliť si bezpečnú, ale pomalú cestu evolúcie, alebo rýchlu, ale riskantnú revolúciu? Cieľom prednášky je iniciovať diskusiu o týchto a podobných otázkach v miestnom časopriestore.

Editace DNA: pravdepodobne nejzávažnejší bioetická výzva súčasnosti

Vácha M.

Ústav etiky a humanitných štúdií na 3. lekárskej fakulte Karlovy univerzity, Praha, ČR

Editace DNA v letech 2012, kdy byly publikovány důležité články, které

otevřely celou oblast, přes druhý mezinárodní summit v Honkg Kongu v roce 2018 až do současnosti roku 2025 otvírá řadu velmi závažných etických otázek. Zatímco technologie jako taková je jednoznačně přínosná, otvírá zároveň možnosti využití, které jsou na hraně či za hranou toho, co jsme ještě ochotni připustit. V přednášce bude diskutováno několik takto problematických výzev.

Štvrtok 9. 10. 2025

Klinická genetika I.

Molekulárna dynamika kyseliny hyalurónovej počas implantácie: korelácia RNA-seq analýz a *in vitro* modelov receptívneho endometria

Rabajdová M.¹, Kriváková E.¹, Fabianová N.¹, Martonová M.², Mareková M.¹, Toporcerová S.²

¹Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav lekárskej a klinickej biochémie, Košice

²Centrum asistovanej reprodukcie GynCare, a. s., Košice

Úvod: Receptivita endometria je stav, v ktorom je epitel endometria vnímavý k invázii blastocysty. Cross-talk medzi endometriom a embryom má vymedzený čas, tzv. WOI (Window of Implantation), a vyžaduje špecifické molekuly ako sú cytokíny, chemikíny, rastové faktory, hormóny a adhézne

molekuly, medzi ktoré sa radí aj kyselina hyalurónová (HA). Dynamika HA je regulovaná enzýmami ako sú HAS3, zodpovedný za syntézu HA počas proliferatívnej a sekrečnej fázy, HYAL2, ktorý napomáha remodelácii extracelulárnej matrix štiepením HA, a CEMIP2, ktorý znižuje nadbytok HA, uľahčuje bunkovú interakciu embryo-endometrium. Do metabolizovania HA sa zapája aj receptor CD44, na ktorý sa viaže štiepená HA, čo vedie k aktivácii dráhy bunkovej adhézie a imunitnej odpovede. Odlišnosti v metabolizovaní HA (t. j. znížená aktivita HYAL2 a CEMIP2 vedú k hromadeniu HA; znížená aktivita HAS3 vedie k nedostatočnej produkcii HA; znížená prezencia CD44 vedie k zníženej adhézii a signalizácii) rozhodujú o úspešnosti cross-talku embryo-endometrium a teda priamo vplýva na výsledok implantácie embrya.

Metódy: Analýzou sekvenačných RNA (RNA-seq) dát v GEO databázach boli identifikované HAS3, HYAL2, CEMIP2, CD44 ako významné v metabolizme HA u žien v procese *in vitro* fertilizácie. Tieto gény boli následne analyzované aj v bunkovej línii receptívneho (RL95-2) a nereceptívneho (AN3CA) endometria pomocou PCR, proteomiky, imunohistochemie a flow cytometrie.

Výsledky: Regulačné gény v HA metabolizme, ktorých hladiny boli významne down-regulované u pacientok s implantačným zlyhaním pri RNA-seq, analýzami *in vitro* experimentov v nereceptívnej bunkovej línii AN3CA boli rovnako detegované down-regulácie príslušných génov. Prídavok 17β -hydro-

xyestradiolu k receptívnym epiteliálnym bunkám endometria (RL95-2) viedol ku korešpondujúcemu poklesu exprese sledovaných génov ako v AN3CA.

Záver: Bola preukázaná znížená expresia génov hyaluronanového metabolismu u žien s implantačným zlyhaním aj v *in vitro* modeloch. Nálezy potvrdzujú ich úlohu v blastocysto-endometriálnom cross-talku a poukazujú na ich významný potenciál v procese reprodukcie, ako aj v procese *in vitro* fertilizácie.

Vypracované v rámci VEGA 1/0747/24.

Klinické výsledky transferů mozaik po PGT-A a význam přesné kategorizace segmentálních změn
Krmelová J., Pozděna J., Činátlová L., Račochová E., Koudová M., Horák J., Stejskal D.

Laboratoř pro preimplantační genetické testování, GNTlabs by GENNET, GENNET, s.r.o. Praha, ČR

Preimplantační genetické testování aneuploidií (PGT-A) je běžnou součástí IVF cyklů a stále častěji zahrnuje detekci mozaicismu a segmentálních chromozomových aberací. Interpretace těchto nálezů vyžaduje validovanou metodiku, znalost biologické relevance jednotlivých typů změn a úzkou spolupráci s klinickým genetikem.

V rámci interní validace bylo srovnáno 353 TE a 57 ICM vzorků ze 114 embryí. Segmentální mozaiky vykazovaly nejvyšší shodu s euploidním ICM (86 %), zatímco segmentální aneuploidie nejnižší (54 %). Na základě těchto dat

byla nastavena metodika kategorizace, a od roku 2021 probíhá transfer mozaik selektivně – s prioritou pro segmentální mozaiky, následované nízkými mozaikami celých chromozomů, vysokými mozaikami a segmentálními aneuploidii. Z klinického hlediska se jako významné ukázaly rozdíly mezi transfery segmentálních trizomií a monozomií. Od roku 2023 je využívána platforma PG-seq™ Rapid v2, která umožňuje rychlejší workflow, základní SNP analýzu, detekci triploidie, sledování mitochondriálních variant a přispívá ke zpřesnění detekce mozaicismu. Celkem bylo vyhodnoceno 196 transferů mozaik a segmentálních aneuploidii, přičemž těhotenství bylo dosaženo v 43,5 % případů. Výrazně vyšší potratovost byla zaznamenána u mozaik celých chromozomů (20,5 %) ve srovnání s euploidními embryi (7,5 %) a segmentálními mozaikami (6,3 %).

Výsledky potvrzují, že segmentální mozaiky mají klinickou úspěšnost srovnatelnou s euploidními embryi a měly by být hodnoceny odděleně od mozaik celých chromozomů, které vykazují zvýšené riziko těhotenských ztrát. Klíčem k efektivnímu využití PGT-A je validovaný přístup ke kategorizaci nálezů a jejich konzistentní interpretace v rámci genetických konzultací.

Klíčová slova: PGT-A, mozaicismus, segmentální aneuploidie, preimplantační diagnostika, klinické výsledky

NIPT – 10 rokov na Slovensku

Minárik G.¹, Hýblová M.¹, Gnip A.²,
Hadžega D.¹, Jagelková M.¹,

Forgáčová Jakúbková M.¹

¹Trisomy test, s.r.o., Nitra

²Medirex, a.s., Bratislava

Úvod: Detekcia chromozómových numerických a štrukturálnych zmien pomocou neinvazívneho prenatálneho testovania (NIPT) sa v poslednom desaťročí vyvinula na veľmi účinný skriningový nástroj používaný v klinickej praxi na celom svete. Optimálna implementácia do národných skriningových programov by mala byť spojená s presnou znalosťou charakteristik tehotenskej kohorty, ktorá sa do testovania zapája, aby z neho mohli mať čo najväčší úžitok lekári aj tehotné ženy, berúc do úvahy jeho kritické obmedzenia a lokálne špecifiká.

Materiál a metódy: Naša retrospektívna, monocentrická observačná štúdia založená na využití jednej laboratórnej metódy (Trisomy test) hodnotí vzorce používania, ako napríklad výber testov a čas spracovania vzoriek a analyzuje výsledky NIPT v rokoch 2016 až 2024 na kohorte 27 237 tehotných žien zo Slovenska. Analyzovali sme trendy v používaní NIPT, hodnotili sme typy výsledkov a faktory, ako je vek tehotnej, gestačný vek, hmotnosť tehotnej a fetálne frakcie stanovené v analyzovaných vzorkách ako parametre potenciálne ovplyvňujúce výsledok testu.

Výsledky: Priemerný vek žien podstupujúcich NIPT sa za sledované obdobie znížil z 36,9 na 33,6 roka a priemerný čas spracovania vzoriek sa zvýšil zo 4,2 na 4,8 dňa. Štúdia zistila nárast podielu slovenských žien, ktoré podstúpili NIPT v našich laboratóriách, zo 4,0 % na 8,4 %. Okrem

toho sa gestačný vek pri NIPT teste znížil z 15,1 na 14,5 týždňa a hmotnosť tehotných žien sa počas hodnoteného obdobia významne zvýšila zo 67,3 kg na 68,1 kg. Aj napriek nárastu priemernej hmotnosti tehotných a zníženiu týždňa tehotenstva pri testovaní nebol zaznamenaný pokles priemernej fetálnej frakcie v hodnotenom súbore. Medzi vysokorizikovými výsledkami boli vyhodnotené detekcie najčastejších trizómií (T21, T18 a T13), aneuploidii pohlavných chromozómov (SCA), zriedkavých autozomálnych aneuploidii (RAT) a variantov typu zmeny počtu kópií (CNV). Podiel tehotenstiev reportovaných s vysokorizikovými výsledkami bol 1,45 %, 0,54 %, 0,31 % a 0,50 %. Celková miera zlyhania testu (neinformatívne výsledky) bola 1,31 %.

Záver: Naše zistenia preukazujú klesajúci vek žien podstupujúcich NIPT, klesajúci týždeň tehotenstva v čase testovania, mierny nárast TAT v priebehu sledovaného času a významný nárast využívania NIPT v prenatálnom skríningu na Slovensku. Okrem toho bol zaznamenaný nárast hmotnosti tehotenskej populácie. Zavedenie NIPT do systému verejného zdravotníctva na Slovensku by mohlo ďalej zlepšiť spravodlivý prístup k najmodernejšej prenatálnej starostlivosti, ako vyplýva z našich výsledkov, keďže podiel vzoriek zaznamenaných ako vysokorizikové je výrazne vyšší ako sa očakávalo, ak by sa analyzovala kohorta zodpovedajúca populačne. Môžeme očakávať, že budúce zlepšenia v technológii a nadväzujúce genetické poradenstvo ďalej posilnia jeho úlohu.

Grantová podpora: Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-23-0664.

Naše zkušenosti s rutinním exomovým sekvenováním a hodnocením celoexomových dat za použití vyhodnocovací aplikace Franklin (Genoox) v Molekulárně genetické laboratoři, GNTlabs by GENNET

Hrabíková M., Král J., Soldatová I., Chvojka Š., Hodúlová M., Černá L., Urbanová M., Bittóová M., Koudová M. Molekulárně genetická laboratoř, GNTlabs by GENNET, Praha, ČR

Úvod: K analýze exomových vyšetření jsme od začátku roku 2024 začali na našem pracovišti používat celoexomové sekvenování (WES) a aplikaci Franklin, Genoox, pro sekundární a terciární analýzu. Dohromady tvoří dobrý nástroj pro vyhledávání zárodečných variant v genech asociovaných s patientskými HPO termy.

Metoda: K přípravě knihoven používáme WES panel od Twist Bioscience (Exome 2.0 VCGS). Práci nám usnadňují tři automatizované pipetovací stroje CyBio Felix (Analytik Jena), které umožňují zpracovat standardně 192 (ale až 384) vzorků týdně. Knihovny sekvenujeme na platformě NovaSeq X Plus s flowcellou 10B (Illumina). Primární výstupní data z NovaSeq X Plus analyzuje software DRAGEN (FPGatechnology). Sekundární a terciární analýzu provádí aplikace Franklin (Genoox). Při

hodnocení vzorků se zaměřujeme na SNP a CNV v genech asociovaných s fenotypem pacientů, dle indikujícím lékařem uvedených HPO termů. Ve výsledkových zprávách pacientů standardně také reportujeme varianty pro reprodukční riziko partnerů z CarrierTest by Gennet [1], varianty z panelu CzeCanca (CZEChCancerpaNelforClinicalApplication) [2] a varianty dalších genů dle ACMG doporučení pro sekundární nálezy, včetně dalších deseti genů nejčastějších autozomálně recesivních onemocněních v naší populaci. Aplikace Franklin je univerzální nástroj sloužící k hodnocení celoexomových dat s využitím obsáhlé databáze a umělé inteligence. Pomáhá rychle dospět k závěru o klinickém dopadu nalezených variant.

Výsledky: Celkem jsme doposud vyšetřili 959 pacientů na celoexomové vyšetření. Jednalo se o 577 případů (singly, dua, tria). 156 případů z nich tvořilo prenatální klinický exom, kde jsme našli kauzální nález v 17,3 %. 421 případů z nich tvořilo postnatální klinický exom, kde jsme našli kauzální nález v 24,7 %.

Závěr: Úspěšnost nalezení kauzální varianty přímo souvisí s přesnou definicí fenotypů. Znalost správné diagnózy je zásadní pro budoucnost plodu i páru, probanda a dalších rodinných příslušníků. Rádi bychom představili postup zpracování našich vyšetření za použití celoexomového sekvenování a ukázali zajímavé kazuistiky našeho exomového vyšetření.

Syndróm neurogénnej svalovej slabosti, ataxie a pigmentovej retinopatie (NARP syndróm) – fenotypová heterogenita pri rôznych patogénnych variantoch v géne MT-ATP6 (kazuistiky)

Drenčáková P.¹, Šaligová J.²,
Lisyová J.³, Magner M.⁴,
Chandoga J.³, Petrovič R.³

¹Ambulancia lekárskej genetiky
Unilabs, Košice

²Ambulancia pre dedičné poruchy
metabolizmu DFN, Košice

³Oddelenie molekulovej
a biochemickej genetiky – Centrum
zriedkavých genetických chorôb
UNB, Bratislava

⁴Pediatrická klinika 1. LF UK a FTN,
Praha, ČR

Úvod: NARP syndróm je multi-systémové mitochondriálne progresívne ochorenie podmienené patogénnymi variantmi v géne MT-ATP6. Medzi jeho typické príznaky patrí ataxia, svalová slabosť, retinitis pigmentosa a axonálna polyneuropatia. Patogénne varianty v tomto géne spôsobujú (väčšinou vo vyššej heteroplazmii) aj závažnejšie ochorenie Leighov syndróm. Medzi týmito dvoma fenotypmi existujú aj intermediárne formy. NARP syndróm je u väčšiny pacientov (70 – 90 %) spôsobený patogénnym variantom m.8993T>G v géne MT-ATP6. Tento patogénny variant spôsobuje spravidla NARP syndróm pri heteroplazmii 70 – 90 %, ak je jeho zastúpenie vyššie, vedie k rozvoju Leighovho syndrómu.

Výsledky: Prezentujeme dve rodiny s NARP syndrómom. Prvá pacientka

je 37-ročná žena s atrofiou chorioidey, ktorá pozorovala poruchu zraku v šere a tme od veku približne 30 rokov. Udávala tiež subjektívne nestabilitu pri chôdzi, počas vyšetrenia sme pozorovali ataxiu. Neurologickým vyšetrením bola neskôr u pacientky potvrdená okrem trupovej ataxie aj EMG-verifikovaná polyneuropatia dolných končatín. Cieľom analýzou génu MT-ATP6 sme u probandky potvrdili patogénny missense variant m.8858G>A (p. Gly111Asp) v géne MT-ATP6 v heteroplazmickom stave (odhadovaná heteroplazmia 29,7 až 33,5 %) v krvi a bukálnom stere. Druhou pacientkou je dvojročné dievča, u ktorého pri dovtedy primeranom psychomotorickom vývine, náhle, po prekonaní febrilného ochorenia, vznikla ataxia, poruchy postoja a chôdze a svalová slabosť. Vzhľadom na pozitívnu rodinnú anamnézu NARP syndrómu u matkinho brata (s nálezom patogénneho variantu m.8993T>C v géne MT-ATP6 vo svalu v heteroplazmii 95 %) a klinický obraz, sme u probandky realizovali vyšetrenie génu MT-ATP6, ktorým sme u probandky potvrdili patogénny missense variant m.8993T>C p.Leu156Pro v homoplazmickom stave v krvi, v bukálnom stere aj v moči. U t. č. asymptomatickej matky sme rovnaký patogénny variant potvrdili v krvi s hodnotou heteroplazmie 90 %, v stere z bukálnej sliznice 95 % a v sedimente moču 95 %. U matkinej sestry s neurogénou tetaniou a intermitentnou slabosťou svalstva sme variant m.8993T>C v géne MT-ATP6 potvrdili s hladinou heteroplazmie v krvi 85 % a v stere z bukálnej sliznice 92 %.

Záver: Patogénne varianty v géne MT-ATP6 sú spojené s rozvojom mitochondriálnych ochorení NARP syndrómu aj Leighovho syndrómu v závislosti od hladiny heteroplazmie a typu variantu. Ako to vidíme aj v prípade našich rodín, medzi jednotlivými patogénnymi variantmi v tomto géne je značná heterogenita vo fenotype, s ktorým sú asociované.

Dlhá cesta k diagnóze 2

Gregořová A.

Ústav klinické a molekulárnej patológie a lekárskej genetiky, FN Ostrava, ČR

Z Krevního centra FN Ostrava byla ke genetické konzultaci odeslána 33 letá žena plánující graviditu. V tomto Hemofilickém centru sledována pro vrozené krvácivé onemocnění – lehká forma hemofilie A v kombinaci s von Willebrandovou chorobou subtyp 1, v genu F8 byla již před léty detekována patogenní varianta spojovaná s lehkou formou hemofilie A. Probandka chtěla vědět rizika pro své potomky.

V laboratoři u probandky dominovaly hodnoty koagulačního faktoru VIII na úrovni lehké hemofilie A, což je pro ženu atypické i přes vazbu na von Willebrandovu chorobu. Proto zahájena další diagnostika.

Je Temple syndróm poddiagnostikovaný u detí narodených ako malé na svoj gestačný vek?

Hrčková G.¹, Janečková L.², Vitáriušová E.³, Skalická K.²

¹Ambulancia lekárskej genetiky,
Detská klinika LF UK a NÚDCH,
Bratislava

²Laboratórium klinickej a molekulovej
genetiky, Detská klinika LF UK
a NÚDCH, Bratislava

³Endokrinologická ambulancia,
Detská klinika LF UK a NÚDCH,
Bratislava

Úvod: Temple syndróm je ochorenie na podklade poruchy imprintingu spôsobené genetickými alebo epigenetickými alteráciami chromozómovej oblasti 14q32. Najčastejšie je spôsobený maternálnou uniparentálnou dizómiou (UPD(14)mat), ďalej paternálnou deléciou 14q32 alebo izolovanou poruchou metylácie MEG3-DMR. Fenotyp pacientov často zahŕňa intrauterinné zaostávanie v raste (IUGR) s narodením dieťaťa malého na svoj gestačný vek (SGA), svalovú hypotóniu, oneskorenie v psychomotorickom vývine, diskrétnu, no špecifické dysmorfne kraniofaciálne črty a riziko predčasnej puberty či obezity. U novorodencov a dojčiat môže veľmi nápadne pripomínať Praderov-Williho alebo Silverov-Russellov syndróm. Pri ich negativite je preto v diferenciálnej diagnostike dôležité nezabudnúť práve na Temple syndróm.

Metódy: V prezentácii predstavíme súbor pacientov s Temple syndrómom diagnostikovaným metylačne-špecifickým MLPA-kitom detegujúcim delécie a poruchy metylácie chromozómovej oblasti 14q32.

Výsledky: Prezentovaný súbor pacientov s TS zdieľa viaceré spoločné charakteristiky: intrauterinné rastové

zaostávanie, zmenený objem plodovej vody v gravidite alebo menší objem placenty, nízka pôrodná dĺžka, hypotónia, relatívna makrocefália s širokým a/alebo vysokým čelom (u niektorých frontal bossing), okrúhle očné štrbiny, modré skléry, menšia brada, vyššie klenuté podnebie, drobné akrá, oneskorenie v psychomotorickom vývine a variabilne ďalšie abnormality. Pacienti mali pomalšie rastové tempo s prehlbovaním rastového deficitu pri normálnej sekrécii rastového hormónu.

Záver: Stanovenie syndrómu je benefitom pre pacienta, ktorý môže profitovať z endokrinologickej starostlivosti a liečby. Terapia rekombinantným rastovým hormónom podľa literatúry zlepšuje rast, stavbu tela a prospievanie, s šancou dosiahnutia primeranej definitívnej telesnej výšky. Včasné rozpoznanie nástupu predčasnej puberty umožní jej farmakologickú zástavu do obdobia jej očakávaného nástupu. Prevencia obezity a jej komplikácií, včasná fyzioterapia na podporu svalového tonusu a zlepšenia motoriky či logoterapia na zlepšenie rečových schopností môžu zvýšiť kvalitu života jedinca s TS aj jeho rodiny. Predpokladá sa, že TS je jednou z možných príčin IUGR a SGA a u mnohých detí z tejto skupiny je nerozpoznaný. Zvýšenie povedomia o TS môže zvýšiť diagnostickú záchytnosť a zlepšiť ich zdravotnú starostlivosť a prognózu.

S deficitom ATP1A3-asociované ochorenie pod obrazom suspektnej neuroinfekcie – kazuistika

Kušíková K.¹, Vaská A.², Zelinková H.², Kolníková M.¹

¹Klinika detskej neurológie LF UK
a NÚDCH v Bratislave

²Laboratórium Unilabs Slovensko,
s.r.o.

Úvod: ATP1A3-asociované ochorenia (OMIM: # 601338, ORPHA:1171) predstavujú mimoriadne zriedkavú skupinu ochorení s prevalenciou < 1 : 1 000 000, s rôznym spektrom neurologických prejavov. Ochorenia vznikajú v dôsledku dysfunkcie génu ATP1A3, ktorý kóduje alfa-3 podjednotku ATPázy transportujúcej sodík/draslík (Na⁺/K⁺-ATPáza) a exprimuje sa takmer výlučne v neurónoch CNS. Historicky sú definované štyri fenotypy: 1. striedavá hemiplégia detského veku (AHC); 2. cerebelárna ataxia, areflexia, pes cavus, optická atrofia, syndróm senzorineurálnej straty sluchu (CAPOS); 3. recidivujúca encefalopatia s cerebelárnou ataxiou (RECA) / horúčkou indukovaná paroxyzmálna slabosť a encefalopatia (FIPWE) a 4. dystónia-parkinsonizmus s rýchlym nástupom (RDP). Rozdelenie nie je striktné, prekryv symptómov medzi jednotlivými fenotypmi je častý. Pre ochorenie je typická variabilná penetrancia a expresivita.

Metódy: V príspevku prezentujeme kazuistiku 3-ročného pacienta hospitalizovaného na našej klinike pre suspektnú neuroinfekciu s rozvojom hypotonického syndrómu, hyporeflexie, ataxie, a nestabilnej chôdze. Uvedené symptómy však naďalej pretrvávali napriek podávanej liečbe. Pre dominujúci nález závažnej ataxie sme indikoval genetické vyšetrenie NGS panelu génov asociovaných s ataxiou.

Výsledky: U probanda bol zistený patogénny missense variant c.2267G>T, p.(Arg756Leu) v géne ATP1A3 (maternálneho pôvodu). U matky probanda je prítomná výrazná dysartria a porucha chôdze. Po dôkladnom preskúmaní zdravotnej dokumentácie, matka taktiež prekonala v detstve (vo veku 3,5 roka) susp. neuroinfekciu, neurologická symptomatológia pretrváva dodnes. Po prehodnotení anamnézy a laboratórnych nálezov u probanda a jeho matky je zrejmé, že v oboch prípadoch ide o infekciou indukovanú neurologickú symptomatológiu, avšak v oboch prípadoch nebola neuroinfekcia jednoznačne potvrdená.

Záver: V prípade klinických prejavov neuroinfekcie so sporným likvorovým nálezom treba uvažovať nad ATP1A3-asociovanými ochoreniami. Kauzálna liečba ochorenia nie je t. č. známa, napriek tomu genetické potvrdenie diagnózy je dôležité pre ďalší manažment pacienta, stanovenie prognózy a v neposlednom rade pre určenie rodinných príslušníkov v riziku a plánovanie rodiny.

Floating-Harbor syndróm, zriedkavá príčina nízkeho vzrastu, kazuistika
Mistrík M.¹, Urminská M.²

¹Ambulancia lekárskej genetiky,
Unilabs, Spišská Nová Ves

²Laboratórium lekárskej genetiky,
Unilabs, Bratislava

Nízky vzrast u detí je častou indikáciou pre genetické vyšetrenie. Na našu ambulanciu lekárskej genetiky bolo odoslané dieťa s nízkym vzrastom a dysmorfnými črtami, u ktorého dosiaľ realizované

vyšetrenia nezistili príčinu klinického nálezu. Panelová analýza realizovaná na našom pracovisku odhalila extrémne zriedkavú príčinu, syndróm Floating-Harbor. Stanovenie diagnózy u dieťaťa umožnilo personalizované nastavenie zdravotnej starostlivosti a spresnenie genetického rizika v celej rodine.

Klinická genetika II.

30 rokov pôsobenia CLGFN/
ULBGaKB LF UK a UNB

Európsky a slovenský príbeh odhaľovania hydrolytických teliesok a mikroteliesok – od štruktúry a funkcie lyzozómov a peroxizómov až po metabolické ochorenia

Chandoga J., Petrovič R.,
Mattošová S.

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

Podstatnú úlohu v poznaní štruktúry a funkcie eukaryotických buniek v druhej polovici minulého storočia zohrala výskumná aktivita európskych pracovísk s aplikáciou metodických prístupov morfológického a biochemického charakteru. Morfológický prístup spoznávania subcelulárnych štruktúr bol podmienený aplikáciou elektrónovej mikroskopie pri použití elektrónov miesto fotónov svetla. Ak svetelná mikroskopia umožnila identifikáciu objektov s veľkosťou približne 0,1 μm a viac, elektrónová mikroskopia predstavovala revolučný skok, nakoľko zobrazila realitu s veľkosťou 0,1 nm aj nižšou. Biochemický

prístup spoznávania subcelulárnych komponentov v počiatoch bol skôr založený na fyzikálnom prístupe a opieral sa o separáciu štruktúr dezintegrovanych buniek (šetrnou homogenizáciou) veľkosti 0,1 μm až 10 μm s použitím gravitačnej sily 500 g až 100 000 g pomocou preparačných centrifúg alebo ultracentrifúg a bol pomenovaný ako **tkanivové frakcionácie**. Principiálne delenie bunkových organel pomocou centrifúg možno dosiahnuť na základe rozdielu ich veľkosti – diferenciálne separácie (S-rate) alebo rozdielu ich hustoty – izopyknické separácie (separácie v hustotových gradientoch). Spravidla špecifické enzýmy (markery) sa využili na identifikáciu skúmaných štruktúr a podľa distribučných obrazov (**distribution patterns**) sa enzýmom prisudzovala lokalizácia v skúmanej štruktúre. Identifikované spektrum prítomných enzýmov umožnilo odhaliť nadväzujúce metabolické reakcie, dráhy a biochemické funkcie subcelulárneho kompartmentu. Základom poznania štruktúry buniek bola séria tkanivových frakcionačných štúdií (Tissue fractionation studies 1 – 18) realizovaná v rokoch 1951 až 1964 na Oddelení fyziologickej chémie Univerzity Louvain v Belgicku pod vedením lekára – profesora biochémie Christiana de Duveho a jeho spolupracovníkov (J. Berthet, F. Appelmans, R. Wattiaux, H. Beaufay, P. Baudhuin, D. S. Benda). Prvé práce realizované na mitochondriálnej frakcii (izolovaná podľa schémy W. C. Schneidera pri 8 500 g počas 10 minút) opisovali vplyv mechanického poškodenia, teploty, tonicity prostredia a detergentov na solubilizáciu kyslej fosfatázy z častíc

prítomných v tejto mitochondriálnej frakcii. Častice boli osmoticky aktívne a správali sa odlišne ako štruktúry obsahujúce cytochróm-c oxidázu, monoaminoxidázu, sukcinát dehydrogenázu, teda mitochondrie. Ďalšie štúdie konštatovali, že použité fyzikálne a chemické faktory mali analogický efekt na solubilizáciu β -glukuronidázy a katepsínu v porovnaní s referenčnou kyslou fosfatázou. Podstatnou bola aj skutočnosť, že všetky tri enzýmy sa vyznačovali pH optimom v kyslej oblasti. Prelomový rok v identifikácii hydrolytických teliesok – lyzozómov bol rok 1955, v ktorom de Duve a spolupracovníci navrhli a aplikovali novú schému tkanivovej frakcionácie, pri ktorej tzv. ťažká mitochondriálna frakcia bola izolovaná pri 33 000 g.min. a ľahká mitochondriálna frakcia pri 250 000 g.min. Výsledok bol prekvapujúci, nakoľko ľahká mitochondriálna frakcia bola obohatená približne 5-násobne o hydrolytické enzýmy ako kyslá fosfatáza, ribonukleáza, dezoxiribonukleáza, katepsín, β -glukuronidáza a taktiež urát oxidáza – enzým s oxidačnou aktivitou. Aktivita enzýmov cytochróm-c oxidázy, sukcinát dehydrogenázy, fumarázy boli dominantne zastúpené v ťažkej mitochondriálnej frakcii. Koncept predpokladanej účasti častíc s kyslými hydrolyázami na degradácii makromolekulárneho obsahu buniek a vo vakuolárnom systéme buniek v procesoch autofagózy a heterofagózy bol plne akceptovaný biológmi. Práca na výskume lyzozómov bola úzko spätá s Christíanom de Duve – profesorom Katolíckej Univerzity v Louvain a od r. 1960 aj profesorom Rockefellerovej Univerzity

v New Yorku. Jeho vedecký prínos pre európsku a svetovú vedu v oblasti bunkovej biológie a kompartmentácie metabolických procesov bol v r. 1974 ocenený Nobelovou cenou za fyziológiu a medicínu.

Mnoho európskych pracovísk začalo v nasledujúcich rokoch intenzívne skúmať úlohu lyzozómov pri fyziologických a patologických procesoch. Vo východnej Európe významný a systémový prístup k štúdiu lyzozómov malo pracovisko Ústavu výživy v Moskve a v Československej federálnej republike Ústav dedičných metabolických chorôb v Prahe, ktorý sa zamerával aj na rozvoj diagnostiky a terapie lyzozómových ochorení. Hoci lyzozómovej problematike sa okrajovo venovali viaceré slovenské pracoviská, v základnom výskume v 80-tych rokoch bol aktívny Ústav lekárskej chémie a biochémie LF UK Bratislava aj vďaka spolupráci s Ústavom výživy v Moskve (V. A. Tutelyan, A. V. Vasilyev, L. V. Kravchenko). Vznik samostatnej Slovenskej republiky nastolil potrebu aplikácie poznatkov v diagnostike, hlavne v enzýmovej a postupne aj v molekulárno-genetickej diagnostike lyzozómových deficitov (storage diseases). Túto výzvu postupne od r. 1995 naplňalo Centrum lekárskej genetiky Fakultnej nemocnice v Bratislave – súčasný Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB a jeho oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky. V klinickej oblasti starostlivosť o pacientov s lyzozómovými ochoreniami prevzala II. pediatrická klinika Detskej fakultnej nemocnice v Bratislave (v súčasnosti Detská klinika NÚDCH).

Príbeh odhaľovania mikroteliesok a ich funkcie má dlhšiu a zložitejšiu históriu, aj keď aplikácia elektrónovej mikroskopie podmienila identifikáciu bunkových častíc (microbodies) s rozmermi 0,2 μm až 0,6 μm , teda menšími ako sú mitochondrie, už v r. 1954 švédskym doktorandom biológom J. Rhodinom. Neskôr boli tieto štruktúry identifikované aj u rastlín (r. 1958) a analogické štruktúry taktiež u kvasiniek a protozoí. Príčina tejto zložitejšej cesty identifikácie mikroteliesok napriek ich evolučnej príbuznosti tkvie v ich rozmanitosti a v širokej škále biochemických funkcií, ktoré tieto štruktúry plnia v metabolizme a uplatňujú sa druhovo a bunkovo selektívne. Génová expresia konštituentov mikroteliesok je výrazne ovplyvnená taktiež vonkajšími vplyvmi alimentárneho charakteru alebo charakteru prirodzených, respektíve arteficiálnych nox. Už v r. 1955 si de Duve a spolupracovníci pri tkanivovej frakcionácii povšimli, že urát oxidáza pečene potkana (u človeka nie je gén exprimovaný) bola bohato zastúpená v ľahkej mitochondriálnej frakcii, mala však distribučný profil, ktorý bol odlišný od ostatných lyzozómových enzýmov. V zhrnutí konštatovali, že enzým môže byť súčasťou insolubilnej zložky lyzozómov alebo predstavuje ďalšiu skupinu bunkových komponentov. Až v prácach z r. 1964 (Tissue fractionation studies 17 a 18) belgický tím dospel k záveru, že existujú samostatné cytoplazmatické štruktúry, ktoré obsahujú enzýmy katalázu, urát oxidázu, oxidázu D-aminokyselín. Tieto síce majú analogickú veľkosť ako

lyzozómy, ale ich membrána je priepustná a pri izopyklických centrifugáciách v sacharózovom hustotovom gradiente sa správajú ako častice s vysokou denzitou. Vyššie uvedené oxidázy ako aj ďalšie oxidázy produkujúce peroxid vodíka (glykolát oxidáza, palmitoyl-CoA oxidáza) sú funkčne spriahnuté s aktivitami katalázy degradujúcej peroxid vodíka a preto sa do terminológie pre mikrotelieska živočíchnych buniek presadil pojem peroxizómy (r. 1965 – 1966). Pri rastlinných bunkách sa presadil vo vzťahu ku glyoxylátovému cyklu mikroteliesok pojem glyoxyzómy. Protóza obsahujú v mikrotelieskach viacero typických peroxizómových enzýmov a enzýmy glykolýzy, z čoho je odvodený termín glykozómy. Nasledujúce 70-te a 80-te roky minulého storočia boli bohaté na identifikáciu podstatných metabolických ciest mikroteliesok, ako je β -oxidácia karboxylových kyselín, glyoxylátový cyklus, syntéza plazmalogénov, metabolizmus aminokyselín, polyamínov, fytánovej kyseliny, žľových kyselín (viď prehľad J. Chandoga, Bratislavské lekárske listy 1995, 96, str. 465–486). Ďalšie významné európske pracoviská, ktoré sa podieľali na výskume peroxizómov boli Ústavy anatómie a biochémie Univerzity Heidelberg (A. Völkl, D. Fahimi; F. H. Hartl, W. W. Just, H. Schimassek); Botanický ústav Univerzity Mníchov (B. Gerhardt); Univerzita v Gente (F. Roels, G. Decremont, G. Vincent); Univerzita v Lovain/Leuven (P. van Veldhoven); univerzitné pracoviská v Amsterdame (R. J. A. Wanders, C. Jakobs, N. Verhoeven), Ústav biochémie II. Moskovskej lekárskej fakul-

ty (L. F. Panchenko, V. D. Antonenkov, A. M. Gerasimov), v Československu Ústav chémie a biochémie a Ústav patológie LF UK Bratislava (J. Chandoga, J. Križko, I. Jakubovský, P. Janík). Pre diagnostiku peroxizómových ochorení bola neoceniteľná metodická práca kolektívu pracovníkov Univerzitnej nemocnice v Amsterdame, ktorí tieto poznatky odovzdávali ďalším pracovníkom a pracoviskám v Európe. Významná bola školiaca a organizačná práca belgickej spoločnosti pre bunkovú biológiu, biochémiu a molekulárnu biológiu a taktiež sponzorovanie diagnostických kurzov Európskou komisiou. Vďaka metodickej podpore vyššie uvedení inštitúcií, ako aj Ústavu dedičných metabolických chorôb v Prahe dosiahol ÚLBGaKG LF UK a UNB v diagnostike peroxizómových dedičných metabolických ochorení dobrý status, ktorý umožnil aj cennú publikačnú aktivitu týchto zriedkavých ochorení pacientov zo SR.

Poruchy metabolizmu lyzozómov v SR

Mattošová S.¹, Jankovičová K.¹,
Maceková D.^{1,2}, Hlavatá A.²,
Chandoga J.¹

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava

²Národný ústav detských chorôb, Bratislava

Lyzozómové ochorenia sú skupinou približne 70 rozličných ochorení, ktoré sú vo väčšine prípadov zapríčinené poškodenou funkciou jednotlivých lyzozómových hydroláz a následnou akumu-

láciou nedegradovaných substrátov, v dôsledku čoho dochádza k ďalším sekundárnym zmenám a poškodeniu funkcie orgánov. Akumulácia látok v lyzozómoch aktivuje rôzne patogénne kaskády, ktorých výsledkom je komplexný klinický obraz charakterizovaný multi-systémovým postihnutím. Bežne sa tieto ochorenia nazývajú **lyzozómové tezaurizmózy (lysosomal storage diseases – LSD)** pre fenomén ukladania nedegradovaných molekúl v bunkách. Pre tieto ochorenia je taktiež charakteristická veľká klinická variabilita. Klinické prejavy sú širokého spektra a rôznej intenzity, od miernych až po závažné formy postihnutia orgánov.

Klasifikácia LSD je zvyčajne založená na charaktere akumulovaného substrátu alebo podľa poškodenej bunkovej patológie (funkčná klasifikácia). Funkčná klasifikácia zahrnuje: 1. deficit špecifickej aktivity lyzozómovej hydrolázy, 2. deficit aktivátorového proteínu, 3. deficit lyzozómového membránového proteínu alebo transportéra, 4. abnormálnu post-translačnú modifikáciu lyzozómového proteínu a 5. abnormálnu biogénu lyzozómu. Z hľadiska skupín látok, pri ktorých je deficitný metabolizmus, sú ochorenia lyzozómového kompartmentu rozdelené do štyroch skupín: **mukopolysacharidózy, oligosacharidózy, glykogenózy a lipidózy.**

Diagnostika väčšiny týchto ochorení je založená na dôkaze enzýmového deficitu. Pre meranie aktivity lyzozómových enzýmov v rozličných biologických materiáloch (plazma, leukocyty, fibroblasty a suché kvapky krvi) sa využívajú spravidla fluorescenčné značené substráty (deriváty

4-metylbumbelliferónu). Po potvrdení enzýmového deficitu pri týchto ochoreniach, ďalším krokom v diagnostickom procese je identifikácia patogénnych variantov v jednotlivých génoch kódujúcich príslušné enzýmy.

V súčasnosti na pracovisku stanovujeme aktivity 15 lyzozomálnych enzýmov v suspenzii izolovaných leukocytov. Pracovisko poskytuje skrining 2 ochorení stanovením enzýmových aktivít v suchej kvapke krvi (Pompeho a Gaucherova choroba). Ročne realizujeme približne 200 požiadaviek na vyšetrenie aktivity lyzozomových enzýmov zo suspenzie izolovaných leukocytov. Pri väčšine diagnostikovaných enzýmových deficitov sa realizuje sekvenčná analýza génov na vlastnom pracovisku. Najčastejšie zachytenými ochoreniami v súbore pacientov ÚLBGaKG LF UK a UNB sú Pompeho choroba, Fabryho choroba, Gaucherova choroba. U všetkých pacientov s potvrdeným enzýmovým deficitom boli identifikované kauzálne patogénne varianty v príslušných génoch spôsobujúce enzýmový deficit, následne bola realizovaná lekárska genetická konzultácia a v opodstatnených prípadoch molekulárno-genetické vyšetrenie rodinných príslušníkov v riziku.

Včasná diagnostika týchto ochorení a klinický status ovplyvňujú účinnosť enzýmovej substitučnej terapie (EST) výrazne zlepšujúcej kvalitu života a prognózu pacientov. Súčasné metodické možnosti charakteru NGS otvárajú cestu kompletnej diagnostiky ochorení typu LSD. Potvrdenie funkčného deficitu a jeho miery bude však stále vyžadovať určenie enzýmových aktivít v biologickom materiáli.

Poruchy metabolizmu peroxizómov v SR

Petrovič R., Makýšová J., Chandoga J.

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

Medzi štrukturálne a funkčné kompartmenty eukaryotických buniek patria peroxizómy a mikroperoxizómy. Peroxizómy sú štruktúry veľkosti 0,5 μm až 1 μm , sú ohraničené od cytoplazmy trilamelárnou membránou a sú bohato zastúpené v pečeni a v obličkách. V bunkách týchto orgánov môžu zabrať až 2, 5% bunkového objemu. Peroxizómy obsahujú charakteristické enzýmy – katalázu, enzýmy β oxidácie karboxylových kyselín, oxidázu D-aminokyselín, glykolátoxidázu a urát oxidázu, ktorá však u človeka chýba. Metabolické funkcie peroxizómov u človeka sa v evolúcii zúžili, avšak ich funkcia je nenahradiiteľná v metabolizme lipidov, plazmalogénov, žľachových kyselín a v detoxikácii metabolitov ako je peroxid vodíka, glykolát a glyoxylát. Odhaduje sa, že približne 100 génov kóduje proteínové konštituenty peroxizómov, z toho približne 50 má funkciu katalytickú a ostatné sú zahrnuté v biogenéze peroxizómov a v transporte.

Patogénne varianty peroxizomových génov sú príčinou viac ako 20-tich chorobných jednotiek, ktoré majú v populácii kumulatívny výskyt približne 1 : 25 000. Najčastejším ochorením je X viazaná adrenoleukodystrofia (X-ALD) s variabilnou manifestáciou u mužov, zatiaľ čo u žien sa genetická zmena môže manifestovať iba ako ľahšia forma – adrenomyeloneuropatia (AMN). Ochorenie je spôsobené mutáciami

ABCD1 génu lokalizovanom na X chromozóme a populačný výskyt sa odhaduje v Európe na 1 : 30 000. Iné ochorenia charakteru izolovaného enzýmového deficitu alebo poruchy biogenézy peroxizómov sú veľmi raritné ochorenia.

Počas existencie pracoviska bolo diagnostikovaných viac ako 70 pacientov s peroxizómovým ochorením. Iba 10 % pacientov malo diagnostikovanú poruchu biogenézy peroxizómov (tzv. Zelwegerove spektrum ochorení – ZSD) a až 80 % pacientov malo zistený patogénny variant v ABCD1 géne a chorobnú jednotku X-ALD/AMN. Rozvoju biochemických a molekulárno-genetických metód aplikovaných pri diagnostike peroxizómových porúch pracovisko venovalo v minulosti výraznú pozornosť, preto je diagnostika dobre metodicky zabezpečená nielen na molekulárno-genetickej úrovni, ale aj na úrovni metabolitov a prispieva k spoľahlivej identifikácii peroxizómových DMP.

Neurogenetické ochorenia – nekončiaci sa diagnostický príbeh

Lexová Kolečáková K.¹, Juhosová M.¹, Jungová P.¹, Špalek P.³, Štofko J.², Turčáni P.², Chandoga J.¹

¹Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava

²I. neurologická klinika LF UK a UNB, Bratislava

³Neurologická klinika SZU a UNB, Bratislava

Neurogenetické ochorenia tvoria široké spektrum genetických porúch postihujúcich centrálny aj periférny nervo-

vý systém. Tradičná klasifikácia týchto ochorení vychádza z kritéria dominujúceho postihnutia neuroanatomických oblastí a rezultujúcich porúch nervových funkcií. Podľa tohto kritéria sú to ochorenia cerebro-kortikálne, bazálnych ganglií, spinocerebellárne, motorických neurónov, periférneho nervového systému, neuromuskulárnych spojov a cerebrovaskulárne. Iný prístup ku klasifikácii môže akcentovať viac funkciu proteínov, zmenu ich štruktúry spôsobenú variantmi génov a následne modifikáciu funkcií až po ich úplnú stratu. Z takéhoto aspektu je možné členiť neurogenetické ochorenia do troch hlavných kategórií: ochorenia podmienené molekulárno-genetickými patológiami štrukturálnych konštituentov nervového systému, ochorenia podmienené molekulárno-genetickými patológiami iónových kanálov a neurometabolické genetické ochorenia. Počas posledných dvadsať rokov sa u mnohých neurologických ochorení zistila ich molekulárno-genetická podstata ako aj mechanizmy vzniku a vývoja molekulárnych patológií. Rozšírenie škály DNA diagnostických metód umožnilo pri mnohých neurogenetických ochoreniach spoľahlivú a kauzálnu diagnostiku.

V rámci tejto prezentácie predstavujeme prehľad diagnostiky vybraných neurodegeneratívnych a neuromuskulárnych ochorení na pracovisku ako sú: Alzheimerova choroba a frontotemporálna demencia, amyotrofická laterálna skleróza (ALS), cerebrálne kavernózne malformácie (CCM), CADASIL syndróm, spinálna muskulárna atrofia

(SMA), Kennedyho choroba (spinobulbárna muskulárna atrofia) a hereditárne polyneuropatie. Venujeme sa incidencii, molekulárno-genetickým príčinám ochorení, formám dedičnosti, patobiochemickým aspektom a diagnostickým prístupom. Uvedené chorobné jednotky sa spravidla manifestujú závažnou symptomatikou, ale klinické prejavy nemusia byť vždy typické, čo spôsobuje ťažkosti pri diagnostike ochorení. Pre určenie alebo potvrdenie diagnózy býva rozhodujúce práve molekulárno-genetické vyšetrenie. Získané informácie sú cenné taktiež pre genetickú konzultáciu a prenatálnu diagnostiku u postihnutých rodín.

Diagnostika neurogenetických ochorení je nekončiaci sa príbeh. Kombinácia detailnej klinickej evaluácie, rodinnej anamnézy a cieleného či širokospektrálneho genetického testovania (fragmentačné analýzy, MLPA, Sangerove sekvenovanie, NGS panely, CES, WES, WGS) je nevyhnutná pre odhalenie genetickej príčiny. Aj napriek technologickému pokroku zostáva mnoho prípadov bez definitívneho záveru, čo akcentuje potrebu kontinuálneho prehodnocovania získaných dát a dlhodobej multidisciplinárnej starostlivosti o pacientov. Skúsenosti z minulosti, kde zvlášť kooperácia medzi pracoviskami I. neurologickej kliniky LF UK a UNB, Neurologickej kliniky SZU a UNB, ich špecializovanými centrami a ÚLBGaKG LF UK a UNB viedla k výraznému vzrastu počtu diagnostikovaných pacientov, je dôkazom užitočnosti tohto prístupu.

Mitochondriálne metabolické ochorenia – metabolomický a genomický prístup v diagnostike

Lisyová J., Juhosová M., Repiský M., Petrovič R., Chandoga J.

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

Mitochondrie – subcelulárne štruktúry eukaryotických buniek endosymbiotického pôvodu veľkosti 0,5 μm až 2 μm sú už viac ako storočie jedným z najčastejších objektov pozorovania bunkovej reality pre cytológov, biochemikov, fyziológov, patológov, genetikov a lekárov mnohých odborov. Ich história ako bioblastov a mitochondriónov sa začína v roku 1890 respektíve 1898, v ktorých boli identifikované a opísané R. Altmanom a C. Bendom ako komponenty buniek. Kontúry ich predpokladanej nosnej funkcie sa datujú do rokov 1900 až 1913, keď P. D. Mithell a O. Warburg zisťujú, že štruktúry sa farbja Janusovou zelenou a sú schopné respirácie – spotrebávajú kyslík. Parketa pre biochemikov sa otvára v 30-tych rokoch aplikáciou tkanivových frakciácií a izoláciou hrubej mitochondriálnej frakcie (24 000 g počas 20 min.), ktorej komponenty oxidujú redukovaný cytochróm-c a kyselinu jantárovú (enzýmy cytochróm-c oxidáza a sukcinátdehydrogenáza). Koncom 40-tych a v 50-tych rokoch sú už mitochondrie spájané s Krebsovým cyklom, oxidačnou fosforyláciou, syntézou ATP, s oxidáciou karboxylových (mastných) kyselín, čiastočne so syntézou močoviny a mnohých reakcií meta-

bolizmu aminokyselín. Pre cytológov sa nová dimenzia poznania bunky otvára v r. 1953 aplikáciou elektrónovej mikroskopie a využitím cytochemických metód. Pre detailné štúdium štruktúry mitochondrie boli fascinujúce 60-te až 80-te roky, keď sa identifikujú proteínové komponenty vnútornej a vonkajšej membrány, intermembránového priestoru a matrix. Vo fyziológii mitochondrie sa objavuje chemická a chemiosmotická teória (P. D. Mitchell – udelená v r. 1978 Nobelova cena za chémiu), ktoré prinášajú ucelenú predstavu o tom, ako dochádza k transformácii energie chemických väzieb živín a k syntéze ATP s makroergickými väzbami.

Zákonite na rad prichádza už v 60-tych rokoch genomika mitochondrie, ktorá v porovnaní s inými subcelulárnymi štruktúrami má špecifické charakteristiky. Syntéza malej časti proteínov vnútornej mitochondriálnej membrány sa deje vďaka cirkulárnej forme DNA (16 569 nukleotidov), ktorá okrem 13 proteínov terminálneho dýchacieho reťazca kóduje 22 druhov tRNA pre transfer aminokyselín a 2 typy rRNA. Tieto sa syntetizujú pomocou enzýmu polymerázy gama (POLG), ktorá je kódovaná jadrovou DNA. Predpokladá sa, že na výstavbe mitochondrie participuje približne 1 500 proteínov a génov (6 % z celkového počtu génov). Na proteíny vonkajšej membrány pripadá približne 140 génov, intermembránového priestoru 130 génov, vnútornej mitochondriálnej membrány 800 génov, mitochondriálnej matrix 500 génov. Mitochondriálne

genetické patológie môžu postihnúť nielen 37 génov mitochondriálneho genómu maternálneho pôvodu, ale aj gény jadrového genómu a môžu mať všetky typy dedičnosti. Hypoteticky patogénne varianty môžu byť prítomné v takomto veľkom počte génov, avšak stretávame sa s faktom, že časté sú v mitochondriálnej DNA a v POLG a zvýšená je frekvencia v niektorých génoch a variabilita je taktiež podmienená etnickou štruktúrou populácie. V SR sú časté patogénne varianty génov pre assemblačné faktory TMEM, SURF1 a enzýmy β oxidácie karboxylových kyselín – MCAD, SCAD.

V diagnostickom procese mitochondriálnych porúch je dôležité všetko – klinický nález, nález fyzikálnych vyšetrovacích metód (EMG, EEG, EKG), zobrazovacích technik (CT, MR), nálezy laboratórnych vyšetrení a na konci reťazca je molekulárno-genetická diagnostika v rôznom rozsahu. Empirické poznatky svedčia o výraznej variabilite v klinických prejavoch a v laboratórnom náleze. V klinickom náleze je časté multiorgánové postihnutie, encefalopatia, epilepsia, ataxia, poruchy vedomia, neuropatia, myopatia, atrofia optického nervu, hepatopatia, syndróm náhleho úmrtia.

V predgenomickej ére pri diagnostike mitochondriálnych porúch dominoval metabolický prístup založený na stanovení hodnôt biochemických parametrov, ako sú acidobázické parametre, glukóza, laktát, pyruvát, 3-hydroxybutyrát, acetoacetát, karnitín, profil organických kyselín, profil aminokyselín a acylkarnitínov. Diagnostický prístup

založený na stanovení acylkarnitínov, aminokyselín metódou LC-MS/MS je základom pre novorodenecký skrining dedičných metabolických porúch β -oxidácie karboxylových kyselín, ako sú deficiency SCAD, MCAD, LCHAD, VLCAD, organické acidúrie – GAI, IVA, deficiencie a poruchy karnitínového cyklu – CPT1, CPT2, SLC22A5. Čiastočne je metabolický prístup využiteľný aj pre diagnostiku porúch citrátového cyklu, deficitu TMEM, SURF, dehydrogenázových komplexov (PDH, OGDH). Obecne možno však považovať metabolický diagnostický prístup za nešpecifický z dôvodu variabilného nálezu. Pri pozitívnom náleze sa spravidla vyžaduje MG diagnostika a potvrdenie – identifikácia príčiny metabolomickej patológie. V genealógii sa taktiež uprednostňuje molekulárno-genetická diagnostika.

Genomická diagnostika je založená na MG analýze vytipovaných génov, MLPA identifikácií frekvencovaných patogénnych variantov v mtDNA, panely génov kódujúcich mtDNA, panely génov pre gény kódujúce celé spektrum proteínov mitochondrií alebo sa použije WES respektíve WGS. Nový problém zahrňujúci aj mitochondriálne funkcie budú predstavovať poruchy v génovej expresii a následne odhaľovanie patológií, ktoré ovplyvnia kovalentné modifikácie hlavne jadrovej DNA, ale pravdepodobne aj mtDNA. Uvádzame chorobné jednotky, ktoré spôsobujú patologickú funkciu mitochondrií a sú podmienené patogénnymi variantmi génov s možnosťou diagnostiky v ÚLBGaKG LF UK a UNB:

mtDNA

MELAS – mitochondriálna encefalopatia, laktátová acidóza a „stroke like syndrome“

LHON – Leberova hereditárna optická atrofia

MERRF – myoklonická epilepsia s rozstrapkanými červenými vláknami (ragged red fibers)

MILS-NARP – maternálne dedičný Leighov syndróm s neuropatiou, ataxiou a pigmentovou retinopatiou
NGS mitochondriálneho genómu (panel 37 génov)

gDNA

FXNX – Friedreichova ataxia – zmnoženie GAA trinukleotidových opakovaní génu pre frataxín

ACADS, ACADM, ACADVL, HADHA, HADHB – gény pre β -oxidáciu karboxylových kyselín s krátkym reťazcom, stredne dlhým a veľmi dlhým reťazcom a varianty trifunkčného enzýmu

GCDH – glutárová acidúria 1

ETFA, ETFB, ETFDH – glutárová acidúria 2

CPT1, CPT2 – palmitoyl-CoA transferázy, SLC22A5 – McArdleova choroba

IVD – izovalerová acidúria

PDHA1 – deficiencia pyruvát dehydrogenázy

POLG, POLG2 – POLG asociované ochorenia

TYMP1 – MNGIE syndróm

SURF1 – Leighov syndróm, variant c.845_846delCT

TMEM70 – TMEM70 deficit, variant c317-2A>G + 3xSA exónov génu

Klinická genetika III.

Diagnostika autosomálně dominantní tubulointersticiální nefropatie podmíněné mutacemi *MUC1*: přístupy k detekci posunových mutací v oblasti tandemových repetitivních sekvencí

Živná M.^{1,2}, Vrbáčková A.¹,
Přistoupilová A.¹, Janoušek V.¹,
Barešová V.¹, Hodaňová K.¹,
Hartmannová H.¹, Vyleťal P.¹, Kidd K.²,
Bleyer A.^{1,2}, Kmoch S.^{1,2}

¹Laboratoř pro výzkum vzácných nemocí, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK, Praha, ČR

²Wake Forest University, School of Medicine, Section on Nephrology, Winston-Salem, North Carolina, USA

Autosomálně dominantní tubulointersticiální onemocnění ledvin (ADTKD) jsou geneticky heterogenní skupina pomalu progredujících onemocnění ledvin, která vedou ve 3.–5. dekádě života k renálnímu selhání vyžadujícímu dialýzu nebo transplantaci. Jednou z příčin ADTKD jsou posunové mutace v oblasti tandemových repetitivních sekvencí (VNTR) genu *MUC1*, které vedou k syntéze a hromadění abnormálního proteinu *MUC1*-fs v tubulárních buňkách (ADTKD-*MUC1*).

Oblast tandemových repetitivních sekvencí *MUC1* sestává z 20–120 opakujících se 60 nukleotidů s vysokým obsahem guanosinu a cytosinu (80 %). Tuto geneticky hypervariabilní oblast genomu lze běžnými molekulárně genetickými metodami analyzovat velmi omezeně a není pokryta ani

panelovým, exomovým nebo genomovým sekvenováním.

Současným standardem diagnostiky ADTKD-*MUC1* je klinicky certifikovaná hmotnostně spektrometrická genotypovací metoda (CLIA) detekující výhradně prevalentní posunovou mutaci, 27dupC. Paralelně jsme vyvinuli diagnostickou metodu založenou na imunodetekci *MUC1*-fs v nátěru močových buněk a bioptickém materiálu. Tak jsme odhalili řadu ADTKD-*MUC1* pacientů, u kterých byla přítomnost mutace 27dupC CLIA metodou vyloučena. Následně jsme postupem sestávajícím z PCR amplifikace VNTR oblastí, sekvenováním metodou krátkého čtení (Illumina) a specifické bioinformatické analýzy identifikovali v těchto případech dalších 5 typů posunových mutací *MUC1*, které vedou k syntéze *MUC1*-fs jako v případě 27dupC.

Dále jsme s cílem identifikovat pozici posunové mutace, počet jednotlivých repetitivních sekvencí VNTR zavedli postup sekvenování celého VNTR metodou dlouhého čtení (SMRT; PacBio, později Revio). Díky tomu jsme identifikovali dalších 8 nových posunových mutací a 26 nových typů repetitivních sekvencí VNTR *MUC1*.

Identifikované posunové mutace ve VNTR *MUC1* umožnily zavedení diagnostického algoritmu ADTKD-*MUC1* z celorexomových dat bioinformatickým postupem zvaným VNTPyper, který referuje repetice s jiným počtem nukleotidů než 60. Sensitivita a specifita VNTPyperu je předmětem současné celoevropské iniciativy validace výsledků VNTPyperu.

Diagnostika ADTKD-*MUC1* je komplexní a technologicky náročný proces.

Podařilo se nám zlepšit a zpřesnit detekci posunových mutací a diagnostikovat >700 ADTKD-MUC1 pacientů. Vzhledem k intenzivnímu vývoji cílené terapie, je právě správné určení molekulární podstaty ADTKD extrémně důležité.

Funding: *The National Institute for Treatment of Metabolic and Cardiovascular Diseases (CarDia; LX22NPO5104) funded by the European Union - Next Generation EU from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic; MULTIOMICS_CZ (Programme Johannes Amos Comenius, Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic, ID Project CZ.02.01.01/00/23_020/0008540) – Co-funded by the European Union; grant LUAUS24087; The National Center for Medical Genomics (LM2023067); Institutional programmes Charles University in Prague UNCE/24/MED/022 and SVV 260631*

Hereditární hemoragické teleangiektázie – etiologie, možnosti genetického vyšetření

Puchmajerová A., Černá L., Soldátová I., Hrabíková M., Král J., Honysová B., Bitóová M., Koudová M. GENNET, s.r.o., Praha, ČR

Hereditární hemoragické teleangiektázie (HHT) je vzácné, autosomálně dominantně dědičné onemocnění, pro které jsou typické mnohočetné arteriovenózní malformace, které vznikají jako přímé spojky mezi arteriemi a žilami s chyběním kapilár. Tyto AV malformace často praskají, a dochází tak ke krvácení. Tvoří se v kůži, sliznicích i paren-

chymatozních orgánech. Nejčastějším klinickým projevem je epistaxe, může docházet i ke krvácení do trávicího traktu, kdy se u pacientů rozvíjí anemie. Závažné jsou AV malformace postihující parenchymatózní orgány (plíce, žaludek, játra a mozek), kde krvácení může být fatální. Proto je včasná diagnostika těchto malformací velmi důležitá jak u pacienta tak i u jeho příbuzných. K tomu slouží i možnost genetického vyšetření s průkazem kauzální mutace u pacienta s následným prediktivním vyšetřením jeho příbuzných. Etiologicky jsou s HHT asociovány germinální mutace genů ACVRL1, ENG, SMAD4, jejichž detekce je v současné době prováděna za použití multigenových analýz. Mutace těchto tří genů jsou zodpovědné za 97 % všech HHT, jen ve 3 % případů je příčina zatím neznámá. Podobné klinické projevy jako HHT jsou u onemocnění, která vznikají v souvislosti s mutacemi genů GDF2, RASA1, EPHB4. Teleangiektázie jsou typické též pro ataxia teleangiektasia (AT) v důsledku mutace genu ATM.

Vzácní, ale skuteční

Tvrďá P.^{1,2}, Plevová P.¹, Paprskářová M.¹, Porubová P.¹

¹Oddělení lékařské genetiky, Ústav klinické a molekulární patologie a lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Ostrava, ČR

²Ústav lékařské genetiky, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Fakultní nemocnice Olomouc, ČR

Úvod: Vzácná, ale i ultravzácná onemocnění představují specifickou ka-

tegorii a jejich výskyt se často omezuje na jednotlivé případy či rodiny po celém světě. Ačkoli jsou tato onemocnění výjimečná, v souhrnu představují významnou výzvu pro zdravotnický systém, genetickou diagnostiku i péči o pacienty a jejich rodiny.

Metodika: U pacientů bylo provedeno vyšetření pomocí sekvenování nové generace s využitím vlastního NGS panelu kostních anomálií (1037 genů).

Výsledky: Prezentované kauzistiky představují skupinu ultravzácných genetických syndromů, které se projevují převážně skeletálními abnormalitami, ale také postižením dalších orgánových soustav. V některých případech se jedná o těžké až letální formy onemocnění zachycené při ultrazvukovém vyšetření v graviditě.

Závěr: Lidé se vzácnými syndromy jsou skuteční – žijí mezi námi. Pacienti z přednášky už svou diagnózu mají, mnozí další však na svou diagnózu stále čekají. Díky rychlému rozvoji genetických metod je šance na její stanovení vyšší než kdy dřív. Bez kvalitní genetické diagnostiky, specializované zdravotní péče a úzké mezioborové spolupráce by bylo nalezení správné diagnózy, a tím i možnost cílené podpory, sledování či léčby, prakticky nemožné.

Familiárna stredomorská horúčka – odporúčanie pre manažment MEFV variantov a rozbor slovenskej kohorty

Markocsy A.^{1,2}, Malicherová Jurková E.¹, Bobčáková A.^{1,2,3}, Hrubíšková K.⁴,

Petrovičová O.^{1,2}, Kapustová L.^{1,2}, Košturiak R.^{2,5}, Genšor D.¹, Dallos T.⁶, Jeseňák M.^{1,2,3}

¹Národné centrum pre syndrómy periodických horúčok, Klinika detí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin

²Ústav klinickej imunológie a lekárskej genetiky, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin

³Národné centrum pre syndrómy periodických horúčok, Klinika pneumológie a ftizeológie, Jesseniova lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin

⁴Ambulancia klinickej imunológie a alergológie, V. interná klinika, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Bratislava

⁵Ambulancia klinickej imunológie a alergológie, Nitra

⁶Národný ústav detských chorôb, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

Úvod: Familiárna stredomorská horúčka (FMF) je najčastejším monogénovým autoinflamačným ochorením s vysokou prevalenciou hlavne v oblasti Blízkeho východu (Turecko, Arménsko). FMF je charakterizovaná opakujúcimi sa, samovoľne ustupujúcimi atakmi horúčky s krátkym trvaním (12 – 72 hodín), príznakmi polyserozitídy (peritonitída,

artritída, pleuritída) a zvýšenými markermi akútnej fázy zápalu. Prvá manifestácia ochorenia je typicky pred 20. rokom života. V období medzi atakmi sú pacienti asymptomatickí. Systémová AA amyloidóza je najzávažnejšou komplikáciou FMF. V liečbe sa využíva kolchicín, prípadne anti-IL-1 terapeutiká (anakinra, kanakinumab).

Metódy: Prezentovaní pacienti splnili Eurofever/PRINTO kritériá pre FMF. Bolo u nich realizované masívne paralelné sekvenovanie (MPS) panelu génov asociovaných s autoinflamačnými ochoreniami alebo MPS klinického exómu s hodnotením virtuálneho panelu génov spojených s vrodenými poruchami imunity, amyloidózou a autoinflamačnými stavmi. Bola realizovaná štatistická analýza klinických, laboratórnych prejavov a výsledkov molekulárno-genetických vyšetrení. Na základe dostupných vedeckých publikácií, odporúčaní medzinárodných organizácií a pracovných skupín (PRINTO, INSAID) a skúseností z klinickej praxe Národného centra pre syndrómy periodických horúčok boli formulované odborné odporúčania pre diagnostický a terapeutický prístup k variantom v MEFV géne, ktoré sú identifikované ako primárne alebo náhodné nálezy.

Výsledky: Slovenská FMF kohorta predstavuje 113 pacientov. Prevalencia v slovenskej populácii bola stanovená na 1 : 48 224 (1 : 41 348 u detí a adolescentov). Rizikový etnický pôvod malo len 18 pacientov (15,9 %). Najčastejšími klinickými prejavmi boli horúčka, bolesť brucha a artritída. Orgánová amyloidó-

za bola prítomná u 6 pacientov (5,3 %). Genotypová distribúcia korešpondovala s publikovanými údajmi z Európy, pričom prevažovali heterozygoti (65,5 %). Homozygoti a zložení heterozygoti predstavovali 16,8 % pacientov. Najčastejšie identifikovaným variantom bol M694V (52,0 % alel). Variant K695R bol identifikovaný v 29,9 % alel, čo je vyššie percento než v iných FMF kohortách.

Záver: Prinášame prvú komplexnú analýzu slovenskej národnej kohorty FMF pacientov so zhodnotením epidemiológie, klinickej manifestácie a genetickej etiológie. Prezentujeme odporúčania pre manažment MEFV variantov identifikovaných ako primárne alebo náhodné nálezy.

Od kandidátní varianty k popisu nového onemocnění: varianty v genu *EHMT2* spôsobujú neurovývojové onemocnění podobné Kleefstra syndromu

Nosková L.¹, Hnízda A.¹, Gřegořová A.², Sikora J.¹, Kmoch S.¹

¹Laboratoř pro studium vzácných nemocí, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN, Praha, ČR

²Ústav klinické a molekulární patologie a lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Ostrava, ČR

Úvod: V rámci analýz genomických dat jsou častým nálezem varianty nejasného významu, jejichž kauzalitu je třeba studovat vhodnými přístupy. V přednášce chceme prezentovat cestu od nálezu kandidátní varianty v genu dosud neasociovaném s fenotypem

k potvrzení patogenity a popisu nového onemocnění.

Metody: Pro identifikaci a funkční charakterizaci byla použita kombinace molekulárně genetických metod (analýza exomu a transkriptomu, analýza epigenetického profilu, analýza histonových modifikací), biochemických metod (strukturní analýza, analýza enzymové aktivity, stabilitní eseje) a vytvořen myší model onemocnění.

Výsledky: U pacientky s neurovývojovým onemocněním byla pomocí exomového sekvenování nalezena *de novo* varianta v genu EHMT2 kódující lysin methyltransferázu G9a. V rámci mezinárodní spolupráce bylo shromážděno klinické a genetické informace dalších pacientů se shodnými fenotypovými charakteristikami. Funkční analýzy prokázaly biologickou relevanci nalezených variant a dysfunkci stejné methylační dráhy jako u Kleefstra syndromu asociovaného s genem EHMT1. U myšího modelu onemocnění byly nalezeny některé klíčové fenotypové charakteristiky přítomné u pacientů.

Závěr: Cesta od identifikace kandidátní varianty neznámého významu k průkazu její biologické relevance trvala více než tři roky. Během projektu se nám podařilo navázat mezinárodní i národní spolupráce, díky kterým bylo charakterizováno nové onemocnění a stále probíhá studium jeho patogenetického mechanismu.

Grantová podpora: NU23-07-00281, NW24-04-00067, LM2023067, UNCE/MED/007, LX22NPO5107

Prezentácia posterov

Metodické přístupy neinvazivního genotypování cfDNA u klinicky významných inkompatibilit krevních skupin matky a plodu v České republice

Böhmová J.¹, Vodička R.¹, Vrtěl R.¹, Procházka M.¹, Holusková I.², Ľubušký M.³

¹Ústav lékařské genetiky, Fakultní nemocnice a Univerzita Palackého v Olomouci, ČR

²Ústav hematologie a krevní transfuze, Fakultní nemocnice a Univerzita Palackého v Olomouci, ČR

³Ústav gynekologie a porodnictví, Fakultní nemocnice a Univerzita Palackého v Olomouci, ČR

Molekulární patologie hemolytické nemoci plodu a novorozence (HDFN) je určena různými genotypy RHD, RHCE a KEL a neslučitelností krevních skupin matky a plodu. V České republice patří mezi klinicky významné antierytrocytární aloprotilátky anti-D, anti-K, anti C/c a anti-E. Představujeme přehled metodického pokroku NIPT v těhotenstvích s možným rozvojem HDFN. V úzké spolupráci s Oddělením fetální medicíny a Transfuzním oddělením Fakultní nemocnice Olomouc jsme založili jedinečné centrum v České republice, které rutinně a nepřetržitě provádí celé spektrum klinicky nejdůležitějších krevních skupinových inkompatibilit. To zahrnuje zejména testování delece genu RHD a 3 SNP v genech RHCE a KEL (rs676785, rs609320 a rs8176058). Obtížnost vyšetření je dána vysokou homologií genů RH

(DCE) a omezeným množstvím cff DNA. V průběhu let byly testovány a úspěšně implementovány 4 metodické přístupy (real-time PCR, QF PCR, minisekvenace a ddPCR). V současné rutinní praxi je ddPCR metodou první volby a spolehlivě nahrazuje časově náročnější metody.

Psychodynamika gravidity a prenatalní diagnostika.

Důležitost rozhovoru

Cisárik F.

Oddelenie lekárskej genetiky FNsP
Žilina

Od roku 2010 sa dramaticky mení indikačné spektrum na invazívne genetické vyšetrenie plodu a klesá počet týchto výkonov. Prakticky mizne len veková indikácia nad 35 rokov, podstatne sa znižuje počet indikácií odvodených z pozitívneho biochemického skríningu a narastá počet indikácií z UZV skríningu/UZV patológie. Vizualizácia plodu podstatne ovplyvnila psychológiu procesu prenatalného skríningu a prenatalnej diagnostiky. Neinvazívny prenatalný skrining a vyšetrenie chromozómov metódami array DNA prinášajú ďalšie dôležité prvky do genetickej konzultácie v tehotenstve. Narastá význam individualizovaného porozumenia dôvodom indikovaných vyšetrení, navrhovaným testom a možným klinickým dôsledkom. Celý proces je sprevádzaný napätím a negatívnymi emóciami, a to ako dôsledok pretrhnutia pozitívnych očakávaní matky a jej rodiny. Štúdie dokazujú význam psychologického poradenstva, význam podpory sebedomia tehotnej ženy, dôkladného pochopenia stavu plodu a možných očakávaných výsledkov.

Rok s WEsem

Dohnalová L., Chvojka Š., Hrabíková M., Král J., Zembol F., Šuhajová S., Koudová M., Bittóová M.
GNTLabs by Gennet, Praha, ČR

Exomové sekvenování (Whole Exome Sequencing, WES) je pokročilá metoda genetické analýzy zaměřená na kódující oblasti genomu. Tato technologie se široce využívá v klinické genetice, onkologii a reprodukční medicíně, kde umožňuje identifikaci patogenních variant spojených s dědičnými a vrozenými onemocněními. Pomáhá k lepšímu pochopení genetických příčin nemocí, přesnější diagnostice a personalizované léčbě. Díky WES lze odhalit vzácné mutace, což je klíčové pro cílenou terapii a genetické poradenství.

V laboratoři GNTLabs jsme v roce 2024 implementovali WES s využitím automatizovaného systému CyBio Felix (Analytik Jena) pro přípravu knihoven, což nám umožňuje zpracovat 192 vzorků týdně. Sekvenování probíhá na platformě NovaSeq X Plus na flowcellu 10B (Illumina). Bioinformatická analýza je prováděna kombinací aplikace Franklin (Genoox) a našimi in-house bioinformatickými skripty. Dle indikace pacienta se můžeme díky virtuálním panelům zaměřit na konkrétní výčet genů, příkladem může být onkologický panel CZEKANCA, Carrier Test pro rodiče zakládající rodinu nebo samotné hodnocení exomu při specifické diagnóze, a mnoho dalšího.

Během jednoho roku jsme zpracovali 11 329 vzorků, z toho 2447 v rámci panelu CZEKANCA, 8079 v Carrier testu a 803 pacientů indikovaných na exomové

vyšetření. Díky WES jsme kromě cílené diagnostiky mohli pacientům vyhodnotit i sekundární a incidentální nálezy, což rozšiřuje klinickou využitelnost této technologie ve srovnání s panelovým sekvenováním.

Zavedení WES do rutinní diagnostiky nám umožnilo efektivně analyzovat genetické predispozice pacientů. Klíčovou výhodou této metody je možnost jednorázového sekvenování s dodatečnou analýzou dalších panelů dle aktuálních diagnostických potřeb, což poskytuje flexibilitu v diagnostice a umožňuje zpřesnění klinických závěrů v průběhu času. Tato strategie zvyšuje efektivitu genetického testování a zároveň snižuje nutnost opakovaného sekvenování, čímž šetří čas i náklady.

MDM2 – „double minutes“ a úskalí stanovení jeho amplifikace

Dřímalová H.

FN Olomouc, ČR

Úvod: Gen MDM2 (Mouse Double Minute 2) je onkogen a klíčový regulátor buněčného cyklu a apoptózy. Jeho hlavní funkcí je modulovat aktivitu nádorového supresoru p53. Když je MDM2 amplifikován, dochází k nadměrné inhibici p53, což může vést k nekontrolovanému buněčnému dělení a rozvoji nádoru. Amplifikace MDM2 je častější v některých typech nádorů, jako jsou osteosarkomy, liposarkomy a nádory prsu, a je spojována s agresivnějším chováním nádoru a horší prognózou. Identifikace amplifikace MDM2 může být také klíčová pro personalizovanou terapii a výběr vhodných léčebných strategií. Amplifikace genu MDM2 probíhá často prostřednictvím „double minutes“ chro-

mosomů (Dmins), což má klíčový vliv na patogenezi a agresivitu těchto nádorů.

Metody: Amplifikace genu MDM2 se nejčastěji stanovuje metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) a je možné pozorovat několik různých typů amplifikace, včetně častého výskytu takzvaných „double minutes“ chromosomů (Dmins). Přestože má amplifikace MDM2 významný diagnostický význam, nebyla dosud stanovena jednoznačná interpretační kritéria pro hodnocení amplifikace MDM2 metodou FISH.

Výsledky: V roce 2024 jsme na našem pracovišti metodou FISH vyšetřili amplifikaci genu MDM2 u 18 pacientů s podezřením na diagnózu liposarkom. Ze 4 pozitivních nálezů byla amplifikace genu MDM2 ve formě Dmins nalezena u 2 pacientů.

Závěr: Vzhledem k tomu, že tento typ amplifikace MDM2 je metodou FISH špatně detekovatelný, zařadili jsme do rutinní praxe souběžnou detekci amplifikace CDK4/CEP12 spolu s detekcí amplifikace MDM2/CEP12.

Podpořeno MH CZ – DRO (FNOL, 00098892)

Zastúpenie farmakogeneticky významných DNA variantov vo vybraných génoch kódujúcich enzýmy cytochrómu P450

Ďurišová K.

GHC GENETICS SK, s.r.o, Bratislava

Farmakogenetika skúma vplyv genetických polymorfizmov, resp. DNA variantov, na reakciu jedinca na podávané liečivo. Individuálna variabilita v od-

povedi na liečbu predstavuje významný problém v klinickej praxi. Kľúčovú úlohu v metabolizme liečiva v pečeni zohrávajú najmä enzýmy patriace do skupiny génov cytochrómu P450, ako napr. CYP2D6 a CYP2C19, ktoré sú zodpovedné za metabolizmus viac ako 25 % všetkých predpisovaných liečiv. Aktivita týchto enzýmov môže byť významne ovplyvnená prítomnými genetickými variantmi v príslušných génoch, čo vedie k variabilnej a individuálnej schopnosti metabolizovať liečiva a ovplyvňuje terapeutickú účinnosť a bezpečnosť liečby. Na základe špecifického genotypu uvedených génov možno jednotlivcov klasifikovať ako pomalých, stredných, normálnych, rýchlych alebo ultrarýchlych metabolizérov.

Štandardná dávka liečiva tak môže byť u rýchlych metabolizérov málo účinná, keďže liečivo sa odbúrava skôr, než dosiahne terapeutický efekt. Naopak, u pomalých metabolizérov môže dochádzať k hromadeniu liečiva v tele, čo zvyšuje riziko nežiaducich účinkov. Uvedené rozdiely majú klinický význam na bezpečnosť, účinnosť a dávkovanie liečiv najmä v oblastiach ako je psychiatria, neurológia či kardiológia.

Zavedenie komplexného farmakogenetického testovania DNA variantov v génoch kódujúcich enzýmy cytochrómu P450 do klinickej praxe umožňuje personalizáciu liečby prostredníctvom úpravy dávkovania alebo výberu alternatívneho liečiva s cieľom minimalizovať riziko nežiaducich účinkov a zlepšiť terapeutické výsledky. Cieľom našej práce bude pomocou metód masívneho

paralelného sekvenovania (Targeted Enrichment prístup od spoločností Twist Bioscience a Sophia Genetics) porovnať frekvencie vybraných rizikových alel génov CYP2D6 a CYP2C19 v slovenskej populácii s frekvenciami publikovanými v referenčných farmakogenomických databázach, ako je PharmGKB, či populáčnej databáze GnomAD.

Genetická a fenotypová charakterizácia DNA variantov v géne *UGT1A1* u jedincov s podozrením na Gilbertov syndróm: multimetodický prístup

Đurišová P.

GHC GENETICS SK, s.r.o, Bratislava

Gilbertov syndróm (GS) je bežná, benígna genetická porucha, ktorá sa prejavuje miernou, intermitentnou nekonjugovanou hyperbilirubinémiou. Táto porucha je spôsobená zníženou aktivitou pečeneového enzýmu UGT1A1, ktorý katalyzuje konjugáciu nekonjugovaného (nepriameho) bilirubínu s kyselinou glukurónovou, čím ho premieňa na formu, ktorú možno vylúčiť žľoch z tela. Najčastejšou príčinou je polymorfizmus (TA)₇TAA v promótorovej oblasti génu. Podieľať sa však môžu aj rôzne iné bodové mutácie v rôznych častiach génu, a to buď v homozygotnom stave, alebo v kombinácii s TA polymorfizmom, teda v stave zloženého heterozygota.

Hoci je GS väčšinou asymptomatický, v stresových situáciách, pri dehydratácii, hladovaní, menštruácii alebo pri súčasne prebiehajúcej infekcii sa môže objaviť mierny ikterus so žltkastým sfar-

bením kože a sklér. Diagnóza sa stanovuje na základe zvýšených hodnôt nekonjugovaného bilirubínu pri absencii iných pečenných alebo hemolytických abnormalít. Napriek svojej benígnej povahe sa skúma aj potenciálny ochranný účinok bilirubínu u jedincov s GS. Ukázalo sa, že riziko vzniku ischemickej choroby srdca u jedincov s GS je až o dve tretiny nižšie ako v zdravej populácii. Ďalšie štúdie upozornili na asociáciu mierne zvýšenej koncentrácie bilirubínu so zníženým rizikom vzniku vybraných typov onkologických ochorení. Viacerými štúdiami bola potvrdená asociácia GS so zníženým rizikom vzniku a vývoja rakoviny endometria a Hodgkinovho lymfómu.

Molekulárno-genetické testovanie je kľúčové pre potvrdenie diagnózy a lepšie pochopenie tejto rozšírenej genetickej variácie. V našej štúdii sme sa zamerali na bližšiu charakterizáciu skupiny náhodne vybraných jedincov na prítomnosť SNP v promótoře génu UGT1A1 a na skupinu jedincov s podozrením na GS a prítomnými kauzálnymi DNA variantmi v géne. Výsledky tejto štúdie budeme korelovať s dátami z okolitých populácií a pokúsime sa určiť frekvenciu prenášačov v slovenskej populácii.

Interpretácia BRCA1/BRCA2 zárodočných variantov: vyhodnotenie záchytu v GenVias (2018 – 2025)

Flimelová K., Slezák T., Bognár Cs.
GenVias, s.r.o, Bratislava

Klinická interpretácia zárodočných variantov v génoch BRCA1

a BRCA2 s vysokou predispozíciou pre HBOPC syndróm je stredom záujmu viacerých skupín expertov. Od základnej klasifikácie zárodočných variantov, ktorá sa všeobecne etablovala od roku 2015 (Guidelines ACMG Richards a kol., 2015) máme v súčasnosti k dispozícii génovo špecifické pravidlá pre interpretáciu BRCA1/BRCA2 od ClinGen ENIGMA expert panels (Verzia: 1.2.0, 1/9/2025) a CanVIG-UK (Verzia: 1.22, 14/02/2025). V našom posterovom príspevku hodnotíme záchyt prípadne reklasifikáciu týchto variantov za obdobie 09/2018 – 06/2025 v Laboratóriu lekárskej genetiky GenVias.

Dôležitosť kombinovanej genetickej a biochemickej analýzy pri stanovení diagnózy SLOS pri atypickom alebo miernom fenotype

Forgáčová N.^{1,2}, Hrkčková G.³,
Bokorová S.², Krampľ W.^{2,4},
Sedláčková T.^{2,4}, Szemes T.^{2,4,5},
Lojová I.^{1,2}, Tóthová Tarová E.¹,
Radvánszky J.^{1,2,5}, Zaťková A.¹

¹Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, v. v. i, Bratislava

²Vedecký park UK Bratislava

³Ambulancia lekárskej genetiky, Detská klinika NÚDCH, Bratislava

⁴Geneton s.r.o., Bratislava

⁵Prírodovedecká fakulta UK Bratislava

Úvod: U pacienta mužského pohlavia s komplexným neuromuskulárnym fenotypom, vrátane hypotónie, vývinového oneskorenia, hypermobility, zvýšenej laxity kože, tremoru a nízkej trofiky bola realizovaná genetická analýza s cieľom

objasniť predpokladanú dedičnú etiológiu ochorenia. V diferenciálnej diagnostike boli zvažované poruchy zo skupiny cutis laxa, Ehlers-Danlos syndrómu (EDS) a príbuzné poruchy spojivového tkaniva.

Metódy: U pacienta bolo realizované exómové sekvenovanie so zameraním na 98 génov asociovaných so spojivovými poruchami. Následne bola vykonaná aj celogenómová analýza (WGS) a segregáčna analýza v rodine. Biochemické vyšetrenie zahŕňalo stanovenie hladiny 7-dehydrocholesterolu (7-DHC).

Výsledky: Exómové sekvenovanie s prioritizáciou 98 génov identifikovalo heterozygotný variant v gène COL12A1 (c.6293T>C; p.Val2098Ala) pre myopatický typ EDS, u ktorého sa predpokladal vznik *de novo*. Segregačná analýza v rodine však preukázala jeho dedičnosť od asymptomatického otca, čím sa jeho patogenita stala nepravdepodobnou. Rozhodujúci diagnostický posun priniesla WGS, ktorá odhalila dva heterozygotné varianty v gène DHCR7: p.(Trp151*) (c.452G>A), známy patogénny nonsense variant, a p.(Arg31His) (c.92G>A), variant s konfliktnými klasifikáciami (variant nejasného významu/pravdepodobne patogénny). Tento genotyp je asociovaný s miernou formou Smith-Lemli-Opitz syndrómu (SLOS), čo bolo následne podporené biochemickým nálezom mierne zvýšenej hladiny 7-dehydrocholesterolu u probanda.

Záver: Kazuistika zdôrazňuje význam kombinácie genómovej analýzy a biochemického vyšetrenia pri diferenciálnej diagnostike pacientov s nešpecifickým fenotypom. Identifikácia kauzálnych va-

riantov v gène DHCR7 umožnila potvrdenie diagnózy SLOS a poskytla zásadné informácie pre genetické poradenstvo rodine.

Granty: VEGA_2/0114/24 a VEGA 2/0146/23

Molekulárne genetická diagnostika prelingválnej hluchoty: kazuistika nesyndromové poruchy sluchu a mimiker nesyndromové hluchoty

Gančarčíková M.¹, Šenkeříková M.², Elblová L.², Cichrová P.², Dršata J.³, Malá T.², Forgáčová L.¹, Morávková P.¹, Farkašová A.¹, Pavlíková L.¹, Hyšpler R.¹

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové, ČR

²Oddělení lékařské genetiky, Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové, ČR

³Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové, ČR

Úvod: Prelingválnej hluchota je geneticky vysoce heterogenná skupina ochorení, ktorá je jednou z najčastejších senzorineurálnych vad (PMID:12784229). Pretože jsou kauzální varianty v genu GJB2 častou etiopatogenezi nemoci, bylo již popsáno více než 150 genů (<https://hereditaryhearingloss.org/>) asociovaných se syndromovou a nesyndromovou

hluchotou (NSHL) včetně třetí neoficiální kategorie známé jako tzv. mimikry nesyndromové poruchy sluchu a hluchoty. Mimikry nesyndromové hluchoty představují důležitou komplikaci dichotomie syndromové/nesyndromové poruchy sluchu, neboť zpočátku se projevují jako izolovaná ztráta sluchu s opožděným nástupem dalších klinicky mírných, ale i velmi závažných obtíží.

Metody: K přípravě sekvenační knihovny je využíván přístup hybridisation-based target enrichment pomocí SureSelectXT HS (Agilent) a vlastní custom design panelu vybraných 121 genů asociovaných s NSHL. Pro celoxomovou sekvenaci je využíván panel SureSelect Human All Exon V8+NCV (Agilent). Sekvence probíhá na platformě DNBSEQ-G400 (MGI), následná sekundární a terciální analýza je prováděna pomocí softwaru VarsomeClinical (Saphetor) a vlastní bioinformatické pipeline (Ref. Human Genome GRCh38. p14/hg38).

Výsledky: Prezentovány jsou tři kazuistiky pediatrických pacientů, kteří byli indikováni k molekulárně genetickému vyšetření NSHL. Pacientka (1) byla odeslána ve věku 9 měsíců pro senzori-neurální středně těžkou nedoslýchavost. Pomocí panelového sekvenování byla detekována kauzální příčina onemocnění kombinací patogenní SNV a CNV v genu STRC. Pacientka (2), ve věku 4,5 let, byla indikováno pro NSHL rychle progredující v kombinaci s růstovou retardací v OA. Genetické vyšetření prokázalo *de novo* variantu v heterozygotním stavu v genu

WFS1 asociovanou s Wolfram-like syndromem. Pacientka (3) byla odeslána ve věku 6 měsíců pro pozitivní screening sluchu (TEOAE opakovaně bilat. nevybavné), panelové sekvenování neodhalilo příčinu poruchy sluchu, přičemž celoxomovým sekvenováním byly zjištěny kauzální varianty ve složeně heterozygotním stavu v genu USH2A asociovaným s Usherovým syndromem typu 2A.

Závěr: Implementace celoxomového sekvenování do diagnostického algoritmu, ihned po negativním screeningu variant v GJB2 genu, výrazně přispívá k objasnění etiologie geneticky heterogenních poruch sluchu, včetně včasné detekce tzv. mimiker nesyndromových sluchových vad.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906) / Supported by MH CZ - DRO (UHHK, 00179906)

Spojené nádoby – kazuistika

Harkotová D.¹, Paučinová I.¹, Krasňanská G.², Konečný M.², Břandová G.²

¹Oddelenie lekárskej genetiky, Fakultná nemocnica s poliklinikou Žilina

²GHC GENETICS SK, Bratislava

Prezentujeme kazuistiku pacientky s patogénnym variantom v géne *FLCN*, u ktorej sa ochorenie manifestovalo izolovanými rekurentnými spontánnymi pneumotoraxmi, bez kožných alebo renálnych prejavov. Rodinná anamnéza je pozitívna. Klinický obraz zodpovedá tzv. hereditárnemu spontánnemu pneumotoraxu (HSP), ktorý môže byť izolovaným prejavom – samostatná diagnostická jednotka k Birt-Hogg-Dubé syndrómu (BHDS).

BHDS je zriedkavé autozomálne dominantné ochorenie spôsobené poruchou génu *FLCN*, ktoré sa typicky prejavuje kožnými léziami, pľúcnyimi cystami s rizikom pneumotoraxu a renálnymi nádormi. Ochorenie je variabilné, s neúplnou penetranciou a bez jasných genotypovo-fenotypových korelácií. Aj pri obmedzenom fenotype je potrebné komplexné sledovanie podľa odporúčaní pre BHDS, vrátane pravidelného MRI obličiek.

Táto kazuistika poukazuje na potrebu zvážiť BHDS pri rekurentných spontánných pneumotoraxoch, aj v neprítomnosti iných typických prejavov, a zdôrazňuje význam genetickej diagnostiky v diferenciálnej diagnostike týchto pacientov.

Národní centrum lékařské genomiky České republiky

Hodaňová K., Hartmannová H., Trešlová H., Nosková L., Stránecký V., Kmoch S.

Laboratoř pro studium vzácných nemocí, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, ČR

Lékařská genomika je dynamicky se rozvíjející vědní disciplínou, která spočívá v získávání a analýze genetické informace jedinců, rodin a populací s cílem porozumět genetickým, genomickým a molekulárním základům lidského zdraví a nemoci.

NCMG je výzkumná infrastruktura genomických laboratoří 1. a 2. lékařské fakulty a Lékařské fakulty

v Plzni, Univerzity Karlovy, Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, Fakultní nemocnice v Motole; BIOCEVu – Biotechnologického a biomedicínského centra Akademie věd a Univerzity Karlovy ve Vestci, Interní hematologické kliniky, Centra molekulární biologie a genové terapie Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity, Fakultní nemocnice Brno; CEITECu – Středoevropského technologického institutu, Masarykovy univerzity v Brně a Ústavu molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Plzeň.

Účelem NCMG je zabezpečit provoz nejmodernějších sekvenčních platforem a návazných technologických zařízení pro analýzu lidského genomu a umožnit kvalifikované využívání těchto technologií v biomedicínském výzkumu a translační medicíně v ČR.

Laboratoř pro studium vzácných nemocí je v současnosti vybavena nejmodernějšími přístroji a poskytuje základní instrumentální, metodickou a experimentální expertízu, jež je potřebná pro genomové sekvenování, analýzu transkriptomu, analýzu epigenomu, cytogenomickou analýzu a celogenomové genotypování, a rovněž může poskytnout bioinformatickou a statistickou podporu projektům zaměřeným na studium vzácných nemocí.

Dále také nabízíme ke stažení veřejně dostupnou databázi genomických variant české i slovenské populace: <https://ncmg.cz/>

Expresia miRNA v súvislosti so skorou karcinogenezou krčka maternice: pilotná štúdia

Holubeková V.¹, Hornáková A.¹, Rokos T.², Kolková Z.¹, Kašubová I.¹, Pribulová T.², Kozubík E.², Biringier K.², Kúdela E.²

¹Laboratórium genomiky a prenatálnej diagnostiky, Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

²Gynekologicko-pôrodná klinika Univerzitnej nemocnice v Martine, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

Úvod: Rakovina krčka maternice je štvrté najčastejšie malígne ochorenie žien na Slovensku a nemá klesajúcu tendenciu, aj napriek existujúcemu skríningu. Súčasný výskum sa zameriava na včasnú diagnostiku ochorenia s využitím biomarkerov detekovateľných v telových tekutinách. Zistilo sa, že v prenádorových léziách a karcinómoch je bunkové mikroprostredie zmenené cez epigenetické modifikácie, napr. modifikácia histónov, metylácia DNA a expresia nekódujúcich RNA. Cieľom tejto prvej štúdie bolo vyšetriť expresiu vybraných miRNA, ktoré by mohli súvisieť s progresiou prenádorových lézií krčka maternice.

Materiál a metódy: Stery z krčka maternice boli zbierané od žien s prenádorovými zmenami na krčku maternice, ako aj normálnym výsledkom cytológie. Zo vzoriek bola izolovaná celková RNA s obsahom miRNA, ktorej génová expre-

sia bola vyšetrená pomocou komerčných testov na prístroji LC480 (Roche) s použitím metódy druhej derivácie. Výsledky boli hodnotené v online webovom nástroji GeneGlobe (Qiagen) s normalizáciou k priemernej Ct hodnote.

Výsledky: Do štúdie bolo zaradených 72 vzoriek, ktoré boli rozdelené do skupín podľa závažnosti na: negatívne na intraepitelové lézie a malignity (NILM, n = 15), atypické skvamózne bunky nejasného významu (ASCUS, n = 12), nízkostupňová skvamózna intraepitelová lézia (LSIL, n = 19) a vysokostupňová skvamózna intraepitelová lézia (HSIL, n = 26). Prvotné výsledky tejto štúdie ukázali dereguláciu viacerých miRNA, pričom štatisticky významná nadexpresia bola pozorovaná v skupine HSIL pre miR-103a-3p (p = 0,0028), miR-22-3p (P = 0,0261) a miR-26b-5p (p = 0,0031), a slabo významná nadexpresia miR-155-5p (p = 0,0723). V LSIL skupine bola štatisticky významne zvýšená expresia miR-22-3p (P = 0,0464) a slabo významná nadexpresia miR-26b-5p (p = 0,0526) a podexpresia miR-16-5p (p = 0,0818).

Záver: Deregulácia miRNA expresie sa často spája s viacerými onkologickými ochoreniami a môže slúžiť ako včasný biomarker prenádorových štádií. Prvotné výsledky analýzy miRNA expresie ukázali ich potenciálne využitie vo včasnej diagnostike, avšak plánujeme tento trend overiť na väčšom súbore pacientok.

Podakovanie: Táto práca bola podporená projektom č. 09I03-03-V04-00228 financovaným z EÚ NextGenerationEU prostredníctvom Plánu obnovy a odolnosti SR.

Dysregulácia miRNA v duodenálnom tkanive pediatrických pacientov s celiakiou: Vplyv bezlepkovej diéty na expresný profil

Hornáková A.¹, Kolková Z.¹, Suroviaková S.², Grendár M.³, Havličeková Z.², Holubeková V.¹, Bánovčin P.²

¹Laboratórium genomiky a prenatálnej diagnostiky, Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

²Klinika detí a dorastu, Univerzitná nemocnica Martin, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

³Laboratórium bioinformatiky a bioštatistiky, Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

Úvod: MikroRNA (miRNA) sú dôležité regulátory génovej expresie, ktoré ovplyvňujú širokú škálu biologických procesov. Ich dysregulácia môže viesť k patologickým zmenám a prispievať k rozvoju rôznych ochorení. Cieľom tejto štúdie bolo vyhodnotiť expresiu vybraných miRNA v duodenálnom tkanive pediatrických pacientov s aktívnou celiakiou, preskúmať úlohu dysregulovaných miRNA v patogenéze tohto ochorenia a posúdiť zmeny v ich expresnom profile v reakcii na bezlepkovú diétu (BLD).

Metódy a výsledky: Do štúdie bolo zaradených 20 novodiagnostikovaných pacientov s celiakiou, 17 pacientov s celiakiou, ktorí dodržiavali BLD a 29 vzoriek tvorilo kontrolnú skupinu. Expresia miRNA vo vzorkách duodena bola kvantifikova-

ná pomocou real-time PCR. Na základe výsledkov sme identifikovali 8 dysregulovaných miRNA u pacientov s celiakiou: miR-155-5p (zvýšená expresia) a hsa-miR-22-5p, hsa-miR-192-5p, hsa-miR-338-3p, hsa-miR-31-5p, hsa-miR-31-3p, hsa-miR-215-5p a hsa-miR-378d (znížená expresia). Následná analýza signálnych dráh ukázala, že tieto miRNA ovplyvňujú rôzne signálne dráhy súvisiace so zápalom, imunitnou odpoveďou a medzibunkovými interakciami, ktoré sú dôležité pre patogenézu celiakie. Zaujímavým zistením bolo, že miR-31-3p bola u pacientov s celiakiou na BLD zvýšená, pričom hladina tejto miRNA negatívne korelovala v dĺžkou trvania BLD. U ostatných miRNA sa expresia u pacientov na BLD normalizovala na úroveň podobnú tej, ktorá bola pozorovaná v kontrolnej skupine.

Záver: Naša štúdia poskytuje nové poznatky o dysregulácii miRNA v duodenálnych biopsiách pediatrických pacientov s celiakiou a o tom, ako sa tieto zmeny vyvíjajú pri dodržiavaní bezlepkovej diéty. Tieto výsledky prispievajú k lepšiemu pochopeniu molekulárnej patogenézy celiakie a otvárajú možnosti pre budúci výskum. Hlbšie porozumenie špecifických interakcií medzi dysregulovanými miRNA môže viesť k rozvoju nových terapeutických prístupov v liečbe celiakie.

Táto práca vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Dlhodobý strategický výskum prevencie, intervencie a mechanizmov obezity a jej komorbidít. Obezita, kód ITMS: 313011V344, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Fokálna faciálna dermálna dysplázia typ III: zriedkavá kazuistika zo Slovenska

Horváth M.^{1,2}, Krištínová D.^{1,2},
Demová K.⁴, Róžová I.^{1,2}, Tomková E.^{1,3},
Tóthová K.¹

¹Oddelenie lekárskej genetiky,
Medirex, a.s., Bratislava

²Ambulancia lekárskej genetiky,
Gyncare, a. s., Bratislava

³Ústav lekárskej biológie, genetiky
a klinickej genetiky, Lekárska fakulta,
Univerzita Komenského, Bratislava

⁴Neonatologická klinika, Fakultná
nemocnica s poliklinikou Nové
Zámky

Fokálna faciálna dermálna dysplázia (FFDD) predstavuje vzácnu skupinu zriedkavých vrodených porúch, ktoré sú klasifikované ako ektodermálne dysplázie. Tieto ochorenia spôsobujú abnormálny vývoj tvárových štruktúr, vrátane kože, vlasov a nechtov.

V závislosti od lokalizácie a charakteru kožných lézií sú známe štyri podtypy FFDD (typy I–IV). FFDD typ III, známa aj ako Setleisov syndróm (OMIM:227260, ORPHA:1807), sa vyznačuje výskytom typicky lokalizovaných jazvovitých alebo atrofických lézií bitemporálne alebo preaurikulárne. Súčasne sa môžu vyskytovať aj ďalšie tvárové abnormality, ako napríklad chýbajúce riasy na dolných viečkach, nízka vlasová línia, epikanty, ako aj systémové prejavy vrátane oneskoreného rastu, psychomotorického vývoja a vrodených malformácií rôznych orgánových systémov. Zistilo sa, že FFDD typ III je autozomálne recesívne

ochorenie spôsobené bialelickými patogénnymi variantmi v géne TWIST2, ktorý kóduje kľúčový inhibičný transkripčný faktor pre dermálny vývin v kraniofaciálnej oblasti. V dostupnej literatúre boli však opísané aj prípady s rovnakým charakteristickým klinickým obrazom, u ktorých sa mutácie v géne TWIST2 nepotvrdili. U týchto pacientov boli identifikované duplikácie či triplikácie v chromozómovej oblasti 1p36.23–p36.21.

Predkladáme kazuistiku rodiny, v ktorej sme na základe typického fenotypu fokálnej faciálnej dermálnej dysplázie indikovali genetické laboratórne vyšetrenia. V rodine sme potvrdili diagnózu FFDD typu III – Setleisov syndróm na genetickom podklade duplikácie chromozómovej oblasti 1p36.22. Duplikácia alebo triplikácia oblasti 1p36.23–p36.21 vedie k zmene regulácie génovej expresie (zvýšeniu génovej dávky), k prekonaniu inhibičného efektu transkripčného faktora TWIST2 a k následnej deregulácii vývojových procesov. Ide o ojedinelý geneticky verifikovaný prípad v rámci Slovenskej republiky.

Endometriální receptivita – jeden z faktorů pro úspěšný embryotransfer v rámci IVF

Chvojka Š., Dohnalová L., Nguyen L.,
Dvořáčková H., Koudová M.,
Bittíková M.

GNTLabs by Gennet, Praha, ČR

Asistovaná reprodukce (IVF) je komplexní proces zaměřený na léčbu neplodnosti, jehož cílem je úspěšné těhotenství, následované narozením zdravé-

ho dítěte. Jedním z významných faktorů ovlivňujících úspěch IVF je čas provedení embryotransferu kvalitního embrya. To, zdali je děložní sliznice připravena přijmout embryo, určuje – tzv. endometriální receptivita. Endometrium je schopné přijmout embryo pouze během krátkého časového intervalu menstruačního cyklu známého jako implantační okno. Nesoulad mezi dobou transferu a receptivitou může vést k selhání implantace, i když je embryo kvalitní.

Vyšetření provádíme z tkáně endometria, která je odebrána v době potenciálního embryotransferu. Pro přesné určení stavu receptivity endometria používáme pokročilé metody sekvenování nové generace (NGS), díky kterému můžeme hodnotit genovou expresi vybraných genů na molekulární úrovni. Pomocí testu GERT (Gennet Endometrium Receptivity Test) analyzujeme expresi 175 genů spojených s receptivitou endometria a kategorizujeme vzorky do 3 skupin: pre-receptivní, receptivní a post-receptivní. Vyšetření receptivity je indikováno zejména u pacientek s opakovaným selháním implantace euploidního embrya.

Celkem jsme testovali 503 pacientek. U 218 žen (43 %) bylo zjištěno posunuté implantační okno – u 201 z nich se endometrium nacházelo ve fázi pre-receptivní, u 17 pacientek ve fázi post-receptivní. Na základě výsledků byl pacientkám doporučen personalizovaný embryotransfer v dalším IVF cyklu.

Molekulární vyšetření endometriální receptivity představuje cenný nástroj pro IVF léčbu. Identifikace posunutého

implantačního okna umožňuje přesně naplánovat embryotransfer a tím významně zvýšit pravděpodobnost úspěšné implantace. Naše výsledky potvrzují, že vyšetření receptivity má klinický přínos zejména u pacientek s předchozími neúspěšnými cykly.

Personalizovaný přístup v léčbě AML: kazuistiky s využitím NGS

Ivan J.¹, Kopcsayová D.¹, Vallová S.², Majerová L.², Šprincová A.¹

¹Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex, a.s., Košice

²Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex, a.s., Bratislava

Úvod: Masívne paralelné sekvenovanie novej generácie (NGS) predstavuje dôležitý laboratórny nástroj v diagnostike a manažmente akútnej myeloblastovej leukémie (AML). Umožňuje komplexné molekulové profilovanie ochorenia podľa klasifikačných systémov WHO/ICC 2022 a ELN 2022, a tiež personalizovaný prístup vo výbere terapie. Predkladané kazuistiky demonštrujú prínos NGS nielen pri vstupnom vyšetrení, ale aj pri včasnej detekcii progresie či relapsu ochorenia.

Metodika: Retrospektívna analýza dvoch pacientov s AML, u ktorých bola realizovaná komplexná genetická diagnostika vrátane NGS sekvenovania zameraného na panel 58 génov asociovaných s myeloidnými neopláziami. Molekulové nálezy boli preskúmané vo vzťahu k rizikovej skupine a zvolenému terapeutickému postupu.

Výsledky: Kazuistika 1 (K1): 50-ročná pacientka s AML, u ktorej bola NGS metodikou detegovaná bialelická mu-

tácia CEBPA (*biCEBPA*) a patogénny variant WT1, a cytogeneticky zistená trizómia chromozómu 21. Smernice ELN 2022 by pacientku so samotnou *biCEBPA* zaradili do skupiny s priaznivou prognózou, avšak súčasná prítomnosť WT1^{mut} ju posúva do stredného rizika. NGS diagnostika umožnila správnu stratifikáciu rizika a pacientka bola indikovaná k alogénnej transplantácii krvotvorných kmeňových buniek, po ktorej došlo k molekulovej remisii.

Kazuistika 2 (K2): 54-ročný pacient s APL (AML-M3) pôvodne liečený protokolom ATRA/ATO s dosiahnutím kompletnej remisie. Pri relapse ochorenia bolo prvýkrát realizované genetické vyšetrenie, ktoré odhalilo fúziu PML::RARA. NGS umožnilo detegovať patogénne varianty v génoch *FLT3*, *WT1*, *RUNX1* a *ETV6*. Napriek podanej terapii pacient podľahol komplikáciám spojeným s diferenciálnym syndrómom a mykotickou infekciou.

Záver: NGS má nezastupiteľnú úlohu nielen pri vstupnej stratifikácii rizika, ale aj pri identifikácii genetických zmien pri výskyte relapsov. Prípád K2 otvára diskusiu o potrebe zavedenia periodického NGS monitoringu aj u pacientov v remisii, ako nástroja včasnej detekcie molekulovej progresie.

Kazuistika: Adenokarcinom appendixu u nositeľa zárodečnej mutácie *BRCA1*

Janíková M.¹, Kolaříková K.¹, Kratochvílová R.¹, Brisudová A.¹, Langerová H.¹, Ritter Ponikelská N.¹, Vrtěl R.¹, Curtisová V.¹, Nesnadná R.², Savara J.², Procházka M.¹

¹Ústav lékařské genetiky, LF UP a FN Olomouc, ČR

²Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc, ČR

Úvod: Adenokarcinom appendixu je mimořádně vzácný a v literatuře je dostupné jen omezené množství informací, které by jej spojovaly se zárodečnými mutacemi *BRCA1*. Tato kazuistika popisuje pacienta/probanda s adenokarcinomem appendixu a patogenní variantou v genu *BRCA1* a zdůrazňuje důsledky pro screening a terapii.

Anamnéza: U probanda byl ve 48 letech při akutní apendektomii diagnostikován adenokarcinom appendixu z prstenčitých buněk, bez neuroendokrinní diferenciace. Během vyšetřování na našem pracovišti byla z onkologie doručena informace o nové diagnóze acinárního adenokarcinomu prostaty. Poloviční bratr probanda ve 33 letech onemocněl maligním melanomem, matka zemřela v 56 letech na srdeční selhání. Otec, matčini 2 bratři ani prarodiče již nežijí, informace o jejich zdravotním stavu k dispozici nemáme.

Metodika: Proband a jeho bratr byli na našem pracovišti vyšetřeni pomocí sekvenování nové generace (NGS) s využitím panelu CZEKANCA (Roche) obsahujícího 226 genů a digitální MLPA (Multiplex Ligationdependent Probe Amplification) (26 genů). Konfirmace nalezené varianty byla provedena Sangerovým sekvenováním.

Výsledek: U probanda byla nalezena patogenní varianta *BRCA1*:c.181T>C (p.Cys61Gly) v heterozygotní formě. U jeho bratra tato varianta nalezena nebyla.

Záver: Tento prípad poukazuje na to, že nositelia patogenných variant v génu BRCA1 majú kromě zvýšeného rizika rozvoja karcinomu prsu, ovarií, pankreatu a prostaty rovněž zvýšené riziko vzniku karcinomu appendixu. Proto u těchto pacientů by zřejmě bylo vhodné uvažovat také o preventivní apendektomii, čímž by se pravděpodobnost rozvoje nádorového onemocnění ještě víc snížila.

Tato práce byla podpořena MZ ČR –RVO (FNOL, 00098892).

Mutácia v géne RPGR ako spoločný základ retinitis pigmentosa a primárnej ciliárnej dyskinézy – kazuistika

Kolková Z.¹, Ďurdík P.², Holubeková V.¹, Ďurdíkova A.², Jeseňák M.², Bánovčín P.²

¹Laboratórium genomiky a prenatalnej diagnostiky, Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

²Klinika detí a dorastu, Univerzitná nemocnica Martin, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

Úvod: Mutácie v géne RPGR (*retinitis pigmentosa GTPase regulator*) predstavujú najčastejšiu príčinu X-viazanej *retinitis pigmentosa* (XLRP), zriedkavého genetického ochorenia postihujúceho fotoreceptorové bunky sietnice. Niektoré publikované prípady poukazujú na možnú úlohu tohto génu aj pri primárnej ciliárnej dyskinéze (PCD), ciliopatii charakterizovanej poruchou funkcie riasiniek, najmä

v dýchacích cestách. Vzhľadom na to, že rôzne mutácie v tom istom géne môžu viesť k odlišným klinickým obrazom, je dôležité opísať koreláciu medzi konkrétnym genetickým variantom a zodpovedajúcim fenotypom.

Metódy: Vyšetrení boli dvaja súrodenci z nepokrvnej slovenskej rodiny s diagnózou retinálnej dystrofie a opakujúcimi sa respiračnými infekciami. Suspektná PCD bola vyšetrená na základe dotazníka PICADAR, analýzy koncentrácie nazálneho oxidu dusnatého (nNO), transmisnej elektrónovej mikroskopie, vysokorýchlostnej videomikroskopie a genetického testovania.

Výsledky: U oboch pacientov bola identifikovaná nová mutácia v géne RPGR NM_001034853: c.309_310insA, p.Glu-104Argfs*12 vedúca k posunu čítacieho rámca, ktorá sa spája s komplexným X-viazaným fenotypom kombinujúcim príznaky PCD a RP. Táto mutácia bola u našich pacientov spojená s normálnou ultraštruktúrou respiračných riasiniek, no zároveň aj redukovaným množstvom ciliárneho epitelu, zvýšeným výskytom aciliárneho respiračného epitelu, skrátenými riasinkami a nekoordinovaným pohybom s frekvenciou na dolnej hranici normy. Tieto nálezy podporujú klinickú manifestáciu PCD u pacientov.

Záver: Identifikovaná patogénna mutácia v géne RPGR rozširuje spektrum genetických variantov spojených s X-viazaným fenotypom PCD, ktorý sa prekrýva s RP. Tento prípad poukazuje na fenotypovú variabilitu pri mutáciách RPGR a význam genotyp-fenotypových korelácií

v klinickej diagnostike. Získané poznatky môžu byť cenné pre rozšírenie diagnostických kritérií PCD, ako aj pre ďalší výskum zameraný na molekulárne mechanizmy ciliopatií, génové interakcie a úlohu RPGR proteínu pri zabezpečení správnej funkcie riasiniek v rôznych tkanivách.

Táto práca vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Systémová verejná výskumná infraštruktúra – biobanka pre nádorové a zriedkavé ochorenia, ITMS: 313011AFG5 spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Kazuistiky z nášho laboratória – Postnatálna diagnostika ring chromozómov 5 a 18

Kozmér C.¹, Landlová D.¹, Furielová T.¹,
Hráček V.¹, Eckertová M.¹, Tomková E.¹,
Križan P.², Hřčková G.³

¹Oddelenie lekárskej genetiky,
Medirex, a. s., Bratislava

²Lekárska genetika, Gyncare, a. s.,
Bratislava

³Ambulancia lekárskej genetiky, DK
LF UK, NÚDCH Bratislava

Ring chromozómy predstavujú zriedkavú formu štruktúrnej chromozómovej abnormality, ktorá vzniká najčastejšie *de novo* v dôsledku dvojitého zlomu terminálnych segmentov oboch ramien chromozómu počas meiózy alebo v skorých fázach postzygotickej mitózy. Strata telomérických oblastí umožňuje spojenie koncov do uzatvoreného kruhu a vznik prstencovej štruktúry. Výskyt ring chromozómov sa odhaduje na približne 1 z 50 000 živonarodených, pričom

podľa literatúry sa každý rok narodí približne 2 800 detí s touto aberáciou.

Ring chromozómy boli zaznamenané pri všetkých chromozómoch, najčastejšie však pri chromozómoch 18, 20 a X. Klinický prejav prstencových chromozómov je výrazne variabilný a závisí najmä od rozsahu straty genetického materiálu počas ich vzniku. Fenotypová expresivita sa môže pohybovať od asymptomatických alebo miernych prejavov až po ťažké vývojové poruchy, čo súvisí s veľkosťou delécie a funkčným významom postihnutých génov.

Diagnostika ring chromozómov predstavuje výzvu nielen kvôli ich variabilnému klinickému obrazu, ale aj pre ich často mozaikový výskyt, mitotickú nestabilitu a možnosť ich duplicity či straty v rôznych bunkových populáciách. Z tohto dôvodu je dôležité každé pozorovanie podrobne dokumentovať a porovnať s dostupnými literárnymi údajmi, s cieľom lepšie pochopiť genotypovo-fenotypové korelácie a prispieť k presnejšej interpretácii týchto nálezov v klinickej genetike.

Na posterii prezentujeme prípady ring chromozómov 5 a 18, identifikované počas postnatálnej diagnostiky a ich fenotypové korelácie.

Nethertonův syndrom – dlouhá cesta k diagnóze

Laštůvková J.¹, Nosková L.²,
Pecková A.¹, Čejnová V.¹

¹Oddělení lékařské genetiky,
Masarykova nemocnice v Ústí nad
Labem, Krajská zdravotní a.s., ČR

²Laboratoř pro studium vzácných onemocnění, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. LF UK a VFN, ČR

Úvod: Nethertonův syndrom je velmi vzácné autosomálně recesivně dědičné onemocnění postihující zejména kůži, vlasy a imunitní systém. Onemocnění je podmíněné bialelickými mutacemi v genu *SPINK5*. Tento gen kóduje protein LEKT1 – inhibitor serin peptidázy. Deficit LEKT1 umožní zvýšení aktivity serin peptidáz, což vede k závažnému defektu kožní bariéry. Onemocnění se manifestuje již po narození generalizovanou erythrodermií, pokožka je červená, suchá, olupující se, může být přítomno neprosívání, hyponatremická dehydratace s průjmy a časté infekce, dále bývají přítomny projevy atopické dermatitidy, potravinové alergie, astmatu, kopřivky, či angioedému. Vlasy jsou typicky řídké a lámavé, pod mikroskopem mohou mít obraz bambusové tyče (kolénka), či pilli torti (stočené, lámavé vlasy), jsou postiženy též řasy a obočí. Projevy se obvykle s věkem zmírňují.

Prezentujeme případ pacientky, u které byly příznaky Nethertonova syndromu patrné již v časném dětství, diagnosa však byla molekulárně genetickým vyšetřením potvrzena až ve 23 letech.

Metody: kožní biopsie, mikroskopické vyšetření vlasů, Sangerovo sekvenování, NGS, vyšetření RNA

Výsledky: U probandky (ročník 2001) byla po narození zjištěna vrozená vada kůže – suspekce na ichthyosis neonatorum bullosum, následně se objevila

porucha růstu vlasů, generalizovaná atopická dermatitida, recidivující peritonizilární abscesy. Diagnosa Nethertonova syndromu u probandky byla stanovena ve 3 letech na podkladě kožní biopsie a mikroskopického vyšetření vlasů. Molekulárně genetické vyšetření genu *SPINK5* v r. 2006 na zahraničním pracovišti (UK Muenster, SRN) u probandky prokázalo pouze 1 patogenní variantu genu *SPINK5*: c.1432-13G>A, druhá patogenní varianta tehdy nebyla nalezena. Ani nové vyšetření genu *SPINK5* v rámci panelu genů pro ichtyosy neodhalilo druhou patogenní variantu. Objasnění případu na molekulární úrovni umožnilo až vyšetření RNA z buňkamiho stěru probandky a jejích rodičů v r. 2024, provedené v průběhu 1. gravidity probandky. Probandka zdělila od matky již dříve nalezenou variantu *SPINK5*(NM_006846.4):c.1431-12G>A, předpokládaný dopad na protein p.(Phe477_Gln478insSerTer). Od otce zdělila variantu *SPINK5*(NM_006846.3):c.1820+53G>A, lokalizovanou v intronu 19, která vede k aktivaci kryptického donorového místa pro sestřih. Podle analýzy transkriptu dojde při sestřihu k připojení 53 bazí intronu 19, což vede k vzniku předčasného stop kodonu v rámci aberantně inkorporované části intronu. Předpokládaný dopad na protein p.(Phe607delinsTyrTer). K aberantnímu sestřihu dochází pravděpodobně jen částečně. Uvedená varianta a mechanismus byly již popsány v literatuře.

U partnera probandky nebyla v genu *SPINK5* nalezena žádná patogenní varianta.

Záver: Potvrzení diagnózy Nethertonova syndromu na molekulárnej úrovni vedlo u probandky k významnému zlepšeniu jejích psychické pohody v gravidite. Dcera probandky nemá žádné příznaky genodermatózy, je však jistou přenašečkou Nethertonova syndromu.

Tato práce vznikla za podpory projektu Multi-omics platforma pro hledání biologických korelátů nemocí a vývoj nových diagnostických, preventivních a léčebných postupů (Operační program Jan Amos Komenský, reg. č. CZ.02.01.01/00/23_020/0008540) – Spolufinancováno Evropskou unií, grantového projektu NU23-07-00281 a za podpory Národního centra lékařské genomiky (LM2023067).

Porovnanie analytickej citlivosti molekulárno-biologických prístupov pri detekcii vybraných variantov v mitochondriálnej DNA

Latka S.¹, Perašín J.¹, Slíž I.¹, Zelinková H.²

¹Laboratórium lekárskej genetiky, Unilabs Slovensko, s.r.o., Banská Bystrica

²Laboratórium lekárskej genetiky, Unilabs Slovensko, s.r.o., Bratislava

Cieľom práce bolo porovnať analytickú citlivosť vybraných molekulárno-biologických metód používaných pri detekcii patogénnych variantov v mitochondriálnej DNA (mtDNA) a stanovení miery heteroplazmie. Analyzovaný súbor pozostával z klinických vzoriek pacientov s potvrdeným mtDNA variantom, ako aj zo vzoriek pacientov s klinickým

obrazom suspektným na mitochondriálne ochorenie bez predchádzajúceho genetického nálezu. Hodnotená bola výkonnosť štandardne používaných metód, akými sú Sangerovo sekvenovanie či MLPA, a tiež výkonnosť masívne paralelného sekvenovania (MPS) a real-time PCR prístupov vrátane alelovej diskriminácie a vysokorozlišovacej analýzy kriviek topenia (HRM). Sangerovo sekvenovanie a MLPA preukázali obmedzenú citlivosť pri detekcii nízkej heteroplazmie, s limitom detekcie približne 25 – 50 %, čo môže viesť k prehliadnutiu klinicky významných mtDNA variantov. MPS umožnilo spoľahlivú detekciu aj pri nízkej úrovni heteroplazmie (~10 %), avšak tento prístup je vo všeobecnosti považovaný za finančne a technologicky náročnejší. Z porovnávaných real-time PCR metód sa ako najefektívnejší prístup ukázala alelová diskriminácia s použitím fluorescenčne značených sond, ktorá poskytuje dostatočnú analytickú citlivosť. Tento prístup je zároveň vhodný aj pre rutinnú genetickú analýzu so zameraním na známe a časté varianty mtDNA.

Porovnanie kvalitatívnych metrických hodnotiacich NGS analýzy a mieru zhody pri detekcii molekulárnych zmien v rámci párových FF a FFPE vzoriek počas komplexného genomického profilovania pomocou testu TSO 500

Loderer D.¹, Hornáková A.^{1†}, Tobiašová K.², Lešková K.², Halašová E.¹, Danková Z.^{1,3}, Biringer K.⁴, Kúdela E.⁴, Rokos T.⁴, Dzian A.⁵,

Miklušica J.⁶, Mikolajčík P.⁶,
Smolár M.⁶, Plank L.², Grendár M.¹

¹Martinské centrum pre biomedicínu,
Jesseniova lekárska fakulta UK
v Martine

²Ústav patologickej anatómie,
Univerzitná nemocnica v Martine

³Biobanka pre nádorové a zriedkavé
ochorenia v Martine

⁴Gynekologicko-pôrodnická klinika,
Jesseniova lekárska fakulta UK
v Martine

⁵Klinika hrudníkovej chirurgie,
Jesseniova lekárska fakulta UK
v Martine

⁶Klinika všeobecnej, viscerálnej
a transplantáčnej chirurgie,
Jesseniova lekárska fakulta UK
v Martine

Úvod: V modernej onkológii sa technológia sekvenovania novej generácie (NGS) v súčasnosti bežne používa na detekciu klinicky významných variantov. V štandardnej diagnostike je však stále preferovaným zdrojom genetického materiálu vo formalíne fixované a v parafríne zaliate tkanivo (FFPE), a to hlavne kvôli jeho dlhodobej skladovacej stabilite zachovávajúcej architektúru nádorového tkaniva. Degradácia nukleových kyselín, ku ktorej dochádza počas procesu fixácie, však môže viesť k nespoľahlivým výsledkom alebo až k znemožneniu vykonať NGS analýzy. Vzhľadom na výzvy, ktoré predstavujú kvalita a množstvo nukleových kyselín extrahovaných zo vzoriek FFPE, sa cieľom tejto štúdie stalo porovnanie QC metrík a stanovenie zhody pri detekcii klinicky relevantných va-

riantov u párových čerstvo zmrazených (FF) a FFPE vzoriek.

Metódy: Na vykonanie komplexného genomického profilovania vzoriek od pacientov s rôznymi typmi nádorov sme použili test Illumina® TruSight Oncology 500 (TSO 500). Všetky identifikované varianty boli anotované pomocou softvéru Pierian Dx Clinical Genomics Workspace verzie 6.20.

Výsledky: Celkovo sme vykonali 138 analýz DNA a 138 analýz RNA na 69 párových vzorkách. Tieto výsledky preukázali významný potenciál FF tkaniva ako primárneho zdroja genetického materiálu vyššej kvality na detekciu malých variantov, mikrosatelitnej instability a mutačnej záťaže nádoru pri použití testu TSO 500 v porovnaní so vzorkami FFPE.

Záver: Využitie FF tkaniva by umožnilo výrazne znížiť počet prípadov, ktoré kvôli nízkej kvalite nukleových kyselín nie je možné analyzovať pomocou NGS. Ďalej na základe našich zistení o nižšej zhode pri detekcii zostrihových variantov, fúzií a variantov počtu kópií odporúčame, aby sa budúce štúdie využívajúce test TSO 500 zamerali priamo na túto problematiku.

Táto štúdia vznikla v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Integratívna stratégia v rozvoji personalizovanej medicíny vybraných zhubných nádorových ochorení a jej vplyv na kvalitu života (ITMS 2014+, 313011V446), spolufinancovaná z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Monogénová príčina nesyndrómového autizmu – 2 kazuistiky

Lopáčková V.

Ambulancia lekárskej genetiky,
Prešov

Z pohľadu praxe klinického genetiky s rozvojom nových techník molekulárnej diagnostiky nachádzame, aj keď stále raritne, aj monogénové príčiny vysvetľujúce vznik autizmu (poruchy autistického spektra – PAS) u pacientov, či už v zmysle autizmu ako dominujúceho ochorenia alebo ako jeden z príznakov syndrómového ochorenia. V dvoch kazuistikách z našej ambulancie predstavím prípady genetickej etiológie primárne klinicky nesyndrómového autizmu: PAS v rámci SCN2A asociovaných ochorení u pacienta s klinickou diagnózou detský autizmus a PAS v rámci KIF5C asociovaných ochorení u pacienta so vstupnou diagnózou vysokofunkčný autizmus.

Analýza klinického exómu u pacientov s negatívnym nálezom myotonickej dystrofie typu 1 a 2

Oravcová L., Cicmanová Palčová L.,
Medová V., Kádaši Ľ.

Genexpress spol. s r.o., Bratislava

Úvod: Myotonická dystrofia typu 1 (DM1) a typu 2 (DM2) patria medzi najčastejšie autozómovo dominantné dedičné neuromuskulárne ochorenia. Klinické prejavy oboch foriem sa často prekrývajú a zahŕňajú príznaky ako myotónia, progresívna svalová slabosť, atrofia, katarakta, poruchy srdcového rytmu a i. U DM

negatívnych pacientov je v mnohých prípadoch následne indikovaná analýza klinického exómu zameraná na identifikáciu variantov v iných génoch súvisiacich s neuromuskulárnymi fenotypmi (HP:0003198 – Myopathy, HP:0002486 – Myotonia, a HP:0003560 – Muscular dystrophy). Vo vybranom súbore pacientov sme analyzovali panel génov súvisiaci s uvedenými fenotypmi.

Materiál a metódy: Genóm pacientov sme analyzovali v rozsahu klinického exómu prístupom masívneho paralelného sekvenovania s využitím NGS kitu Clinical exome solution (Sophia Genetics) a platformy Illumina NextSeq500 alebo NextSeq2000. Analýza dát bola uskutočnená pomocou nástroja SOPHiA DDM™ (Sophia Genetics). Klinická relevantnosť detegovaných variantov bola posudzovaná v súlade s ACMG/AMP odporúčaniami s ohľadom na fenotyp pacienta a dostupné databázy (ClinVar, NCBI, gnomAD, a i.).

Výsledky: V rámci súboru 84 pacientov sme u 38 z nich (45,2 %) identifikovali prítomnosť patogénneho alebo pravdepodobne patogénneho variantu, najčastejšie v génoch CLCN1, CAPN3, DYSF, RYR1, SYNE1 a TTN. U 23 pacientov (27,4 %) sme detegovali varianty nejasného klinického významu (VUS), avšak s vysokou pravdepodobnosťou kauzality vzhľadom na fenotyp pacienta. U zvyšných 23 pacientov (27,4 %) sa nepodarilo identifikovať žiadny potenciálne kauzálny variant.

Záver: Naše výsledky potvrdzujú vysokú genetickú heterogenitu neuromuskulárnych ochorení a potrebu analýz

zy masívneho paralelného sekvenovania u pacientov s negatívnym nálezom DM1 a DM2. Cílená analýza génov súvisiacich s relevantnými fenotypmi predstavuje efektívny nástroj na identifikáciu kauzálnych variantov a zefektívnenie diferenciálnej diagnostiky. Zároveň zdôrazňujeme potrebu spolupráce medzi klinickým neurológom, lekárom genetikom a molekulovým genetikom, ako aj potrebu priebežného prehodnocovania VUS variantov v kontexte nových poznatkov.

Kto hľadá, nájde... – kazuistika

Paučinová I.¹, Baldovič M.²,
Konečný M.², Bľandová G.²

¹Oddelenie lekárskej genetiky, FNŠP
Žilina

²GHC GENETICS SK, Bratislava

Kazuistika pojednáva o chlapcovi, ktorý bol od útleho detstva sledovaný v našej ambulancii pre makrocefáliu a hypotonický syndróm. Vyšetrením karyotypu bol u neho diagnostikovaný Klinefelterov syndróm. Táto diagnóza však nevysvetľovala všetky fenotypové prejavy pacienta a jeho vývoj. Preto sme indikovali ďalšie vyšetrenia, ktorými sme u neho zistili raritný syndróm kongenitálnych anomálií/dysmorfický syndróm. Poukazujeme na to, že jeden pacient môže mať viacero genetických ochorení súčasne.

Genetická príčina recidivujúcich mykobakteriálnych infekcií

Pecková A.¹, Laštůvková J.¹, Jílek D.²,
Freiberger T.³

¹Masarykova nemocnice v Ústí nad
Labem, o.z., Krajská zdravotní, a.s.,
Oddělení lékařské genetiky, Ústí nad
Labem, ČR

²Masarykova nemocnice v Ústí nad
Labem, o.z., Krajská zdravotní,
a.s., Oddělení klinické imunologie
a alergologie, ČR

³Centrum kardiovaskulární
a transplantační chirurgie, Brno, ČR

Úvod: MSMD (Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases) – dědičná vnímavost k mykobakteriálním infekcím je vzácný primární imunodeficit charakterizovaný sníženou obranyschopností vůči málo virulentním mykobakteriím a těžkými rekurentními infekcemi, jak diseminovanými tak lokalizovanými. Toto onemocnění je geneticky heterogenní – byly u něj popsány všechny typy dědičnosti – AD, AR i X-vázaná, genetická etiologie se podaří identifikovat u cca poloviny pacientů.

Vyšetření: NGS cílený panel – primární imunodeficeience

Výsledky: Genetické vyšetření doporučeno imunologem pro suspektní MSMD (Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases) u probandky (1951) s dlouhodobou anamnézou opakovaných mykobakterióz s nutností přeléčení antituberkulotiky. V roce 2021 byla probandka hospitalizována pro progredující vícečetná nekrotická ložiska v játrech, mykobakterie nebyly biopsií prokázány. Vzhledem k anamnéze však byla nasazena antituberkulózní léčba v trojkombinaci. V rámci imunologického konzilia byl u probandky vyloučen detekovatelný deficit protilátkové a buněčné imunity. Pro podezření

na MSMD bylo doporučeno molekulárne genetické vyšetrení tohoto onemocnění. U probandky byla následně prokázána patogenní sekvenční varianta **c.819_822del; p.Asn274Hisfs*2** v genu **IFNGR1**, která byla v literatuře opakovaně popsána jako kauzální pro MSMD. Patogenní varianty v tomto genu vedou k selektivně zvýšené citlivosti k nízké virulentním mykobakteriím (tzv. atypické mykobakteriízy, např. *M. avium*, *M. kansasii* aj.) a netyfoidním salmonelám. Onemocnění spojená s genem **IFNGR1** jsou spojena s autosomálně dominantním i autosomálně recesivním typem dědičnosti. Patogenní varianty stejného typu, jako je výše detekovaná varianta, jsou spojeny s autosomálně dominantní dědičností s 50 % rizikem opakování pro potomky pacientů. Probandka má 2 děti – dcera (1975) prodělala opakovaně mykobakteriální infekce, je bezdětná, s probandkou se nestýká, genetické vyšetření zatím nepodstoupila; syn (1981) zdravý, patogenní sekvenční varianta v genu **IFNGR1** u něj nebyla prokázána.

Závěr: U probandky byla prokázána (MSMD) – dědičná vnímavost k mykobakteriálním infekcím s autosomálně dominantním typem dědičnosti. Jedná se o vzácné onemocnění a správná diagnostika pomáhá cílit terapii a zlepšit tak kvalitu života pacienta.

Cri-du-chat a Wolf-Hirschhornov syndróm - pozoruhodné prípadové štúdie

Pollačeková E.¹, Martineková S.¹, Kantarská D.¹, Chandoga J.², Tomka M.², Sekelská M.³, Hýblová M.³, Křižan P.³

¹Oddelenie lekárskej genetiky, Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

²Univerzitná nemocnica Bratislava

³Medirex a.s., Bratislava

Úvod: Wolf-Hirschhornov (WHS) a Cri-du-chat syndróm sú zriedkavé genetické poruchy s veľmi vážnym dosahom na postihnutého jedinca s obvykle zlou prognózou, ktorá sa odvíja od charakteru a počtu vrodených chýb. Hoci je liečba iba symptomatická, včasný záchyt, diferenciálna diagnostika a cieľená intervencia môžu zlepšiť kvalitu života postihnutých detí.

Metódy: Vzorky periférnej krvi sme kultivovali štandardnými metódami a stimulované lymfocyty podrobili cytogenetickej analýze. Následne boli vzorky zaslané na molekulovú analýzu do externých pracovísk na array CGH a celogenómové sekvenovanie Genome Screen.

Výsledky: V našej prezentácii vám chceme priblížiť dva prípady záchytu parciálnych delécií krátkého ramena chromozómov 4 a 5. Prvý je polystigmatizovaný chlapec s vážnou srdcovou chybou z 1. rizikovej gravidity. Narodil sa 31-ročnej matke, ktorá napriek pozitívnemu nálezu na USG odmietla vyšetrenie plodovej vody. Novorodencovi bola zistená delécia v terminálnej oblasti krátkého ramena chromozómu 4, ktorá zasahuje oblasť s manifestáciou Wolf-Hirschhornovho syndrómu.

Druhý je záchyt z plodovej vody matky v 20. týždni tehotenstva odoslanej na odber pre pozitívny Trisomy test complete. Následnými analýzami bol detegovaný plod ženského pohlavia s diagnostikou dvoch delécií v oblasti krátkého ramena

chromozómu 5 v mozaike. Oblasť je asociovaná s Cri-du-chat syndrómom.

Záver: V prípade Wolf-Hirschhornovho syndrómu ide o prvý záchyt tohto syndrómu na našom pracovisku. Nález je o to ojedinelejší, pretože ide o chlapca a syndróm sa štatisticky vyskytuje dvakrát častejšie u žien ako u mužov. Mozaika dvoch delécií na 5p ramene v prípade Cri-du chat je taktiež raritná. Vznik tejto mozaiky je predmetom našej diskusie.

Genetická diagnostika

Knoblochovho syndrómu u dvoch plodov s mutáciami v géne COL18A1: kazuistika

Purgatová A., Róžová I., Hýblová M., Minárik G., Majerová L., Landlová D., Križan P.

Oddelenie lekárskej genetiky,
MEDIREX, a.s., Bratislava

Knoblochov syndróm je autozómovo recesívne ochorenie, ktoré je spôsobené mutáciami v géne COL18A1. Medzi typické klinické prejavy patria očné abnormality, ako závažná myopia, vitreoretinálna degenerácia či protrúzia skléry alebo sietnice. Okrem toho je charakteristická prítomnosť encefalokély v okcipitálnej oblasti, ktorá je považovaná za patologický prejav. Prezentujeme kazuistiku rodiny, u ktorej bol pri ultrazvukovom vyšetrení dvoch plodov v graviditách probandky v rokoch 2012 a 2015 zistený defekt nervovej rúry v okcipitálnej oblasti mozgu, ktorý bol následne potvrdený patologicko-anatomickým vyšetrením. Vzhľadom na suspektnú anamnézu bolo indikované genetické

laboratórne vyšetrenie s cieľom zistiť genetickú príčinu ochorenia.

Pomocou (cyto)genetických vyšetrení zo vzoriek plodovej vody (QF-PCR a konštitučný karyotyp) sa ani u jedného plodu nezistila chromozómová aberácia v rámci rozlišovacej schopnosti týchto metód. Pre podozrenie na monogénový podklad ochorenia bolo v ďalšom kroku realizované vyšetrenie metódou masívneho paralelného sekvenovania (NGS) tzv. klinického exómu z archivovanej vzorky DNA postihnutého plodu z roku 2015. Detegované boli dva patogénne varianty v géne COL18A1 (c.4054_4055delCT a c.3364_3380delGGCCCCCAGGCCCCC). Následne sa pristúpilo ku segregáčnej analýze variantov v géne COL18A1 u plodu z r. 2012, u oboch rodičov plodu a ich zdravej dcéry.

Vzhľadom na klinickú podobnosť fenotypov u postihnutých plodov a genetické nálezy v géne COL18A1 považujeme zistené mutácie za kauzálne pre manifestáciu ochorenia. Vzhľadom na modelované riziko 25 % rekurencie Knoblochovho syndrómu v prípadnej ďalšej gravidite, bolo rodičom odporúčané preimplantačné, ev. prenatalné genetické vyšetrenie.

Hodnotenie polygénneho rizika u detí s poruchami autistického spektra

Repiská G.¹, Konečný M.^{2,3},
Krasňanská G.^{2,3}, Belica I.¹, Rašková B.¹,
Haramiová J.¹, Janšáková K.¹,
Kelemen M., Ostatníková D.¹,
Lakatošová S.¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave,
Lekárska fakulta, Fyziologický ústav,

Akademické centrum pre výskum autizmu, Bratislava

²Laboratórium genomickej medicíny, GHC GENETICS SK s.r.o., Bratislava

³Ústav biológie a biotechnológie, Katedra biológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave

Autizmus (poruchy autistického spektra – PAS) je neurovývinové ochorenie s nejasnou etiológiou. Genetické faktory sú kľúčové, keďže ochorenie má vysokú heritabilitu a vyššiu konkordanciu u monozygotných dvojčiat v porovnaní s dizygotnými.

Polygénny typ dedičnosti a s ním súvisiace riziko pre vznik komplexného ochorenia, akým je autizmus, možno vyjadriť ako genetickú záťaž spôsobenú zriedkavými DNA variantmi a/alebo polygénnym rizikovým skóre (PRS). PRS zohľadňuje mnohopočetné DNA varianty (SNP) s vysokými populačnými frekvenciami.

V našej štúdii sme sa zamerali na vyhodnotenie PRS na základe kumulácie rizík jednotlivých SNP získaných z doteraz najrozsiahlejšej GWAS štúdie na populácii ľudí s autizmom. Do štúdie bolo zaradených 117 pacientov s PAS, u ktorých bola diagnóza autizmu stanovená v rámci Akademického centra pre výskum autizmu. Súčasťou psychologických vyšetrení bolo stanovenie miery príznakov PAS, IQ, miery narušenia adaptívneho správania a exekutívnych dysfunkcií. Genetické analýzy boli uskutočnené prostredníctvom celoexómového sekvenovania. Algoritmus výpočtu PRS s využitím metódy P-value thresholding umožnil vypočítať päť PRS pre každého pacienta s PAS. Následne bol

stanovený vplyv PRS na variabilitu psychobehaviorálnych parametrov získaných od našich pacientov.

Štúdia bola podporená grantmi APVV-20-0070, APVV-20-0139, VEGA 1/0468/24.

Comparative evaluation of whole-exome library preparation kits and sequencing platforms for next-generation sequencing

Rožánková Z.¹, Žižkovičová P.¹, Jurtiková H.¹, Liznerová B.¹, Drábek J.¹, Hajdúch M.¹

¹Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Institute of Molecular and Translational Medicine, Olomouc, Czech Republic

²University Hospital Olomouc, Laboratory of Experimental Medicine, Olomouc, Czech Republic

Introduction: In the context of massively parallel sequencing, similar to the different sizes of data obtained in whole genome sequencing, protein-coding sequences (WES), or region of interest, different approaches also can cause diversity in the sequencing data obtained. The aim of this study was to compare 5 library preparation and 2 sequencing methods in an attempt to determine whether these parameters cause differences in the quantity and quality of sequencing data.

Methods: Five gDNA samples were involved in this study, input amount was 50–400 ng based on specific LibPrep protocols: Agilent, Twist, KAPA Roche and MGI with different types of probes. Sequencing was performed using Illumina

and MGI platforms. Bioinformatic analysis was performed using an in-house pipeline, and additional quality parameters control steps by FastQC, Qualimap, SAMtools, and BEDtools.

Results: In order to compare sequencing technologies, the quality parameters of raw .fastq files were assessed using the FastQC Parameters show that the quality of data is satisfactory and comparable. WES panel design was compared with three approaches. The coverage analysis was done on 3 levels for all 5 methods – with 3 different .bed files. Roche Kit had the highest on-target percentage of mapped reads and the highest mean coverage. The lowest duplicate rate was shown in Twist Kit. The second approach was Per base coverage analysis, which was calculated using the vendor's .bed file at particular thresholds. Besides Agilent probes, all 3 methods got above 90% of bases covered at 30x. Variant calling analysis of SNVs and INDELs was performed for all methods.

Conclusion: Both sequencing technologies have comparable outputs without significant differences. In term of the LibPrep method, Roche and Twist Kits reports better parameters than competitive kits for our purposes.

Naše první zkušenosti s digitální PCR Ruszová E.¹, Khaznadar Z.²

¹Laboratoř lékařské genetiky jako součást komplementu ²Centrálních laboratoří Fakultní nemocnice Bulovka v Praze, ČR

Digitální PCR (dPCR) se v posledních letech etablovala jako vysoce

citlivá a přesná molekulárně-genetická metoda pro depistáž pacientů s hematologickými onemocněními. V rámci této studie jsme se zaměřili na sledování mutace V617F v genu JAK2, která je zásadní pro diagnostiku, monitoring a hodnocení léčebné odpovědi u myeloproliferativních neoplazií (MPN), zejména polycythemia vera (PV), esenciální trombocytémie (ET) a primární myelofibrózy (PMF).

Cílem práce bylo otestovat dvě nové digitální PCR platformy – Absolute QTM Digital PCR (ThermoFisher) a QIAcuity Digital PCR (Qiagen) – při analýze vzorků z externího hodnocení kvality (UK NEQAS, schéma MPN) pomocí validované TaqManTM liquid biopsy dPCR assay JAK2 (ThermoFisher, č. 12600). Obě platformy vykázaly srovnatelné výsledky při detekci alelového zatížení, včetně nízkých mutačních náloží. Absolute Q systém se vyznačuje vyšší kapacitou, díky 16jamkové MAP destičce, zejména vhodnou pro sledování minimální reziduální nemoci (MRD). Zatímco QIAcuity poskytuje širší možnosti softwarové optimalizace, včetně nastavení expozičních parametrů a přidavku cyklů v reálném čase.

Testování vlivu enzymatického štěpení vysokomolekulární DNA (FastDigest enzymy NdeI + SspI, ThermoFisher) neprokázalo zvýšení citlivosti detekce, což potvrzuje robustnost protokolu ThermoFisher assay bez nutnosti tohoto kroku. Obě platformy prokázaly plnou kompatibilitu s použitou TaqManTM liquid biopsy assay a své specifické výhody, které lze efektivně

využit při MRD i záchytovému screeningu. Digitální PCR tak představuje cenný nástroj pro včasné zachycení molekulárního relapsu a podporu personalizovaného terapeutického rozhodování.

Poděkování: Tato práce vznikla za finanční podpory firem Life Technologies Czech Republic s.r.o. a BioTech a.s.

Optimalizácia analýzy mikrobiómu – porovnávacia štúdia kitov na prípravu NGS knižníc

Sedláčková T.^{1,2}, Zeman M.¹,
Rusňáková D.^{1,2}, Budiš J.^{1,2},
Kajsík M.¹, Szemes T.^{1,2}

¹Vedecký park Univerzity
Komenského, Univerzita Komenského
v Bratislave

²Genetix s.r.o., Bratislava

Úvod: V ostatných rokoch sa analýza mikrobiómu pomocou sekvenovania novej generácie (NGS) stala kľúčovým nástrojom pri skúmaní zloženia a funkcie mikrobiálnych spoločenstiev v rôznych biologických a environmentálnych systémoch. Vzhľadom na to, že ide o komplexný a viacstupňový proces, je nevyhnutné použitie presných a spoľahlivých metód, pričom kľúčovú úlohu zohráva kvalita prípravy knižníc na sekvenovanie.

Metódy: V našej štúdii sme sa zamerali na porovnanie štyroch rôznych komerčne dostupných súprav (kitov) na prípravu NGS knižníc pre analýzu mikrobiómu. Ich testovanie sme realizovali sekvenovaním komerčne dostupných vzoriek, ktoré pozostávali z izolovanej DNA mikrobiálnych komunit v rôznom zastúpení, na platforme Illumina NextSeq

2000. Porovnávali sme schopnosť jednotlivých kitov identifikovať prítomné mikroorganizmy a presnosť merania ich relatívneho zastúpenia.

Výsledky: Pomocou všetkých testovaných kitov bolo možné identifikovať väčšinu mikrobiálnych skupín. Jeden z kitov však preukázal slabšiu schopnosť detegovať mikroorganizmy prítomné v nízkych koncentráciách. Navyše, medzi jednotlivými kitmi boli pozorované významné rozdiely v presnosti merania relatívneho zastúpenia mikroorganizmov. Kit využívajúci počas prípravy knižnice iba jednu PCR reakciu vykázal vyššiu presnosť v porovnaní s ostatnými testovanými kitmi, ktoré používajú dvojkrokový PCR protokol. Najpresnejšia súprava dosiahla detekčný limit kvantifikácie na úrovni 0,1 % relatívneho zastúpenia.

Záver: Výsledky štúdie poukazujú na zásadný význam správneho výberu súpravy na prípravu knižníc pre spoľahlivú a presnú analýzu mikrobiómu. Výber optimálnej metódy môže významne ovplyvniť kvalitu získaných údajov, čo je kľúčové pre interpretáciu mikrobiálnych spoločenstiev v rôznych výskumných a aplikovaných oblastiach.

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja (APVV-23-0601).

STAT1 asociovaná autoimunitní onemocnění – kazuistika diagnostické odysey

Srovnal J.^{1,2}, Kopřiva F.³,
Rožánková Z.¹, Bouchalová K.³,
Pytelová Z.³, Vrtěl P.², Procházka M.²,

Hajdúch M.¹

¹Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, ČR

²Ústav lékařské genetiky, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, ČR

³Dětská klinika, Lékařská fakulta Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, ČR

Úvod: Dráha STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription 1) je nezbytná pro imunitní regulaci a hraje klíčovou roli v autoimunitních procesech. Transkripční faktor STAT1 je aktivován cytokiny, jako jsou interferony (IFN α , IFN β a IFN γ) a další zánětlivé signály. Varianty v genu STAT1 vedou ke spektru imunologických poruch, které se obecně dělí podle jejich vlivu na funkci proteinu.

- STAT1 varianty GOF (Gain-of-Function): Tyto varianty jsou nejčastější genetickou příčinou chronické mukokutánní kandidózy (CMC), onemocnění vyznačujícího se opakovanými infekcemi kůže, nehtů a sliznic způsobenými kandidami. Kromě CMC se u postižených jedinců často objevují autoimunitní projevy a jsou náchylní k bakteriálním a virovým infekcím. Přetrvávající hyperaktivace STAT1 narušuje homeostázu imunitního systému a vytváří zánětlivé prostředí.
- Varianty STAT1 se ztrátou funkce (LOF): Tyto varianty narušují signalizaci interferonu γ i interferonu α/β ,

což predisponuje pacienty k mykobakteriálním infekcím a závažným virovým onemocněním. Varianty STAT1 LOF jsou někdy klasifikovány jako imunodeficiency 31A nebo 31B, v závislosti na rozsahu defektu v interferonové signalizaci.

Výsledky: Prezентujeme případ 10leté dívky s dlouholetou anamnézou opakovaných respiračních infekcí (rýma, opakované otitidy, bronchitidy, pneumonie), opakovaných aftózních stomatitid, hepatopatie, splenomegalie, pozitivních lupusových protilátek a dlouhé diagnostické odyssey.

V rodinné anamnéze je pozoruhodné úmrtí jejího otce ve věku 36 let v důsledku progresivní multifokální leukoencefalopatie. Od dětství trpěl opakovanými respiračními infekcemi, aftózní stomatitidou a byl léčen pro systémový lupus erythematoses.

Celoexomové sekvenování u probandky odhalilo patogenní heterozygotní variantu v genu STAT1 (chr2:190989659 C>A, c.1053G>T; p.Leu351Phe) získanou od otce. Jedná se o GOF variantu korespondující s fenotypem probandky a autozomálně dominantním typem dědičnosti.

Diskuse: Gain-of-function varianty genu STAT1 vedou k hyperaktivaci signalizace STAT1, která je klinicky charakterizována náchylností k chronické mukokutánní kandidóze, opakovaným infekcím, autoimunitním poruchám a chronickému zánětu. Přetrvávající aktivace STAT1 udržuje nadměrnou imunitní aktivitu a přispívá k poškození tkání,

které se projevuje jako systémový lupus erythematoses, revmatoidní artritida či diabetes mellitus 1. typu. Pacienti s GOF variantami STAT1 vykazují komplexní imunologický profil a často vyžadují dlouhodobou léčbu pro zvládnutí infekcí i autoimunitních projevů. Terapeutické strategie mohou zahrnovat antimykotickou a imunosupresivní léčbu a v některých případech cílenou léčbu JAK inhibitory.

Závěr: Tato kazuistika poukazuje na dvojí roli STAT1 při zprostředkování antivirové a antibakteriální obrany a zároveň při modulaci zánětlivých reakcí. Využití pokročilých genomických metod urychluje diagnostický proces a usnadňuje tak přístup pacientů s GOF variantami STAT1 k cílené terapii.

Financování: Tato práce byla podpořena Univerzitou Palackého v Olomouci (LF UP 2025_006), MŠMT ČR (BBMR - LM2023033, NCMG - LM2023067, EATRIS-CZ - LM2018133), OP JAK SALVAGE (CZ.02.01.01/00/22_008/0004644), projekty Evropského fondu pro regionální rozvoj (ACGT2 - CZ.02.01.01/00/23_020/0008555) a projekt Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID projektu č. LX22NPO5102) - financovaný Evropskou unií - Next Generation EU.

Copy Number Variation and Clinical Response to Chemotherapy and Bevacizumab of Czech Metastatic Colorectal Cancer Patients

Stránská J.^{1,2,3}, Bartaková K.¹, Rožanková Z.¹, Kotková L.¹, Vrbková J.¹, Flodr P.³, Jurtiková H.^{1,2,3},

Liznerová B.^{1,2}, Drábek J.^{1,2,3}

¹Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Czech Republic

²Laboratory of Experimental Medicine, University Hospital Olomouc, Czech Republic

³Institute of Clinical and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital, Czech Republic

Introduction: Bevacizumab (Avastin®) is a monoclonal antibody targeting VEGF-A, used to inhibit angiogenesis in metastatic colorectal cancer (mCRC), especially in RAS-mutant cases where anti-EGFR therapies are ineffective. Despite its established role, no validated DNA biomarker predicts its efficacy. While somatic mutations in NRAS, BRAF, and PIK3CA have been explored, they lack predictive value. We propose that somatic copy number variations (CNVs) may serve as relevant biomarkers for bevacizumab response.

Methods: We analyzed tumor samples from 30 mCRC patients treated at University Hospital Olomouc, categorized into poor (PFS ≤ 9 months) and good responders (PFS ≥ 10 months). DNA extracted from FFPE tissues was quantified via qPCR. CNVs were profiled using the OncoScan FFPE Assay Kit based on molecular inversion probe technology. Data were processed using OncoScan Console, R software, and GISTIC 2 for segmentation and significance analysis. Gene functions were annotated using the DAVID database.

Results: Good responders showed amplifications in the 18p11.32 region and deletions in chromosomes 1p36.33, 8p11.22, 10q11.23, 14q32.33, 16p13.3, and 20p12.1. Poor responders exhibited amplifications at 8q24.21, 14q12, and 19q13.2, with no deletions above the threshold. Functional annotation revealed that good response genes were involved in ATPase activity, neuronal signaling, and transcription regulation. Poor responders had amplified genes linked to immune regulation (*IFNL1*, *IFNL2*, *IFNL3*), MAPK signaling (*MAP3K10*, *MAP4K1*), and differentiation (*EID2*, *SIRT2*). Genes like *AGRN*, *MAPK8*, and *ARHGAP22* from good responders have been linked to angiogenesis and treatment resistance, while *DVL1* and *MYC* in poor responders are associated with tumor proliferation.

Conclusion: Our findings suggest that CNVs could serve as predictive biomarkers for bevacizumab efficacy in mCRC. Candidate genes linked to angiogenesis and tumor proliferation merit further validation in larger patient cohorts. These insights may inform more personalized treatment strategies.

Cytogenetika v ére genomiky: keď klasika rozhoduje o diagnóze

Štefeková A., Vrbická D., Čapková P., Trávníčková Š., Curtisová V., Šantavá A., Procházka M.
Ústav lékařské genetiky,
FN Olomouc, ČR

Napriek výraznému nástupu molekulárných metód zohráva cytogenetika naďalej kľúčovú úlohu v diagnostike po-

rúch fertility. Prezentujeme tri kazuis-tiky, v ktorých konvenčná cytogenetika a FISH odhalili klinicky relevantné ná-lezy. V každom prípade bol cytogenetický výsledok rozhodujúci pre interpretáciu klinického obrazu a ďalší manažment pa-cienta. Tieto prípady poukazujú na kom-plementaritu klasických a moderných prístupov a podčiarkujú nezastupiteľný význam cytogenetiky v reprodukčnej genetike.

Molekulárne mechanizmy Zn-NSAID komplexu: Vplyv na mitochondriálnu dysfunkciu v endometriózných bunkách

Tóthová I.¹, Badovská Z.¹, Smolko L.¹, Mikulová V.², Rabajdová M.¹

¹Univerzita Pavla Jozefa Šafárika
v Košiciach, Lekárska fakulta, Ústav
Lekárskej a klinickej biochémie,
Košice

²Univerzita Pavla Jozefa Šafárika
v Košiciach, Lekárska fakulta,
Gynekologicko-pôrodná klinika,
Košice

Úvod: Chronické zápalové stavy reprodukčného traktu vedú k vzniku a progresii prekanceróz benígnych ako aj malígnych patológií. Medzi zápalové estrogén-dependentné ochorenie patrí endometrióza, postihujúca odhadom až 30 % žien v reprodukčnom veku, čím významne prispieva k infertilitě. Chronický zápal je špecifické mikroprostredie charakterizované abnormálnym ROS, ktorý okrem neefektívneho elektrónového prenosu v dýchacom reťazci (ETC) koreluje aj s patologickou Ca²⁺-signalizáciou.

Nesteroidné protizápalové liečivá (NSAIDs), bežne užívané pri liečbe dysmenorey, priamo ovplyvňujú túto signalizačnú dráhu, avšak sú spojené s viacerými nežiaducimi účinkami (gastritída, gastroezofageálny reflux, perforácia a i.). Preto je nevyhnutné študovať nové možnosti využitia potenciálnych látok, ktoré zvýšia terapeutické účinky NSAIDs a zároveň znížia tie nežiaduce. Takýmito adeptami sa javia byť komplexy NSAIDs s biokovmi.

Metódy: V *in vitro* modeloch zdravej (HME1) a endometrióznej (12Z) bunkovej línie bol testovaný vplyv Zn-NSAID komplexu ($[Zn(neo)(nif)_2]$). Hladiny mitochondriálneho vápnika a ROS boli determinované geneticky kódovanými biosenzormi 4mtD3cpv (Ca^{2+}) a mitoHyper7 (H_2O_2) využitím fluorescenčnej mikroskopie. Expresia mRNA MCU, POLRMT a PPARGC1A génov bola stanovená Real Time-PCR.

Výsledky: Analýzou expresie špecifických génov ovplyvnených a neovplyvnených buniek boli determinované štatisticky významné zmeny v línii 12Z a to: zvýšená expresia MCU spojená s hyperaktivitou a mitochondriálnym preplnením vápnikom, zvýšená POLRMT ako aj PPARGC1A odráža adaptáciu bunky na metabolický, energetický a redoxný stres. Rovnako bolo pozorované zvýšenie mitochondriálneho ROS a Ca^{2+} , pravdepodobne v dôsledku mitochondriálneho Caoverloadingu, čo môže byť asociované s apoptotickými dejmi, ktoré $[Zn(neo)(nif)_2]$ vyvolal. V bunkách HME1 bolo signifikantné navýšenie POLRMT expresie, pričom ostatné sledované gény ostali bez významnej zmeny exprimácie

mRNA. Mitochondriálny nárast Ca^{2+} ale nie ROS v bunkách HME1 môže odrážať efektívny ETC a antioxidačnú obranu.

Záver: $[Zn(neo)(nif)_2]$ ovplyvňuje mitochondriálnu homeostázu v endometriózných bunkách zvýšením Ca^{2+} a ROS, vedúcim k zmenám expresie génov súvisiacich s mitochondriálnou funkciou a apoptózou. Výsledky naznačujú jeho potenciál ako menej toxického terapeutika pri estrogén-dependentných zápalových ochoreniach.

Vypracované v rámci APVV-22-0357.

Variant c.811C>T v géne *POU1F1* pravdepodobne vedie k nedostatku hormónov hypofýzy s hypopláziou

Vasil M.¹, Urminská M.¹, Zelinková H.¹, Zemjarová Mezenská R.¹, Bašistová K.¹, Buno V.¹, Ferenczová J.², Kovalčík L.², Doričková A.³, Lukáčová T.⁴

¹Unilabs Slovensko s.r.o., Ambulancia lekárskej genetiky, Humenné

²Detská fakultná nemocnica Košice

³ENDOCARE s.r.o., Humenné

⁴PEDIACARE, Humenné

Úvod: Kombinovaný alebo izolovaný deficit hormónu hypofýzy 1 (CPHD1, MIM: # 613038) je považovaný za zriedkavý. Je spôsobený homozygotnou, zloženou heterozygotnou alebo heterozygotnou mutáciou v géne *POU1F1* (MIM: 173110) na chromozóme 3p11. Autori opisujú nález u 18-mesačného dievčatka, u ktorého bol zistený pravdepodobne *de novo* vzniknutý variant c.811C>T v géne *POU1F1* v heterozygotnom stave.

Materiál a metódy: U pacienta (T.T.) bola z extrahovanej DNA uskutočnená NGS panelová analýza 400 génov

v spojitosti so skeletálnou dyspláziou. Metódou

NGS (Illumina, NextSeq550) s využitím hybridizačného riešenia (Illumina, DNA Prep with Enrichment, TruSight One Expanded) bol cielene obohatený a sekvenovaný klinický exóm (CES) vyšetrovaného jedinca, pričom daný CES je špecifikovaný regiónmi záujmu (ROI) určenými výrobcom. Analýza bola následne obmedzená na vybrané gény so zohľadnením ich kódujúcich a príslušných zostrihovo-relevantných oblastí (min. -5/+5). Sekvenčné knižnice prešli kontrolou kvality... Získané sekvenčné dáta boli bioinformaticky analyzované softvéromi Illumina bcl2fastq v2.20 a Emedgene Analyze (Illumina) s využitím referenčného genómu *Homo sapiens* (GRCh38) a databázy RefSeq.

Výsledky: Fyzikálne vyšetrenie: pacient T.T. (18 mesiacov). Pôrodná hmotnosť: 2 910 g, dĺžka 48 cm. Výška pri vyšetrení (18. mesiac): 68 cm. Hmotnosť 6 300 gr. Dieťa pokojné, hravé. Postava eutrofická. Hlava dolichocefalická s vypuklým čelom. Prítomný hypertelorizmus. Konvergentný strabizmus vľavo. Epikantus. Skrútený chrbát nosa, antevertované nostrily. Dlhšie philtrum. Užšia ústna štrbina. Užšia dolná pera. Pulmo: dýchanie bez prídavných fenoménov. Cor: akcia pravidelná, ozvy ohraničené. Bruško bez patologickej rezistencie. Končatiny sú bez deformít.

NGS nález: Pravdepodobne patogénny variant c.811C>T v géne POU1F1.

Segregačná analýza: U matky (T.T.) probandky nepotvrdzujeme prítomnosť

variantu c.811C>T p.(Arg271Trp) v géne POU1F1. U otca (T.D.) probandky nepotvrdzujeme prítomnosť variantu c.811C>T p.(Arg271Trp) v géne POU1F1.

Metóda vyšetrenia: Priame sekvenovanie na analyzátoch ABI PRISM 3130XL

MRI: hypoplázia hypofýzy vs. vrodená, bez deštrukcie selly a intraselárnych štruktúr. Nešpecifické demyelinizačné lézie supratentoriálne vs. v štádiu chronifikácie, bez nálezu demyelinizačných lézií infratentoriálne.

Endokrinologicky: nízky vzrast, hypopituaitarizmus – deficit rastového hormónu, prolaktínu a TSH.

Diskusia: Kombinovaný alebo izolovaný deficit hormónu hypofýzy 1 (CPHD1) je spôsobený homozygotnou, zloženou heterozygotnou alebo heterozygotnou mutáciou v géne POU1F1 (MIM: 173110) na chromozóme 3p11 (MIM: # 613038). Našej malej pacientke sa začala venovať pozornosť po stanovení vrodenej hypotyreózy na novorodeneckom oddelení. Následným sledovaním boli zistené znížené hodnoty TSH, prolaktínu rastového hormónu a IGF1 faktora. V spojitosti so zníženou hodnotou IGF1 a fenotypom podobným Laronovému syndrómu sme venovali zvýšenú pozornosť génom IGF1, GHR a STAT5B, odchýlky od normy sme nenašli. Pri Laronovom syndróme bývajú hodnoty rastového hormónu v norme alebo môžu byť zvýšené (Orphanet, 2025; Vasil M; Baxova A; Kozlowski K.; 1994).

Variant c.811C>T p.(Arg271Trp) v géne POU1F1 bol opísaný v heterozygotnom stave u pacientov s kombino-

vanou deficienciou hormónov hypofýzy, rastovou retardáciou a špecifickými črtami tváre, v jednej rodine však boli reportovaní aj asymptomatickí prenášači pre daný variant, čo môže naznačovať jeho neúplnú penetranciu (PMID: 1472057, 7833912, 7852536, 9392392, 9588494, 9829213, 15928241, 23397938). Patogenita variantu je podporená aj funkčnými štúdiami (PMID: 1509262, 16263824) a tiež skutočnosťou, že nebol zaznamenaný v populačnej databáze gnomAD. V databáze patogénnych variantov HGMD Professional je variant vedený ako patogénny, v klinickej databáze ClinVar ako variant s nejasným klinickým významom a tiež ako patogénny. Je možné zohľadniť ACMG kritériá PS3, PM1, PM2, PP2, PP3 a PP5 a klasifikovať variant ako pravdepodobne patogénny. Rodičia sú normálneho vzhľadu: otec 172 cm, matka 170 cm. Tým, že sme uvedený variant nenašli u rodičov probandky predpokladáme, že môže ísť o mutáciu *de novo* s autozomálne dominantným charakterom účinku. Probandka je v starostlivosti endokrinológov a užíva lieky (Euthyrox a Somatotropín). Vhodné je ďalšie sledovanie pacienta.

Záver: Autori opisujú nález u dievčatka, ktoré vo veku 18 mesiacov bolo vysoké 68 cm a vážilo 6 300 gramov. Prítomná bola tiež stigmatizácia tváre: vypuklé čelo, dolichocefália, znížená stredná časť tváre, mierny hypertelorizmus, epikantus, kratší chrbát nosa, antevertované nostrily, konvergentný strabizmus. Stav doprevádzajú znížené hodnoty rastového hormónu, prolaktínu

a TSH. Autori predpokladajú, že na ťažkostiach sa podieľa *de novo* vzniknutý variant c.811C>T v géne POU1F1 (MIM: # 613038).

Atypická trizómia chromozómu 14

Verchovodková V.¹, Tóthová K.¹, Róžová I.², Horváth M.², Kozmér C.¹, Hercegová A.¹, Ondreičková V.¹, Landlová D.^{1,2}, Križan P.²

¹Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex, a.s., Bratislava

²Lekárska genetika, Gyncare, a. s., Bratislava

Vyvážená translokácia jedného z rodičov predstavuje významnú chromozómovú aberáciu s potenciálnym vplyvom na vývoj plodu. Napriek absencii fenotypových prejavov u nosičov môže počas meiózy dôjsť k tvorbe gamét s nevyváženým zastúpením genetického materiálu. Fertilizácia takýchto gamét môže viesť k vzniku embryí s parciálnymi deléciami alebo duplikáciami, čo zvyšuje riziko spontánnych abortov, intrauteriných vývojových porúch alebo vzniku genetických syndrómov u plodu.

Prezentujeme prípad pacientky odoslanej do ambulancie lekárskej genetiky vzhľadom na patologický výsledok NIPT (Trisomy test základný: vysoké riziko duplikácie 14q11.2-q24.3 o veľkosti 54,08 Mb). Probandka sa rozhodla pre NIPT kvôli výsledku sérum-integrovaného prvo-druho-trimestrového biochemického prenatalného skriningového vyšetrenia, ktorým sa u plodu zistilo vysoké riziko trizómie 21 chromozómu (T21=1:55).

V prvom kroku sme metódou QF-PCR zo vzorky plodovej vody vylúčili najčastejšie aneuploidie. Pokračovali sme cytogenetickým vyšetrením, stanovením konštitučného karyotypu, ktorým sme zistili patologický ženský karyotyp 47,XX,+der(14)t(12;14)(q24.31;q24.3). Ide o parciálnu trizómiu chromozómov 12 a 14.

Následne sme cytogenetický nálež spresnili celogenómovým sekvenovaním s nízkym pokrytím (Genome Screen). Vyšetrením sme u plodu potvrdili duplikáciu chromozómovej oblasti 12q24.31-q24.33 (veľkosti 8,320,000 bp) a súčasne duplikáciu chromozómovej oblasti 14q11.2-q24.3 (veľkosti 53,360,000 bp).

Morfologickým ultrazvukovým vyšetrením sa u plodu zistil patologický nálež: vrodené vývinové chyby viacerých orgánov a rastová retardácia.

Následne sme uskutočnili cytogenetické vyšetrenie oboch rodičov s cieľom zistiť dedičnosť nálezu u plodu. Cytogenetická a FISH analýza odhalila vyváženú translokáciu u matky – 46,XX,t(12;14)(q24.31;q24.3).

Zachytená neštandardná forma trizómie 14 s parciálnou trizómiou chromozómov 12 a 14 u plodu vznikla následkom balansovanej translokácie u matky. Identifikácia translokácií pomocou cytogenetickej analýzy a genetická konzultácia sú v takýchto prípadoch nevyhnutné pre adekvátne hodnotenie reprodukčného rizika páru, ako aj pre zabezpečenie optimálnej predkoncepčnej a prenatalnej starostlivosti.

A novel approach to confirm genetic variants with potential phenotypic impact by amplicon massive parallel sequencing from data obtained by whole genome sequencing in patients with Parkinsonism

Vodička R.¹, Kolaříková K.¹, Vrtěl R.¹, Menšíková K.², Kaňovský P.², Ismail H.¹

¹Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc, Czech Republic

²Department of Neurology, University Hospital Olomouc, Czech Republic

Introduction: High-throughput next-generation sequencing (NGS) analyses can be categorized by genome coverage into targeted, whole-exome (WES), and whole-genome sequencing (WGS). WGS generates the largest volume of data, often identifying millions of variants, dozens of which may have clinical relevance. In this study, we obtained WGS data from 86 unique DNA samples from an isolated population in the Hornacko region (South-Eastern Moravia, Czech Republic), known for a higher familial burden of Parkinsonism.

Aim of the study: To design and assess the time and DNA amount efficient approach enabling independent verification of WGS findings.

Method: To verify selected WGS variants, we developed a strategy based on multi-amplicon massively parallel sequencing of DNA sample mixtures. This approach would be time and DNA amount efficient, enabling independent

verification of WGS findings. Using Varsome Clinical phenotype filtering for Parkinsonism and ACMG criteria for pathogenicity. Total 311 variants were selected and successfully designed by Ion AmpliSeq™ Custom Panels using 290 amplicons. DNA from all 86 samples was normalized, pooled into 16 DNA mixtures, and processed using the Ion Chef™ System for automated library preparation. Sequencing was performed on the Ion S5™ platform. Target coverage and sequencing quality were evaluated using Torrent Suite Software, and variant presence was analyzed in IGV.

To assess the method reliability, we also have co-sequenced 20 variants by Sanger sequencing.

Results: A total of 264 variants were successfully and validly assessed, of which 242 were confirmed. Thirty-six indels larger than 12 bp and five highly homopolymeric regions could not be evaluated using this method. The selected variants were consistent with Sanger sequencing results.

Conclusion: This method proved to be a suitable alternative to Sanger sequencing for large-scale variant verification in WGS data, particularly when DNA quantity and quality is limited. It offers a robust and efficient strategy for validating clinically relevant variants in studies of Parkinsonism and other genetically complex diseases.

Study was supported by MH CZ-DRO (FNOL, 00098892) and by Palacky University Medical School Internal Grant Agency IGA_LF_2025_019

Exómové sekvenovanie – cesta vedúca k skorej diagnóze

Vogelová S.¹, Petříková M.¹, Konečný M.^{2,3}, Krasňanská G.², Eliáš V.²

¹Ambulancia lekárskej genetiky, GHC Genetics SK, s.r.o., Poliklinika Klokočina, Nitra

²Laboratórium genomickej medicíny, GHC Genetics SK, s.r.o., Vedecký park UK, Bratislava

³Ústav biológie a biotechnológie, Oddelenie biológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave

Dieťa ženského pohlavia rodené s palatoschízou mäkkého podnebia, s FoA a trikuspidálnou insuficienciou, s faciálnou dysmorfiou a arachnodaktýliou na horných aj dolných končatinách, vo veku 2 mesiacov vyšetrené klinickým genetikom. U pacientky suponovaná neonatálna forma Marfanovho syndrómu, indikovaná molekulárno-genetická analýza asociovaných génov. Masívnym paralelným sekvenovaním génov klinického exómu detegovaný patogénny variant c.1534_1535insC v gène SATB2 v heterozygotnom stave, Marfanov syndróm DNA analýzou nepotvrdený. Vo veku 3 rokov na základe rozvinutej fenotypovej manifestácie u dievčatka definitívne stanovený GLASS syndróm. GLASS syndróm – zriedkavé multisystémové ochorenie charakterizované globálnym vývojovým zaostávaním, dominujúcou poruchou reči, intelektovým postihnutím, neurobehaviorálnou patológiou, kraniofaciálnymi a orálnymi abnormalitami.

Prezentáciou prípadu poukazuje-me na potrebu exómového sekvenovania u detí s nešpecifickou fenotypovou manifestáciou poukazujúcou na syndrómové genetické ochorenie.

Karyotyp kostní dřeně jako metoda první volby u myeloproliferací

Vrba D.¹, Bednářová D.¹, Malinová N.¹, Kopsová L.¹, Pelková J.²

¹Laboratoř molekulární diagnostiky a cytogenetiky, Krajská nemocnice T. Bati, a.s., Zlín, ČR

²Hematologicko-transfúzní oddělení, Krajská nemocnice T. Bati, a.s., Zlín, ČR

Představujeme rutinní případ pacientky, ročník narození 1941, u které bylo požadováno vyšetření karyotypu z buněk kostní dřeně. Indikující hematolog měl podezření na myeloproliferativní onemocnění, z dřívějších vyšetření byla vyloučena přítomnost fúzního genu BCR::ABL1 a mutací v genech JAK2 a CALR. Při hodnocení mitóz z buněk kostní dřeně byl prokázán komplexní karyotyp včetně přítomnosti Ph chromozomu. Na základě tohoto zjištění bylo doporučeno znovu vyšetřit pacientku metodou PCR na přítomnost fúzního genu BCR::ABL1, která nakonec potvrdila méně častou variantu mikro (e13). Tímto chceme upozornit na důležitost pravidelného testování onkologických markerů v rámci suspektních diagnóz u onkologických pacientů a na sledování všech, i méně častých, variant genomu. Jako velmi důležitá se rovněž jeví poslopnost jednotlivých indikovaných vyše-

tření, kdy zlatým standardem zůstává karyotyp nádorové buňky, který by měl být mezi prvními vyšetřeními.

Pane, vy jste Turnerka?! – kazuistika
Vrbická D., Štefeková A., Čapková P., Trávníčková Š., Petřková J.
ÚLG FNOL Olomouc, ČR

Pacient přichází pro kardiopatii. U pacienta bylo zahájeno genetické vyšetření. Vyšetření microarray odhalilo mozaiku arr[GRCh37] (1-22)x2(X)x1/(1-22)x2(X,Y)x1 mos. V karyotypu byla zjištěna zanedbatelná mozaika a FISH z periferní krve odhalila 20 % gonozomální mozaiku.

První fatální prenatalní manifestace deficitu adenylosukcinát lyázy způsobená novou unsense variantou v genu ADSL

Zikánová M.¹, Klapperich A.², Karakaya M.³, Mrázová L.¹, Trešlová H.¹, Stránecký V.¹, Škopová V.¹

¹Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN, Praha, ČR

²MVZ Humangenetik Köln, Germany

³Institute of Human Genetics, University of Cologne, Germany

Deficit adenylosukcinátlyázy (ADSL) je vzácná vrozená porucha metabolismu purinů, která se projevuje neurovývojovým postižením. Patogenní varianty v genu ADSL vedou k nízké aktivitě enzymu ADSL a následnému hromadění sukcinylpurinů, k porušení formování purinosomu a způsobují různé stupně

závažnosti fenotypu. Dosud však nebyla popsána žádná patogenní unsense varianta v ADSL ani fatální prenatální manifestace tohoto onemocnění.

Exomové sekvenování bylo provedeno u plodu s četnými vrozenými anomáliemi, včetně intrauterinního růstového opoždění (IUGR), podezření na svalovou atrofii, artrogrypózy, hypoplasie mozečku, polyhydramnie a suspektní kardiomegalie. Kvůli závažnosti fenotypu rodiče rozhodli o ukončení těhotenství ve 24. týdnu.

Analýza fetální DNA odhalila nejčastější patogenní missense variantu ADSL (NM_000026.4): c.1277G>A p.(Arg426His) na otcovské alele a variantu c.597G>A p.(Lys199=) na mateřské alele, která se na základě genetického kódu jevila jako synonymní. Predikční software SpliceAI naznačil, že varianta c.597G>A by mohla vést k aberantnímu sestřihu, proto byla sekvenována RNA. U matky byla potvrzena přítomnost alternativního sestřihového produktu ADSL c.597_654delinsA p.(Gly200_Lys218del) v množství menším než 20 %, přičemž na zbývající mutované alele pravděpodobně dochází k NMD. Aktivita enzymu ADSL v periferních mononukleárních buňkách (PBMC) rodičů byla významně snížena oproti kontrolám. RNA ani PBMC plodu nebyli k analýze k dispozici.

Potvrdili jsme, že varianta c.597G>A, která se podle genetického kódu jeví jako synonymní, ve skutečnosti způsobuje funkčně významnou poruchu sestřihu vedoucí k NMD. Snížená aktivita

ADSL u rodičů podporuje patogenní roli této varianty. Výsledky naznačují, že i zdánlivě synonymní varianty by měly být pečlivě analyzovány při hledání genetických příčin poruch s nespecifickými klinickými projevy, jako je například deficit ADSL.

Tato práce vznikla za podpory projektu Ministerstva zdravotnictví ČR AZV NU23-01-00500 a projektu MULTIOMICS_CZ (Operační program Jan Amos Komenský, Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, reg. č. CZ.02.01.01/00/23_020/0008540) – Spolufinancováno Evropskou unií.

Piatok 10. 10. 2025

Onkogenetika a onkogenomika

Optické mapování genomu akutních myeloidních leukémií (AML): nové pohledy na strukturní varianty a jejich klinický význam

Jarošová M., Kotašková J., Ondroušková E., Bohúnová M., Bryjová L., Čábelová K., Šmejkal J., Šmuhařová P., Ježíšková I., Žanetová M., Weinbergerová B., Bezděková Fillerová R., Pospíšilová Š., Mayer J.

Centrum molekulární biologie
a genetiky IHOK FN a LF Brno, ČR

Základem diagnostiky a prognostické stratifikace nemocných s akutní

myeloidní leukémií (AML) je analýza nádorového genomu. Jednou z moderních metod umožňujících komplexní analýzu genomu na úrovni DNA je optické mapování genomu (OGM), které využívá neamplifikované, ultradlouhé molekuly DNA. Tato metoda analyzuje molekuly DNA o délce 250–350 kbp, na nichž jsou fluorescenčně značeny specifické 6bp sekvenční motivy (CTTAAG). Označená a linearizovaná DNA je analyzována pomocí specializovaného zobrazovacího systému, jenž zaznamenává pozici jednotlivých značek na každé moleculé a výsledkem je digitální záznam signálního vzoru – tzv. optická mapa DNA, která je následně porovnávána s referenčním lidským genomem (HG19 nebo HG38). Vizualizace výsledků probíhá ve specializovaném softwaru Access (Bionano). Metoda OGM umožňuje detekci počtu kopií, strukturních aberací, včetně balancovaných translokací a ztráty heterozygotnosti (LOH).

V tomto sdělení budeme prezentovat výsledky analýzy provedené metodou OGM u 20 pacientů s AML. DNA pro OGM byla izolována z buněk kostní dřeně (ŽŽ/13M, median věku 70 let) nemocných, diagnostikovaných na Interní hematologické a onkologické klinice FN Brno v letech 2022–2025. V souboru bylo 8 nemocných s normálním a 12 nemocných s abnormálním karyotypem. Nemocní byli vyšetřeni metodami FISH, aCGH a cíleným NGS panelem.

Metodou OGM byl normální nález potvrzen pouze u 3 nemocných, u 17 nemocných byly potvrzeny všechny změny

určené v klasických metodách a navíc OGM odhalilo další změny, které konvenčními metodami nebyly pozorovány. U čtyř nemocných odhalilo OGM ztrátu homozygotnosti. OGM upřesnilo nálezy u nemocných s komplexním karyotypem, určilo přesná zlomová místa a geny v nich lokalizované a u 3 nemocných OGM odhalilo inserce v genu KMT2A a vznik PTD. Celkem 4 nemocní na základě nálezů OGM byli zařazeni do nové prognostické kategorie.

Naše výsledky ukazují, že metoda OGM přináší významné informace doplňující klasická cytogenomická vyšetřením, zvyšuje rozlišovací schopnost při detekci strukturních změn a může přispět ke zpřesnění diagnostiky, prognózy i výběru optimální léčebné strategie u pacientů s AML.

Práce je podporována grantem MZ-CR RVO 65269705.

Optické mapování genomu (OGM) jako pokročilý nástroj pro analýzu prostorové a klonální heterogenity glioblastomů

Lizcová L.¹, Lhotská H.¹, Hodaňová L.¹, Pavlišťová L.¹, Konečná D.², Soukup J.³, Netuka D.², Zemanová Z.¹

¹Centrum nádorové cytogenomiky ÚLBD VFN a 1. LF UK v Praze, ČR

²Neurochirurgická a neuroonkologická klinika 1. LF UK a ÚVN Praha, ČR

³Oddělení patologie 1. LF UK a ÚVN Praha, ČR

Glioblastomy (GBM) jsou nejčastější primární nádory mozku, které

se vyznačují rozsáhlou genetickou komplexitou a extrémně nepříznivou prognózou. Klíčovým znakem GBM je výrazná inter- a intra-tumorová heterogenita, která podporuje evoluci geneticky odlišných subklonů, přispívajících k rezistenci na léčbu a recidivě onemocnění. V rámci studia nádorové heterogenity jsme metodou optického mapování genomu (OGM) analyzovali vzorky odebrané ze tří různých oblastí nádorové tkáně (centrální oblast, okraj 1, okraj 2) od tří pacientů (dvě ženy, jeden muž) s histopatologicky potvrzeným GBM.

U všech tří pacientů jsme v diagnostických vzorcích metodami I-FISH, MLPA a MS-MLPA potvrdili aberace typické pro GBM, tj. trisomii chromosomu 7, monosomii chromosomu 10, mutace v genu *TERT* a hypermetylace promotoru genu *MGMT*. Následná pokročilá celogenomová analýza kryptických aberací metodou OGM odhalila ve třech různých vzorcích z každého nádoru další komplexní intra- a interchromozomální přestavby.

U dvou pacientů jsme pozorovali významnou genetickou diverzitu mezi centrálními a okrajovými oblastmi nádoru. V prvním případě šlo převážně o aberace spojené s CNVs, zahrnující delece a duplikace s variabilním rozsahem a distribucí mezi analyzovanými oblastmi. Ve druhém případě byly ve všech třech vzorcích přítomny nejen CNVs, ale i široká škála inter-chromosomových přestaveb. Naproti tomu u třetího pacienta nebyly aberace přítomné v centrální oblasti nádoru detekovány

v okrajových vzorcích, což naznačuje možný odběr nenádorové tkáně. Všechny nově identifikované aberace detekované metodou OGM byly unikátní pro jednotlivé nádory.

Naše výsledky ukazují, že navzdory sdíleným diagnostickým markerům vykazují GBM značnou genomovou variabilitu jak mezi jednotlivými nádory, tak v rámci jednoho nádoru. OGM umožňuje detailní charakterizaci této komplexity a identifikaci regionálně specifických genetických změn, které mohou ovlivňovat klonální evoluci a rezistenci na léčbu. Důkladné pochopení inter- a intra-tumorové heterogenity je zásadní pro vývoj cílených a adaptivních terapeutických strategií s potenciálem zlepšit prognózu pacientů s GBM.

Podpořeno granty MZ ČR RVO-VFN64165 a AZV-NU21-04-00100.

Éra genetiky v skríningu karcinómu krčka matrice: HPV testovanie ako nový štandard

Alemayehu A.

Oddelenie lekárskej genetiky,
Onkologický ústav sv. Alžbety,
Bratislava

Skríning karcinómu krčka matrice prešiel v posledných desaťročiach zásadnou transformáciou. Od éry konvenčnej cytológie, ktorá dlhé roky tvorila základ preventívnych programov, sme sa posunuli k využívaniu molekulárnych metód, ktoré umožňujú detekciu kauzálnych príčin vzniku prekancerózných lézií ešte pred objavením klinických príznakov.

Zavedenie testovania vysokorizikových typov ľudského papilomavírusu (HR-HPV) ako primárnej skriningovej metódy výrazne zvyšuje senzitivitu skriningu a umožňuje bezpečné predĺženie intervalov medzi vyšetreniami. Ďalšie analýzy ako genotypizácia HPV, testy zamerané na expresiu vírusových onkogénov a testovanie hypermetylácie vybraných bunkových génov napomáhajú pri odhade rizika progresie infekcie do invazívneho karcinómu, čo otvára priestor pre efektívnejší, personalizovaný manažment pacientok. Prednáška bude zameraná na praktické využitie týchto genetických metód v klinickej praxi a ich integráciu do moderných preventívnych stratégií.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Roche. Spoločnosť Roche žiadnym spôsobom nezahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

Komplexné genetické testovanie a jeho prínos pre pacientov s nádormi kolorekta

Závodná K.¹, Mešinová S.^{1,2}, Šebest L.¹, Svoboda M.¹, Slamka T.¹, Kostrábová A.¹, Dolešová L.¹, Krascsenitsová E.¹, Lohajová Behulová R.¹

¹Oddelenie lekárskej genetiky, Ústav laboratórnej medicíny, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

²Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF a UNB, Univerzita Komenského, Bratislava

Kolorektálny karcinóm (CRC) patrí medzi najčastejšie príčiny mor-

bidity a mortality na celom svete, pričom v incidencii zaujíma druhú priečku u žien a tretiu u mužov. Krajiny strednej Európy majú najvyššiu incidenciu kolorektálneho karcinómu (CRC) na svete, pričom tento nádor je jednou z najčastejších príčin úmrtí v regióne. CRC možno charakterizovať ako hereterogénne ochorenie, ktoré je asociované s množstvom genetických a epigenetických zmien.

Rozvoj metód molekulárnej biológie – predovšetkým masívneho paralelného sekvenovania (MPS), prináša možnosti otestovať v pomerne krátkom čase široké spektrum génov na germinatívnej, ale aj na somatickej úrovni (tzv. komplexné genetické profilovanie tumoru (CGP)). Identifikácia genetických variantov umožňuje nastaviť pacientom čo najefektívnejšiu systémovú a chirurgickú liečbu, stratifikovať riziko a predĺžiť celkové prežívanie pacienta.

Cieľom prednášky je poukázať na vybrané kazuistiky, kde testovanie germinatívnych aj somatických mutácií poskytlo hlbší a komplexnejší pohľad na daných pacientov v porovnaní s predchádzajúcimi prístupmi. Predpokladáme, že takýto prístup do budúcnosti prispeje k objasneniu genetickej podstaty vzniku nádoru u pacientov, ktorí by ostali v minulosti nedoriešení. Ďalším prínosom je možnosť lepšie charakterizovať nádor a nastaviť pre pacientov s kolorektálnym karcinómom najvhodnejšiu terapiu a manažment.

Využitie exón-proximálnych prób pri komplexnej diagnostike hereditárnych nádorových syndrómov

Farkašová A.¹, Gančarčíková M.¹, Elblová L.², Forgáčová L.¹, Malá T.², Morávková P.¹, Pavlíková L.¹, Hyšpler R.¹

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové, ČR

²Oddělení lékařské genetiky, Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové, ČR

Úvod: Komplexná diagnostika hereditárnych nádorových syndrómov (ďalej HNS) je založená na kombinácii techník umožňujúcich detegovať jednonukleotidové varianty (tzv. SNPs) aj rozsiahle rekurentné aberácie, zahŕňajúce zmeny počtu kópií (tzv. CNVs) jednotlivých exónov, príp. celých génov. Klasickým prístupom v diagnostike je kombinácia techniky masívneho paralelného sekvenovania (MPS) a multiplexnej ligačne závislej amplifikácie (MLPA/digitalMLPA).

Metódy: Na analýzu vzoriek pacientov spĺňajúcich indikačné kritériá pre testovanie HNS sme využili prístup target enrichment NGS s využitím SureSelectXT HS (Agilent) a custom design prób obohatený o tzv. exón-proximálne próby. Sekvenácia prebiehala na platforme DNBSEQ-G400 (MGI), sekundárna a terciálna analýza sa uskutočňo-

vala pomocou softvéru VarsomeClinical (Saphetor) a vlastnej bioinformatickej pipeline (Ref. Human Genome GRCh38.p14/hg38). Detegované CNVs v rámci bioinformatickej analýzy NGS boli konfirmované nezávislými metódami (digitalMLPA/MLPA/ArrayCGH).

Výsledky: V období 09/2024 – 06/2025 sme vyšetrili vzorky 401 pacientov s diagnózou HNS. Abnormálny nález bol detegovaný u 131/401 (32,7 %), pričom SNPs tvorili 123/401 (30,7 %) a CNVs 14/401 (3,5 %). Pri CNVs prevažovali delécie nad duplikáciami (10 vs. 4). Najčastejšie CNVs boli detegované v génoch BRCA1 a CHEK2. Pomocou tohto prístupu sme však detegovali aj aberácie v génoch, pri ktorých nie sú dostupné MLPA probemixy, ako napr. delécia exónu 1 v géne EPCAM, delécia exónov 32-33 v géne WRN či delécia exónov 2-9 v géne FANCE, ktoré sú asociované s nádorovým ochorením. V rámci custom designu sme ďalej detegovali rozsiahlu duplikáciu exónov 17-19 v géne DPYD, ktorá je asociovaná so zvýšeným rizikom toxicity u onkologických pacientov liečených 5-FU.

Záver: Využitie exón-proximálnych prób pri detekcii rozsiahlych rekurentných aberácií sa v súčasnosti javí ako vhodná alternatíva k použitiu metódy MLPA/digitalMLPA. Umožňujú zvýšiť senzitivitu detekcie CNVs, znížiť falošne negatívne a falošne pozitívne výsledky a dovoľujú tiež analýzu oblastí génov, pre ktoré nie sú dostupné MPLA probemixy. Zároveň vedia zrýchliť a rozšíriť panel génov a poskytnúť tak komplexnejší výsledok za kratší vyšetrovací čas.

Zlepšovanie klinických rozhodnutí pomocou rýchleho genómového profilovania: OCA + na Genexus

Držík F.

Thermo Fischer Scientific

Rýchle napredovanie technológií v oblasti sekvenovania novej generácie (NGS) revolučným spôsobom mení oblasť genomického profilovania a umožňuje komplexnú analýzu genetických zmien súvisiacich s rakovinou. Komplexný test Oncomine Comprehensive Assay Plus (OCA+) na platforme Genexus ponúka efektívne riešenie pre komplexné genomické profilovanie (CGP) s výsledkami už na druhý deň, ktoré poskytuje dôležitý základ pre personalizovanú terapiu a včasný manažment ochorenia.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

Výhody a ústrania analýzy tekutej biopsie v precíznej onkológii

Šebest L., Mešinová S., Závodná K., Alemayehu A., Lohajová Behulová R. Oddelenie lekárskej genetiky, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

Precízna onkológia je založená na cielej liečbe pacientov s nádorovými ochoreniami na základe molekulárnych charakteristík ich nádoru. Kľúčom k úspechu je správna identifikácia terapeuticky relevantných genetických zmien. Štandardnou metódou zostáva

analýza tkanivových FFPE biopsií, avšak najmä pri relapsoch alebo pokročilých štádiách ochorenia môže byť odber tkaniva komplikovaný, invazívny alebo nepostačujúci.

Oddelenie lekárskej genetiky OÚSA preto v rámci rozšírenia diagnostických možností zaviedlo aj rutinné využívanie tekutej biopsie (liquid biopsy, LB), konkrétne analýzu cirkulujúcej nádorovej DNA (ctDNA) z periférnej krvi.

Táto metóda umožňuje flexibilné a opakované testovanie pacientov počas liečby, čo zlepšuje rozhodovanie o terapeutických stratégiách. Zvlášť významné je využitie ctDNA na identifikáciu sekundárnych rezistentných mutácií, ako napríklad EGFR T790M u pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc po liečbe EGFR inhibítormi prvej generácie, alebo mutácií v géne ESR1 u pacientok s hormonálne pozitívnym karcinómom prsníka počas endokrinnnej liečby.

Na OLG OÚSA rutinne analyzujeme ctDNA u pacientov s karcinómom kolorekta, prsníka a pľúc, pričom sa zameriavame na mutácie v génoch KRAS, NRAS, BRAF, EGFR a ESR1. Okrem toho sme v roku 2025 zaviedli aj monitorovanie minimálnej reziduálnej choroby (MRD) pomocou vysoko senzitívnych metód, akými je masívne paralelné sekvenovanie.

Vzhľadom na to, že koncentrácia ctDNA môže byť nízka a variabilná v závislosti od typu nádoru a štádia ochorenia, liquid biopsy nie je univerzálnym riešením. Liquid biopsy zohráva kľúčovú úlohu najmä v situáciách, keď dochá-

dza k progresii ochorenia a je potrebné rozhodovať o retreat, rechallenge alebo zohľadniť zmenu mutačného profilu pod selekčným tlakom predchádzajúcej liečby. V takýchto prípadoch umožňuje rýchlu a neinvazívnu identifikáciu nových alebo sekundárnych mutácií, ktoré by pri jednorazovej tkanivovej biopsii zostali nepovšimnuté.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

Genetika a genomika (varia)

Extracelulárna DNA pri reumatoidnej artritíde – dôsledok, či príčina?

Celec P., Macáková K., Šteňová E., Vlková B.

Ústav molekulárnej biomedicíny,
Lekárska fakulta UK, Bratislava

Reumatoidná artritída je spojená s vyššou extracelulárnou DNA. Táto pochádza zo zápalového procesu a naše opakované štúdie dokázali, že protizápalová biologická liečba ecDNA znižuje. Dokonca pokles je spojený s dobrou odpoveďou, zatiaľ čo jej chýbanie je markerom slabšej odpovede na liečbu. To ale automaticky neznamena, že ecDNA nemá význam priamo v patogenéze RA. Kauzalitu môžu overiť len intervenčné experimenty. V animálnych modeloch RA sme ukázali, že odstraňovanie ecDNA neovplyvňuje priebeh artritídy ani v terapeutickú, ani v preventívnu apli-

kácii. Avšak blokovanie tvorby ecDNA vo forme extracelulárnych pascí neutrofilov výrazne znížilo závažnosť artritídy u myši. Interpretujeme to ako indíciu, že pre animálny model RA a možno aj pre klinickú RA je dôležitá ecDNA rezistentná voči nukleázam. Akú má formu a čím je chránená nie je jasné, podobne ako význam týchto výsledkov pre liečbu, či prevenciu RA.

Extracelulárna DNA a deoxyribonukleázová aktivita

Vlková B., Macáková K., Tóthová N., Janovičová L., Celec P.

Ústav molekulárnej biomedicíny,
Lekárska fakulta UK, Bratislava

V teórii je všetko jednoduché. Deoxyribonukleáza (DNáza) štiepi extracelulárnu DNA (ecDNA) a zabezpečuje jej odstraňovanie. Lenže očakávanú negatívnu koreláciu medzi endogénnou DNázovou aktivitou a ecDNA sme pozorovali len v jednej štúdii zameranej na vzorky od tehotných v treťom trimestri. Za iných okolností sme žiadnu koreláciu ani v klinických vzorkách, ani v rámci animálnych experimentov nezistili. Vysvetlením môže byť niekoľko interpretačných komplikácií. DNázová aktivita ako ju meriame pomocou SRED metódy zodpovedá najmä DNáze 1, lenže okrem nej je aktívna a zrejme aj dôležitá DNáza 113, DNázy 2 a viacero ďalších DNáz opísaných najmä vo vzťahu k bunkovej smrti, ale o ich význame pre obrat ecDNA veľa nevieme. Ďalšou neznámou je rezistencia ecDNA voči nukleázam. Rôzne sekundárne štruktúry, väzba na históny a iné

proteíny chránia ecDNA pred degradáciou a sú ovplyvnené rôznymi fyziologickými faktormi, ale aj patomechanizmami chorôb. Napokon je zrejmé, že určitá časť ecDNA je prítomná v extracelulárnych vezikulách ako sú napr. exozómy. Tým je nedostupná pre DNázy, a to môže predlžovať jej prežívanie v cirkulácii. Aký vplyv tieto faktory majú na imunogenicitu, ale aj diagnostické využitie ecDNA, je zatiaľ neznáme. Identifikácia DNázy 113 ako kľúčového faktora pre koncentráciu ecDNA pri neinvazívnej diagnostike poukazuje na význam jej výskumu.

Unraveling Cellular Complexity and Tissue Architecture with Advanced Transcriptomic Tools

Abaffy P., Kulinich V., Mášová A., Valihrach L.

GeneCore Facility, Institute of Biotechnology, Czech Academy of Sciences, Vestec

Advanced transcriptomic technologies are revolutionizing biomedical research by enabling detailed analysis of gene expression, cellular heterogeneity, and tissue structure. At GeneCore, an academic facility specializing in advanced transcriptomics, we apply bulk, single-cell, and spatial methods across preclinical and disease models to dissect complex biological systems.

In a photothrombotic mouse stroke model, bulk RNA sequencing showed that delayed C3a treatment reduces astrocyte-mediated inflammation and enhances expression of genes linked to synaptic repair¹. Single-cell RNA sequencing of iP-

SC-derived models of Alexander disease revealed disrupted neurodevelopmental pathways, suggesting a novel mechanism of disease². Spatial transcriptomic provided region- and time-specific mapping of glial activity in a permanent ischemia model, capturing dynamic cellular changes during recovery³. We have also refined small RNA profiling protocols to study miRNA networks, overcoming technical challenges to enable cell-type- and system-level insights^{4,5}.

By integrating these complementary approaches bulk sensitivity, single-cell resolution, and spatial context we offer a robust framework for uncovering disease mechanisms and advancing therapeutic strategies. These efforts highlight the growing translational impact of transcriptomic tools in biomedical research.

This was supported by Czech Science Foundation projects GA23-05327S, GA18-21942S, GA23-06269S and EJP-European Joint Programme on Rare Disease Grant/Award Number: 825575 and institutional support (RVO 86652036).

References

1. Stokowska A, Aswendt M, Zucha D, Lohmann S, Wieters F, Morán Suarez J, Atkins AL, Li Y, Miteva M, Lewin J, Wiedermann D, Diedenhofen M, Torinsson Naluai Å, Abaffy P, Valihrach L, Kubista M, Hoehn M, Pekny M, Pekna M. *J. Clin. Invest.* 2023, 133, 162253.
2. Matusova Z, Dykstra W, de Pablo Y, Zetterdahl OG, Canals I, van Gelder CAGH, Vos HR, Pérez-Sala D, Kubista M, Abaffy P, Ahlenius H, Valihrach L, Hol EM, Pekny M. *Glia*. 2025, 73, 57.
3. Zucha D, Abaffy P, Kirdajova D, Jirak D, Kubista M, Anderova M, Valihrach L. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2024, 121, 2404203121.
4. Androvic P, Benesova S, Rohlova E, Kubista M, Valihrach L. *J. Mol. Diagn.* 2022, 24, 386.
5. Androvic P, Valihrach L, Elling J, Sjoback R, Kubista M. *Nucleic Acids Res.* 2017, 45, 144.

Genetická záťaž zriedkavých variantov a behaviorálne fenotypy u detí s autizmom na Slovensku

Lakatošová S.¹, Konečný M.^{2,3},
Krasňanská G.^{2,3}, Celušáková H.¹,
Belica I.¹, Kopčíková M.¹,
Keményová P.¹, Ostatníková D.¹,
Repiská G.¹

¹Fyziologický ústav, Lekárska fakulta,
Univerzita Komenského v Bratislave

²Laboratórium genomickej medicíny,
GHC GENETICS SK s.r.o., Bratislava

³Ústav biológie a biotechnológie,
Katedra biológie, Fakulta prírodných
vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda
v Trnave

Porucha autistického spektra (PAS) je heterogénna skupina neurovývinových porúch, ktoré sú charakterizované komplexnou, multifaktoriálnou etiológiou so silným genetickým pozadím. Cieľom našej štúdie bolo vyhodnotiť súvislosť medzi záťažou zriedkavých genetických variantov génov spojených s PAS a fenotypovou variabilitou v kohorte detí s autizmom na Slovensku.

Skóre genetickej záťaže sme vypočítali na základe zriedkavých DNA variantov identifikovaných celoexómovým sekvenovaním. Následne sme hodnotili vplyv genetickej záťaže, vypočítanej prostredníctvom troch skórovacích systémov, na variabilitu naprieč 15 psychobehaviorálnymi parametrami, ktoré opisujú fenotypové profily 117 probandov s PAS.

Skóre genetickej záťaže preukázalo významný multivariantný vplyv na kombináciu psycho-behaviorálnych parametrov. Bolo spojené so skóre sociál-

neho afektu (ADOS-2), ako aj s doménou socializácie a celkovým skóre adaptívneho správania z Vineland Adaptive Behavior Scales-3 (VABS). Zatiaľ čo skóre založené výlučne na počte patogénnych a pravdepodobne patogénnych variantov neukázalo multivariantný efekt, zahrnutie variantov s neznámym klinickým významom odhalilo multivariantný vplyv na dva parametre adaptívneho správania: zručnosti každodenného života a celkové skóre adaptívneho správania (VABS).

Naše zistenia čiastočne vysvetľujú variabilitu fenotypových prejavov v našej kohorte pacientov s PAS, čím zdôrazňujú dôležitosť zohľadnenia kumulatívneho účinku zriedkavých genetických variantov, vrátane tých s neistým významom, pri formovaní rôznorodej klinickej prezentácie PAS.

Projekt bol podporený grantmi APVV-20-0070, APVV-20-0139, VEGA 1/0468/24.

Distribúcia skóre polygénového rizika u jedincov so zápalovými črevnými ochoreniami

Minárik J.^{1,2}, Puterka S.⁵, Lojová I.^{1,2,3},
Zaťková A.¹, Gazdarica J.^{3,6}, Budiš J.^{3,6},
Szemes T.^{1,3}, Radvánszky J.^{1,2,3}

¹Slovenská akadémia vied, v. v. i,
Ústav klinického a translačného
výskumu, Biomedicínske centrum,
Bratislava

²Univerzita Komenského v Bratislave,
Prírodovedecká fakulta, Katedra
molekulárnej biológie, Bratislava

³Univerzita Komenského v Bratislave,
Vedecký park, Bratislava

⁴Univerzita Komenského v Bratislave, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Bratislava

⁵Slovenská technická univerzita, Fakulta informatiky a informačných technológií, Bratislava

⁶Centrum vedecko-technických informácií, Bratislava

Úvod: Zápalové črevné ochorenia (IBD), zahŕňajúce ulceróznu kolitídu (UC), Crohnovu chorobu (CD) a nedeterminovanú kolitídu, patria medzi chronické autoimunitné ochorenia s komplexnou etiológiou. Zavádzanie personalizovanej genomiky a najmä skóre polygénového rizika (PRS) ponúka možnosť včasnej identifikácie jedincov s genetickou predispozíciou na tieto ochorenia a potenciálnej stratifikácie pacientov na základe genetického rizika. V našej práci sme sa rozhodli otestovať výpočty PRS a ich diskriminačnú silu u pacientov s UC a CD.

Metódy: Do analýzy bolo zaradených 133 jedincov stredoeurópskeho pôvodu, z ktorých 106 tvorilo kontrolnú skupinu, 17 pacientov s UC a traja pacienti s CD. DNA bola sekvenovaná pomocou WGS (platformy BGI a Illumina). PRS boli vypočítané pomocou nástroja PLINK zahrnutím gVCF a zoznamu asociovaných SNV získaného z vyfiltrovaných GWAS. Na štatistickú analýzu boli použité Kruskal-Wallis a Mann-Whitney U test, spolu s hodnotením AUROC pre posúdenie sily a presnosti PRS.

Výsledky: Celkovo štatisticky najvýznamnejšie rozdiely v distribúcii PRS boli pozorované medzi UC pacientmi a kontrolnou skupinou (PRS_{IBD} AUROC = 0,7192; PRS_{CD} AUROC = 0,7012). Výpočty PRS_{UC} pre UC pacientov odhalili vyššiu genetickú va-

riabilitu, naznačujúc potenciálny vplyv environmentálnych faktorov, prípadne iných foriem genetickej determinácie. Distribúcia PRS u CD pacientov bola konzistentná, ale menej výrazná, pravdepodobne z dôvodu malého počtu vzoriek (vplyv náhody).

Záver: PRS sa ukazuje ako užitočný nástroj pri identifikácii geneticky rizikových jedincov s IBD, najmä pri UC. Výsledky potvrdzujú potrebu optimalizácie vstupných parametrov a zvýšenia počtu zaradených jedincov pre zlepšenie spoľahlivosti predikcie.

Granty: VEGA-2/0114/24 a VEGA-2/0146/23

Využitie genetického skóre DM1 pre efektívnu prioritizáciu pacientov na testovanie monogénového diabetu

Dobiašová Z.¹, Škopková M.¹, Karhánek M.¹, Greguš F.^{1,2}, Lobotková D.¹, Jančová E.¹, Barák Ľ.¹, Staník J.^{1,2}, Gašperíková D.¹

¹Oddelenie výskumu porúch metabolizmu, Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, Bratislava

²Pediatrická klinika, Národný ústav detských chorôb a Lekárska fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

Diabetes mellitus (DM) patrí medzi najčastejšie chronické ochorenia a významne prispieva k morbidite a mortalite populácie. Starostlivosť o deti s DM je obzvlášť dôležitá, keďže s ochorením prežijú väčšinu života. V niektorých prípadoch monogénového diabetu je dostupná špecifická liečba, ktorá môže zlepšiť kompen-

záciu a prognózu. Genetické rizikové skóre (GRS) pre DM1 je užitočný biomarker, ktorý pomáha pri diferenciálnej diagnostike, najmä pri odlíšení DM1 od DM2 a monogénových foriem. Táto štúdia sa zamerala na stanovenie GRS pre DM1 v slovenskej detskej populácii a na zhodnotenie jeho využitia pri výbere pacientov na genetické vyšetrenie monogénového diabetu.

Do štúdie bolo zaradených 808 detí a dospievajúcich s novo zistenou hyperglykémiou, ktorí boli sledovaní v Detskom diabetologickom centre (SR NUDCH) od roku 2008 – 2023. Všetci pacienti podstúpili štandardné klinické sledovanie a genetickú diagnostiku podľa vtedajších dostupných poznatkov a možností. U tejto kohorty, ako aj u 189 kontrolných osôb (165 pacientov s potvrdeným monogénovým diabetom a 24 zdravých jedincov), sme hodnotili genetické riziko pre vznik DM1 pomocou predtým publikovaného skóre DM1 GRS2 a 10 SNP GRS. Genotypizácia prebehla pomocou čipu Infinium Global Screening Array MD v3 (~725 000 SNPs), pričom chýbajúce genotypy boli doplnené pomocou KASP testu. Na základe údajov z našej populácie sme stanovili hodnotu DM1 GRS2 a skúmali sme jeho využitie v kombinácii s negatívnymi autoprotílatkami na výber pacientov vhodných na genetické vyšetrenie monogénového diabetu. Kombinácia genetického skóre DM1 GRS2 a negatívnych autoprotílatok výrazne znížila počet nepotrebné geneticky testovaných prípadov. Miera záchytu monogénového diabetu sa zvýšila trojnásobne, pričom senzitivita prioritizácie poklesla len mierne – z 77,8 % pri použití

samotných autoprotílatok na 72,2 % pri kombinovanom prístupe.

Väčšina prípadov monogénového diabetu, ktoré unikli prioritizácii, vykazovala nízke hladiny jednej autoprotílatky a pravdepodobne išlo o falošne pozitívne výsledky. U pacientov s nepriaznivým skóre GRS2, ktorí by podľa algoritmu neboli odporučení na genetické testovanie, bol monogénový diabetes diagnostikovaný na základe klinického obrazu. Na druhej strane, vďaka nízkej hodnote GRS2 boli spätne identifikované aj dva prípady monogénového diabetu, ktoré pôvodne unikli diagnostike.

Kombinácia T1D GRS a testovania autoprotílatok predstavuje efektívny nástroj na zníženie počtu pacientov indikovaných na genetické vyšetrenie monogénového diabetu. Tento prístup, aplikovaný popri štandardnom klinickom hodnotení, môže predstavovať cenný nástroj na včasnú selekciu pacientov vhodných na molekulárnu diagnostiku monogénového diabetu.

Podporené z: MZSR 2019/20-LFUK-8, VEGA 2/0129/25 a VEGA 1/0659/22.

Genetická analýza a funkčná validácia nových variantov asociovaných s branchiogénnymi malformáciami

Borecká S.¹, Cipková K.¹, Sklenár M.¹, Varga L.^{1,2}, Hrkčková G.³, Ugorová D.², Sabo M.¹, Škopková M.¹, Gašperíková D.¹

¹Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV v. v. i., Bratislava

²Klinika otorinolaryngológie,
chirurgie hlavy a krku LF UK a UNB,
Bratislava

³Ambulancia lekárskej genetiky,
Detská klinika LF UK a NÚDCH,
Bratislava

Úvod: Branchiogénne anomálie sú vrodené defekty, ktoré vznikajú pri vývine prvého až štvrtého faryngeálneho oblúka. Môžu sa prejavovať ako preaurikulárne sínusy, krčné cysty alebo fistuly a predstavujú diagnostický znak syndrómových ochorení, ako sú napríklad Branchio-oto-renálny (BOR) syndróm, Branchio-otický (BO) syndróm, Branchio-okulo-faciálny (BOF) syndróm a Okulo-aurikulo-vertebrálne (OAV) spektrum ochorení. Cieľom štúdie bola identifikácia genetickej etiológie a funkčná charakterizácia nových variantov u pacientov s branchiogénnymi anomáliami.

Metódy: Do štúdie bolo zahradených trinásť rodín s diagnózou branchiogénnych anomálií. Vzorky boli analyzované pomocou cieleného sekvenovania podľa Sangera, MLPA analýzy a celoexómového, prípadne celogenómového sekvenovania. Na potvrdenie potenciálneho patogénneho vplyvu variantov na zostrih pre-mRNA génu EYA1 bola použitá *minigene* analýza a sekvenovanie vzoriek z nosohltanových sterov pomocou Nanopore technológie.

Výsledky: U troch rodín bol identifikovaný známy patogénny variant v géne TFAP2A spojený so vznikom BOF syndrómu, nový variant ne-

známeho významu v géne SIX1 asociovaný s BOR/BO syndrómom a nový patogénny frameshift variant v géne PAX1 spojený s autozómovo dominantným typom dedičnosti v rámci OAV spektra. U ďalších štyroch rodín boli identifikované heterozygotné delécie časti alebo celého génu EYA1. Okrem štyroch známych patogénnych variantov v géne EYA1 boli identifikované aj dva nové varianty v géne EYA1, ktorých prítomnosť kosegregovala s BOR/BO syndrómom v postihnutých rodinách. Minigene analýza a doplňujúca analýza cDNA z nosohltanových sterov potvrdili patogénny charakter doteraz nepublikovaných variantov v géne EYA1 (c.318G>A, c.1051-80_1052del) a známeho variantu c.1360+5G>A, u ktorých *in silico* analýza predpokládala ovplyvnenie zostrihu pre-mRNA. Funkčné štúdie umožnili reklasifikáciu variantu s neznámym významom c.318G>A a pravdepodobne patogénneho variantu c.1360+5G>A na patogénne varianty.

Záver: Branchiogénne anomálie sú vo väčšine prípadov spôsobené patogénnymi variantmi v géne EYA1, ktoré prispievajú k rozvoju BOR/BO syndrómu. Získané výsledky podčiarkujú význam rozpoznania premenlivej expresivity a poukazujú na potrebu komplexného diagnostického prístupu – najmä u jedincov s atypickými alebo neúplnými syndrómovými prejavmi.

Podporené: APVV-20-0236, APVV-22-257, VEGA 1/0659/22 a VEGA 2/0129/25

Biologická úloha vybraných genetických faktorov v patogenéze parodontitídy

Eliaš V.

Laboratórium genomickej medicíny,
GHC GENETICS SK, s. r. o., Vedecký
park UK, Bratislava

Parodontitída je chronické multifaktoriálne zápalové ochorenie postihujúce parodont, pri ktorom zohrávajú úlohu parapatogénne baktérie, genetické faktory vo forme rizikových DNA polymorfizmov, ako aj iné rizikové faktory ovplyvňujúce imunitnú odpoveď organizmu. Dnes je známe, že rôzne DNA varianty génov podieľajúcich sa na zápalových procesoch podmieniajú individualizovanú reakciu na baktérie prítomné v mikrobiálnom biofilme a ovplyvňujú progresiu ochorenia.

Hlavnú úlohu v genetike parodontitídy zohrávajú DNA polymorfizmy génov kódujúcich cytokíny. Osobitná pozornosť sa pri štúdiách zápalových ochorení ústnej dutiny venuje DNA variantom v génoch *IL1A* a *IL1B*, spájaných so zvýšenou produkciou prozápalového cytokínu *IL1*. Tento proteín predstavuje hlavného regulátora imunitnej odpovede na mikrobiálnu infekciu a modulátora straty kosti. Na druhej strane produkt génu *IL1RN*, cytokín *IL1RA*, inhibuje zápalovú aktivitu *IL1*, čím znižuje odpoveď organizmu na zápal a je asociovaný s protektívnym efektom proti vzniku parodontitídy. Ďalším významným modulátorom zápalu je cytokín *IL6*, ktorý sa podieľa na aktivácii osteoklastov, odbúravaní kostného tkaniva a bol dokázaný jeho súvis s niektorými systémovými ochoreniami. Najnovšie po-

znatky v štúdiách cytokínov naznačujú protizápalovú úlohu DNA variantov v géne kódujúcom interleukín 19. Významná funkcia bola zaznamenaná aj pri variantoch v géne *TNF* a *HLA-DRB1*, ktoré sú prozápalové a predstavujú významné modulátory resorpcie kostí. Ako regulátor na cytokínové dráhy prostredníctvom transkripčného faktora *GATA-3* sa uplatňuje produkt génu *GLT6D1*, a taktiež bol prostredníctvom centrosómu, ktorý hrá kľúčovú úlohu v stavbe cytotoxických T lymfocytov, preukázaný súvis proteínu *NIN* s parodontitídou.

Úlohy DNA polymorfizmov v patogenéze parodontitídy sú predmetom skúmania mnohých štúdií, pričom bolo identifikovaných viacero DNA variantov, ktoré sa podieľajú na zápalových reakciách a stali sa bežnými diagnostickými markermi. Ich hlbšie skúmanie a objavovanie nových je nesmierne dôležité, pretože môže umožniť prispieť k personalizovanej diagnostike, určeniu rizikových skupín pacientov a vývoju špecifických terapeutických prístupov.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

Analýza TR motívov z genomických dát: na ceste od výskumu ku klinickej aplikácii

Lojová I.^{1,2,3}, Baláž A.^{1,4}, Kucharík M.^{1,2,4}, Zaťková A.¹, Szemes T.^{2,3,4}, Budiš J.^{2,5}, Radvánszky J.^{1,2,3,6}

¹Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

²Vedecký park Univerzity Komenského, Bratislava

³Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

⁴Geneton s.r.o., Bratislava

⁵Centrum vedecko-technických informácií, Bratislava

⁶G2 Consulting Slovakia s.r.o., Hviezdoslavov

Úvod: Tandemové opakovania (TR) zohrávajú významnú úlohu v patogenéze viacerých monogénových aj komplexných ochorení, pričom ich expanzia, variabilita či počet opakovaní môžu zásadne ovplyvniť klinický obraz. Aj napriek pokroku v masívne paralelnom sekvenovaní (MPS) zostáva analýza TR technicky náročná, najmä pre ich štruktúrnú zložitosť a vysokú variabilitu. Na základe validačnej a populačnej štúdie poukazujeme na kľúčové aspekty, ktoré je potrebné zohľadniť pri ich hodnotení v diagnostickej aj výskumnej praxi.

Metódy: K našim záverom sme sa dopracovali na základe výsledkov špecifických validačných a populačných štúdií. Validačná štúdia zahŕňala 60 jedincov a analyzovaný súbor v rámci populačnej štúdie zahŕňal 366 jedincov. Overovacie analýzy lokusov v prípade validačnej štúdie boli vykonané pomocou kombinácie konvenčnej PCR a RP-PCR. Pre všetkých

jedincov boli získané celogenómové sekvenčné dáta (WGS, párové čítania, 150 bp). Na charakterizáciu TR z WGS sme použili špecializovaný TR genotypizačný nástroj Dante.

Výsledky: Výsledky práce zahŕňajú vytvorenie databázy a charakterizáciu TR asociovaných s ochoreniami spôsobenými expanziou a/alebo variabilitou týchto motívov. Následne sme realizovali validačnú štúdiu vybraných lokusov, v ktorej sme porovnávali konvenčné metódy genotypizácie s výsledkami získanými z WGS dát, pričom poukazujeme na technické limity a zdroje nepresností pri genotypizácii. Populačná analýza bola zameraná na distribúciu a variabilitu týchto TR lokusov v širšom súbore jedincov. Na základe oboch analýz sme zhrnuli odporúčania a návrhy týkajúce sa implementácie analýzy TR motívov do diagnostického a výskumného využitia.

Záver: TR analýza založená na báze MPS, sa dá považovať za viabilnú a vyspelú metódu nielen pre výskum, ale aj pre klinickú diagnostiku. Keďže je spojená s určitými výzvami, pri návrhu štúdií a diagnostických protokolov je dôležité zohľadniť špecifické technické a interpretačné aspekty tejto analýzy. Táto práca prináša prehľad vybraných faktorov relevantných pre efektívne zavádzanie TR analýz, vychádzajúc z praktických skúseností a doterajších výsledkov nášho pracoviska.

Granty: VEGA-2/0114/24 a VEGA-2/0146/23

XXXV. IZAKOVIČOV MEMORIÁL 2025

Program a abstrakty

Spracovala spoločnosť SOLEN, s. r. o.

Adresa redakcie: SOLEN, s. r. o., Ambrova 5, 831 01 Bratislava,
www.solen.sk, e-mail: redakcia@solen.sk

Redaktorka: Mgr. Andrea Dúbravčíková, dubravcikova@solen.sk

Grafická úprava a sadzba: Ján Kopčok, kopcok@solen.sk

Obchodné oddelenie: Monika Horáková, horakova@solen.sk

SOLEN
MEDICAL EDUCATION

Vydavateľ nenesie zodpovednosť za údaje a názory autorov jednotlivých článkov či inzerátov.

Suplement neprešiel jazykovou korektúrou.

Reprodukcia obsahu je povolená len s priamym súhlasom redakcie.

Publikácia je zostavená iba z tých príspevkov, ktoré boli zaslané v termíne určenom vydavateľstvom.

ISBN: 978-80-89858-38-5

PODUJATIE PODPORILI

generálny partner

ThermoFisher
SCIENTIFIC

hlavní partneri



3GENES

partneri

