

XXXIV.

---

# IZAKOVIČOV MEMORIÁL

---

2024



**ZBORNÍK  
POSTEROV**

---

**9. – 11. október 2024**  
Hotel Horizont, **Stará Lesná**

Organizátor:  
**Slovenská spoločnosť lekárskej genetiky, o.z.**  
**kolektívny člen SLS**

# Zborník posterov

## Poster č. 1

**Funkčná analýza variantov v géne *PSMB5*: Rescue experiment** – Andrésová A., Kolníková M., Gašperíková D., Škopková M.

## Poster č. 2

**Cesta z falošnej stopy k správnej diagnóze** – Bolčeková A., Tomášová R., Tomková E., Tóthová K., Paučinová I.

## Poster č. 3

**Familiárny nádory GIT asociované s Lynchovým syndromom** – Brisudová A., Janíková M., Kořínková G., Knillová J., Kučerová L., Kolaříková K., Kratochvílová R., Šišperová R., Punová L., Mracká E., Slavkovský R., Lemstrová R., Vrtěl R., Bouchal J.

## Poster č. 4

**Zriedkavé genetické choroby – register NCZI za roky 2019 – 2023, výsledky a návrhy zmien v registrácii** – Cisarík F.

## Poster č. 5

**Induction of chromosomal aberrations after exposure to miconazole in cattle *in vitro*** – Galdikova M., Holeckova B., Schwarzbacherova V., Haluskova J., Sedlakova S., Bucan J., Dolnikova D.

## Poster č. 6

**Ludský papilomavírus (HPV) – nádej ukrytá v pozitivite** – Hojsíková I., Prokopcová L.

## Poster č. 7

**Účinky chinazolinónového ligandu Q3 a jeho medňatého komplexu Q3-CU(II) na prsníkové nádorové MCF-7 a nenádorové bunky MCF-10A** – Horváthová E., Hergott P., Hricovíniová Z.

## Poster č. 8

**Případové studie hodnocení celoexomových dat (WES) za použití aplikace Franklin (Genoox)** – Hrabíková M.

## Poster č. 9

**Vyhodnocení genomických TRIO dat u endemického parkinsonismu** – Kolaříková K., Vodička R., Vrtěl R., Menšíková K., Procházka M., Kaňovský P.

## Poster č. 10

**Genetická diagnostika porúch autistického spektra – záchyt kauzálnych DNA variantov** – Lakatošová S., Repiská G., Miklošovičová M., Valachová A., Vogelová S., Kantarská D., Kopčíková M., Wachsmannová L., Krasňanská G., Ostatníková D., Konečný M.

## Poster č. 11

**6p25 mikroleční syndrom jako příčina kongenitálního glaukomu** – Laštůvková J., Pecková A., Lišková L., Čejnová V.

## Poster č. 12

**Analýza patogenity vybraných vzácných variant v mitochondriální DNA** – Lokvencová K., Štufková H., Zajícová Dočekalová D., Trefilová E., Česneková E., Hansíková H., Tesařová M.

## Poster č. 13

**Schaaf-Yangov syndróm (kazuistika)** – Lukáčová I., Eckertová M., Magyarová G., Tomková E., Majerová L., Lukačková R.

## Poster č. 14

**Potenciál vyšetření cfDNA při detekci chromozomálních aneuploidii u spontánních abortů** – Nguyen Thi Ngoc B. L., Sheardová J., Hrabíková M., Čadová P., Stejskal D., Zembol F., Dvořáčková H., Vávrová J., Bittóová M., Koudová M.

## Poster č. 15

**Keď sa s nami chromozómy zahrajú na schovávačku (kazuistika)** – Očenášová Z., Martineková S., Kantarská D., Petrovič R.

## Poster č. 16

**Jedna z milióna – kazuistika** – Paučinová I., Wachsmannová L., Konečný M.

## Poster č. 17

**Diagnóza Schaaf-Yangova syndromu u dítěte s podezřením na kraniosynostózu** – Pecková A., Laštůvková J., Čejnová V., Uhrová Meszarosová A.

## Poster č. 18

**Neinvazívny test na skrining rakoviny prostaty: Zapojenie modelu strojového učenia do analýzy extracelulárnej DNA** – Pös O., Hanzlíková Z., Budiš J., Bokorová S., Krampfl W., Styk J., Lukyová L., Kubáňová M., Ďuranová T., Sedláčková T., Janega P., Szemes T.

## Poster č. 19

**Prenatálna diagnostika mikrodencií a mikroduplikácií 15q11.2 – súbor 10 prípadov** – Róžová I., Landlová D., Lukačková R., Eckertová M., Tóthová K., Tomková E., Križan P.

## Poster č. 20

**Aminoacylase 1 deficiency: case report on three affected siblings** – Srovnal J., Smolka V., Friedecky D., Kolarova J., Tkacik O., Foltanova H., Bekarek V., Vrtel P., Prochazka M.

## Poster č. 21

**Zriedkavé chromozómové aberácie u pacientov s lymfoproliferatívnou poruchou B-buniek z genetického hľadiska** – Szeifová M., Hercegová A., Žákovičová A., Blahová A., Flochová E., Chudej J., Varga A., Lukačková R.

## Poster č. 22

**Profilovanie krvnej plazmy u pacientov s pľúcnym nádorom pomocou metabolomickej analýzy** – Šarlinová M., Baranovičová M., Dzian A., Kalenská D., Račay P., Matáková T., Škovierová H., Halašová E.

## Poster č. 23

**Možnosti analýzy molekulárných biomarkerov v diagnostike a liečbe onkologických pacientov** – Šebest L., Slamka T., Kostrábová A., Krascsenitsová E., Dolešová L., Lohajová Behulová R.

## Poster č. 24

**Charakterizace nového onemocnění spojeného s *de novo* syntézou purinů – deficitu PFAS** – Škopová V., Součková O., Barešová V., Stuurman K., Hnízda A., Kmoch S., Zeman J., Zikánová M.

## Poster č. 25

**Silná genetická káva** – Tomášová R., Paučinová I., Kováčová E., Dolešová L.

## Poster č. 26

**Je variant c.25G>A v géne *DRD3* v spojitosti s esenciálnym tremorom rizikový?** – Vasil M., Latka S., Slíž I., Tomášiková L., Škovránek M., Chamilová J.

## Poster č. 27

**Mabryho syndróm – zriedkavý (nedostatočne rozpoznávaný?) monogénový genetický syndróm asociovaný s epilepsiou** – Vogelová S., Konečný M., Wachsmannová L., Krasňanská G.

## Poster č. 28

**Rychlá diagnostika Leberovy hereditární neuropatie optiku metodou high-resolution melting** – Záhoráková D., Puchmajerová A., Trefilová E., Zajícová Dočekalová D., Tesařová M., Martásek P.

## Poster č. 29

**Pacientka s aceruloplazminémiou a dedičnou hemochromatózou. Dôležitosť modernej DNA diagnostiky pri diagnostických dilemách** – Zaťková A., Pös Z., Glasová H., Radvánszky J.

## Poster č. 30

**MaterníT – historie a současnost** – Zemánek M., Zapletal M., Hůrková V., Loucký J.

## Poster č. 31

**A report on the second identified case of PAICS deficiency: An examination of two siblings** – Zikanova M., Weng W., Skopova V., Baresova V., Liu Y., Chien Y., Hwu W., Souckova O., Hnizda A., Kmoch S., Lee N.



## FUNKČNÁ ANALÝZA VARIANTOV V GÉNE *PSMB5*: RESCUE EXPERIMENT

Mgr. Andrea Andréssová<sup>1</sup>, doc. MUDr. Miriam Kolníková, PhD.<sup>2</sup>,  
RNDr. Daniela Gašperíková, DrSc.<sup>1</sup>, RNDr. Martina Škopková, PhD.<sup>1</sup>  
andrea.andresova@savba.sk

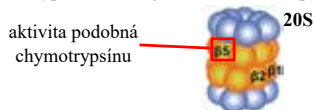


<sup>1</sup>Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

<sup>2</sup>Klinika detskej neurológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského a Národný ústav detských chorôb, Bratislava

### ÚVOD

**26S proteazóm** je veľký proteínový komplex, ktorý zodpovedá za degradáciu proteínov označených ubiquitínom. Je zložený z 2 základných častí, jadrová časť (20S) (Obr.1) a regulačná časť (19S). Je známe, že poškodenie niektorých proteazomálnych podjednotiek spôsobuje detské neurovývinové a autoimunitné ochorenia – proteazomopatie. Hromadenie ubiquitínovaných proteínov je charakteristické aj pre mnohé neurodegeneratívne ochorenia (Parkinsonova choroba a Alzheimerova choroba). Gén *PSMB5* kóduje  $\beta 5$  podjednotku, ktorá disponuje aktivitou podobnou chymotrypsínu. Tento gén doteraz nebol spojený so žiadnym ochorením.



Obr.1: 20S proteazóm (jadrová časť)

### CIEĽ

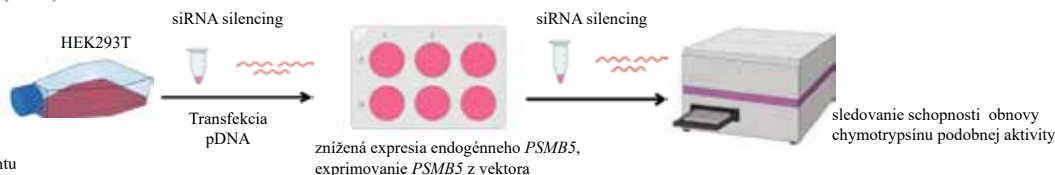
Cieľom je dokázať vplyv študovaných variantov na aktivitu proteazómu, a to pomocou "rescue" experimentu. Výsledok pomôže potvrdiť alebo vylúčiť spojenie génu *PSMB5* s neurovývinovým ochorením

### METÓDY

**siRNA silencing:** Bunky HEK293T sme transfekovali pomocou Lipofectamine RNAiMAX Reagent (Invitrogen) a kombináciou dvoch rôznych siRNA špecifických k *PSMB5* v 3 rôznych koncentráciách. RNA sme analyzovali pomocou qPCR a proteíny pomocou Western blotu.

**In vitro mutagenéza:** Cielenu mutagenézou (Q5 Site-directed mutagenesis, NEB) sme zaviedli mutácie do plazmidov *PSMB5*-WT-pcDNA3.1. Plazmidy sme do buniek transfekovali za pomoci TurboFect (ThermoFisher). Expresiu sme overili zosnímaním fluorescence na konfokálnom mikroskope.

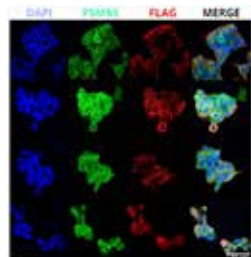
**Rescue experiment:** V HEK293T bunkách sme znížili expresiu *PSMB5* pomocou 50 nM siRNA silencing, po 6 hodinách sme bunky transfekovali plazmidmi. Po 24 hodinách sme opäť dodali siRNA. Po 48 hodinách od začiatku experimentu sme sledovali schopnosť obnovy chymotrypsínu podobnej aktivity (Obr.3).



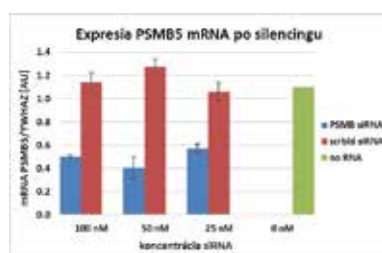
Obr.3: Priebeh rescue experimentu

### VÝSLEDKY

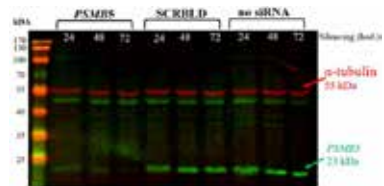
- Konfokálnou mikroskopiou sme potvrdili, že WT aj mutované *PSMB5* proteíny sú z plazmidov exprimované po tranzientnej transfekcii do eukaryotických buniek (Obr.4)
- siRNA silencing utlmil expresiu *PSMB5* na úrovni mRNA (Obr.5) aj na úrovni proteínov (Obr.6)



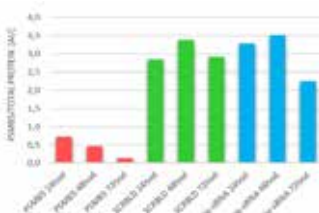
Obr. 4: Imunofluorescenčné farbenie v HEK293T



Obr. 5: Expresia *PSMB5* mRNA po silencingu v HEK293T

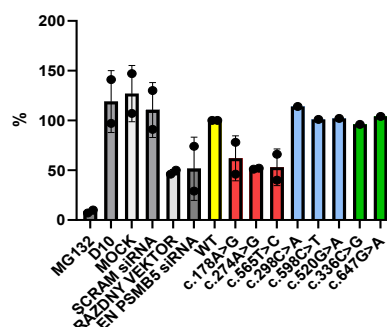


Obr.6: Western blot a jeho kvantifikácia



### RESCUE EXPERIMENT

#### Aktivita podobná chymotrypsínu/CellTiter-Glo



Obr. 7: Aktivita podobná chymotrypsínu po rescue experimente

- Plazmidy nesúce c.178A>G, c.274A>G a c.565T>C varianty v géne *PSMB5* neobnovili aktivitu podobnú chymotrypsínu (aktivita na úrovni prázdneho plazmidu), zatiaľ čo kontrolný plazmid nesúci wild-type *PSMB5* a plazmidy nesúce benigne varianty komplementovali túto aktivitu úplne, na úrovni nesilencovaných buniek (scrambled kontrola) (Obr.7).

### ZÁVER

Skúmané varianty skutočne nízujú proteazomálnu aktivitu, čo je v súlade s hypotézou, že mutácie v géne *PSMB5* sú zodpovedné za neurovývinové ochorenie u testovaných pacientov.

### REFERENCIE

- Huang, X., Luan, B., Wu, J., & Shi, Y. (2016). An atomic structure of the human 26S proteasome. *Nature structural & molecular biology*, 23(9), 778–785.
- Enenkel C. (2014). Proteasome dynamics. *Biochimica et biophysica acta*, 1843(1), 39–46.
- Livneh, I., Cohen-Kaplan, V., Cohen-Rosenzweig, C., Avni, N., & Ciechanover, A. (2016). The life cycle of the 26S proteasome: from birth, through regulation and function, and onto its death.
- Cuinat S., Bézeau S.; Deb W., et al. (2023). Understanding neurodevelopmental proteasomopathies as new rare disease entities: A review of current concepts, molecular biomarkers, and perspectives, *Genes & Diseases*, 101130.

Výskum bol podporený grantom APVV-22-0257.

Autor tohto posteru nemá žiadny finančný alebo osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu.

# Cesta z falošnej stopy ku správnej diagnóze

MUDr. Anna Bolčeková, PhD. (a), MVDr. Eugénia Kováčová (a), RNDr. Radoslava Tomášová (a), RNDr. Erika Tomková (b),  
RNDr. Katarína Tóthová (b), RNDr. Lucia Tatayová (b) MUDr. Ivana Paučinová (a)  
(a) Oddelenie lekárskej genetiky FNŠP Žilina (b) Medirex Bratislava;

Konflikt záujmov: žiadny

## Kazuistika č. 1

### Anamnéza epikríza

- 17 ročná dievča
- Kolapsy, generalizované tonicko-klonické kŕče
- Hashimotova struma a hypoparatyreóza,
- autoimunitná encefalitída,
- Susp. Autoimunitný polyglandulárny syndróm typ 2,
- Autoimunitná gastritída,
- Deficit IgA

### Klinický prejav a diagnostika

- Dyskolorovaná/porušená sklovina
- **Ľahká mentálna subnorma, porucha pamäte a pozornosti**
- **46, XX;**
- *A/RE*: benígny variant; HLA DQ2, DQ8, DR4 negat.
- Klinický exóm: nosičstvo CF nosičstvo Omen sy.



Obr.1.-3: Pacientka s duplikačiou 15q11.2-q13.1  
Obr. 3: dentinopatia



### Diagnóza

Duplikačia 15q11.2q13.1; sseq[GRCH 37] 15q11.2q13.1 (23700000 28500000); NC 000015.9:g. 23700000 28500000dup>x3; (4,8 Mb) 112 génov  
MS-MLPA PW: maternálny pôvod

## Kazuistika č.2

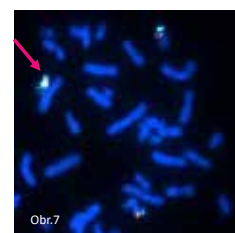
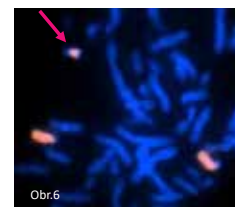
### Anamnéza epikríza

- Narodený v termíne 4000g/53cm, AS 6/9,
- Závažná kongenitálna hypotyreóza
- **Kvadruphotonický syndróm**
- **Oneskorený PMV**



### Klinický prejav a diagnostika

- Turicefália,
- **Konvergentný strabizmus,**
- Modré skléry,
- **Globálna hypotónia,**
- **Mos 47,XY,+mar**
- FISH:**
- 47,XY,+der(15)**
- SMA - negat.
- KMD - negat.

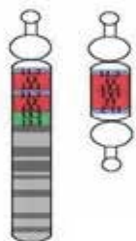


Obr. 4.-5.: Pacient s triplikáciou 15q11.2-q13.1  
Obr. 6: WPC15 (s.orange)  
Obr.7: PW CEP15 (s.green)/15q11-q13/GABRB3 (s.orange)

### Diagnóza

Triplikácia chromozómovej oblasti 15q11.2-q13.1  
sseq [GRCH 37] 15q11. 2q13.1 (22800000 30000000) x4 NC 000015.9:g. 22800000 30000000dup; (6,56Mb) 126 génov  
MS-MLPA PW: maternálny pôvod

## Diskusia a záver



Obr. 8.: Intersticiálna a izodicentrická duplikačia 15q11.2-q13.1 (1)

**15q11-q13 duplikačný syndróm** (CHROMOSOME 15q11-q13 DUPLICATION SYNDROME; OMIM: 608636; ORPHA: 238446), Prevalencia je neznáma, 1-3% u osôb s autizmom (2)

- Kritický región **Prader-Willi/Angelman (PWACR)** – nestabilný, podlieha imprintingu.
- Paternálny pôvod – možný normálny fenotyp, maternálny pôvod: autizmus.
- Maternálna izodicentrická forma je závažnejšia. (3)
- Gény v tejto oblasti sú citlivé na dávku: *UBE3A* (OMIM 601623) - Angelman syndróm (OMIM 105830) a *GABRB3* (OMIM 137192): epilepsia, absencie, autizmus
- **Variabilný fenotyp:** hypotónia (novorodenec –floppy infant), vývinové zaostávanie, autizmus, mentálne zaostávanie, ataxia, epilepsia, absencie, poruchy správania a pozornosti, psychóza, infekcie stredného ucha môžu viesť k hluchote, riziko náhlej smrti počas spánku/epileptického záchvatu. (1-4)

Faedrus: „Nie vždy sú veci také, ako zdajú, mnohých oklame prvý dojem!“ (5)

Zoznam skratiek: CF: cystická fibróza, PMV: psychomotorický vývin, SMA: spinálna muskulárna atrofia, KMD: kongenitálna myotonická dystrofia

Literatúra:

1. <https://medlineplus.gov/genetics/condition/15q11-q13-duplication-syndrome/#resources>
2. Delahanty RJ, Kang JQ, Brune CW, Kistner EO, Courchesne E, Cox NJ, Cook EH Jr, Macdonald RL, Sutcliffe JS. Maternal transmission of a rare GABRB3 signal peptide variant is associated with autism. Mol Psychiatry. 2011 Jan;16(1):86-96. doi: 10.1038/mp.2009.118. Epub 2009 Nov 24. PMID: 19935738; PMCID: PMC3428055.
3. An evidence-based approach to establish the functional and clinical significance of copy number variants in intellectual and developmental disabilities; Kaminsky, Erin B et al.; Genetics in Medicine, Volume 13, Issue 9,777 - 784
4. Casamassa A, Ferrari D, Gelati M, Carella M, Vescovi AL, Rosati J. A Link between Genetic Disorders and Cellular Impairment, Using Human Induced Pluripotent Stem Cells to Reveal the Functional Consequences of Copy Number Variations in the Central Nervous System-A Close Look at Chromosome 15. Int J Mol Sci. 2020 Mar 9;21(5):1860. doi: 10.3390/ijms21051860. PMID: 32182809; PMCID: PMC7084702.
5. <https://citaty-slavnych.sk/autori/phaedrus/>

## Kazuistika:

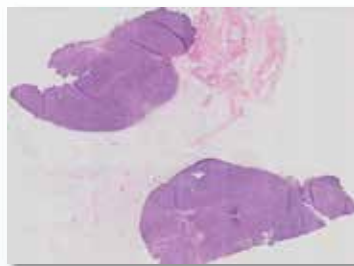
# Familiární nádory GIT asociované s Lynchovým syndromem

Mgr. Aneta Brisudová<sup>1,2</sup>, Mgr. Mária Janíková, Ph.D.<sup>1,2</sup>, Mgr. Gabriela Kořínková, Ph.D.<sup>1</sup>, Mgr. Jana Knillová, Ph.D.<sup>1</sup>, MUDr. Ladislava Kučerová<sup>1</sup>, Mgr. Kristýna Kolaříková, Ph.D.<sup>2</sup>, Mgr. Romana Kratochvílová<sup>2</sup>, MUDr. Renáta Šišperová<sup>2</sup>, MUDr. Lucia Punová<sup>2</sup>, MUDr. Enkhjargalan Mracká<sup>2</sup>, Ing. Rastislav Slavkovský, Ph.D.<sup>3</sup>, MUDr. Radmila Lemstrová, Ph.D.<sup>4</sup> doc. RNDr. Radek Vrtěl, Ph.D.<sup>2</sup>, doc. Mgr. Jan Bouchal, Ph.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav klinické a molekulární patologie,  
<sup>2</sup>Ústav lékařské genetiky  
<sup>3</sup>Ústav molekulární a translační medicíny  
<sup>4</sup>Onkologická klinika  
 FN a LF UP Olomouc

## Úvod:

**Kolorektální karcinom (CRC)** je jedním z nejčastěji diagnostikovaných nádorových onemocnění v ČR. Adenokarcinomy střev představují značnou část CRC a některé z nich se vyznačují vysokou **mikrosatelitní nestabilitou (MSI)**. Ta může být zapříčiněna mutací v tzv. „mismatch repair“ genech, hlavně **MLH1, MSH2, MSH6 nebo PMS2** a vzácně také patogenní variantou v genu **EPCAM**, bezprostředně sousedící a ovlivňující expresi genu **MSH2**. Asi nejznámějším syndromem bez přítomnosti polypů a vysokou MSI je „**LYNCHŮV SYNDROM**“

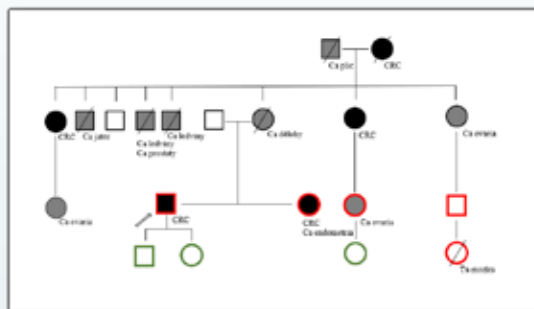


Obr. 1: IHC nádorové tkáně pacienta s Lynchovým syndromem

## Kazuistika:

Pacient **L.V.** odeslán z Onkologické kliniky FNOL (2018) s dg. karcinomu **tlustého střeva** (T3N2M0) ve 38 letech (2003), karcinomu střeva s metastázemi v játrech (pT3pN2M1) ve 43 letech (2008) a následnými operacemi pro nálezy dysplazií (2015, 2017, 2018).

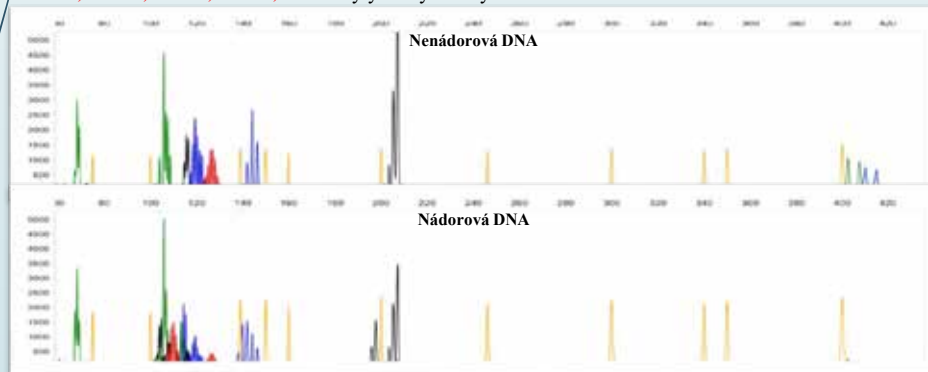
**Genealogicky:** Sestra žadatele s dg. karcinomu **tlustého střeva** (2012) ve 44 letech a endometroidního adenokarcinomu (pT2pN2M0) ve 49 letech (2017). Maternální teta prodělala **karcinom GIT** ve 44. Maternální sestřenic žadatele s dg. **karcinomu ovaria** ve 43 letech (2013) a **uroteliálního karcinomu** v 50 (2019).



Obr. 2: Rodokmen probanda znázorňující dědičnost Lynchova syndromu

## Diagnostika:

Histologicky byl u probanda L.V. diagnostikován **adenokarcinom tlustého střeva** s podezřením na Lynchův syndrom. Následně byla vyšetřena **MSI** a na základě výsledků bylo započato vyšetření hereditárních nádorových syndromů, se zaměřením na **Lynchův syndrom**. Mutační analýza panelu CZECANCA (Roche) byla vykonána metodou NGS. Větší přestavby genů **EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2** byly analyzovány metodou MLPA.

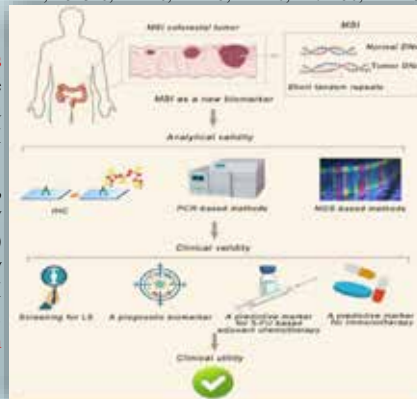


Obr. 3: Vyšetření mikrosatelitní nestability u probanda L.V. roč 1965 (metastáza v uzlině, rok 2021). Metoda dle National cancer institute - Division of cancer treatment and diagnosis, USA - lokusy TGFBR11, D5S346, BAT26, BAT25, BAT40, D17S250, D2S123

## Výsledky:

U probanda byl diagnostikován **adenokarcinom střeva s vysokou mikrosatelitní nestabilitou (MSI-H)**. Následně byla u probanda a členů rodiny s pozitivní onkologickou anamnézou identifikována pravděpodobně patogenní varianta v genu **MSH2**

(**NM\_000251.2:c.1815\_1817delTGT, p.Val606del, rs267607978**). Zatímco u zdravého syna a dcery probanda (t.č. 31 a 34 let) a maternální neteře (t.č. 30 let) tato varianta nalezena nebyla. Segregační analýza tedy naznačuje, že nalezení této pravděpodobně patogenní varianty objasňuje příčinu výskytu nádorů GIT v rodině. V rámci prevence CRC je u pacientů s **Lynchovým syndromem** doporučený pravidelný screening.



Obr. 4: Schéma využití MSI markerů. Převzato z: [Critical Reviews in Oncology/Hematology](#), January 2021, 103171

Tato práce byla podpořena grantem LF 2024\_010.

Vyhlášení o konfliktu zájmů autora – Nemám potenciální konflikt zájmů.



Faculty of Medicine  
and Dentistry  
Palacký University  
Olomouc



UNIVERSITY HOSPITAL  
OLOMOUC



Národné centrum zdravotníckych informácií

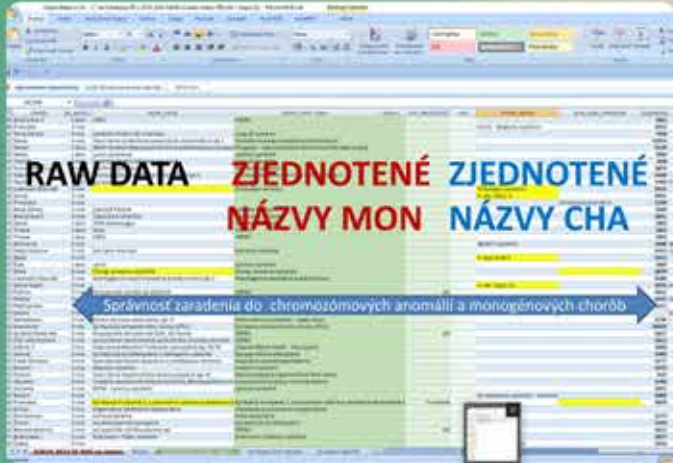
MUDR. FRANTIŠEK CISARIK, CSC  
ODDELENIE LEKÁRSKEJ GENETIKY FNŠP ŽILINA

Národný register vrodených chýb v NCZI  
základ registra zriedkavých chorôb

## ZRIEDKAVÉ GENETICKÉ CHOROBY – REGISTER NCZI ZA ROKY 2019 – 2023, PRIEBEŽNÉ VÝSLEDKY A NÁVRHY ZMIEN V HLÁSENÍ DO REGISTRA

Porovnanie 2 štatistík NCZI, a/ publikácia o genetických ZCH „Zriedkavé, genetické a dedičné choroby do 31.12.2018“ a b/ súbor „Zriedkavé, dedičné a genetické choroby 2019-2023“

Autor nemá ku téme konflikt záujmov



Národný register vrodených chýb zahŕňa:

- Register vrodených chýb u dieťa (vrátane vrodených chýb srdca)
- Register vrodených chýb u plodu – genetika
- Register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb

Register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb 2019-2023, porovnanie s rokmi 2014-2018, početnosť v skupinách

Skupina genetických ZCH	Roky 2014-2018	Roky 2019-2023
Klinicko-genetické syndrómy	126	87
Chromozómové anomálie	1592	1182
Monogénové choroby	4353	6954
Spolu	6071	8223

Poznámka: uverejnené priebežné údaje, finálne údaje sa budú meniť. Údaj: NCZI, Národný register vrodených chýb - register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb

Register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb 2019-2023, porovnanie s rokmi 2014-2018, početnosť chromozómových anomálií

Chromozómové anomálie	2014-2018	2019-2023
Mikrodelecie a mikroduplicácie	196	475
Parciálne delecie, parciálne duplikácie, derivované chromozómy, komplexné deldup, tetrazómie, inverzie, marker chromozómy, ring chromozómy, fragilita chromozómu	148	102
Aneuploidie autozómov	225	205
Heterochromozómové aneuploidie a anomálie	132	241
Translokácie recipročné a robertsonovské	112	160
Spolu	813	1182

Poznámka: uverejnené priebežné údaje, finálne údaje sa budú meniť. Údaj: NCZI, Národný register vrodených chýb - register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb

Submikroskopické chromozómové anomálie – mikrodelecie a mikroduplicácie, porovnanie dvoch 5-ročných súborov

	2014-2018	2019-2023
CHA spolu	813	1182
v tom mdel/mdup	196	475
% mdel/mdup	24,1%	40%

Poznámka: uverejnené priebežné údaje, finálne údaje sa budú meniť. Údaj: NCZI, Národný register vrodených chýb - register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb

### Literatúra:

- (1) Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: analysis of the Orphanet database, Stéphanie Nguyen, Wakap Deborah M. Lambert, Anzie Olyri, Charlotte Rodwell, Charlotte Gueydan, Valérie Lanneau, Daniel Murphy, Yvanne Cam'Ana Rath. Received: 13 April 2019 / Revised: 21 August 2019 / Accepted: 29 August 2019 © The Author(s) 2019. This article is published with open access European Journal of Human Genetics <https://doi.org/10.1038/s41431-019-0508-0>
- (2) Zriedkavé, genetické a dedičné choroby v SR k 31. 12. 2018. Publikácia NCZI © Národné centrum zdravotníckych informácií, Bratislava 2020, ISBN 978-80-89292-74-5

Monogénové choroby – obdobie 2019 – 2023  
Rozdelenie na onkologické a neonkologické ZCH  
% podiel hlásenia asymptomatických prenášačov

	2019 - 2023	ASYMPTOMATICKÝ PRENÁŠAČ	% PRENÁŠAČOV
ONKOLOGICKÉ	3130	1335	42,65
NEONKOLOGICKÉ	3824	217	5,67
SPOLU	6954		

Poznámka: uverejnené priebežné údaje, finálne údaje sa budú meniť. Údaj: NCZI, Národný register vrodených chýb - register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb

Monogénové choroby – porovnanie dvoch 5-ročných súborov  
Rozdelenie na onkologické a neonkologické ZCH  
% diagnóz potvrdených DNA výsledkom

	2014 - 2018	2019 - 2023
ONKOLOGICKÉ	1525	3130
NEONKOLOGICKÉ	1770	3824
Spolu	3295	6954
% DNA výsledkom	96,54%	97,16%

Poznámka: uverejnené priebežné údaje, finálne údaje sa budú meniť. Údaj: NCZI, Národný register vrodených chýb - register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb

Register dedičných, genetických a zriedkavých chorôb 2019-2023, porovnanie s rokmi 2014-2018, niektoré podstatné informácie

- ✓ Register genetických ZCH je od roku 2014 priebežne a spoľahlivo dopĺňaný lekármi- klinickými genetikmi
- ✓ V súčasnosti ročne pribudne viac ako 1300 nových hlásení o pacientoch s genetickou zriedkavou chorobou
- ✓ Podstatný nárast detekcie chromozómových anomálií (mdel/mdup) metódami arrayDNA
- ✓ U monogénových chorôb je celkový počet hlásení v rokoch 2019-2023 dvojnásobný oproti rokmi 2014-2018
- ✓ 97% monogénových chorôb má genetickú diagnózu potvrdenú nálezom vyšetrenia DNA
- ✓ 42% hlásení onkologických monogénových chorôb sú asymptomaticki prenášači – významný preventívny výsledok

### I. AKO ZDOKONALIŤ A ZJEDNODUŠIŤ DATABÁZU NCZI PRE LEKÁRSKU GENETIKU ?

- Neuvádzať nepotrebné údaje: iná dg; klinicko-genetický syndróm
- Nenahlasujeme prenášača RD a XRD choroby
- Uvádzať typ dedičnosti (AD, AR, XRD, XDD, MT...)
- Uvádzať názov génu a ZCH najmä podľa ORPHANET, OMIM
- Správne rozlíšenie hlásenia klinicky chorého od prenášača
- Jednoduchý, presný, zaužívaný zápis chromozómovej anomálie
- Vypracovať odporúčanie ku jednotnému zapisovaniu údajov (SSLG)

### II. AKO A KOMU POSKYTOVAŤ ÚDAJE Z DATABÁZY?

Pre žiadateľov dohodnúť postup s MZ SR a Výborom SSLG a v spolupráci s NCZI

### Návrh zmien v hlásení na rok 2025

### Podakovanie

Do registra dedičných, genetických a zriedkavých chorôb hlásili pacienti lekári – klinickí genetici z celej SR.

### Podakovanie Národnému centru zdravotníckych informácií

Podakovanie Národnému centru zdravotníckych informácií. Autor oceňuje a ďakuje za spoluprácu sekcii správy zdravotníckych dát pod vedením Ing. Martiny Nagyovej, riaditeľky sekcii správy zdravotníckych dát.

# Induction of chromosomal aberrations after exposure to miconazole in cattle *in vitro*



MVDr. Martina Galdíková PhD., doc. RNDr. Beáta Holečková PhD., MVDr. Viera Schwarzbacherová PhD., RNDr. Jana Halušková PhD., MVDr. Silvia Sedláková, MVDr. Jaroslav Bučan, MVDr. Dagmara Dolníková

Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice, Komenského 73, 04181 Košice, Slovakia

## INTRODUCTION

Conazoles are fungicides used to control fungal growth in agriculture and to treat fungal infections in humans and animals. The fungicidal properties of conazoles are caused by their inhibition of ergosterol biosynthesis.

## AIM

The present study has investigated the potential genotoxic effect of exposure to miconazole in bovine lymphocytes *in vitro*.



## MATERIAL AND METHODS

- The fungicide was dissolved in DMSO to prepare quantities of 2.5, 5, 10, and 25  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  for analysis after 48 h of exposure.
- Conventional chromosome analysis

## RESULTS

We found increase in chromosomal aberrations (CAs) in both donors after exposure to miconazole in dose dependent manner. A statistically significant elevation in chromosomal damage was seen at the 2 highest concentrations in both donors ( $p < 0.01$  or  $p < 0.05$ ). In donor 1, a statistically significant increase was also observed at the concentration 5  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . We observed decrease of mitotic activity in dose dependent manner, with statistical significance at highest concentrations.

Table: Induction of CA in bovine peripheral lymphocytes exposed to Miconazol for 48 h

Dose	Metaphase number	G	Types of CA				% Breaks ( $\pm$ SD)	% MI
			CB	IB	CE	IE		
Donor 1								
Control	100	5	1	1	-	-	2.0 $\pm$ 0.14	3.1
Mikonazol ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 48 h								
2.5	100	6	2	4	-	-	6.0 $\pm$ 0.238	3.0
5	100	3	4	3	-	-	7.0 $\pm$ 0.255*	3.0
10	100	2	6	4	-	-	10.0 $\pm$ 0.3**	2.2
25	100	5	4	3	-	-	7.0 $\pm$ 0.255*	1.6*
MMC (0.4 $\mu\text{M}$ )	100	10	14	7	-	-	21.0 $\pm$ 0.407***	0.6***
Donor 2								
Control	100	4	-	2	-	-	2.0 $\pm$ 0.14	2.9
Mikonazol ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 48 h								
2.5	100	8	3	2	-	-	5.0 $\pm$ 0.218	2.8
5	100	4	5	1	-	-	6.0 $\pm$ 0.238	2.5
10	100	3	2	8	-	-	10.0 $\pm$ 0.3**	2.2
25	100	2	5	2	-	-	7.0 $\pm$ 0.255*	1.6*
MMC (0.4 $\mu\text{M}$ )	100	11	12	8	1	-	22.0 $\pm$ 0.414***	0.4***

### Acknowledgment

This study was supported by the Slovak Scientific Agency VEGA 1/0166/21

Autor tohto posteru nemá žiadny finančný alebo osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu.

# Ľudský papilomavírus (HPV) – nádej ukrytá v pozitívite



RNDr. Ivana Hojsíková, Mgr. Lenka Prokopcová  
Laboratórium lekárskej genetiky, Cytopathos, spol. s r.o., Bratislava

## ÚVOD:

HPV asociovaný orofaryngeálny skvamocelulárny karcinóm (SCC) je charakteristický signifikantne lepšou prognózou v porovnaní s HPV-negatívnymi karcinómami orofarynxu (1,3). HPV pozitívni pacienti sú častejšie mladší muži, nefajčiari s nižšou konzumáciou alkoholu, s lepšou odpoveďou na liečbu a priaznivejšou prognózou (tab. 1)(1).

Významnou kategóriou karcinómov sú metastázy neznámeho pôvodu. Dôkaz vírusu v metastáze SCC neznámeho pôvodu v oblasti hlavy a krku môže dramaticky zmeniť liečebné postupy (3). Cieľom detekcie HPV v tkanive je deeskalácia liečby, keďže tradičná liečba karcinómu hlavy a krku je agresívna a možno nie je nevyhnutná pre pacientov s HPV pozitívnym karcinómom. V budúcnosti sa tiež počíta s využitím vakcinačnej liečby (1,2)

	HPV +	HPV-
Anatomická lokalizácia	Podnebné mandle, koreň jazyka	Všetky oblasti orofaryngu
Vek	<60rokov	>60rokov
Pohlavie	Muži 3:1	
Rizikové faktory	Sexuálne správanie, marihuana, imunosupresia	Fajčenie, alkohol, výživa, orálna hygiena
Prežívanie	lepšie	horšie
Duplicitné nádory	zriedka	častejšie
IHC	p16 +	P16 -
Genotypizácia HPV, prognóza	HPV16 najčastejšie, priaznivá p. HPV18 menej časté, horšia p. HPV33, 35 zriedkavé, stredná p.	

Tabuľka 1: Všeobecná charakteristika a hlavné rozdiely medzi HPV asociovanými a HPV neasociovanými nádormi orofaryngu (1)

## MATERIÁL A METÓDY:

Biologický materiál	
FFPE	Nádorové tkanivo z oblasti hlavy a krku fixované formalínom a zaliate do parafínu
Metódy	
Maxwell®RSC FFPE DNA Kit (Promega)	Extrakcia DNA z FFPE materiálu
RealTime PCR	Multiplexná RealTime PCR - test určený na simultánnu amplifikáciu a detekciu 28 typov HPV
Allplex™HPV28 Detection (Seegene)	Test využíva technológiu DPO™, TOCE™, MuDT™ a 3 Ct, ktorá umožňuje získať viacero Ct hodnôt naraz v jednom fluorescenčnom kanáli bez vplyvu na senzitivitu a špecifickosť

## SÚBOR PRÍPADOV A VÝSLEDKY:

Primárny nádor					
Pôvodná diagnóza	Pohlavie	vek	HPV genotyp	P16	Diagnóza po HPV analýze
Zhubný nádor hrtana	♂	42	16	+	SCC hrtana
Zhubný nádor tvrdého podnebia (tonzily)	♂	58	16	+	SCC tvrdého podnebia (lymphoepithelioma like)
Zhubný nádor stredného ucha, nosovej dutiny a prínosových dutín so zlou prognózou	♀	53	33	+	HPV asociovaný multifenotypický karcinóm s oveľa priaznivejšou prognózou
Zhubný nádor prednej plochy hrtanovej príchlôpky (epiglottis)	♂	66	16	+	SCC prednej plochy hrtanovej príchlôpky
Metastáza neznámeho pôvodu					
Pôvodná diagnóza	Pohlavie	vek	HPV genotyp	P16	Diagnóza po HPV analýze
Maligný malobunkový tumor pečene	♀	39	18	+	Metastáza malobunkového karcinómu (pôvod v orofarynxu / cervixe)
Cystický tumor na krku (lymfatická uzlina)	♂	63	16	+	Metastáza HPV asociovaného SCC (pôvod v orofarynxu)

## ZÁVER:

Objav, že HPV je asociovaný so zvyšujúcou sa incidenciou orofaryngeálnych karcinómov, je jedným z najvýznamnejších pokrokov v onkológii hlavy a krku. Konečným cieľom v liečbe pre všetky HPV asociované malignity je vývoj špecifickej liečby, ktorá bude cielená na vírusové onkoproteíny. Náš súbor tvorí niekoľko skvelých príkladov, kedy bola na základe HPV analýzy upravená definitívna diagnóza a radikálne zmenený liečebný postup. V takýchto prípadoch je na konci diagnostického algoritmu pacient, pre ktorého zmena liečby znamená oveľa vyššiu kvalitu života a často väčšiu nádej na vyliečenie.

### Použitá literatúra

- Štefanička P.: Ľudským papilomavírusom asociovaný karcinóm orofaryngu. Onkológia (Bratisl.), 2015; roč.10(3); 189-192
- Gurín D., Slávik M., Shatikhina T., Kazda T., Šána J., Slabý O., Hermanová M.: Současný pohled na HPV asociované karcinomy orofaryngu a roli p16 jako surogátneho markeru high-risk HPV. Klin Onkol 2019; 32(4) 252-260
- Švajdler M., Laco J., Ondič O., Kašpírková J., Mezencev R., Michal M., Skálová A.: HPV-asociované karcinomy hlavy a krku: Aktualizácia poznatkov a odporúčania pre prax. Cesk Patol 2016; 52 (3): 130-138

Autor tohto posteru nemá žiadny finančný alebo osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu.





**ÚČINKY CHINAZOLINÓNOVÉHO LIGANDU Q3 A JEHO MEĎNATÉHO KOMPLEXU Q3-CU(II) NA PRSNÍKOVÉ ADENOKARCINÓMOVÉ MCF-7 A NETUMORIGÉNNE BUNKY MCF-10A PRI KOMBINOVANOM OVPLYVNEŇÍ S CISPLATINOU**



Mgr. Eva Horváthová, PhD. <sup>1</sup>, Bc. Peter Hergott <sup>2</sup>, RNDr. Zuzana Hricoviniová, PhD. <sup>3</sup>

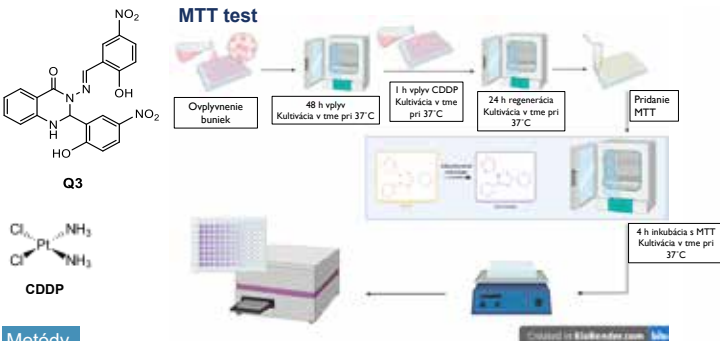
<sup>1</sup> Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Ústav experimentálnej onkológie, Bratislava; eva.horvathova@savba.sk

<sup>2</sup> Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra genetiky, Bratislava

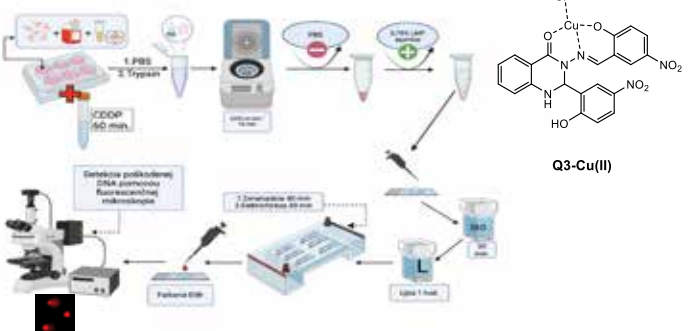
<sup>3</sup> Chemický ústav Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Bratislava

**Úvod**

Jedným z prístupov terapie nádorových ochorení je aplikácia chemoterapeutickej liečby. Avšak tento spôsob liečby je často sprevádzaný vedľajšími efektami v podobe ťažkej toxicity a častým vznikom rezistencie, či sekundárnych malignít [1]. Medzi najpoužívanejšie chemoterapeutiká súčasnosti patrí cisplatina (CDDP). Napriek dlhému a intenzívnemu obdobiu využívania je jej aplikácia spojená s vážnymi vedľajšími účinkami, ktorých odstránenie je veľkou výzvou pri zlepšovaní kvality života a prežívania pacientov. Jednou z možností ako sa onkológovia snažia predchádzať týmto vedľajším efektom, je aplikácia látok so schopnosťou potlačiť toxický efekt liečiva bez ovplyvnenia cytostatického účinku, či vývoj nových zlúčenín s vyššou efektivitou a miernejšími vedľajšími účinkami. Medzi preparáty s takýmto potenciálom zaraďujeme deriváty chinazolinónov. Sú to heterocyklické zlúčeniny vznikajúce kondenzáciou benzénového a pyrimidínového kruhu [2]. Bolo pripravených mnoho derivátov so širokým spektrom biologických aktivít, ako napríklad antimikrobiálne, antimalarické, antioxidantné, protizápalové, antikonvulzívne, antihypertenzné, antiadiabetické aktivity, dokonca aj s protinádorovým pôsobením [3].

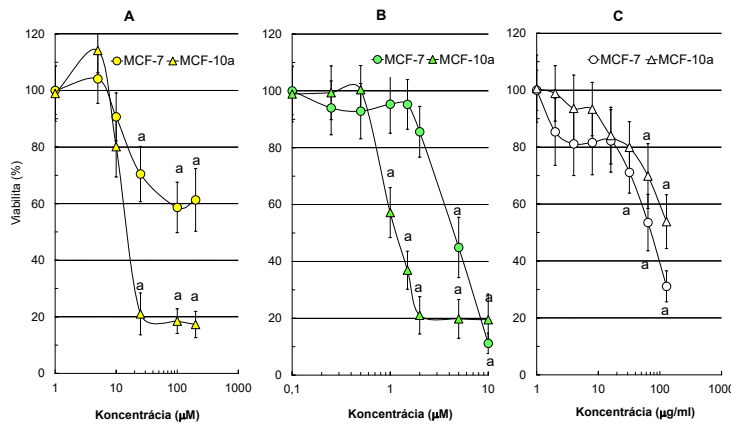


**Kométový test**

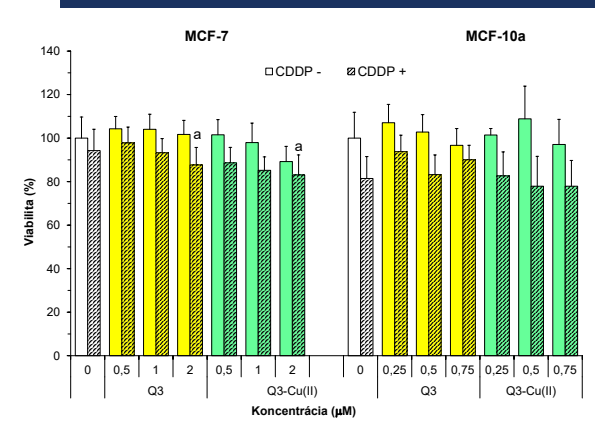


**Metódy**

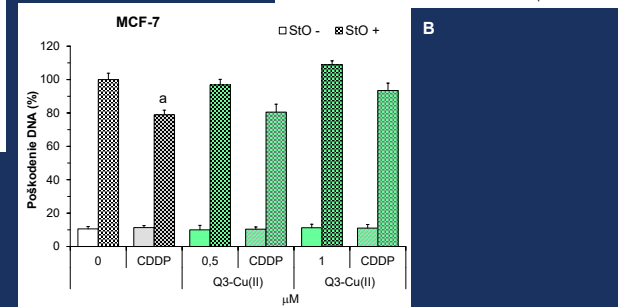
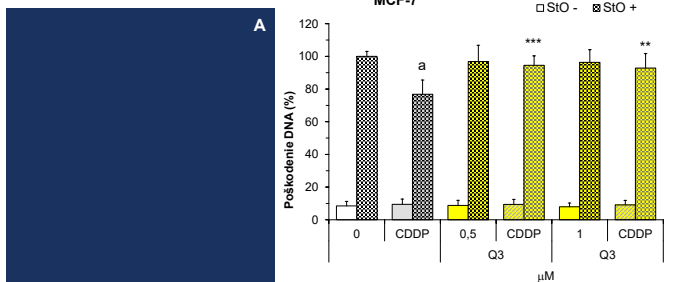
K často využívaným metódam pri testovaní novosyntetizovaných zlúčenín a detekcii ich biologickej aktivity sa zaraďujú MTT test [4] či kométový test [5]. MTT test je kolorimetrická metóda, pomocou ktorej boli určované zmeny v metabolickej aktivite prsníkových nádorových MCF-7 a nenádorových buniek MCF-10a po ovplyvnení študovanými zlúčeninami a kométovým testom bolo detegované nimi spôsobené poškodenie DNA.



Prežívania buniek (MTT test) MCF-7 a MCF-10a po 48 h ovplyvnení ligandom Q3 (A), meďnatým komplexom Q3-Cu(II) (B) a po 1 h vplyve cisplatiny (CDDP; C). \*p<0,001 štatisticky preukazný pokles viability buniek voči negatívnej kontrole



Prežívania buniek (MTT test) MCF-7 a MCF-10a po 48 h ovplyvnení ligandom Q3 (žltá) alebo meďnatým komplexom Q3-Cu(II) (zelená) v kombinácii s 1 h vplyvom CDDP (8 µg/ml). \*p<0,001 štatisticky preukazný pokles viability buniek voči negatívnej kontrole



Poškodenie DNA (kométový test s modifikáciou na detekciu krížových väzieb) buniek MCF-7 po 48 h ovplyvnení ligandom Q3 (A; žltá) alebo meďnatým komplexom Q3-Cu(II) (B; zelená) v kombinácii s 1 h vplyvom CDDP (8 µg/ml). \*p<0,001 štatisticky preukazný rozdiel voči negatívnej kontrole so StO; \*\*\*p<0,001, \*\*p<0,01 štatisticky preukazný rozdiel voči pozitívnej kontrole so StO

**Výsledky a záver**

Identifikovali sme cytotoxické účinky testovaných zlúčenín samotných, ako aj ich kombinácií s cisplatinou. Výsledky MTT testu naznačili, že najvhodnejšie koncentrácie na ďalšie experimentovanie sú 0,5-1 µM Q3 a Q3-Cu(II) pre bunky MCF-7 resp. 0,25-0,75 µM Q3 a Q3-Cu(II) pre bunky MCF-10a a ich kombinácií s 8 µg/ml cisplatinou.

Hodnotenie pomocou kométového testu ukázalo, že chinazolinónový ligand Q3 pôsobil pri koncentrácii 0,5-1 µM protektívne voči indukcií poškodení DNA pred aplikáciou cisplatinu na bunky MCF-7, zatiaľ čo meďnatý komplex Q3-Cu(II) stabilizoval poškodenie DNA indukované cisplatinou.

**Referencie**

[1] Ghosh S. (2019) Bioorg. Chem. 88, 102925 [2] Ajani O.O., et al. (2016) Bangladesh J. Pharmacol. 11(3), 716-733 [3] Al-Shamary D.S., et al. (2017) Chem. Cent. J. 11(1), 48  
[4] Ghasemi M., et al. (2021) Int. J. Mol. Sci., 22(23), 12827 [5] Collins, A., et al. (2023), Nature Protocols, 18, 929-989

Podporené: VEGA 2/0071/22, 1/0460/21; Operačný program Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Posilnenie výskumných, vývojových a inovačných kapacít tranšlačného biomedicínskeho výskumu ľudských ochorení, kód ITMS: 313021BZC9 spolufinancovaný zo zdrojov ERDF; TRANSMED ITMS: 26240120008 a ITMS: 26240220071 podporený Operačným programom Výskum & Vývoj financovaným ERDF

## Případové studie hodnocení celoexomových dat (WES) za použití aplikace Franklin (Genoox)

Hrabíková M., Král J., Chvojka Š., Černá L., Zembol F., Bittóová M., Koudová M.  
Molekulárně genetická laboratoř, GNTLabs by GENNET, s.r.o., Praha, Česká Republika

### Úvod:

Sequenování klinického exomu (CES) a celoexomové sequenování (WES) patří do laboratorních metod vhodných pro prenatalní i postnatální diagnostiku, zejména v případech, kdy se jedná o fenotyp se známou genetickou etiologií. Vybrané případové studie ilustrují možnosti jejich použití.

### Metoda:

Pro přípravu knihoven (192 vzorků) používáme v naší laboratoři WES panel od Twist Bioscience (Exome 2.0 VCGS) a pipetovací automaty CyBio Felix, Analytic Jena. Knihovny sekvenujeme na sekvenátoru NovaSeq X Plus (Illumina). Primární výstupní data z NovaSeq X Plus analyzujeme softwarem DRAGEN (FPGatechnology). Sekundární a terciární analýzu hodnotíme od roku 2024 v aplikaci Franklin (Genoox). Posuzujeme geny spojené s HPO termy včetně analýzy CNV (analýza pokrytí sekvencí a Franklin-Rainbow). Ve výsledných zprávách pacientů standardně také reportujeme varianty pro reprodukční riziko partnerů z CarrierTest by Gennet [<https://www.gntlabs.cz/geneticka-vysetreni/carriertest-prekoncepni-panel>], varianty z panelu Czezanca (CZechCancerpaNelforClinicalApplication) [Soukupova et al., 2018, doi: 10.1371/journal.pone.0195761] a varianty genů dle ACMG doporučení pro sekundární nálezy [<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37347242/>]. Aplikace Franklin je univerzální nástroj, který slouží k hodnocení exomových dat s využitím obsáhlé databáze a umělé inteligence. Zefektivňuje cestu od vzorku k vytvoření výsledné laboratorní zprávy. Pomáhá dospět k závěru o patogenicitě variant.

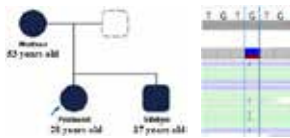
Obrázek 1: Pracovní postup



### Případové studie:

#### Případ 1

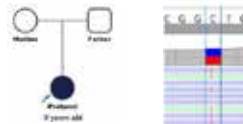
HP:0001459 1-3 toe syndactyly, HP:0006261 Abnormal phalangeal joint morphology of the hand, HP:0010441 Ectopic accessory finger-like appendage, HP:0001161 Hand polydactyly, HP:0001162 Postaxial hand polydactyly, HP:0011729 Abnormality of joint mobility



Heterozygotní missense varianta **c.1696C>G, p.His566Asp** (NM\_000168.6) v genu **GLI3** byla nalezena u všech testovaných rodinných příslušníků. Varianta dosud nebyla popsána v klinických databázích (ClinVar) ani v populačních databázích (gnomAD). Gen **GLI3** kóduje transkripční faktor účastnící se kanonické signální dráhy Hedgehog, která je regulátorem embryonálního vývoje prstů. Vzhledem k extrémně vzácnému výskytu varianty a fenotypové shodě s již popsanými případy se domníváme, že by nalezená varianta mohla být kauzální pro polydaktylii a syndaktylii v rodině. Doporučujeme provést segregáční analýzu u zbylých členů rodiny, pro potvrzení spojení nosičství varianty s fenotypem. Variantu hodnotíme jako class 3 – variantu nejasnějšího významu.

#### Případ 2

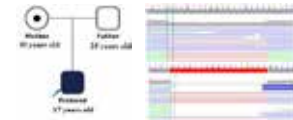
HP:0000253 Progressive microcephaly, HP:0002415 Leukodystrophy, HP:0001272 Cerebellar atrophy, HP:0007370 Aplasia/Hypoplasia of the corpus callosum, HP:0100660 Dyskinesia, HP:0001332 Dystonia, HP:0002376 Developmental regression, HP:0001268 Mental deterioration, HP:0033044 Motor regression, HP:0007429 Few café-au-lait spots, HP:0001251 Ataxia, HP:0001276 Hypertonia, HP:0000750 Delayed speech and language development, HP:0001760 Abnormal foot morphology, HP:0004326 Cachexia



De novo heterozygotní missense varianta **c.745G>A, p.Asp249Asn** (NM\_006087.4, rs483352809) byla nalezena v genu **TUBB4A**. Jedná se o vzácnou variantu, která není přítomna v populační databázi gnomAD a klinické databázi ClinVar je hodnocena jako patogenní. Varianta byla dříve pozorována u pacientů s hypomyelinizační leukodystrofií 6 (OMIM #612438) [PMID: 23582646, PMID:24785942]. Toto onemocnění se projevuje opožděným motorickým vývojem, dystonií, epileptickými záchvaty a často také opožděnou řečí [PMID: 23582646]. Nalezená varianta se nachází v evolučně vysoce konzervované oblasti funkční domény proteinového produktu **TUBB4A**. Varianta je in silico analýzou (VarSome, Franklin) predikována jako patogenní. Funkční studie na myších potvrdila kauzální spojení této varianty s leukodystrofií [PMID: 32463361]. Variantu hodnotíme jako class 5 – patogenní.

#### Případ 3

HP:0000044 Hypogonadotrophic hypogonadism, HP:0000458 Anosmia, HP:0010633 Partial anosmia, HP:0001335 Bimanual synkinesia, HP:0008689 Bilateral cryptorchidism, HP:0000077 Abnormality of the kidney, HP:0000104 Renal agenesis, HP:0008678 Renal hypoplasia/aplasia, HP:0000003 Multicystic kidney dysplasia



Hemizygotní posunová varianta **c.1120\_1136del, p.Gln375GlyfsTer30** (NM\_000216.4) v genu **ANOS1** byla nalezena u probanda. Stejná varianta byla nalezena v heterozygotní podobě u matky probanda. Varianta dosud nebyla popsána v klinických databázích (ClinVar) ani v populačních databázích (gnomAD). Gen **ANOS1** je jedním z genů spojených s Kalmanovým syndromem (OMIM: 308700), vzácným X-vázaným recesivním onemocněním. Kalmanův syndrom se vyznačuje kongenitálním idiopatickým hypogonadotropním hypogonadismem. Pohlavní maturace je u lidí postižených tímto syndromem buď nekompletní, nebo zcela chybějící [Raivio et al., N Engl J Med. 2007 doi: 10.1056/NEJMoa066494]. Protein truncační varianty v genu **ANOS1** jsou dobře popsaným mechanismem vzniku onemocnění. Predikční softwary Franklin a VarSome shodně hodnotí nalezenou variantu jako variantu poškozující funkci proteinu a pravděpodobně patogenní. U varianty byla pozorována segregace v rodině s častým výskytem Kalmanova syndromu. Z výše uvedených důvodů variantu hodnotíme jako class 4 – pravděpodobně patogenní.

### Závěr:

Celkový počet dosud zpracovaných vzorků uvedenými metodami CES a WES byl 138 (85 případů). 18 případů z nich představovalo prenatalní klinický exom, kde jsme našli genetickou kauzality v 11%. 67 případů z nich tvořilo postnatální klinický exom, kde jsme našli genetickou kauzality v 13 %.

Úspěšnost nalezení kauzální varianty závisí na přesné definici fenotypu a znalost správné diagnózy je zásadní pro budoucnost plodu i páru, probanda a dalších rodinných příslušníků. Sekvenování nové generace (NGS) a aplikace Franklin, Genoox (pro sekundární a terciární analýzu) jsou společně velmi dobrými nástroji pro analýzu a hodnocení zárodečných variant v genech spojených s HPO termy pacientů.

[www.gennet.cz](http://www.gennet.cz)  
[michala.hrabikova@gennet.cz](mailto:michala.hrabikova@gennet.cz)

# Vyhodnocení genomických TRIO dat u endemického parkinsonismu

1Kristýna Kolaříková, 1Radek Vodička, 1Radek Vrtěl, 2Kateřina Menšíková, 1Martin Procházka a 2Petr Kaňovský  
1Ústav lékařské genetiky Fakultní nemocnice Olomouc a Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci  
2Neurologická klinika Fakultní nemocnice Olomouc a Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

## Úvod

Parkinsonismus patří mezi častá neurodegenerativní onemocnění. Na základě naší předchozí epidemiologické studie jsme popsali vyšší prevalenci tohoto onemocnění na Horňácku (oblast jihovýchodní Moravy) (Obrázek č.1).

## Cíle studie

- 1) vybrat vhodné a dostupné vzorky pro WGS
- 2) provést WGS u vybraných jednotlivců
- 3) vyhodnotit nalezené genetické varianty pomocí Varsome Clinical

## Metody

Celogenomové sekvenování (platforma Illumina) bylo provedeno u 5 trií. Nalezené varianty byly filtrovány s ohledem na jejich frekvenci v populaci <0,1% (MAF-frekvence minoritní alely), klasifikace varianty dle databáze ClinVar a dále s ohledem na fenotyp (geny asociované s parkinsonismem).



Obrázek č.1 Rodokmen z Horňácka, šedě zvýraznění jedinci byli vybráni k celogenomovému sekvenování

## Výsledky

V rámci každého tria jsme našli kolem 7 milionů variant, z toho 300 z nich je v exonových a sestřihových oblastí. V této studii nebyla nalezena žádná kauzální varianta. Nicméně bylo nalezeno několik zajímavých (vzácné, související s fenotypem) variant. Jedna z těchto variant je *LRRK2*(NM\_198578.4):c.1898C>T p.(Ser633Phe), která byla nalezena u dvou pacientů a také u zdravého příbuzného (Trio 1). Gen *LRRK2* je nejčastěji mutovaným genem u pacientů s parkinsonismem. Vzhledem k věku příbuzného zdravého jedince a projevu parkinsonismu by bylo vhodné jej znovu dovyšetřit.

**Závěr:** Žádná founder mutace napříč celým rodokmenem - spíše kombinace většího množství rizikových genetických vlivů

Table 1 – Summary of preliminary WGS data from Varsome Clinical:

Varsome Clinical variant filters	Phenotype (parkinsonism) filter;	Phenotype (parkinsonism) and MAF = 0 (gnomAD)	Pathogenic and likely pathogenic from whole genome (ClinVar)
Trio 1 (1,2,21)	16435	117	31
Trio 2 (7,8,29)	13648	102	27
Trio3 (11,31,85)	14855	121	30
Trio 4 (9,10,30)	14883	114	23
Trio 5 (3,4,6)	16534	168	35



Obrázek č.2 Nalezené varianty u Tria č.1



Obrázek č.3 Informace o variantě *LRRK2*(NM\_198578.4):c.1898C>T p.(Ser633Phe)

Tato práce byla podpořena grantem MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892).  
Autor tohoto posteru nemá žádný finanční nebo osobní střet zájmů, který by mohl ovlivnit obsah předkládaného materiálu.

Mgr. Kristýna Kolaříková, Ph.D.  
Ústav lékařské genetiky Fakultní nemocnice Olomouc  
I.P.Pavlova 6 Olomouc  
E-mail: kristyna.kolarikova@fnol.cz

# Genetická diagnostika porúch autistického spektra – záchyt kauzálnych DNA variantov

Silvia Lakatošová<sup>1</sup>, Gabriela Repiská<sup>1</sup>, Michaela Miklošovičová<sup>2</sup>, Alica Valachová<sup>3</sup>, Silvia Vogelová<sup>4</sup>, Dana Kantarská<sup>5</sup>, Mária Kopčíková<sup>1</sup>, Lenka Wachsmannová<sup>6</sup>, Gabriela Krasňanská<sup>6,7</sup>, Daniela Ostatníková<sup>1</sup>, Michal Konečný<sup>6,7</sup>

1) Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Fyziologický ústav, Akademické centrum výskumu 5) Ambulancia lekárskej genetiky, Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica autizmu, Bratislava

2) Oddelenie lekárskej genetiky, Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitetnej Nemocnice Bratislava

6) Laboratórium genomickej medicíny, GHC GENETICS SK s.r.o., Univerzitný park UK, Bratislava

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

3) Oddelenie lekárskej genetiky, Fakultná nemocnica Trenčín

4) Ambulancia lekárskej genetiky GHC GENETICS SK, Fakultná nemocnica Nitra

Autizmus patrí medzi neurovývinové ochorenia s neobjasnenou etiológiou, pričom sa predpokladá veľký podiel genetických faktorov na manifestácii ochorenia. V Akademickom centre výskumu autizmu sme v spolupráci s klinicko-genetickými pracoviskami a s Laboratóriom genomickej medicíny, GHC GENETICS SK uskutočnili pomocou prístupu celoxómového sekvenovania genetické vyšetrenie na prítomnosť kauzálnych DNA variantov u 16 detí s autizmom (4 dievčat a 12 chlapcov). Súčasťou súboru boli tri páry dvojvajejných dvojčiat. V prípade porúch autistického spektra genetická diagnostika s prístupom selekcie zriedkavých variantov so závažným klinickým efektom prináša často nejasný záver. V nami analyzovaných vzorkách sme len u 1 pacientky zaznamenali kauzálny nález vysvetľujúci fenotyp autizmu, bol to homozygotný variant c.694T>G/ p.(Phe232Val) v géne EIF3F spôsobujúci Intelektové zaostávanie autozómovo recesívne 67. U ostatných pacientov sme zaznamenali suspektné varianty s pravdepodobne patogénnym alebo nejasným klinickým efektom v rôznych génoch v rámci virtuálneho panela pre autizmus (gény zo SFARI databázy a z HPO databázy pre fenotyp autizmu a intelektového zaostávania), avšak nejednalo sa o varianty kauzálne. Nižšie uvádzame prehľad jednotlivých náleзов.

ID pacienta	AS	AS	AS	MS	MS	OP	LT	RE	TT	VH	OK	OS	NC	MM	MM	MS
Kauzálny nález	EIF3F															
SNV	AP1	ATP1A1	CDNF	EFNA1	EFNA2	EFNA3	EFNA4	EFNA5	EFNA6	EFNA7	EFNA8	EFNA9	EFNA10	EFNA11	EFNA12	EFNA13
SNV	EFNA14	EFNA15	EFNA16	EFNA17	EFNA18	EFNA19	EFNA20	EFNA21	EFNA22	EFNA23	EFNA24	EFNA25	EFNA26	EFNA27	EFNA28	EFNA29
SNV	EFNA30	EFNA31	EFNA32	EFNA33	EFNA34	EFNA35	EFNA36	EFNA37	EFNA38	EFNA39	EFNA40	EFNA41	EFNA42	EFNA43	EFNA44	EFNA45
SNV	EFNA46	EFNA47	EFNA48	EFNA49	EFNA50	EFNA51	EFNA52	EFNA53	EFNA54	EFNA55	EFNA56	EFNA57	EFNA58	EFNA59	EFNA60	EFNA61
SNV	EFNA62	EFNA63	EFNA64	EFNA65	EFNA66	EFNA67	EFNA68	EFNA69	EFNA70	EFNA71	EFNA72	EFNA73	EFNA74	EFNA75	EFNA76	EFNA77
SNV	EFNA78	EFNA79	EFNA80	EFNA81	EFNA82	EFNA83	EFNA84	EFNA85	EFNA86	EFNA87	EFNA88	EFNA89	EFNA90	EFNA91	EFNA92	EFNA93
SNV	EFNA94	EFNA95	EFNA96	EFNA97	EFNA98	EFNA99	EFNA100	EFNA101	EFNA102	EFNA103	EFNA104	EFNA105	EFNA106	EFNA107	EFNA108	EFNA109
SNV	EFNA110	EFNA111	EFNA112	EFNA113	EFNA114	EFNA115	EFNA116	EFNA117	EFNA118	EFNA119	EFNA120	EFNA121	EFNA122	EFNA123	EFNA124	EFNA125
SNV	EFNA126	EFNA127	EFNA128	EFNA129	EFNA130	EFNA131	EFNA132	EFNA133	EFNA134	EFNA135	EFNA136	EFNA137	EFNA138	EFNA139	EFNA140	EFNA141
SNV	EFNA142	EFNA143	EFNA144	EFNA145	EFNA146	EFNA147	EFNA148	EFNA149	EFNA150	EFNA151	EFNA152	EFNA153	EFNA154	EFNA155	EFNA156	EFNA157
SNV	EFNA158	EFNA159	EFNA160	EFNA161	EFNA162	EFNA163	EFNA164	EFNA165	EFNA166	EFNA167	EFNA168	EFNA169	EFNA170	EFNA171	EFNA172	EFNA173
SNV	EFNA174	EFNA175	EFNA176	EFNA177	EFNA178	EFNA179	EFNA180	EFNA181	EFNA182	EFNA183	EFNA184	EFNA185	EFNA186	EFNA187	EFNA188	EFNA189
SNV	EFNA190	EFNA191	EFNA192	EFNA193	EFNA194	EFNA195	EFNA196	EFNA197	EFNA198	EFNA199	EFNA200	EFNA201	EFNA202	EFNA203	EFNA204	EFNA205
SNV	EFNA206	EFNA207	EFNA208	EFNA209	EFNA210	EFNA211	EFNA212	EFNA213	EFNA214	EFNA215	EFNA216	EFNA217	EFNA218	EFNA219	EFNA220	EFNA221
SNV	EFNA222	EFNA223	EFNA224	EFNA225	EFNA226	EFNA227	EFNA228	EFNA229	EFNA230	EFNA231	EFNA232	EFNA233	EFNA234	EFNA235	EFNA236	EFNA237
SNV	EFNA238	EFNA239	EFNA240	EFNA241	EFNA242	EFNA243	EFNA244	EFNA245	EFNA246	EFNA247	EFNA248	EFNA249	EFNA250	EFNA251	EFNA252	EFNA253
SNV	EFNA254	EFNA255	EFNA256	EFNA257	EFNA258	EFNA259	EFNA260	EFNA261	EFNA262	EFNA263	EFNA264	EFNA265	EFNA266	EFNA267	EFNA268	EFNA269
SNV	EFNA270	EFNA271	EFNA272	EFNA273	EFNA274	EFNA275	EFNA276	EFNA277	EFNA278	EFNA279	EFNA280	EFNA281	EFNA282	EFNA283	EFNA284	EFNA285
SNV	EFNA286	EFNA287	EFNA288	EFNA289	EFNA290	EFNA291	EFNA292	EFNA293	EFNA294	EFNA295	EFNA296	EFNA297	EFNA298	EFNA299	EFNA300	EFNA301
SNV	EFNA302	EFNA303	EFNA304	EFNA305	EFNA306	EFNA307	EFNA308	EFNA309	EFNA310	EFNA311	EFNA312	EFNA313	EFNA314	EFNA315	EFNA316	EFNA317
SNV	EFNA318	EFNA319	EFNA320	EFNA321	EFNA322	EFNA323	EFNA324	EFNA325	EFNA326	EFNA327	EFNA328	EFNA329	EFNA330	EFNA331	EFNA332	EFNA333
SNV	EFNA334	EFNA335	EFNA336	EFNA337	EFNA338	EFNA339	EFNA340	EFNA341	EFNA342	EFNA343	EFNA344	EFNA345	EFNA346	EFNA347	EFNA348	EFNA349
SNV	EFNA350	EFNA351	EFNA352	EFNA353	EFNA354	EFNA355	EFNA356	EFNA357	EFNA358	EFNA359	EFNA360	EFNA361	EFNA362	EFNA363	EFNA364	EFNA365
SNV	EFNA366	EFNA367	EFNA368	EFNA369	EFNA370	EFNA371	EFNA372	EFNA373	EFNA374	EFNA375	EFNA376	EFNA377	EFNA378	EFNA379	EFNA380	EFNA381
SNV	EFNA382	EFNA383	EFNA384	EFNA385	EFNA386	EFNA387	EFNA388	EFNA389	EFNA390	EFNA391	EFNA392	EFNA393	EFNA394	EFNA395	EFNA396	EFNA397
SNV	EFNA398	EFNA399	EFNA400	EFNA401	EFNA402	EFNA403	EFNA404	EFNA405	EFNA406	EFNA407	EFNA408	EFNA409	EFNA410	EFNA411	EFNA412	EFNA413
SNV	EFNA414	EFNA415	EFNA416	EFNA417	EFNA418	EFNA419	EFNA420	EFNA421	EFNA422	EFNA423	EFNA424	EFNA425	EFNA426	EFNA427	EFNA428	EFNA429
SNV	EFNA430	EFNA431	EFNA432	EFNA433	EFNA434	EFNA435	EFNA436	EFNA437	EFNA438	EFNA439	EFNA440	EFNA441	EFNA442	EFNA443	EFNA444	EFNA445
SNV	EFNA446	EFNA447	EFNA448	EFNA449	EFNA450	EFNA451	EFNA452	EFNA453	EFNA454	EFNA455	EFNA456	EFNA457	EFNA458	EFNA459	EFNA460	EFNA461
SNV	EFNA462	EFNA463	EFNA464	EFNA465	EFNA466	EFNA467	EFNA468	EFNA469	EFNA470	EFNA471	EFNA472	EFNA473	EFNA474	EFNA475	EFNA476	EFNA477
SNV	EFNA478	EFNA479	EFNA480	EFNA481	EFNA482	EFNA483	EFNA484	EFNA485	EFNA486	EFNA487	EFNA488	EFNA489	EFNA490	EFNA491	EFNA492	EFNA493
SNV	EFNA494	EFNA495	EFNA496	EFNA497	EFNA498	EFNA499	EFNA500	EFNA501	EFNA502	EFNA503	EFNA504	EFNA505	EFNA506	EFNA507	EFNA508	EFNA509
SNV	EFNA510	EFNA511	EFNA512	EFNA513	EFNA514	EFNA515	EFNA516	EFNA517	EFNA518	EFNA519	EFNA520	EFNA521	EFNA522	EFNA523	EFNA524	EFNA525
SNV	EFNA526	EFNA527	EFNA528	EFNA529	EFNA530	EFNA531	EFNA532	EFNA533	EFNA534	EFNA535	EFNA536	EFNA537	EFNA538	EFNA539	EFNA540	EFNA541
SNV	EFNA542	EFNA543	EFNA544	EFNA545	EFNA546	EFNA547	EFNA548	EFNA549	EFNA550	EFNA551	EFNA552	EFNA553	EFNA554	EFNA555	EFNA556	EFNA557
SNV	EFNA558	EFNA559	EFNA560	EFNA561	EFNA562	EFNA563	EFNA564	EFNA565	EFNA566	EFNA567	EFNA568	EFNA569	EFNA570	EFNA571	EFNA572	EFNA573
SNV	EFNA574	EFNA575	EFNA576	EFNA577	EFNA578	EFNA579	EFNA580	EFNA581	EFNA582	EFNA583	EFNA584	EFNA585	EFNA586	EFNA587	EFNA588	EFNA589
SNV	EFNA590	EFNA591	EFNA592	EFNA593	EFNA594	EFNA595	EFNA596	EFNA597	EFNA598	EFNA599	EFNA600	EFNA601	EFNA602	EFNA603	EFNA604	EFNA605
SNV	EFNA606	EFNA607	EFNA608	EFNA609	EFNA610	EFNA611	EFNA612	EFNA613	EFNA614	EFNA615	EFNA616	EFNA617	EFNA618	EFNA619	EFNA620	EFNA621
SNV	EFNA622	EFNA623	EFNA624	EFNA625	EFNA626	EFNA627	EFNA628	EFNA629	EFNA630	EFNA631	EFNA632	EFNA633	EFNA634	EFNA635	EFNA636	EFNA637
SNV	EFNA638	EFNA639	EFNA640	EFNA641	EFNA642	EFNA643	EFNA644	EFNA645	EFNA646	EFNA647	EFNA648	EFNA649	EFNA650	EFNA651	EFNA652	EFNA653
SNV	EFNA654	EFNA655	EFNA656	EFNA657	EFNA658	EFNA659	EFNA660	EFNA661	EFNA662	EFNA663	EFNA664	EFNA665	EFNA666	EFNA667	EFNA668	EFNA669
SNV	EFNA670	EFNA671	EFNA672	EFNA673	EFNA674	EFNA675	EFNA676	EFNA677	EFNA678	EFNA679	EFNA680	EFNA681	EFNA682	EFNA683	EFNA684	EFNA685
SNV	EFNA686	EFNA687	EFNA688	EFNA689	EFNA690	EFNA691	EFNA692	EFNA693	EFNA694	EFNA695	EFNA696	EFNA697	EFNA698	EFNA699	EFNA700	EFNA701
SNV	EFNA702	EFNA703	EFNA704	EFNA705	EFNA706	EFNA707	EFNA708	EFNA709	EFNA710	EFNA711	EFNA712	EFNA713	EFNA714	EFNA715	EFNA716	EFNA717
SNV	EFNA718	EFNA719	EFNA720	EFNA721	EFNA722	EFNA723	EFNA724	EFNA725	EFNA726	EFNA727	EFNA728	EFNA729	EFNA730	EFNA731	EFNA732	EFNA733
SNV	EFNA734	EFNA735	EFNA736	EFNA737	EFNA738	EFNA739	EFNA740	EFNA741	EFNA742	EFNA743	EFNA744	EFNA745	EFNA746	EFNA747	EFNA748	EFNA749
SNV	EFNA750	EFNA751	EFNA752	EFNA753	EFNA754	EFNA755	EFNA756	EFNA757	EFNA758	EFNA759	EFNA760	EFNA761	EFNA762	EFNA763	EFNA764	EFNA765
SNV	EFNA766	EFNA767	EFNA768	EFNA769	EFNA770	EFNA771	EFNA772	EFNA773	EFNA774	EFNA775	EFNA776	EFNA777	EFNA778	EFNA779	EFNA780	EFNA781
SNV	EFNA782	EFNA783	EFNA784	EFNA785	EFNA786	EFNA787	EFNA788	EFNA789	EFNA790	EFNA791	EFNA792	EFNA793	EFNA794	EFNA795	EFNA796	EFNA797
SNV	EFNA798	EFNA799	EFNA800	EFNA801	EFNA802	EFNA803	EFNA804	EFNA805	EFNA806	EFNA807	EFNA808	EFNA809	EFNA810	EFNA811	EFNA812	EFNA813
SNV	EFNA814	EFNA815	EFNA816	EFNA817	EFNA818	EFNA819	EFNA820	EFNA821	EFNA822	EFNA823	EFNA824	EFNA825	EFNA826	EFNA827	EFNA828	EFNA829
SNV	EFNA830	EFNA831	EFNA832	EFNA833	EFNA834	EFNA835	EFNA836	EFNA837	EFNA838	EFNA839	EFNA840	EFNA841	EFNA842	EFNA843	EFNA844	EFNA845
SNV	EFNA846	EFNA847	EFNA848	EFNA849	EFNA850	EFNA851	EFNA852	EFNA853	EFNA854	EFNA855	EFNA856	EFNA857	EFNA858	EFNA859	EFNA860	EFNA861
SNV	EFNA862	EFNA863	EFNA864	EFNA865	EFNA866	EFNA867	EFNA868	EFNA869	EFNA870	EFNA871	EFNA872	EFNA873	EFNA874	EFNA875	EFNA876	EFNA877
SNV	EFNA878	EFNA879	EFNA880	EFNA881	EFNA882	EFNA883	EFNA884	EFNA885	EFNA886	EFNA887	EFNA888	EFNA889	EFNA890	EFNA891	EFNA892	EFNA893
SNV	EFNA894	EFNA895	EFNA896	EFNA897	EFNA898	EFNA899	EFNA900	EFNA901	EFNA902	EFNA903	EFNA904	EFNA905	EFNA906	EFNA907	EFNA908	EFNA909
SNV	EFNA910	EFNA911	EFNA912	EFNA913	EFNA914	EFNA915	EFNA916	EFNA917	EFNA918	EFNA919	EFNA920	EFNA9				



**zk** Krajská zdravotní  
Masarykova nemocnice



## 6p25 mikrolečňní syndrom jako příčina kongenitálního glaukomu

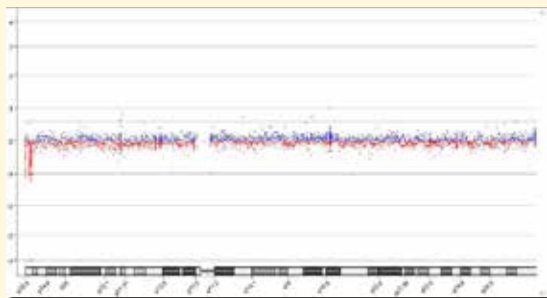
MUDr. Jana Laštůvková, MUDr. Anna Pecková, Ing. Lucie Lišková, Mgr. Vlasta Čejnová  
Oddělení lékařské genetiky, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem o.z., Krajská zdravotní a.s., Česká republika

### Úvod

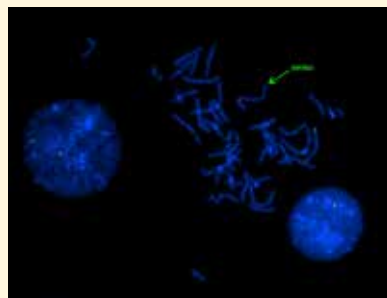
Kongenitální glaukom se ve většině případů vyskytuje sporadicky, v 10 až 15 % případů je výskyt familiární s autosomálně recesivním typem dědičnosti a variabilní expresivitou, autosomálně dominantní přenos je poměrně vzácný. Glaukom může být jedním z příznaků autosomálně dominantně dědičného syndromu Axenfeld-Rieger podmíněného mutacemi genu *FOXC1*. Prezentujeme případ rodiny, ve které je příčinou kongenitálního glaukomu delece genu *FOXC1* jako součást 6p25 mikrolečňního syndromu.

### Popis případu

U probanda (ročník narození 1987) byl po narození zjištěn oboustranný kongenitální glaukom, absolvoval 6 očních operací, dále je po operaci VCC – defekt septa síň. Proband má 2 zdravé starší sestry. Rodiče probanda byli při genetické konzultaci v r. 1988 seznámeni s možným 25% rizikem opakování glaukomu



MICROARRAY - arr[GRCh37] 6p25.3p25.2(1529484\_2613944)x1



FISH analýza lymfocytů periferní krve probanda  
sonda 6p25.3 (RPII-964J7, FOXC1) - EmpireGenomics - zelená  
kontrolní sonda - BqTel (Vysis) - červená

arr[GRCh37] 6p25.3p25.2(1529484\_2613944)x1 – byla u něj detekována 1,1 Mb heterozygotní intersticiální mikrolece na krátkém raménku chromozomu 6, zasahující 3 OMIM geny (*FOXC1*, *FOXCUT*, *GMDS*) v oblasti 6p25 delečňního syndromu. Mikrolece 6p25 u probanda vznikla *de novo* – u jeho rodičů byla vyloučena, následně však byla zjištěna u plodu v graviditě jeho partnerky. UZ vyšetřením nebyly u plodu prokázány orgánové VVV. Partneri se rozhodli pro pokračování gravidity. Po narození byla u syna patrna faciální dysmorfie, oční vyšetření prokázalo zadní embryotoxon bilat. a zvýšený nitrooční tlak, chlapec je v péči oční kliniky.



Proband – 36 let



Syn probanda po narození

### Závěr

6p25 mikrolečňní syndrom je vzácné onemocnění charakterizované širokým spektrem kongenitálních anomálií. Častou součástí tohoto syndromu jsou oční abnormality zahrnující embryotoxon posterior, hypoplasiu iris, korektopii, opacity rohovky a glaukom. Mezi další příznaky patří vrozené srdeční vady, umbilikální anomálie, anomálie zubů a čelisti a percepční ztráta sluchu. Proband má pro své potomky 50% riziko opakování tohoto onemocnění spojeného s glaukomem, při plánování dalšího rodičovství lze páru nabídnout PGD v rámci asistované reprodukce.

### ZDROJE:

- [1] [www.orpha.net](http://www.orpha.net)
- [2] [www.omim.org](http://www.omim.org)

Autoři nemají žádný potenciální konflikt zájmů.



E-mail:  
[jana.lastuvkova@kzcr.eu](mailto:jana.lastuvkova@kzcr.eu)

## Schaaf-Yang syndróm – kazuistika

MUDr. Ivana Lukáčová<sup>1</sup>, MUDr. Gabriela Magyarová<sup>1,2</sup>, RNDr. Erika Tomková<sup>3</sup>,  
 RNDr. Ľubica Majerová, PhD.<sup>3</sup>, RNDr. Miroslava Eckertová, PhD.<sup>3</sup>, RNDr. Renata Lukačková, PhD.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex, a.s., Košice

<sup>2</sup>OLM- ambulancia lekárskej genetiky, UNLP Košice

<sup>3</sup>Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex, a.s., Bratislava.

Vyhlasenie o konflikte záujmov autora – Nemám potenciálny konflikt záujmov.

### ÚVOD

Schaaf-Yang syndróm je zriedkavé neurovývojové ochorenie s autozómovo dominantnou dedičnosťou popísané prvýkrát v roku 2013. Tento syndróm je spôsobený mutáciami v géne *MAGEL2* zdedenej výhradne od otca, maternálna alela je imprintovaná<sup>1</sup>. V našej práci prezentujeme prípad t.č. 1-ročného dieťaťa, ktorého genetické vyšetrenia začali už prenatálne.

### KLINICKÝ OBRAZ

#### Prenatálny:

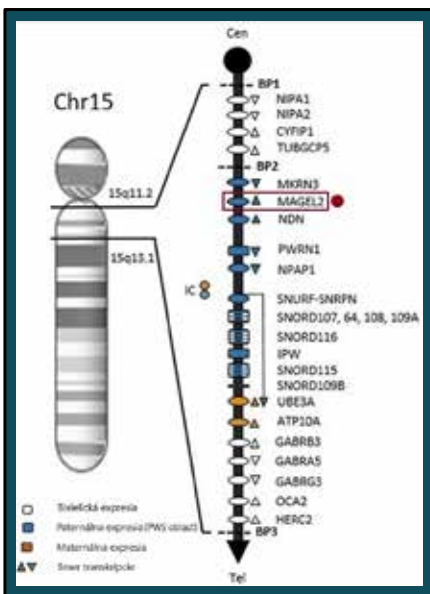
atypický tvar lebky s plochším záhlavím, macroglosia, echogénny kardiálny fokus v ľavej aj pravej komore srdca, minimálna náplň žalúdka, overlapping fingers fixný, veľkosť plodu na úrovni 5,5% normy

#### Postnatálny:

mikromandibula, jazyk medzi perami, prsty arachnodaktylického typu, spastický uzáver dlaní s prekríženými prstami, výrazná spasticita flexorov prstov, centrálna tonusová a koordinačná porucha ľahkého stupňa, výživa nasogastrickou sondou, bez vývojovej chyby srdca, fyziologický sonografický obraz mozgu

#### Vek okolo 1 roka:

micrognathia, macroglossia, prominencia čela, menšie akrálne časti tela, mierny hypotonus, ľahký stupeň centrálného hypotonického syndrómu s koordinačnou poruchou, mentálne aj motoricky napreduje, neposadí sa, v sede sa udrží, neplazí sa, prevažuje sa; endokrinologické vyšetrenie v norme, fyziologický sonografický obraz mozgu, pravidelne rehabilitovaná



patogénny variant  
**c.1923dupC (p.V643fs\*70) v géne *MAGEL2***  
 v heterozygotnom stave

#### Schaaf-Yang syndróm

Oneskorenie vývoja  
 Mentálne postihnutie  
 Včasné poruchy príjmu potravy  
 Hypogonadizmus  
 Hypotónia

Kontraktúry

Porucha autistického spektra

#### Prader-Willi syndróm

Hyperfágia

Obezita

Spánkové apnoe

### ZÁVER

Schaaf-Yang syndróm (OMIM 615547) sa vo väčšine prípadov prejavuje už pri narodení rôznou mierou stigmatizácie, svalovou hypotóniou a kontraktúrami prstov. Takisto je prítomný oneskorený psychomotorický vývoj, intelektuálny deficit rôzneho stupňa, behaviorálne poruchy, ťažkosti s príjmom potravy ako aj hypogonadizmus<sup>1,2</sup>.

Gén *MAGEL2* sa nachádza v chromozómovej oblasti 15q11.2, ktorá je imprintovaná aj pri Prader-Williho syndróme (oblasť 15q11–13), preto dochádza k prelínaniu niektorých klinických príznakov<sup>1</sup>. Schaaf-Yang syndróm sa však odlišuje prítomnosťou kontraktúr pri narodení, hyperfágia a obezita sa zvyčajne vyskytuje až v dospelosti<sup>3</sup>.

### ZDROJE

1 Fountain MD, Schaaf CP. Prader-Willi Syndrome and Schaaf-Yang Syndrome: Neurodevelopmental Diseases Intersecting at the *MAGEL2* Gene. *Diseases*. 2016;4(1):2

2 Fountain MD, et al. The phenotypic spectrum of Schaaf-Yang syndrome: 18 new affected individuals from 14 families. *Genetics in Medicine*. 2017; 19(1):45-52

3 Marbach, F., Elgizouli, M., Rech, M. et al. The adult phenotype of Schaaf-Yang syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 15, 294 (2020)

## Potenciál vyšetření cfDNA při detekci chromozomálních aneuploidií u spontánních abortů

Nguyen Thi Ngoc B. L., Sheardová J., Čadová P., Hrabíková M., Zembol F., Dvořáčková H., Vávrová J., Bittóová M., Stejskal D., Koudová M.

### Úvod

Neinvasivní prenatalní testování (NIPT) založené na principu testování volné DNA plodu z krve matky umožňuje vysoce přesný screening rizika chromozomálních aneuploidií a dnes je již standardní praxí v oblasti prenatalní diagnostiky. Jednou z dalších možností aplikace NIPT je genetické vyšetření v případech neprosperujících těhotenství. Přibližně 1/4 vyšetření tkáně spontánních abortů nelze provést konvenční metodou QF-PCR z důvodu maternální kontaminace vzorku nebo pro dodání čistě tkáně matky. V těchto případech však lze dosáhnout validního výsledku analýzou volné fetální DNA (cfDNA) z krve matky, což dokazuje tato prospektivní studie našeho pracoviště z let 2020-2023.

### Materiál, metody

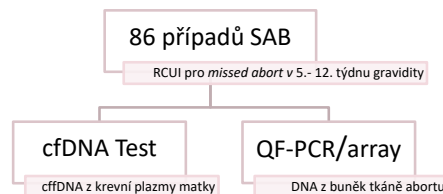
**Materiál:** Do studie (obr. č. 1) bylo zahrnuto 86 případů RCUI pro diagnózu časného missed abortu v rozmezí 5. až 12. gestačního týdne. Průměrná doba gestace potraceného plodu byla 8 týdnů.

Ve všech případech byly k analýze poskytnuty 3 druhy vzorků:

- 10 ml nesrážlivé periferní krve pacientky odebrané do Streck Cell-Free DNA BCT CE k separaci plazmy pro izolaci volné cirkulující DNA (cfDNA) a provedení cfDNA Testu GENNET
- tkáň produktu koncepce za účelem verifikace výsledků pomocí metodiky QF-PCR/array
- 5 ml nesrážlivé periferní krve pacientky odebrané do zkumavky s EDTA k vyloučení maternální kontaminace vzorku produktu koncepce

#### Metody cfDNA Testu:

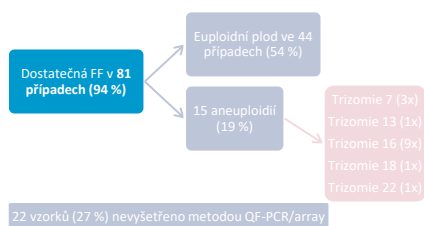
- celogenomové sekvenování s nízkým pokrytím (low-pass WGS)
- analýza celogenomových CNV pomocí sw *Wisecondor X*<sup>1</sup> (Gentská univerzita) a *Nexus Copy Number 10*
- odhad fetální frakce (FF) kombinací výsledků 3 metod – *DEFrag*, *SeqFF*, *ComboFF*<sup>2</sup>



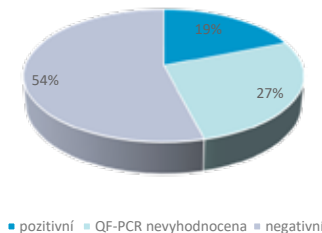
Obr. č. 1: Prospektivní studie GENNET

### Výsledky

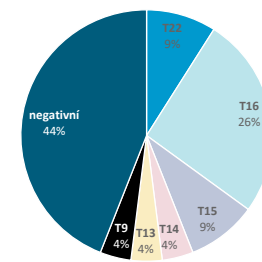
Z celkové 86 testovaných pacientek byla u 81 (94 %) zjištěna dostatečně vysoká fetální frakce volné DNA (cfDNA > 4 %) pro získání validního výsledku cfDNA Testu. Na základě výsledků obou vyšetřovacích postupů – jak cfDNA Testu, tak QF-PCR/array – byla u potracených plodů v 15 případech (19 %) prokázána chromozomální aneuploidie a ve 44 případech (54 %) byl detekován euploidní genom (obr. č. 2). Ve zbývajících 22 případech (27 %) nebylo možné získat výsledek metodou QF-PCR z důvodu maternální kontaminace vzorku produktu koncepce, zatímco vyšetření cfDNA Test bylo provedeno s validním výsledkem a se záchytem aneuploidií v 56 % případů (grafy č. 1 a 2).



Obr. č. 2: Výsledky cfDNA Testu konfirmované QF-PCR/array



Graf č. 1: Výsledky cfDNA & QF-PCR



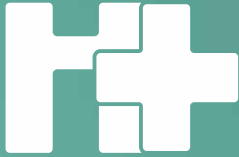
Graf č. 2: Výsledky cfDNA Testu v případech nevyhodnotitelných metodou QF-PCR

### Závěr

- Vyšetření cfDNA může být použito pro detekci chromozomálních aneuploidií u časných spontánních abortů – **dostatečná FF pro výsledek ve více než 90 % případů**
- Vhodné tam, kde konvenční metody nemohou být použity – **nelze odebrat materiál abortu nebo je prokázána maternální kontaminace tkáně (1/4 případů)**
- Význam detekce chromozomálních aberací u spontánních abortů spočívá v objasnění příčiny reprodukčního neúspěchu páru, určení rizika pro další graviditu (s dovýšetřením karyotypu obou partnerů) a stanovení plánu vhodné prekoncepční a prenatalní péče v další graviditě páru včetně možnosti prenatalní diagnostiky nebo léčby IVF s provedením preimplantační genetické diagnostiky (PGT-A) a preferenčním transferem euploidního embrya

1. <https://github.com/CenterForMedicalGeneticsGhent/wisecondorX>  
 2. Beek et al. (2017). *Prenatal Diagnosis*, 37: 769-773, DOI: 10.1002/pd.5079

Vyhlášení o konfliktu zájmov autora – Nemám potenciální konflikt zájmov.



FNŠP F. D. Roosevelta

BANSKÁ BYSTRICA ■■■■

## KEĎ SA S NAMI CHROMOZÓMY ZAHRAJÚ NA SCHOVÁVAČKU /KAZUISTIKA/

Mgr. Zuzana Očenašová, MUDr. Slavomíra Martineková, MUDr. Dana Kantarská, MBA, RNDr. Robert Petrovič, PhD.

Oddelenie lekárskej genetiky, Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica  
Oddelenie molekulej a biochemickej genetiky, UNB, Mickewiczova 13, Bratislava

### ÚVOD

Prezentujeme kazuistiku v poradí druhého dieťaťa zdravých rodičov bez pokrvnej príbuznosti. Tehotenstvo matky prebiehalo bez komplikácií, realizované prenatálne vyšetrenia nepreukázali žiadny patologický nález. NIPT ani amniocentéza nebola realizovaná.

Otec probanda pracoval v rizikovom prostredí (riziko expozície chemickými látkami) z hľadiska možného nežiadúceho účinku na pohlavné bunky a ich delenie.

Donosený novorodenec sa spontánne narodil v 38. týždni gravidity (2870g), avšak pokrytý hematómami, so svalovou hypertóniou a s Apgar skóre 5/8/8. Vo veľmi krátkom čase bola nutná jeho hospitalizácia na JIRS kvôli hepatálnemu zlyhávaniu s diseminovanou intravaskulárnou koagulopatiou a sepsou.

Dostupnými zobrazovacími metódami nebola zachytená žiadna VVCH vnútorných orgánov ani skeletu. Náš pacient bol bez nápadnejšej dysmorfie, urogenitálnej anomálie a okrem celotelového edému sme nepozorovali ani syndrómovo špecifickú tvárovú stigmatizáciu. Už krátko po narodení sme pristúpili k cytogenetickému vyšetreniu kultiváciou buniek periférnej krvi.

### MATERIÁL A METÓDY

Kultivácia periférnej krvi prebiehala pri 37°C počas 72 hodín v termostate ST3+ v kultivačnom médiu CytogenLympho (PentaGen). Z bunkových kultúr boli štandardným spôsobom pripravené preparáty na cytogenetickú analýzu a následne zafarbené konvenčnou a G-průzkovacou metódou (OLG BB). Diagnostika pokračovala metabolickým a molekulovým vyšetrením QF PCR (UNB).

### KAZUISTIKA

Cytogenetické vyšetrenie bolo opakovane neúspešné, bez mitotickej aktivity. VLCFA ani vyšetrenie juvenilnej hemochromatózy neodhalilo diagnózu pacienta, preto sme v spolupráci s Univerzitnou nemocnicou v Bratislave doplnili okrem spomínaných vyšetrení aj molekulové vyšetrenie aneuploidíí. To odhalilo patologickú numerickú chromozómovú aberáciu probanda, triploidiu **69,XXY** v **50%** mozaike. Medzitým sa u probanda zhoršil klinický nález, došlo k neresponzívnej hypotenzii, areflexii, edému a léziám na koži, podobným epidermolysis bullosa congenita. Po jedenástich dňoch chlapec exitoval.

Následne sme zrealizovali aj cytogenetické vyšetrenie rodičov probanda s normálnym nálezom a navyše otec nášho pacienta bol po odporúčaní klinického genetika preradený na iné pracovisko. Po ďalšej gravidite spomínaného páru je už narodené zdravé dieťaťko, normálny karyotyp bol uňho potvrdený amniocentézou.



Obr. 1, obr. 2: ilustračný príklad



### DISKUSIA A ZÁVER

Triploidia je charakterizovaná nadpočetnou sadou haploidných chromozómov otcovského (diandrická triploidia) alebo materského pôvodu (digynická triploidia), ktorá spôsobuje skoré potraty, predčasné pôrody a perinatálne úmrtia. Postihuje približne 1-2% všetkých koncepcií (1). Najčastejšími klinickými príznakmi sú IUGR, makrocefália, očné defekty, nepravidelná osifikácia kostí lebky, syndaktília tretieho a štvrtého prsta, urogenitálne malformácie, defekty CNS, srdca a obličiek. Neexistujú však žiadne typické klinické znaky triploidného syndrómu (2).

Triploidia môže existovať v úplnej alebo mozaikovej forme. Oproti letalite úplnej triploidie je diploidno/triploidná mozaika menej závažný stav, pri ktorom môžu takíto jedinci prežiť aj po novorodeneckom období (3). Triploidná mozaika je zriedkavý aneuploidný syndróm charakterizovaný podobne ako pri úplnej triploidii retardáciou rastu, mikroftalmiou, kolobómom, rázštepom pery a/alebo podnebia, urogenitálnymi anomáliami a asymetriou tváre alebo tela (4).

Náš proband sa vymyká popisovaným fenotypovým prejavom, a preto výsledok vyšetrenia aneuploidíí bol pre nás prekvapením. Dostupná literatúra neuvádza podobný prípad pri úplnej triploidii a ani v mozaikovej forme, kde by bol pacient bez stigmatizácie a prítomných vrodených vývojových chýb, ako tomu bolo u nášho probanda.

### POUŽITÁ LITERATÚRA

- 1) Barceller Beltrán R, Sáenz Moreno I, Gracia Cervero E, Bassecourt Serra M, Ureña Hornos T, García-Dihinx Villanova J, López Pisón J, Marco Tello A, Rebago Moisés V. (2004). Complete triploidy 69,XXY. An Pediatr (Barc);61(6):562-4.
- 2) Vakilova L, Hitrova-Nikolova S, Bradinova I. (2020). Triploidy in a Live-Born Extremely Low Birth Weight Twin: Clinical Aspects. J Pediatr Genet;11(3):227-231.
- 3) Carlson JC, Hoffner L, Conlin L, Parks WT, Fisher RA, Spinner N, Yatsenko SA, Bonadio J, Surti U. (2018). Diploid/triploid mixoploidy: A consequence of asymmetric zygotic segregation of parental genomes. Am J Med Genet; 176(12):2720-2732.
- 4) van de Laar I, Rabelink G, Hochstenbach R, Tuerlings J, Hoogeboom J, Giltay J. (2002). Diploid/triploid mosaicism in dysmorphic patients. Clin Genet;62(5):376-82.

Vyhlasenie o konflikte záujmov autora : nemám potenciálny konflikt záujmov



## „Jedna z milióna“

MUDr.Paučinová I.<sup>1</sup>, RNDr.Wachsmanová L., PhD.<sup>2</sup>, RNDr.Konečný M., PhD.<sup>2</sup><sup>1</sup> Oddelenie lekárskej genetiky, FNsP Žilina<sup>2</sup> GHC GENETICS SK, Bratislava

33-ročná pacientka bola odoslaná na genetické vyšetrenie pre susp.arytmogénnu kardiomyopatiu.

OA: III.riziková gravidita, gestóza u matky, pôrod v 38.-39.tt., spontánne záhlavím, po narodení krátko v inkubátore pre adaptačné problémy, do 2 rokov sondovaná pre problémy s kŕmením, prvá dentícia v 3 mesiacoch  
 Kardiológ- st.p.synkope s nehatným pulzom, susp.arytmogéna kardiomyopatia  
 Neurológ- ťažká mentálna retardácia, epilepsia  
 Psychiater- atypický autizmus, poruchy spánku

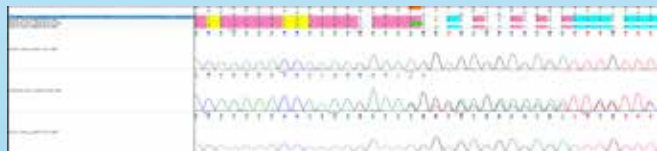
Somatický nález: Výška 147cm, váha 45kg, OH 50cm, nízky vzrast, brachydaktýlia, cubiti valgii, skolióza chrbtice, gibus, hlava mikrocefalická, úzke čelo, faciálna dysmorfia- úzke očné štrbiny, blefartoptóza, široký koreň nosa, bulózna špička nosa, husté obočie, tenká horná pera, dlhé vyhladené filtrum, úzke vysoké podnebie, kariézny chrup, vidí a počuje dobre, koža- vyššie ochlpenie na predlaktiach, pohyblivosť veľkých a malých kĺbov primeraná, dystrofia nechtov na rukách.

Karyotyp: 46,XX

ArrayCGH: žiadne chromozómové imbalancie

Vyšetrenie génov asociovaných s poruchami intelektu, nízkym vzrastom, epilepsiou a kardiomyopatiou metódou CES:  
**pravdepodobne patogénny variant c.4085del v géne KMT2A v heterozygotnom stave (de novo)**

Variant	c.4085del	p.(p.c.3804del*58)	Gén	KMT2A
Typ variantu	Deletčný/inverzný	Číslový	reprodukovaný	Trinukleotid
ACMG úroveň	Path. very strong (PVS1)	Nulový variant v géne, v ktorom je strata funkcie popísaným mechanizmom vzaku ochorenia.	Trinukleotid	Trinukleotid
poľňa Varname	Path. supporting (PM2)	Variant nereportovaný v genómovej referenčnej databáze gnomAD.	Trinukleotid	Trinukleotid
Vzťah. doména	Doména chrómu p.(M1290-61375)	Euk. všetky exóny	5/36	Genóm. NFE
OMIM	605130	Typ ochorenia	AD	IS ID
Zložení HET	-	Segregačná/citová analýza	COPOROČANÁ	% útlatu variantu: nad limitom 30%



Príznačky WSS/ Príznačky pacientky	Výskyt v %
Oneskorenie vývoja, intelektový deficit	97
Faciálna dysmorfia	75
Hypertrichóza	44-75
Nezospievanie	64
Hypotónia	63
Poruchy spánku, apnoe, porucha sluchu	63
Ťažkosti s kŕmením	62
Deficit rastového hormónu	30-64
Nízky vzrast	57
Skoré preževávanie zubov	57
Zápcha	50
Abnormity CNS- corp. callosum, myelinizácia	49
Genitouretrálne abnormity	47
Anomálie stavcov	46
Sakrálna jamka	45
Imunologické abnormity	21-54
Hyperaktivita, agresivita, autistické príznaky	17-38
Strabizmus, astigmatizmus, blefartoptóza	18-32
VCC+ srdcová arytmia (kardiostimulátor)	29
Záchvaty	18



Wiedemann-Steiner syndróm (Q87.1, ORPHA: 319 182, OMIM: 605 130)

Prevalencia &lt;1:1 000 000 (do roku 2022 hlásených okolo 250 prípadov)

Je charakterizovaný vývojovým oneskorením, intelektuálnym postihnutím a charakteristickými črtami tváre s/bez vrodených vývojových abnormalít. Naša pacientka nikdy nebola geneticky vyšetrená napriek klinickým a somatickým nálezom, ktoré boli jasnou indikáciou na genetické vyšetrenie. Až vo veku 35 rokov jej bola stanovená diagnóza Wiedemann-Steiner syndrómu, ktorá vysvetlila kardiologickú indikáciu na vyšetrenie aj ostatné fenotypové prejavy u pacientky.

Rodičia pacientky t.č. už nie sú v reprodukčnom veku, určenie diagnózy však v tomto prípade napomohlo aj psychologicky.

Aberrant splicing caused by a novel KMT2A variant in Wiedemann-Steiner syndrome. Jianing Niu<sup>1,2</sup> | Xiaoming Teng<sup>1</sup> | Junyu ZhangDiagnostic approach to a paediatric patient with Wiedemann-Steiner syndrome with de novo missense variant in the KMT2A gene – a case report. Gabriela Reka<sup>1,A-D,F</sup> · Katarzyna Wolciechowska<sup>1,A-C,E</sup> · Monika Lejman<sup>1</sup>Three de novo variants in KMT2A (MLL) identified by whole exome sequencing in patients with Wiedemann-Steiner syndrome. Sukun Luo<sup>1</sup> | Bo Bi<sup>2</sup> | Wenqian Zhang<sup>3,4,5</sup> | Rui Zhou<sup>3,4,6</sup> | Wei Chen<sup>3,4</sup> | Peiwei Zhao<sup>1</sup> | Yufeng Huang<sup>1</sup> |Li Yuan<sup>7</sup> | Xuelian He<sup>1</sup>Expanding the neurodevelopmental phenotypes of individuals with de novo KMT2A variants. Ada J. S. Chan<sup>1,2</sup>, Cheryl Cytrynbaum<sup>2,3,4,5</sup>, Ny Hoang<sup>2,3,4,5,6</sup>, Patricia M. Ambrozewicz<sup>6,7</sup>, Rosanna Weksberg<sup>2,3,4,8,9</sup>, Irene Domic<sup>10</sup>, AnneRitzema<sup>6,7</sup>, Russell Schachar<sup>11,12</sup>, Susan Walker<sup>1</sup>, Mohammed Uddin<sup>1,13</sup>, Mehdi Zarrei<sup>1</sup>, Ryan K. C. Yuen<sup>1,2,4</sup> and Stephen W. SchererDescription of the molecular and phenotypic spectrum of Wiedemann-Steiner syndrome in Chinese patients. Niu Li<sup>1,2†</sup>, Yirou Wang<sup>3†</sup>, Yu Yang<sup>4†</sup>, Pengpeng Wang<sup>5</sup>, Hui Huang<sup>6</sup>, Shiyi Xiong<sup>7</sup>, Luming Sun<sup>7</sup>, Min Cheng<sup>8</sup>, Cui Song<sup>9</sup>,Xinran Cheng<sup>10</sup>, Yu Ding<sup>3</sup>, Guoying Chang<sup>3</sup>, Yao Chen<sup>3</sup>, Yufei Xu<sup>1</sup>, Tingling Yu<sup>1,2</sup>, Ru-en Yao<sup>1,2</sup>, Yiping Shen<sup>1,11</sup>, Xiumin Wang<sup>3,12†</sup> and Jian Wang

Wiedemann-Steiner Syndrome: Case Report and Review of Literature. Huan Yu, Guijiao Zhang, Shengxu Yu and Wei Wu

Orphanet

Wiedemann-Steiner Syndrome, Sarah E Sheppard, MD, PhD and Fabiola Quintero-Rivera, MD., GeneReviews

Autor tohto posteru nemá žiadny finančný alebo osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu.

# Diagnóza Schaaf-Yangova syndromu u dítěte s podezřením na kraniosynostózu

 A. PECKOVÁ<sup>1</sup> J. LAŠŤŮVKOVÁ<sup>1</sup> V. ČEJNOVÁ<sup>1</sup> A. UHROVÁ MÉSZÁROSOVÁ<sup>2</sup>
<sup>1</sup> Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z., Krajská zdravotní, a.s., Oddělení lékařské genetiky, Ústí nad Labem, ČR

<sup>2</sup> Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, ČR

**ÚVOD:** Schaaf-Yang syndrom (OMIM #615547) je velmi vzácné onemocnění způsobené heterozygotními patogenními variantami v genu *MAGEL2*. Jedná se o neurovývojovou poruchu s autozomálně dominantním typem dědičnosti, která je charakterizována širokým spektrem příznaků. Tento syndrom má mnoho společných klinických rysů s geneticky příbuzným Prader-Willi syndromem. Prenatální manifestací může být polyhydramnion a fetální akineze. Po narození novorozenecká hypotonie, potíže s krmením, respirační potíže, kloubové kontraktury, autismus a opožděný vývoj. Diagnostika je komplikovaná, protože se jedná o velmi vzácné onemocnění a fenotyp je velmi variabilní (Obr. 4).

Genetické vyšetření bylo doporučeno u holčičky z první gravidity mladých rodičů. Během těhotenství byla provedena opakovaná ultrazvuková vyšetření se zaměřením na nosní kost, u plodu byla dále zjištěna dilatace ledvinné pánvičky. Gravidita skončila akutní sekci pro předčasný odtok plodové vody a polohu plodu koncem pánevním ve 38.t.

Po narození byly u dítěte zjištěny dysmorfické rysy (Obr. 1) - velmi nápadný byl atypický tvar hlavičky s obrazem až kraniosynostózy, dominující výrazně klenuté čelo, turicefalie, makrocefalie, hluboko posazené oči, nízko posazené uši, vrozené kloubové kontraktury. Dívka měla novorozeneckou hypotonii, potíže s krmením a významné dechové problémy. Kvůli dechové tísní a spánkové apnoe byla doporučena tracheostomie. Diabetes insipidus dále komplikuje celkový stav probandky.

Exomové sekvenování odhalilo de novo heterozygotní patogenní variantu NM\_019066.4 (*MAGEL2*):c.1912C>T (p.Gln638\*) (Obr. 2). Tato varianta již byla v literatuře popsána. Výsledek byl ověřen Sangerovým sekvenováním (Obr. 3), tímto byl u probandky prokázán Schaaf-Yang syndrom. Prognóza pro toto onemocnění je velmi závažná.

Kontrola ve 14 měsících: Doma bez apnoe pauz, bez desaturací – v 11 měsících provedena dekanylace tracheostomie. Nasazena terapie růstovým hormonem. Další stav probandky komplikován epizodami záškubů končetinami v.s. při hypoglykémii s následně diagnostikovaným hyperinzulinismem. Pro hematemezu zaveden PEG. Nyní vyšetřována pro poruchu spánku a nystagmus.

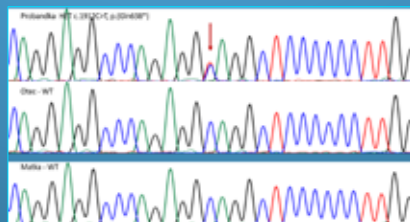
Pokroky ve vývoji se střídavými úspěchy, dle maminky častý regres již nabytých schopností bez jasného důvodu.



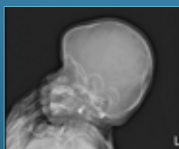
Obr.1: Naše pacientka  
A) Fenotyp po narození B) Fenotyp v 5. měsíci C) Fenotyp 14 měsíců



Obr.2: Exomové sekvenování



Obr.3: Sangerovo sekvenování *MAGEL2*



RTG lbi v 10 měsících



Obr.4: Fenotyp u osob s SHFYNG.  
Fountain et al. 2017



**ZÁVĚR:** U probandky bylo původně genetické vyšetření doporučeno pro podezření na kraniosynostózu, ovšem exomové sekvenování prokázalo vzácnou neurovývojovou poruchu: Schaaf-Yang syndrom. Konzultace s rodinami může být v případech vzácných poruch, jako je Schaaf-Yangův syndrom, velmi obtížná.

CONFLICTS OF INTEREST  
Nemám potenciální konflikt zájmů.

#### REFERENCE

- Schaaf CP, Gonzalez-Garay MI, Xia F, et al. Truncating mutations of *Magel2* cause Prader-Willi phenotypes and autism. *Nat Genet* 2013; 45:1405-1408
- Huang Z, Lu W, Zhang P, Lu P, Lu Y, Chen L, Kang W, Yang L, Li G, Zhu J, Wu B, Zhou W, Wang H. Early onset critically ill infants with Schaaf-Yang syndrome: a retrospective study from the China neonatal genomes project and literature review. *Ann Transl Med* 2023;11(9):312. doi: 10.21037/atm-22-4396



Fotografie: ana.peckova@kuz.cz

## Zapojenie modelu strojového učenia do analýzy extracelulárnej DNA

RNDr. Ondrej Pös, PhD.<sup>1,2\*</sup>, Ing. Zuzana Hanzlíková<sup>2,3</sup>, Mgr. Jaroslav Budiš, PhD.<sup>1,2,4</sup>, Mgr. Silvia Bokorová<sup>1,2</sup>, Mgr. Werner Kramp<sup>1,2,5</sup>, Mgr. Jakub Styk, PhD.<sup>1,2</sup>, Mgr. Lýdia Lukyová<sup>1,5</sup>, Mgr. Monika Kubánová<sup>1</sup>, Mgr. Terézia Úranová<sup>1</sup>, Mgr. Tatiana Sedláčková, PhD.<sup>1,2</sup>, doc. MUDr. Pavol Janega, PhD.<sup>6</sup>, doc. RNDr. Tomáš Szemes, PhD.<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> Vedecký park Univerzity Komenského, Bratislava, Slovensko

<sup>2</sup> Geneton s.r.o., Bratislava, Slovensko

<sup>3</sup> Fakulta informatiky a informačných technológií Slovenskej technickej univerzity, Bratislava, Slovensko

<sup>4</sup> Centrum vedecko-technických informácií Slovenskej republiky, Bratislava, Slovensko

<sup>5</sup> Katedra Molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Slovensko

<sup>6</sup> Ústav patologického anatómie Lekárskej Fakulty Univerzity Komenského a Univerzity Nemocnice Bratislava, Slovensko

\* Korešpondencia: [ondrej.pos@uniba.sk](mailto:ondrej.pos@uniba.sk)

Poster č. 18



## ÚVOD

Nádory prostaty patria medzi najčastejšie zhubné ochorenia u mužov. Výskyt tohto ochorenia sa na Slovensku za posledných 20 rokov zdvojnásobil, pričom Slovenská republika patrí ku krajinám s vysokou úmrtnosťou na tento typ rakoviny. Je známe, že prípady zachytené v počiatočnom štádiu ochorenia zväčša vyžadujú menej invazívnu liečbu, ktorá vedie k lepším výsledkom a kvalite života pacienta. Rakovina v počiatočnom štádiu sa však prejavuje minimálnymi alebo žiadnymi viditeľnými príznakmi, čo vedie k oneskoreniu diagnostiky a následne menej účinnej liečbe. Okrem toho potenciál najpoužívanejšieho skriningového testu prostatického špecifického antigénu (PSA) [1] v znižovaní úmrtnosti na rakovinu prostaty je neistý a kontroverzný [2].

Zavedenie nového skriningového testu s vysokou senzitivitou a špecifitou by teda bolo veľkým prínosom pre pacientov s rakovinou prostaty. Keďže analýza extracelulárnej DNA (cfDNA) môže slúžiť na identifikáciu skorých neoplastických zmien, testy na báze tekutej biopsie majú veľký potenciál v oblasti neinvazívneho skriningu rakoviny [3].

## ZÁVER

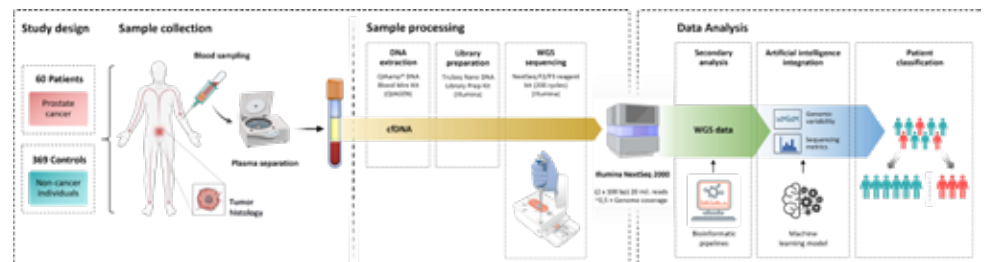
V tejto práci sme predstavili test na báze tekutej biopsie využívajúci metódu WGS s nízkym pokrytím genómu, ktorý implementuje vysvetliteľné algoritmy umelej inteligencie pri hodnotení veľkosti počtu sekvenčných metrik a tak vytvára prediktívny model na detekciu rakoviny prostaty. Porovnanie nášho testu (GenoScan Lbquant) s alternatívnymi *single-cancer liquid biopsy* testami poukázalo na jeho nadpriemernú senzitivitu a špecifitu, navyše naznačuje jeho potenciál pre detekciu rakoviny prostaty v počiatočných štádiách.

## REFERENCIE

- [1] Wei JT, Barocas D, Carlsson S, Coakley F, Eggener S, Etzioni R, Fine SW, Han M, Kim SK, Kirkby E, Konety BR, Miner M, Moses K, Nissenberg MG, Pinto PA, Salami SS, Souter L, Thompson IM, Lin DW. Early Detection of Prostate Cancer: AUA/SUO Guideline Part I: Prostate Cancer Screening. *J Urol*. 2023;210(1):46-53.
- [2] Gulati R, Albertsen PC. Insights from the PLCO trial about prostate cancer screening. *Cancer*. 2017;123(4):546-548.
- [3] Pös O, Biró O, Szemes T, Nagy B. Circulating cell-free nucleic acids: characteristics and applications. *Eur J Hum Genet*. 2018;26(7):937-945.

## MATERIÁL A METÓDY

Štúdia GenoScan bola schválená etickou komisiou Bratislavského samosprávneho kraja rozhodnutím č. 09917/2020/HF a č. 09612/2021/HF a inštitucionálnymi etickými komisiami Fakultnej nemocnice Trnava dňa 07.08.2021, Fakultná nemocnica Trenčín dňa 18.08.2021, Fakultná nemocnica s poliklinickou J.A. Reimana Prešov dňa 14.02.2023 a Lekárska fakulta Univerzity Komenského a Univerzitná nemocnica Bratislava - Nemocnica Staré Mesto rozhodnutím č. 87/2021 a č. 96/2022.

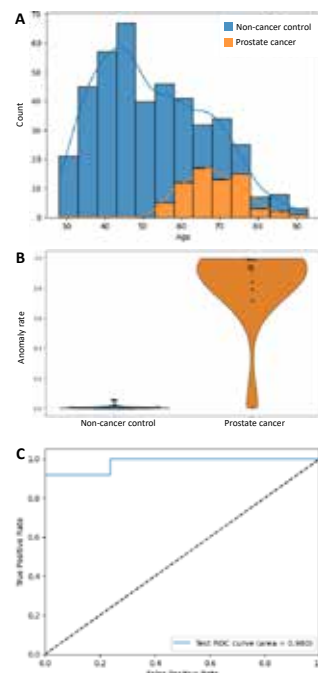


Obrázok 1. Schéma štúdie GenoScan pre vývoj skriningu rakoviny prostaty na princípe tekutej biopsie.

Celkovo bolo do štúdie GenoScan v rokoch 2021 až 2023 zaradených 598 účastníkov vo veku 28-92 rokov. Jednotlivci podpísali informovaný súhlas a poskytli klinické, demografické a anamnestické údaje zaznamenané do výskumnej databázy pre elektronický zber údajov (REDCap). Vzorky krvi (5 - 10 ml) boli odobrané do skúmaviek K2 EDTA a do 24 hodín od odberu boli postúpené na separáciu plazmy. Následne bolo vybraných 68 pacientov s rakovinou prostaty a 358 kontrolných jedincov na extrakciu cfDNA a celogenómovú sekvenáciu analýzu (WGS) s nízkym pokrytím (obr. 1). Sekvenčné údaje boli spracované pomocou bioinformatickej *pipeline* s cieľom

detegovať genetickú variabilitu (napr. varianty počtu kópií, jednobodové zámery, a iné) a charakterizovať kvalitatívne a kvantitatívne parametre sekvenovanej DNA (napr. dĺžky fragmentov cfDNA), spoločne nazývané ako sekvenčné metriky. Celkovo 376 vzoriek (56 pacientov, 320 kontrol) bolo použitých pre tréning modelu rozhodovacích stromov na sprostredkovanie predikcie rakoviny prostaty. Následne sa použila testovacia skupina 12 pacientov s rakovinou (9 vzoriek v štádiu T1; 1 vzorka v štádiu T2; 3 vzorky s nedefinovaným štádiom) a 38 kontrol na posúdenie senzitivity a špecifity predikčného modelu.

## VÝSLEDKY



Obrázok 2. A) Veková distribúcia nádorovej a kontrolnej kohorty; B) Klasifikácia testovacieho súboru; C) ROC krivka testovacieho súboru.

Hoci medzi patientskou a kontrolnou kohortou existoval vekový prekrýv, zastúpenie v jednotlivých skupinách nebolo rovnomerné (obr. 2A). Preto sme vybrali jednotlivcov vo veku 55-60 rokov, aby sme vytvorili vekovo vyrovnaný testovací súbor jedincov. Následne bolo zrevidovaných a vyselektovaných 655 vekovo nezávislých sekvenčných metrik cfDNA vyhodnotených modelom strojového učenia, ktorý preukázal citlivosť 91,7% a špecifickosť 100,0% v predikcii rakoviny na testovacom súbore (obr. 2b). ROC AUC 98,0% naznačuje vysokú predikčnú schopnosť testu (obr. 2c).

### GenoScan Lbquant:

■ Sensitivity = 91.7%

■ Specificity = 100.0%

Vs.

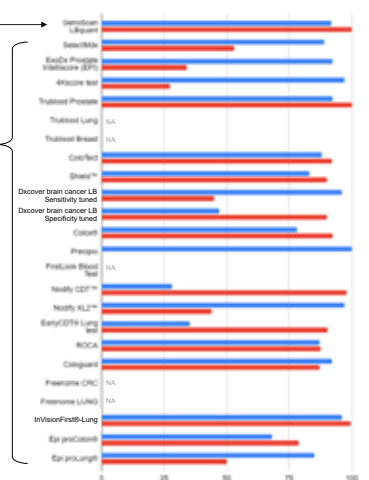
### Average single-cancer test:

■ Sensitivity = 80.6%

■ Specificity = 74.0%

Na porovnanie testu GenoScan Lbquant s alternatívnymi prístupmi sme preskúmali 22 dostupných *single-cancer liquid biopsy* testov. Celkovo náš test ukázal nadpriemernú senzitivitu a špecifitu (obr. 3). Test sa navyše zdá byť sľubný pre včasnú detekciu ochorenia, keďže až 75% pacientov v testovacom súbore malo nádory v štádiu T1.

Obrázok 3. Prehľad dostupných *single-cancer liquid biopsy* testov v porovnaní s metódou GenoScan Lbquant. Pre viaceré testy neboli dostupné údaje o senzitive a špecifite (NA).



## Prenatálna diagnostika mikrodelécií a mikroduplikácií 15q11.2 – súbor 10 prípadov

Autori: MUDr. Ivica Róžová, RNDr. Dagmar Landlová, RNDr. Renata Lukačková, PhD., RNDr. Miroslava Eckertová, PhD., RNDr. Erika Tomková, RNDr. Katarína Tóthová, MUDr. Peter Križan, CS.

Spoločnosť: Oddelenie lekárskej genetiky, MEDIREX a.s., Bratislava, SR

Autor tohto posteru nemá žiadny finančný alebo osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu.

### Úvod

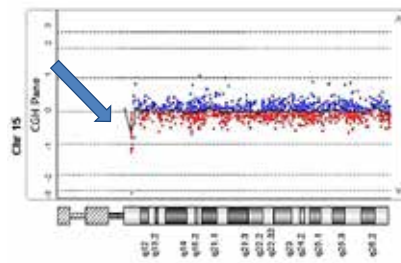
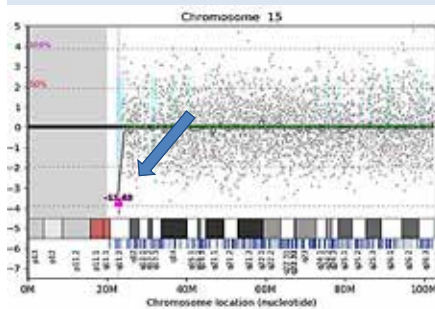
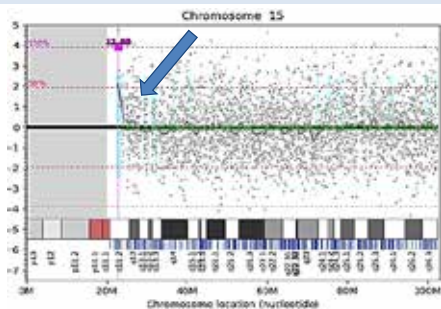
Región 15q11.2 je mapovaný medzi BP1-BP2, odhadovaná veľkosť je 500 kb a obsahuje gény *TUBGCP5*, *CYFIP1*, *NIPA1* a *NIPA2*, ktoré nepodliehajú imprintingu. Mikrodelécie a mikroduplikácie chromozómovej oblasti 15q11.2 patria medzi pomerne časté nálezy, čo možno vysvetliť akumuláciou repetitívnych sekvencií. Vzhľadom na široké spektrum fenotypových prejavov, neúplnú penetranciu a variabilnú expresivitu, je genetická konzultácia, zvlášť v prenatálnom období, náročná. Relatívne vysokú frekvenciu týchto nálezu v populácii je potrebné zohľadniť pri overení familiarity nálezu.

### Materiál

Spracovali sme takmer 8000 prenatálnych genetických konzultácií v ambulanciách MedirexGroup za obdobie rokov od 2010 až 2023. Zamerali sme sa na subchromozómové zmeny v oblasti 15q11.2, ktoré sme detegovali genetickým vyšetrením arrayCGH a/alebo Genome Screen zo vzoriek plodovej vody.

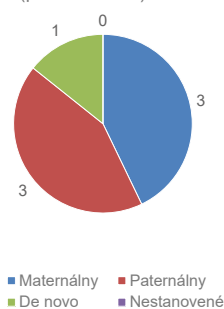
### Výsledky

Prenatálnym genetickým laboratórnym vyšetrením tehotných genetickej ambulancie MedirexGroup sme v rokoch 2010 – 2023 potvrdili mikrodeléciu 15q11.2 u siedmich plodov a mikroduplikáciu 15q11.2 u troch. Indikáciou podrobného genetického testovania plodu bol vo všetkých prípadoch patologický výsledok prenatálneho skriningového vyšetrenia (biochemický sérum-integrovaný skrining, v niektorých prípadoch kombinovaný biochemický a UZV skrining). Analýzou segregančných pomerov sme pri mikrodelécii 15q11.2 najčastejšie potvrdili prenos od fenotypovo bezpríznakového rodiča.

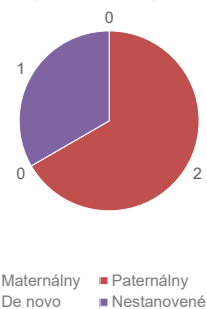


Mikrodelécie 15q11.2	Biochemický skrining I.+II.	Biochemické skriningové parametre v MoM	UZV - NT v mm (MoM)	Pôvod nálezu (dedičnosť)
PV 1	T21=1:5	PAPP-A 0,70, MS-AFP 0,49, uE3 0,43, tHCG 1,82, fβHCG 0,91	1,8 (1,42)	maternálny
PV 2	T21=4:5	PAPP-A 0,53, MS-AFP 0,82, uE3 0,95, tHCG 2,87, fβHCG 5,44	3,8 (2,6)	paternálny
PV 3	T21=1:4	PAPP-A 1,31, MS-AFP 1,05, uE3 0,65, tHCG 2,37, fβHCG 2,86	2,3 (1,77)	paternálny
PV 4	T21=1:2	PAPP-A 0,40, MS-AFP 1,36, uE3 0,47, tHCG 3,79, fβHCG 1,67	1,7	paternálny
PV 5	T21=1:25	PAPP-A 0,72, MS-AFP 0,54, uE3 0,56, fβHCG 2,10, tHCG 2,07	1,69	de novo
PV 6	T21=1:3	PAPP-A 0,73, MS-AFP 1,43, uE3 0,47, fβHCG 1,27, tHCG 5,0	1,6 (1,26)	maternálny
PV 7	T21=1:5	PAPP-A 0,70, MS-AFP 0,49, uE3 0,43, tHCG 1,82, fβHCG 0,91	1,8	maternálny

Mikrodelécie 15q11.2 (pôvod nálezu)



Mikroduplikácie 15q11.2 (pôvod nálezu)



### Záver

Mikrodelécie a mikroduplikácie chromozómovej oblasti 15q11.2 sa vyznačujú relatívne vysokou frekvenciou v populácii, neúplnou penetranciou a predominantne neurologickým fenotypom. Interpretácia nálezu je v prenatálnom období obzvlášť komplikovaná. Spracované údaje naznačujú, že mikrodelécie 15q11.2 sú v prenatálnom období asociované s extrémne patologickými skriningovými výsledkami u plodu.

### QR – kód pre stiahnutie posteru:



#### Zdroje:

1. Maya, I. et al., 2020. Should We Report 15q11.2 BP1-BP2 Deletions and Duplications in the Prenatal Setting?
2. Sun, M et al., 2020. Prenatal diagnosis of a de novo 15q11.2 microdeletion in a maternal inv(4)(p15q31) fetus with increased nuchal translucency
3. Zhuang, J. et al. 2024. Prenatal diagnosis of fetuses with 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion in the Chinese population: a seven-year single-center retrospective study

## Aminoacylase 1 deficiency: case report on three affected siblings

MUDr. Josef Srovnal, Ph.D.<sup>1,2,3</sup>, MUDr. Vratislav Smolka<sup>4</sup>, Prof. RNDr. David Friedecký, Ph.D.<sup>5</sup>, Mgr. Jana Kolarová<sup>6</sup>, MUDr. Oksana Tkacik<sup>4</sup>, MUDr. Hana Folténová<sup>4</sup>, Ing. Vojtěch Bekarek<sup>5</sup>, Mgr. Petr Vrtel, Ph.D.<sup>1</sup>, Prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.<sup>1</sup>

1. Institute of Medical Genetics, University Hospital in Olomouc, Czech Republic
2. Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University in Olomouc, Czech Republic
3. Cancer Research Czech Republic, Olomouc, Czech Republic
4. Department of Paediatrics, University Hospital in Olomouc, Czech Republic
5. Laboratory for Inherited Metabolic Disorders, Department of Clinical Biochemistry, University Hospital Olomouc, Czech Republic
6. Department of Clinical Psychology, University Hospital in Olomouc, Czech Republic

### Introduction

**Aminoacylase 1 (ACY1, EC 3.5.1.14)** is a zinc-binding metalloenzyme belonging to the aminoacylase family, whose members catalyze the hydrolytic deacetylation of N-acetylated proteins. ACY1 is expressed most strongly in the kidney and brain and catalyzes the cleavage of various N-acyl-L-amino acids (other than N-acetyl aspartate, which is hydrolyzed by aminoacylase 2) into the corresponding free amino acids and acetic acid. Deficiency of ACY1 (ACY1D, OMIM # 609924) causes a very rare and potentially serious neurodegenerative disease known as Canavan disease, which has a highly variable phenotype. ACY1D individuals can be wholly asymptomatic but may also suffer from severe neurological and psychiatric disabilities. ACY1D is diagnosed on the basis of elevated levels of urinary N-acetylated amino acids, which can be detected by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) or NMR spectroscopy. Definitive confirmation of the diagnosis is obtained by enzyme activity determination or gene analysis. The disease exhibits autosomal recessive inheritance and the ACY1 gene is located on chromosome 3p21.

### Case presentation

The proband was a boy and the 3rd child in his family, born from his mother's 3rd pregnancy. He was born spontaneously at term by head delivery, birth weight was 3800g, birth length was 51 cm, and postpartum adaptation was uneventful. The boy's psychomotor development was normal, but he attended **speech therapy for a speech sound**. He was evaluated as socially immature at the beginning of his schooling and was diagnosed with dysgraphia at the age of 10 years during an examination by a special educator. He does not ride a bicycle because he reports that problems with coordination and balance make it impossible for him to do so.

Clinical examination revealed only marked gynecomastia and sonography showed diffuse hepatic hyperechogenicity consistent with steatosis and splenomegaly without sonographic evidence of portal hypertension. When tested with the **Wechsler Intelligence Scale for Children (WISC-III)**, the boy exhibited unevenly distributed verbal and perceptual intellectual abilities. The boy's medical history was suspicious for ADHD, he had a speech sound disorder, and he had been referred to the Special Education Center for Learning Disabilities since 5th grade.

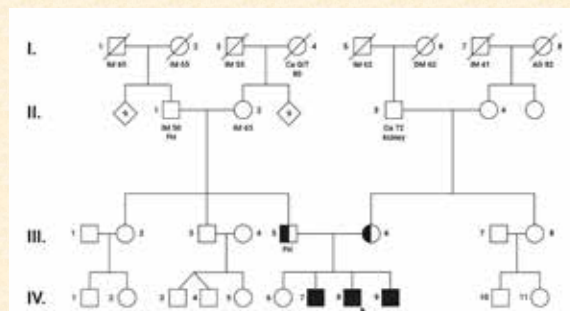
## Results

### Proband's laboratory test results at 14 and 18 years of age

Proband age (years)	14	18	Normal range
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29.1	26.5	18.5 - 24.9
Total cholesterol (mmol/l)	5.7	4.6	2.9 - 5.0
Triglycerides (mmol/l)	1.53	0.95	0.42 - 1.7
HDL-C (mmol/l)	1.36	1.14	1.0 - 2.1
Apo A1 (g/l)	1.41	ND	1.0 - 1.7
Apo B100 (g/l)	1.09	ND	0.4 - 1.0
Blood sugar (mmol/l)	4.9	4.9	3.0 - 5.6
HOMA-IR	2.5	1.5	≤ 2.0
ALT (μkat/l)	0.6	0.45	0.1 - 0.78
AST (μkat/l)	0.54	0.72	0.22 - 0.67
Uric acid (μmol/l)	463	437	200 - 420
Blood pressure	132/83	121/73	115/70 - 120/80

BMI – Body mass index; HDL – High density lipoprotein; Apo – Apolipoprotein; HOMA-IR – Homeostatic model assessment of insulin resistance; ALT – Alanine-aminotransferase, AST – Aspartate-aminotransferase, ND – not determined

### Family pedigree

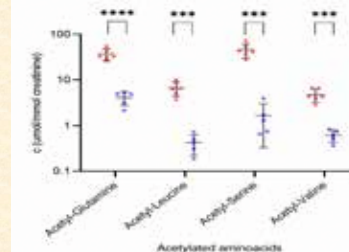


MI – Myocardial infarction; Ca – Carcinoma; DM – Diabetes mellitus; AD – Alzheimer disease; FH – familial hypercholesterolemia; FoA – Foramen ovale apertum.

### Psychological test results for the proband and his siblings

Psychological parameters	Proband (8/IV)	Sibling 1 (7/IV)	Sibling 2 (9/IV)
Verbal Ability	Low	Average	Above
Perceptual Ability	Average	Above	Above
Full Scale IQ	Low	Above	Above
Attention deficit	Yes	No	Ambiguous
Hyperactivity	Yes	No	Ambiguous
SLD	Yes	No	Ambiguous
Speech disorder	Yes	No	Yes
Autism	No	No	No

### Concentrations of selected acetylated amino acids in siblings with ACY1



### Results

**Increased urinary excretion of N-acetyllalanine, N-acetylmethionine, and N-acetylglutamine** was detected by gas chromatography-mass spectrometry. Interestingly, higher urinary excretions of acetyl, propionyl and butyrylglycine were observed.

Molecular genetic analysis revealed a **homozygous pathogenic missense variant in the ACY1 gene c.1057C>T (p.Arg353Cys; rs21912698, MAF 0.06%)**. This missense mutation was subsequently detected in both parents in the heterozygous form (5/III and 6/III) and in two brothers in homozygous form (7/IV and 9/IV). The increased urinary excretion of N-acetylated amino acids and selected acylglycines were found in both brothers.

### Conclusion

The low frequency of ACY1D diagnoses may be because it frequently causes only minor intellectual disabilities in childhood that are not indicated for selective screening including GC-MS analysis of urinary organic acids. It is therefore possible that selective IMD screening including tests for urinary acetylated amino acids should be indicated not only for equivocal neurological findings but also for cognitive impairment and in children with various disorders consistent with the autism spectrum.

**Funding:** This work was funded by Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic [MCMG - LM2023067, EATRIS-CZ – LM2018133], Palacký University Olomouc [LF 2023\_006] and Czech Health Research Council AZV CR [No. NU20-08-00367].

All authors declare that they have no conflicts of interest.



## Zriedkavé chromozómové aberácie u pacientov s lymfoproliferatívnou poruchou B-buniek z genetického hľadiska

MEDIREX GROUP  
výsk. pracovisko

M. Szeifová<sup>1</sup>, A. Hercegová<sup>1</sup>, A. Žákovičová<sup>1</sup>, A. Blahová<sup>1</sup>, E. Flochová<sup>2</sup>, J. Chudej<sup>2</sup>, A. Varga<sup>3</sup>, R. Lukačková<sup>1</sup>

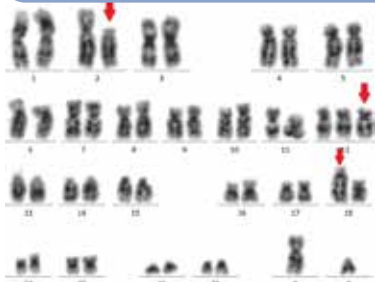
<sup>1</sup>Oddelenie lekárskej genetiky, Medirox a.s.,  
<sup>2</sup>Hematologická a transfúziologická ambulancia, Univerzitná nemocnica Martin,  
<sup>3</sup>Hematologická ambulancia, Fakultná nemocnica s poliklinikou Nové Zámky

### ÚVOD

Lymfoproliferatívne ochorenia tvoria heterogénnu skupinu ochorení charakteristických nekontrolovateľnou produkciou lymfocytov. Okrem typických zmien prítomných pri lymfoproliferatívnych ochoreniach chceme predstaviť a poukázať na menej popísané nálezy. Práca zahŕňa prípady troch pacientov so zriedkavými chromozómovými aberáciami zachytené na našom pracovisku v období od júla 2023 do februára 2024.

### KAZUISTIKA I.

Vyšetrili sme vzorku periférnej krvi 69 ročného probanda so suponovanou diagnózou CLL, podľa doplnenia záveru patológa s diagnózou B-NHL typu NOS (pravdepodobne MZBL). Cytogenetickou analýzou sme identifikovali translokáciu t(2;18)(p11;q21). Ide o minoritný variant klasickej translokácie t(14;18)(q32;q21), ktorá vedie k deregulácii génu *BCL2*. Následkom toho dochádza k inhibícii apoptózy a akumulácii dlhožijúcich B-buniek. Výskyt tejto aberácie je pri lymfómoch 0,5% prípadov s abnormálnym karyotypom. Okrem reciprokej translokácie bola u pacienta prítomná aj trizómia chromozómu 12.



Prijatý materiál	
PB-periférna krv heparin Li	
PB-periférna krv EDTA	
PB-periférna krv RL	
Cytogenetika	
PB-priama	realizované
PB-72h onko	
47,XY,t(2;18)(p11;q21),+12[5]/46,XY[15]	
FISH	
*PB-BCL2(18q21)	pozit. prestavba BCL2:37%
*PB-13Q/CL12	
13q14	negat.
12C	pozit. +12:37%
*PB-ATM/TP53	
ATM	negat.
TP53	negat.



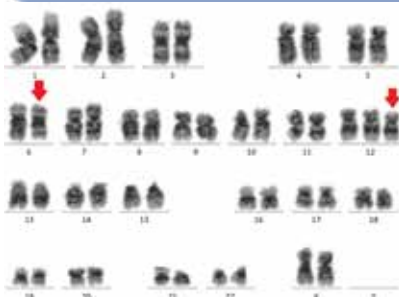
Obr. 1.: Karyogram s nálezom 47,XY,t(2;18)(p11;q21),+12

Obr. 2.: Výsledkový list pacienta

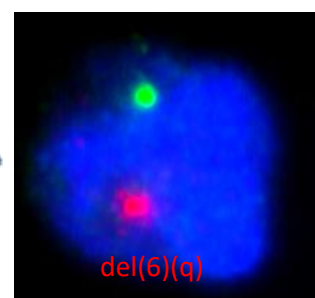
Obr. 3.: Próba BCL2 Break Apart (ZytoLight)

### KAZUISTIKA II.

Delécia 6q je jednou z typických aberácií u pacientov s CLL so zlou prognózou. Nášmu pacientovi s potvrdenou diagnózou CLL sme detegovali okrem +12 aj zriedkavý nálezu - izochromozóm i(6)(p10) typický pre akútnu lymfoblastovú leukémiu (ALL). Tvorba izochromozómu 6p vedie k strate potenciálnych tumor supresorových génov lokalizovaných na dlhom ramene chromozómu 6. Navyše, trizómia ramena chromozómu 6 naznačuje možnú úlohu amplifikovaných génov v progresii tumoru. U probanda boli prítomné dva patologické klony. Primárny klon s trizómiou 12 a sekundárny s +12 a izochromozóm i(6)(p10).



Prijatý materiál	
PB-periférna krv heparin Li	
PB-periférna krv EDTA	
Cytogenetika	
PB-priama	realizované
PB-72h onko	
47,XX,+12[4]/47,idem,i(6)(p10)[19]	
FISH	
*PB-6q21/6q23	pozit. del(6)(q21q23):93%
*PB-13Q/CL12	
13q14	negat.
12C	pozit. +12:85%
*PB-ATM/TP53	
ATM	negat.
TP53	negat.



Obr. 4.: Karyogram s nálezom 47,XX,i(6)(p10),+12

Obr. 5.: Výsledkový list pacienta

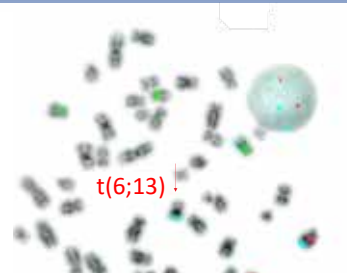
Obr. 6.: Próba XL 6q21/6q23 Deletion Probe (MetaSystems)

### KAZUISTIKA III.

Posledný je prípad 82 ročného pacienta s nálezom der(6)t(6;13)(q16;q22), ktorý dosiaľ nebol popísaný podľa dostupnej literatúry. Ide o netypickú aberáciu u pacientov s CLL. Okrem zriedkavého nálezu bola tiež u pacienta prítomná trizómia chromozómu 12.



Prijatý materiál	
BM-kostná dreň heparin Li	
BM-kostná dreň EDTA	
BM-kostná dreň RL	
Cytogenetika	
BM-24h	
47,XX,der(6)t(6;13)(q16;q22),+12[11]/46,XX[9]	
FISH	
*BM-6q21/6q23	pozit. del(6)(q21q23):64%
*BM-13Q/CL12	
13q14	aberrácia na metafázach
12C	pozit. +12:55%
*BM-ATM/TP53	
ATM	negat.
TP53	negat.



Obr. 7.: Karyogram s nálezom 47,XX,der(6)t(6;13)(q16;q22),+12

Obr. 8.: Výsledkový list pacienta

Obr. 9.: Próba XL DLEU/LAMP/12cen Probe(MetaSystems)

### ZÁVER

Všetci pacienti spomenutí v práci prišli do laboratória so suponovanou diagnózou CLL, ktorá bola u dvoch z nich aj potvrdená. Spoločnou aberáciou našich kazuístík je trizómia chromozómu 12, ktorá má intermediárnu prognostickú hodnotu s dĺžkou prežívania nad päť rokov. Podľa dostupnej literatúry dosiaľ nie je známe, ako nami identifikované zriedkavé zmeny vplyvajú na prognózu pacienta.

Zriedka sa vyskytujúce zmeny v genóme pacienta je možné identifikovať vďaka cytogenetickej analýze, pričom jednotlivé nálezy je nutné vyšetriť aj molekulovou cytogenetikou - FISH. Obe metódy sú aj v súčasnej dobe nevyhnutné pri genetickej diagnostike pacientov s lymfoproliferatívnym ochorením.

Autor tohto posteru nemá žiadny finančný alebo osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu.

<https://aifgeneticsoncology.org/>

Abruzzo L.V., Herling C.D., Calin G.A. a kol. Trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia expresses a unique set of activated and targetable pathways. *Haematologica*. 2018. 103(12): 2069–2078.

Justiz Vaillant A.A., Stang C.M. Lymphoproliferative Disorders. *StatPearls*. 2023. (241):767-783.

Ismail N., Yaseen N., Al-Ansari N. Isochromosome 6(p) is a rare chromosomal aberration in Acute Lymphoblastic Leukemia: A case report. *Iraqi Journal of cancer and medical genetics*. 2018. 193(4):157-160



# PROFILOVANIE KRVNEJ PLAZMY U PACIENTOV S PĽÚCNYM NÁDOROM POMOCOU METABOLOMICKEJ ANALÝZY



Ing. Miroslava Šarlinová, PhD.<sup>1</sup>, Ing. Eva Baranovičová, PhD.<sup>1</sup>, prof. MUDr. Anton Dzian, PhD.<sup>2</sup>,  
MVDr. Dagmar Kalenská, PhD.<sup>3</sup>, prof. RNDr. Peter Račay, PhD.<sup>4</sup>, doc. RNDr. Tatiana Matáková, PhD.<sup>4</sup>,  
Mgr. Henrieta Škovierová, PhD.<sup>1</sup>, prof. RNDr. Erika Halašová, PhD.<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martinské centrum pre biomedicínu, Martin,

<sup>2</sup> Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Klinika hrudníkovej chirurgie UNM, Martin

<sup>3</sup> Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Ústav anatómie, Martin

<sup>4</sup> Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Ústav lekárskej biochémie, Martin

<sup>5</sup> Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Ústav lekárskej biológie, Martin

## ÚVOD

Epidemiologické štúdie vo svete potvrdzujú, že karcinóm pľúc (KP) je nielen choroba 20., ale aj 21. storočia. Nádory pľúc môžu vykazovať rozdielnu morfológiu, t.j. histologickú heterogenitu a tiež rozdielny stupeň diferenciácie. Rôzne štúdie zaoberajúce sa metabolickým prístupom poukazujú na zmeny vo všeobecnom metabolizme u pacientov s nádorovým ochorením. Krv ako dôležitý nosič metabolickej informácie a pre svoju relatívne ľahkú dostupnosť je vhodným materiálom pre klinické štúdie.

## VÝSLEDKY

Tab.1 Diskriminačná analýza Random Forest aplikovaná na binárne systémy, algoritmus napájaný relatívnou koncentráciou metabolitov v plazme.

Systém	Počet	AUC	rel. konc. metabolitov v plazme zoradené podľa dôležitosti
nádory pľúc / kontroly	2 / 10	0,824 / 0,957	laktát, 3-hydroxybutyrát, kreatín, glukóza, citrát, acetát, lipoproteínová frakcia, 2-oxoizokaproát, sukcinát, pyruvát,
pľúcne metastázy / kontroly	2 / 10	0,899 / 0,956	laktát, acetát, citrát, 3-hydroxybutyrát, kreatínin, pyruvát, 2-oxoizokaproát, sukcinát, kreatín, glukóza
všetci pacienti / kontroly	2 / 10	0,86 / 0,938	laktát, 3-hydroxybutyrát, citrát, kreatín, glukóza, pyruvát, acetát, 2-oxoizokaproát, sukcinát, alanín
nádory pľúc / pľúcne metastázy	2 / 5 / 10	0,542 / 0,562 / 0,562	všetky metabolity mali veľmi nízku dôležitosť

- Tab.2 Hodnoty metabolitov v plazme (p-hodnota < 0,0023 po Bonferroniho korekcii)
- medzi pacientami s KP a pľúcnymi metastázami iného pôvodu oproti kontrolám.
- Percentuálna zmena odvodená od mediánov.\* Signál NMR sa mierne prekrýval.

Metabolit	nádory pľúc / kontroly		pľúcne metastázy / kontroly	
	p-value	change / %	p-value	change / %
glukóza	p<0,0001	10	p<0,01	11
laktát	p<0,0001	-27	p<0,0001	-35
alanín	p<0,0001	-15	p<0,0001	-15
acetát	p<0,0001	7	p<0,0001	15
3-hydroxybutyrát	p<0,0001	28	p<0,0001	41
pyruvát	p<0,05	-8	p<0,001	-15
sukcinát	p<0,0001	-15	p<0,0001	-18
citrát	p<0,0001	21	p<0,0001	22
kreatínin	p<0,0001	9	p<0,0001	18
tyrozín	p<0,001	-10	p<0,001	-11
tryptofán	p<0,0001	-13	p<0,005	-11
2-oxoizokaproát	p<0,0001	20	p<0,0001	21
threonín	p<0,001	-10	p<0,005	-6
prolín*	p<0,0001	18	p<0,0005	22
lipoproteíny	p<0,0001	-22	n.s.	-
kreatín	p<0,005	27	p<0,001	21

## ZÁVER

NMR analýza krvnej plazmy ukázala značnú metabolickú blízkosť pacientov s primárnym a sekundárnym karcinómom pľúc. Metabolická podobnosť bola pozorovaná aj v skupine pacientov so sekundárnou rakovinou pľúc bez ohľadu na pôvod rakoviny. Porovnaním so zdravými kontrolami možno časť pozorovaných zmien vysvetliť z hľadiska prítomnosti rakoviny a ďalšia časť pozorovaných zmien je veľmi podobná zmenám pozorovaným po ischemickom poškodení. Náhodný les vykonal rozlíšenie oboch skupín od kontrol takmer ideálne s AUC nad 0,95, keď sa ako vstupné premenné použili relatívne koncentrácie metabolitov v krvnej plazme. Čo sa týka hodnotených metabolitov, dospeli by sme k záveru, že maligne nádory na pľúčkach spôsobili metabolické zmeny v krvnej plazme, ktoré nekorelovali s pôvodom rakovinových buniek. Zmeny hladín plazmatických metabolitov u pacientov s maligným nálezom na pľúčkach vykazovali znaky podobné tým, ktoré sa pozorovali v súvislosti s ischemiou.

Táto práca vznikla vďaka podpore viacerých grantov ako sú: Agentúra pre výskum a vývoj č. APVV15/0107, APVV 15/0217 a APVV 16-0033. Ďalej bola spolufinancovaná grantom VEGA 1/0310/21 a Operačným programom Integrovaná infraštruktúra pre projekty: Integrovaná stratégia vo vývoji personalizovanej medicíny vybraných zhubných nádorov a ich vplyv na kvalitu života, IMTS:313011V446 (LISPER), spolufinancovaný Európskym fondom regionálneho rozvoja.

Konflikt záujmov: Autor daného posteru nemá žiadny finančný ani osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu

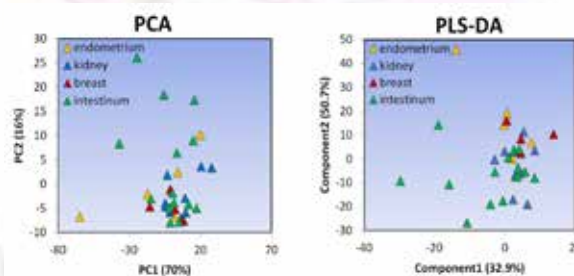
## MATERIÁL A METÓDY

- plazma z 2,5 ml periférnej krvi
- deproteinácia plazmy na metabolickú analýzu
- meranie vzoriek plazmy pomocou NMR spektroskopie

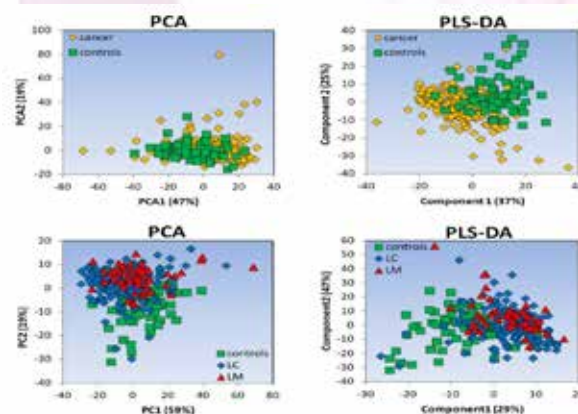
## CHARAKTERISTIKA SÚBORU

Typ karcinómu	Spolu	Ženy	Muži
Adenokarcinóm	55	23	32
Spinozellulárny ca	41	5	36
Neuroendokrinný ca	34	16	18
Adenosquamózny ca	2	0	2
Spolu	132	44	88
Kontroly	77	40	37

Obr. 1 Analýza PCA (vľavo) a PLS-DA (vpravo) pre pacientov s pľúcnymi metastázami na základe NMR, metabolické údaje krvnej plazmy.



Obrázok 2. PCA (vľavo) a PLS-DA (vpravo) analýzy systémov: pacienti s maligným nálezom v pľúčkach proti kontrolám (vyššie) a pacientom s rakovinou pľúc (LC), pľúcnymi metastázami (LM) a kontrolám (nižšie), vykonané v Metaboanalyst 4.0 [16]. Oba algoritmy boli napájané relatívnou koncentráciou plazmatických metabolitov stanovených NMR spektroskopiou.



# Možnosti analýzy molekulárnych biomarkerov v diagnostike a liečbe onkologických pacientov

Mgr. Lukáš Šebest, PhD.; Mgr. Tomáš Slamka; RNDr. Anna Kostrábová, PhD.; Mgr. Eva Krascsenitsová PhD.;  
Mgr. Lenka Dolešová, PhD.; RNDr. Regina Lohajová Behulová, PhD.  
Oddelenie lekárskej genetiky, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

XXXIV. Izakovičov memoriál; 9.-11.10.2023; Stará Lesná, Hotel Horizont Resort

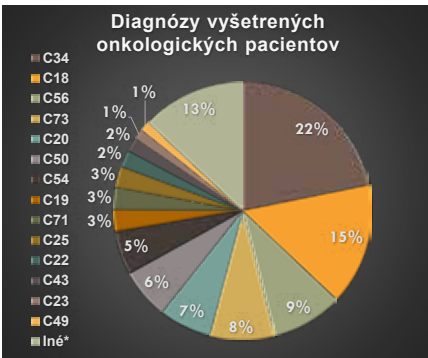
Dôležitou súčasťou personalizovanej medicíny onkologických pacientov je analýza molekulárnych biomarkerov. Klinicko-diagnostická prax ponúka široké spektrum molekulárno-genetických testov, pričom väčšinu molekulárnych biomarkerov so schválenými terapiami je možné určiť pomocou tzv. jednogénových testov (napr.: sekvenovanie prvej generácie, imunohistochemické vyšetrenie (IHC), qPCR, fluorescenčná *in situ* hybridizácia (FISH) a SNaPshot analýza). Hlavnou nevýhodou týchto prístupov je ich obmedzený rozsah a limitácia v multiplexovaní vzoriek.

**Masívne paralelné sekvenovanie (MPS)** postupne nahrádza používanie jednogénových testov, pretože dokáže simultánne vyšetriť v rôznych typoch solídnych nádorov molekulárne biomarkery v paneloch desiatok až tisícok génov a stanoviť tak **komplexný genomický profil (CGP)**. ESMO (*European Society for Medical Oncology*) v roku 2024 vydala odporúčania na používanie MPS pre pacientov s pokročilými a/alebo metastatickými nádormi, konkrétne pre nemalobunkový karcinóm pľúc (NSCLC), kolorektálny karcinóm (CRC), karcinóm prostaty, ovárií, prsníka, štítnej žľazy, cholangiokarcinóm, gastrointestinálny stromálny tumor (GIST), sarkóm a karcinómy bez známeho primárneho pôvodu (1).

MPS analýza panelu génov z nádorového tkaniva je v portfóliu vyšetrení ponúkaných OLG OÚSA od roku 2020, pričom pre bežnú klinicko-diagnostickú prax sa najviac osvedčila práve analýza menších panelov génov (cca 40 až 140 génov), ktorými je možné detegovať jednonukleotidové varianty, inzercie, delécie, génové prestavby alebo fúzie génov, fokálne amplifikácie a zmeny počtu kópií (CNV) na úrovni DNA aj RNA. V prípade potreby analýzy zložitejších biomarkerov ako mutačná nálož nádoru (TMB) alebo deficiencia homologickej rekombinácie (HRD) sa pristupuje k analýze veľkého panelu génov (viac ako 600 génov).

## Somatické panely génov na OLG OÚSA

2020 – Solid Tumor Solutions (STS; SOPHiA Genetics)  
2020/2021 – TruSight Oncology 500 (TSO500; Illumina) - TMB  
2022 – RNAtarget Oncology Solution (ROS; SOPHiA Genetics)  
2023 – AVENIO Tumor Tissue CGP (Roche) - TMB  
2024 – RNAtarget Oncology Solution – Custom Solution (RCROS; SOPHiA Genetics)  
2024 – OncoPrint Precision Assay (OPA; ThermoFisher Scientific)  
2024 – OncoDEEP (OncoDNA) – TMB; HRD



Od zavedenia MPS analýzy panelu génov z nádorového tkaniva na OLG OÚSA bolo takýmto spôsobom vyšetrených viac ako **700 pacientov** so širokým spektrom onkologických ochorení. V rámci tejto skupiny tvoria najpočetnejšiu skupinu pacienti s **NSCLC (22%)** a **CRC (25%)** pre diagnózy C18.-, C19 a C20). Ďalej nasledujú pacienti s karcinómom ovária (9%), štítnej žľazy (8%), prsníka (6%), endometria (5%), mozgu (3%), pankreasu (3%), pečene a vnútročeňových žľazových ciest (2%), kože (2%), žľčníka (1%) a sarkómom (1%).

\*Zvyšných 13% tvorí skupina pacientov s relatívne zriedkavými diagnózami (napr. karcinóm príušnej žľazy, slinnej žľazy, jazyka, kosti), diagnózami pri ktorých zatiaľ nie je v našich pomeroch dopyt po MPS analýze panelu génov (napr. karcinóm tenkého čreva, retroperitonea a peritonea, prostaty, žalúdka) alebo diagnózou **karcinómu bez údaju o mieste/nezámeho origa/metastázy**, pri ktorých práve MPS analýza panelu génov môže výrazne napomôcť k ich diferenciálnej diagnostike a prípadne posunúť terapiu týchto pacientov správnym smerom.

Na OLG OÚSA pri hodnotení a interpretácii dokázaných molekulárnych biomarkerov z nádorových tkanív vychádzame z medzinárodných odporúčaní od organizácií ako **ESMO (1)**, **NCCN (National Comprehensive Cancer Network) (2)** a používame terapeutický klasifikačný systém somatických variantov **TIER (3)**, kde interpretujeme len varianty so silným klinickým významom TIER IA a IB, a varianty s potenciálnym klinickým významom TIER IIC a IID.

## Príklady molekulárnych biomarkerov v závislosti od diagnózy

**NSCLC:** EGFR, KRAS G12C, MET ex14 skipping, ERBB2, ERBB2 amplif., MET amplif., ALK fúzie, ROS1 fúzie, NRG1 fúzie  
**CRC:** KRAS, NRAS, POLE, POLD1, ERBB2 amplif.  
**CA ovárií:** BRCA1/2, HRD  
**CA štítnej žľazy:** RAS, RET, TERT, ALK fúzie  
**CA prsníka:** PIK3CA, AKT1, ERB2, BRCA1/2, PTEN, ESR1, ERBB2 amplif.  
**CA endometria:** POLE, ERBB2 amplif.  
**Gliómy:** IDH1/2, CDKN2A, CTNNB1, EGFR, ERBB2 amplif.  
**CA pankreasu:** KRAS G12C, BRCA1/2, PALB2, ERBB2 amplif., ALK fúzie, ROS1 fúzie, NRG1 fúzie  
**CA žľazových ciest:** IDH1, KRAS G12C, ERBB2, ERBB2 amplif., MET amplif., ALK fúzie, ROS1 fúzie  
**Maligný melanóm:** KIT, NRAS, GNAQ, GNA11, SF3B1, BAP1, EIF1AX, CYSLTR2, ROS1 fúzie, BRAF fúzie  
**Sarkómy:** KRAS, HRAS, NRAS, TP53, PIK3CA, FBXW7, CTNNB1, KIT, PDGFRA, CDK4 amplif., rôzne fúzie  
**Tumor agnostické biomarkery (bez väzby na diagnózu):** BRAF V600E, MSI, FGFR1/2/3 fúzie, NTRK1/2/3 fúzie, RET fúzie (4;5)

Vďaka komplexnejšiemu prístupu k analýze molekulárnych biomarkerov z nádorových tkanív je možné spoľahlivejšie stanoviť správnu diagnózu, odhadnúť prognózu ochorenia a nastaviť čo najúčinnejšiu liečebnú stratégiu, čím sa výrazne redukuje miera vedľajších účinkov a zvyšuje ochota pacientov dodržiavať nastavenú liečbu.

### Zoznam literatúry:

- Mosele, M. F., Westphalen, C. B., Stenzinger, A. et al. (2024). Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with advanced cancer in 2024: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals of Oncology*, 35(7), 588-606.
- [https://www.nccn.org/guidelines/category\\_1](https://www.nccn.org/guidelines/category_1)
- Li, M. M., Datto, M., Duncavage, E. J. et al. (2017). Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *The Journal of molecular diagnostics*, 19(1), 4-23.
- Gouda, M. A., Nelson, B. E., Buschhorn, L. et al. (2023). Tumor-agnostic precision medicine from the AACR GENIE database: clinical implications. *Clinical Cancer Research*, 29(15), 2753-2760.
- Tateo, V., Marchese, P. V., Mollica, V. et al. (2023). Agnostic approvals in oncology: getting the right drug to the right patient with the right genomics. *Pharmaceuticals*, 16(4), 614.

Autor tohto posteru nemá žiadny finančný alebo osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu.



# Charakterizace nového onemocnění spojeného s *de novo* syntézou purinů - deficitu PFAS

Václava Škopová<sup>1</sup>, Olga Součková<sup>1,2</sup>, Veronika Barešová<sup>1</sup>, Kyra Stuurman<sup>3</sup>, Aleš Hnízda<sup>1</sup>, Stanislav Kmoch<sup>1</sup>, Jiří Zeman<sup>1</sup> a Marie Zikánová<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu I.LF UK a VFN, Ke Karlovu 2, Praha

<sup>2</sup>Laboratoř hmotnostní spektrometrie Přírodovědecká fakulta UK, BIOCEV, Průmyslová 595, Vestec

<sup>3</sup>Department of Clinical Genetics, Erasmus MC University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

## Úvod:

Puriny jsou součástí DNA a RNA, ATP a dalších molekul. Při zvýšené potřebě jsou syntetizovány *de novo* (DNPS) pomocí šesti enzymů, které se shlukují do multienzymového komplexu – purinosomu. Patogenní varianty v genech kódujících tyto enzymy jsou asociovány se třemi dosud popsanými autosomálně recesivními poruchami – deficity PAICS, ADSL a ATIC. Jejich klinický projev zahrnuje především neurologické problémy různého stupně. Biochemicky je snížena aktivita mutovaných enzymů, což vede k hromadění jejich substrátů v tělních tekutinách pacientů.

## Případová studie a metody:

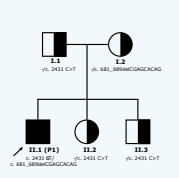
Tato studie popisuje první dva známé případy pacientů s patogenními variantami v genu *PFAS*, kódujícím fosforibosylformylglycinamidin syntázu (PFAS). Tento enzym katalyzuje čtvrtý krok v DNPS. Oba pacienti mají mírné klinické projevy včetně předčasného narození, nízkého vzrůstu a opakovaných epileptických záchvatů. První případ byl zachycen cíleným biochemickým screeningem meziproductů DNPS v močích dětí s nespecifickými projevy PMR, druhý metodou WES. Dále byly provedeny funkční studie metodami LC-MS/MS, HPLC, klonování a exprese, imunofluorescence a Western blotu.

## Výsledky:

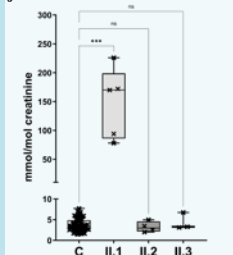
**Pacient 1:** je složeným heterozygotem pro varianty PFAS(NM\_012393.3): c.681\_689delCGAGCACAG, p.(Glu228\_Ser230del) a c.2431C>T, p.(Arg811Trp), které vedou ke snížené aktivitě enzymu PFAS (16% aktivity kontrol) a poruše formování purinosomu ve fibroblastech. V moči a séru se hromadil FGAr, substrát pro PFAS enzym.

**Pacient 2:** je homozygotem pro vzácnou variantu PFAS(NM\_012393.3): c.792C>G, p.(Asn264Lys). U tohoto pacienta nebyl k dispozici materiál pro stanovení aktivity PFAS ani pro screening metabolitů, ale rekombinantní mutovaný Flag\_PFAS\_N264K protein vykazoval sníženou aktivitu PFAS na 11% aktivity Flag\_PFAS\_wt proteinu.

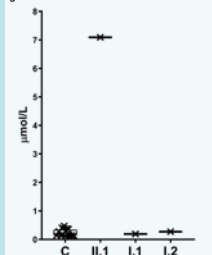
### Rodokmen pacienta 1:



### Koncentrace FGAr v močích kontrol (C), pacienta 1 a jeho sourozenců:



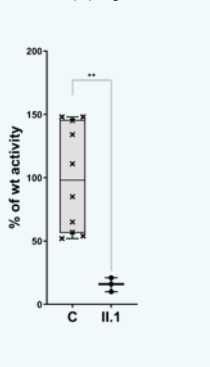
### Koncentrace FGAr v séru kontrol (C), pacienta 1 a jeho rodičů:



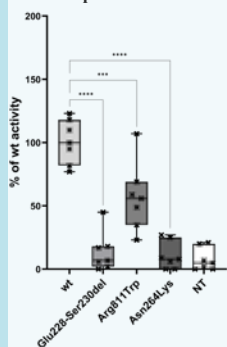
### Western blot pacienta 1:



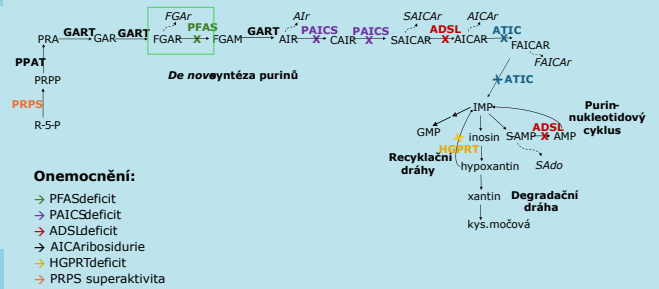
### Aktivita PFAS enzymu SF kontrol (C) a pacienta 1:



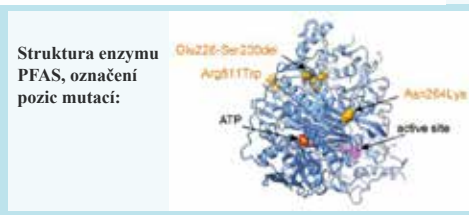
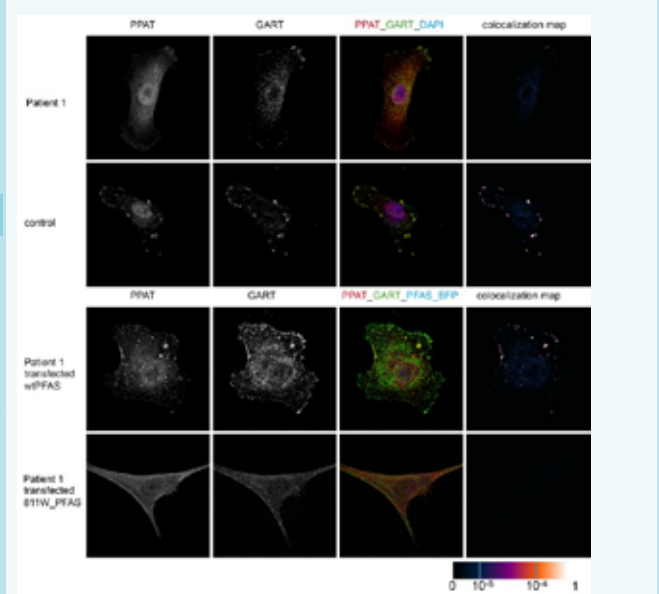
### Aktivita rekombinantních enzymů PFAS nesoucích mutace pacientů 1 a 2:



## Metabolismus purinů:



**Imunofluorescence** - formování purinosomu ve fibroblastech kontroly a pacienta 1. Obnova formování purinosomu u pacienta 1 po transfekci expresním vektorem pro wt PFAS:



## Závěr:

Popisujeme nové geneticky podmíněné onemocnění, deficit PFAS. Přestože funkční studie potvrdily patogenitu identifikovaných variant v genu *PFAS*, pacienti oproti očekávání založeném na dosud popsaných poruchách DNPS, nevykazovali vážné neurologické problémy. Tato situace je unikátní a vyvolává otázky, jaké mechanismy je mohou ochránit před neurologickým postižením. Dlouhodobé sledování těchto pacientů a další studium enzymu PFAS, jeho regulace a osudu FGAr/v v buňce i organismu, by mohlo přispět k lepšímu pochopení tohoto fenoménu.

Grantová podpora:  
Tato práce je financována grantem Ministerstva zdravotnictví AZV NU23-01-00500.

Deklarace konfliktů zájmů autora: nemám potenciální konflikt zájmů.



# SILNÁ GENETICKÁ KÁVA /kazuistika/

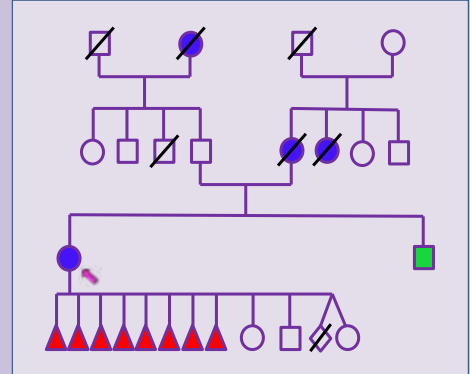
Tomášová R.<sup>(1)</sup>, Paučinová I.<sup>(1)</sup>, Kováčová E.<sup>(1)</sup>, Dolešová L.<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Oddelenie lekárskej genetiky, FNŠP Žilina, <sup>(2)</sup>Oddelenie lekárskej genetiky, OÚSA Bratislava,

## POPIS PRÍPADU

Vyšetrenie 11/2023:

- 41 r. pacientka odoslaná urológom pre recidivujúci zhubný nádor obličky /zistené 1x ako u 30-ročnej/
- Sledovaná onkológom a nefrológom pre st.p.resekcia renis 1.sin pre svetlobunkový renálny karcinóm; angiológom pre varixy; hematológom pre sy lepivých doštičiek.
- U brata retinitis pigmentosa
- Pozitívna rodinná anamnéza nádorových ochorení /ca prsníka/
- V OA infertilita: 8x sp.Ab do 10tt; 1x sp.Ab v 20tt, 1xGEU

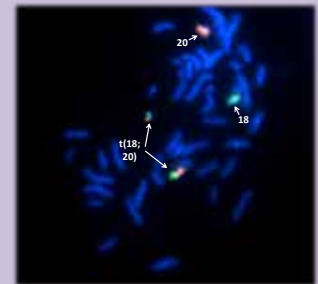
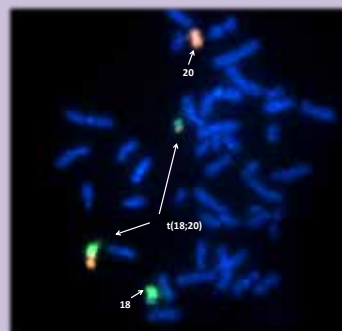


## MATERIÁL / METÓDY A VÝSLEDKY / NÁLEZY

### CYTOGENETIKA



### FISH



	METÓDY	VÝSLEDKY
Cytogenetika	72 hod. kultivácia lymfocytov PK G-band analýza chromozómov	<b>t(18;20)(q11.2;p11.2)</b>
Array CGH	PB-Array CGH GenomeScreen /PK v EDTA/	Negat. /bez chromoz. imbalancií/
M - FISH	Celochromozómové sondy XCP 18 /s.green/, XCP 20 /s.orange/ PK 72h./	<b>t(18;20)</b>
Klinický exóm NGS	virtuálny panel pre hereditárne onkologické ochorenia (3+36 génov) virtuálny panel retinitis pigmentosa (57 génov)	Negat. /bez variantu s patogén.efektom/ <b>Patogénny variant c.3262C&gt;T v géne IMPG2 v heterozygotnom stave</b>

## ZÁVER

- Detegovali sme reciproknú translokáciu t(18;20)(q11.2;p11.2), čím sme odhalili pravdepodobnú príčinu infertility u probandky, nakoľko zistený CG nález patrí do skupiny translokácií s vysokým rizikom abortov.
- Detegovali sme patogénny variant c.3262C>T v géne *IMPG2* v heterozygotnom stave, ktorý je asociovaný s autozómovo recesívnou Retinitis pigmentosa typ 56, ako aj autozómovo dominantne dedičnou makulárnou dystrofiou typu 5.
- Konkrétny hereditárny nádorový syndróm sme u pacientky nepotvrдили.

# Je variant c.25G>A v géne DRD3 v spojitosti s esenciálnym tremorom rizikový?

Vasil, M.<sup>1</sup>; Latka, S.<sup>2</sup>; Slíž, I.<sup>2</sup>; Tomášiková, L.<sup>2</sup>; Škovránek, M.<sup>3</sup>; Chamilová, J.<sup>4</sup>

Ambulancia lekárskej genetiky Humenné, Unilabs Slovensko, s. r. o.<sup>1</sup>; Genetické laboratórium Banská Bystrica, Unilabs Slovensko, s. r. o.<sup>2</sup>; Univerzitná nemocnica L. P. Košice<sup>3</sup>; IN MEDIC, s. r. o., Bardejov<sup>4</sup>

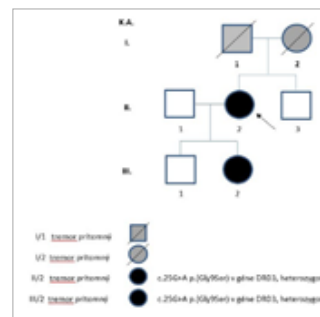
**Úvod:** Autori opisujú nález u 57-ročnej pacientky so symptomatológiou esenciálneho tremoru (ETM1, #190300). Heterogenita esenciálneho tremoru je značná, zahŕňa aj ETM2 (602134), ETM3 (611456), ETM4 (614782), ETM5 (616736), ETM6 (616736). Hlavným znakom esenciálneho tremoru je posturálny tremor paží, ale môže byť zapojená aj hlava, nohy, trup, hlas, čeľusť a tvárové svaly. Tento stav sa môže zhoršovať emóciami, hladom, únavou a extrémnymi teplotami. Autozomálne dominantná dedičnosť môže byť zistená vo väčšine rodín (Higgis a kol.).

**Materiál a metódy:** U pacientky (K. A.) bola urobená extrakcia genómovej DNA a príprava vzorky na analýzu bola uskutočnená podľa pokynov výrobcov. Analýza kódujúcej oblasti (vrátane zostrihovo relevantných úsekov: -10/+10 bp) génu DRD3 (NM\_000796.6) pomocou priameho sekvenovania bola realizovaná na prístroji Genetic Analyzer 3500xL Dx (Thermo Fisher Scientific Inc.). Získané dáta boli analyzované s využitím programu Geneious Prime® (Biomatters Ltd.) a databázy RefSeq (PMID: 26553804)

**Výsledky:** Pacientku (K. A.) na vyšetrenie odporučil neurológ. Uvádza tras rúk pri činnostiach. V spoločnosti sa vzhľadom na tras nevie najesť, polievku musí jesť chytením lyžice do hrsti. Tras sa zhoršuje v strese. Tras rúk sa začal vo veku cca 25 rokov, od veku 55 rokov sa zhoršil. Chôdza pôsobí stabilne.

Priame sekvenovanie: Vo vzorke bol v géne DRD3 detegovaný variant c.25G>A (p.Gly9Ser) v heterozygotnom stave.

Segregačná analýza: Dcéra probandky, ktorá má 38 rokov, uvádza, že pri sústredení sa jej roztrasie ruka, keď niečo nesie, bol u nej zistený variant c.25G>A (p.Gly9Ser) v heterozygotnom stave v géne DRD3. U rodičov probandky sme vyšetrenia urobiť nemohli, už zomreli. Obidvaja rodičia mali pri činnostiach prítomný tras rúk.



**Diskusia:** Hlavným znakom esenciálneho tremoru je posturálny tremor paží, môže byť zapojená aj hlava, nohy, trup, hlas, čeľusť a tvárové svaly. Tento stav sa môže zhoršovať emóciami, hladom, únavou a extrémnymi teplotami. Náchylnosť na dedičný esenciálny tremor -1 (ETM1) je spôsobená variáciou génu DRD3 (OMIM, \*126451) na chromozóme 3q13. (OMIM #190300).

Naša pacientka uvádza tras rúk pri činnostiach. V spoločnosti sa vzhľadom na tras nevie najesť, tras sa zhoršuje v strese. Tras sa začal vo veku cca 25 rokov. Od veku 55 rokov sa tras obidvoch rúk zhoršil. Polievku musí jesť chytením lyžice do hrsti. V ambulancii bol prítomný tras rúk obojstranne. Udáva zníženie svalovej sily v rukách. Chôdza pôsobí stabilne.

USG vyšetrením boli zistené drobné cysty obličiek obojstranne v centrálnom echo komplexe do 6 mm (Duláková, 2023). Nefrologickým vyšetrením je bez proteinúrie glomerulárna filtrácia v norme (Fulopová, 2023). Nálezy nesvedčia o tom, že by ovplyvňovali zdravotný stav.

Výsledok získaný priamym sekvenovaním informuje o prítomnosti variantu c.25G>A (p.Gly9Ser) v heterozygotnom stave v géne DRD3. Z dostupných databáz (napr. ClinVar) sa uvádza 1x ako pravdepodobne benígny, 2x ako benígny a 2x ako rizikový faktor, ktorý sa môže podieľať na esenciálnom tremore. Autori predpokladajú, že uvedený variant je rizikový v spojitosti s esenciálnym tremorom. Vhodné je ďalšie sledovanie pacientky.

**Záver:** Autori opisujú nález esenciálneho tremoru u pacientky s autozomálne dominantným charakterom ťažkostí (probandka, rodičia probandky a dcéra probandky). Predpokladajú, že na ťažkostiach sa môže podieľať variant c.25G>A (p.Gly9Ser) v heterozygotnom stave v géne DRD3. Vhodné je ďalšie sledovanie.

## Literatúra:



## Mabryho syndróm - zriedkavý (nedostatočne rozpoznávaný?) monogénový genetický syndróm asociovaný s epilepsiou

S. Vogelová<sup>1</sup>, L. Wachsmannová<sup>2</sup>, G. Krasňanská<sup>2,3</sup>, M. Konečný<sup>2,3</sup>

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

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

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

### Úvod:

**Mabryho syndróm (Syndróm mentálneho postihnutia s hyperfosfatáziou)** – predstavuje zriedkavé, geneticky podmienené ochorenie s autozómovo recesívnou dedičnosťou, s odhadovanou prevalenciou 1:1 000 000 (Orphanet). Jedná sa o geneticky heterogénnu poruchu s popisovanými patogénnymi DNA variantmi v siedmich kauzálnych génoch *PGAP2*, *PGAP3*, *PIGL*, *PIGO*, *PIGV*, *PIGW*, *PIGY*, ktoré sú zapojené do biosyntézy glykofosfatidylozitolu. Ochorenie je fenotypovo charakterizované závažným oneskorením vo vývoji, intelektovým postihnutím, epilepsiou, hyperfosfatáziou a faciálnou dysmorfiou.

### Case report 1 – Nataša Tatiana V.

**Z anamnézy:** 2.5-r. pacientka z 1. gravidity (abúsus nikotínu u matky počas 6 mesiacov gr.), pôrod SZ, PH/PD:3420g/49cm, AS:9/10, po pôrode bez adaptačných problémov, nedojčená.

V 9. mesiaci života vyšetrená neurológom pre plagiocephaliu, pozorované zaostávanie v PMV (lozenie od 11.m., chôdza od 16.m.).

Od 28. mesiaca veku liečená pre epilepsiu.

**MRI vyš. mozgu:** viacpočetné drobné nešpecifické lézie obojstranne v hlbokjej bielej hmote – nejasej etiológje.

**Neurologické vyš.:** brachycephalia, OH:49cm, zležané záhlavie, hyperaktívna, vzdorovitá, chôdza bipedálna, plantigrádna. Záver: generalizovaná epilepsia.

**Laboratórne vyšetrenie:** ALP 17.62 ukat/l

**Z odborných vyš.:** mikrocytová hypochrómna anémia

Porucha spánku, veselá povaha.

**Objektívne vyšetrenie:** 90-92cm/16kg, OH:50cm, dieťa v pohybe, hyperaktívne, reč viazne, postoj a chôdza bez zjavnej patológie. Postava súmerná, proporcionálna, klinodaktylia matíčkov bilat., kratšie distálne články prstov rúk, hypoplázia nechtov na rukách a nohách. Plagiocephalia, naznačené antimongoloidné post. očí, strabizmus l.sin., hypertelorizmus, plné líca, široké ústa, tenké pery, prominujúca brada, slinenie.

**Genealogické vyšetrenie:** konsangvinita medzi rodičmi negovaná.



### Case report 2 – Viktória C.

**Z anamnézy:** 13-m. pacientka z 1. rizikovej gravidity po IVF (preeklampsia u matky) rodená sekciou v 32.g.t. PH/PD:1700g/44cm, OH:31cm, AS:7/9. Dieťa po vybavení kriesené, napojené na nCPAP, prechodne s potrebou oxygenoterapie. Nov. iterus s potrebou FT. Dieťa dojčené, očkované.

Od 4. mesiaca pre hypotóniu RHB Vojtovou metódou, oneskorený PMV.

Od 8. mesiaca liečená pre epilepsiu – generalizovaná epilepsia s motorickými aj nemotorickými záchvatmi, EEG negat.

**MRI mozgu:** minimálne oneskorená myelinizácia bielej hmoty mozgu, periventrikulárna leukoencefalopatia bilat., priestrannejšie subarachnoideálne priestory FTP bilat.

**Laboratórne vyšetrenie:** ALP 20.41...19.05 ukat/l

**Objektívne vyš.:** 78cm/9kg, OH:44.5cm, dieťa pokojné, usmievané, štvornožkuje. Na DK hypoplázia nechtov, plagiocephalia, vysoké čelo, hypertelorizmus, epikanty bilat., očné štrbiny mandľového tvaru, dlhé mihalnice, široký nosový mostík, oblá nosová špička, plné líca, dysmorfne ušká uložené nižšie.

**Genealogické vyšetrenie:** konsangvinita medzi rodičmi negovaná.



### Výsledok genetickej analýzy

Gén	Ref. sekvencia	cDNA zápis	Protein. zápis	Zygotita	dbSNP ID	Patogenita
<b>PIGV</b>	<b>NM_017837</b>	<b>c.1022C&gt;A</b>	<b>p.(Ala341Glu)</b>	<b>HOM</b>	<b>rs139073416</b>	<b>5</b>

### Záver

Molekulárno-genetickou analýzou sme u oboch našich pacientiek pochádzajúcich z nitrianskeho regiónu preukázali identický genetický nález - patogénny (missense) variant v géne *PIGV* v homozygotnom stave, ktorý asociuje s Mabryho syndrómom typu 1 (HPMS1). Konsangvinita medzi rodičmi bola v oboch prípadoch negovaná. Na základe nálezu môžeme predpokladať zvýšenú frekvenciu variantu v slovenskej populácii.

Vzhľadom k uvedenému odporúčame u detí so zaostávaním v psychomotorickom vývoji, s epilepsiou a faciálnou dysmorfiou doplniť vyšetrenie alkalickéj fosfatázy, v prípade jej elevácie odp. DNA analýzu panelu génov asociovaných s Mabryho syndrómom.

# Pacientka s aceruloplazminémiou a dedičnou hemochromatózou.

## Dôležitosť modernej DNA diagnostiky pri diagnostických dilemách.

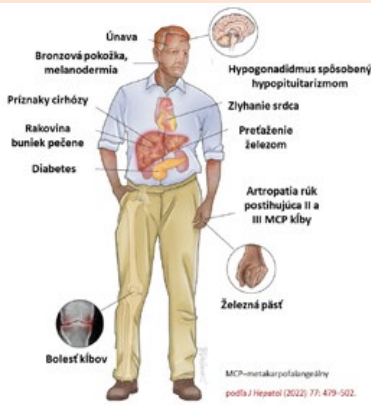
Mgr. Andrea Zatková, PhD.<sup>1</sup>, RNDr. Zuzana Pös, PhD.<sup>1,2</sup>, MUDr. Helena Glasová, PhD.<sup>3</sup>, Doc. RNDr. Ján Radvánszky, PhD.<sup>1,2,4</sup>

andrea.zatkova@savba.sk  
zatkova.andrea@gmail.com

- 1) Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínsky ústav SAV, Bratislava, Slovensko
- 2) Geneton, s.r.o., Bratislava, Slovensko
- 3) Katedra klinickej farmakológie Lekárskej fakulty Slovenskej zdravotníckej univerzity v Bratislave, Slovensko
- 4) Vedecký park, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovensko

### Úvod

Železo je životne dôležitý stopový prvok, ktorý zohráva kľúčovú úlohu pri prenose kyslíka, oxidačnom metabolizme, bunkovej proliferácii a mnohých katalytických reakciách. Množstvo železa v ľudskom tele je potrebné udržiavať v ideálnom rozmedzí - jeho nedostatok alebo nadbytok má škodlivé účinky na organizmus. **Hemochromatóza (HHC)** a **aceruloplazminémiá (ACP)** sa líšia genetickými príčinami, mechanizmom vzniku preťaženia železom ako aj klinickými prejavmi.

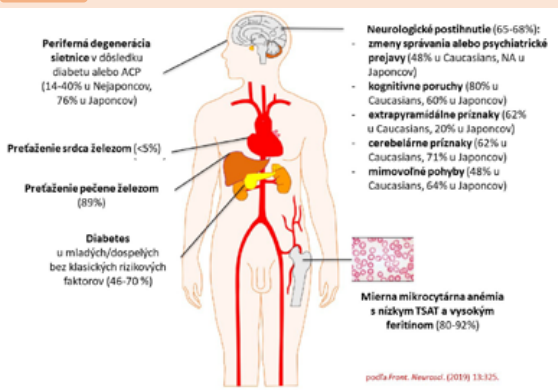


#### HHC

- AR ochorenie s neúplnou penetranciou – najčastejšie sú varianty v géne pre **ľudský homeostatický regulátor železa (HFE)**, 80 % pacientov európskeho pôvodu má homozygotnosť pre variant p.C282Y
- HFE je membránový proteín – ovplyvňuje vstrebávanie železa reguláciou interakcie transferínového receptora s transferínom.
- pri HHC je zvýšená črevná absorpcia železa a akumulácia železa uvoľneného z makrofágov, čo vedie k **zvýšenej cirkulácii zásobného železa**, ktoré sa progresívne akumuluje v tele
- najviac postihnuté sú pečeň (riziko fibrózy, cirhózy a hepatocelulárneho karcinómu), pankreas, srdce a kĺby
- muži sú postihnutí podstatne častejšie
- zriedkavo sa vyskytujú aj AR varianty v génoch kódujúcich **hepcidín (HAMP), transferínový receptor 2 (TFR2)** alebo **hemojuvelín (HJV)**, alebo dominantné varianty v géne pre **feroportín (SLC40A1)**

#### ACP

- zriedkavé AR ochorenie - varianty v géne **ceruloplazmín (CP)**
- absencia alebo zníženie aktivity CP
- CP je **feroxidáza** dôležitá pre oxidáciu Fe<sup>2+</sup> na Fe<sup>3+</sup> (to sa viaže na transferín) - kľúčová úloha pri exporte železa z buniek, hlavne v mozgu, udržiava homeostázu železa (neuroprotektívne účinky)



- najviac postihnuté orgány sú mozog, pečeň, pankreas a sieťnica.
- akumulácia železa v mozgu robí ACP jedinečným medzi systémovými syndrómami preťaženia železom

### Metodika

WGS bol uskutočnený formou služby v Beijing Genomics Institute (BGI), Čína, sekvenčná platforma DNB-SEQ, 2x150, pokrytie 30x. Získané údaje boli spracované cez bioinformatickú pipeline pomocou integrovaného súboru výpočtových nástrojov s názvom **SnakeLines** [5] - zahŕňa mapovanie čítaní pomocou **BWA-MEM** na GRCh38 a **DeepVariant** na volanie SNV variantov a krátkych indelov. Triedenie a deduplikácia zarovnaných čítaní sa vykonala pomocou programu **Sambamba** [6]. Na anotáciu a interpretáciu identifikovaných variantov sme použili program **Qiagen Clinical Insight Interpret Translational (QCIT)** (verzia 9.2.1.20231012). Použili sme viaceré filtre na identifikáciu a prioritizáciu variantov spojených s pozorovaným fenotypom a gémi zapojenými do metabolizmu železa podľa údajov z dostupnej literatúry.

### Záver

Ak sa pri testovaní na HHC genotypizuje HFE gén a identifikuje sa homozygotnosť pre p.H63D, EASL [1] odporúča vyšetriť na ďalšie environmentálne či genetické rizikové faktory na vysvetlenie fenotypu preťaženia železom. Metodika WES/WGS sa aj v našom prípade osvedčila ako schopná odhaliť varianty vo všetkých génoch zapojených do regulácie homeostázy železa. Podľa našich vedomostí je naša slovenská pacientka celosvetovo prvým hláseným prípadom s geneticky potvrdenou ACP aj HHC. Aj keď kausálna terapia ACP v súčasnosti nie je k dispozícii, cieľom opatrení má byť predísť rozvoju klinických dôsledkov, resp. pokúsiť sa zastaviť progresiu ochorenia a zlepšiť kvalitu života. U našej pacientky budeme sledovať dlhodobý efekt chelatačnej terapie. Na Slovensku sú potrebné vypracovať usmernenia pre starostlivosť o pacientov s ACP.

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

Autori tohto posteru nemajú žiadny finančný alebo osobný konflikt záujmov, ktorý by mohol ovplyvniť obsah predkladaného materiálu.



### Kazuistika a výsledky

**66 ročná pacientka s chronickou mikrocytovou anémiou, nízkou hladinou sérového železa, nízkou saturáciou železa, zvýšeným sérovým feritínom a viacerými neurologickými problémami (Tabuľka 1) – s prítomnosťou záchvatových stavov popísaných ako zvýšená nervosvalová dráždivosť. Priamy genetický test na HFE varianty potvrdil homozygotnosť pre známy variant p.H63D (Tabuľka 2) a bola stanovená diagnóza HHC. Ďalšie vyšetrenie odhalilo aj nízkú sérovú meď a ceruloplazmín, preto sa uskutočnil test na 6 najčastejších variantov v ATP7B géne, ktorý ale vylúčil Wilsonovu chorobu. S cieľom identifikovať všetky varianty, ktoré môžu ovplyvňovať homeostázu železa u nej bola uskutočnená WGS analýza - odhalila 2 klinicky relevantné varianty v géne pre ceruloplazmín (CP): p.Y890\* a p.L273P (Tabuľka 2) konzistentné s diagnózou ACP.**

LABORATORNE PARAMETRE	Hededitárna Hemochromatóza (HHC)	Aceruloplazminémiá (ACP)	[jednotka]	Referenčné hodnoty	Naša pacientka (hodnoty z rokov 2017 <sup>1</sup> , 2021, 2023 <sup>2</sup> )
S-Fe (železo)	zvýšené	nízke	[umol/l]	(10,7-32,2)	8,8*
S_Saturácia	vysoká (casto >45%)	nízka až normálna	%	(30-50)	10,3*
S_Feritín	zvýšený	zvýšený	[ug/l]	(4,6-204,0)	260,95*
S_Cu (meď)	normálna	normálna až nízka	[umol/l]	(12,6-34,4)	11,5
S_Ceruloplazmín	normálny	chyba alebo extrémne nízky	[g/l]	(0,2-0,6)	0,03
S_UIBC (voľná väzobná kapacita pre železo)	nízka alebo normálna	normálna alebo zvýšená	[umol/l]	(12,5-55,5)	76,9*
Celková väzobná kapacita	nízka alebo normálna	normálna alebo zvýšená	[umol/l]	(44,8-80,6)	85,7*
S_Haptoglobín	normálny	normálny	[g/l]	(0,63-2,73)	1,75*
S_Transferín	normálny	normálny	[g/l]	(1,73-3,60)	2,62
<b>KLINICKÉ PREJAVY</b>					
vek nástupu	v polovici dospelosti, 30-50 rokov	neskôr, 40-50 rokov	roky	n.a.	50 rokov
chronická únava	áno	typické (v dôsledku mikrocytárnej anémie)	n.a.	n.a.	áno
bolest kĺbov (artroza)	áno	nie	n.a.	n.a.	áno
ochorenie pečene (cirhóza)	áno	áno	n.a.	n.a.	áno
hyperpigmentácie kože	áno	nie	n.a.	n.a.	nie
diabetes mellitus	áno (bronzoový diabetes)	áno	n.a.	n.a.	áno
srdcové problémy	áno	nie sú typické	n.a.	n.a.	áno
neurologické problémy	zriedkavé	typické	n.a.	n.a.	áno
kognitívny deficit	nie je typický	áno	n.a.	n.a.	áno, mierne
degenerácia sieťnice	nie	áno	n.a.	n.a.	áno
mikrocytárna anémia	nie je typická	áno	n.a.	n.a.	áno
<b>ZOBRÁZOVACIE VYŠETRENIA</b>					
MRI pečene	preťaženie železom, progresívne poškodenie pečene	poškodenie pečene postupuje pomalšie	n.a.	n.a.	Liver MultiScan - zvýšená koncentrácia železa, indopentná steatóza (tuková frakcia 7%)
Transznátna elastografia pečene (identifikuje fibrózu)	vysoké riziko fibrózy pečene	nížšie riziko fibrózy pečene	n.a.	n.a.	bez fibrózy pečene
MRI srdca	myokardiálna HHC	preťaženie železom len u <5% pacientov	n.a.	n.a.	bez znakov myokardiálnej HHC
MRI mozgu	prímie ukladanie železa v mozgu nie je charakteristické	typické je akumulácia železa v mozgu, hlavne v bazálnych gangliách	n.a.	n.a.	zvýšená mineralizácia (železo) v oblasti subpallidného kortexu hemisféry a cerebelárne, a vysoká v bazálnych gangliách a nucleus dentatus

Tabuľka 1:

gén	DNA zmena	Proteinová zmena	dbSNP	status	naša klasifikácia (ACMG)	QCIT	ClinVar	Varsome	frekvencia alely v GnomAD_exomes
CP	c.2670C>G	p.(Tyr890Ter)	rs1043139127	Het	PVS1, PM2, PM4, PP3, PPS = Pathogenic	Uncertain significance	Pathogenic	Pathogenic	C=0.000008
CP	c.818T>C	p.(Leu273Pro)	rs1220028254	Het	PM2, PP2, PP3 = Uncertain significance	Uncertain significance	not reported	Uncertain significance/ Likely Pathogenic	G=0.000004
HFE	c.187C>G	p.(His63Tyr)	rs1799945	Hom	PP2, PPS, BS1 = Uncertain significance	Pathogenic	Conflicting interpretations of pathogenicity, other Benign(1); Pathogenic(17); Uncertain significance(1)	Likely Pathogenic	G=0.10924

Tabuľka 2

Variant **p.H63D** je známy ako patogénny variant s výrazne zníženou penetranciou, pričom len u malej časti homozygotov (aj zložených heterozygotov p.H63D/p.C282Y) sa vyvinú klinické príznaky HHC [4]. Aj u našej pacientky fenotyp ACP vysvetľuje väčšinu jej klinických príznakov (Tabuľka 1).

Vzhľadom na intoleranciu venepunkcie (kvôli anémii) sa u pacientky začala chelatačná liečba deferasiroxom, doplnená o zinok, vitamín E a silymarín. Pacientka je tiež sledovaná multidisciplinárne (hepatológ, hematológ, diabetológ, kardiológ, neurológ, oftalmológ) a bola primerane poučená o možnosti neurologických príznakov v budúcnosti.

Nedávno bol na Slovensku popísaný prípad ACP bez neurologických príznakov [3] (hom CP variant p.G555E). Počas 21 mesiacov trvania liečby chelatazou autori pozorovali pokles sérovej koncentrácie feritínu bez zníženia depozitov železa v mozgu na magnetickej rezonancii. Pacient vo veku 43 rokov bol naďalej bez neurologickej a psychiatrickej symptomatológie. Tieto pozorovania demonštrujú význam včasnej diagnostiky v ešte neurologicky asymptomatickom štádiu.

**Použitá literatúra** [1] EASL guidelines *J Hepatol* (2022) 77: 479–502

[2] Marchi et. *Front. Neurosci.* (2019) 13: 325

[3] Ondrejovicova et al. *BMC Gastroenterol* 2020; **20**: 95

[4] Gochee et al. *Gastroenterology* 2002; **122**: 646–651

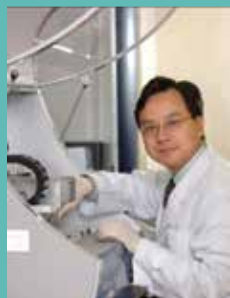
[5] Koster a Rahmann. *Bioinformatics* (2018) **34**: 3600

[6] Tarasov et al. *Bioinformatics* (2015) **31**: 2032–2034

# MaterniT – historie a současnost

Zemánek Michal<sup>1</sup>, Zapletal Michal<sup>1</sup>, Hůrková Věra<sup>2</sup>, Loucký Jaroslav<sup>1,2</sup>

1 Vaše laboratoře s.r.o., U Lomu 638, Zlín 760 01 | 2 PREDIKO, s.r.o., Lešetín 1/6966, Zlín 760 01



prof. Dennis Yuk Ming Lo



Spolupracující centra na mezinárodní InFANet studii.

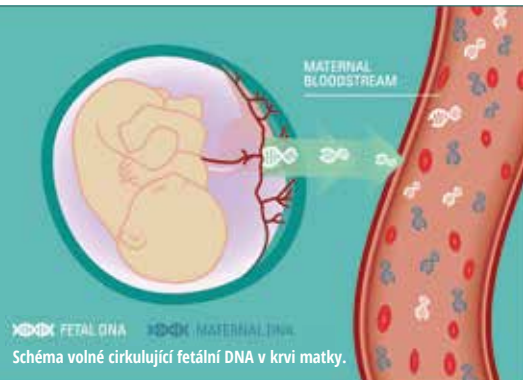


Schéma volně cirkulujícího fetálního DNA v krvi matky.

- V roce 1997** byly položeny první základy k neinvazivnímu prenatalnímu testování (NIPT). Zasloužil se o ně prof. Dennis Yuk Ming Lo (1), molekulární biolog z hongkongské univerzity.
- První popis nálezu cirkulující volné fetální DNA v krvi matky. Mimobuněčná fetální DNA (cfDNA) má placentární původ - uvolňuje se z buněk trofoblastu. Na celkové mimobuněčné DNA se cfDNA podílí 5-25 % (v průměru okolo 10 %).
- V letech (2008-2011) se společnosti Imalab s.r.o. (v současnosti Vaše laboratoře s.r.o.) a Centrum prenatalní diagnostiky Prediko, s.r.o. zapojily do mezinárodní validační studie (InFANet Study) (2).
- Cíl studie** – jak lze využít volnou fetální DNA v prenatalní diagnostice. Studie se zúčastnilo celkem 27 center z celého světa.
- Výsledek studie** – možnost detekce vybraných chromosomálních aneuploidíí.
- Říjen 2011** – uvedení na trh 1. komerčního testu (MaterniT 21, Sequenom, skupina LabCorp) pro zjištění Downova syndromu (T 21). Díky spolupráci na validační studii se nám podařilo v roce 2012 nabídnout tento test těhotným ženám, jako prvnímu centru v ČR (Imalab s.r.o.).
- Rok 2013** přinesl rozšíření nabídky vyšetření zjišťující Patauův syndrom (T 13), Edwardsův syndrom (T 18) a panel pohlavních chromosomů (SCA panel).
- V roce 2014** byl do nabídky NIPT testů zahrnut VisibiliT test, který zahrnuje detekci pouze Downova a Edwardsova syndromu a pohlaví.
- Konec roku 2015** – nově nabízený nejobsáhlejší test (MaterniT GENOME) (3), který umí detekovat navíc i aneuploidie celého genomu, přebývajících/chybějících genetický materiál  $\geq 7$  Mb a několik vybraných mikrolečních syndromů.
- Rok 2018** – ukončení nabídky testu VisibiliT (malá poptávka vzhledem ke konkurenci).
- Rok 2019** – Počet testů provedených v laboratořích Sequenom za 8 let přesáhl 1 000 000 testů (4).
- Konec roku 2022** – Počet testů provedených v laboratořích Sequenom přesáhl 3 000 000 testů (interní informace LabCorp).
- Při testování se využívá metoda masivní paralelní sekvenace s následným statistickým zpracováním.
- Celý proces využívá pro zpracování vzorků platformu Illumina.
- Délka zpracování trvá obvykle 3-5 dnů a následně jsou uvolňovány výsledky.
- Podrobnější informace o nabízených testech naleznete na [www.maternit21.cz](http://www.maternit21.cz)

#### Zdroje:

- Lo YM, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997;350(9076):485-487.
- Palomaki GE, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: An international clinical validation study. *Genetics in Medicine*. 2011;13(11):913-920.
- Lefkowitz RB, et al. Clinical validation of a noninvasive prenatal test for genome-wide detection of fetal copy number variants. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2016;215:227e1-16.
- Fanelli K, et al. 8 years of testing and over one million patients screened: A statistical review of the latest MaterniT 21 PLUS assay enhancements. Poster, 38th NSGC Annual Conference; 2019 November 5-8; Salt Lake City, UT.

Přehled nabízených testů MaterniT (Sequenom laboratories, LabCorp).

Název testu	Možnost provedení od (týden těhotenství)	Vhodný pro vícečetné těhotenství	Testované chromozomy	Vydání výsledku (dny)	Forma prezentace výsledku	Cena
MaterniT <sup>™</sup> GENOME	9.	Ne	Všechny chromozomy + 8 mikrolečních syndromů Přebytké nebo chybějící množství chromosomálního materiálu s rozlišením $\geq 7$ Mb	Do 7 pracovních dnů od doručení vzorku do laboratoře	Pozitivní / negativní	18.400 Kč
MaterniT21 <sup>™</sup> PLUS	9.	Ano	22, 21, 18, 16, 13 + 8 mikrolečních syndromů X,Y	Do 7 pracovních dnů od doručení vzorku do laboratoře	Pozitivní / negativní	12.600 Kč

# A report on the second identified case of PAICS deficiency: An examination of two siblings

Marie Zikanova<sup>1</sup>, Wen-Chin Weng<sup>2,3</sup>, Vaclava Skopova<sup>1</sup>, Veronika Baresova<sup>1</sup>, Yao-Lin Liu<sup>4</sup>, Yin-Hsiu Chien<sup>2,3,5</sup>,  
Wuh-Liang Hwu<sup>2,3,5</sup>, Olga Souckova<sup>1</sup>, Ales Hnizda<sup>1</sup>, Ni-Chung Lee<sup>2,3,5</sup>

<sup>1</sup>Department of Paediatrics and Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, National Taiwan University Hospital, Taipei, Taiwan

<sup>3</sup>Department of Pediatrics, National Taiwan University College of Medicine, Taipei, Taiwan

<sup>4</sup>Department of Ophthalmology, College of Medicine, National Taiwan University Hospital, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

<sup>5</sup>Department of Medical Genetics, National Taiwan University Hospital, Taipei, Taiwan



## Introduction

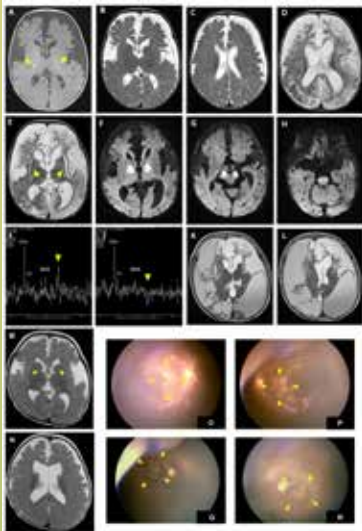
Purine metabolism is an essential biochemical pathway crucial for various fundamental biological processes. Purines, the building blocks of DNA and RNA, also play roles in energy transfer as components of ATP and GTP molecules and as cofactors. They are synthesized, recycled, and degraded within the cells to maintain a balanced purine pool.

Among the disorders associated with *de novo* purine synthesis (DNPS), three congenital defects have been described: adenylosuccinate lyase (ADSL) deficiency [OMIM 103050], AICA-ribosiduria [OMIM 608688] and aminoimidazole ribonucleotide carboxylase (AIRC)/ phosphoribosylaminoimidazolesuccinocarboxamide synthase (SAICAIRS) (PAICS) deficiency [OMIM 619859]. ADSL deficiency and AICA-ribosiduria (AICAR transformylase/IMP cyclohydrolase (ATIC) deficiency) are characterized by the accumulation of neurotoxic metabolites, leading to a range of neurological impairments.

To date, there has been only one documented case report of two siblings from the Faroe Islands affected by PAICS deficiency with a homozygous missense variant in *PAICS* (NM\_001079525.2):c.158A>G p.(Lys53Arg). The pregnancies associated with these cases were characterized by polyhydramnios and intrauterine growth retardation. The affected infants exhibited severe and multiple malformations leading to early death based on progressive hypotension and hypoxia.

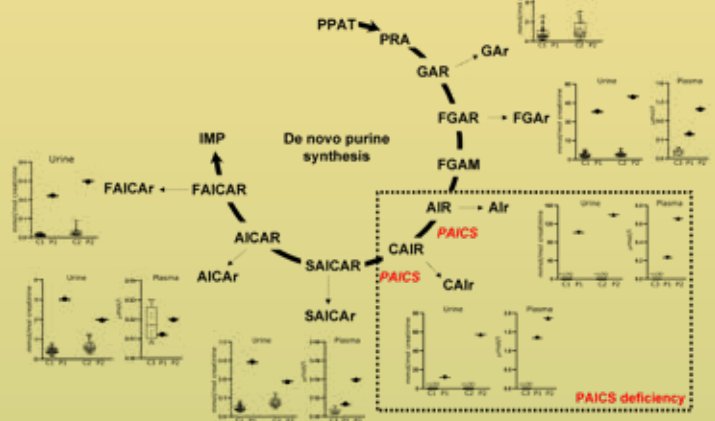
In this study, we present two siblings with compound heterozygous variants in *PAICS* gene. These cases exhibited a less severe phenotype characterized by **progressive cerebral atrophy, early-onset epileptic encephalopathy, psychomotor retardation, as well as retinopathy**, thus broadening the clinical spectrum of this rare disease. For the first time, we conduct a metabolic analysis in body fluids of patients with PAICS deficiency, extending beyond previous research that was limited to model cell lines. This analysis is instrumental for the targeted screening of this disease from patient body fluids, offering a significant advancement in diagnosing and understanding PAICS deficiency.

## Brain images and fundus photos



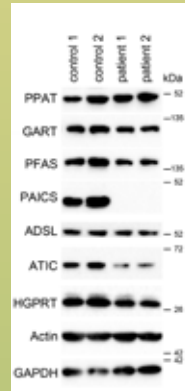
(A-C) Brain image changes in patient 1 axial MRI at 3 months of age. Axial T1-weighted MRI image (A) revealed visible myelination of only the posterior limb of the internal capsules (arrowheads), enlargement of the ventricles, chronic subdural effusion predominantly in the frontotemporal region, and widened Sylvian fissures with failed opercularization. These features were also evident in axial T2-weighted imaging (B-C). (D-I) Axial MRI and MRS in patient 1 at 7 months of age. Axial T2-weighted imaging revealed more extensive cerebral atrophy and hyperintensities observed in both frontal, temporal areas and the putamen (arrowheads) (D-E). Diffusion-weighted imaging (DWI) demonstrated restricted diffusion coefficients at both globus pallidum (F), both cerebral peduncles (G), and the central pons (H). Magnetic resonance spectroscopy (MRS) of metabolites at long TE showed reduced NAA/Cre and NAA/Cho ratios, elevated Cho/Cre ratio, and the presence of lactate duplets (arrowheads) (I-J). (K-L) Axial MRI in patient 1 at 13 months of age. Axial T2-weighted imaging of *g* revealed rapidly atrophy of cerebrum accompanied by notable subdural effusion. (M-N) Brain image in patient 2 at the age of 1 year. Axial T2-weighted imaging revealed poor myelination of the anterior limb of the internal capsules (arrowheads), enlargement of the ventricles, cerebral atrophy with frontotemporal predominance, and widened Sylvian fissures with failed opercularization. (O-R) Fundus photos of patient 2 at the age of one year and patient 1 at the age of 7 years. The pictures showed significant retinal pigmentary changes and atrophy in the macular area in bilateral eyes, suggesting the presence of macular dystrophy (O, P). Similar but more pronounced and extensive features of the fundus were also observed in patient 1 at the age of 7 and a half years, implying a deteriorating disease course (Q, R).

## PAICS deficiency and accumulation *de novo* purine synthesis intermediates.



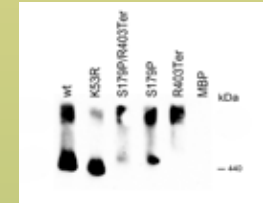
Glycineamide riboside (GAR), formylglycineamide riboside (FGAR), aminoimidazole riboside (AIR), carboxyaminoimidazole riboside (CAIR), succinylaminoimidazolecarboxamide riboside (SAICAR), aminoimidazolecarboxamide riboside (AICAR) and formylaminoimidazolecarboxamide riboside (FAICAR) were quantified with LC-MS/MS in the plasma and urine of patients. Concentrations of all DNPS intermediates were significantly increased in patients' urine compared to control samples. In plasma samples from affected individuals, concentrations of all intermediates except of AICAR were also significantly increased compared to control samples.

## Western blot analysis in skin fibroblasts



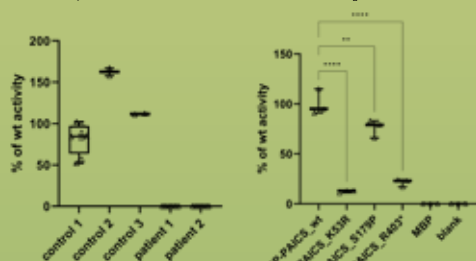
WB revealed a decrease in PAICS ATIC and PFAS content, while the content of PPAT was increased. The content of other DNPS enzymes was similar to that in control fibroblasts. Protein amounts were normalized to GAPDH and actin.  
Primary antibodies: anti-PPAT rabbit polyclonal (ARP46079, Aviva), anti-GART mouse monoclonal (H00002618-B01P, Abnova), anti-PFAS rabbit polyclonal (ARP46181, Aviva), anti-PAICS mouse monoclonal (TAS01470, Origene), anti-ADSL rabbit polyclonal (HPA000525, Sigma), anti-ATIC mouse monoclonal (ab33520, Abcam), anti-HGPR1 rabbit polyclonal (GTX133466, GeneTex), anti-GAPDH mouse IgM monoclonal (G8795, Sigma), and anti-actin rabbit polyclonal (A2103, Sigma). Peroxidase-conjugated secondary antibodies goat anti-mouse IgG (Sigma) and IgM (Pierce) and goat anti-rabbit IgG (Thermo Fisher Scientific).

## Blue native electrophoresis of PAICS.



Recombinant maltose-binding-PAICS fusion protein was expressed in *E. coli*, purified on amylose resin and cleaved with Factor Xa protease. Products of cleavage were separated on BN-PAGE, blotted and immunodetected with anti-PAICS antibodies. The wild-type forms two high molecular weight structures. Both, S179P and R403Ter proteins, individually as well as in mixture, predominantly form a higher molecular weight structure, unlike the K53R PAICS. The MBP represents immunodetection signal of the recombinant maltose binding protein devoid of PAICS.

## PAICS enzyme activities in fibroblasts and recombinant proteins



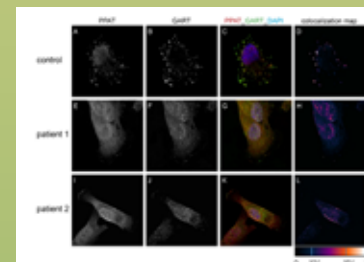
PAICS enzyme activity was not detectable in skin fibroblasts compared to controls. Enzyme activity of mutated maltose binding-PAICS fusion proteins MBP-PAICS\_S179P, MBP-PAICS\_R403Ter and MBP-PAICS\_K53R were reduced compared to the wild type to 76, 21 and 12%, respectively. The MBP represents activity of the recombinant maltose binding protein devoid of PAICS. Standardized boxplot graphs with box from the first to third quartiles, whiskers to minimum and maximum, and all displayed points, and the median represented by a line.

## Structural positioning of mutations in PAICS



The effect of identified variants was assessed using available crystal structure of PAICS (PDB ID 2H31). Structural models were visualized using Pymol Viewer (Schrodinger).  
Three subunits of PAICS octamer are in different color. SAICARs active site is highlighted by spheres. Positions of mutations are highlighted in red color.

## Immunofluorescent detection of PPAT and GART in skin fibroblasts.



Patients and control skin fibroblasts were cultured in purine-depleted medium and in both cases PPAT co-localized with GART in finely granular cytoplasmic structures that are characteristic of purinosome bodies. Colocalization values are converted to pseudo color, with the scale displayed in a corresponding lookup table (LUT) at the bottom right.

## Results

Whole exome sequencing identified compound heterozygous variants *PAICS* NM\_001079524.2 c.535T>C (p.Ser179Pro) and *PAICS* NM\_001079524.2 c.1207C>T (p.Arg403Ter), which disrupt the enzyme's function and structural integrity, significantly affecting its octameric assembly. In contrast to the previous publication, we performed a metabolic analysis of patient body fluids, where we detected an accumulation of Alr and CAIr, the dephosphorylated substrates of the PAICS enzyme. The stability study of Alr and CAIr in urine showed that they are less stable than other DNPS metabolites, yet they remain detectable in patients. Despite the low PAICS enzyme activity in the fibroblasts of affected individuals, we observed the formation of purinosomes.

## Conclusion

In conclusion, this study provides new insight into PAICS deficiency through the investigation of two Taiwanese siblings with severe phenotypes. By identifying and characterizing rare variants in the *PAICS* gene, we have expanded the understanding of the clinical, genetic, and biochemical spectrum of the disorder and demonstrated the importance of this research. The introduction of the first metabolic analysis confirmed the applicability of LC-MS/MS as a cost-effective diagnostic method. The purinosome formation even at reduced enzyme activity levels, underlines the essential role of the PAICS enzyme in metabolic processes.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Funding:** The work was supported by the Ministry of Health of Czech Republic grant NU23-01-00500.

**Ethics approval:** The study was approved by the Institutional Review Board of National Taiwan University Hospital (NTUH) (201910057RIND), and the parents of participants signed informed consent forms.

