
XXXIV.

IZAKOVIČOV MEMORIÁL

2024



PROGRAM a ABSTRAKTY

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

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

XXXIV. _____ IZAKOVIČOV MEMORIÁL 2024 _____

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

Organizátor:

Slovenská spoločnosť lekárskej genetiky, o.z. kolektívny člen SLS

Programový výbor podujatia

RNDr. Michal Konečný, PhD. – prezident SSLG

RNDr. Regína Lohajová Behulová, PhD. – viceprezident SSLG

RNDr. Gabriel Minárik, PhD.

RNDr. Ján Radvánszky, PhD.

MUDr. Katarína Kušíková

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

RNDr. Robert Petrovič, PhD.

MUDr. Alica Valachová

Streda 9. október 2024

- 12.00 – 14.00 **Zasadnutie výboru SSLG**
- 12.00 – 18.00 **Registrácia účastníkov**
- 15.00 – 15.05 **Slávnostné otvorenie Memoriálu**
– Lohajová Behulová R., Konečný M.
- 15.05 – 16.45 **Plenárne prednášky**
Predsedníctvo: Chrást R., Lohajová Behulová R., Mistrík M., Konečný M.
- 15.05 – 15.45 **Charcot-Marie-Tooth disease: from genetics to therapy** – Chrást R.
- 15.45 – 16.05 **Mentálne ticho lieči: od koncov myšlienok a spánkových cyklov cez spiace červy po konce chromozómov** – Eichler T.
- 16.05 – 16.25 **Lekárska genetika včera, dnes a zajtra z pohľadu klinického genetika**
– Kvasnicová M.
- 16.25 – 16.45 **Studium vzácnych nemocí, historický odkaz pro súčasnosť a budúcnosť**
– Kmoch S.
- 16.45 – 17.00 **Prestávka** (coffee break)
- 17.00 – 18.00 **Úvodné prednášky**
Predsedníctvo: Stibůrková B., Celec P.
- 17.00 – 17.15 **Točí se točí DNA** – Drábek J.
- 17.15 – 17.30 **Od hereditární renální hypourikémie k nové terapii dny** – Stibůrková B.
- 17.30 – 17.45 **Heterozygotný variant *SLC37A4* génu s novou poruchou glykozylácie – kazuistika** – Bzdúch V., Brennerová K., Hansíková H., Šalingová A., Babál P., Brucknerová I., Hřčková G., Marquardt T.
- 17.45 – 18.00 **Extracelulárna DNA a jej úloha pri pôrode** – Celec P., Macáková K., Pšenková P., Záhumenský J., Vlková B.
- 18.30 **Večera**

Odborný program

Štvrtok 10. október 2024

- 8.00 – 10.00 **Genetika a genomika (varia)**
Predsedníctvo: Janíková M., Vlková B.
-
- 8.00 – 8.12 **IM** **Biobankovanie ako nástroj pre biomedicínsky výskum na Slovensku**
– Minich A.
- 8.12 – 8.24 **IM** **Projekt mapovania slovenského genómu** – Krumpolec P., Babišová K., Gnip A., Hadžega D., Petrovič O., Hýblová M., Minárik G.
- 8.24 – 8.36 **IM** **Identifikácia klinicky významných farmakogenetických variantov zo sekvenovania celého genómu v slovenskej populácii** – Hýblová M., Krumpolec P., Babišová K., Gnip A., Hadžega D., Minárik G.
- 8.36 – 8.48 **Unlocking the potential of NGS with avidity based chemistry**
– Omelchenko D.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Dynex. Spoločnosť Dynex žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 8.48 – 9.00 **DPYD a jeho hlboko skryté tajemství o HapB3** – Janíková M., Vrtěl R., Kolaříková K., Kratochvílová R., Brisudová A., Langerová H., Curtisová V., Rožánková Z., Slavkovský R.
- 9.00 – 9.12 **IM** **Automatická klasifikácia a/alebo predikcia klinického významu variácií v počte kópií (CNV): od odporúčani k umelej inteligencii alebo cesta tam a zase späť?** – Radvánszky J., Budiš J., Sládeček T., Gažiová M., Kuchárik M., Pös Z., Pös O., Krampl W., Lojová I., Hekel R., Szemes T.
- 9.12 – 9.24 **IM** **Celogenómové sekvenovanie v diagnostike myotonických dystrofií**
– Lojová I., Kuchárik M., Pös Z., Baláž A., Začková A., Tóthová Tarová E., Budiš J., Kádaši L., Szemes T., Radvánszky J.
- 9.24 – 9.36 **Nové trendy v NGS diagnostice – tekutá biopsie, MRN, metylace, automatizace, dlouhá čtení, IVDR exom a další** – Pácalt O.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti 3Genes. Spoločnosť 3Genes žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 9.36 – 9.48 **IM** **Funkčné štúdie zostrihových variantov génov GCK a HNF1A**
– Dobiasová Z., Valkovičová T., Staník J., Škopková M., Gašperíková D.
- 9.48 – 10.00 **Preventívny génový transfer DNase113 v myšacom modeli pneumónie**
– Vlková B., Tóthová N., Macáková K., Celec P.
- 10.00 – 10.30 **Prestávka** (coffee break)

10.30 – 13.00

Onkogenetika a onkogenomika

Predsedníctvo: Jarošová M., Závodná K.

10.30 – 10.45

Nad rámec tradičnej biopsie: Význam tekutej biopsie pre skorú diagnostiku

– Slavkovská B.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti PentaGen.

Spoločnosť PentaGen žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

10.45 – 10.57

Význam genetického vyšetrení u meningeomů – Žmolíková J., Pitronová S., Šimová J., Urbanovská I., Kunčíková K., Lazarová A., Delongová P., Lipina R., Reguli Š., Cvek J., Uvírová M.

10.57 – 11.12

Frekvence a význam mutací genu *SF3B1* u nemocných

s myelodysplastickými neopláziemi (MDS) – Zemanová Z., Aghová T., Lhotská H., Svobodová K., Hodaňová L., Lizcová L., Pavlišťová L., Lukšíková K., Sotáková S., Minařík L., Stopka T., Jonášová A.

11.12 – 11.24

Využití NGS technologie v multioborové laboratoři – Dolinová I., Zajíc T., Kracík M., Štillerová K.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti

Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

11.24 – 11.36

Jak nás ovlivnilo panelové testování v onkogenetice – zajímavé kazuistiky

– Puchmajerová A.

11.36 – 11.48

Flexibilní využití hybrid capture NGS při komplexním prediktivním testování solidních nádorů – zkušenosti z FNHK

– Vošmiková H.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Roche.

Spoločnosť Roche žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

11.48 – 12.00

Diagnostické molekulárne biomarkery pri nádoroch kolorekta

– Závodná K., Šebest L., Slamka T., Kostrábová A., Lohajová Behulová R.

12.00 – 12.12

Od CGP po lymfómy – NGS diagnostika zajaťrajška

– Držík F.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti

Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

12.12 – 12.24

IM

Je možné skrátiť testovanie molekulárných biomarkerov z FFPE

do 24 hodín? – Slamka T., Šebest L., Kostrábová A., Lohajová Behulová R.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti

Thermo Fischer Scientific. Spoločnosť Thermo Fischer Scientific žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

12.24 – 12.36

Nové biomarkery v genetickom vyšetrení pacientok s HGSOc

– Krascsenitsová E., Dolešová L., Valenčíková R., Lohajová Behulová R.

Odborný program

12.36 – 12.48

Analýza genomu nemocných s akútní myeloidní leukémií (AML) metódou optického mapování (OGM) – Jarošová M., Kotašková J., Bezděková Fillerová R., Ondroušková E., Bohúnová M., Bryjová L., Čábelová K., Šmejkal J., Šmuhařová P., Ježíšková I., Žanetová M., Weinbergerová B., Pospíšilová Š., Mayer J.

12.48 – 13.00

Optické mapování genomu a jeho přínos v diagnostice mnohočetného myelomu – Kotašková J., Marečková A., Ondroušková E., Bohúnová M., Mayerová J., Nižňanská D., Porc J. P., Navrkalová V., Bravencová L., Zádrapová M., Sábliková B., Štok M., Pour L., Ševčíková S., Jarošová M.

13.00 – 14.00

Obed

14.00 – 15.00

Posterová sekcia

Predsedníctvo: Radvánszky J., Sedláčková T.

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 – Císárik F.

Poster č. 5

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

Poster č. 6

Ľudský papilomavírus (HPV) – nádej ukrytá v pozitívite – Hojsíková I., Prokopcová L.

Poster č. 7

Účinky chinazolinónového ligandu Q3 a jeho mednatého 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 celoxomových 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 poruch autistického spektra – záchyt kauzálných 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 mikrodeleční 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., Štůfková 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 aneuploidií u spontánních abortů – Nguyen Thi Ngoc B. L., Sheardová J., Hrabíková M., Čadová P., Stejskal D., Zembol F., Dvořáčková H., Vávrová J., Bittíková 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.

Odborný program

Poster č. 18 

Neinvasívny 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 mikrodélií 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., Foltenova 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., Chuděj J., Varga A., Lukačková R.

Poster č. 22

Profílovanie 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 molekulárnych 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. Důležitost modernej DNA diagnostiky pri diagnostických dilemách

– Začková A., Pös Z., Glasová H., Radvánszky J.

Poster č. 30

MaterniT – 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.

20.00

Večera

Piatok 11. október 2024

8.00 – 10.00

Klinická genetika I.

Predsedníctvo: Nosková L., Petrovič R.

8.00 – 8.12

Masívne paralelné sekvenovanie: kľúč k pochopeniu mitochondriálnych ochorení

– Bľandová G., Eliáš V., Krasňanská G., Wachsmannová L., Konečný M., Repiská V., Baldovič M.

8.12 – 8.24

**Úskalia diagnostiky pacientov s nesyndrómovou poruchou sluchu, rozšíreným vestibulárnym akveduktom a Pendredovým syndrómom**

– Sklenár M., Borecká S., Varga L., Bernardinelli E., Ugorová D., Dossena S., Gašperíková D.

8.24 – 8.36

**Analýza zmien v géne STRC pri autozómálne recesívnej senzoreineurálnej poruche sluchu**

– Čipková K., Varga L., Paouris D., Gašperíková D., Borecká S.

8.36 – 8.48

**Možnosti diagnostiky CNV nálezov u slovenských pacientov s vrodenými ochoreniami imunity**

– Krasňanská G., Wachsmannová L., Baldovič M., Eliáš V., Bľandová G., Konečný M.

Odborný program

- 8.48 – 9.00 **Genomické analýzy u pacientů s vzácným onemocněním s negativními výsledky celoxomového sekvenování** – Nosková L., Stránecký V., Steiner Mrázová L., Zikánová M., Hnízda A., Hartmannová H., Hodaňová K., Sikora J., Trešlová H., Kmoč S.
- 9.00 – 9.12 **AGAL misprocessing-induced ER stress and the unfolded protein response: lysosomal storage-independent mechanism of Fabry disease pathogenesis?** – Zivna M., Dostalova G., Baresova V., Musalkova D., Kuchar L., Aswaf B., Poupetova H., Vlaskova H., Kmochova T., Vyletal P., Hartmannova H., Hodanova K., Steiner-Mrazova L., Hnizda A., Treslova H., Rekova P., Roblova L., Honsova E., Hulkova H., Rychlik I., Bleyer A., Linhart A., Sikora J., Kmoč S.
- 9.12 – 9.24 **Analýza vybraných génů u pacientů s Alzheimerovou chorobou** – Sedláčková T., Styk J., Forgáčová N., Lukyová L., Budiš J., Sheardová K., Žilka N., Szemes T.
- 9.24 – 9.36 **Využití SNP v preimplantačním genetickém testování aneuploidií** – Valentová E., Horňák M., Brožek R., Kubíček D., Navrátil R., Veselá K.
- 9.36 – 9.48 **Preimplantační genetické testování u párů a rodin s monogenní chorobou** – Linhartová E., Horák J., Račochová E., Koudová M., Stejskal D.
- 9.48 – 10.00 **Skúsenosti s molekulárno-genetickou diagnostikou SMA, ALS a FRDA** – Petrovič R.
Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Biogen. Spoločnosť Biogen žiadnym spôsobom nezasahovala do odborného obsahu podporenej prednášky.
- 10.00 – 10.20 **Prestávka** (coffee break)
- 10.20 – 12.45 **Klinická genetika II.**
Predsedníctvo: Čejnová V., Kušíková K.
-
- 10.20 – 10.32 **IM Hereditárny angioedém – komplexný pohľad na molekulárno-genetickú diagnostiku** – Markocsy A., Hrubíšková K., Freiberg T., Grombířková H., Dolešová L., Slivka Vavrová L., Lohajová Behulová R., Bánovčin P., Jeseňák M.
- 10.32 – 10.44 **Využití klinického exomu při diagnostice vzácných geneticky podmíněných onemocnění: kazuistika** – Čejnová V., Vancová L., Uhrová Mészárosová A., Štanclová D., Pecková A., Laštůvková J.
- 10.44 – 11.56 **Dlouhá cesta k diagnóze** – Gřegořová A., Nosková L.

10.56 – 11.08	IM Fenotypová charakteristika súboru pacientov s novým neuromuskulárnym ochorením v rómskej populácii – Giertlová M., Nosková L., Drenčáková P., Šaligová J., Potočňáková L., Drobňáková S., Vargová V., Kolníková M., Kušíková K., Balážová P., Baranová A., Lazarová E., Gurčík L., Mažeriková Z., Mistrík M., Stretavská P., Zámečník J., Příhodová I., Zikánová M., Stránecký V., Ptáčková H., Hansíková H., Tesařová M., Sikora J., Zeman J., Honzík T., Kmoch S.
11.08 – 11.20	Familiárna eventrácia bránice ako súčasť MUSK asociovaného fenotypu u novorodenca – kazuistika – Lenhartová N., Kršiaková J., Matašová K.
11.20 – 11.32	Kongenitálna porucha glykozylácie typu III a doposiaľ nepopísaný variant v géne <i>COG6</i> – Stretavská P., Giertlová M., Zemjarová Mezenská R., Martineková S., Okáľová K., Lysinová M., Honzík T., Hansíková H., Štufková H., Pakanová Z., Škopková M., Šalingová A.
11.32 – 11.44	PIGQ-asociovaný deficit glykofosfatidylozitolu ako príčina rekurentných atakov rabdomyolýzy: kazuistiky a prehľad literatúry – Kušíková K., Smogavec M., Faust Ch., Laccone F., Karall D., Bonfig W., Weis D.
11.44 – 11.56	X-vázaná adrenoleukodystrofia jako příčina spastické paraparézy – Osíčková L., Uhrová Mészárosová A., Curtisová V., Vrtěl R.
11.56 – 12.08	Familiárny výskyt DMO so spastickou kvadruparézou, využitie nových metód genetickej diagnostiky v praxi, kazuistika – Mistrík M., Lopáčková V., Konečný M., Wachsmannová L., Krasňanská G.
12.08 – 12.20	Pallisterov-Killianov syndróm – vzácna príčina závažnej vrodenej diafragmatickej hernie – Godava M., Dhaifalah I., Hanzlíková P., Havalová J., Sobotková V., Konečná A., Šrámková Koječká J., Dolinská D.
12.20 – 12.32	Mikrodelečné a mikroduplikačné syndrómy v ambulancii lekárskeho genetika – kazuistiky – Drenčáková P., Giertlová M., Matúšová M., Zemjarová Mezenská R., Verebová J., Stretavská P., Škorvánek M.
12.32 – 12.44	Pseudohypoparatyreóza: mutácia či metylácia? – Fialková E., Janečková L., Skalická K., Vitáriušová E., Tichá L., Hrčková G.
12.45 – 13.00	Hlasovanie, vyhodnotenie súťaží a ocenenia výhercov
13.00	Ukončenie konferencie
13.15	Obed

Súťaž o Ceny SSLG SLS



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



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



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

Streda 9. 10. 2024

Plenárne prednášky

Charcot-Marie-Tooth disease: from genetics to therapy

Chrast R.

EPFL School of Life Sciences,
Lausanne, Switzerland

Inherited peripheral neuropathies (Charcot-Marie-Tooth diseases, CMTs) invariably lead to disrupted function of the peripheral neural system of affected individuals. I will introduce the different forms of CMTs and the genetic landscape of the disease. I will then use as an example Charcot-Marie-Tooth disease type 4C (CMT4C), an autosomal recessive form of demyelinating neuropathy, to illustrate the steps that led from the identification of pathogenic variants in the SH3TC2 gene to the characterization of the SH3TC2 protein function. Finally, I will discuss how these results contributed to the development of new therapeutic strategies for CMTs.

Mentálne ticho lieči: od koncov myšlienok a spánkových cyklov cez spiace červy po konce chromozómov

Eichler T.

Viedenská univerzita, Viedeň

Dajte tomu vyčíňajúcemu mozgu pauzu a povedzte svojim šéfom, že prídete na túto prednášku a praktický workshop! Ako môže biohacking zlepšiť vašu mozgovú kapacitu a zdravú produktivitu? Mentálne ticho lieči a ukážeme si dôkazy

o tom až na úrovni genetických elementov. Objavy ocenené Nobelovou cenou v rokoch 1986, 1998, 2017 a 2019 prinášajú nečakané prepojenia s vašou mentálnou aktivitou a spánkovými cyklami, ktoré objasňujeme dnes. Niektoré skúsenosti sú možno neprenosné, musíte si ich prežiť a vynájsť sa sami. Nad niektorými vecami sa vám bude možno rozum zastavovať. Aj to je účel našej interaktívnej prednášky a diskusie - ukázať vám medzery medzi myšlienkami v podobe mentálneho ticha v hlučnej, uponáhľanej a zmätenej dobe. Aby ste mohli lepšie spávať a tvarovať si život pomocou svojej tvorivosti. Aby ste si zlepšili myslenie pomocou nemyslenia. Zistíte, prečo vo vás vidím spiace červy a čo s tým môžete robiť. Rozpútajte svojho vnútorného bifľoša a inšpirujte sa praktickými lekciami z neurovied, genetiky, evolučnej biológie, kritického myslenia a vedeckej komunikácie. Keď sa chcete niekam dostať, tak tam choďte. Odvážte sa a dostavíte sa na prednášku s Tomášom Eichlerom?

Lekárska genetika včera, dnes a zajtra z pohľadu klinického genetika

Kvasnicová M.

Ambulancia lekárskej genetiky,
Unilabs Slovensko, s.r.o., Banská
Bystrica

Prednáška pojednáva o histórii lekárskej genetiky ako interdisciplinárneho medicínskeho odboru na Slovensku z pohľadu klinického genetika. História delí na dve etapy: 1. cytogenetickú a 2. genomickú.

Každá etapa je charakterizovaná svojimi špecifikami. Pozornosť sa venuje aj tzv. 3. etape, v ktorej bude zohrávať dôležitú úlohu aj umelá inteligencia ako asistent klinického genetika a tiež laboratórnych pracovníkov, čo ešte viac zdôrazní význam lekárskej genetiky pre medicínsku prax.

Studium vzácných nemocí, historický odkaz pro současnost a budoucnost

Kmoch S.

Laboratoř pro studium vzácných nemocí, Klinika pediatrie a dědičných metabolických poruch, 1.lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha

Úvod: Studium vzácných nemocí je nezastupitelným zdrojem nových poznatků v biologii, fyziologii a patofyziologii člověka a biomedicině.

Metody: V uplynulých 35 letech jsme vybudovali komplexní diagnosticko-výzkumnou platformu pro studium neobjasněných případů vzácných nemocí v širokém spektru klinických oborů. Pro potřeby genetické analýzy studovaných případů a následné funkční charakterizace genetických variant, genů a genových produktů našeho zájmu využíváme *multi-omics* technologií a cíleného studia tělních tekutin, tkání a vhodných modelů nemocí. Případy s negativními výsledky podrobujeme opakovaným analýzám dostupných dat a novým metodologiím molekulárně-genetických vyšetření. Získané poznatky korelujeme s klinickým projevem s cílem objasnit principy a me-

chanismy vzniku, průběhu a možného ovlivnění nemoci.

Výsledky: Doposud jsme zkoumali >1000 případů dětí s neurovývojovými poruchami, poruchami růstu, metabolickými poruchami a kardiomyopatiemi s diagnostickou výtěžností 35%, včetně identifikace >20 nových kauzálních genů a kandidátních variant v dalších 15% případů. V případech hereditárních nefropatií jsme určili genetickou příčinu u >800 rodin s diagnostickou výtěžností 35%, včetně identifikace >10 nových kauzálních genů a kandidátních variant v dalších 27% případů. Ve >750 případech familiárních kardiomyopatií byla diagnostická výtěžnost 40% s identifikací kandidátních variant v dalších 21% případů. S podobnými výsledky jsou studovány případy hereditárních onemocnění oka a neurologických onemocnění s pozdním nástupem. Genetické varianty zdravých nepříbuzných osob analyzovaných v těchto případech jsou reportovány v databázi NCMG (<https://ncmg.cz/>), případně v databázi ACGT (<https://www.acgt.cz/databaze/>). Získané poznatky umožnily zavedení nových cílených diagnostických postupů, objasnění patofyziologie těchto nemocí, definici terapeutických cílů a v několika případech i zavedení nového způsobu léčby (AA amyloidoza). Výzkum zlepšil pochopení některých buněčných procesů, jako jsou například biogeneze a funkce mitochondrií, existence detoxikační smyčky jater a krve, funkce purinozomu v de novo syntéze purinů a kontrola vezikulárního transportu proteinů.

Závěr: Případy neobjasněných vzácných nemocí jsou příležitostí a motivací k dalšímu výzkumu. Předpokladem a zárukou úspěšného výzkumu je systematická spolupráce lékařů a diagnostických laboratoří s výzkumnou laboratoří našeho typu.

Úvodné prednášky

Točí se točí DNA

Drábek J.^{1,2,3}

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

²Fakultní nemocnice Olomouc

³Československá společnost pro forenzní genetiku, z.s., Olomouc

Úvod: Už od roku 1953, kdy bylo odhalena struktura DNA, je známo, že DNA nabývá v přírodě převážně pravotočivou formu A a B, kdežto levotočivá forma Z je vzácná. Levotočivá forma se vyskytuje v prostředí s vysokou koncentrací solí nebo v oblastech DNA bohatých na guanin a cytosin. Můžeme se s ní setkat po interkalaci ethidiumbromidu do pravotočivé DNA. Předpokládá se podíl levotočivé DNA (stejně jako podíl dalších nekánonických DNA struktur, například kvadruplexů) na replikaci, transkripci, opravách DNA, protivirové imunitě a evoluci.

Stať: Přestože levotočivá DNA není úplně bez funkce, její přírodní, přirozený výskyt je o několik řádů nižší než výskyt pravotočivé DNA. Ne tak v médiích. Pokud si na internetu vyhledáte obrázek DNA, je více než 50

% pravděpodobnost, že bude zobrazena jako levotočivá. Levotočivá DNA se skví i na obálkách učebnic a na dalších místech, kde by měla být zobrazena správně.

Závěr: Bylo by pošetilé očekávat, že existuje vůbec nějaká možnost, jak ovlivnit výskyt pravotočivé versus levotočivé DNA na internetu. Je však možno doufat, že tato přednáška s návodnými obrázky včetně mnemotechnických pomůcek zabezpečí, abychom alespoň v naší genetické komunitě zobrazovali DNA primárně jako pravotočivou. Pro zájemce bude na závěr přednášky odhalena ještě jedna možnost, jak mít pravotočivou DNA stále na očích.

Klíčová slova: right-handed DNA, DNA structure

Tato práce vznikla za podpory projektů LM2023033, LM2023053, CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_026/0008448, EF16_013/0001674, LM2023067, LX22NPO5102, TN02000109, CZ.02.01.01/00/22_008/0004644 a IGA LF UP 2023_006.

Literatura

- Ussery DW. DNA Structure: A-, B- and Z-DNA helix families. eLS. 2001. DOI: 10.1038/npg.els.0003122
- Globus N, Blandford RD. The chiral puzzle of life. *Astrophys. J. Lett.* 2020;895:L11.
- Rich A, Zhang S. Z-DNA: the long road to biological function. *Nat. Rev. Genet.* 2003;4:566-572.
- Chiang DC, et al. The role of the Z-DNA binding domain in innate immunity and stress granules. *Front. Immunol.* 2021;11:625504.
- Wang G, Vasquez KM. Dynamic alternative DNA structures in biology and disease. *Nat. Rev. Genet.* 2022. DOI: 10.1038/s41576-022-00539-9
- Makova KD, Weissensteiner MH. Noncanonical DNA structures are drivers of genome evolution. *Trends Genet.* 2023;39(2):109-124.

Od hereditární renální hypourikémie k nové terapii dny

Stibůrková B.

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

Chronická hyperurikémie, kauzální příčina dny, vzniká nerovnováhou mezi endogenní produkcí a exkrecí kyseliny močové. Nejčastějším mechanismem vedoucím ke vzniku hyperurikémie je snížená exkrece kyseliny močové. Transport urátu je komplexní proces zahrnující řadu transmembránových proteinů zajišťujících reabsorpci (majoritně URAT1, GLUT9) a sekreci (ABCG2) na apikální i basolaterální straně proximálních tubulů a v případě ABCG2 i s významným podílem transportu v gastrointestinálním traktu.

Produkt genu SLC22A12, protein URAT1, je vysoce specificky exprimovaný pouze v apikální membráně buněk proximálních tubulů. URAT1 se podílí na reabsorpci urátu, jeho poruchy způsobují dědičnou renální hypourikémii typu 1 (RHUC1, OMIM #220150) mechanismem endoteliální dysfunkce, která byla celosvětově popsána u přibližně 300 pacientů především asijského původu. RHUC1 je heterogenní dědičné onemocnění způsobené poškozením tubulárního transportu KM, nedostávající reabsorpci a/nebo urychlenou sekreci. Biochemickými markery jsou hypourikémie a zvýšená exkrecní frakce KM. Klinicky se onemocnění projevuje urolitiázou, nefrolitiázou a u části pacientů akutním renálním selháním (často opakované po předchozí fyzické

námaze). Vysoká incidence japonských a korejských pacientů je odrazem alelické frekvence 2,3-2,37% predominantní dysfunkční varianty rs121907892 (p.W258X), která se v jiných populacích vyskytuje s téměř nulovou frekvencí. Nicméně světově nejvyšší frekvence predominantních dysfunkčních variant byla identifikována u evropské romské populace (1 125 jedinců z regionů České Republiky, Slovenska, Makedonie, Iberijského poloostrova a Kanárských ostrovů): varianta rs200104135 (p.T467M) se vyskytovala s frekvencí 5,76%, deleční varianta p.L415_G417 s frekvencí 1,73% (vs gnomAD v4.1.0 - 1 610 000 alel, 5.32e-4/2.48e-6). Vlivem genetického driftu se tedy u vybraných populací výrazně zvyšuje prevalence tohoto jinak raritního dědičného onemocnění, a zároveň vysoká frekvence variant snižujících funkci hlavního reabsorpčního transportéru pro kyseliny močovou vede k ovlivnění populační specifity urátové homeostáze (signifikantně vyšší riziko konečného stadia onemocnění ledvin, výskyt nefropatií, nižší sérová hladina KM oproti majoritní populaci, $P < 0,0001$).

Pochopení molekulární podstaty a komplexního vztahu mezi genotypem a fenotypem urikémie vede k současnému přenosu těchto poznatků do klinické praxe. Jedná se zejména o aktivní metabolity selektivně inhibující transportér URAT1. Klinické studie prokázali důležitost podávání nikoli v monoterapii, ale v kombinaci s inhibitory xanthin oxidázy/dehydrogenázy (allopurinol, febuxostat) z důvodu zamezení možného

výskytu renálnych komplikácií typických pro pacienty s renální hypourikémií.

Podpořeno MZ ČRAZVNU22-01-00465.

Heterozygotný variant SLC37A4 genu s novou poruchou glykozylácie – kazuistika

Bzdúch V.¹, Brennerová K.¹,
Hansíková H.², Šalingová A.³,
Babál P.⁴, Brucknerová I.⁵, Hřčková G.¹,
Marquardt T.⁶

¹Detská klinika LF UK a NÚDCH, Bratislava

²Klinika dětského a dorostového lékařství I. LF UK a VFN, Praha

³Oddelenie klinickej biochémie NÚDCH, Bratislava

⁴Ústav patologickej anatómie LF UK a UN Bratislava

⁵Neonatologická klinika intenzívnej medicíny LF UK a NÚDCH, Bratislava

⁶University Children's Hospital Münster, Department of General Pediatrics, Münster

SLC37A4 gén kóduje glukóza-6-fosfát transportér (G6PT), zodpovedný za transport glukóza-6-fosfátu (G6P) do endoplazmatického retikula. Jeho biálny patogénny variant spôsobuje autozómovo recesívne ochorenie glykogenózu typu 1B s hypoglykémiou, akumuláciou glykogénu a neutropéniou. Naša pacientka s dokázaným heterozygotným *de novo* c.1267 C >T, p.R423* variantom SLC37A4 genu mala diametrálne odlišný fenotyp s dysfunkciou pečene bez známok hypoglykémie a akumulácie glykogénu. Bola u nej dokázaná dovtedy neopísaná porucha glykozylácie SLC37A4-CDG.

Kazuistika: Pacientka bola z 3. rizikovej gravidity so závažnou rodinnou anamnézou. Matka pacientky má uterus bicornis a je po operácii atrézie choán. Prvá gravidita bola ukončovaná arteficiálnym potratom, druhá sa skončila spontánnym abortom v 23. g.t. Dieťa sa narodilo v 32. g.t. spontánne s pôrodnou hmotnosťou 1 700g, dĺžkou 43 cm, AS 7/7. Pre sťažnenú popôrodnú adaptáciu a respiračnú insuficienciu bolo prijaté na JIS pre respiračnú insuficienciu. Fibroskopicky potvrdená bilaterálna atrézia choán. Pre intoleranciu airwaya s masívnym hliením si dieťa vyžadovalo 17 dní UPV. V laboratórnych parametroch bol vzostup pečeňových testov (AST 3,3 umol/l, ALT 1,63 umol/l, GMT 2,32 umol/l, ALP 21,2 umol/l) s prevahou kostného izoenzymu. V hemokoagulačnom vyšetrení všetky faktory zrážania výrazne znížené. Dieťa vyžadovalo masívnu substitučnú liečbu (Octaplas, AT III, Prothromplex) v úvode hospitalizácie a po 48 hodinách. Biopsia pečene dokázala steatózu bez známok zápalu. Až izoelektrická fokusácia transferínu odhalila patologický profil sérového transferínu. Obsah nízkosialovaných izoforiem transferínu bol opakovane zvýšený (8,9 %). Na základe týchto výsledkov bola supponovaná diagnóza CDG IIx. Exómová sekvenácia odhalila *de novo* mutáciu c.1267C>T (p.R423*) v géne SLC37A4. Značená štandardná a mutačná alela SLC37A4 boli exprimované v HepG2 bunkách, pričom imunolokalizácia odhalila signálny vzor štandardnej alely v endoplazmatickom retikule a mutačný

vzor v Golgiho aparáte bunky, čo viedlo k významným zmenám glykozylácie.

Záver: U pacientky bol dokázaný doposiaľ neopísaný typ kongenitálnej glykozylačnej poruchy SLC37A4-CDG s klinickým fenotypom pečenej dysfunkcie.

Extracelulárna DNA a jej úloha pri pôrode

Celec P., Macáková K., Pšenková P., Záhumenský J., Vlková B.
Lekárska fakulta UK, Bratislava

Extracelulárna DNA (ecDNA) je využívaná v neinvazívnej prenatalnej diagnostike a pri skriningu rakoviny. Pre imunitný systém ale predstavuje ecDNA signál nebezpečia – DAMP. Predčasný pôrod je často indukovaný zápalom, či už infekčným alebo sterilným. Načasovanie fyziologického pôrodu je veľmi variabilné (+/- 2 týždne) a o jeho indukcii sa v skutočnosti veľa nevie. V štúdií sme testovali hypotézu, že zvýšenie ecDNA v poslednom mesiaci gravidity indukuje a indikuje skorší fyziologický pôrod.

Vzorky plazmy boli zbierané 4 a 2 týždne pred plánovaným dátumom pôrodu. Celková, jadrová a mitochondriálna ecDNA bola kvantifikovaná pomocou fluorometrie a real time PCR. Výsledky boli analyzované vo vzťahu ku klinickým parametrom a dátumom realizovaného pôrodu. Koncentrácie ecDNA, ani ich dynamika nesúviseli s dátumom skutočného pôrodu. Nezistili sme ani významné zmeny v čase v ani jednej forme analyzovanej ecDNA. Na tomto výstupe nič nezmenila ani analýza korigovaná na vek, BMI a paritu tehotných žien.

Výsledky nepotvrdili hypotézu o tom, že by sa analýza dynamiky ecDNA pred pôrodom dala využiť na predikciu dátumu pôrodu. Nenašli sme teda ani indície na to, že by ecDNA mohla fungovať ako induktor pôrodu. V budúcich štúdiách budeme analyzovať deoxyribonukleázovú aktivitu ako modulátora obratu a účinku ecDNA. Zároveň bude treba samostatne analyzovať aj ecDNA asociované s mikroparticulami, ktoré sú pri príprave vzoriek odstraňované.

Štvrtok 10. 10. 2024

Genetika a genomika (varia)

Biobankovanie ako nástroj pre biomedicínsky výskum na Slovensku

Minich A.

Medixbank by Medirex Group

Academy, n.o.

Biobankovanie predstavuje kľúčový nástroj pre moderný, základný a aplikovaný biomedicínsky výskum, umožňujúci zber, spracovanie a uchovávanie biologických vzoriek a dát, ktoré slúžia ako základ pre pokročilé štúdie v oblasti rôznych ochorení. Na Slovensku biobankovanie stále nezohráva významnú úlohu výskumu v oblasti diagnostiky a prevencie rôznych typov ochorení, a to najmä v kontexte onkologických či raritných ochorení, kde je potreba detailných genetických a biologických dát kritická. Medirex Group Academy, n.o. založila biobanku Medixbank, ktorá má spolu so sieťou biobáňk na Slovensku pomôcť zvýšiť kvalitu výskumu. Biobanka Medixbank sa metodicky zameriava na systematický zber a uchovanie rôznych typov vzoriek, najmä tekutín, pričom implementuje technológie a postupy podľa prísnych noriem zabezpečujúcich kvalitu. V spolupráci s klinikami a výskumnými inštitúciami boli optimalizované procesy náboru pacientov, príprava informovaných súhlasov, vytvorené dotazníky a samotné odberové protokoly. Vzorky následne analyzované

s dôrazom na identifikáciu genetických markerov a biomarkerov relevantných pre štúdium ochorení. Výsledky implementácie biobankovania a príslušných procesov ukazujú, že biobankovanie významne prispieva k pochopeniu genetických a molekulárnych mechanizmov raritných ochorení. Biobanka poskytla už vyše 3 000 vzoriek na výskum, implementovala biobankový informačný systém a automatizovala veľké množstvo procesov, čo viedlo k zjednodušeniu získavania informácií pri identifikácii nových genetických mutácií a biomarkerov, ktoré môžu byť kľúčové pre diagnostiku a personalizovanú medicínu. Biobankovanie v Slovenskej republike začína predstavovať významný prínos pre biomedicínsky výskum. Integrácia pokročilých technológií, systematické zhromažďovanie a analýza biologických vzoriek umožňujú výrazné zlepšenie v oblasti diagnostiky a liečby. Biobankovanie je dôležitou súčasťou biomedicínskeho výskumu, čo potvrdzuje aj významný počet vydaných vzoriek, takmer 3 000, ktorý už teraz prispel k množstvu výskumov a publikácií, čím sa potvrdila efektivita a prínos biobankovania pre vedu a výskum.

Projekt mapovania slovenského genómu

Krumpolec P., Babišová K., Gnip A.,
Hadžega D., Petrovič O., Hýblová M.,
Minárik G.

Medirex Group Academy, Nitra

Úvod: Projekt Slovenský genóm (SGP) sme iniciovali s cieľom identifikovať genetické varianty, ktoré sú jedinečné

né pre slovenskú populáciu alebo v nej prevládajú. To môže odhaliť genetické faktory špecifické pre danú populáciu, ktoré súvisia s chorobami a stavmi rozšírenými na Slovensku. Tieto poznatky možno využiť pri skríningu, prevencii alebo liečbe, zohľadňujúc genetickú výbavu jednotlivcov. Projekt má zásadný význam pre personalizovanú medicínu a riadenie problémov týkajúcich sa verejného zdravotníctva.

Metódy: Populačný súbor zahŕňal 582 zdravých osôb (vek $30,85 \pm 6,74$ rokov; M/F 199/383), definovaných ako osoby bez závažných dedičných ochorení. DNA izolovaná zo vzoriek periférnej krvi bola použitá na prípravu DNA knižníc, ktoré boli sekvenované na platforme NovaSeq X Plus s cieľovým pokrytím 30x a dĺžkou čítaní 2×150 bp. Získané údaje boli anotované a filtrované pomocou nástroja Qiagen Clinical Insight.

Výsledky: Identifikovali sme 752 patogénnych a 1 335 pravdepodobne patogénnych variantov. Dvadsaťsedem z nich bolo klasifikovaných ako bežné, s frekvenciou alel vyššou ako 1 % (PaLP1% varianty). Osem PaLP1% variantov malo významne vyššie frekvencie ako očakávané gnomAD frekvencie. Sedemdesiattri variantov bolo identifikovaných ako ACMG a 72 variantov ako SFMPP.

Identifikovali sme 17 homozygotov pre PaLP1% varianty súvisiace s dedičnou hemochromatózou, deficitom biotínidázy, deficitom alfa-1-antitrypsínu, diabetom 1. typu a idiopatickou generalizovanou epilepsiou. Jedenásť PaLP1% variantov bolo spojených s ochoreniami s autozomálne

dominantnou dedičnosťou vrátane idiopatickej generalizovanej epilepsie, atopickej dermatitídy, Parkinsonovej choroby, psoriázy, Brugada syndrómu, familiárnej rakoviny pankreasu, Alzheimerovej choroby, dedičnej von Willebrandovej choroby, venózne trombózy, srdcovej arytmie a rakoviny prostaty.

Záver: Prezentovali sme prvé výsledky SGP, ktoré naznačujú, že v porovnaní s predpokladanými údajmi pre všeobecnú európsku (nefínsku) populáciu má slovenská populácia vyššiu mieru mutácií v niektorých génoch spojených so závažnými ochoreniami. Naše pozorovania jasne poukazujú na význam projektov, ako je SGP.

Vysvetlivky: ACMG – smernica pre hlásenie sekundárnych nálezov v kontexte klinického exómového a genómového sekvenovania, vydané Americkou spoločnosťou pre lekársku genetiku a genomiku (American College of Medical Genetics and Genomics); gnomAD – genome Aggregation Database – databáza frekvencií alel pre genetické varianty na základe exómového a genómového sekvenovania z rôznorodých populácií; PaLP1% varianty – patogénne a pravdepodobne patogénne varianty s frekvenciou alel vyššou ako 1%; SFMPP – smernica pre hlásenie sekundárnych nálezov pre gény predisponujúce k rakovine, vydané Francúzskou spoločnosťou pre prediktívnu a personalizovanú medicínu (French Society of Predictive and Personalized Medicine).

Identifikácia klinicky významných farmakogenetických variantov zo sekvenovania celého genómu v slovenskej populácii

Hýblová M, Krumpolec P., Babišová K., Gnip A., Hadžega D., Minárik G.
Medirex Group Academy, Nitra

Úvod: V súčasnej ére personalizovanej medicíny je identifikácia genetických variantov, ktoré ovplyvňujú

odpoveď na liečbu, kľúčová pre vývoj efektívnych a bezpečných terapeutických stratégií. Naša štúdia sa okrem iného zamerala na identifikáciu klinicky významných farmakogenetických variantov zo sekvenovania celého genómu (WGS) slovenskej kohorty.

Metódy: Sekvenovali sme celý genóm približne 1 000 účastníkov zo Slovenska pomocou platformy Novaseq X s pokrytím 30x. Tento prístup nám umožnil získať vysokokvalitné dáta, ktoré sme následne analyzovali pomocou sofistikovaných algoritmov pre identifikáciu jednobodových nukleotidových polymorfizmov (SNP), malých delécií, inzercii (indelov) a štruktúrálnych variantov.

Výhody WGS oproti WES: WGS poskytuje komplexnejší pohľad na genetický profil pacienta v porovnaní s celoxómovým sekvenovaním (WES), ktoré sa zameriava hlavne na kódujúce oblasti genómu. Okrem identifikácie SNP a indel variantov, WGS umožňuje aj analýzu nekódujúcich oblastí, ktoré môžu obsahovať regulačné elementy a iné funkčné sekvencie. Taktiež umožňuje štúdium štruktúralne komplikovaných oblastí, ako sú HLA gény a farmakogény (napr. CYP2C9, CYP3A5, ABCG2, DPYD, F5, TPMT, UGT1A1, LPA), ktoré sú výrazne polymorfné, často obsahujú pseudogény, repetitívne sekvencie a vo všeobecnosti je nemožné ich analyzovať štandardnými nástrojmi.

Výsledky: Výsledky analýz ponúkajú odhad výskytu niekoľkých klinicky významných farmakogenetických variantov, ktoré môžu byť využité

na optimalizáciu liečebných stratégií. Identifikovali sme varianty, ktoré ovplyvňujú metabolizmus liekov a predikujú terapeutickú odpoveď a toxicitu. Taktiež sme identifikovali zastúpenie variantov v HLA triede, ktoré majú význam v patofyziológii niektorých komplexných multifaktoriálnych ochorení.

Záver: Identifikácia farmakogenetických variantov, ale aj iných klinicky relevantných genetických variantov prostredníctvom WGS prináša nový rozmer do personalizovanej medicíny. Umožňuje detailnú analýzu génov a oblastí genómu, ktoré sú tradične ťažko analyzovateľné. Naše výsledky poukazujú na potenciál WGS v identifikácii variantov s klinickým významom, čo môže viesť k zlepšeniu liečebných výsledkov a zníženiu rizika nežiaducich účinkov. Pokračujúci výskum v tejto oblasti môže viesť k vývoju nových diagnostických nástrojov a terapeutických prístupov, ktoré zlepšia manažment pacientov a ich liečebné výsledky.

Unlocking the potential of NGS with avidity based chemistry

Omelchenko D.

Dynex, Buštěhrad, The Czech Republic

Avidity sequencing introduces a novel chemical approach that revolutionizes next-generation sequencing (NGS) by decoupling nucleotide incorporation from detection. This innovation results in superior base calling accuracy and a dramatic reduction in key reagent concentration to nanomolar levels compared to traditional sequencing by

synthesis. The core principle involves a two-step process: incorporation of a blocked, unlabeled nucleotide and detection by binding of a native nucleotide to a complementary nucleotide for base identification. The technology employs specialized molecules termed avidites, featuring nucleotides attached to biotin arms that bind to the DNA template. This approach is amplified by multivalent ligands on the dye-labeled core, creating robust polymerase-polymer-nucleotide complexes. Leveraging the collective strength of multiple noncovalent interactions, avidity sequencing achieves an unprecedentedly low error rate of one in ten thousand bases (Q40) and excels in sequencing homopolymer regions. The AVITI system, manufactured by Element Biosciences, is the platform for avidity sequencing. This benchtop instrument features dual-flow cells, delivering a maximum output of 600 gigabases per run and employing rolling circle amplification to minimize PCR errors. With applications spanning single-cell, whole genome, and cell-free DNA sequencing, the AVITI platform empowers research into complex genetic diseases such as cancer and rare disorders. The combination of exceptional accuracy and reduced reagent costs positions avidity sequencing as a transformative technology with the potential to redefine the landscape of genomic analysis. The recent launch of the Q50 kit, offering a 100-fold increase in accuracy, further solidifies avidity sequencing as a leading-edge solution. The system is upgradable to a multi-omic

platform, allowing for the detection of RNA and protein markers in both cell cultures and suspensions.

Prednáška bola podporená finančným príspevkom spoločnosti Dynex. Spoločnosť Dynex žiadnym spôsobom nezasažovala do odborného obsahu podporenej prednášky.

DPYD a jeho hlboko skryté tajemství o HapB3

Vrtěl R.¹, Janíková M.¹, Kolaříková K.¹, Kratochvílová R.¹, Brisudová A.¹, Langerová H.¹, Curtisová V.¹, Rožánková Z.², Slavkovský R.²

¹Ústav lékařské genetiky LF UP a FN Olomouc

²Ústav molekulární a translační medicíny LF UP a FN Olomouc

Dihydropyrimidin dehydrogenáza (DPD) kódována genem DPYD se podílí na metabolismu chemoterapeutik na báze fluoropyrimidinů (5-fluorouracyl (5-FU) a capecitabine). Tyto se využívají k léčbě spektra nádorů, včetně nádorů kolorekta, prsu, hlavy a krku a žaludku. Bylo identifikováno několik variant, které buď snižují, nebo zcela ruší aktivitu DPD. Pacienti se sníženou nebo žádnou aktivitou DPD pak mají při podání fluoropyrimidinů zvýšené riziko intoxikace, která může vážně ohrozit jejich zdraví, případně vést až k jejich úmrtí. Klinické farmakogenetické konsorcium (CPIC) proto doporučuje testovat přítomnost klinicky nejrelevantnějších variant v genu DPYD, které mohou významnou mírou ovlivňovat aktivitu DPD. Na základě výsledku genotypizace a určení celkového

skóre aktivity pak doporučujú nastavení terapeutické dávky pro jednotlivé pacienty. Nejčastější kauzální varianty byly v minulosti označeny jako Haplotyp B3 (HapB3). Pravidelně se z nich vyšetřuje benigní synonymní varianta c.1236G>A (p. Glu412=) (rs56038477) v exonu 11, avšak za poškození funkce DPD může právě varianta c.1129-5923C>G (rs75017182) lokalizována hluboko v intronu 10, kde vytváří nové kryptické sestřihové místo. Obě tyto varianty jsou ve vazbě, proto se varianta p.Glu412= označuje jako “SNP značící Haplotyp B3”. Nedávno bylo publikováno, že vazební nerovnováha (LD) není perfektní, ale existují jedinci, kteří jsou nositeli varianty c.1236G>A, avšak nenesou variantu c.1129-5923C>G (14/245394; LD = 0,9985). V důsledku toho může v některých případech testování pouze c.1236G>A generovat falešně pozitivní výsledky vedoucí k suboptimálnímu dávkování, které by mohlo negativně ovlivnit léčbu pacienta a jeho vyhlídky na přežití. Aby se tomu zabránilo, bude v rámci prezentace nabídnuto možné řešení.

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

Automatická klasifikácia a/alebo predikcia klinického významu variácií v počte kópií (CNV): od odporúčaní k umelej inteligencii alebo cesta tam a zase späť?

Radvánszky J.^{1,2,4,5}, Budiš J.^{1,2,6}, Sládeček T.^{1,2}, Gažiová M.^{1,3}, Kuchárik M.^{1,2}, Pös Z.^{1,4,5}, Pös O.^{1,2,4}, Krampfl W.^{1,2,4}, Lojová I.^{2,4,5}, Hekel R.^{1,4,6}, Szemes T.^{1,2,4}

¹Geneton, s.r.o., Bratislava

²Vedecký park Univerzity Komenského, Bratislava

³Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského, Bratislava

⁴Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

⁵Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

⁶Centrum vedecko-technických informácií, Bratislava

Úvod: Klinická interpretácia sekvenčných variantov je zložitý proces, čo platí aj pre varianty typu zmien v počte kópií (CNV; *copy number variants*). S cieľom zmierniť túto prekážku boli vyvinuté technické odporúčania na interpretáciu variantov, napr. aj spoločnosťou *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG). Tieto sa dajú aplikovať manuálne, ale bolo vyvinutých aj niekoľko (polo)automatizovaných nástrojov na aplikáciu týchto odporúčaní. Alternatívne, nové nástroje založené na strojovom učení ukázali sľubné spôsoby dokonca plne automatizovaných predikcií možného dopadu CNV.

Materiály a metódy: Vyhodnotili sme najmodernejšie nástroje výpočtovej predikcie na záznamoch CNV zozbieraných z databázy ClinVar. Porovnali sme ich presnosť pri použití v individuálnom nastavení, t. j. zvlášť nástroj na ACMG klasifikáciu (MarCNV) a na automatizovanú predikciu klinického významu (ISV), ako aj ich kombináciu.

Výsledky: Na základe našich výsledkov predstavujú automatizované predikčné nástroje veľký potenciál v interpretácii sekvenčných variantov. Aj pri potrebe dodržania určitej rigoróznosti založenej na striktnej aplikácii ACMG kritérií (požadovanej v laboratórnej diagnostike) prinášajú tieto nástroje, najmä ich kombinácia, nové možnosti v podpore klinického rozhodovania.

Záver: Moderné nástroje na podporu klinického rozhodovania pre klinickú interpretáciu CNV sú schopné poskytnúť laboratórnym diagnostikom a lekárom cenné rady, čím majú potenciál nielen urýchliť celkový proces laboratórnej diagnostiky, ale aj zvýšiť možné diagnostické výťažky.

Granty: VEGA_2/0146/23; VEGA_2/0114/24; SAV Doktogram APP0509; PANGAIA H2020-MSCA-RISE-2019 (ID zmluvy o grante: 872539) financovaným v rámci H2020-EU.1.3.3. Programu; a projektom ALPACA H2020-MSCA-ITN-2020 (ID zmluvy o grante: 956229) financovaným v rámci H2020-EU.1.3.1. Programu.

Celogenómové sekvenovanie v diagnostike myotonického dystrofie

Lojová I.^{1,2,3}, Kuchárik M.^{1,2,4}, Pös Z.^{1,4}, Baláž A.^{4,5}, Zaťková A.¹, Tóthová Tarová E.^{1,6}, Budiš J.^{2,4,7}, Kádaši L.^{1,3,8}, Szemes T.^{2,3,4}, Radvánszky J.^{1,2,3,9}

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

²Vedecký park Univerzity Komenského, Bratislava

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

⁴Geneton, s.r.o., Bratislava

⁵Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského, Bratislava

⁶Katedra biológie, Pedagogická fakulta Univerzity J. Selyeho, Komárno

⁷Centrum vedecko-technických informácií, Bratislava

⁸Genexpress, s.r.o., Bratislava

⁹G2 Consulting Slovakia, s.r.o.

Úvod: Diagnostika myotonických dystrofií (DM) sa s cieľom dosiahnuť presnejšie a rýchlejšie stanovenie diagnózy neustále vyvíja. Celogenómové sekvenovanie (WGS) predstavuje prelomovú technológiu, ktorá umožňuje detailnú analýzu a identifikáciu variantov spojených s DMs. Táto technológia, spolu s použitím dedikovaných nástrojov na genotypizáciu tandemových opakovaní (TR), prináša nielen nové možnosti, ale aj výzvy v oblasti diagnostiky týchto ochorení.

Metódy: WGS dáta s použitím párových 150 bp čítaní boli získané pre 50 jedincov, vrátane deviatich DM1, štyroch DM2 pacientov a jedného pacienta s expanziou DM1 aj DM2. Na charakterizáciu TR asociovaných s DMs sme použili modifikovanú verziu špecializovaného TR genotypizačného nástroja Dante. Validáciu výsledkov sme uskutočnili pomocou konvenčnej PCR a repeat-primed PCR.

Výsledky: Z WGS výsledkov sme identifikovali všetky alely s DM1 a DM2 expanziami, vrátane dvoch DM1 expanzií,

ktoré obsahujú sekvenčné prerušenia. Pri stanovení veľkostí alel v tzv. normálnom rozsahu sa dosiahla vyššia veľkostná hranica pomocou konvenčných metód v prípade DM1 aj DM2, pričom bolo preukázané, že genotypová konkordancia v oboch typoch DM je medzi konvenčnými metódami a WGS dátami vyššia ako 95 %. Neočakávané sekvenčné prerušenia interferujú s WGS aj s konvenčnými metódami. Neistotu do interpretácie oboch typov výsledkov vnáša aj *stutter* efekt. Naše výsledky tiež naznačujú, že WGS je lepšie pri objasňovaní presnej sekvenčnej štruktúry motívov, vrátane možnosti fázovania komplexných motívov, aj v prípade, ak tieto motívy nespádajú do normálneho rozsahu alelových veľkostí.

Záver: Vďaka možnosti detailnej charakterizácie repetitívnych motívov, vrátane presnej štruktúry klinicky relevantných TRs, majú WGS s krátkymi čítaniami vysoký potenciál vo výskume aj diagnostike DM. Tieto zistenia môžu byť rovnako relevantné aj pre molekulárne testovanie iných ochorení spojených s tandemovými opakovaniami.

Granty: VEGA_2/0146/23; VEGA_2/0114/24; *Doktrant* APP0509

Nové trendy v NGS diagnostice - tekutá biopsie, MRN, metylace, automatizace, dlhá čtení, IVDR exom a další

Pácalt O.

3Genes, Praha, ČR

Rozvoj technológií sekvenování nové generace (NGS) přináší revoluční změny v molekulární diagnostice. Tekutá biopsie

pomocí NGS umožňuje neinvazivní detekci nádorových markerů z krve v případech, kdy není nádorová tkáň k dispozici. NGS také umožňuje detekci minimální reziduální nemoci (MRN), poskytuje informace o zbytkových nádorových buňkách po léčbě a umožňuje sledování průběhu onemocnění. Vývoj v oblasti čtení dlouhých úseků DNA zvyšuje přesnost a rozlišovací schopnost genomických analýz a simultánní detekce metylace DNA poskytuje přímý vhled do epigenetických změn spojených s různými patologiemi. Zahrnutí IVDR exomu do diagnostických postupů zajišťuje nejvyšší kvalitu a snadný přechod k validovaným IVDR vyšetřením. Tyto a další pokroky posouvají hranice personalizované medicíny a otvírají nové možnosti pro včasnou a přesnou diagnostiku.

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

Funkčné štúdie zostrihových variantov génov GCK a HNF1A

Dobiašová Z.¹, Valkovičová T.¹, Staník J.^{1,2}, Škopková M.¹, Gašperíková D.¹

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

²Detská klinika, Národný ústav detských chorôb a Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

Úvod: Monogénový diabetes je geneticky heterogénne ochorenie, kto-

ré je spôsobené patogénnymi variantmi v génoch, ktorých produkty hrajú úlohu v syntéze, sekrécii alebo účinku inzulínu. Na potvrdenie diagnózy monogénového diabetu (a jeho odlišenie od iných typov) je nevyhnutná presná molekulárna diagnostika a interpretácia vplyvu genetických variantov na funkciu génov. Najčastejšie patogénne varianty spôsobujúce diabetes typu MODY sú v génoch GCK, HNF1A, HNF4A a HNF1B. Odlišenie jednotlivých typov variantov od benígnych až po patogénne je dôležitým bodom pri správnej diagnostike pacienta. Na posúdenie, či je variant patogénny, slúžia klasifikačné schémy využívajúce informácie o frekvencii v bežnej populácii, predikcie o jeho dopade na štruktúru proteínu, o kosegregácii s fenotypom v rodine a pod. Pri nedostatku týchto informácií je potrebná *in vitro* funkčná charakterizácia týchto variantov.

Metodika: Na testovanie vplyvu variantu na splicing môžeme použiť „mini-gene esej“, pri ktorej klonujeme testovaný exón medzi dva exóny mini-génu v expresnom vektore. Po vnesení vektora do eukaryotickej bunky sa tento mini-gén exprimuje do mRNA, kde potom môžeme detegovať vznik alternatívneho zostrihového miesta alebo vystrihnutie celeho exónu z mRNA.

Výsledky: Na testovanie zostrihu mRNA „mini-gene esejou“ sme na základe *in silico* predikcií vybrali 3 varianty v géne GCK a 3 varianty v géne HNF1A. Pri dvoch z nich sa preukázal ich vplyv na zostrih mRNA v podobe nového zostrihového miesta. Pri ďalších dvoch došlo

k vystrihnutiu celého exónu, tzv. exon skipping. Týmito funkčnými štúdiami sme potvrdili pri 4 variantoch vplyv na zostrih mRNA pri oboch testovaných génoch.

Záver: Vďaka výsledkom tejto funkčnej štúdie môžeme preklasifikovať 4 varianty s neznámym významom na pravdepodobne patogénne varianty.

Práca bola podporená grantom VEGA 2/0131/21 a VEGA 1/0659/22.

Preventívny génový transfer DNase113 v myšacom modeli pneumónie

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

Lekárska fakulta UK, Bratislava

Deoxyribonukleáza (DNáza) štiepi neutrofilné extracelulárne pasce (NETs) a pomáha zmiernovať neadekvátnu imunitnú odpoveď. Toto bolo preukázané pri sepe a hepatorenálnom poškodení. Pri bakteriálnej pneumónii sa očakáva, že infekčná zložka je rozhodujúca, ale ako sa ukazuje pri sepe, nemusí to byť pravda. Génová terapia je zriedka používaná stratégia na zvýšenie aktivity DNázy.

Cieľom našej štúdie bolo dokázať, či intratracheálny nevírusový génový transfer s využitím plazmidu s DNázou 113 má preventívny účinok v myšacom modeli bakteriálnej pneumónie.

Plazmidová DNA (pcDNA3.0) kódujúca DNázu 113 bola aplikovaná intratracheálne v dávke 500 ug. Kontrolné myši dostali fyziologický roztok. Po 12 hodinách bola vyvolaná pneumónia pomocou *S. aureus* (10E6 cfu). Bronchoalveolárna laváž (BALF) sa odobrala po ďalších 12 hodinách

a použila sa na kultiváciu, počítanie buniek a izoláciu extracelulárnej DNA po centrifugácii. Všetky myši prežili až do konca experimentu. Počty baktérií boli nižšie v liečenej skupine, ale rozdiel nebol významný. V počte buniek a extracelulárnej DNA sa v BALF nezistili žiadne významné rozdiely. Nevírusový génový transfer s použitím plazmidu kódujúceho DNázu 113 neovplyvnil myšiaci model bakteriálnej pneumónie. Je možné, že na vylepšenie efektu je potrebná kombinácia DNázy 113 a DNázy 1. Avšak skutočnosť, že počet baktérií nie je zvýšený, naznačuje, že štiepenie NETs prinajmenšom nezhoršuje infekciu.

Onkogenetika a onkogenomika

Nad rámec tradičnej biopsie: Význam tekutej biopsie pre skorú diagnostiku

Slavkovská B.

PentaGen, s.r.o., Horní Bezděkov, ČR

Včasná diagnostika je základom na zvýšenie percenta prežívania pacientov a zlepšenie kvality ich života. Identifikácia cirkulujúcich nádorových buniek v krvi pacienta, označovaná aj ako tekutá biopsia, je pokroková neinvazívna metóda. Cirkulujúca nádorová DNA slúži ako biomarker ochorenia a poskytuje cenné diagnostické aj prognostické informácie. Spoločnosti SOPHiA a ArcherDx prinášajú rôzne panely na testovanie tekutej biopsie. Spolupráca Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSK) a SOPHiA

Genetics s využitím SOPHiA DDM platformy, vyvinula rutinne používaný panel na detekciu 146 kľúčových tumor-asociovaných génov, umožňujúci užívateľom testovanie vzorky so zrozumiteľnou výslednou správou. Spoločnosť PentaGen vám s radosťou predstaví a zavedie produkty uvedených výrobcov do vášho laboratória.

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

Význam genetického vyšetrení u meningeomů

Žmolíková J.¹, Pitronová S.¹,

Šimová J.¹, Urbanovská I.¹,

Kunčíková K.¹, Lazarová A.¹,

DeLongová P.², Lipina R.², Reguli Š.²,

Cvek J.², Uvírová M.¹

¹EUC Laboratoře CGB, a. s.

²FN Ostrava

Úvod: Meningeomy patří mezi primární nádory CNS pocházející z meningeálních buněk arachnoidey. Obvykle mají benigní povahu s extraaxiálním růstem a svým biologickým chováním pacienta přímo neohrožují. Výjimku tvoří meningeomy atypické a anaplastické (gr. 2 a 3), které se vyznačují agresivnějším chováním, rychlým růstem, infiltrací okolní tkáně, recidivami a vzácně i metastázami.

Nejčastější genetická změna u meningeomů je delece 22q. U meningeomů vyšších gradů jsou dále popisovány delece 1p36, monozomie chromozomu 14 a u anaplastického meningeomu bialelická delece genu CDKN2A.

Soubor pacientů a metody: V období 1/2022-6/2024 bylo vyšetřeno 97 vzorků meningeomů – v souboru bylo 69 žen, 28 mužů, věkové rozmezí 29-84 let. Průměrný věk při diagnóze 59,2 let. Na řezech z parafinových bloků nebo na otiskových preparátech byla provedena FISH. Použity byly sondy ZytoVision GmbH SPEC 1p36/1q25 Dual Color Probe, SPEC IGH Dual Color Apart Probe, Leica BIOSYSTEMS ON BCR/ABL t(9;22) DC D-Fusion, CDKN2A (9p21)/9q21.

Výsledek: U 13 (13,4 %) meningeomů histopatologicky zařazených jako grade 1 byly nalezeny mimo nejčastější aberace popisované u meningeomů – delece 22q – také další chromozomové aberace typické pro meningeomy vyšších gradů: delece 1p a monozomie 14.

Anaplastický meningeom byl potvrzen v jednom případě nálezem bíalelická delece genu CDKN2A spolu s delecí 22q a 1p36. Monoalelická delece CDKN2A byla nalezena ve 3 případech spolu s delecí 22q, 1p a monozomií 14 (2x gr.3, 1x gr.2).

Závěr: Atypické a anaplastické meningeomy vykazují vyšší riziko recidivy, progresu, případně invaze do mozkové tkáně a je tedy nutná jejich jednoznačná identifikace. V některých případech může být ale stanovení gradu histopatologicky obtížné – i u gradu 1 se mohou objevovat určité rysy svědčící pro vyšší grade, které ale nesplňují jeho jednoznačná diagnostická kritéria.

Identifikované genetické změny mohou pomoci tyto meningeomy správně klasifikovat – pacienti jsou pak zařazeni k časnější MR kontrole a dle lokalizace tumoru je zvážena také možnost radioterapie, resp. radiochirurgie.

Frekvence a význam mutací genu *SF3B1* u nemocných s myelodysplastickými neopláziemi (MDS)

Zemanová Z.¹, Aghová T.¹, Lhotská H.¹, Svobodová K.¹, Hodaňová L.¹, Lizcová L.¹, Pavlišťová L.¹, Lukšíková K.¹, Sotáková S.², Minařík L.^{2,3}, Stopka T.^{2,3}, Jonášová A.²

¹Centrum nádorové cytogenomiky ÚLBLD, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze

²1. interní klinika – klinika hematologie, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. LF UK v Praze

³BIOCEV, 1. LF UK v Praze

Přibližně u 60% pacientů s MDS můžeme detekovat mutace genů pro sestřihové faktory (*SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*), které vedou k akumulaci R-smyček a poškození DNA, což má za následek aktivaci ATR dráhy. Nejčastěji pozorujeme hotspot mutaci *SF3B1* (varianta K700E). Mutace *SF3B1* jsou silně asociovány s MDS s prstenčitými sideroblasty a jsou spojovány s relativně dobrou prognózou. Výsledky jsou však velmi heterogenní. Identifikace dalších znaků, které mohou ovlivnit prognózu pacientů s MDS s mutacemi *SF3B1*, by mohla vést k lepšímu porozumění patogeneze onemocnění a ke zlepšení terapie. Cílem studie bylo zhodnotit frekvenci a prognostický význam různých mutačních variant *SF3B1* a jejich asociaci s cytogenomickými nálezy a komutacemi dalších genů.

Provedli jsme detailní analýzu kostní dřeně 343 pacientů s MDS pomó-

cí kombinace cytogenomických metod (G-pruhování, I-FISH, mFISH/mBAND, aCGH/SNP) a sekvenování nové generace (NGS) s použitím Archer Myeloid VariantPlex gene panelu (Invitae), který pokrývá 75 genů spojených s myeloidními malignitami.

Mutace SF3B1 jsme detekovali u 60/343 nemocných (17,5%). V souladu s publikovanými daty měli pacienti s mutovaným SF3B1 lepší celkové přežití než pacienti bez mutace. Na základě cytogenomických nálezů byli nemocní rozděleni do čtyř skupin (SF3B1^a, SF3B1^b, SF3B1^{del(5q)} a SF3B1^{komplex}). Kategorie SF3B1^a měla nejpriznivější IPSS-M skóre, zatímco SF3B1^{komplex} měla nejhorší. V této studii byly mutace SF3B1 nejčastěji spojeny s mutacemi genů TET2, DNMT3A, RUNX1, ASXL1, LUC7L2 a TP53.

Identifikace mutací splicing genů je důležitým diagnostickým nástrojem pro stratifikaci pacientů s MDS. Podle IPSS-M mají mutace SF3B1 obecně příznivější prognózu ve srovnání s jinými sestřihovými geny (SRSF2, U2AF1), prognostický význam jednotlivých variant se však může lišit. Na prognózu pacientů s mutovaným SF3B1 mohou mít vliv i další biologické faktory, jako je varianta mutace, asociace s komplexními karyotypy a mutace dalších genů. Pro přesnou diagnózu a personalizovanou léčbu pacientů s MDS je proto důležitý komplexní pohled zahrnující všechny cytogenomické, molekulární a klinické údaje.

Podpořeno RVO-VFN64165

Využití NGS technologie v multioborové laboratoři

Dolinová I., Zajíc T., Kracík M., Štillerová K.

Oddělení genetiky a molekulární diagnostiky, Krajská nemocnice Liberec

NGS technologie pronikly do laboratorního testování ve všech myslitelných oblastech. V extrahumánní genetice tato metoda sehrála klíčovou roli například při určování konkrétních variant viru SARS-CoV-2. V germinální a somatické humánní genetice si již diagnostiku bez metody masivního paralelního sekvenování nelze představit.

Na nově vzniklém Oddělení genetiky a molekulární diagnostiky Krajské nemocnice v Liberci řešíme problematiku všech oblastí genetiky, tedy extrahumánní, germinální ale i somatické humánní genetiky. Proto bylo nutné při výběru NGS platformy pro naše oddělení zohlednit parametry důležité pro všechna potenciální využití. Navíc s příchodem normy IVDR se připravit i na tuto variantu.

V naší prezentaci představíme přístroj genexus a jeho první dva roky provozu v laboratoři. Ukážeme výsledky jak extrahumánního, tak i humánního využití a zaměříme se na klady i zápory zvolené technologie.

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

Jak nás ovlivnilo panelové testování v onkogenetice – zajímavé kazuistiky

Puchmajerová A.

2. LF UK a FN Motol, Ústav biologie a lékařské genetiky, Praha

Počátky onkogenetiky jsou datovány do posledního desetiletí 20. století, kdy byly identifikovány první geny, jejichž germinální mutace souvisely s významným rizikem nádorových onemocnění, a byly popsány první syndromy hereditární nádorové predispozice. Byla nastavena a postupně i modifikována kritéria, podle kterých byli pacienti k testování indikováni. Vzhledem k ceně a náročnosti molekulárně genetického vyšetření byla snaha tato kritéria striktně dodržovat, ale díky tomu mutace některých, byť již v té době známých genů nebyly u pacientů zachyceny. S rozvojem nových technologických možností došlo za poslední desetiletí k významnému rozvoji onkogenetiky, především díky objevům nových genů zodpovědných za hereditární nádorové predispozice a současně díky možnosti testování velkého množství genů najednou. Díky těmto rozšířeným možnostem jsou diagnostikovány u pacientů i hereditární nádorové predispozice, na které bychom vzhledem k dříve nastaveným kritériím nemysleli, a dědičná nádorová predispozice by nebyla zachycena. V prezentaci přinášíme několik zajímavých kazuistik, kde právě díky panelovému testování byla zachycena dědičná nádorová predispozice, i když kritéria pro danou nádorovou predispozici nejsou splněna.

Flexibilní využití hybrid capture NGS při komplexním prediktivní testování solidních nádorů – zkušenosti z FNHK

Vošmiková H.

Laboratoř molekulární patologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Vyšetřování somatických aberací z nádorové tkáně a jejich využití pro indikaci cílené léčby patří do standardů onkologické péče. V České republice tato vyšetření spadají pod odbornost patologie a jsou prováděna v referenčních laboratořích pro provádění výkonů prediktivní diagnostiky.

V současné době se stále více uplatňuje komplexní prediktivní testování nádorů metodou NGS, které je indikováno na základě multidisciplinárních týmů komplexních onkologických center a je využíváno u karcinomu plic, prsu, kolorektálního karcinomu a nádorů neznámého primárního zdroje a dalších méně častých nádorů. Odbornými společnostmi je u každé výše zmíněné skupiny diagnóz dán nepodkročitelný seznam sekvenovaných genů na úrovni DNA a RNA.

Naše pracoviště využívá pro přípravu sekvenační knihovny hybrid capture přístup, s vlastním designem panelu genů. Totožný panel genů využíváme pro sekvenování DNA i RNA, s několika navazujícími bioinformatickými postupy pro detekci genových mutací (jednobodové substituce, inserce, delece), CNV – copy number variations, mikrosatelitní nestability (MMR deficiencie) a genových fúzí. Pro dodržení doby odezvy 10 pracovních dní v sekvenačních runech kombinujeme vzorky různých diagnóz s požadavkem na

komplexní profilování nádoru i na single gene testování.

Výsledky NGS komplexního profilování nádorů jsou diskutovány na pravidelných schůzkách molekulárního tumor boardu FNHK, který navrhuje vhodný individuální terapeutický postup.

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

Diagnostické molekulárne biomarkery pri nádoroch kolorekta

Závodná K., Šebest L., Slamka T., Kostrábová A., Lohajová Behulová R. Oddelenie lekárskej genetiky, Ústav laboratórnej medicíny, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

Kolorektálny karcinóm (CRC) je jednou z celosvetovo najčastejších príčin morbidita a mortality, pričom mu patrí druhé miesto v incidencii medzi ženami a tretie miesto v mužskej populácii. Krajiny strednej Európy sa vyznačujú najvyššou incidenciou CRC na svete a patrí medzi najčastejšiu príčinu smrti. Väčšina prípadov kolorektálneho karcinómu je diagnostikovaná v pokročilom štádiu. CRC možno charakterizovať ako hereterogénne ochorenie, ktoré je asociované s množstvom genetických a epigenetických zmien. Genetické a epigenetické zmeny, ktoré vznikajú pri CRC možno využiť ako biomarkery, na základe ktorých možno stratifikovať riziko, podať vhodnú terapiu pacientovi a predĺžiť celkové prežívanie pacienta.

V minulosti prebiehala stratifikácia pacientov s CRC na základe určenia mutačného statusu v jednom, prípadne dvoch génoch. V posledných rokoch, vďaka rozvoju metód molekulárnej biológie – predovšetkým masívneho paralelného sekvenovania (MPS), vieme otestovať široké spektrum genetických zmien v tumore (tzv. komplexné genetické profilovanie tumoru (CGP)). Uvedený prístup umožňuje lepšie charakterizovať nádor a nastaviť pre pacienta najvhodnejšiu terapiu a manažment.

Cieľom prednášky je poukázať na rôzne genetické biomarkery: KRAS, NRAS, BRAF, MSI, POLE, POLD1, RET fúzie, HER2 a NTRK fúzie, ktoré možno použiť pri diagnostike a následnom manažmente pacientov s kolorektálnym karcinómom.

Od CGP po lymfómy – NGS diagnostika zajtrajška

Držík F.

ThermoFisher Scientific

Moderná onkologická diagnostika založená na molekulárnej detekcii pomocou technológie NGS priniesla nesporné výhody pre zdravotníckych pracovníkov aj pre pacientov. S výhodami idú ruka v ruku aj mnohé výzvy a technológia je často skúšaná až na limit možností. Je možné zjednodušiť komplexné genomické profilovanie solídnych nádorov (CGP) na jednu krátku analýzu a mať po ruke všetky dôležité hodnotiace kritériá ako napríklad MSI status, HRD skóre či stav mutačnej nálože TMB v jednej správe a to bez zdlhavej analýzy dáť? Je možné zoptimalizovať a zrýchliť vyšetrenia hematologických a lymfoidných

malignít na 24 hodín a umožniť tak včasnú liečbu týchto prípadov? V spoločnosti Thermo Fisher Scientific veríme, že áno!

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

Je možné skrátiť testovanie molekulárných biomarkerov z FFPE do 24 hodín?

Slamka T., Šebest L., Kostrábová A., Lohajová Behulová R.

Oddelenie klinickej genetiky,
Onkologický ústav sv. Alžbety,
Bratislava

Personalizovaná liečba onkologických ochorení je čoraz viac postavená na molekulárnogenetických biomarkeroch, ktoré podľa ASCO, ESMO, NCCN odporúčani stratifikujú liečbu onkologických pacientov. Štandardom súčasnosti je paralelná multigénová DNA a RNA analýza nádorového tkaniva prístupom masívneho paralelného sekvenovania (MPS/NGS). Analýza nádorovej DNA a RNA pomocou MPS nám umožňuje vytvoriť komplexný genomický profil nádoru simultánnym vyšetrením desiatok až tisícov génov. Jednou z najväčších výziev NGS testovania somatických variantov je, paradoxne, tzv. „turnaround time“, čiže čas vyšetrenia, ako rýchlo je genetické laboratórium schopné klinickému onkológovi poskytnúť komplexný genetický výsledok analýzy somatických DNA variantov a RNA fúzií z FFPE materiálu. K samotnej analýze si treba pripočítať aj vy-

žadanie a transport materiálu, ktorý býva často najzdĺhavejší a najproblémovejší krok celej analýzy. Priemerne udávaný čas od žiadanky po dodanie výsledku je 14 – 28 dní. Preto je veľkou výzvou, ako skresat čas samotného vyšetrenia na minimum. Sľubnou eventualitou až revolúciou by mohol byť systém Ion Torrent™ Genexus™ Integrated Sequencer od spoločnosti Thermo Fisher Scientific. Ide o „End to End“ systém, ktorý zahŕňa plne automatizovaný pracovný postup od iniciálnej izolácie NK z FFPE, vrátane čistenia a kvantifikácie vzoriek, prípravy knižnice, sekvenovania, bioinformatických analýz až po finálny terapeuticko-klinický report. V našej prezentácii sa pozrieme na naše skúsenosti a pilotné výsledky 50 FFPE vzoriek analyzovaných pomocou Oncomine™ Precision Assay GX a Oncomine™ Comprehensive Assay GX a hodnotenie softvérom Oncomine™ Reporter. A takisto si zodpovieme otázku – dá sa to stihnúť do 24 hodín?

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

Nové biomarkery v genetickom vyšetrení pacientok s HGSO

Krascsenitsová E., Dolešová L., Valenčíková R., Lohajová Behulová R.
Oddelenie lekárskej genetiky,
Onkologický ústav sv. Alžbety,
Bratislava

Masívne paralelné sekvenovanie (MPS) sa v diagnostike využíva ako

hlavná molekulárna metóda na detekciu variantov na somatickej aj germinatívnej úrovni v liečbe onkologických pacientov. Na našom oddelení sa od roku 2018 MPS využíva aj u pacientov s High Grade seróznym karcinómom ovária (high-grade serous ovarian carcinoma „HGSOC“) za účelom detekcie patogénnych variantov/mutácií v génoch BRCA1 a BRCA2 (BRCA1/2) ako prediktívnych markerov pre liečbu PARP inhibítormi. BRCA1/2 predstavujú kľúčové gény vysoko presného opravného mechanizmu – homologickej rekombinácie (HR). Na základe štúdií sa zistilo, že až 50 % HGSC vykazuje deficienciu homologickej rekombinácie (homologous recombination deficiency „HRD“), pričom tzv. pozitivita BRCA1/2 pokrývala zhruba len 25 % prípadov. HRD predstavuje teda taký status tumoru, ktorý je definovaný neschopnosťou bunky opraviť dvojlákové zlomy (double strand breaks „DSB“) v DNA prostredníctvom HR. Dôsledkom je nastolenie opravy DNA pomocou nehomologických spojení koncov (Non-homologous End Joining „NHEJ“), ktorý sa vyznačuje vysokou chybovosťou, čo v konečnom dôsledku vedie k akumulácii mutácií a celkovej genómovej nestabilitate. Ukazovateľom HRD sa považuje prítomnosť genomických jaziev (GS – genomic scars), ktoré predstavujú súbor genomických zmien, ktoré sú dôsledkom genomickej instability. Tá je hodnotená pomocou špecifických biomarkerov, akými sú LOH (loss of heterozygosity), TAI (telomeric allelic imbalance) a LST (large-scale state transitions) využíva-

júca špecifický algoritmus na stanovenie tzv. GIS skóre (Genomic instability score), ktoré, ak je > 39, nádor sa považuje za HRD pozitívny. HRD status je teda novým kľúčovým markerom pre výber pacientov, ktorí môžu profitovať z liečby PARP inhibítormi aj bez prítomnosti mutácií v BRCA1/2 génoch.

Analýza genomu nemocných s akutní myeloidní leukémií (AML) metódou optického mapování (OGM)

Jarošová M.^{1,2}, Kotašková J.^{1,2,3},

Bezděková Fillerová R.⁴,

Ondroušková E.¹, Bohúnová M.¹,

Bryjová L.¹, Čábelová K.¹, Šmejkal J.¹,

Šmuhařová P.¹, Ježíšková I.¹,

Žanetová M.¹, Weinbergerová B.⁵,

Pospíšilová Š.^{1,2,3}, Mayer J.⁵

¹CMBG IHOK FN a LF MU Brno

²ÚLGG FN a LF MU Brno

³Ceitec, MU Brno

⁴IABio, a.s., Olomouc

⁵IHOK FN a LF MU Brno

Cytogenomická analýza genomu nemocných s akutní myeloidní leukémií (AML) se v současnosti opírá o kombinaci tradičních metod, které zahrnují karyotypizaci, fluorescenční *in situ* hybridizaci (FISH) a chromosomální mikročipy (arrayCGH/SNP array), přičemž každá technika má své specifické omezení. Nízké rozlišení chromosomů při karyotypizaci (~5-10 Mb/pruh), nutnost znalosti cíle pro metodu FISH a určení pouze nebalancovaných změn v genomu metódou mikročipů, je v současnosti stále nedostatečné pro přesnou genetickou analýzu nádorového genomu. Novou možností

je metoda optického mapování genomu (OGM), založená na analýze vysokomolekulární nádorové DNA. Princip OGM spočívá v analýze ultra dlouhých DNA molekul (>150 kbp), které jsou charakterizovány fluorescenčními značkami vyhledávacími specifický 6bp sekvenční motiv (CTTAAG), s průměrnou četností výskytu každých 5 kbp napříč celým genomem. OGM dovoluje určit jak počty kopií, tak strukturní aberace, včetně balancovaných translokací a ztráty heterozygotnosti (LOH). V současnosti si metoda OGM dělá ambice pro nahrazení konvenčních cytogenomických metod v rutinní praxi.

Cílem naší práce bylo ověřit potenciál OGM pro analýzu genomu pacientů s AML. Provedli jsme analýzu genomu 15 nemocných s AML a výsledky OGM jsme porovnali s výsledky klasické cytogenetiky, FISH, arrayCGH a doplnili výsledky cílené NGS. Analýza byla provedena z vysokomolekulární DNA izolované ze vzorků kostní dřene. Jednalo se o 3 ženy a 12 mužů, diagnostikovaných na Interní hematologické a onkologické klinice FN Brno v letech 2022-2024. Medián věku pacientů byl 69 let. Všichni nemocní měli vyšetřený karyotyp, AML FISH panel, AMLPlex panel a 13 nemocných cílené NGS (Archer panel). V souboru bylo 9 nemocných s normálním a 6 nemocných s abnormálním karyotypem. Dle očekávání OGM přineslo detailnější pohled na získané aberace. Normální nález jsme potvrdili pouze u 3 ze 9 pacientů s cytogeneticky normálním karyotypem. U 7 nemocných OGM odhalilo

další závažné změny, které konvenčními metodami nebyly pozorovány. Jednalo se o translokace, delece, zisky a LOH. U čtyř nemocných s komplexním karyotypem byly upřesněny typy translokací, zlomová místa včetně genů v nich lokalizovaných. Tři nemocní byli na základě výsledků OGM přeřazeni do nové, prognosticky nepříznivé, kategorie.

Ve svém sdělení se podělíme o první zkušenosti s analýzou OGM. Výsledky analýzy ukazují, že OGM zpřesňuje a rozšiřuje možnosti cytogenomické analýzy a přináší další zkvalitnění prognostické stratifikace pacientů s AML.

Práce je podporována grantem MZ-CR RVO 65269705.

Optické mapování genomu a jeho přínos v diagnostice mnohočetného myelomu

Kotašková J.^{1,2,3}, Marečková A.¹, Ondroušková E.¹, Bohúnová M.¹, Mayerová J.¹, Nižňanská D.¹, Porc J. P.², Navrkalová V.^{1,2,3}, Bravencová L.¹, Zádrapová M.¹, Sáblíková B.¹, Štork M.¹, Pour L.¹, Ševčíková S.⁴, Jarošová M.^{1,3}

¹Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno a Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, Česká republika

²Středoevropský technologický institut, Masarykova Univerzita, Brno, Česká republika

³Ústav lékařské genetiky a genomiky, Fakultní nemocnice Brno a Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, Česká republika

⁴Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, Česká republika

Úvod: Mnohočetný myelom (MM) patří mezi onemocnění s vysokou komplexitou genomických aberací. U téměř poloviny případů stojí za rozvojem onemocnění kauzální translokace. Stávající vyšetřovací algoritmus využívá metodu FISH k detekci aberací lokusu IGH. V případě potvrzení disrupce následuje určení fúzního partnera, které probíhá sekvenčně podle frekvence dané translokace. Zahrnuje určení nejčastějších translokací t(11;14)/IGH::CCND1, t(4;14)/IGH::FGFR3, t(14;16)/IGH::MAF, t(14;20)/IGH::MAFB, případně t(6;14)/IGH::CCND3. Nicméně pomocí FISH se nepodaří identifikovat partnera až v 15 % případů. Technik, jak identifikovat translokačního partnera, je více a výběr závisí na možnostech laboratoře. V naší práci jsme testovali potenciál metody optického mapování genomu (OGM).

Materiál a metody: Pomocí metody OGM jsme vyšetřili soubor 25 pacientů s MM. Pro analýzu jsme používali separované nádorové buňky kostní dřeně (CD138+). Do souboru byli zařazeni pacienti (i) bez disrupce IGH (n=7), (ii) s disrupcí a translokací potvrzenou pomocí FISH (n=10), a (iii) s disrupcí bez nalezeného partnera (n=8). Nález jsme korelovali s daty získanými pomocí panelového sekvenování (panel LYNX, PMID 34082072) a pomocí mFISH/FISH u vzorků, kde bylo možné tato vyšetření provést.

Výsledky: U všech deseti pacientů s translokací identifikovanou pomocí FISH jsme metodou OGM nálezy potvrdili. U pacientů s disrupcí IGH jsme našli translokační partnery u 5 pacientů z osmi. Pomocí OGM jsme téměř u všech pacientů určili další translokace mimo lokus IGH. Dále jsme identifikovali řadu strukturních variant, které považujeme za závažné. Jednalo se o rozsáhlé ztráty heterozygotnosti (LOH), bíalelické defekty nádorových supresorů (CDKN2A/CDKN2B/RB1/TP53) nebo amplifikace onkogenů (MYC). Tyto defekty se u myelomu zatím rutinně nevyšetřují.

Závěr: Optické mapování patří mezi pokročilé technologie analýzy strukturních variant, které si hledají cestu do diagnostiky. Na našem souboru jsme potvrdili potenciál této metody v diagnostickém použití u MM. OGM úspěšně identifikovalo neznámé translokační partnery u pacientů s disrupcí genu IGH, odhalilo řadu závažných aberací, které zůstávají při současném nastavení vyšetřovacího algoritmu skryty, a potvrdilo heterogenitu genetických změn u MM.

Podpořeno MZ-CR AZV NU21-03-00076, MZ-CR RVO 65269705, MUNI/A/1558/2023, a projektu National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5102) - Funded by the European Union - Next Generation EU.

Posterová sekcia

Funkčná analýza variantov v géne *PSMB5*: Rescue experiment

Andréssová A.¹, Kolníková M.²,
Gašperíková D.¹, Škopková M.¹

¹Ústav experimentálnej
endokrinológie, Biomedicínske
centrum SAV, Bratislava

²Klinika detskej neurológie, Lekárska
fakulta Univerzity Komenského
a Národný ústav detských chorôb,
Bratislava

Úvod: Na našom pracovisku bol u dieťaťa s neurovývinovým ochorením identifikovaný *de novo* heterozygotný missense variant *PSMB5*:c.274A>G, p.(Lys92Glu). Gén *PSMB5* kóduje $\beta 5$ podjednotku proteazómu a disponuje proteolytickou aktivitou podobnou chymotrypsínu. Tento gén zatiaľ nebol spojený so žiadnym ochorením, avšak pomocou GeneMatcher-a boli identifikovaní ďalší dvaja pacienti, ktorí nesú *de novo* heterozygotný missense variant *PSMB5*:c.565T>C, p.(Ser189Pro) a variant *PSMB5*:c.178A>G, p.(Thr60Ala).

Cieľom tejto práce je dokázať vplyv týchto variantov na aktivitu proteazómu, a to pomocou “rescue” experimentu.

Metódy: Počas rescue experimentu sme v HEK293T bunkách znížili expresiu endogénneho *PSMB5* pomocou siRNA silencingu. Následne sme bunky transfekovali plazmidmi exprimujúcimi wild-type *PSMB5* alebo mutované *PSMB5*. Aktivitu podobnú chymotrypsínu sme merali pomocou značeného

substrátu a fluorescenčnej spektrofotometrie.

Výsledky: 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* komplementoval túto aktivitu úplne, na úrovni nesilencovaných buniek (scrambled kontrola).

Záver: Tieto výsledky dokazujú, že nami skúmané varianty skutočne znižujú proteazomálnu aktivitu, čo je v súlade s hypotézou, že mutácie v géne *PSMB5* sú zodpovedné za neurovývinové ochorenie u testovaných pacientov.

Ďakovanie: Výskum bol podporený grantom APVV-22-0257.

Cesta z falošnej stopy k správnej diagnóze

Bolčeková A.¹, Tomášová R.¹,
Tomková E.², Tóthová K.²,
Paučinová I.¹

¹Oddelenie lekárskej genetiky,
FNsP Žilina

²Medirex Bratislava

Prezentujeme dva výrazne odlišné fenotypy syndrómu duplikácie 15q11q13. Pacientku sme vyšetrili pre epilepsiu a susp. autoimunitný polyglandulárny syndróm typ 2. Pacient bol vyšetrený pre kongenitálnu hypotyreózu a výrazný kvadruhypotonický sy. Napriek iným úvodným diagnózam sme u oboch potvrdili zriedkavý 15q11-q13 duplikačný syndróm (CHROMOSOME 15q11-q13 DUPLICATION SYNDROME; OMIM

608636; ORPHA:238446), ktorý zahŕňa kritický región Prader-Willi/Angelman (PWACR). Syndróm je charakteristický variabilným fenotypovým prejavom, ktorý zahŕňa najmä autizmus, mentálnu retardáciu, vývinové zaostávanie, záchvaty a poruchy správania a epilepsiu, ako aj zriedkavé prejavy ako poruchy príjmu potravy pri hypotónii, poruchy enamelu, opakované infekcie stredoušia a hypermobilitu – niektoré z týchto znakov sme pozorovali aj u pacientov. Predstavujeme diagnostický postup, prehľad súčasných poznatkov a manažment pacientov s 15q11-q13 duplikačným syndrómom.

Familiárny nádory GIT asociované s Lynchovým syndromem

Brisudová A.^{1,2}, Janíková M.^{1,2},
 Kořínková G.¹, Knillová J.¹,
 Kučerová L.¹, Kolaříková K.²,
 Kratochvílová R.², Šišperová R.²,
 Punová L.², Mracká E.², Slavkovský R.³,
 Lemstrová R.⁴, Vrtěl R.², Bouchal J.¹

¹Ústav klinické a molekulární patologie,

²Ústav lékařské genetiky

³Ústav molekulární a translační medicíny

⁴Onkologická klinika

FN Olomouc 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.

Kazuistika: Tato kazuistika se zabývá rodinou, u které se vyskytly karcinomy GIT v několika generacích. Pacient trpěl ca tlustého střeva (T3, N2, M0) ve věku 38 let a ca střeva s metastázami v játrech ve 43. Jeho sestra byla léčena pro karcinom GIT od 45 let. Maternální teta prodělala karcinom GIT ve 44 letech a sestřenice trpěla karcinomem ovaria od 44 let a od 50 let uroteliárním karcinomem.

Metody: Histologicky byl u pacienta/probanda diagnostikován metastazující adenokarcinom tlustého střeva s podezřením na Lynchův syndrom. Fragmentační analýzou byla následně vyšetřena MSI a na základě těchto výsledků bylo u probanda započato vyšetření hereditárních nádorových syndromů, se zaměřením na Lynchův syndrom. Mutační analýza panelu více než 200 genů (panel CZEKANCA, Roche) byla vykonána metodou sekvenování nové generace. Větší přestavby genů EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 byly analyzovány metodou MLPA.

Výsledky: U probanda byl diagnostikován adenokarcinom střeva s vysokou mikrosatelitní nestabilitou (MSIH). 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.

Tato práce byla podpořena grantem LF_2024_010.

Zriedkavé genetické choroby - register NCZI za roky 2019 - 2023, výsledky a návrhy zmien v registrácii

Cisárik F.

Oddelenie lekárskej genetiky, FNŠP Žilina

Národné centrum zdravotníckych informácií vedie databázu genetických chorôb ako podskupinu v Národnom registri vrodených chýb. Hlásenia poskytujú lekári-klinickí genetici od roku 2014. V publikácii "Zriedkavé, genetické a dedičné choroby v SR k 31. 12. 2018" sme analyzovali päťročný súbor za roky 2014 - 2018. Po dohode nám NCZI poskytlo na analýzu súbor za roky 2019 - 2023. Mali sme možnosť porovnať dva päťročné súbory. V prvom päťročnom období sme nahlásili 6 071 kazuistík, v nasledujúcom päťročnom období to bolo 8 223 kazuistík. V prvom období sme nahlásili podstatne viac chromozómových chýb (1 592) ako v druhom (1 182), podstatný rozdiel je však v počte hlásených monogénových chorôb, prvé

obdobie 4 353, druhé obdobie 6 954 kazuistík. V prezentácii opisujeme potrebné úpravy a opravy databázy pred spracovaním, ako: *presnosť zaradenia kazuistiky medzi chromozómové a monogénové choroby *správnosť názvu choroby *odstránenie duplicit *zosúladenie názvoslovia. Počas spracovania a analýzy sme zistili niektoré dôvody na potrebné úpravy formulára hlásenky, ktoré prispejú k ľahšiemu spracovaniu a interpretácii dát na úrovni NCZI a zainteresovaných odborníkov.

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. Department of Biology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice

Introduction: Conazoles are chemicals used as fungicides for plant protection in agriculture and as antifungal agents for the treatment of local and systemic fungal infections in humans and livestock. Their antifungal mechanism of action is based on inhibition of the enzyme 14 α -sterol demethylase, which belongs to the cytochrome P450 (CYP) group and is also known as CYP51. Inhibition of this enzyme leads to the depletion of ergosterol in fungi, thereby disrupting the integrity of the fungal cell membrane and preventing the spread of fungal infection on agricultural plants. In this study, the potential genotoxic effect of miconazole exposure in bovine lymphocytes *in vitro* was inves-

tigated. Bovine cultures were treated with fungicides at concentrations ranging from 2.5 to 25 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ during the last 48 hours of incubation.

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. The slides for CA assay were prepared by the standard cytogenetic method and stained with 2% Giemsa solution.

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 $p < 0.05$). We observed decrease of mitotic activity in dose dependent manner, with statistical significance at highest concentrations.

Conclusion: Further cytogenetic or molecular cytogenetic tests are needed to confirm the genotoxic or cytotoxic effect of miconazole.

Supported by the grants VEGA 1/0166/21 and KEGA 008UVLF-4/2023.

Ludský papilomavírus (HPV) – nádej ukrytá v pozitívite

Hojsíková I., Prokopcová L.
Cytopathos, s.r.o.

HPV asociovaný skvamocelulárny karcinóm (SCC) orofaryngu predstavuje nielen kvôli narastajúcej incidencii významnú kapitolu v oblasti nádorov krku a hlavy. Tieto nádory v porovnaní s HPV negatívnymi SCC disponujú odlišnými epidemiologickými, klinickými i molekula-

árnymi vlastnosťami, lepšou odpoveďou na liečbu a sú charakteristické signifikantne priaznivejšou prognózou, a to aj napriek častým metastázam v lymfatických uzlinách. Kombinácia detekcie HPV metódou PCR a imunohistochemická detekcia expresie proteínu p16 sú optimálnou voľbou poskytujúcou dôležitú prognostickú informáciu pre pacientov s karcinómom orofaryngu. HPV diagnostika môže hrať významnú úlohu aj pri dešifrovaní pôvodu metastáz. Dôkaz prítomnosti vysokorizikového typu (HR) HPV v p16 pozitívnej metastáze skvamocelulárneho karcinómu neznámeho pôvodu je kľúčovými kritériom pre diagnostiku a cieleňú liečbu.

Predkladáme súbor pacientov z nášho laboratória s pozitívnym výsledkom HPV analýzy v nádorovom tkanive. Súbor tvoria pacienti s primárnym nádorom v oblasti hlavy a krku a pacienti s metastázou neznámeho pôvodu. U všetkých bola vykonaná detekcia HPV metódou RealTime PCR s pozitívnym výsledkom na prítomnosť vírusu zo skupiny HR HPV, ktorý napomohol k spresneniu diagnózy v prospech lepších vyhládok na úspešnosť liečby.

Účinky chinazolinónového ligandu Q3 a jeho meďnatého komplexu Q3-Cu(II) na prsníkové nádorové MCF-7 a nenádorové bunky MCF-10a

Horváthová E.¹, Hergott P.², Hricovíniová Z.³

¹Slovenská akadémia vied, Biomedicínske centrum, v. v. i., Ústav experimentálnej onkológie, Bratislava

²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra genetiky, Bratislava

³Slovenská akadémia vied, Chemický ústav, v. v. i., Bratislava

Úvod: Jedným z prístupov terapie nádorových ochorení je aplikácia chemoterapeutickej liečby. Týmto spôsobom je pacientovi podávaná chemikália s cytostatickým účinkom s cieľom zastaviť delenie buniek. Avšak tento spôsob liečby je často sprevádzaný vedľajšími efektmi v podobe ťažkej toxicity a častým vznikom rezistencie, či sekundárnych malignít. Medzi najpoužívanejšie chemoterapeutiká súčasnosti patrí cisplatina. Napriek dlhému a intenzívnemu obdobiu jej 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. Chinazolíny sú heterocyklické zlúčeniny vznikajúce kondenzáciou benzénového a pyrimidínového kruhu. Existuje mnoho derivátov so širokým spektrom biologických aktivít, ako napríklad antimikrobiálne, antimalarické, antioxidantné, protizápalové, antikonvulzívne, antihypertenzné, antidiabetické účinky, dokonca aj s protinádorovým pôsobením.

Metódy: K často využívaným metódam pri testovaní novosyntetizovaných zlúčenín a detekcii ich biologickej aktivity sa zaraďujú MTT test či kométový test. 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 kométoým testom bolo detegované nimi spôsobené poškodenie DNA.

Výsledky: 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 pre Q3 a Q3-Cu(II) a ich kombinácií s 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cisplatinou. Hodnotenie pomocou kométového testu ukázalo, že chinazolinónový ligand Q3 pôsobil pri koncentrácii 0,5-1 μM protektívne voči indukcii poškodení DNA pred aplikáciou cisplatinu na bunky MCF-7, zatiaľčo meďnatý komplex Q3-Cu(II) stabilizoval poškodenie DNA indukované cisplatinou.

Podporené: VEGA 2/0071/22, 1/0460/21; *Operačný program Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Posilnenie výskumných, vývojových a inovačných kapacít translačného 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.

Molekulární genetická laboratoř,
GNTlabs by Gennet, Praha

Úvod: 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.

Metoda: Pro přípravu knihoven (192 vzorků) používáme WES panel od Twist Bioscience (Exome 2.0 VCGS). Knihovny sekvenujeme na sekvenátoru NovaSeq X Plus (Illumina). Primární výstupní data z NovaSeq X Plus analyzujeme softwarem DRAGEN (FPGatechnology). Pro sekundární a terciární analýzu používáme od roku 2024 aplikaci Franklin (Genoox). Hodnotíme 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 [1], varianty z panelu CzeCanca (CZECH CANcer paNel for Clinical Application) [2] a varianty genů dle ACMG doporučení pro sekundární nálezy. 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.

Výsledky: Celkový počet dosud zpracovaných vzorků byl 138 (85 pří-

padů). 18 případů z nich tvořilo prenatální klinický exom, kde jsme našli genetickou kauzalitu v 11%. 67 případů z nich tvořilo postnatální klinický exom, kde jsme našli genetickou kauzalitu v 13 %. V posteru budou uvedeny tři zajímavé případové studie z našeho pracoviště.

Závěr: Úspěšnost nalezení kauzální varianty závisí na přesné definici fenotypu zejména v prenatální analýze. Rádi bychom představili zajímavé kazuistiku našeho klinického exomu.

Vyhodnocení genomických TRIO dat u endemického parkinsonismu

Kolaříková K.¹, Vodička R.¹, Vrtěl R.¹, Menšíková K.², Procházka M.¹, Kaňovský P.¹

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).

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 sekvenovanie (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).

Výsledky: V rámci každého tria jsme našli kolem 7 milionů variant, z toho 300 z nich je v exonových a sestřihových oblastech. V této studii nebyla nalezena žádná kauzální varianta. Nicméně bylo nalezeno několik zajímavých (vzácných a souvisejících s fenotypem) variant.

Závěr: Výsledky studie genetického pozadí parkinsonismu u izolované populace naznačují, že rizikovým faktorem by mohla být kumulace více rizikových genetických faktorů. Pro ověření vlivu variant by bylo vhodné provést rozsáhlejší populační studii a funkční analýzu.

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

Genetická diagnostika porúch autistického spektra – záchyt kauzálných DNA variantov

Lakatošová S.¹, Repiská G.¹, Miklošovičová M.², Valachová A.³, Vogelová S.⁴, Kantarská D.⁵, Kopčíková M.¹, Wachsmannová L.⁶, Krasňanská G.^{6,7}, Ostatníková D.¹, Konečný M.^{6,7}

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Fyziologický ústav, Akademické centrum výskumu autizmu, Bratislava

²Oddelenie lekárskej genetiky, Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice Bratislava

³Oddelenie lekárskej genetiky, Fakultná nemocnica Trenčín

⁴Ambulancia lekárskej genetiky GHC GENETICS SK, Fakultná nemocnica Nitra

⁵Ambulancia lekárskej genetiky, Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

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

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

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 celoexómového sekvenovania genetické vyšetrenie na prítomnosť kauzálnych DNA variantov u 16 detí s autizmom (4 dievčat a 12 chlapcov). Súčasťou súboru boli tri páry dvojvaječných 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 6 % zaznamenali kauzálny nález vysvetľujúci fenotyp autizmu, bol to homozygotný variant c.694T>G/ p.(-Phe232Val) v géne EIF3F spôsobujúci autozómovo recesívne neurovývinové ochorenie 67 v prípade jednej pacientky. 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), avšak nešlo o varianty kauzálne. Záverom možno povedať, že kombinácia mikročipovej analýzy s metódou celoexómového sekvenovania s optimalizáciou protokolu vyhodnotenia získaných dát, vzhľadom na najnovšie poznatky z databáz a literatúry, môže prispieť k zvýšeniu zachytu kauzálnych variantov v prípade pacientov s autizmom. U veľkého percenta pacientov však jeden kauzálny variant neexistuje, cestou je preto snaha o čo najpresnejšie zhodnotenie polygénneho rizika spôsobeného zriedkavými variantmi, ako aj kumulatívnym efektom mnohopočetných bežných variantov, u ktorých bola asociácia s autizmom opísaná. Interpretácia týchto výsledkov bude predmetom hlbšieho zamyslenia, aby boli získané údaje pre lekárskeho genetika z hľadiska diagnostiky prínosné pre ďalší manažment pacienta a jeho rodiny.

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

6p25 mikrolečňní syndrom jako příčina kongenitálního glaukomu

Laštůvková J., Pecková A, Lišková L., Čejnová V.

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

Úvod: Kongenitální glaukom se ve většině případů vyskytuje sporadicky s multifaktoriálním typem dědičnosti, v 10 až 15 % případů je výskyt familiární s autosomálně recesivní dědičností s variabilní expresivitou, autosomálně dominantní přenos je poměrně vzácný. Prezентujeme případ rodiny, ve které byla jako příčina kongenitálního glaukomu odhalena delece genu FOXC1 jako součást 6p25 mikrolečňního syndromu.

Metody: MICROARRAY, FISH

Výsledky: 36letý proband byl geneticky vyšetřen v souvislosti s těhotenstvím partnerky. U probanda byl po narození zjištěn kongenitální glaukom, absolvoval 6 očních operací, dále operaci VCC – ASD, má závažné postižení zraku. Rodiče probanda byli při genetické konzultaci v r. 1988 seznámeni s možným 25% rizikem opakování glaukomu pro další děti, tehdy bez možnosti prenatalního vyšetření. Proband má 2 zdravé sestry. K další konzultaci se proband dostavil až v r. 2023. U probanda byla přítomna faciální dysmorfie, hypertelorismus, horizontální nystagmus, korektomie, strabismus. Metodou MICROARRAY byl u probanda stanoven profil arr[-GRCh37] 6p25.3p25.2(1529484_2613944) x1 – byla u něj zjištěna 1,1 Mb heterozygotní intersticiální mikrolece na krátkém raménku chromozomu 6, zasahující 3 OMIM

geny (FOXC1, FOXCUT, GMDS) v oblasti 6p25 delečního syndromu. Mikrodelece 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.

Závěr: 6p25 deleční syndrom je vzácné genetické onemocnění charakterizované širokým spektrem kongenitálních anomálií. Častou součástí tohoto syndromu jsou oční abnormality zahrnující embryotoxon posterior, hypoplasii iris, korektopii, opacity rohovky a glaukom. 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.

Analýza patogenity vybraných vzácných variant v mitochondriální DNA

Lokvencová K., Štufková H.,
Zajícová Dočekalová D., Trefilová E.,
Česneková E., Hansíková H.,
Tesařová M.

Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze

Úvod: Mitochondriální onemocnění (MO) tvoří klinicky a geneticky heterogenní skupinu chorob, manifestující se v jakémkoliv věku, jež může postihovat jakýkoliv orgán nebo tkáň. Tato onemocnění představují největší skupinu vrozených poruch metabolismu s odhadovanou incidencí minimálně 1:5000. Doposud bylo u pacientů s MO popsáno více jak 550 va-

riant v mtDNA (www.mitomap.org), ale pouze u 119 variant byl charakterizován jejich funkční význam. Chybí tak informace o dopadu varianty na systém oxidativní fosforylace (OXPHOS), které by dále prokázaly souvislost varianty s daným fenotypem, což je vzhledem k široké fenotypové variabilitě MO zásadní. Analýza mtDNA na našem pracovišti probíhá od roku 2018 metodou masivního paralelního sekvenování a dosud jsme patogenní nebo unikátní varianty v mtDNA identifikovali u 85 pacientů. Další analýzy včetně funkčního vyšetření ve svalové biopsii byly nezbytné asi v polovině případů. Cílem studie je na souboru 6 vybraných pacientů shrnout výsledky analýz, které vedly k potvrzení patogenity nalezených variant v mtDNA.

Metody: U pacientů bylo provedeno stanovení hladiny heteroplazmie dané varianty ve všech dostupných tkáních, byly stanoveny aktivity a rovnovážné množství komplexů OXPHOS.

Výsledky: U všech 6 pacientů se vzácnými variantami v mtDNA (4x v genech pro mitochondriální tRNA: MT-TN(NC_12920.1):m.5669G>A; MT-TK(NC_12920.1):m.8342G>A; MT-TI(NC_12920.1):m.4278A>G; MT-TS2(NC_12920.1): m.12261T>C, 2x v genech pro strukturní podjednotky komplexů OXPHOS: MT-ND1(NC_12920.1):m.4135T>C (p.Tyr277His), MT-CO2(NC_12920.1):m.7809T>C, (p.Leu75Pro)) byl potvrzen různě závažný deficit jednoho nebo více komplexů OXPHOS ve svalových mitochondriích. U dvou pacientů ale byla zjištěna pouze velmi nízká hladina heteroplazmie (<10%) dané va-

rianty (MT-TI(NC_12920.1):m.4278A>G; MT-CO2(NC_12920.1):m.7809T>C, (p.Leu75Pro)), a zatiaľ se tak nepodařilo jednoznačne určiť význam variant v rozvoji ochorenia.

Záver: V prípade vzácných variant nejasného významu v mtDNA je svalová biopsie stále nezastupiteľná pre provedenie funkčných analýz, zistenie dopadu náleznych variant na systém OXPHOS a určenie jejich možnej role v rozvoji ochorenia.

Podpořeno AZV NU22-07-00614.

Schaaf-Yangov syndróm (kazuistika)

Lukáčová I.¹, Magyarová G.^{1,2}, Tomková E.³, Majerová Ľ.³, Lukačková, R.³

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

²OLM – ambulancia lekárskej genetiky, UNLP Košice

³Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex, a.s., Bratislava

Schaaf-Yangov syndróm je zriedkavé neurovývojové ochorenie s autozómovo dominantnou dedičnosťou opísané prvýkrát v roku 2013. Tento syndróm je spôsobený mutáciami v géne *MAGEL2* zdedenej výhradne od otca, maternálna alela je imprintovaná. Vo väčšine prípadov sa 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.

Prezentujeme prípad t. č. 1-ročného dieťaťa, ktorého genetické vyšetrenia začali už prenatálne. Na ultrazvukovom vyšetrení v 22. týždni gravidity bol zachytený

atypický tvar lebky s plochším záhlavím, makroglosia, hyperechogénny kardiálny fokus v oboch komorách, minimálna náplň žalúdka a fixné kontraktúry prstov na rukách. Matka následne absolvovala prenatálne genetické vyšetrenie z plodovej vody s negatívnym výsledkom. V ďalších vyšetreniach sa pokračovalo po narodení dieťaťa. Celoxomovým vyšetrením (WES) bol zistený patogénny variant c.1923dupC, p.V643fs*70 v géne *MAGEL2* v heterozygotnom stave. V klinickom obraze po narodení dominovali známky stigmatizácie s mikromandibulou a kontraktúry na horných a dolných končatinách, s fyziologickým ultrazvukovým obrazom mozgu, bez vývojovej chyby srdca.

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. Schaaf-Yangov syndróm sa však odlišuje prítomnosťou kontraktúr pri narodení, hyperfágia a obezita sa zvyčajne vyskytuje až v dospelosti.

Potenciál vyšetření cfDNA při detekci chromozomálních aneuploidí u spontánních abortů

Nguyen Thi Ngoc B. L., Sheardová J., Hrabíková M., Čadová P., Stejskal D., Zembol F., Dvořáčková H., Vávrová J., Bittová M., Koudová M. Molekulárně genetická laboratoř, GNTlabs by GENNET, s.r.o., Praha

Úvod: Neinvazivní prenatální testování (NIPT) umožňuje vysoce přesný screening aneuploidí a dnes je již

standardní praxí v oblasti prenatalní diagnostiky. Jednou z dalších možností aplikace NIPT je i oblast výzkumu neprosperujících těhotenství. Přibližně třetinu vyšetření tkáně spontánních abortů metodou QF-PCR nelze vyhodnotit z důvodu maternální kontaminace materiálu nebo pro dodání čistě tkáně matky. V těchto případech lze dosáhnout validního výsledku analýzou volné fetální DNA (cfDNA) z krve matky. Prezentujeme zde výsledky naší dvouleté studie.

Metoda: S využitím celogenomového sekvenování (low-pass WGS) cfDNA z krevní plazmy byla provedena prospektivní studie časných spontánních abortů při diagnóze missed abort nebo při RCUI mezi 5. až 12. týdnem gravidity. Pomocí softwarů Wisecondor X (Gentská univerzita) a Nexus Copy Number 10 byly analyzovány varianty v počtu kopií (CNVs) v rámci celého genomu a kombinací tří metod – DEFRAG, SeqFF a ComboFF – byla odhadována fetální frakce. Za účelem verifikace výsledků testování cfDNA byla u všech vzorků tkáně abortu provedena i QF-PCR.

Výsledky: Do studie byly zahrnuty vzorky maternální plazmy a tkáně abortu z celkem 86 neúspěšných těhotenství, z nichž 81 mělo dostatečně vysokou fetální frakci (>4 %) pro získání výsledku cfDNA testu. Z těchto vzorků byl oběma využitými metodami detekován ve 54 % případů euploidní genom, v 19 % případů byly detekovány aneuploidie a ve 27 % případů nebylo možné získat výsledek QF-PCR z důvodu maternální kontaminace, zatímco analýza cfDNA výsledek poskytla.

Závěr: NIPT lze efektivně využít při detekci aneuploidií u spontánních abortů, především v případech, kdy není možné získat výsledek konvenčními metodami.

Keď sa s nami chromozómy zahrajú na schovávačku (kazuistika)

Očenášová Z.¹, Martinekova S.¹, Kantarská D.¹, Petrovič R.²

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

²Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky, UNB, Bratislava

Prezentujeme kazuistiku v poradí druhého dieťaťa mladých zdravých rodičov bez pokrvnej príbuznosti, ktoré sa narodilo v 37. týždni gravidity urgentnou sekciou, ľahko prematúrne s pôrodnými mierami primeranými k jeho gestačnému veku. Chlapček bol hospitalizovaný na JIS, po vybavení pokrytý hematómami na celom tele, kriesený a vo veľmi krátkom čase sa uňho rozbehlo hepatálne zlyhávanie s diseminovanou intravaskulárnou koagulopatiou a sepsou. Náš pacient nemal dostupnými zobrazovacími metódami zachytenú žiadnu vrodenú vývojovú chybu vnútorných orgánov, ani skeletálnu anomáliu, či nápadnejšiu dysmorfriu, príp. charakteristickú syndrómovú stigmatizáciu. Po sérii vyšetrení sme v spolupráci s UNB – Oddelením molekulovej a biochemickej genetiky dospeli vzhľadom na nezvyčajne netypický klinický nález k pomerne raritnej diagnóze probanda. Chceme poukázať na nevyhnutnosť využi-

tia a správneho indikovania molekulových metód aj v prípadoch neúspešnej kultivácie pri cytogenetických vyšetreniach.

Jedna z milióna – kazuistika

Paučinová I.¹, Wachsmannová L.², Konečný M.²

¹Oddelenie lekárskej genetiky FNsP Žilina

²Laboratórium GHC GENETICS SK, Bratislava

Autori prezentujú kazuistiku pacientky, ktorá bola prvýkrát odoslaná na genetické vyšetrenie vo veku 35 rokov kardiológom pre suspektnú arytmogénnu kardiomyopatiu. Pri genetickom vyšetrení bola komplexne zhodnotená anamnéza a fenotyp pacientky, na základe nálezov bola vyjadrená suspekcia zo syndrómového ochorenia. Po pár mesiacoch sa pacientka dozvedela zriedkavú diagnózu.

Diagnóza Schaaf-Yangova syndromu u dieťaťa s podezrením na kraniosynostózu

Pecková A.¹, Laštůvková J.¹, Čejnová V.¹, Uhrová Meszarosová A.²

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

²Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: Schaaf-Yangův 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, potížemi s krmením, respirační potíže, kloubní kontraktury, autismus a opožděný vývoj. Diagnostika je komplikovaná, protože se jedná o velmi vzácné onemocnění a fenotyp je velmi variabilní.

Vyšetření: Vyšetření klinického exomu metodou NGS, Sangerovo sekvenování

Výsledky: 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 pánevičky. Gravidita skončila akutní sekcí pro předčasný odtok plodové vody a polohu plodu koncem pánevním ve 38. g. t.

Po narození byly u dítěte zjištěny dysmorfické rysy – velmi nápadný byl atypický tvar hlavičky s obrazem až kraniosynostózy, dominující výrazně klenuté čelo, turicefalie, makrocefalie, hluboko posazené oči, nízko posazené uši, vrozené kloubní kontraktury. Dívka měla novorozeneckou hypotonii, potíže s krmením a významné dechové problémy. Kvůli dechové tísní a spánkové apnoei byla doporučena tracheostomie. Diabetes insipidus komplikuje celkový stav probandky. Exomové sekvenování odhalilo *de novo* heterozygotní patogenní variantu NM_019066.4

(MAGEL2):c.1912C>T (p.Gln638*), tímto byl u probandky prokázán Schaaf-Yangův syndrom. Prognóza je závažná.

Závěr: U probandky byla původně genetická konzultace doporučená pro podezření na kraniosynostózu, ale zjistilo se, že dívka má vzácnou neurovývojovou poruchu: Schaaf-Yangův syndrom. Konzultace s rodinami může být v případě vzácných poruch, jako je Schaaf-Yangův syndrom, velmi obtížná.

Neinvasivný test pre skrining rakoviny prostaty: Zapojenie modelu strojového učenia do analýzy extracelulárnej DNA

Pös O.^{1,2}, Hanzlíková Z.^{2,3}, Budiš J.^{1,2,4}, Bokorová S.^{1,2}, Krampfl W.^{1,2,5}, Styk J.^{1,2}, Lukyová L.^{1,5}, Kubáňová M.¹, Ďuranová T.¹, Sedláčková T.^{1,2}, Janega P.⁶, Szemes T.^{1,2,5}

¹Vedecký park Univerzity Komenského, Bratislava

²Geneton, s.r.o., Bratislava

³Fakulta informatiky a informačných technológií Slovenskej technickej univerzity, Bratislava

⁴Centrum vedecko-technických informácií Slovenskej republiky, Bratislava

⁵Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

⁶Ústav patologickej anatómie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Univerzitnej nemocnice Bratislava

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 počiatocnom štádiu ochorenia zväčša vyžadujú menej invazívnu liečbu, ktorá vedie k lepším výsledkom a kvalite života pacienta. Zavedenie efektívneho skriningového testu na identifikáciu skorých neoplastických zmien by teda bolo veľkým prínosom pre pacientov s rakovinou prostaty a veľký prísľub má práve analýza extracelulárnej DNA (cfDNA).

Metódy: Od 60 pacientov s rakovinou prostaty a 369 kontrolných jedincov bola odobratá krvná plazma na analýzu cfDNA pomocou celogenómového sekvenovania novej generácie (WGS). Sekvenačné dáta boli použité na detekciu genetických variantov (napr. varianty počtu kópií), charakterizáciu vlastností cfDNA (napr. dĺžkový profil) ako aj ďalších sekvenačných metrík. Celkovo bolo 376 vzoriek (56 pacientov, 320 kontrol) použitých na tréning modelu rozhodovacích stromov využívajúci algoritmus zosilnenia gradientu na predikciu rakoviny prostaty. Následne bola na posúdenie presnosti modelu použitá testovacia sada 12 pacientov (9 x T1; 1 x T2; 3 x NA) a 38 kontrolných jedincov.

Výsledky: Kombinované hodnotenie genomickej variability, charakteristik cfDNA a sekvenčných metrík (dohromady 671 atribútov) pomocou modelu strojového učenia, preukázalo senzitivitu 91,7 % a špecificitu 100,0 %

pri klasifikácii pacientov a kontrolných jedincov v testovacom súbore. ROC AUC 98,0 % naznačuje vysokú predikčnú schopnosť testu.

Záver: V tejto práci sme opísali neinvazívnu metódu na báze tekutej biopsie na analýzu cfDNA pomocou WGS. Keďže 75 % pacientov v testovacom súbore bolo v T1 štádiu ochorenia, táto metóda preukázala veľký potenciál práve pre záchyt včasných štádií rakoviny prostaty.

Kľúčové slová: rakovina prostaty, tekutá biopsia, extracelulárna DNA, sekvenovanie novej generácie

Podakovanie: Táto práca vznikla vďaka podpore v rámci OPII pre projekt ITMS: 313010Q927 (GenoScan LBquant) spolufinancovaný zo zdrojov ERDF. Podpora bola tiež poskytnutá z grantov APVV-21-0296 (INCAM) a APVV-23-0520 (INHALE) ako aj z grantu 101160008 (FORGENOM II) financovaného v rámci programu Horizont Európa.

Prenatálna diagnostika mikrodélií a mikroduplicácií 15q11.2 – súbor 10 prípadov

Rožová I., Landlová D., Lukačková R., Eckertová M., Tóthová K., Tomková E., Križan P.

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

Mikrodéliacie a mikroduplicácie chromozómovej oblasti 15q11.2 patria medzi pomerne časté nálezy a stretávame sa s nimi aj v prenatálnej genetickej diagnostike. V proximálnej časti 15q sú nahromadené repetitívne

sekvencie, na ktoré sú mapované zlo-mové miesta (Break-Points BP1-BP6) a ich instabilita zvyšuje vznik štruktúrových chromozómových aberácií. Región 15q11.2 sa mapuje medzi BP1-BP2 a nachádza sa v tesnej blízkosti kritickej oblasti pre Praderov-Williho/Angelmanov syndróm. Má približne 500 kb a obsahuje gény TUBGCP5, CYFIP1, NIPA1 a NIPA2, ktoré nepodliehajú imprintingu. Mikrodéliacie a mikroduplicácie 15q11.2 sú asociované s neurologickými a psychiatrickými ťažkosťami, predovšetkým s oneskoreným psychomotorickým vývojom a autizmom. Vzhľadom na širšie spektrum fenotypových prejavov, neúplnú penetranciu a variabilnú expresivitu, je genetická konzultácia, zvlášť v prenatálnom období, náročná. Zároveň sa tieto nálezy vyskytujú v populácii s vysokou frekvenciou, čo je potrebné zohľadniť pri overení familiarity nálezu.

Prenatálnym genetickým laboratórnym vyšetrením tehotných genetickej ambulancie MedirexGroup sme v rokoch 2010 – 2023 potvrdili mikrodéliciu 15q11.2 u siedmich plodov (z toho v jednom prípade išlo o spôsob vzniku *de novo*) a mikroduplicáciu 15q11.2 u troch (z toho jeden *de novo*). V práci ponúkame bližší pohľad na mikrodéliacie a mikroduplicácie 15q11.2 v prenatálnom období. Analyzujeme dôvod genetickej konzultácie, indikáciu genetickeho testovania, výsledky prenatálnych vyšetrení, segregáčné pomery v nukleárnej rodine a odporúčanie ďalšieho postupu.

Aminoacylase 1 deficiency: case report on three affected siblings

Srovnal J.^{1,2,3}, Smolka V.⁴, Friedecky D.⁵, Kolarova J.⁶, Tkacik O.⁴, Foltanova H.⁴, Bekarek V.⁵, Vrtel P.¹, Prochazka M.¹

¹Institute of Medical Genetics, University Hospital in Olomouc, Czech Republic

²Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University in Olomouc, Czech Republic

³Cancer Research Czech Republic, Olomouc, Czech Republic

⁴Department of Paediatrics, University Hospital in Olomouc, Czech Republic

⁵Laboratory for Inherited Metabolic Disorders, Department of Clinical Biochemistry, University Hospital Olomouc, Czech Republic

⁶Department of Clinical Psychology, University Hospital in Olomouc, Czech Republic

Background: Aminoacylase 1 (ACY1, EC 3.5.1.14) deficiency is an extremely rare inherited metabolic disorder (IMD) with an autosomal recessive inheritance pattern (OMIM #609924). Diagnosis is made by detecting acetylated amino acids in the patient's urine using gas chromatography-mass spectrometry. Clinical presentations of ACY1 deficiency vary widely, ranging from severe neurological symptoms to being asymptomatic.

Case Description: We present a case of a 14-year-old boy with mild

intellectual disability who showed increased urinary excretion of acetylated amino acids during testing for inherited metabolic disorders. Molecular genetic analysis confirmed suspected ACY1 deficiency, identifying a homozygous pathogenic missense mutation in the ACY1 gene, c.1057C>T (p.Arg353Cys). The patient responded well to speech therapy. The same mutation was found in his two brothers, who displayed slightly uneven intellectual ability profiles. Follow-up examinations revealed no decline in their mental abilities.

Conclusion: These findings suggest that uneven intellectual abilities in pediatric patients may warrant metabolic testing for ACY1 deficiency.

Funding: The study was supported by the Ministry of Education, Youth, and Sport of the Czech Republic (NCMG - LM2023067, EATRIS-CZ - LM2018133), Palacky University Olomouc (LF 2024_007), OP JAK SALVAGE (CZ.02.01.01/00/22_008/0004644) and the National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5102) - Funded by the European Union - Next Generation EU.

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

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

¹Oddelenie lekárskej genetiky,
Medirex, a. s.

²Hematologická a transfuziologická
ambulancia, Univerzitná nemocnica
Martin

³Hematologická ambulancia,
Fakultná nemocnica s poliklinikou
Nové Zámky

Úvod: Malígne lymfómy predstavujú 5 % všetkých nádorov vôbec. Ide o nádorové ochorenie systému lymfocytov a ich prekursorov. Medzi príčiny vzniku ochorenia patria poruchy imunity, autoimunitné ochorenia ako aj genetické faktory. V súčasnosti je známych mnoho génov a ich mutácií, čím sú vhodné na diagnostiku lymfómov. Vďaka nim je súčasne možné určiť progresiu na iný typ lymfómu, ako aj predpovedať odpoveď ochorenia na dostupnú liečbu.

Ciele: Okrem často opísaných génových mutácií chceme predstaviť a poukázať na menej opísané nálezy. Kazuistika zahŕňa prípady troch pacientov s takýmito chromozómovými aberáciami.

Metódy: Nálezy boli detegované cytogenetickou analýzou doplnenou FISH vyšetrením, ktoré bolo realizované na našom pracovisku v období od júla 2023 do februára 2024. Na cytogenetickú analýzu boli použité kultivované vzorky kostnej drene a periférnej krvi spracované podľa štandardných postupov.

Výsledky: U 69-ročného pacienta sme identifikovali translokáciu t(2;18)(p11;q21). Ide o zriedkavú recipročnú translokáciu vyskytujúcu sa hlavne pri

folikulových lymfómoch. Predstavuje minoritný variant klasickej translokácie t(14;18)(q32;q21). V oboch prípadoch ide o rovnaký dôsledok – deregulácia BCL2 vedúca k inhibícii apoptózy a následnej akumulácii dlhožijúcich B-buniek. Výskyt tejto aberácie je pri lymfómoch 0,5 % prípadov s abnormálnym karyotypom s viacerými zmenami, pričom ako samostatne sa vyskytujúca aberácia bola opísaná jedinýkrát.

Izochromozóm i(6)(p10) je zriedkavá chromozómová aberácia typická pre akútnu lymfoblastovú leukémiu (ALL). U nášho pacienta išlo o diagnózu CLL. Tvorba izochromozómu vedie k strate potenciálnych tumor supresorových génov lokalizovaných na dlhom ramene chromozómu 6. Navyše, trizómia krátkeho ramena chromozómu 6 naznačuje možnú úlohu amplifikovaných génov v progresii tumoru.

Posledná aberácia, ktorú v práci spomenieme je der(6)t(6;13)(q16;q22), ktorá dosiaľ nebola podľa dostupnej literatúry opísaná, pričom ide o netypickú aberáciu u pacienta s CLL.

Záver: Genetická analýza nielen bežných, ale aj zriedkavých aberácií v nádorových bunkách, poskytuje účinný nástroj na prognostickú stratifikáciu pacientov. 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 súčasnosti nevyhnutné pri genetickej diagnostike pacientov s lymfómom.

Profilovanie krvnej plazmy u pacientov s pľúcnym nádorom pomocou metabolomickej analýzy

Šarlinová M.¹, Baranovičová E.¹, Dzian A.², Kalenská D.³, Račay P.⁴, Matáková T.⁴, Škovierová H.¹, Halašová E.^{1,5}

¹Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Martinské centrum pre biomedicínu, Martin

²Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Klinika hrudníkovej chirurgie, Martin

³Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Ústav anatómie, Martin

⁴Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Ústav lekárskej biochémie, Martin

⁵Univerzita Komenského v Bratislave, Jesseniova lekárska fakulta UK, Ústav lekárskej biológie, Martin

Úvod: Pľúcne zhubné nádory majú najvyššiu morbiditu a úmrtnosť zo všetkých druhov nádorov na celom svete. Štúdie využívajúce metabolický prístup ukázali, že existujú zmeny vo všeobecnom metabolizme u pacientov s nádorovým ochorením. Nádorová entita a sekundárne malígne tkanivo komunikujú s krvou, čo napokon ovplyvňuje jej zloženie aj na metabolomickej úrovni. Okrem toho sú všetky orgány vystavené zmeneným hladinám bazálnych metabolitov, čo môže viesť k sekundárnej reakcii. Krv je dôležitým nosičom metabolických informácií a pre svoju ľahkú dostupnosť je veľmi vhodná na klinické použitie.

Metódy: V našej štúdii sme skúmali metabolické zmeny v krvnej plazme pacientov s primárnym a sekundárnym karcinómom pľúc a pokúsili sa preskúmať ich pôvod. Na získané dáta sme tiež aplikovali diskriminačný algoritmus. V štúdii boli použité vzorky krvi od 132 pacientov s primárnym nádorom pľúc, pričom bolo 47 vzoriek so sekundárnym nádorom pľúc a 77 subjektívne zdravých jedincov bez akejkoľvek anamnézy rakoviny. Vzorky boli merané NMR spektroskopiou.

Výsledky: Analýzy PCA a PLS-DA nerozlišovali medzi pacientmi s primárnym a sekundárnym nádorom pľúc. Nezistili sme medzi nimi ani žiadne významne zmenené hladiny plazmatických metabolitov skupiny. Pri porovnaní so zdravými kontrolami sa výrazne zvýšila glukóza, citrát, acetát, 3-hydroxybutyrát a kreatinín vyvážený zníženým obsahom pyruvátu, laktátu, alanínu, tyrozínu a tryptofánu sa zistil ako spoločný znak pre obe skupiny. Metabolická analýza krvnej plazmy ukázala značnú blízkosť pacientov s primárnym a sekundárnym nádorom pľúc. Pozorované zmeny možno čiastočne vysvetliť ako zmeny spôsobené nádorom a tiež ako zmeny vykazujúce ischemickú povahu. Náhodná Forrestova diskriminácia založená na relatívnej koncentrácii metabolitov v krvnej plazme bola veľmi sľubná s AUC 0,95 oproti kontrolám, avšak viditeľné časti odlišných metabolitov sa prekrývajú s tými, ktoré boli pozorované po ischemickom poškodení v iných štúdiách.

Záver: Zacielenie na metabolické dráhy je sľubnou stratégiou lieč-

by rakoviny. Zmeny v metabolickom stave majú tiež epigenetický vplyv, vďaka čomu sú metabolické štúdie ešte zaujímavejšie.

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: Integratívna stratégia vo vývoji personalizovanej medicíny vybraných zhubných nádorov a ich vplyv na kvalitu života, IMTS:313011V446 (LISPER), spolufinancovaný Európskym fondom regionálneho rozvoja.

Možnosti analýzy molekulárnych biomarkerov v diagnostike a liečbe onkologických pacientov

Šebest L., Slamka T., Kostrábová A., Krascsenitsová E., Dolešová L., Lohajová Behulová R.

Oddelenie lekárskej genetiky,
Onkologický ústav sv. Alžbety,
Bratislava

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, qPCR, IHC alebo FISH analýza). Hlavnou nevýhodou týchto prístupov je ich obmedzený rozsah a limitácie v multiplexovaní vzoriek. Pokrok v sekvenáčnych

a bioinformatických technológiách umožnil na platforme masívneho paralelného sekvenovania (MPS) simultánne vyšetrit v rôznych typoch solídnych nádorov molekulárne biomarkery v paneloch desiatok až tisícok génov a nastaviť tak pacientovi personalizovanú inovatívnu liečbu v závislosti od jeho komplexného genomického profilu (CGP). V súčasnej praxi sa malé panely génov zahŕňajúce iba niekoľko desiatok génov svojou klinickou detekciou vyrovnávajú oveľa väčším panelom (obsahujúcich stovky génov), ktorých hlavnou pridanou hodnotou je výpočet rozsiahlejších genomických biomarkerov, akými sú napr. mutačná nálož nádoru (TMB) alebo deficiencia homologickej rekombinácie (HRD) (vyžadujúce analýzu veľkého množstva megabáz DNA).

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, CNV, génové prestavby alebo fúzie génov a doposiaľ nimi bolo analyzovaných viac ako 700 pacientov so širokým spektrom onkologických ochorení (napr. karcinóm kolorekta, pľúc, štítnej žľazy, pankreasu, kože a i.). V prípade potreby analýzy zložitejších biomarkerov ako TMB alebo HRD sa pristupuje k analýze veľkého panelu génov (viac ako 600 génov).

Vďaka komplexnejšiemu prístupu k analýze molekulárnych biomarkerov z nádorových tkanív je možné spoľah-

livejší stanovit správnou diagnózu, odhadnout prognózu ochorenia, nastavit čo najúčinnější liečebnú stratégiu, čím sa redukuje miera vedľajších účinkov a zvyšuje ochota pacientov dodržiavať nastavenú liečbu.

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

Škopová V.¹, Součková O.^{1,2}, Barešová V.¹, Stuurman K.³, Hnízda A.¹, Kmoch S.¹, Zeman J.¹, Zikánová M.¹

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

²Laboratoř hmotnostní spektrometrie, Přírodovědecká fakulta UK, BIOCEV, Vestec

³Department 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 popsányi 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: První pacient je složeným heterozygotem pro varianty PFAS(NM_012393.3): c.681_689delCGAG-CACAG, 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 plasmě se hromadil FGAr, substrát pro PFAS enzym. Druhý pacient 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.

Závěr: Popisujeme nové genetiky podmíněné onemocnění, deficit PFAS. Přestože funkční studie potvrdily patogenitu identifikovaných variant v genu PFAS, pacienti oproti očekávání založeném na dosud popsáných poruchách DNPS, nevykazovali vážné neurologické problémy. Tato situace je unikátní a vyvolává otázky, jaké mechanismy je mohou ochránit před neurolo-

gickým postihnutím. Dlhodobé sledování těchto pacientů a další studium enzymu PFAS, jeho regulace a osudu FGAR/r v buňce i organismu, by mohlo prispieť k lepšiemu pochopení tohoto fenoménu.

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

Silná genetická káva

Tomášová R.¹, Paučinová I.¹,
Kováčová E.¹, Dolešová L.²

¹Oddelenie lekárskej genetiky, FNŠP Žilina

²Oddelenie lekárskej genetiky, OÚSA Bratislava

Prezentujeme pacientku, ktorá bola odoslaná na genetickú konzultáciu pre recidivujúci karcinóm obličky a pozitívnu rodinnú anamnézu nádorových ochorení. Po rozbere genealógie a zistených skutočnostiach sme indikovali cytogenetické vyšetrenie metódou G-band analýzy chromozómov a molekulové vyšetrenie virtuálneho panelu pre hereditárne onkologické ochorenia a virtuálneho panelu retinitis pigmentosa metódou CES.

Genetické analýzy odhalili zaujímavé nálezy a výsledky, ktoré budú opísané v kazuistike.

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

Vasil M.¹, Latka S.², Slíž I.²,
Tomášiková L.², Škovránek M.³,
Chamilová J.⁴

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

²Genetické laboratórium Banská Bystrica, Unilabs Slovensko, s.r.o.

³Univerzitná nemocnica L. Pasteura, Košice³

⁴IN MEDIC, s.r.o., Bardejov

Autori opisujú nález esenciálneho tremoru u pacientky s autozomálne dominantným charakterom ťažkosti (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.

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

Vogelová S.², Konečný M.^{2,3},
Wachsmannová L.², Krasňanská G.^{2,3}

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

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

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

Mabryho syndróm (Syndróm mentálneho postihnutia s hyperfosfatáziou) predstavuje zriedkavé, geneticky podmienené ochorenie s autozómovo recesívnou dedičnosťou, s odhadovanou prevalenciou 1 : 1 000 000 (Orphanet). Ide o geneticky heterogénnu poruchu s opisovanými patogénnymi DNA variantmi v siedmich kauzálnych génoch *PGAP2*, *PGAP3*, *PIGL*, *PIGO*, *PIGV*, *PIGW*, *PIGY*. Ochorenie je

fenotypovo charakterizované závažným oneskorením vo vývoji, intelektovým postihnutím, epilepsiou, hyperfosfatáciou a faciálnou dysmorfiou. V súbore pacientov našej ambulancie sme napriek odhadovanej veľmi nízkej prevalencii v populácii detegovali v priebehu jedného roka Mabryho syndróm u dvoch pacientov ženského pohlavia s manifestovanou epilepsiou. U oboch nepríbuzných dievčat sme detegovali v géne PIGV identický patogénny missense variant c.1022C>A (p. Ala341Glu) v homozygotnom stave. U rodičov sme cieľenou genetickou analýzou potvrdili nosičstvo uvedeného patogénneho variantu v heterozygotnom stave, pričom konsanguinita medzi rodičmi bola v oboch rodinách žijúcich v nitrianskom regióne negovaná. Na základe uvedeného je možné, že prevalencia Mabryho syndrómu je v populácii slovenských pacientov s epilepsiou vyššia ako sa všeobecne odhaduje, a preto v prípade zaznamenatej hyperfosfatácie u pacientov s epilepsiou je potrebné na daný syndróm myslieť.

Rychlá diagnostika Leberovy hereditární neuropatie optiku metódou high-resolution melting

Záhoráková D., Puchmajerová A., Trefilová E., Zajícová Dočekalová D., Tesařová M., Martásek P.

Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze a 1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika

Úvod: Leberova hereditární neuropatie optiku (LHON) je závažné mater-

nálně dědičné onemocnění a nejčastější dědičná neuropatie zrakového nervu. Projevuje se rychlou a nebolestivou ztrátou zrakové ostrosti až úplnou ztrátou zraku v důsledku atrofie zrakového nervu. V menší míře mohou být přítomny i extraokulární symptomy (např. periferní neuropatie, myopatie, psychiatrické poruchy). K manifestaci klinických projevů obvykle dochází mezi 15 až 35 rokem a muži jsou postiženi 4-5x častěji než ženy. Klinickou diagnostiku syndromu LHON komplikuje neúplná penetrance a variabilní expresivita. Tři nejčastější patogenní varianty asociovány se syndromem LHON (MT-ND1: m.3460G>A, MT-ND4: m.11778G>A a MT-ND6: m.14484T>C) bývají detekovány až u 95% symptomatických i asymptomatických pacientů, většinou v homoplasmické formě. Validovali jsme metodu HRM (high-resolution melting) pro rychlé vyšetření těchto nejčastějších patogenních variant. Stanovení diagnózy umožňuje u symptomatických pacientů včasné zahájení léčby.

Metody: HRM genotypování pomocí specifických PCR primerů navržených pro každou testovanou variantu. Přístroj a software LightScanner (Idaho Technologies). Vzorky DNA pacientů byly izolovány z různých tkání (krev, bukalní stěr, moč, vlasy).

Výsledek: Metodou HRM bylo vyšetřeno 43 vzorků DNA s homoplasmickými nebo heteroplasmickými mutacemi a 63 vzorků negativních pro ověřované mutace. Genotyp byl před nebo po HRM vždy ověřen jinou metódou (RFLP nebo sekvenování). Všechny 3 vyšetřované varianty lze jednoznačně detekovat (i v heteroplasmic-

ké formě) unikátním profilem křivky tání. Hladina heteroplasmie stanovená pomocí HRM byla v souladu s výsledky získanými masivně paralelním sekvenováním.

Závěr: HRM je spolehlivá, rychlá a levná metoda pro vyšetření prevalentních patogenních variant v mtDNA u pacientů se suspektním syndromem LHON. Metodou lze jednoznačně odlišit homoplasmické mutace a v případě heteroplasmických stanovit přibližnou hladinu heteroplasmie. Rychlá DNA diagnostika syndromu LHON je kritická zejména pro včasné zahájení léčby, kterou se u pacienta předejde nevratnému poškození zrakového nervu.

Podpořeno granty: RVO VZ 64165, AZV NU22-07-00614, Projekt Národní ústav pro neurologický výzkum (Program EXCELES, ID: LX22NPO5107) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

Pacientka s aceruloplazminémiou a dedičnou hemochromatózou. Dôležitosť modernej DNA diagnostiky pri diagnostických dilemách

Zatková A.¹, Pös Z.^{1,2}, Glasová H.³, Radvánszky J.^{1,2,4}

¹Ústav klinického a translačného výskumu, Biomedicínsky ústav SAV, Bratislava

²Geneton, s.r.o., Bratislava

³Ústav klinickej farmakológie Lekárskej fakulty Slovenskej zdravotníckej univerzity v Bratislave

⁴Vedecký park, Univerzita Komenského v Bratislave

Úvod: Uvádzame prípad pacientky s chronickou mikrocytovou anémiou,

u ktorej sa identifikovala nízka hladina sérového železa, nízka saturácia železa, zvýšený sérový feritín a viaceré neurologické problémy. Ďalšie vyšetrenia odhalili abnormálne funkčné pečenevé testy, nízku sérovú meď a extrémne nízky ceruloplazmín.

Metódy a výsledky: Najprv bolo vyslovené podozrenie na hemochromatózu (HHC) a Wilsonovu chorobu, na ktoré sa vykonal dostupný diagnostický test založený na PCR, ktorý viedol k identifikácii homozygotného variantu c.187C>G (p.His63Asp) v géne HFE. Tento variant je v našej populácii pomerne častý a je známy ako príčina miernej formy HHC, čo však nevysvetľuje všetky príznaky pacientky. S cieľom identifikovať všetky varianty, ktoré môžu ovplyvňovať metabolizmus kovov, sa nám podarilo analyzovať jej genóm, pričom sa odhalila zložená heterozygotnosť pre dva varianty v géne pre ceruloplazmín (CP). Prvý variant je c.2670C>G (p.(Tyr890*)), ktorý vytvára predčasný translačný stop signál v CP exóne 16. Ide o veľmi zriedkavý variant (f=0,0000117 v GnomAD exom), ktorý bol už dvakrát reportovaný ako patogénny v databáze ClinVar, a rovnako QCIT a Varsome ho predikujú ako patogénny. Druhým variantom je missense variant c.818T>C (p.(Leu273Pro)) v exóne 5, ktorý v databáze Clinvar doteraz nebol hlásený. Aj tento variant je v databáze GnomAD exome veľmi zriedkavý (f=0,00000809). Naša vlastná klasifikácia založená na kritériách ACMG ho definuje ako variant neistého významu (VUS) (PM2, PP2, PP3), zatiaľ čo *in-silico* prediktor VarSome

naznačuje silnú patogénnu klasifikáciu (PP3), čo potvrdzuje aj vysoké skóre konzervácie podľa PhyloP100 (8,791).

Záver: Analýza WGS teda umožnila u našej pacientky diagnostikovať dve autozomálne recesívne poruchy metabolismu železa, čo viedlo k výbere vhodnej terapie. Vzhľadom na intoleranciu venepunkcie sa u nej začala chelatačná liečba deferasiroxom, doplnená o zinok a vitamín E. Pacientka bola tiež primerane poučená o možnosti neurologických príznakov v budúcnosti.

GRANTY: VEGA-2/0114/24 a VEGA-2/0146/23.

MaterniT – historie a současnost

Zemánek M.¹, Zapletal M.¹,

Hůrková V.², Loucký J.^{1,2}

¹Vaše laboratoře, s.r.o., Zlín

²Prediko, s.r.o., Zlín

První kroky k neinvazivnímu testování byly položeny v roce 1997, kdy prof. Lo (1) popsal nález volné fetální DNA z krve matky. Laboratoř lékařské genetiky Imalab, s.r.o. (v současnosti Vaše laboratoře, s.r.o.) a Centrum prenatalní diagnostiky Prediko, s.r.o. se v roce 2008 zapojily do mezinárodní validační studie (InFANet Study), jejímž cílem bylo zjistit využití fetální DNA v prenatalní diagnostice. V roce 2011 byly výsledky využity pro uvedení 1. komerčního testu (MaterniT 21 PLUS) pro zjištění Downova syndromu (T21). Tento test, prováděný ve spolupráci se společností Sequenom, jsme v roce 2012 nabídli těhotným ženám jako první v ČR. V následujícím roce byl tento test doplněn o vyšetření zjišťují-

cí Patauův (T13) a Edwardsův syndrom (T18) a v roce 2013 o panel pohlavních chromosomů (SCA panel). V roce 2014 se objevil v naší nabídce test VisibiliT, který zahrnoval detekci pouze pro Downův a Edwardsův syndrom a pohlaví. Na konci roku 2015 přibyl do našeho portfolia vyšetření celogenomový test MaterniT GENOME, který dokáže vyšetřit aneuploidie všech chromosomů, přebývajících nebo chybějících genetický materiál ≥ 7 Mb a několik vybraných mikrodelečních syndromů. Vzhledem k omezenému testování u testu VisibiliT, byla jeho nabídka na začátku roku 2018 ukončena. Metodou využitou pro získání informací o možných chromosomálních abnormilitách je metoda masivního paralelního sekvenování s následným statistickým zpracováním.

Literatura

1. Lo YM, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997;350(9076):485-487.
2. 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.

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

Zikanova M.¹, Weng W.^{2,3}, Skopova V.¹, Baresova V.¹, Liu Y.⁴, Chien Y.^{2,3,5}, Hwu W.^{2,3,5}, Souckova O.¹, Hnizda A.¹, Kmoch S.¹, Lee N.^{2,3,5}

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

²Department of Pediatrics, National Taiwan University Hospital, Taipei, Taiwan

³Department of Pediatrics, National Taiwan University College of Medicine, Taipei, Taiwan

⁴Department of Ophthalmology, College of Medicine, National Taiwan University Hospital, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

⁵Department of Medical Genetics, National Taiwan University Hospital, Taipei, Taiwan

Background: De novo purine synthesis (DNPS) is a key biochemical pathway producing purines that play a major role in DNA and RNA synthesis, energy transfer, and as cofactors in numerous biological processes. Mutations in enzymes catalyzing DNPS lead to three to date known congenital defects: ADSL deficiency, AICA-ribosiduria, and PAICS deficiency. These conditions are characterized by severe neurological symptoms probably due to the accumulation of DNPS intermediates. To date, only one case of PAICS deficiency has been published.

Case Study: We report a new case of two siblings with PAICS deficiency. The clinical spectrum includes progressive cerebral atrophy, early-onset epileptic encephalopathy, psychomotor retardation, and retinopathy.

Results: Whole exome sequencing (WES) 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 AIr and CAIr, the dephosphorylated substrates of the PAICS enzyme. The stability study of AIr 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 purinosome.

Conclusion: By expanding the clinical, genetic, and biochemical spectrum associated with PAICS deficiency, this research emphasizes the importance of metabolic analysis in patient body fluids for targeted screening that offers more cost-effective and timely diagnosis. Furthermore, the observed purinosome formation, even in the context of reduced enzymatic activity, highlights the essential role of PAICS in metabolic processes.

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

Piatok 11. 10. 2024

Klinická genetika I.

Masívne paralelné sekvenovanie: kľúč k pochopeniu

mitochondriálnych ochorení

Bľandová G.¹, Eliaš V.⁴, Krasňanská G.^{2,4},
Wachsmannová L.⁴, Konečný M.^{2,4},
Repiská V.¹, Baldovič M.^{3,4}

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

²Katedra biológie FPV UCM, Trnava

³Katedra molekulárnej biológie PriF
UK, Bratislava

⁴Laboratórium genomickej medicíny,
GHC GENETICS SK, s.r.o., Vedecký
park UK, Bratislava

Primárne mitochondriálne ochorenia opisujú rôznorodú skupinu neuro-metabolických porúch, genetickej heterogenity a obmedzených korelácií genotypu a fenotypu. Diagnostiku týchto ochorení komplikuje skutočnosť, že mitochondriálne funkcie sú pod dvojitou kontrolou, mitochondriálneho, ale aj jadrového genómu, prítomná heteroplazmia v mitochondriálnej DNA a taktiež somatická variabilita. Efektívna genetická diagnostika si preto často vyžaduje multidisciplinárny prístup. Príchod technológií masívne paralelného sekvenovania viedol k posunu v diagnostickej praxi od „najprv biopsia“ k analýze DNA z krvi a/alebo moču v rámci celého genómu. S cieľom analyzovať variabilitu celej mtDNA ako

aj jadrových génov sme vytvorili databázu cez 150 pacientov s klinickými príznakmi naznačujúcimi mitochondriálne ochorenie, ktorí boli analyzovaní NGS metódami. U týchto pacientov sme identifikovali patogénne/potenciálne patogénne varianty v jadrovom genóme, ale aj v mitochondriálnej DNA. Zväčša išlo o missence varianty, pričom v mitochondriálnom genóme sa väčšina variantov nachádzala v heteroplazmickom stave. Spomedzi všetkých nálezov bola identifikovaná len jedna delécia väčšieho rozsahu u detského pacienta, ktorá je asociovaná s Pearsonovým syndrómom. V rámci prednášky bude prezentovaný case report venovaný práve tomuto zriedkavému syndrómu. Výsledky našej štúdie naznačujú, čo potvrdzujú aj iné štúdie, že v nezanedbateľnej časti pacientov ide v skutočnosti o diagnózu mimo skupiny mitochondriálnych ochorení. Tento problém súvisí s obrovskou fenotypovou variabilitou týchto ochorení s klinickým presahom pre iné stavy, čo komplikuje správnu indikáciu vyšetrenia vhodného panelu génov pri genetickej konzultácii v ambulancii klinického genetika.

Úskalia diagnostiky pacientov s nesyndrómovou poruchou sluchu, rozšíreným vestibulárnym akveduktom a Pendredovým syndrómom

Sklenár M.¹, Borecká S.¹, Varga L.^{1,2},
Bernardinelli E.³, Ugorová D.²,
Dossena S.³, Gašperíková D.¹

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

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

³Ústav farmakológie a toxikológie a FIZ - RM & NT, Paracelziova lekárska univerzita v Salzburgu, Rakúsko

Úvod: Patogénne varianty v géne SLC26A4, ktorý kóduje transportér Cl⁻/HCO₃⁻ a I⁻, pendrín, patria medzi najčastejšie príčiny nesyndrómovej poruchy sluchu spojenej so zväčšeným vestibulárnym akveduktom (NSEVA) a Pendredovho syndrómu (PDS). Hoci NSEVA/PDS je autozomálne recesívne ochorenie, u viac ako 75 % pacientov je stanovenie genetickej príčiny na podklade bialelických pendrínových variantov neúspešné. CEVA haplotyp predstavuje kandidátny genetický faktor zapríčínujúci NSEVA/PDS u pacientov s monoalelickým pendrínovým variantom. Cieľom štúdie bola analýza prítomnosti CEVA haplotypu a funkčná charakterizácia vybraných pendrínových variantov s perspektívou zvýšiť úspešnosť genetickej diagnostiky pacientov s NSEVA/PDS.

Metódy: Zo súboru 1 228 probandov registrovaných v biobanke senzorineurálnej poruchy sluchu laboratória DIABGENE bolo vybraných 33 probandov so symptómami NSEVA/PDS. Prítomnosť variantov v SLC26A4 sme u probandov identifikovali Sangerovým alebo celoxómovým sekvenovaním. Identifikované varianty s neznámym významom (VUS)

a novo identifikované varianty sme charakterizovali funkčnými testami zameranými na sledovanie transportnej kapacity pendrínových variantov a stanovenie ich subcelulárnej lokalizácie. U pacientov s monoalelickým pendrínovým variantom sme prítomnosť CEVA haplotypu analyzovali pomocou KASP assay.

Výsledky: Zo súboru 33 probandov s NSEVA/PDS sme identifikovali monoalelické, resp. bialelické varianty v géne SLC26A4 u 19 probandov. Spolu sme identifikovali 14 variantov v géne SLC26A4, z ktorých 8 variantov bolo klasifikovaných ako patogénne a 6 variantov nebolo v dostupnej literatúre dostatočne charakterizovaných, resp. boli klasifikované ako VUS. Funkčnými štúdiami sme potvrdili signifikantné narušenie transportnej funkcie i aberantnú intracelulárnu lokalizáciu proteínu u 5 zo 6 testovaných variantov. Celkovo sa tak podarilo potvrdiť diagnózu NSEVA/PDS na podklade bialelických patogénnych variantov v géne SLC26A4 u 10 probandov. U ďalších 3 probandov sme identifikovali CEVA haplotyp, ktorý v kombinácii s monoalelickými pendrínovými variantmi podporuje diagnózu NSEVA.

Záver: Podarilo sa nám identifikovať geneticкую príčinu NSEVA/PDS u 39 % probandov. Naše výsledky ukázali dôležitosť kombinácie viacerých molekulárno-biologických metód a funkčných štúdií pre zvýšenie úspešnosti diagnostiky pacientov s poruchou sluchu.

Podporené: APVV-20-0236, VEGA 1/0572/21, APP0485

Analýza zmien v géne *STRC* pri autozómálne recesívnej senzorieurálnej poruche sluchu

Cipková K.¹, Varga L.^{1,2}, Paouris D.³, Gašperíková D.¹, Borecká S.¹

¹Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied, v. v. i., Ústav experimentálnej endokrinológie, Bratislava

²Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Univerzitná nemocnica Bratislava, Klinika otorinolaryngológie, chirurgie hlavy a krku, Bratislava

³Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, Národný ústav detských chorôb, Detská otorinolaryngologická klinika, Bratislava

Úvod: Autozómálne recesívna senzorieurálna porucha sluchu (PS) vznikajúca na podklade patogénnych variantov a delécií v géne *STRC* zahŕňa ľahkú až stredne ťažkú bilaterálnu nesyndrómovú PS s charakteristickým mierne klesajúcim profilom v audiograme a spolu s deléciami priľahlého génu *CATSPER2* aj syndrómovú PS spojenú so zníženou plodnosťou u mužov (DIS syndróm). Diagnostiku PS na podklade zmien v géne *STRC* sťažuje vysoká homológia oblasti génu *STRC* a pseudogénu *STRCP1*. Cieľom práce bola analýza zmien počtu kópií v géne *STRC* a priľahlých génov (*CKMT1B* a *CATSPER2*) a identifikácia patogénnych resp. pravdepodobne patogénnych variantov v géne *STRC* vo vybranom súbore probandov.

Metódy: Z databázy senzorieurálnej PS laboratória Diabgene sme získali 269 probandov s doposiaľ neobjasnenou príčinou PS a nástupom do veku 15 rokov. Zmeny v počte kópií a sekvencii génu *STRC* sme analyzovali pomocou MLPA analýzy, long-range a nested PCR reakcie a sekvenovania podľa Sangera.

Výsledky: Analýzou MLPA sme identifikovali 14 probandov s homozygotnou deléciou rôzne dlhých úsekov génov *CKMT1B-STRC-CATSPER2*, pričom u 5 probandov mužského pohlavia delécia úseku *CKMT1B-STRC-CATSPER2* poukazuje na syndróm DIS. U 18 probandov sme ďalej identifikovali heterozygotnú deléciu génu *STRC*. U 7 probandov s monoalelickou deléciou génu *STRC* sme sekvenovaním podľa Sangera identifikovali dva patogénne varianty c.3217C>T (u 4 probandov) a c.4402C>T (u jedného probanda) a dva pravdepodobne patogénne varianty c.3794C>T a c.1934del (po jednom probandovi). Závažnosť PS stanovená prahovou tónovou audiometriou probandov s biallelickou mutáciou resp. deléciou v géne *STRC* bola ľahká až stredne ťažká.

Záver: Príčinu PS na podklade zmien v géne *STRC* sme identifikovali u 21 z 269 probandov, čo predstavuje 8,5 % v sledovanom súbore pacientov. Na základe prezentovaných dát a získaných audiogramov sa nám podarilo potvrdiť koreláciu genotyp-fenotyp. Vyšetrenie génu *STRC* by malo byť štandardným diagnostickým testom u pacientov s ľahkou až stredne ťažkou poruchou sluchu s nástupom v detskom veku.

Podporené: APVV-20-0236 a VEGA 1/0572/21

Možnosti diagnostiky CNV nálezov u slovenských pacientov s vrodenými ochoreniami imunity

Krasňanská G.^{1,2}, Wachsmannová L.², Baldovič M.^{1,3}, Eliáš V.¹, Bľandová G.⁴, Konečný M.^{1,2}

¹Laboratórium genomickej medicíny, GHC GENETICS SK, s.r.o., Vedecký park UK, Bratislava

²Ústav biológie a biotechnológie, Oddelenie biológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave

³Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava

⁴Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky, LF UK a UNB, Bratislava

Vrodené poruchy imunity (IEI) predstavujú heterogénnu skupinu geneticky podmienených ochorení imunity, ktorých skúmanie poskytuje informácie pre efektívnejšie pochopenie princípov fungovania biologických dráh zahrnutých v imunitnom systéme. Správna diagnostika IEI vedie k vývoju nových terapeutických prístupov a liečiv, ktoré majú následne zásadný vplyv na maľazment a zdravie pacientov.

Genetická diagnostika IEI predstavuje zložitý proces práve kvôli veľkému počtu génov asociovaných s týmito ochoreniami. Podľa publikovaných štúdií sa považujú DNA varianty typu missense za najčastejšie kauzálne genetické nálezy u pacientov s IEI, po ktorých nasledujú varianty typu frameshift, nonsense a zosteriové varianty. Samostatnú skupinu tvoria tzv. CNV varianty, ktoré predstavujú varia-

bilné počty kópií segmentov resp. úsekov DNA väčších ako 50 bp. Zmeny môžu byť definované ako zisky (duplikácie) alebo straty (delécie) úsekov DNA zasahujúce exónové oblasti, jednotlivé gény, viacero génov, resp. môžu byť príčinou mikroduplikačných alebo mikrodelečných syndrómov. Predpokladáme, že frekvencia výskytu kauzálnych CNV variantov môže byť podhodnotená, nakoľko ich detekcia vyžaduje znalosť špecifických kvantitatívnych metód. Viacerí autori naznačujú, že CNV sú príčinou IEI vo vyššej frekvencii (22 – 50 %), ako sa predpokladalo.

V súčasnosti predstavujú odporúčané metódy na detekciu CNV komparatívna genómová hybridizácia (CGH) alebo MLPA analýza. Uvedené technológie obsahujú určité obmedzenia, napr. nižšia rozlišovacia schopnosť v rámci CGH, či obmedzené množstvo dostupných kitov pre gény, ktoré možno analyzovať pomocou MLPA. Uvedená metóda zvyčajne umožňuje detekciu CNV, ktoré sa pohybujú od niekoľko báz až po komplexnejšie prestavby. Analýza vzorky pomocou masívneho paralelného sekvenovania umožňuje detekciu bodových SNV, indelov a CNV naraz, pričom rozlíšenie sa pohybuje od jedného nukleotidu po multiexónové alebo celé genómové delécie/duplikácie. Citlivosť týchto prístupov sa síce v poslednom období zvyšuje, ale stále nedosahuje potrebné parametre. Ako výzva sa ukazuje sekvenovanie celých molekúl DNA, ktoré ešte nemá nazbierané dostatočné množstvo skúseností, ale na druhej strane nám sľubuje, že dokáže identifikovať aj veľmi komplexné CNV, ktoré doteraz unikali našej pozornosti.

Genomické analýzy u pacientů s vzácným onemocněním s negativními výsledky celoxomového sekvenování

Nosková L.¹, Stránecký V.¹, Steiner Mrázová L.¹, Zikánová M.¹, Hnízda A.¹, Hartmannová H.¹; Hodaňová K.¹, Sikora J.¹, Trešlová H.¹, Kmoch S.¹

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

Úvod: Analýza genomu je efektivním nástrojem pro určení příčin vzácných nemocí a objasnění funkce lidských genů. Exomové sekvenování, které se postupně prosazuje i do standardních vyšetřovacích algoritmů vzácných onemocnění, přineslo výrazné zvýšení diagnostické úspěšnosti, pomohlo odhalit stovky nových onemocnění a otevřelo cestu ke studiu jejich patofyziologických principů. Přesto však i po exomové analýze zůstává více než 50 % případů bez stanovené molekulárně genetické diagnózy.

Metody: U případů s negativními výsledky exomových analýz využíváme další přístupy – celogenomové sekvenování, analýzu transkriptomu a epigenetické profilování.

Výsledky: Ve sdělení chceme prezentovat naše dosavadní zkušenosti s využitím celogenomového sekvenování a transkriptomové analýzy u klinicky jasně definovaných případů s neuzavřenou molekulárně genetickou diagnózou. Dále představíme výsledky analýzy epigenetického profilu u souboru pacientů, kde

tento přístup umožnil u části pacientů překlasifikovat varianty nejasného významu nalezené exomovým sekvenováním a u jednoho pacienta přinesl podpůrné důkazy pro definici zcela nového onemocnění. V současné době probíhají také analýzy prvních případů pomocí celogenomového sekvenování s dlouhým čtením.

Závěr: Post-exomové genomické analýzy mají potenciál objasnit další část dlouhodobě nevyřešených případů pacientů s vzácným onemocněním. Nedílnou součástí analýz jsou u nově popsaných genetických variant také následné funkční studie s využitím široké škály molekulárně biologických, biochemických a analytických metod, strukturní analýzy a buněčné patologických studií.

Grantová podpora: NU23-07-00281, LM2023067, LX22NPO5107, UNCE/24/MED/022

AGAL misprocessing-induced ER stress and the unfolded protein response: lysosomal storage-independent mechanism of Fabry disease pathogenesis

Zivna M.¹, Dostalova G.², Baresova V.¹, Musalkova D.¹, Kuchar L.¹, Asfaw B.¹, Poupetova H.³, Vlaskova H.³, Kmochova T.¹, Vyletal P.¹, Hartmannova H.¹, Hodanova K.¹, Steiner-Mrazova L.¹, Hnizda A.¹, Treslova H.¹, Reкова P.⁵, Roblova L.², Honsova E.⁴, Hulkova H.¹, Rychlik I.⁶, Bleyer A. J.⁷, Linhart A.², Sikora J.¹, Kmoch S.¹

¹Research Unit for Rare Diseases, First Faculty of Medicine, Charles University

²Second Department of Internal Cardiovascular Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic

³Diagnostic laboratory, Department of Pediatrics and Inherited Metabolic Disorders, General University Hospital, Prague, Czech Republic

⁴Institute of Pathology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic

⁵Department of Neurology and Centre of Clinical Neuroscience, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic

⁶Department of Medicine, Third Faculty of Medicine, Charles University in Prague and Faculty Hospital Kralovske Vinohrady, Prague, Czech Republic

⁷Section on Nephrology, Wake Forest School of Medicine, Medical Center Blvd., Winston-Salem, NC, USA

Background: Classic Fabry disease (FD) is caused by *GLA* mutations that result in enzymatic deficiency of alpha-galactosidase A (AGAL), lysosomal storage of globotriaosylceramide, and a resulting multisystemic disease. In non-classic later-onset FD, patients have some preserved AGAL activity and a milder disease course, though female carriers may also be affected. While FD

pathogenesis has been mostly attributed to catalytic deficiency of mutated AGAL, lysosomal storage and impairment of lysosomal functions, other pathogenic factors may be important, especially in non-classic later-onset FD.

Methods: We characterized the clinical, biochemical, genetic, molecular, cellular and organ pathology correlates of the p.L394P AGAL variant that was identified in six individuals with end-stage kidney disease by the Czech national screening program for FD and by further screening of 25 family members.

Results: Clinical findings revealed a milder clinical course with ~15% residual AGAL activity. Laboratory investigations documented intracellular retention of mutated AGAL with resulting ER stress and the unfolded protein response (UPR). Kidney biopsies did not show lysosomal storage. We observed similar findings of ER stress and UPR with several other classic and non-classic FD missense *GLA* variants.

Conclusions: We identified defective proteostasis of mutated AGAL resulting in chronic ER stress and UPR of AGAL expressing cells (hereafter referred to as AGALopathy) as an important contributor to FD pathogenesis. These findings provide insight into non-classic later-onset FD and may better explain clinical manifestations with implications for pathogenesis, clinical characterization and treatment of all FD forms.

Analýza vybraných génov u pacientov s Alzheimerovou chorobou

Sedláčková T.^{1,2}, Styk J.^{1,2},
Forgáčová N.^{2,3}, Lukyová L.^{1,2},
Budiš J.^{1,2}, Sheardová K.⁴, Žilka N.⁵,
Szemes T.^{1,2}

¹Geneton, s.r.o., Bratislava

²Vedecský park Univerzity
Komenského, Bratislava

³Biomedicínske centrum SAV,
Bratislava

⁴Fakultná nemocnica u sv. Anny,
Brno, Česká republika

⁵Neuroimunologický ústav SAV,
Bratislava

Úvod: Alzheimerova choroba (AD) je neurodegeneratívne ochorenie, ktoré postihuje milióny ľudí po celom svete a predstavuje hlavnú príčinu demencie. Vyskytuje sa najmä u ľudí vo veku nad 65 rokov. Hoci presné mechanizmy vedúce k vzniku a progresii AD nie sú zatiaľ známe, genetické faktory hrajú kľúčovú úlohu v etiológii tohto ochorenia. Identifikácia a analýza špecifických génov a genetických variantov spojených s AD môžu priniesť dôležité poznatky pre pochopenie patofyziológie ochorenia a potenciálne aj pre vývoj nových terapeutických prístupov. Cieľom tejto práce je analýza vybraných génov u pacientov s Alzheimerovou chorobou s cieľom identifikovať genetické varianty súvisiace so vznikom AD.

Metódy: Genomická DNA bola izolovaná z krvi 24 pacientov s potvrdenou AD. Zo vzoriek DNA boli pripravené NGS panelové knižnice, pričom navrhnutý gé-

nový panel obsahoval vybraných 10 génov, ktoré sú na základe odbornej literatúry asociované so vznikom AD. NGS panelové knižnice boli následne sekvenované na platforme Illumina NextSeq 2000 s párovými čítaniami v dĺžke 100 bp.

Výsledky: Panel 10 génov bol navrhnutý tak, aby pokrýval celé gény vrátane exónových aj intrónových oblastí s celkovou veľkosťou 1 Mbp. Génový panel bol navrhnutý na genóm hg38. Všetkých 24 vzoriek bolo sekvenovaných s pokrytím 100x a viac. Analýzou celých génov sa podarilo u vybraných pacientov identifikovať mutácie, ktoré môžu byť asociované so vznikom AD.

Záver: Naša štúdia ukazuje, že analýza vybraných génov pomocou sekvenovania novej generácie (NGS) môže odhaliť genetické varianty spojené so vznikom Alzheimerovej choroby, čo môže prispieť k pochopeniu vzniku tohto ochorenia, ako aj k rozvoju nových diagnostických a terapeutických postupov.

Táto práca vznikla vďaka finančnej podpore Európskej únie v rámci projektu ADDIT-CE - Alzheimer's Disease Diagnostics Innovation and Translation to Clinical Practice in Central Europe.

Využití SNP v preimplantačním genetickém testování aneuploidii

Valentová E., Horňák M., Brožek R.,
Kubíček D., Navrátil R., Veselá K.
Repromeda, s.r.o., Brno

Úvod: Preimplantační genetické testování aneuploidii (PGT-A) nám u embryí vzniklých procesy IVF pomáhá vylo-

učit klinicky závažné aneuploidie a vybrat taková, která mají největší implantační potenciál. Přestože zlatým standardem v PGT-A již řadu let zůstává masivní paralelní sekvenování v kombinaci se CNV analýzou umožňující velmi citlivě detekovat chromozomový mozaicismus a segmentální aneuploidie, stále existují některé typy chromozomálních aberací, které klasickými postupy není možné detekovat. Přidáním analýzy jednonukleotidových polymorfismů (SNP) a vhodně zvolených bioinformatických algoritmů v PGT-A je možné tyto překážky překonat a nově detekovat např. haploidie nebo triploidie, ale také zvýšit spolehlivost vyšetření.

Metody: V rámci nového přístupu PGT-A+ provádíme nejprve celogenomovou amplifikaci pomocí metody MDA, po které následuje SNP analýza na čípech Infinium™ Global Screening Array-24 v3.0 BeadChip obsahující 654 027 SNP. Na závěr je spuštěna bioinformatická analýza umožňující rychlejší a přesnější detekci aneuploidií zahrnující např. normalizovaný loqR graf, „parent origin B-allele frequency“ graf nebo graf zisku heterozygotnosti umožňující odlišení mitotických a meiotických chyb.

Výsledky: Po vyšetření celkem 625 embryí bylo zjištěno přibližně 29 % meiotických a 6 % mitotických chyb. U 90 % meiotických chyb byl odhalen maternální původ aneuploidie, zatímco u mitotických chyb bylo pozorováno rovnoměrné zastoupení aneuploidií původu jak maternálního, tak paternálního. Frekvenci triploidií a haploidií detekujeme u zhruba 1,5 % vzorků.

Závěr: Analýza SNP v kombinaci s novým patentovaným bioinformatickým algoritmem nám umožňuje rozlišit meiotický a mitotický původ chromozomálních abnormalit, což výrazně zvyšuje přesnost detekce aneuploidií a chromozomového mozaicismu. Při současném testování embryí s DNA vzorkem jednoho z rodičů je dále možné odlišit maternální a paternální původ těchto chyb. Novým přístupem jsme schopni také odhalit haploidní a 69,XXX triploidní embrya, která klasickým PGT-A metodám unikají.

Preimplantační genetické testování u párů a rodin s monogenní chorobou

Linhartová E., Horák J., Račochová E., Koudová M., Stejskal D.
GNTlabs by GENNET, Laboratoř pro preimplantační genetické testování, Praha, Česká republika

Preimplantační genetické testování (PGT) prováděné v rámci asistované reprodukce umožňuje vybrat pro přenos do dělohy embryo, která nenesou kombinaci alel spojenou s rozvojem dědičného onemocnění. Pro páry s rizikem monogenní choroby u potomka představuje PGT alternativu k prenatalnímu vyšetření, protože umožňuje odhalit genetické vady ještě před zahájením těhotenství a vyhnout se tak jeho případnému ukončení. Díky rozvoji sekvenačních technologií roste počet párů a rodin, u nichž je známa kauzální mutace způsobující dědičné onemocnění, a tím i počet pacientů, kteří se rozhodnou jít cestou PGT. PGT bylo provedeno z biopsie trofektu-

dermu u embrya ve stádiu blastocysty. Po uvolnění z odebraných buněk byla DNA amplifikována metodou MDA (Repli-G, Qiagen) a analyzována na čipech Infinium SNP array (HumanKaryomap-v12, nebo Global Screening Array-24, Illumina).

Data byla následně vyhodnocena pomocí aplikací BlueFuse Multi (Illumina), nebo Omnia AneuScan (ExOvo Genomics) a statisticky zpracována v programu Excel (Microsoft). V rámci PGT bylo u 1 017 párů analyzováno celkem 5 984 embryí. Polovina párů podstoupila PGT kvůli onemocnění s autosomálně dominantní dědičností. Třetina párů měla onemocnění s autosomálně recesivní dědičností a zároveň u poloviny z nich bylo PGT provedeno v návaznosti na preventivní vyšetření recesivních mutací (CarrierTest). Průměrný věk pacientek byl 32,7 let, přičemž pacientky s recesivní dědičností byly v průměru o 2,4 roku starší než ty s autosomálně dominantní dědičností. U 22% embryí byla detekována aneuploidie. U pacientů bylo analyzováno 247 různých genů, což ukazuje na rozsáhlé genetické spektrum testovaných vzorků.

Díky svému preventivnímu charakteru je PGT často volbou u onemocnění s pozdním nástupem a nepříjemnými fenotypovými projevy, která ale nejsou fatální. Polovina pacientů žádá PGT u genů se vzácnými či unikátními mutacemi. Univerzální metoda karyomapping těmto párům PGT zpřístupnila. Vedle toho našlo PGT své pevné místo v návaznosti na preventivní vyšetření přenašečství recesivních mutací (CarrierTest) prováděné v rámci prekoncepčního testování.

Skúsenosti s molekulárno-genetickou diagnostikou SMA, ALS a FRDA

Petrovič R.

Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, oddelenie molekulevej a biochemickej genetiky, Bratislava

Spinálne svalové atrofie (SMA) patria do skupiny dedičných neurodegeneratívnych chorôb, ktoré sa klinicky prejavujú progresívnou proximálnou svalovou slabosťou. Ide o heterogénnu skupinu, ale až 95 % tvoria formy spôsobené mutáciami génu SMN1. Dedičnosť pri tomto type ochorenia je autozómovo recesívna a incidencia tohto zriedkavého ochorenia je 1 : 6 – 10 000. Aktuálne, algoritmus molekulárno-genetického vyšetrenia SMA zahŕňa v prvom kroku vyšetrenie metódou MLPA, ktorá spoľahlivo odhalí delécie, či duplikácie jedného alebo viacerých exónov génov SMN1 a SMN2. V prípade, že sa pomocou MLPA neidentifikujú oba patogénne varianty, sa pristupuje k vyhľadávaniu neznámych raritných bodových mutácií DNA sekvenčnou analýzou v SMN1 géne. Pre novorodenecký skrining je možné využiť fakt, že prevažná väčšina pacientov má delécie na oboch kópiách SMN1 génu. Vyšetrenie tohto typu mutácie je možné realizovať zo suchej kvapky krvi rýchlo pomocou real-time PCR a tak identifikovať pacientov s týmto genotypom už tesne po narodení.

Familiárne formy amyτροφickej laterálnejsklerózy (ALS) predstavujú 5 – 10 % prípadov zo všetkých ALS. Patogénne

varianty v SOD1 géne sú druhou najčastejšou genetickou príčinou ALS, po expanzii opakovaní v géne C9ORF72. SOD1 zodpovedá až za 20 % familiárnych foriem ALS a 1 % – 2 % sporadických prípadov ALS. Dedičnosť je autozómovo dominantná.

Friedreichova ataxia (FRDA) je zriedkavé progresívne neurodegeneratívne ochorenie s autozómovo recesívnym typom dedičnosti. V prevažnej väčšine prípadov je kauzálnou príčinou ochorenia expanzia trinukleotidových opakovaní (GAA) v 1. intróne FXN génu. Molekulárna diagnostika sa realizuje fragmentačnou analýzou (triple primed PCR). Odhadovaná frekvencia ochorenia sa medzi etnickými skupinami výrazne odlišuje. Odhad počtu FRDA pacientov môže byť urobený aj na základe frekvencie prenášačov ochorenia. Realizovali sme štúdiu zameranú na epidemiológiu FRDA v slovenskej populácii vyšetrením kontrolnej skupiny jedincov (1 134 alel), pričom sa zistilo, že pravdepodobnosť prenášačstva ochorenia je 1 : 105. Na základe zistených údajov a dát je pravdepodobnosť narodenia dieťaťa s FRDA v slovenskej populácii 1 : 44 100. Vzhľadom na zníženú fitness, skrátené prežívanie FRDA pacientov a demografickú situáciu na Slovensku môžeme počet pacientov s FRDA na Slovensku kvalifikovane odhadnúť na približne 50 – 60 žijúcich pacientov.

Včasná identifikácia týchto ochorení, ako aj diagnostika a molekulárno-genetické potvrdenie má čoraz väčší význam s benefitom aj pre pacientov zo

Slovenska, nakoľko je alebo v blízkej budúcnosti bude k dispozícii cieľená liečba.

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

Klinická genetika II.

Hereditárny angioedém – komplexný pohľad na molekulárno-genetickú diagnostiku

Markocsy A.¹, Hrubíšková K.², Freiberger T.³, Grombiříková H.³, Dolešová L.⁴, Slivka Vavrová L.⁴, Lohajová Behulová R.⁴, Bánovčin P.¹, Jeseňák M.¹

¹Centrum pre Hereditárny angioedém, Klinika detí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine Univerzity Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin

²Centrum pre Hereditárny angioedém, V. interná klinika, Lekárska fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Bratislava

³Centrum kardiovaskulárnej a transplantačnej chirurgie, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita Brno

⁴Oddelenie lekárskej genetiky, Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

Úvod: Hereditárny angioedém (HAE) je autozomálne dominantne dedičná choroba charakterizovaná recidivujúcimi akútnymi epizódami opuchov kože a slizníc, ktoré sú spôsobené zvý-

šením vaskulárnej permeability. Klinické prejavy môžu byť veľmi heterogénne, na základe toho, ktoré tkanivo je postihnuté – viditeľné opuchy tváre, končatín, dyspnoe, zvracanie, hnačka, bolesti brucha imitujúce náhlu príhodu brušnú, migréna. Najzávažnejšou komplikáciou je laryngálny edém, ktorý môže viesť k uduseniu pacienta. Adekvátne nastavenou terapiou vieme tieto komplikácie efektívne eliminovať. V diferenciálnej diagnostike je potrebné najskôr vylúčiť častejšie alergické a poliekové príčiny angioedému. Na základe patomechanizmu vedúceho k rozvoju choroby rozdeľujeme HAE do viacerých kategórií. HAE asociovaný s nedostatkom alebo dysfunkciou C1 inhibítora (C1-INH-HAE, OMIM 106100) je vyvolaný kauzálnymi variantmi v géne *SERPING1*, ktorý kóduje proteín C1 inhibítor zodpovedný za reguláciu tvorby bradykinínu. Typ dedičnosti je autozomálne dominantný na podklade haploinsuficiencie a dominantne negatívneho efektu. HAE s normálnou funkciou C1 inhibítora (HAE nC1-INH) je heterogénnejšou skupinou chorôb, ktoré patria medzi ultra zriedkavé. Aktuálne je známych 7 nozologických jednotiek, u ktorých prevažuje autozomálne dominantný typ dedičnosti a *gain of function* vplyv variantov na proteínový produkt. Asociovanými génmi sú *F12*, *PLG*, *KN1G1*, *MYOF*, *ANGPT1*, *HS3ST6* a *CPN1*. U časti pacientov neidentifikujeme molekulárno-genetickú príčinu ani v jednom zo známych asociovaných génov a klasifikujeme ich ako idiopatický HAE.

Metódy: Epidemiologická a molekulárno-genetická analýza sloven-

skej kohorty pacientov s C1-INH-HAE. Predstavenie aktuálneho pohľadu na molekulárno-genetickú diagnostiku HAE nC1-INH.

Výsledky: Prevalencia C1-INH-HAE na Slovensku je 1 : 41 280. V slovenskej národnej kohorte, ktorú predstavuje 132 pacientov z 51 rodín, bolo identifikovaných 22 kauzálnych variantov, z ktorých 12 nebolo doteraz v literatúre opísaných. Dominoval *missense* a *frameshift* typ variantov. V porovnaní s inými národnými štúdiami bolo pozorované vyššie percento *inframe* variantov.

Záver: Prvá komplexná štúdia epidemiológie a molekulárno-genetickej analýzy slovenskej národnej kohorty C1-INH-HAE rozširuje poznatky o tomto ochorení.

Využití klinického exomu při diagnostice vzácných geneticky podmíněných onemocnění: kazuistiky

Čejnová V.¹, Vancová L.¹, Uhrová Mészárosová A.², Štanclová D.², Pecková A.¹, Laštůvková J.¹

¹Oddělení lékařské genetiky, Krajská zdravotní, a.s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z., Ústí nad Labem, Česká republika
²Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika

Úvod: Klinický exom (CES) je molekulárně diagnostický test využívající metodu sekvenování nové generace pro analýzu panelu velkého počtu klinicky významných genů asociovaných s různými

nými dědičnými onemocněními a vrozenými vadami.

Metody: CES (kit SOPHiA CES v2, 4490 genů), Sangerovo sekvenování

Výsledky: Prezentujeme tři případy využití CES při diagnostice genetické příčiny klinického fenotypu probanda. V prvním případě bylo u měsíční holčičky genetické vyšetření doporučeno pro kraniofaciální dysmorfii, atypické držení prstů rukou i nohou a susp. kraniostenózu. Vyšetření CES odhalilo *de novo* heterozygotní patogenní variantu c.1912C>T v maternálně imprintovaném genu *MAGEL2* způsobující Schaaf-Yang syndrom. Druhý případ popisuje chlapec se spastickou kvadruparézou, mikrocefalií a intelektovou nedostatečností, u kterého jsme detekovali pravděpodobně patogenní dosud nepopsanou variantu c.1906_1909del v genu *CTNNB1*. Vyšetřili jsme oba rodiče chlapce a u matky jsme prokázali nízkoprocentní mozaicismus pro tuto variantu. Heterozygotní patogenní varianty genu *CTNNB1* jsou příčinou neurovývojového onemocnění se spastickou diplegií a očními vadami označované též jako *CTNNB1* syndrom. Poslední případ se věnuje dívce s fenotypem zahrnujícím: psychomotorickou retardaci, mikrocefalií, atrézií jícnu, agenezi ledviny a juvenilní idiopatickou artritidu. V tomto případě jsme zjistili homozygotní patogenní variantu c.740_741del v genu *WISP3* asociovanou s progresivní pseudorevmatoidní dysplazií a zároveň heterozygotní pravděpodobně patogenní variantu c.2210C>T v genu *CNKSR2* způsobující X-vázanou

syndromovou intelektovou nedostatečnost, Hougeův typ s možným mírným postižením i u žen.

Závěr: V současné éře celogenomového a celoexomového sekvenování má CES stále svoji nezastupitelnou roli, a to hlavně v oblasti rutinní molekulární laboratorní diagnostiky. Jeho diagnostický potenciál výrazně stoupá zejména u případů s jasným klinickým fenotypem, kde předpokládáme genetickou etiologii.

Dlouhá cesta k diagnóze

Gřešková A.¹, Nosková L.²

¹ÚKMLPG FN Ostrava

²VFN Praha

Náš příběh začal krátce po narození děvčátka, kdy ve věku 3 dnů bylo žádáno genetické konzílium pro nespecifickou stigmatizaci, deformitu a otoky dolních končetin s omezenou flexí v kolenních kloubech, vlevo byla naložena vysoká sádrová fixace, vpravo hodnoceno jako polohový pes equinovarus.

Diagnostika zahájena karyotypizací. Děvčátko za 2 měsíce pozváno s rodiči na kontrolu k posouzení vývoje fenotypu. Maminka si však kontrolu ani ev. další došetřování nepřála, což respektováno.

Maminka nás však opětovně oslovila sama ve věku 7 m, kdy u dítěte již byl patrný opožděný vývoj, rodiče následně již souhlasili se zahájením dalších analýz.

Pro nespecifickou, opakovanou hyperlactacidurii dítěto hospitalizováno v Praze v metabolickém centru, tato vyšetření však neodhalilo žádnou specifickou odchylku.

Array či analýza na NGS panelu pro vzácná onemocnění opět odpověď nedala. Proto DNA rodičů i dítěte zařazena na WES, která ve 3 letech věku objasnila příčinu opožděného vývoje a stigmatizace dítěte. V současné době běží 2. gravidita rodičů.

Projekt AZV č. NU23-07-00281

Fenotypová charakteristika súboru pacientov s novým neuromuskulárnym ochorením v rómskej populácii

Giertlová M.^{1,2,3,4}, Nosková L.⁵, Drenčáková P.⁴, Šaligová J., Potočnáková L.⁶, Drobňáková S., Vargová V.⁷, Kolníková M., Kušíková K., Balážová P.⁸, Baranová A., Lazarová E.⁹, Gurčík L.¹⁰, Mažeriková Z.¹¹, Mistrík M.¹², Stretavská P.^{13,16}, Zámečník J.¹⁴, Příhodová I.¹⁵, Zikánová M., Stránecký V., Ptáčková H., Hansíková H., Tesařová M., Sikora J., Zeman J., Honzík T., Kmoch S.⁵

¹Neurologická klinika, LF UPJŠ v Košiciach

²Laboratórium klinických neurovied, Univerzitný vedecký park Medipark UPJŠ v Košiciach

³Ambulancia lekárskej genetiky, DFNSP v Banskej Bystrici

⁴Ambulancia lekárskej genetiky, Unilabs Slovensko, s.r.o., Košice

⁵Klinika pediatrie a dedičných poruch metabolismu, 1. LF UK a VFN, Praha

⁶Ambulancia pre dedičné poruchy metabolismu, DFN v Košiciach

⁷Klinika detí a dorastu, DFN v Košiciach

⁸Klinika detskej neurológie, NÚDCH v Bratislave

⁹Oddelenie detskej neurológie, DFN v Košiciach

¹⁰Oddelenie neurológie, Nemocnica AGEL Levoča

¹¹Ambulancia lekárskej genetiky, Unilabs Slovensko, s.r.o., Humenné

¹²Ambulancia lekárskej genetiky, Unilabs Slovensko, s.r.o., Spišská Nová Ves

¹³Ambulancia lekárskej genetiky, Unilabs Slovensko, s.r.o., Banská Bystrica

¹⁴Ústav patológie a molekulárnej medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha

¹⁵Neurologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze

¹⁶Ústav biológie a lekárskej genetiky 1. LF UK a VFN v Praze

Ciele: Slovensko patrí medzi krajiny s najvyšším relatívnym zastúpením obyvateľov rómskeho etnika. Z genetického aspektu, viaceré zriedkavé ochorenia (TMEM70, NUS1, MANBA, UFM1, EGFR) boli prvýkrát opísané práve v rómskej populácii. Preto sme sa v našej klinickej praxi rozhodli pre vedecký, etnikum zohľadňujúci prístup a komplexné genomické analýzy zahŕňajúce aj gény s neznámou funkciou resp. väzbou k ochoreniu. V prípade dostupnosti boli realizované genomické analýzy paralelne aj u zdravých členov rodiny. Prezentujeme fenotypovú charakteristiku súboru pacientov rómskeho etnika s obrazom progresívnej myopatie s nástupom v detskom veku a výsledky genomických a vedeckých analýz.

Metódy: U pacientov a zdravých príbuzných sme realizovali exómové a ce-logenómové sekvenovanie. V čase podávania abstraktu prebiehajú u 2 pacientov diagnostické a vedecké analýzy na úrovni svalovej biopsie a iných tkanív v spolupráci s Klinikou pediatrie a dedičných poruch metabolizmu 1. LF UK a VFN v Prahe.

Výsledky: Súbor pacientov tvorí 13 pacientov, 5 mužov a 7 žien z 5 rodín rómskeho etnika zo Slovenska (11 pacientov) a Českej republiky (2 pacientky). Ochorenie sa klinicky manifestuje ako progresívny myopatický syndróm s proximálnym maximom. U pacientov je prítomný oneskorený motorický vývoj, nízky vzrast, neprospievanie, hypotónia, hypermobilita, hyporeflexia až areflexia, stigmatizácia tváre, skolióza, progresívna proximálna svalová slabosť približne od 5 do 6 rokov so stratou samostatnej chôdze zhruba od 8 rokov života až do včasnej dospelosti. Pozorovaná je hypomímia, ptóza, oftalmoplégia a dysfágia, nekonštantne mikrocefália, neprospievanie, respiračné poruchy, šlachové kontraktúry. Nebola zistená špecifická biochemická abnormalita ani elevácia svalových enzýmov. Nebola pozorovaná kardiomyopatia, EMG nálež nebol jednotný. Svalová biopsia preukázala dysproporciu svalových vlákien, MRI vyšetrením mozgu boli potvrdené viacpočetné ložiská supratentoriálne. Pozorujeme pomerne signifikantnú fenotypovú intra- a interfamiliárnu variabilitu. Genomickými analýzami bola u všetkých pacientov identifikovaná spoločná 2,5 Mb oblasť homozygotity v oblasti chromozómu 17, ktorá zahŕňa 3 homozygotné varianty neznámeho

významu v géne *CHRNA1* (OMIM #616314, #616313), a v génoch *FGF11* a *TMEM102*, ktoré v súčasnosti nie sú asociované so známym ochorením.

Záver: Na základe našich výsledkov je veľmi pravdepodobná AR dedičnosť a efekt zakladateľa, pre identifikáciu molekulárno-genetickej príčiny prebiehajú konfirmačné analýzy. Naše výsledky potvrdzujú prínos vedeckého prístupu pri identifikácii genetických príčin zriedkavých geneticky podmienených ochorení u geneticky izolovaných populácií, ktoré sú v našom regióne zastúpené najmä rómskou populáciou. Zároveň potvrdzujú prínos širokej spolupráce pri diagnostike zriedkavých ochorení.

Granty: Tento projekt bol podporený z grantových prostriedkov POO veľké projekty pre excelentných výskumníkov pod č. 09I03-03-V03-00007 „Podpora excelentnosti vo výskume nedostatočne zastúpených populácií a včasná identifikácia extrapyramídových ochorení“ a grantami NU23-07-00281 a LX22NPO5107. Za NGS analýzy ďakujeme Národnému centru pre medicínsku genomiku ČR (LM2023067).

Familiárna eventrácia bránice ako súčasť MUSK asociovaného fenotypu u novorodenca – kazuistika

Lenhartová N.¹, Kršiaková J.¹, Maťašová K.²

¹Oddelenie lekárskej genetiky, Univerzitná nemocnica Martin

²Neonatologická klinika, Univerzitná nemocnica Martin

Úvod: V nasledujúcej kazuistike opisujeme prípad novorodenca so zried-

kavou vývojovou chybou – kongenitálnou eventráciou bránice, s pridruženým hypotonickým syndrómom, somatickou stigmatizáciou a dysmorfiou, patologickým nálezom na prenatalnom ultrazvukovom vyšetrení a zaťaženou rodinnou anamnézou. Identickú VVCH mal pri narodení aj najstarší brat probanda, u ktorého nebola objasnená etiológia stavu a ktorý exitoval vo veku 4 mesiace. Druhý brat a rodičia probanda boli zdraví, bez VVCH. Vzhľadom na anamnézu a genealogické údaje bolo u probanda supponované neuromuskulárne ochorenie podmienené pravdepodobne AR typom dedičnosti.

Metódy a výsledky: U probanda bola v prvom kroku diagnostického procesu realizovaná karyotypizácia a detekcia genomických mikroaberácií, s patologickým nálezom delécie v géne MUSK, ktorý je asociovaný s fetálnou akinézou a kongenitálnym myastenickým syndrómom. Sekvenáciou bola následne potvrdená prítomnosť bodovej mutácie na druhej alele génu MUSK. Segregačná analýza potvrdila prenášačstvo detegovaných variantov u oboch rodičov. Nález sme uzavreli ako kauzálny pre klinický fenotyp pacienta.

Záver: U probanda so zriedkavou vrodenu eventráciou bránice s familiárnym výskytom sme detegovali dva doteraz neopísané varianty v géne MUSK, čím sa u neho potvrdila diagnóza MUSK-asociovaného kongenitálneho myastenického syndrómu na podklade zloženého heterozygotného stavu. Obaja rodičia probanda sú asymptomatickí prenášači jednotlivých variantov.

Kongenitálna porucha glykozylácie typu III a doposiaľ nepopísaný variant v géne COG6

Stretavská P.¹, Giertlová M.^{2,5,9}, Zemjarová Mezenská R.³, Martineková S.⁴, Okáľová K.⁵, Lysinová M.⁵, Honzík T.⁶, Hansíková H.⁶, Štufková H.⁶, Pakanová Z.⁷, Škopková M.⁷, Šalingová A.^{7,8}

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

²Ambulancia lekárskej genetiky, Unilabs Slovensko, s.r.o., Košice

³Laboratórium lekárskej genetiky, Unilabs Slovensko, s.r.o., Bratislava

⁴Ambulancia lekárskej genetiky, Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

⁵Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Banská Bystrica

⁶Klinika pediatrie a dedičných poruch metabolizmu 1. LF Univerzity Karlovy a Všeobecní fakultní nemocnice, Praha

⁷Slovenská akadémia vied, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava

⁸Centrum dedičných metabolických porúch NÚDCH, Bratislava

⁹Klinika neurológie, Lekárska fakulta UPJŠ v Košiciach

Úvod: Poruchy glykozylácie sú zriedkavé ochorenia, ktoré patria k metabolickým poruchám s variabilným a často fatálnym fenotypom. Zahŕňajú defekty v syntetických dráhach pre oligosacharidy viazané na -N, oligosacharidy viazané na -O, spoločné substráty, glykofosfatidylinozitolové (GPI) kotvy a dolicholy.

COG – Konzervovaný oligomérny Golgiho komplex je multiproteínový komplex v Golgiho aparáte, ktorý sa podieľa na vnútrobunkovom transporte a modifikácii glykoproteínov. Dysfunkcia komplexu COG môže ovplyvniť separáciu glykozylntransferáz od anterográdných cargo molekúl a narušiť tak normálnu glykozyláciu proteínov.

Výsledky: Prezентujeme unikátnu kazuistiku novorodenca s globálnou hypotóniou, mikrocefáliou, polystigmatizáciou, skeletálnymi zmenami – artrogrypóza, pedes equinovares bilaterálne, poruchou zraku, sluchu, respiračnou insuficienciou, hepatopatiou a koagulopatiou, štrukturálnymi zmenami na slezine, intoleranciou enterálneho príjmu. DNA analýzou na úrovni klinického exómu sekvenovaním novej generácie bola identifikovaná raritná porucha glykosylácie typu III s doposiaľ v literatúre nepopísaným variantom v géne COG6.

U našej pacientky bol identifikovaný pravdepodobne patogénny variant c.906_907delinsA p.(His302GlnfsTer4) v homozygotnom stave, obaja rodičia sú pre daný variant prenášači. Metabolickými analýzami bola potvrdená kombinovaná porucha N- a O-glykozylácie, na úrovni patientskych fibroblastov bolo zdokumentované oneskorenie retrográdneho transportu z Golgiho aparátu do ER.

Záver: Na DNA a funkčnej úrovni sme potvrdili 1. prípad COG6-CDG v SR. Kazuistika potvrdzuje dôležitosť dostupnosti včasnej DNA analýzy aj nutnosti konfirmačných analýz pre definitívnu diagnostiku.

PIGQ-asociovaný deficit glykofosfatidylinozitolu ako príčina rekurentných atakov rabdomyolýzy: kazuistiky a prehľad literatúry

Kušíková K.¹, Smogavec M.², Faust Ch.³, Laccione F.², Karall D.⁴, Bonfig W.⁵, Weis D.

¹Klinika detskej neurológie LF UK a NÚDCH v Bratislave

²Inštitút lekárskej genetiky, Medicínska univerzita, Viedeň

³Oddelenie lekárskej genetiky, Medicínska univerzita Innsbruck

⁴Oddelenie pediatrie I. a vrodených metabolických porúch, Medicínska univerzita Innsbruck

⁵Pediatrická klinika Wels-Grieskirchen, Wels

⁶Inštitút lekárskej genetiky, Univerzitná nemocnica Jána Keplera, Linz

Úvod: PIGQ (z ang. *phosphatidyl-inositol glycan anchor biosynthesis class Q*) je dôležitým koenzýmom v komplexe N-acetylglukozamín transferázy. Proteín PIGQ je aktívny už v prvom kroku biosyntézy GPI-kotvy, ktorá slúži na posttranslačnú úpravu bielkovín (glykozyláciu) na povrchu eukaryotických buniek. Proteín je kódovaný rovnomenným génom PIGQ (OMIM: * 605754). Bialelické mutácie v géne PIGQ vedú k charakteristickému fenotypu s multisystémovým postihnutím, známym ako *Multiple congenital anomalies-hypotonia-seizures syndrome 4* (skr. MCAHS4, OMIM: # 618548). Keďže patomechanizmus spočíva v glykozylačnej poruche, ochorenie sa radí do skupiny kongenitálnych porúch glykozylácie (skr.

CDG). K dnešnému dňu bolo v literatúre opísaných celosvetovo iba 11 MCAHS4 pacientov, pričom rabdomyolýza nebola u nich doposiaľ zaznamenaná.

Metódy: V našej prednáške uvádzame dva nové prípady MCASH4 pacientov s detailným opisom fenotypových znakov a ich porovnaním s už publikovanými prípadmi.

Výsledky: U našich pacientov boli zistené dva nové, doposiaľ nepopísané varianty v géne PIGQ: c.1087_1088insC a c.1370T>C, ako aj jeden rekurentný variant c.1199_1201del. Obaja pacienti vykazovali charakteristické črty PIGQ deficiencie. Jeden pacient zomrel vo veku 12 mesiacov s vývojovým oneskorením, hypotóniou, dysmorfiou tváre a kontraktúrami kĺbov. Druhý pacient zomrel vo veku 13 rokov, avšak už od 3. roku života trpel závažným globálnym vývojovým oneskorením, farmakorezistentnou epilepsiou a opakovanými atakmi rabdomyolýzy.

Záver: MCASH4 je raritné ochorenie zo skupiny CDG s multisystémovým postihnutím, ktoré ostáva často nerozpoznané. Cieľom nášho príspevku je poukázať na špecifické fenotypové znaky MCASH4, ako aj na nový, doposiaľ nepopísaný znak, a to rekurentné ataky rabdomyolýzy provokované infekciou u PIGQ-deficientných pacientov.

X-vázaná adrenoleukodystrofia jako příčina spastické paraparézy

Osičková L.¹, Uhrová Mészárosová A.², Curtisová V.¹, Vrtěl R.¹

¹Ústav lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Olomouc

²Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Úvod: Hereditární spastická paraparéza (HSP) je skupina neurodegenerativních onemocnění, které se projevují progredující spasticitou a slabostí dolních končetin. HSP je klinicky i geneticky heterogenní, nejčastější typ dědičnosti je AD (70–80%), AR formy jsou popisovány u 10–20% pacientů, X vázané formy u méně než 5%. Prezентujeme pacientku s X vázanou formou onemocnění vzniklou na podkladě patogenní varianty v genu ABCD1.

Metody: 53letou ženu odesílá neurolog pro progredující potíže s chůzí od 43 let, ve stejném věku prodělala též první epileptický záchvat (v.s. lezionární), na konkrétní dotaz potvrzuje smíšenou inkontinenci. RA je negativní. Cestou Neurogenetické laboratoře FN Motol byla provedena CNV analýza exonů genu SPAST a ATL1 metodou MLPA s fyziologickým nálezem a následně bylo doplněno NGS vyšetření.

Výsledky: NGS vyšetřením s vyhodnocením virtuálního panelu 144 genů spojovaných s HSP byla v genu ABCD1 nalezena kauzální patogenní varianta c.1415_1416del, p.(Gln472Argfs*83) v heterozygotním stavu. Patogenní varianty v genu ABCD1 podmiňují vznik X vázané adrenoleukodystrofie (MIM#300100) s několika fenotypovými projevy a X vázanou dědičností.

U žen se projevuje v dospělosti, téměř výhradně jako forma adrenomyeloneuropatie (AMN) s penetrancí 65–88%.

U mužů je penetrance téměř 100 %, jsou u nich popisovány tři klinické formy – adrenomyeloneuropatie (40–45%), nejzávažnější adrenoleukodystrofie (31–35% v dětském věku, 4–7% v adolescentním věku, 20% mužů s AMN) a izolovaná adrenální insuficience (až 10%), formy se mohou překrývat. Patogenní varianty v genu ABCD1 jsou z 95% familiární, max. 5% je dáno *de novo*.

Závěr: Molekulárně-genetické vyšetření vedlo k diagnóze X-vázané adrenoleukodystrofie jako vzácné příčiny obtíží u pacientky s klinickým obrazem HSP. Tento nálezn umožnil kaskádové testování v rodině s nálezem familiární varianty u asymptomatické 36leté dcery pacientky a u jejího 3,5letého syna, který již má neurologické obtíže (PMR, dysfázie, ADHD) a je aktuálně došetřován s podezřením na adrenoleukodystrofii.

Vyšetření ukončilo diagnostickou odyseu pacientky a umožní cílenou péči u jejích rodinných příslušníků.

Familiárny výskyt DMO so spastickou kvadruparézou, využitie nových metód genetickej diagnostiky v praxi, kazuistika

Mistrík M.¹, Lopáčková V.¹, Konečný M.², Wachsmannová L.², Krasňanská G.²

¹Ambulancia lekárskej genetiky, Spišská Nová Ves, Prešov, Unilabs Slovensko, s. r. o.

²Laboratóriá genomickej medicíny GHC GENETICS SK

Na ambulanciu lekárskej genetiky začala pred 14 rokmi chodiť rodina s dvoma

deťmi s rovnakými klinickými ťažkosťami – spastická kvadruparéza, epilepsia, mentálne zaostávanie. Genetická diagnostika začala vtedy dostupnými analýzami, ktoré príčinu ťažkostí u detí nezistili. Pred 8 rokmi bola na ambulancii konzultovaná matka detí, ktorá bola v tom čase v III. trimestri gravidity, plod mal patologický USG nález, prenatalná genetická diagnostika vtedy realizovaná nebola. Minulého roku sa na ambulancii lekárskej genetiky objavilo tretie dieťa, ktoré malo rovnaké ťažkosti ako dvaja starší súrodenci. Vzhľadom na podstatne širšie diagnostické možnosti, bolo možné na diagnostiku využiť novú metódu genetickej laboratórnej diagnostiky – celoexómové sekvenovanie (WES), ktoré až po rokoch dalo nám a rodine odpoveď na príčinu ochorenia. Rýchly rozvoj genetickej diagnostiky umožňuje zistiť príčinu ochorenia u podstatne väčšieho počtu pacientov ako v minulosti, v blízkej budúcnosti snáď budú tieto rodiny profitať aj z génovej liečby.

Pallisterov-Killióv syndróm – vzácná príčina závažnej vrodenej diafragmatickej hernie

Godava P.^{1,2,4}, Dhaifalah I.^{1,2}, Hanzlíková P.³, Havalová J.², Sobotková V.⁴, Konečná A.², Šrámková Kojecká J.⁵, Dolinská D.⁶

¹Fetmed – Centrum fetálnej medicíny, genetiky a gynekologie, Olomouc

²Centrum fetálnej medicíny a lekárskej genetiky, KNTB Zlín

³Ústav radiodiagnostický, FN Ostrava

⁴Laboratoř lekárskej genetiky, Spadia LAB, a.s., Nový Jičín

⁵Ústav klinické a molekulární patologie, FN Olomouc

⁶Patologicko-anatomické oddělení, KNTB Zlín

Pallisterov-Killiánov syndróm je vzácne, sporadické ochorenie spôsobené tetrazómiou 12p v mozaike. Medzi faciálnu dysmorfriu patrí hypertelorizmus, epikanty, plochý koreň nosa, antevrtované nostrily, dlhé filtrum, nízko nasadajúce ušnice. U malých detí sa vyskytuje napr. výrazné čelo, vysoká predná vlasová hrnica, okrsky alopecie. Mentálna retardácia býva väčšinou ťažká. Medzi vrodené vývinové chyby patria hlavne chyby srdca, diafragmatická hernia, omfalokéla, análna atrezia a polydaktýlie. Prednáška prezentuje 2 prenatalne prípady závažnej vrodenej diafragmatickej hernie s faciálnou stigmatizáciou, pričom podrobné cytogenetické vyšetrenie niekoľkých fetálnych tkanív odhalilo rôzne percentuálne zastúpenie 3, 4, ale prekvapivo i 6 kópií materiálu z chromozómovej oblasti 12p.

Mikrodelečné a mikroduplikačné syndrómy v ambulancii lekárskeho genetika – kazuistiky

Drenčáková P.¹, Giertlová M.^{1,2}, Matúšová M.³, Zemjarová Mezenská R.³, Verebová J.⁴, Stretavská P.⁵, Škorvánek M.²

¹Ambulancia lekárskej genetiky Unilabs Košice

²Klinika neurológie, LF UPJŠ Košice

³Laboratórium lekárskej genetiky Unilabs Bratislava

⁴Laboratórium lekárskej genetiky Unilabs Košice

⁵Ambulancia lekárskej genetiky Unilabs Banská Bystrica

Úvod: Mikrodelečné a mikroduplikačné syndrómy sú skupinou genetických ochorení podmienených submikroskopickými deléciami alebo duplikáciami častí chromozómov. Medzi typické prejavy patrí oneskorený psychomotorický vývin, neurovývojové poruchy, intelektový deficit, poruchy autistického spektra, mnohopočetné vrodené vývojové chyby, aj faciálna dysmorfia.

Výsledky: Prezentujeme kazuistiky pacientov z našej ambulancie s mikrodelečnými a mikroduplikačnými syndrómami s netypickým fenotypom, veľmi zriedkavými mikrodeléciami a mikroduplikáciami, viacerými súbežnými geneticky podmienenými ochoreniami alebo s redukovanou penetranciou so syndrómom zdedeným od asymptomatického rodiča.

Záver: V minulosti často používané metódy FISH zamerané na konkrétne suponované syndrómy sú v súčasnosti vo veľkej miere nahrádzané metódami arrayCGH, SNP microarray, alebo NGS, schopnými zachytiť mikrodelečné a mikroduplikačné syndrómy na úrovni celého genómu, čo vedie k odhaľovaniu množstva nových menej frekventovaných mikrodelécií a mikroduplikácií vedúcich k rozvoju geneticky podmienených ochorení. Väčšina mikrodelečných a mikroduplikačných syndrómov vzniká *de novo*, niektoré môžu byť dôsledkom prítomnosti balansovanej chromozómovej translokácie u rodiča.

Genetickú konzultáciu v rodine môže v niektorých prípadoch komplikovať

vať rozdielna expresivita a redukovaná penetrancia niektorých mikrodelečných a mikroduplikačných syndrómov alebo nálezy s nejasným klinickým významom, ktoré môžu predstavovať výzvu predovšetkým pri plánovaní rodiny a prenatálnej diagnostike uvedených ochorení.

Pseudohypoparatyreóza: mutácia či metylácia?

Fialková E.¹, Janečková L.²,
Skalická K.², Vitáriušová E.³,
Tichá Ľ.³, Hrčková G.⁴

¹Ambulancia lekárskej genetiky
Unilabs Bratislava

²Laboratórium klinickej a molekulovej
genetiky, DK LF UK, NÚDCH
Bratislava

³Endokrinologická ambulancia,
DK LF UK, NÚDCH Bratislava

⁴Ambulancia lekárskej genetiky,
DK LF UK, NÚDCH Bratislava

Úvod: Pseudohypoparatyreóza (PHP) predstavuje heterogénnu skupinu raritných hereditárnych ochorení s rôznym stupňom rezistencie na parathormón (PTH) pri normálnej funkcii obličiek. Laboratórne sa prejavuje hypokalcémiou a hyperfosfatémiou pri zvýšených hlad-

nách PTH mechanizmom spätnej väzby s potrebou doživotnej suplementácie vápnika a aktívnej formy vitamínu D. Presná prevalencia PHP nie je známa a v rôznych krajinách sa líši, ale v literatúre sa opisuje dvakrát častejšie u žien ako u mužov. Podľa klinického fenotypu a biochemických parametrov rozlišujeme 5 typov pseudohypoparatyreózy: typ 1a, 1b, 1c, typ 2 a pseudopseudohypoparatyreózu.

Kazuistiky: Prezентujeme dva prípady nepríbuzných pacientok s atypickým priebehom pseudohypoparatyreózy typu 1b s narušeným metylačným vzorcom génu GNAS, ktorý sa nachádza na 20. chromozóme v polohe q13.32. Ide o imprintovaný gén, ktorého porucha inaktívácie je asociovaná so špecifickým typom klinického fenotypu podľa rodičovského pôvodu defektnej alely.

Metóda: Metylačne špecifická MLPA analýza

Záver: Význam genetického vyšetrenia pacientov so suponanou pseudohypoparatyreózou je dôležitý nielen z etiologického hľadiska, určenia typu pseudohypoparatyreózy a rizika pre potomstvo, ale hlavne pre ich ďalší manažment.



XXXIV. IZAKOVIČOV MEMORIÁL 2024

Program a abstrakty

Spracovala spoločnosť SOLEN, s. r. o.

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

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

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

Obchodné oddelenie: Monika Horáková, horakova@solen.sk

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

Suplement neprešiel jazykovou korektúrou.

Reprodukcia obsahu je povolená len s priamym súhlasom redakcie.

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

ISBN: 978-80-89858-33-0

SOLEN
MEDICAL EDUCATION

Podujatie podporili

hlavní partneri



partneri

