



SBORNÍK

28. CELOSTÁTNÍ KONFERENCE

DNA DIAGNOSTIKY

Český Krumlov

25.-27.3.2026

SBORNÍK

28. CELOSTÁTNÍ KONFERENCE DNA DIAGNOSTIKY

Český Krumlov

25.-27.3.2026

Pořadatelé: Společnost lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP
Laboratoř molekulární biologie a genetiky Nemocnice České Budějovice, a.s.

Autor: Scheinost Ondřej, Dušková Petra, Prušáková Daniela, Reichensdörferová Dominika

Titul: Sborník 28. celostátní konference DNA diagnostiky, 25.-27.3.2026

Nakladatelství: Laboratoř molekulární biologie a genetiky
Nemocnice České Budějovice, a.s., B. Němcové 585/54, České Budějovice 37001

Rok vydání: 2026-03-24

ISSN 2571-1997

Genome Foundation Models and Their Implications for Human Genetics

Brix G.^(1, 2, 3), Durrant M.G.^(1, 2), Ku J.^(1, 2), Naghipourfar M.^(1, 2, 4) et. al.

1 Arc Institute, Palo Alto, CA, USA

2 Evo 2 Core Team, Palo Alto, CA, USA

3 Stanford University, Stanford, CA, USA

4 University of California, Berkeley, Berkeley, CA, USA

All of life encodes information with DNA. Although tools for genome sequencing, synthesis and editing have transformed biological research, we still lack sufficient understanding of the immense complexity encoded by genomes to predict the effects of many classes of genomic changes or to intelligently compose new biological systems. Artificial intelligence models that learn information from genomic sequences across diverse organisms have increasingly advanced prediction and design capabilities. Here we introduce Evo 2, a biological foundation model trained on 9 trillion DNA base pairs from a highly curated genomic atlas spanning all domains of life to have a 1 million token context window with single-nucleotide resolution. Evo 2 learns to accurately predict the functional impacts of genetic variation—from noncoding pathogenic mutations to clinically significant *BRCA1* variants—without task-specific fine-tuning. Mechanistic interpretability analyses reveal that Evo 2 learns representations associated with biological features, including exon–intron boundaries, transcription factor binding sites, protein structural elements and prophage genomic regions. The generative abilities of Evo 2 produce mitochondrial, prokaryotic and eukaryotic sequences at genome scale with greater naturalness and coherence than previous methods. Evo 2 also generates experimentally validated chromatin accessibility patterns when guided by predictive models and inference-time search. We have made Evo 2 fully open, including model parameters, training code, inference code and the OpenGenome2 dataset, to accelerate the exploration and design of biological complexity.

Jaká je současná role AI v lékařské genetice?

Macek M.

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

Tradiční statistické metody a strojové učení (machine learning) přispěly k významnému pokroku ve výzkumu a DNA diagnostice genetických onemocnění. Stále však narážejí na limity při zpracování tzv. vysoce dimenzionálních (fenotypových) nebo nestrukturovaných údajů z klinicko-genetických zpráv. Nástup velkých jazykových modelů (LLMs) založených na architektuře transformátorů (transformers), přináší velký potenciál v porozumění kontextu biologických i klinických dat. Tento příspěvek shrnuje výsledky systematického přehledu zaměřeného na roli generativní umělé inteligence (AI) v genomice a diagnostice vzácných onemocnění. Hlavní přínos LLM je v následujících oblastech- a) extrakce vztahu „onemocnění-kauzální gen (disease-gene association)“ pomocí rozpoznávání tzv. jmenových entit z odborné literatury, čímž doplňují databáze jako je OMIM, Orphanet nebo ClinVar; b) při převodu fenotypových popisů do HPO termínů a s predikcí diagnóz z elektronických záznamů či fotografií obličeje (např. GestaltMML); d) v predikci patogenetického dopadu nalezených variant z in silico modelů (např. AlphaMissense, AlphaGenome, SpliceAI, GENA-LM) a e) uplatnění interaktivních „AI asistentů“ pro interpretaci genetických testů nebo automatizované genetické poradenství pro odborníky, a pacienty a jejich rodiny. Ačkoli LLM nyní excelují v mnoha úlohách, přetrvávají výzvy v integraci multimodálních dat (tj. genomika, epigenetika,

metylační profily, klinický popis, obrazová dokumentace v 2D/3D) do jednotných „klinických pipelines“. Hlavními limitacemi LLM jsou a) halucinace, které vyžadují manuální ověřování faktů, a nutnost řešit zkreslení (inherent bias) v trénovacích datech, které jsou založeny na převládajících „anglosaských“ datech. Generativní AI představuje slibný nástroj pro zefektivnění diagnostiky genetických onemocnění, ale v současné době její klinická implementace však vyžaduje robustní validaci a dohled specialistů odborníků.

Jsou údaje v klinické genetice ve světle užití nástrojů umělé inteligence dostatečně chráněny

Těšitelová V.

Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, Praha

Přednáška se zaměřuje na problematiku ochrany osobních údajů, zejména zvláštních kategorií osobních údajů, v kontextu dynamického rozvoje a rostoucího využívání nástrojů umělé inteligence (AI). Pozornost je soustředěna především na ochranu genetických údajů jakožto citlivé podskupiny této zvláštní kategorie osobních údajů, jejichž zpracování přináší specifické právní a etické výzvy. Problematika je nahlížena z perspektivy české právní úpravy, která je následně komparována s relevantním mezinárodním legislativním rámcem.

Na národní úrovni se přednáška věnuje klíčovým právním předpisům upravujícím poskytování zdravotních služeb v České republice, a to zákonu č. 372/2011 Sb., o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, a zákonu č. 373/2011 Sb., o specifických zdravotních službách, oba ve znění pozdějších předpisů. Stručně je reflektována i související právní úprava v oblasti zdravotnických prostředků. Tyto předpisy jsou zasazeny do širšího kontextu evropské regulace, zejména Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2024/1689 o harmonizovaných pravidlech pro umělou inteligenci (Akt o umělé inteligenci), a Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2016/679 (GDPR).

Závěr přednášky se věnuje dalším krokům v této oblasti pro futuro.

Klíčová slova: umělá inteligence ve zdravotnictví; genomická data; ochrana osobních údajů; genetické údaje; zdravotnické právo; české právo.

Poznámka autorky: Příspěvek představuje rámcové a úvodní srovnání české právní úpravy s mezinárodním legislativním prostředím ve stručném rozsahu odpovídajícím konferenčnímu formátu. Neaspiruje na komplexní právní analýzu, avšak usiluje o otevření odborné diskuse k danému tématu.

Klinická genetika a diagnostika

Z teorie do praxe: 2 roky HiFi long-read sekvenování – posuny, zkušenosti a budoucnost

Véle D.

Čas letí – a HiFi sekvenování s ním. Přijďte si poslechnout, kam se za poslední dva roky posunulo HiFi sekvenování v Česku a na Slovensku. Podíváme se na to, kde se s HiFi pracuje, jaké jsou dosavadní zkušenosti a představíme i několik zajímavých kazuistik. Zkrátka – jak se teorie postupně proměňuje v každodenní praxi.

Nová odborná platforma pro genetiku v kardiologii – webové stránky: www.kardiogenetika.cz

Tománková S.¹, Piherová L.², Krebsová A.¹ v zastoupení PS Kardiogenetika při SLG ČSL JEP

1 Centrum dědičných kardiovaskulárních onemocnění, Klinika Kardiologie, IKEM, Praha

2 Laboratoř pro studium vzácných nemocí, KPDPM, 1. LF UK, Praha

Úvod: V rámci projektu zaměřeného na podporu informovanosti odborníků představujeme nové webové stránky (<https://www.kardiogenetika.cz>), které by měly být klíčovou platformou propojující klinickou kardiologickou i genetickou péči s molekulárně-genetickou diagnostikou dědičných kardiovaskulárních onemocnění. Hlavním cílem platformy je sjednocení a standardizace mezioborové a mezicentrové diagnostiky v České Republice a podpora implementace personalizované medicíny do běžné klinické praxe.

Výsledky: Struktura webu je rozdělena do několika klíčových sekcí. Úvodní část přináší základní informace o projektu a orientaci v jednotlivých částech platformy, zatímco sekce „O nás“ představuje dlouhodobé cíle, odborné zázemí a vize pracovní skupiny. V části „Klinická péče“ jsou systematicky shrnuta dědičná kardiovaskulární onemocnění, indikace ke genetické konzultaci a molekulárně-genetickému vyšetření, diagnostická skórovací schémata a klasifikace variant dle ACMG. Sekce „Laboratorní diagnostika“ popisuje používané analytické metody, metodiku vyšetření a jednotlivé kroky analytického procesu. Významnou součástí je také sekce „Zdroje“, která nabízí odkazy na mezinárodní doporučení, odborné publikace a specializované nástroje, včetně klinických a genetických rizikových kalkulaček, anotačních nástrojů a predikčních systémů pro interpretaci genetických variant. Samostatná sekce je věnována aktualitám a novinkám z oblasti výzkumu a nechybí ani kontaktní část umožňující snadné spojení s odborným pracovištěm.

Závěr: Web je určen odborné veřejnosti a slouží jako přehledný informační a edukační nástroj zvyšující dostupnost aktuálních, kvalitních a ověřených informací v oboru. Webové stránky systematicky propojují klinickou péči s molekulárně-genetickou diagnostikou. Pravidelná aktualizace je zajištěna.

Granty: grant No. NW25J_02_00024, s podporou firmy ROCHE

Dědičné příčiny aortálních syndromů v reprezentativní kohortě dospělých pacientů

Krebsová A.¹, Votýpka P.², Tománková S.¹, Peldová P.², Gardáš D.¹, Adamová M.¹, Szarszoi O.¹, Pirk J.¹, Macek M.², Kautzner J.¹

1 Centrum dědičných kardiovaskulárních onemocnění, Klinika kardiologie, IKEM, Praha

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

Úvod a Cíle: Aortální syndromy (AOS) jsou heterogenní skupinou dědičných onemocnění spojených s rizikem aneurysmatu a disekce aorty. Cílem naší studie bylo stanovit dědičné příčiny u pacientů léčených v mezioborovém centru IKEM.

Pacienti a metody: V letech 2014–2025 jsme identifikovali 648 dospělých pacientů (450 mužů / 198 žen, průměrný věk při diagnóze 50/53 let) s potenciálně dědičným AOS. Soubor zahrnoval 130/648 případů s akutní disekcí (přeživších nebo post mortem). Všichni probandi/příbuzní podstoupili klinicko genetickou konzultaci a molekulárně genetickou analýzu s využitím sekvenování nové generace (cílené/exomové sekvenování; SOPHiA GENETICS, Švýcarsko). Rodinný kaskádový screening byl proveden u 717 příbuzných (1,1 na případ).

Výsledky: Varianty třídy 4 a 5 v asociovaných genech byly zjištěny u 52 (8 %) všech případů (14 % u disekcí). Identifikované geny nesoucí patogenní varianty DNA jsou FBN1 (24/52, 46 %), COL3A1 a TGFBR1 (5/52, každý 10 %), MYH11 (3/52, 6 %), PKD1, TGFBR2, COL4A5, COL1A1 a COL1A2 (2/52, každý 4 %), COL4A3, JAG1, MFAP5, SLC2A10 a SMAD6 (1/52, každý 2 %). Rodinný kaskádový screening identifikoval dalších 32/717 jedinců s G+, zatímco kardiologický screening prokázal aortopatii u 270/717.

Závěr: Genetický výtěžek u potenciálně dědičného onemocnění aorty je nízký. Nejčastějšími diagnózami jsou Marfanův a Loeys-Dietzův syndrom. Navzdory genetickému testování screening identifikoval až 38 % rizikových příbuzných, kteří podstoupili individualizovanou kardiologickou a chirurgickou léčbu. Naše výsledky dokumentují současný stav kardiogenetické péče v našem centru a ukazují na nutnost mezioborové péče.

Granty: Ministerstvo zdravotnictví České republiky, grant č. NW25J_02_00024

Autozomálně dominantní polycystická choroba ledvin – HybrAmp a další techniky sekvenování genu PKD1

Elišáková V.¹, Hirschfeldová K.¹, Obeidová L.¹, Janošíková B.¹, Hanulíková A.¹, Reiterová J.², Štekrová J.¹

1 Ústav biologie a lékařské genetiky, VFN a 1. LF UK, Praha

2 Klinika nefrologie, VFN a 1. LF UK, Praha

Autozomálně dominantní polycystická choroba ledvin (ADPKD) je nejčastější dědičné onemocnění ledvin, charakterizované postupnou tvorbou renálních i extrarenálních cyst a vysokým rizikem rozvoje chronického onemocnění ledvin. Od roku 2012 probíhá molekulárně-genetická analýza genů asociovaných s ADPKD v naší laboratoři metodou sekvenování nové generace, zpočátku v rámci výzkumu a od roku 2019 rovněž diagnosticky. Kromě dvou hlavních kauzálních genů (geny PKD1 a PKD2) je v současnosti analyzováno dalších 25 doplňkových genů, které jsou součástí rutinního panelu OIDIP. Za přibližně 75–85 % případů ADPKD a těžší průběh onemocnění je zodpovědný gen PKD1, jehož analýza je technicky velmi náročná zejména kvůli přítomnosti pseudogenů a vysoké míře alelické heterogenity. Z tohoto důvodu jsou v

naší laboratoři kontinuálně vyvíjeny nové postupy a modifikace, které obohacují a zefektivňují techniku klasického panelového sekvenování na platformě Illumina. Většina těchto postupů je založena na tvorbě amplikonové knihovny genů PKD1 a PKD2 pomocí specifických „Long-range“ PCR reakcí, které eliminují přítomnost pseudogenů v sekvenační reakci. V rutinní diagnostice je takto od roku 2023 využíván modul HybrAmp, který umožňuje smíchání amplikonové knihovny genů PKD1 a PKD2 s klasickou panelovou hybridizační knihovnou a jejich paralelní sekvenování v jedné zkumavce. Pomocí této techniky bylo v naší laboratoři dosud vyšetřeno 250 pacientů. Kromě modulu HybrAmp je v současnosti nově zaváděno také sekvenování dlouhým čtením na platformě Oxford Nanopore Technologies (ONT), které bude rovněž využito pro rutinní sekvenování dlouhých amplikonů genu PKD1.

Reverzní fenotypování u nefrogenetických syndromů – spektrum fenotypů u nových patogenních variant genu SALL1

Thomasová D., Wayhelová M., Dvořáková L., Libík M.

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

Diagnostika na podkladě klinického fenotypu a dysmorfologie je u syndromických genetických onemocnění ledvin velmi obtížná. Tato onemocnění se vyznačují jak vysokou heterogenitou genotypovou i klinickou, s často nespecifickými symptomy, různou penetrancí genů, a tak i velmi vysokou variabilitou symptomů uvnitř rodiny.

Renální monogenní syndromická onemocnění jsou často asociovaná se senzorkým postižením a kardiologickou problematikou a mohou se manifestovat v celé šíři symptomů, od čistě renálních obtíží až po „full house“ syndromické vyjádření, vyvíjející se postupně v průběhu celého života. U těchto onemocnění proto volíme přístup „genotype first“ a reverzní fenotypování k ozřejmění korelace genotypu a fenotypu. Jako příklad ukážeme fenotypové spektrum u nových variant v genu SALL1 asociovaného s Townes-Brockovým syndromem na kazuistikách 4 rodin, kdy fenotypové rysy často neodpovídají TBS nebo mimikují spíše jiný genetický syndrom.

Klinicky/fenotypově je Townes-Brockův syndrom charakterizován typickou trias: atresie anu – malformace palců-dysplazie ušních boltců. U indexových pacientů ze 4 reportovaných rodin bylo provedeno WES sekvenování s nálezem 4 různých trunkujících nebo frameshift variant v genu SALL1. Z těchto variant jsou 3 nové, dosud nepopsané a jedna je rekurentní známá varianta. U 2 indexových pacientů se onemocnění manifestovalo ve formě hypoplazie ledvin evokující VVV ledvin, u dalšího probanda anorektální atrezii a poslední pacient měl plné fenotypové vyjádření TBS.

Implementace WES umožnila určit diagnózu ve velmi krátké době u nejasných syndromických pacientů s renálním postižením a umožnila následnou individualizovanou péči o pacienta. V tomto kontextu je navíc správná MG diagnóza klíčová pro správný výběr žijících dárců ledviny v případě transplantace ledvin.

Kedy nám sekundárne nálezy zachránili krk

Konečný M.^{1,2}, Krasňanská G.^{1,2}, Blandová G.¹, Eliaš V.¹, Ďurišová K.¹, Čepčková K.¹

1 Laboratórium genomickej medicíny, AGEL Gen, s.r.o., Vedecký park UK, Bratislava, Slovensko

2 Ústav biológie a biotechnológií, Oddelenie biológie, Fakulta prírodných vied, UCM v Trnave, Slovensko

Genomika a jej prístupy priniesli do bežnej genetickej diagnostickej praxe využitie komplexných DNA testov, ktoré sú postavené najmä na báze masívneho paralelného sekvenovania (MPS). MPS technológie nám poskytujú rôzne možnosti prístupu k vyšetrovaným ochoreniam, a to už formou menších panelov génov, prípadne stredne veľkých panelov génov, ale aj panelov génov postavených na platformách tzv. klinického exómu (CES, clinical exome sequencing), resp. kompletného exómu (WES, whole exome sequencing). Rozsah takýchto komplexných testov je individuálny podľa výrobcu, avšak pohybuje sa rádovo okolo 4-5 000 génov pri platformách CES a 19-20 000 génov pri platformách WES.

Možnosť vyšetrenia takého obrovského množstva génov naraz však so sebou prináša aj svoje úskalía. Okrem zvýšeného dôrazu na správne manažovanie genomických dát a taktiež rôzne technické obmedzenia sa jedná aj o komplexnejšie prístupy pri interpretácii variantov. Komerčná dostupnosť týchto prístupov a veľkosť interpretovaných virtuálnych panelov evokuje dojem, že primárne nálezy vyriešia každý diagnostický problém. V rámci tejto prezentácie sa pozrieme na niektoré situácie, v ktorých primárne nálezy nezodpovedali základnú otázku príčiny vzniku komplexného genetického ochorenia.

Diagnosticke výtěžnost molekulárně-genetického vyšetření u syndromových a nesyndromových kraniosynostóz

Marek Turnovec¹, Miroslava Balaščáková¹, Simona Janoušková¹, Veronika Oppeltová¹, Karolína Kočandrlová¹, Anna Křepelová¹, Jakub Táborský², Jana Táborská², Katarína Horčíčáková², Miroslav Vaculík², Miloslav Holub², Petr Skalický², Petr Libý², Ondřej Bradáč², Vladimír Beneš², Markéta Havlovicová¹, Milan Macek¹

1 Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol a Homolka

2 Neurochirurgická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol a Homolka

Úvod:

Kraniosynostóza s incidencí 1:2100–1:2500 živě narozených představuje etiologicky heterogenní skupinu poruch charakterizovaných předčasným uzávěrem lebečních švů. Izolované formy tvoří přibližně 70 % případů, zatímco 30 % je součástí definovaných syndromových jednotek. Dosud bylo popsáno více než 150 syndromů a identifikováno přes 300 genů s možnou asociací s tímto fenotypem. Nejčastěji jsou postiženy geny kódující receptory pro fibroblastové růstové faktory (FGFR1, FGFR2, FGFR3), dále transkripční a regulační faktory (TWIST1, EFNB1, MSX2, RUNX2). Etiopatogeneze zahrnuje monogenní, multifaktoriální i negenetické mechanismy.

Metody:

Prospektivně od roku 2022 byl analyzován soubor 151 pacientů s nesyndromovou a 16 pacientů se syndromovou kraniosynostózou. Molekulárně genetická analýza byla provedena metodou celoxomového sekvenování (WES), nebo cíleného NGS panelu zahrnujícího geny asociované s kraniosynostózou. Varianty byly klasifikovány dle doporučení ACMG s ohledem na fenotypovou korelaci.

Výsledky:

Patogenní nebo pravděpodobně patogenní varianta konzistentní s klinickým obrazem byla identifikována u 18 pacientů (11,92 %) s izolovanou kraniosynostózou a 12 pacientů (75 %) indikovaných se podezřením na

syndromovou kraniosynostózou. Nejčastěji šlo o poruchy asociované s variantami v genech FGFR2, FGFR3, EFNB1, SKI, ALPL. U části rodin vedla molekulárně genetická verifikace diagnózy k upřesnění způsobu dědičnosti a kvantifikaci rizika rekurence v rámci genetického poradenství.

Závěr:

Prezentovaný soubor ukazuje vysokou diagnostickou výtěžnost molekulárně genetického testování u pacientů se syndromovou i nesyndromovou kraniosynostózou. Identifikace kauzální varianty má přímý dopad na klinický management, zejména u syndromových forem, které jsou častěji spojeny s mnohočetnou synostózou a extrakraniálními manifestacemi. Včasná genetická diagnostika umožňuje stratifikaci rizika komplikací, včetně rozvoje intrakraniální hypertenze, a optimalizaci multidisciplinární péče.

Podpořeno MZ ČR – RVO (Fakultní nemocnice v Motole - FNMH, 64203)

Význam NGS v identifikaci kauzálních genetických variant u pacientů s fenotypem dětské mozkové obrny

Vyhnálková E.¹, Balašáková M.¹, Šafka Brožková D.², Kraus J.³, Mušová Z.¹, Dvořáková L.¹, Ryba L.¹, Havlovicová M.¹, Uhrová Mészáros A.²

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

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

3 Klinika dětské neurologie, 2. LF UK a FN Motol a Homolka, Praha

Úvod: Dětská mozková obrna (DMO) je klinicky definována jako neprogresivní porucha hybnosti způsobená poškozením vyvíjejícího se mozku v prenatálním, perinatálním či časném postnatálním období. Nové poznatky ukazují, že významná část jedinců s klinickým obrazem typické nebo komplikované formy DMO má monogenně podmíněné neurogenetické onemocnění. Data ze střední a východní Evropy jsou v tomto ohledu dosud omezená. V této studii jsme hodnotili diagnostickou výtěžnost sekvenování nové generace (NGS) v souboru pacientů odeslaných na genetiku s klinickou diagnózou DMO.

Metody: Retrospektivně jsme analyzovali soubor 32 pacientů odeslaných s diagnózou DMO, u nichž byla provedena analýza pomocí celoxomového sekvenování, klinického exomu nebo cíleného HSP panelu.

Výsledky: Patogenní nebo pravděpodobně patogenní varianta odpovídající klinickému obrazu byla identifikována u 14 ze 32 jedinců (44 %). Nejčastější diagnózy spadají do spektra hereditárních spastických paraparéz (HSP), zahrnující varianty v genech ATL1 (SPG3A), SPAST (SPG4), KIF1A (SPG30) a AP4B1 (SPG47). Další nálezy zahrnují neurologické onemocnění asociované s genem MECP2 (DYT29), kongenitální svalovou dystrofii asociovanou s genem COL6A2 a dále neurovývojová onemocnění podmíněná patogenními variantami v genech ARID1A (Coffin-Siris syndrom typ 2), SPTBN1, MAPK8IP3 (NEDBA syndrom), OSGEP (Galloway-Mowat syndrom typ 3), IQSEC2, KIDINS220 (SINO syndrom), KCNH1 (Temple-Baraitser syndrom) aIFIH1 (Aicardi-Goutières syndrom 7). Molekulárně genetická diagnóza umožnila v rodinách cílené poradenství a upřesnění rizika rekurence.

Závěr: Tento soubor prokazuje vysokou diagnostickou výtěžnost NGS u pacientů s klinickou diagnózou DMO, s převahou nálezů v genech asociovaných s HSP. Tyto výsledky jsou v souladu s recentními mezinárodními daty, která identifikují geny SPAST, ATL1 a KIF1A jako opakovaně zastoupené příčiny fenotypu DMO, zejména u bilaterálních spastických forem. Nálezy podporují rutinní zařazení exomového sekvenování do vyšetřovacího algoritmu u pacientů, kteří byli dříve běžně vedeni pod diagnózou DMO, a to bez ohledu na perinatální anamnézu či nález na zobrazovacích metodách.

Analýza tandemových repetit z NGS dat 1721 pacientů s neurologickými nemocemi

Šafka Brožková D.^{1,2}, Uhrová Meszárosová A.¹, Laššuthová P.¹, Krejčíková J.¹, Mušová Z.², Musilová A.¹

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

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

Úvod:

Tandemové repetice (TR) jsou oblasti genomu tvořené krátkým nukleotidovým motivem opakovaným mnohonásobně za sebou. TR jsou vysoce polymorfní z hlediska počtu opakování daného motivu. Nadměrné zmnožení TR bylo prokázáno jako primární příčina řady neurologických onemocnění. Standardní metody neumožňují přesné stanovení délky TR; k detekci expanzí TR v MPS datech je nutné využít speciální bioinformatický přístup.

Metody:

Analýza expanzí TR byla provedena u 66 TR lokusů pomocí ExpansionHunter v5.0.0 (Dolzhenko et al., 2019). Do analýzy byla zahrnuta MPS data 1 721 jedinců (1 666 WES a 99 WGS). Většina vzorků pocházela od pacientů s periferní neuropatií a spastickou paraparézou. Detekované TR expanze byly vizuálně kontrolovány pomocí STRipy v2.2 (Halman, Dolzhenko a Oshlack, 2022) k vyloučení falešně pozitivních nálezů (FP).

Výsledky:

Celkem bylo detekováno 403 TR expanzí u 342 pacientů (19,9 %). Vizuální kontrola výsledků ukázala, že 113 (28,0 %) detekovaných expanzí bylo ve skutečnosti falešně pozitivních. Po jejich vyloučení zůstalo 290 expanzí. Z nich 152 bylo v patogenním rozmezí, zatímco 138 bylo vyhodnoceno jako nepatogenní (nejčastěji v intermediálním rozsahu nebo s přerušným patogenním motivem).

Patogenní TR expanze (n = 152) jsme rozdělili do tří skupin:

1. Devět pacientů (0,5 %) s TR expanzemi způsobujícími neurologická onemocnění bylo identifikováno v následujících genech: AR (1), ATXN2 (1), ATXN8OS (2), CNBP (2), DMPK (2) a HTT (1).
2. TR expanze způsobující jiná než neurologická onemocnění (sekundární nálezy) byly detekovány u 125 pacientů (7,3 %) v genech: AFF3 (1), HOXD13 (2), HTT (5), NIPA1 (1), PHOX2B (2), RUNX2 (3), TCF4 (108), ZIC3 (4).
3. Přenašeči TR expanzí s AR nebo XR dědičností byli identifikováni u 17 pacientů (1,0 %) v genech: DMD (2), FXN (1), PABPN1 (9), PRDM12 (1), VWA1 (1), ZIC3 (3).

Závěr:

Detekce TR z MPS dat je nezbytnou součástí komplexní analýzy. Vysoký počet falešně pozitivních nálezů zdůrazňuje nutnost vizuální kontroly detekovaných expanzí. Vyšetřovaní pacienti byli primárně odesíláni pro onemocnění, u nichž obvykle nepředpokládáme expanze TR jako příčinu; proto nález 0,5 % kauzálních TR expanzí potvrzuje význam provádění co nejširšího spektra analýz z jednoho vyšetření.

Podpořeno grantem AZV NU22-04-00097

Nově léčitelná vzácná dědičná neurodegenerativní onemocnění

Krista J.

Biogen

Funkční spolupráce ve FTN aneb příklady táhnou

Tajtlová J., Kejkulová R., Bradová M., Vítková M., Mašková Š., Grošup Friedlová N., Lepařová M, Langová M.

Oddělení lékařské genetiky, FTN, Praha

Multidisciplinární spolupráce představuje klíčový předpoklad pro efektivní diagnostiku a péči o pacienty se vzácnými genetickými onemocněními. Ve Fakultní Thomayerově nemocnici byla před lety navázána velmi dobře fungující mezioborová spolupráce mezi laboratoří a ambulancí oddělení lékařské genetiky a gastroenterology z Pediatrické a Interní kliniky FTN.

V rámci mezioborové spolupráce je hodnocena korelace genetické predispozice k celiakii s klinickým obrazem a výsledky sérologického vyšetření, což vede k identifikaci pacientů s klinicky suspektní celiakií bez prokazatelné HLA predispozice.

V současné době je zahájena spolupráce s Interní klinikou, kde jsou výsledky genetického vyšetření korelovány s klinickým obrazem a výsledky dechového testu a imunohistochemického vyšetření, ve spolupráci s nutričními terapeuty jsou u pacientů nastavena vhodná režimová opatření. Cílem spolupráce je rovněž navrhnout vhodných doporučených postupů pro diagnostiku a terapii pacientů s laktózovou intolerancí.

Ve FTN jsou konsiliárně vyšetřováni pacienti z celé České republiky s podezřením na deficity trehalázy a sacharázy. Multidisciplinární přístup ve spolupráci laboratoře a kliniků z OLG a gastroenterologů i nutričních terapeutů umožňuje komplexní diagnostiku a podporuje individualizovanou péči o pacienty.

Dvouleté zkušenosti s Centrálním sekvenováním ve Fakultní nemocnici Olomouc

Kriegová E., Maňáková J., Nesnadná R., Wojewodová K., Trajerová M., Savara J., Petráčková A.

Ústav imunologie, LF UP v Olomouci a FN Olomouc

Prudký rozvoj využití genetických analýz a znalost genetického profilu pacienta patří mezi nejpokročilejší řešení současné precizní diagnostiky. V reakci na rostoucí potřebu klinického genetického testování metodou sekvenování nové generace (NGS) vedení Fakultní nemocnice Olomouc (FNOL) začátkem roku 2024 rozhodlo o vytvoření střediska Centrální sekvenace pro všechna svá pracoviště. Cílem bylo efektivně využít přístrojové vybavení, zkrátit dobu odezvy genetických analýz a zajistit jednotnou kvalitu výstupů. Centrální sekvenace vznikla při Ústavu imunologie jako první nemocniční pracoviště tohoto typu v České republice.

Efektivní provoz centrálního sekvenátoru je umožněn slučováním požadavků na sekvenaci z různých pracovišť nemocnice prostřednictvím moderní webové aplikace coreSEQ, kterou vyvinul tým doc. Kriegové za podpory Úseku informačních technologií. Aplikace coreSEQ zajišťuje registraci knihoven z jednotlivých oddělení, plánování sekvenačních běhů, automatizované slučování „SampleSheetů“ jednotlivých knihoven, předávání FASTQ dat a reportů kvality jednotlivým pracovištím. Aplikace coreSEQ také umožňuje koordinaci

odlišných požadavků na dobu odezvy genetických analýz, od delší doby v případě germinálního celoxomového sekvenování po krátkou dobu u onkologických panelů nebo předtransplantačního vyšetření HLA.

Provoz Centrální sekvenace byl zahájen v lednu 2024 na platformě NextSeq 2000 (Illumina) a od června 2024 probíhá na přístroji SurfSeq 5000 (GeneMind). Příprava knihoven probíhá v jednotlivých laboratořích FNOL a následná sekvenace se provádí jednou až dvakrát týdně podle požadavků. U nestatimových analýz se osvědčilo spouštění sekvenačního běhu v pátek, kdy demultiplexovaná sekvenační data jsou jednotlivým pracovištím k dispozici na nemocničním úložišti v pondělí ráno. Bioinformatická analýza a klinická interpretace dat probíhá na jednotlivých pracovištích, mezi která patří Ústav imunologie, Hematoonkologická klinika, Ústav lékařské genetiky a Ústav klinické a molekulární patologie.

Během dvouletého provozu Centrální sekvenace od ledna 2024 do ledna 2026 bylo realizováno 164 sekvenačních běhů s celkovým objemem požadavků na sekvenaci 13 000 Gbp a za toto období bylo evidováno 10 žádostí o servis přístroje či reklamaci sekvenační chemie. Dvouleté zkušenosti potvrzují, že centrální model klinické sekvenace umožňuje zkrácení doby odezvy genetických analýz, efektivní využití vysokokapacitní technologie a standardizaci kvality výstupů.

Kontakt na odborné garanty Centrální sekvenace FNOL: doc. Dr. Eva Kriegová (eva.kriegova@fnol.cz), Anna Petráčková (anna.petrackova@fnol.cz).

Grantová podpora: JG_2024_035, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), IGA_LF_2026_013.

Prenatální diagnostika

Neinvasivní prenatální vyšetření RHD plodu: současný stav v evropských zemích a relevance pro ČR

Fišer M., Kryorková H., Kacerovská Musilová I., Schwarz M.

PRENET – prenatální diagnostika a genetika, Pardubice

Úvod:

V České republice je v rámci prenatální péče prováděno vyšetření krevní skupiny RhD s cílem identifikovat RhD-negativní těhotné, u nichž existuje riziko RhD aloimunizace a následně hemolytického onemocnění plodu a novorozence (HDFN). Toto riziko vzniká pouze tehdy, je-li plod RhD-pozitivní. Zavedení profylaxe lidským anti-D imunoglobulinem (IgG anti-D) vedlo k zásadní redukci RhD aloimunizace a HDFN. V současné praxi je však v ČR antenatální profylaxe podávána plošně všem RhD-negativním gravidním, bez znalosti fetálního RHD genotypu. Dle literárních údajů přibližně 40 % RhD-negativních gravidních nosí RhD-negativní plod, a rutinní podání IgG anti-D je proto u této skupiny klinicky neindikované a nadbytečné.

Metody:

Na základě dostupné literatury jsme zpracovali přehled přístupů evropských zemí k neinvasivnímu stanovení fetálního RHD genotypu se zaměřením na organizaci screeningových programů a cílenou anti-D profylaxi. Základními zdroji byla zejména národní doporučení a programy a klinická doporučení odborných společností. Hodnotili jsme aktuální míru implementace a model úhrady, zejména financování z veřejných prostředků.

Výsledky:

Evropská praxe vykazuje výraznou variabilitu v dostupnosti a úrovni implementace neinvasivního stanovení fetálního RHD genotypu i v jeho klinickém využití při řízení podání anti-D. V části států je vyšetření integrováno do národních programů a hrazeno z veřejných prostředků (např. Dánsko, Nizozemsko, Finsko, Norsko). V dalších zemích je vyšetření dostupné mimo národní programy, ale v některých případech rovněž s veřejným financováním (např. Belgie, Švédsko, Francie). Naopak část zemí nadále uplatňuje plošnou antenatální profylaxi bez znalosti fetálního RhD genotypu (např. Polsko, ČR).

Závěr:

Neinvasivní vyšetření RHD plodu má potenciál redukovat nadbytečné podání anti-D přibližně u 40 % RhD-negativních těhotných, snížit expozici krevnímu derivátu, lépe hospodařit se zdroji IgG anti-D a zefektivnit prenatální péči v ČR.

Význam a možnosti ultrazukové fenotypizace plodu – soubor případů

Kacerovská Musilová I.¹, Fišer M.¹, Paszeková H.², Michalovská R.², Schwarz M.¹

1 PRENET – prenatální diagnostika a genetika: Laboratoře lékařské genetiky, s.r.o., Pardubice

2 GHC GENETICS, s.r.o., Praha

Přesná fenotypizace plodu je klíčovým předpokladem pro správnou interpretaci výsledků exomového sekvenování v prenatální diagnostice. Detailní a systematický popis strukturálních anomálií

pomocí zobrazovacích metod umožňuje přesnější korelaci mezi genotypem a fenotypem. Na sérii prenatalních kazuistik zahrnujících případy s kauzálními variantami v genech FLNA (oto-palato-digitální syndrom), TUBB3 (tubulinopatie) a CEP290 (Joubertův syndrom) demonstrujeme význam přesné ultrazvukové fenotypizace plodu v efektivní prenatalní identifikaci genetických onemocnění.

Význam diagnostiky infekčních onemocnění v prenatalní diagnostice

Michalovská R.¹, Haňová T.¹, Lázníčková T.¹, Kacerovská Musilová I.², Schwarz M.²

1 *GHC Genetics, Praha*

2 *PRENET – prenatalní diagnostika a genetika, Pardubice*

Infekční onemocnění v prenatalním období mohou zásadním způsobem ovlivnit vývoj plodu. Mezi nejvýznamnější patří tzv. skupina TORCH, která zahrnuje mimo jiné infekce vyvolané virem Cytomegalovirus, Parvovirus B19 a parazitem *Toxoplasma gondii*. Tyto patogeny mohou působit teratogenně a vést k širokému spektru klinických projevů. Významným diagnostickým problémem je překryv kongenitálních projevů těchto infekcí s fenotypem některých geneticky podmíněných onemocnění. Správná diferenciální diagnostika je proto klíčová pro stanovení adekvátního postupu v prenatalní péči. V roce 2024 proběhla v České republice epidemie infekce způsobené Parvovirem B19, jejíž klinická manifestace mohla vést k mylné interpretaci nálezů jako fetální infekce a současně zastřít přítomnost primárně genetické etiologie. Je třeba brát v úvahu variabilitu dopadu infekce na vyvíjející se plod a na možnost překrytí klinických projevů s příznaky závažnějších genetických onemocnění. V tomto případě je zcela jasný význam interdisciplinární spolupráce mezi obory mikrobiologie a lékařské genetiky, a to nejen v oblasti prenatalní diagnostiky, ale i při interpretaci hraničních či nejednoznačných nálezů.

Implementace SNP analýzy v rámci PGT-A: zkušenosti z klinické praxe

Blahútová D., Kubiček D., Horňák M., Navrátil R., Brožek R., Veselá K.

Repromeda s.r.o., Brno

Preimplantační genetické testování aneuploidií (PGT-A) se v posledním desetiletí stalo široce používaným nástrojem v rámci asistované reprodukce, jehož cílem je prioritizace embryí na základě jejich implantačního potenciálu. Ten je v rámci testování hodnocen přítomností nebo absencí celochromozomálních nebo segmentálních aberací. Vyřazení embryí z případného embryotransferu, především z důvodu nálezů meiotické chyby vede u indikovaných pacientů ke zvýšení míry úspěšnosti transferu, snížení rizika potratu a celkově tak přispívá k úspěšnosti IVF léčby. I přes tento fakt je jeho klinická hodnota stále předmětem diskusí. Kritika se převážně týká rizika falešně pozitivních a negativních nálezů u embryí s chromozomálním mozaicismem, který se stal významným klinickým tématem s nástupem metody NGS v oblasti PGT-A. Tato metoda umožňuje citlivou detekci subpopulace buněk ve vzorku biopsie s odlišným počtem chromozomů na základě analýzy počtu kopií. Limitací pro tuto metodu dále zůstává rozlišení skutečného embryonálního mozaicismu od případného technického šumu nebo amplifikačního biasu, které mohou mozaicismus nízké úrovně simulovat.

Teprve implementace jednonukleotidových polymorfismů (SNP) v posledních letech přinesla možnost překonat dosavadní limitace PGT-A, vnesla nový pohled na interpretaci dat a nově definovala otázky týkající se klinického přínosu PGT-A. Přechod na modernější metody PGT umožňuje překonat

omezení přístupů založených pouze na analýze počtu kopií. Využitím SNP analýzy se otázka mozaicismu překlápí v potřebu rozlišení mitotického a meiotického původu aberace. Při současném testování embryí s DNA vzorkem jednoho z rodičů je dále možné odlišit maternální a paternální původ těchto chyb. SNP analýza dále posiluje bezpečnost laboratorních procesů díky detekci příbuznosti embryí, identifikaci mateřské kontaminace i odhalení křížové kontaminace mezi vzorky. Stanovení ploidie představuje zásadní posun, který umožňuje využití i abnormálně oplozených embryí, dosud doporučovaných k likvidaci dle stávajících doporučení ESHRE.

Journey of your DNA - from lab to sequencing under 24 hours

Wachulec B.

Allgene

This talk introduces Microsynth, a Swiss company that has recently expanded into the Czech Republic, bringing fast and reliable DNA analysis closer to researchers and doctors. We will explore how your sample moves from submission to results in under 24 hours, powered by technologies such as Sanger sequencing, next-generation sequencing, and high-quality diagnostic oligonucleotide synthesis. The presentation will highlight how speed, precision, and accessibility can transform everyday lab workflows. Join us to see how your DNA's journey can be faster than you expect.

Patogenní varianta genu PTEN jako náhodný nález u plodu v rámci prenatalní diagnostiky

Hojšáková M.^{1,2,3}, Michalovská R.², Dolinová I.¹, Piskáčková T.^{1,2}, Vlčková Z.², Němčíková M.¹

1 Oddělení genetiky a molekulární diagnostiky, Centrum PATOS, KN Liberec, a.s.

2 GHC GENETICS s.r.o., Praha

3 Oddělení lékařské genetiky FTN, Praha

Cílem přednášky je nejen představit kazuistiku nálezu patogenní varianty genu PTEN u plodu, která byla zjištěna náhodně v rámci prenatalní diagnostiky, ale také seznámit posluchače s problematikou syndromu Cowdenové a dalších PTEN alelických onemocnění, jejich multisystémovými projevy a úskalími v diagnostice. V neposlední řadě chceme také upozornit na stále častější výzvy vycházející z náhodných, resp. nevyžádaných nálezů detekovaných masivním paralelním sekvenováním.

U probandky, konzultované v graviditě pro atypický prvotrimestrální screening a přenašečství pro několik autozomálně recesivních onemocnění včetně cystické fibrózy u jejího partnera, byl indikován odběr plodové vody a genetické vyšetření plodu. Z izolované DNA plodu byla provedena sekvenace genu CFTR a jako náhodný nález zachycena patogenní varianta c.388C>T (p.Arg130Ter) genu PTEN, spolu s dalšími, nesouvisejícími variantami v jiných genech. Gravidita byla po domluvě s probandkou a jejím partnerem na základě nosičství mutace genu PTEN u plodu ve 24. týdnu těhotenství ukončena.

Kaskádový screening následně prokázal uvedenou variantu genu PTEN u syna probandky a jejího partnera, který byl již sám prenatalně vyšetřován pro mírnou ventrikulomegalii, vysvětlující příčina tehdy

nezjištěna, měl makrocefalii a opožděný vývoj řeči. Varianta byla dále prokázána i u partnera probandky, u něhož byl doporučen důsledný screening nádorových onemocnění, který odhalil melanom kůže zad ve 34 letech, podstoupil též specializované vyšetření štítnice včetně biopsie.

Uvedená kazuistika dokumentuje variabilní projevy patogenních mutací genu PTEN i v rámci jedné rodiny. Zároveň upozorňuje na palčivé problémy současné genetiky – zachycení náhodných, resp. nevyžádaných nálezů, které s sebou přináší sekvenování nové generace, interpretaci nalezených variant a jejich korelaci s fenotypem. Dále poukazuje na etické otázky související s ukončením gravidity z genetické indikace a genetickým testováním v dětském věku. V neposlední řadě pak nesmíme zapomínat na psychologický dopad nalezených genetických změn na naše pacienty a jejich rodiny.

Sekvenujeme novú kapitolu - nové možnosti - nová úroveň diagnostiky

Mgr. Gabriela Štěpančíková, Ing. Linda Kutlíková

PentaGen

Představujeme Salus BioMed a technologické inovace, které její sekvenační platformy přinášejí do oblasti genomické diagnostiky. Portfolio tvoří tři sekvenátory, které jsou certifikovány dle IVDR a kapacitně pokrývají celé spektrum aktuálně dostupných řešení na trhu — od kompaktního systému s mimořádně rychlou dobou sekvenace až po výkonné platformy vybavené dvěma nezávislými sekvenačními jednotkami, přičemž široké portfolio sekvenačních cartridge zajišťuje vysokou flexibilitu využití.

V rámci prezentace představíme aplikační možnosti těchto technologií a jejich přínos pro laboratorní praxi, stejně jako výsledky našeho srovnávacího testování zaměřeného na kvalitu dat, které zahrnovalo dvě sekvenační platformy a tři typy knihoven — germinální WES panel od IDT, somatické panely společnosti Archer a digitalMLPA panel od MRC Holland.

10 rokov NIPT na Slovensku

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

1 TRISOMYtest, s.r.o, Nitra, Slovensko, 2Medirex, a.s., Bratislava, Slovensko

Detekcia chromozómových numerických a štrukturálnych zmien pomocou neinvazívneho renatálneho testovania (NIPT) sa v posledním desaťročí vyvinula na veľmi účinný kríningový nástroj používaný v klinickej praxi na celom svete. Optimálna implementácia do národných skríningových programov by mala byť spojená s presným opisom jeho parametrov, aby z neho mohli mať čo najväčší úžitok lekári aj tehotné ženy, berúc do úvahy jeho kritické obmedzenia a lokálne špecifiká.

Naša retrospektívna, monocentrická observačná štúdia založená na využití jednej laboratórnej metódy (Trisomy test®) hodnotí vzorce používania, výber testov, časy analýzy (TAT) a analyzuje výsledky NIPT v rokoch 2016 až 2024 na kohorte 27 237 tehotných žien zo Slovenska. Analyzovali sme trendy vo využívaní NIPT, získali sme typy výsledkov a faktory, ako je vek, gestačný vek, hmotnosť tehotných žien z anamnestických údajov a fetálne frakcie stanovené v analyzovaných vzorkách ako parametre ovplyvňujúce výsledok testu.

Priemerný vek žien podstupujúcich NIPT sa znížil z 36,9 roka v roku 2016 na 33,6 roka v roku 2024 a priemerný čas analýzy sa zvýšil zo 4,2 dňa v roku 2016 na 4,8 dňa v roku 2024. Štúdia zistila nárast podielu

slovenských žien, ktoré podstúpili NIPT v našich laboratóriách, zo 4,0 % v roku 2016 na 8,43 % v roku 2024. Okrem toho sa gestačný vek pri NIPT teste znížil z 15,1 na 14,5 týždňa a hmotnosť tehotných žien sa počas hodnoteného obdobia významne zvýšila zo 67,3 kg na 68,1 kg. Medzi vysoko rizikovými výsledkami boli hodnotené detekcie najčastejších trizómií (T21, T18 a T13), aneuploidii pohlavných hromozómov (SCA), zriedkavých autozomálnych aneuploidii (RAT) a variantov počtu subchromozómových kópií (CNV). Podiel tehotenstiev s vysokorizikovými výsledkami bol 1,45 %, 0,54 %, 0,31 % a 0,50 %.

Celková miera zlyhania (neinformatívne výsledky) bola 1,31 %. Zavedenie NIPT do systému verejného zdravotníctva na Slovensku by mohlo ďalej zlepšiť spravodlivý prístup k najmodernejšej prenatálnej starostlivosti európskeho štandardu.

Onkogenetika

Optické mapování genomu (OGM) jako pokročilý nástroj pro analýzu kryptických chromosomových variant u nemocných s myelodysplastickými neoplasiemi (MDS)

Zemanová Z.¹, Lizcová L.¹, Pavlišťová L.¹, Vondráčková Z.¹, Ransdorfová S.², Mendlíková I.², Belíčková M.², Lhotská H.¹, Hodaňová L.¹, Kabešová M.¹, Valeriánová M.², Bezděková Fillerová R.³, Sotáková S.⁴, Marková Šťastná M.², Jonášová A.⁴

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

2 Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

3 Institute of Applied Biotechnologies, Olomouc

4 I. interní klinika – klinika hematologie, VFN a 1. LF UK v Praze

Myelodysplastické neoplasie (MDS) představují klinicky i geneticky heterogenní skupinu onemocnění, u nichž má zásadní význam přesná charakterizace genetických změn v buňkách kostní dřeně. Cytogenomické nálezy jsou klíčové pro upřesnění diagnózy, rizikovou stratifikaci, volbu terapie i hodnocení léčebné odpovědi. Přibližně u poloviny nemocných jsou při diagnóze detekovatelné chromosomové aberace s jasným prognostickým významem (např. izolovaná del(5q) spojená s příznivou prognózou nebo aberace chromozomu 7 a komplexní karyotypy asociované s velmi nepříznivou prognózou). Současně jsou u přibližně 90 % pacientů popisovány somatické genové mutace. Chromosomové aberace i somatické mutace proto dnes tvoří nedílnou součást mezinárodních prognostických skórovacích systémů a klasifikací (IPSS-R, IPSS-M, WHO, ICC). U části nemocných, zejména s normálním karyotypem, však může genetická podstata onemocnění zůstat skrytá i přes dostupnost moderních sekvenačních technologií (NGS). Klinicky relevantní mohou být zejména kryptické strukturní varianty (SV), změny počtu kopií (CNV) a copy-neutral loss of heterozygosity (cnLOH), které zůstávají pod prahem detekce konvenčních metod. Proto je důležité využívat celogenomové přístupy umožňující zachytit tyto aberace v jednom experimentu s vyšším rozlišením a citlivostí.

Optické mapování genomu (optical genome mapping, OGM) je celogenomová technologie založená na zobrazení specificky fluorescenčně značené vysokomolekulární DNA pomocí nanofluidních biočipů. Metoda umožňuje současnou detekci SV, CNV i cnLOH v rozlišení nedosažitelném standardními cytogenomickými metodami. Analýza extrémně dlouhých molekul DNA (>300 kb) usnadňuje záchyt genetických změn, které mohou unikát jak standardním cytogenetickým metodám, tak cíleným NGS přístupům.

Vyšetřili jsme 25 diagnostických vzorků pacientů s MDS a normálním karyotypem s cílem identifikovat kryptické aberace s potenciálním klinickým významem. U všech nemocných bylo provedeno standardní cytogenomické vyšetření, OGM analýza (Saphyr™ System, Bionano Access™ software, Bionano Genomics) a cílená NGS analýza (NextSeq 2000, Illumina; genový panel Archer Myeloid VariantPlex, Invitae, který zahrnuje 75 genů asociovaných s myeloidními malignitami).

MDS-asociované mutace byly detekovány u 21/25 pacientů, zatímco u 4/25 případů nebyla v rámci použitého NGS panelu zjištěna žádná hodnocená varianta. Metodou OGM jsme u všech 25 pacientů identifikovali kryptické CNV (převážně delece) a u 9/25 případů také kryptické SV (intra- či interchromosomové přestavby). U dvou pacientů došlo v průběhu onemocnění ke klonální evoluci a

progresi. Ilustrativním případem byla pacientka s MDS s prsténčitými sideroblasty (MDS-RS), normálním karyotypem a mutací SF3B1 při diagnóze, která byla dle IPSS-M zařazena do skupiny s velmi nízkým rizikem. Přesto se u ní následně vyvinul komplexní karyotyp a došlo k progresi do MDS s nadbytkem blastů 2 (MDS-EB2). Retrospektivní OGM analýza diagnostického vzorku odhalila kryptickou přestavbu genu MECOM, kterou jsme následně potvrdili v malém klonu metodou I-FISH. Předpokládáme, že právě tato aberace mohla přispět k následnému klonálnímu vývoji.

Naše výsledky ukazují, že systematická identifikace kryptických genomových aberací může významně zpřesnit diagnostiku a přispět k hlubšímu pochopení biologie MDS. OGM odhaluje klinicky relevantní změny u pacientů s normálním karyotypem, které mohou zůstat neodhaleny při použití standardních cytogenomických metod i cíleného NGS. Začlenění těchto přístupů do diagnostického algoritmu může zpřesnit rizikovou stratifikaci, umožnit časnější identifikaci pacientů se zvýšeným rizikem progresu do akutní myeloidní leukémie (AML) a podpořit individualizaci léčebné strategie.

Podpořeno RVO-VFN64165, AZV-NU23-03-00401 a MZČR00023736.

Využití optického mapování genomu v diagnostice lymfoproliferací

Kotašková J.^{1,2}, Marečková A.¹, Mayerová J.¹, Dvořáčková B.^{1,2,3}, Navrkalová V.^{1,2,3}, Pospíšilová Š.^{1,2,3}, Doubek M.^{1,2,3}, Jarošová M.^{1,2}

1 Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno a LF MU, Brno

2 Ústav lékařské genetiky a genomiky, FN Brno a LF MU, Brno

3 Centrum molekulární medicíny, Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova Univerzita, Brno

Úvod:

Lymfoproliferativní onemocnění jsou definována jako klonální expanze buněk lymfoidní krevní řady. Zahrnují pestrou skupinu onemocnění s rozdílným průběhem. Kromě vývojového stadia, ze kterého lymfoproliferace vzniká a buněčné linie (B, T, NK), definuje onemocnění kauzální aberace. Tu tvoří u velké části lymfoproliferací charakteristická chromozomová přestavba. U některých onemocnění přítomnost přestavby určuje typ malignity (např. Burkittův lymfom), u jiných definuje prognostický podtyp onemocnění (např. akutní lymfoblastická leukémie, mnohočetný myelom). K identifikaci kauzální přestavby jsou využívány metody klasické a molekulární cytogenetiky, v posledních letech se využívá také NGS. Všechna řešení však mají své limity a v řadě případů zůstává kauzální aberace neodhalena. Optické mapování genomu (OGM) patří mezi moderní přístupy, které významně rozšiřují možnosti detekce přestaveb.

Materiál a metody:

Pomocí OGM jsme vyšetřili biologický materiál, který byl odebrán v rámci rutinní diagnostiky a kde nastavené vyšetřovací algoritmy nevedly k identifikaci kauzální aberace nebo nebyly výstupy jednotlivých analýz v souladu. Jako reprezentativní příklady jsme vybrali pět kazuistik: dva pacienty s akutní leukémií B a T řady, pacienta s lymfomem z plášťové zóny, pacienta s difúzním velkobuněčným lymfomem a pacienta s mnohočetným myelomem.

Výsledky:

Pomocí OGM jsme ve všech modelových případech identifikovali kauzální přestavbu, upřesnili jsme výsledek ostatních použitých metod a získali jsme informaci o řadě dalších prognosticky významných změnách přítomných v nádorovém genomu pacientů s lymfoproliferacemi. Dále jsme identifikovali řadu změn nejasného významu. Jednalo se většinou o duplikace nebo delece v oblastech, které dosud nebyly s patogenezí jednotlivých onemocnění spojovány.

Závěr:

Optické mapování genomu je pokročilá cytogenomická metoda, která je užitečným nástrojem pro identifikaci strukturních variant. Na rozdíl od světových cytogenomických laboratoří si v České republice svoji cestu do rutinní diagnostiky teprve hledá.

Podpořeno granty MZ ČR AZV NU22-08-00227, NW26-03-0001, MZ-CR RVO (FNBr, 65269705), MUNI/A/1733/2025 a Brno Ph.D. Talent.

Vývoj fastGEN BCR::ABL1 kitu: význam správnej reverznej transkriptázy

Iveta Tóthová³, Rastislav Slavkovský¹, Romana Janska², Jana Navratilova², Denisa Zermeghova³, Jakub Vojtišek³, Matej Forgač³, Peter Brož⁴, Pavlina Kostyu³, Marian Hajduch¹

¹Ústav molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého, Olomouc, Česká republika

²Hemato-onkologická klinika, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, Česká republika

³BioVendor Group, Brno, Česká republika

⁴Bioxsys, Usti nad Labem, Česká republika

Fúzny gén *BCR::ABL1*, vznikající v důsledku translokácie t(9;22), zohráva klúčovú úlohu v patogenéze chronickej myeloidnej leukémie (CML) a časti akútnych lymfoblastických leukémií (ALL). Mutácie v kinase domény *ABL1* sú spojené so vznikom rezistencie na tyrozínkinázové inhibítory, čo zdôrazňuje potrebu ich citlivej a spoľahlivej detekcie.

Vyvinuli sme a optimalizovali amplikónovú NGS metódu založenú na technológii fastGEN pre genotypizáciu kinázovej domény *BCR::ABL1*, so zameraním na vplyv kroku reverznej transkripcie. Celkovo bolo analyzovaných 26 RNA vzoriek pomocou dvoch prístupov reverznej transkripcie (RT1 a RT2), následne spracovaných fastGEN workflow.

Výsledky ukázali, že RT1 poskytuje kvalitnejšiu cDNA a efektívnejšiu pre-amplifikáciu v porovnaní s RT2, čo viedlo k lepšej detekcii variantov, najmä pri nízkom VAF a pri degradovaných vzorkách, kde RT2 vykazoval nižší výkon.

Vyvinutý fastGEN BCR::ABL1 kit predstavuje rýchle a robustné riešenie pre klinickú prax. Zároveň sa potvrdilo, že krok reverznej transkripcie je kľúčovým faktorom ovplyvňujúcim citlivosť a spoľahlivosť NGS analýzy.

Precizní monitoring MRD u akutní myeloidní leukémie: Spojení technologie μ Caler™ a systému Variant Analyzer

Tomáš Hron ¹, Tereza Valterová ², Lenka Žejšková ², Markéta Kalinová ²

1 Data analysis and education in genomics and sequencing technologies, email: tomas.hron@bioprojects.cz, phone: +420 605 325 350

2 Central Laboratories, Laboratory of genomic medicine, Faculty Hospital Kralovske Vinohrady, Prague, Czech Republic

Moderní precizní medicína vyžaduje diagnostické nástroje, které se dokážou přizpůsobit specifickým potřebám klinické praxe. Platforma Variant Analyzer (VARAN) představuje komplexní řešení pro analýzu NGS dat, které reflektuje reálné požadavky zákazníků a komunity DNA diagnostiky. Na rozdíl od běžně dostupných komerčních produktů umožňuje VARAN plnou customizaci parametrů a filtračních podmínek na míru konkrétním sekvenačním knihovnám. Díky integraci nástrojů, jako je Sentieon? (vítěz PrecisionFDA), anotaci a interpretaci variant od VarSome, spolupráci na vývoji a technickém řešení s firmou Biosys a špičkové aplikační podpoře od Altia, nabízí VARAN bezkonkurenčního pomocníka při zpracování klinických dat.

Jako jednu z prvních specializovaných aplikací Altium ve spolupráci s LGM Fakultní Nemocnice v Královských Vinohradech vyvinuli řešení pro diagnostiku akutní myeloidní leukémie (AML) a monitorování minimální zbytkové nemoci (MRD). Tato aplikace kombinuje přípravu knihoven technologií μ Caler™ od NanoDigmBio s analytickou silou platformy VARAN. Využití UMI konsenzuální deduplikace a specifická optimalizace parametrů umožňují detekci variant až na úroveň 0,05 % VAF, což prakticky dosahuje technických limitů metody NGS. Díky tomu je toto řešení vhodné především pro monitoring MRD.

Kojčice u Pelhřimova. Epicentrum Lynchova syndromu?

Hasch M.^{1,2}, Steiner P.¹, Vaněček T.¹

1 Bioptická laboratoř s.r.o.

2 Ferticare SE

Přednáška se týká poměrně rozsáhlé rodiny žijící po několik generací v malé lokalitě. Rodokmen ukazuje, že jedinci z této rodiny začali umírat na nádorová onemocnění již ve 2. dekádě života. Žádnému členovi nebylo nikdy doporučeno genetické vyšetření ani žádný screeningový či dispenzarizační program. Až detekce 2 maligních nádorů různých orgánů 4 měsíce po sobě u jednoho z nich rozjela vyšetřovací mašinérii.

Testování nádorové predispozice a rozsah reportování: konsenzus CZEKANCA konzorcium a Pracovní skupiny Onkogenetika SLG ČLS JEP

Soukupová J.¹, Janatová M.¹, Kleiblová P.^{1,2}, Kleibl Z.^{1,3}, CZEKANCA konzorcium & Pracovní skupina Onkogenetiku SLGG ČLS JEP

1 Laboratoř onkogenetiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN v Praze

2 Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK, Praha

3 Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK a VFN v Praze

Vyšetření nádorové predispozice je komplikováno neúplnou penetrancí a často i variabilní manifestací tumorů mimo lokalizace typické pro nosiče patogenních nebo pravděpodobně patogenních variant v jednotlivých nádorových predispozičních genech. Genetické vyšetření dědičné predispozice k solidním nádorům pomocí sekvenování nové generace umožňuje analýzu širokého spektra genů a významně zvyšuje diagnostický výtěžek.

S rozšířením „genotype-first“ strategií testování rostoucím rozsahem testovaných genů (desítky genů až celý exom) se zvyšuje počet neočekávaných nálezů, tzv. „secondary findings“, tedy patogenních nebo pravděpodobně patogenních variant zachycených náhodně a nesouvisejících s primární indikací testování u probanda.

Přístup evropské a americké odborné společnosti se liší. Zatímco evropská společnost doporučuje hodnotit pouze virtuální panely genů se vztahem k fenotypu probanda, americká společnost pravidelně aktualizuje seznam genů, u kterých by neočekávané nálezy patogenních/pravděpodobně patogenních variant měly být reportovány v závislosti na informovaném souhlasu (ACMG SF_v3.3, aktuálně 84 genů, <https://search.clinicalgenome.org/kb/genes/acmgsf>). Zároveň platí, že klinicky relevantní nádorové predispoziční geny pro jednotlivé nádorové diagnózy nejsou jednoznačně definovány, liší se mezi státy i mezi poskytovateli v rámci jedné země, čímž vytváří velmi nepřehledné prostředí. V České republice proto vznikla v rámci konsorcia CZEKANCA a pracovní skupiny Onkogenetiky SLG ČLS JEP iniciativa s cílem harmonizovat rozsah reportování při vyšetření nádorové predispozice v rozsahu panelu CZEKANCA.

Výsledkem konsenzu je doporučený rozsah variant a genů, které budou při vyšetření nádorové predispozice rutinně reportovány laboratořemi i bez výslovného požadavku indikujícího klinického genetika. Účelem sdělení je představit tento konsenzus v jeho aktuální podobě a představit další práci na jeho aktualizaci (rozšíření na další geny) tak, aby reflektoval současný stav poznání v oblasti onkogenetiky.

Podpořeno grantem MZ ČR (RVO-VFN-00064165, NU23-03-00150, NW24-03-00092), UK (COOPERATIO, SVV260516) a MŠMT (projekt MULTIOMICS_CZ, ID Project CZ.02.01.01/00/23_020/0008540).

Germinální varianty v genu CHEK2: větší než malé množství starostí pro všechny zúčastněné

Kleibl Z.^{1,2}, Kleiblová P.^{1,3}, Macůrek L.⁴, Stolařová L.⁴, Konečná B.¹, Nehasil P.^{1,2,5}, Just P.¹, Soukupová J.¹, Janatová M.¹, CZEKANCA konzorcium, Pracovní skupina Onkogenetiky SLGG ČLS JEP, ENIGMA consortium

1 Laboratoř onkogenetiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN v Praze

2 Ústav patologické fyziologie 1. LF UK

3 Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN v Praze

4 Laboratoř biologie nádorové buňky ÚMG AV ČR v.v.i.

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

Gen CHEK2 kóduje serin-threoninovou kinázu, jejíž kanonická funkce je spojována s podstatnou amplifikací signálu aktivované ATM kinázy v odpovědi na přítomnost dvouřetězcových zlomů v DNA. Proč ale bialelické inaktivace tohoto genu nezpůsobují žádný závažný fenotyp s časnou manifestací? Dědičné mutace v genu CHEK2 byly původně popsány jako kauzální varianty pro LFS-like syndrom, avšak kumulativní evidence následujících let tuto souvislost odmítla. Názory na význam patogenních variant v CHEK2 se v průběhu posledních dvou dekad zásadně proměňovaly, což neprospívá ani klinické interpretaci ani nosičům těchto genetických změn.

V současné době víme, že nosičství patogenních variant je spojeno se středně významnými riziky vzniku karcinomu prsu u žen i mužů, karcinomu prostaty a pravděpodobně i dalších uroteliálních nádorových onemocnění, karcinomů varlat a některých hematologických malignit. Stále nedořešená je otázka asociace se zvýšeným rizikem melanomu, karcinomu ovaria a pankreatu. Asociace s klinicky významným vznikem karcinomu kolorekta není pravděpodobná.

Proč po více než 25 letech od objevu genu, jehož patogenní varianty jsou pravděpodobně nejčastější genetickou alterací v nádorových predispozičních genech v západoevropské populaci, stále neznáme jasné odpovědi? Situaci nám komplikuje několik klíčových aspektů: frekvence patogenních variant v CHEK2 genu silně variuje v různých populacích, které se vyznačují rozdílnými zakladatelskými a populačně-specifickými variantami. Z tohoto pohledu rozsáhlé mnohonárodnostní analýzy bez kontrolovaného výběru původu případů a kontrol situaci spíše zamlžují. Obtížná je rovněž interpretace missense variant, které vyžadují pečlivou analýzu pomocí validovaných funkčních studií. Diagnostiku komplikuje i nejasný podíl klonálních CHIP variant v genu CHEK2 a komplikované je hraničně (ne)významné klinické riziko. Pro všechny tyto aspekty je interpretace nálezů germinálních variant CHEK2 – za stále chybějících CHEK2-specifických klasifikačních kritérií – problematická, konzultace nosičů patogenních variant v CHEK2 obtížná a klinická doporučení vágní. Spásu pro nosiče i konzultující genetiky by mohla přinést komplexní genetická analýza s hodnocením polygenního rizika (PRS), která umožní stratifikaci nosičů, ale k její klinické implementaci se zatím blížíme pouze u vybraných nádorových onemocnění.

Podpořeno granty: MZ ČR: AZV W24-03-00092, RVO-VFN-00064165; MŠMT (projekt MULTIOMICS_CZ, ID Project CZ.02.01.01/00/23_020/0008540); Karlova Univerzita: GAUK 535225, COOPERATIO, SVV260631, UNCE/24/MED/022; EU Horizon Europe Research and Innovation Programme #101214318 (DISARM).

Přínos paralelní DNA/RNA NGS analýzy (nejen) v onkogenetice

Kleiblová P.^{1,2}, Černá M.¹, Ptáčková T.¹, Matějková K.¹, Nehasil P.¹, Janatová M.¹, Soukupová J.¹, Kleibl Z.¹

1 Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

2 Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

Sekvenování nové generace (NGS) se stalo standardní metodou pro analýzu zárodečné DNA při diagnostice dědičných onemocnění, včetně predispozice ke zhoubným nádorům. Rostoucí využití této technologie vyžaduje přesnou identifikaci vzorků, nezávislé potvrzení prioritizovaných variant a jejich funkční i klinickou interpretaci. Pro zefektivnění těchto procesů jsme zavedli strategii RNA NGS využívající stejný způsob nabohacení genů zájmu (CZECANCA, 226 genů), který je používán pro analýzu dědičné nádorové predispozice na úrovni DNA. Analýza byla provedena u > 5000 osob, majoritně byla vyšetřena RNA z plné krve odebrané do RNA protektivního media (Tempus blood RNA tubes). Jako zdroj RNA mohou být využity i další dobře biologicky dostupné tkáně, jako je sliznice nohohltanu nebo kůže, alternativně krátkodobě kultivované lymfocyty. Paralelní DNA/RNA NGS vyšetření umožňuje ztotožnění obou biologických vzorků (eliminace záměny vzorku během vyšetření), konfirmaci v DNA identifikovaných variant i na úrovni transkriptů, ověření případného dopadu identifikované varianty na sestřih nebo degradaci pre-mRNA, případně posouzení alel specifické exprese. U pacientů s negativním či nejednoznačným DNA výsledkem odhalila RNA analýza aberantní transkripty způsobené hlubokými intronovými variantami. Přístup cíleného párového DNA/RNA NGS lze využít i pro další oblasti diagnostiky. Jeho největší limitací je zejména podmínka dostatečné exprese genů zájmu ve vyšetřovaném biologickém materiálu. Integrace paralelní DNA/RNA analýzy představuje robustní a nákladově efektivní diagnostický postup, který zkracuje dobu vyšetření a umožňuje vyhodnocení funkčního dopadu variant na sestřih mRNA.

Práce byla podpořena grantovými projekty MZ ČR (NU23-03-00150 and RVO-VFN 64165) a Univerzity Karlovy (Cooperatio).

Implementace skóre polygenního rizika (PRS) do klinické praxe v péči o pacientky s karcinomem prsu a ovaria

Janatová M.¹, Soukupová J.¹, Kleiblová P.^{1,2}, Nehasil P.^{1,3,4}, Just P.¹, Konečná B.¹, Kleibl Z.^{1,3}

1 Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

2 Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

3 Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha, 4Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. LF UK, Praha

Tradiční hodnocení genetického rizika karcinomu prsu a ovaria bylo dosud založeno především na identifikaci monogenních patogenních variant v genech s vysokou a střední penetrancí. Významná část genetické predispozice je však dána kumulativním efektem běžných jednonukleotidových polymorfismů, jejichž malé individuální účinky agreguje polygenic risk score (PRS).

V předchozí studii (Hovhannisyan M et al. 2024; PMID:38718029) jsme ukázali, že analýza PRS dokáže spolehlivě rozlišit skupiny pacientek s karcinomem prsu od nenádorových kontrol i v naší populaci, což umožňuje stratifikaci žen podle rizika karcinomu prsu.

Ve svém sdělení bych chtěla představit zavedení vyšetření PRS do rutinní klinické praxe v českém prostředí s využitím modelu BOADICEA, implementovaného prostřednictvím webového nástroje CanRisk. Tento nástroj integruje výsledky genetického testování (včetně 313-SNP PRS pro karcinom prsu a 36-SNP PRS pro karcinom ovaria), rodinnou anamnézu a negenetické rizikové faktory do komplexního odhadu celoživotního rizika.

Kritickým předpokladem pro klinické využití CanRisk je kalibrace distribuce PRS pro naši populaci. Vzhledem k tomu, že distribuce PRS se v jednotlivých evropských regionech liší, je nezbytné provést populačně specifické validace, aby bylo zajištěno správné nastavení prahových hodnot rizika.

Začlenění PRS do klinických modelů významně zlepšuje výpočet rizik a může posunout individuální riziko daného jedince do vyšší nebo nižší rizikové kategorie, a to především u nosičů patogenních variant ve středně-penetrantních genech. Toto zlepšení umožňuje přesnější klinická rozhodnutí týkající se personalizovaného dohledu.

Implementace PRS prostřednictvím nástroje CanRisk bude představovat významný pokrok v precizním onkogenetickém poradenství. V českém klinickém kontextu bude úspěšné zavedení záviset na validaci kontrolní populace, informovanosti poskytovatelů vyšetření a vývoji standardizovaných bioinformatických postupů, které zajistí správnou integraci PRS do rutinní péče o pacienty.

Podpořeno granty: MZ ČR: AZV NW26-03-00327, RVO-VFN-00064165; MŠMT (projekt MULTIOMICS_CZ, ID Project CZ.02.01.01/00/23_020/0008540); Karlova Univerzita: COOPERATIO, SVV260631, UNCE/24/MED/022; EU Horizon Europe Research and Innovation Programme #101214318 (DISARM).

Dopad revidovaných a rozšířených indikačních kritérií na diagnostickou výtežnost testování predispozice k dědičným nádorům

Spurná Z., Panchartek D., Schwarz M., Kučerová H., Krykorková H., Fišer M.

PRENET – prenatalní diagnostika a genetika, Pardubice

Úvod: Indikační kritéria pro testování hereditární nádorové predispozice jsou stanovena Výborem Sekce lékařské genetiky České lékařské společnosti J. E. Purkyně a představují závazný rámec klinické praxe. Dne 9. října 2024 byla celostátně revidována a rozšířena kritéria pro nejčastější malignity dospělého věku, čímž došlo k navýšení počtu indikovaných osob. Cílem studie bylo zhodnotit, zda celkový diagnostický záchyt zůstal po zavedení revidovaných a rozšířených kritérií zachován, a porovnat záchyt mezi jednotlivými indikačními skupinami.

Metody: Retrospektivně jsme analyzovali výsledky genetického testování osob odeslaných do našeho centra k vyšetření hereditární nádorové predispozice. Diagnostický záchyt byl definován jako podíl patogenních a pravděpodobně patogenních (P/LP) variant před a po zavedení jednotných národních kritérií. Skupiny byly porovnány pomocí Fisherova exaktního testu ($\alpha = 0,05$).

Výsledky: Před revizí kritérií bylo vyšetřeno 1 851 osob, po jejich zavedení 778 osob. P/LP varianty byly identifikovány u 341 osob (18,42 %) před revizí a u 140 osob (17,99 %) po jejím zavedení, bez statisticky významného rozdílu ($p = 0,83$). Nejvyšší záchyt byl zaznamenán u karcinomu žaludku (33 %), následovaného karcinomem ledviny (29 %) a endometria (27 %). Nejčastější indikací byl karcinom prsu se

záchytem 23 %. Nejnižší záchyt byl pozorován u karcinomu prostaty (11 %) a u osob testovaných pouze na základě rodinné anamnézy (14 %).

Závěr: Revidovaná a rozšířená indikační kritéria pro testování hereditární nádorové predispozice nevedla ke snížení celkového diagnostického záchytu a ve všech indikačních skupinách zůstal záchyt vyšší než 10 %.

Klíčová slova: hereditární nádorová predispozice, genetické testování, indikační kritéria

Konec monopolů v Čechách aneb klinické sekvenátory od Bio-port Europe

Pospíšil J.

Bioport

Prezentace popisuje posun v klinické DNA diagnostice v Česku směrem k větší konkurenci a dostupnosti. Sekvenátory GeneMind, distribuované Bio-Port Europe, přinášejí automatizované, škálovatelné a nákladově efektivní řešení zahrnující přípravu knihoven, sekvenaci i základní analýzu dat.

Tato technologie umožňuje decentralizaci genetického testování, zkrácení doby výsledků a rozšíření pokročilé diagnostiky i mimo velká centra. Přispívá tak k efektivnějšímu využití genomiky v klinické praxi, zejména v onkologii a diagnostice vzácných onemocnění.

Exomové a celogenomové sekvenování

Analýza transkriptomu - prezentace dvou kazuistik

Zídková J., Kopčilová J., Kramářová T., Réblová K., Fajkusová L.

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

Interpretace genetických variant, zejména strukturálních změn a variant s nejasným významem, představuje klíčovou výzvu v diagnostice dědičných onemocnění. Samotná genomická analýza umožňuje identifikovat potenciálně patogenní varianty na úrovni DNA, ale postrádá informace o jejich funkčním dopadu. Kombinace s transkriptomovou analýzou umožňuje propojit nález na DNA s jeho funkčním důsledkem na úrovni RNA.

Prezentujeme dvě kazuistiky DNA a RNA analýzy genů pro nebulin (NEB) a titin (TTN).

U pacienta s fenotypem nemalinné myopatie byla DNA analýzou detekována v genu NEB pravděpodobně patogenní frame-shift varianta, zděděná od matky, a hlubokointronová varianta paternálního původu s potenciálním vlivem na sestřih RNA. Transkriptomová analýza svalové biopsie potvrdila patogenitu této intronové změny - na úrovni RNA byl detekován aberantní transkript využívající toto alternativní sestřihové místo.

Druhým případem je 16letý pacient s akutním srdečním selháním. DNA analýzou byla detekována de novo multi-exonová delece v genu TTN, zahrnující exony exprimované v hlavních srdečních izoformách titinu. Transkriptomová analýza prokázala aberantní sestřih s inzercí části intronové sekvence. Předpokládaným důsledkem na úrovni proteinu je frame-shift a předčasné ukončení translace titinu.

Tyto případy ilustrují klinický význam integrace genomových a transkriptomových metod pro přesnější interpretaci variant a molekulární diagnostiku.

Výzvy v interpretaci WES dat: případové studie z praxe s Franklin

Král J., Honysová B., Hrabíková M., Chvojka Š., Soldatová I., Svatoň J., Bittáková M., Koudová M.

GNTLabs by Gennet, Praha

Úvod: V naší laboratoři provádíme hodnocení celoxomového sekvenování za použití platformy Franklin Qiagen. Franklin představuje vhodný nástroj pro hodnocení exomových dat, jelikož prioritizuje relevantní varianty na základě fenotypu, který mu je zadán ve standardizované formě HPO termínů.

Materiál a metody: Sekvenujeme celý exom za použití panelu Exome 2.0 VCGS (Twist Bioscience) a sekvenátoru NovaSeq X Plus (Illumina). Primární analýza je prováděna softwarem DRAGEN (FPGATEchnology) a sekundární a terciální analýza pomocí platformy Franklin (Genoox). Vyhodnocovací proces se zaměřuje na geny spojené s fenotypem zadaným pomocí HPO termínů. Franklin integruje data z populačních a klinických databází a z publikované literatury. Franklin zároveň využívá umělou inteligenci pro selekci relevantních genetických variant, stejně jako automaticky navrhuje klasifikaci na základě ACMG kritérií. Vyhodnocujeme jak SNP, tak CNV varianty. Reportujeme sekundární nálezy dle doporučení ACMG, včetně patogenních variant pro deset recesivních onemocnění, která jsou běžná v naší populaci.

Výsledky: Pomocí celoxomového sekvenování jsme vyhodnotili 1178 případů, které zahrnovaly 332 prenatalních a 846 postnatálních případů. Většina prenatalních případů byly trio analýzy indikované na

základě zvýšené nuchální translucence nebo vrozené vývojové vady. Genetickou příčinu jsme identifikovali v 15 % prenatalních a 25 % postnatalních případů.

Závěr: Úspěšné nalezení kauzální varianty je nižší u prenatalních exomových případů než u postnatalních, což je pravděpodobně způsobeno tím, že postnatalní fenotyp je možné popsat s vyšší mírou specifiity. Rádi bychom vám představili některé zajímavé kazuistiky z našeho diagnostického exomového sekvenování.

Exomové sekvenování: cesta k molekulární diagnóze (ultra)vzácných onemocnění

Wayhelová M., Dvořáková L., Peldová P., Libík M., Mušová Z., Hedvičáková P., Bendová Š., Votýpka P., Balaščíková M., Macek M. Jr.

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

V posledním desetiletí se díky rozvoji genomických technik rapidně zvýšila úroveň molekulární diagnostiky vzácných onemocnění, za současného rozvoje databází genomických variant a bioinformatických nástrojů. Rozšíření exomového sekvenování (ES) nad rámec molekulárně diagnostického standardu je současným klíčovým přístupem pro objev nových asociací genů s onemocněním. Tímto sdělením prezentujeme naše zkušenosti s ES jako nástrojem pro objasnění molekulární podstaty nových (ultra)vzácných onemocnění a ukončení často dlouholeté diagnostické odysey. Nevýřešené případy nadále zůstávají předmětem periodických reanalýz dat a kandidáty pro využití širokého potenciálu nových technologií.

Podpořeno projekty NCMG (The National Center for Medical Genomic) LM2018132 a Institucionální podpory FNM 00064203.

Genomické analýzy u pacientů s vzácným onemocněním s negativními výsledky předchozích vyšetření

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

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

Pokroky v diagnostice geneticky podmíněných onemocnění a zavedení metod sekvenování nové generace v posledním desetiletí výrazně zlepšily diagnostickou výtěžnost. V klinické praxi se v současné době standardně používá sekvenování panelů genů volených na základě fenotypu pacienta, sekvenování klinického exomu zahrnujícího známé klinicky relevantní geny nebo sekvenování celého exomu. I po provedení celoexomového sekvenování zůstává více než 50 % případů bez nálezu klinicky relevantní kauzální varianty, a tedy bez uzavřené molekulárně genetické diagnózy. V příspěvku chceme představit přístupy, které volíme u pacientů s negativními výsledky předchozích genetických analýz – reanalýzy dostupných dat, identifikace a funkční charakterizace kandidátních variant v genech dosud neasociovaných s fenotypem, cílené nebo globální analýzy RNA, analýzy epigenetického profilu a celogenomové sekvenování.

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

Vzácní, ale skuteční

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

1 Oddělení lékařské genetiky, Ústav klinické a molekulární patologie a lékařské genetiky, FN Ostrava

2 Ústav lékařské genetiky, LF UP a FN Olomouc

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

Metodika: U pacientů bylo provedeno vyšetření pomocí sekvenování nové generace s využitím vlastních NGS panelů.

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

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

Využití pokročilé genomiky v diagnostice vzácných a ultra-vzácných onemocnění a pro účely precizní medicíny

Slabý O.^{1,2}, Pokorná P.^{1,2}, Říhová K.^{1,2}, Slabá K.^{2,3}

1 Biologický ústav LF MU, Brno

2 Centrum precizní medicíny, FN Brno

3 Pediatrická klinika, FN Brno a LF MU, Brno

V současnosti u pacientů s ultra-vzácnými chorobami a tzv. pacientů bez diagnózy uplatňujeme multiomický přístup, který propojuje celogenomové (WGS) a transkriptomové (RNA-seq) sekvenování, metylační profily a sekvenování s dlouhým čtením s precizní klinickou charakterizací prostřednictvím HPO kódů. Tato integrace umožňuje zvýšit diagnostický výtěžek zejména u exom-negativních případů a zkrátit diagnostickou odyseu pacientů. Funkční validace kandidátních variant nejasného významu pomocí cílených genetických modifikací u pokročilých buněčných modelů přináší důkazy o jejich patogenitě a také otevírá možnosti repurposingu léčiv, nikoli pro konkrétní diagnózy, ale pro jednotlivé pacienty s přesně definovanou genetickou příčinou. Negativní genomová data mohou být bezpečně sdílena v rámci mezinárodních matchmakingových platforem s cílem nezávislé interpretace vzácných variant a stanovení diagnózy prostřednictvím identifikace fenotypově i genotypově podobných pacientů po celém světě. Přednáška představí příklady těchto aplikací, ale také výsledky implementace rapidního WGS u kriticky nemocných dětí a novorozenců (národní studie BabyFox), které propojují klinickou genetiku, bioinformatiku a řadu lékařských specializací s cílem proměnit genomická data v konkrétní terapeutický přínos pro pacienta.

Sekvenování bez kompromisů: špičkové technologie pro přesnou diagnostiku

Fadda A.

Dynex

AVITI24 offers dual functionality as both a high-performance next-generation sequencer and an integrated platform for single-cell multiomic analysis—delivering powerful capabilities in one accessible system. Researchers can perform standard sequencing applications such as bulk RNA-seq and targeted panels with high data quality, flexible throughput, low per-run costs, and minimal hands-on time. In addition, AVITI24 supports Teton cytoprofile, a unique workflow that enables direct cell loading onto the flow cell to capture RNA, protein, and morphology data—all collected at the single-cell level—from millions of individual cells in a single run. This talk will showcase how researchers are leveraging both aspects of the platform to generate rich, high-resolution datasets and accelerate discovery across a range of applications.

Suspektní hereditární spastická paraparéza u dětí: význam exomové analýzy u pacientů s velmi časným nástupem

Uhrová Mészárosová A.¹, Vášová J.¹, Musilová A.¹, Laššuthová P.¹, Paulasová Schwábová J.², Vyhnálková E.³, Šafka Brožková D.¹

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

2 Neurologická klinika, 2. LF UK a FN Motol a Homolka, Praha

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

Úvod: Hereditární spastická paraparéza (HSP) je vzácné heterogenní geneticky podmíněné onemocnění, jehož klinická manifestace může začít v jakémkoli věku. Prvním klinickým příznakem je obvykle porucha chůze. U dětí je diagnostika u suspektní HSP obtížná, klinické příznaky jsou často nejednoznačné.

Pacienti, metody: Exomovým sekvenováním s vyhodnocením panelu genů spojených s HSP a dál celkovým hodnocením exomových dat jsme vyšetřili 134 pacientů se suspektní HSP s nástupem obtíží v dětském věku (0 – 18 let). K sekvenování použity kity SureSelect (Agilent Technologies) a TWIST Comprehensive Exome (TWIST Bioscience). Pacienti byli pro další evaluaci výsledků rozděleni do tří skupin podle věku při nástupu příznaků: skupina A (0–5 let, n = 82), skupina B (5–10 let, n = 32) a skupina C (10–18 let, n = 20).

Výsledky: Genetickou diagnózu jsme stanovili u 31 % pacientů (41 nepříbuzných pacientů). U objasněných pacientů byla v 64 % nalezena patogenní varianta v genu zařazeném do panelu HSP genů, ve 32 % případů bylo diagnostikované jiné vzácné neurologické onemocnění a spastická paraparéza byla jen jedním z klinických projevů. Mezi nimi byli převážně pacienti s velmi vzácnými diagnózami celosvětově. Diagnostická výtěžnost se zvýšila až o 1/3 ve skupině A analýzou celého exomu a dosáhla 37 %. Ve skupině B bylo diagnostikováno 18 % pacientů pomocí hodnocení panelu nebo kombinace panel plus analýza exomu. Ve skupině C bylo objasněno 25 % panelem genů, analýza exomu nevedla k navýšení objasnitelnosti. Až u jedné třetiny nejmladších pacientů (0–5 let) bylo tedy diagnostikováno jiné genetické onemocnění než HSP, a to až na základě hodnocení exomových dat. Bylo detekováno celkem 47 patogenních variant, z toho 19 dosud nepopsaných a více než 20 % ze zachycených variant bylo detekováno de novo (s výjimkou jedné

všechny zachyceny ve skupině A). Autozomálně dominantní formy HSP (82 %) mohou být u dětských pacientů se suspektní HSP v České republice častější než autozomálně recesivní formy (18 %).

Závěr: Exomové sekvenování s vyhodnocením pouze panelu genů spojovaných s HSP je vhodné a může být dostatečné jen u starších dětských pacientů. Pacienti s časným nástupem klinických příznaků jednoznačně profitují z celkové analýzy exomových dat, což představuje pro tuto věkovou skupinu nejvhodnější přístup. Pod diagnózou suspektní HSP se u velké části dětských pacientů zejména s časným nástupem skrýval jiné vzácné geneticky podmíněné onemocnění.

Genetická heterogenita sensorineurální poruchy sluchu: role exomového sekvenování v klinické praxi

Gančarčíková M.¹, Malá T.², Cichrová P.², Dršata J.³, Langová M.⁴, Tajtlová J.⁴, Elblová L.², Morávková P.¹, Farkašová A.¹, Skutilová V.², Fridrichová P.², Solařová P.², Šenkeříková M.², Pavlíková L.¹, Hyšpler R.¹

1 Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK v Hradci Králové UK a FN Hradec Králové

2 Oddělení lékařské genetiky, LF UK v Hradci Králové UK a FN Hradec Králové

3 Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, LF UK v Hradci Králové UK a FN Hradec Králové

4 Oddělení lékařské genetiky, FTN, Praha

Úvod: Sensorineurální porucha sluchu je vysoce geneticky heterogenní skupinou onemocnění představující nejčastější smyslový deficit s prevalencí přesahující 5 % světové populace (WHO, 2025; PMID:12784229). Genetická etiologie je prokazována u ~2/3 pacientů s prelingvální hluchotou, z nichž 70 % tvoří nesyndromové poruchy sluchu (NSHL) a 30 % syndromové formy. Řada syndromových jednotek se však v raném věku manifestuje izolovanou ztrátou sluchu s opožděným nástupem dalších klinicky mírných či závažných obtíží, což vede k jejich maskování mezi nesyndromové případy a je komplikací přesné klinické diagnostiky.

Metody: K přípravě sekvenační knihovny byl využit přístup hybridisation-based target enrichment pomocí SureSelectXT HS (Agilent) a vlastní custom design panelu vybraných 121 genů asociovaných s NSHL. Pro celoxomovou sekvenaci byl použit spike-in panelů SureSelect Human All Exon V8+NCV a mitochondriálního genomu (Agilent). Sekvence probíhala na platformě DNBSEQ-G400 (MGI), následná sekundární a terciální analýza byla provedena pomocí softwaru Varsome Clinical (Saphetor) a vlastní bioinformatické pipeline (Ref. Human Genome GRCh38.p14/hg38). Rekurentní CNV nálezy z bioinformatické analýzy byly konfirmovány metou MLPA (MRC Holland).

Výsledky: V období 8/2023-4/2025 bylo provedeno panelové sekvenování (121 vybraných genů asociovaných s NSHL) u 38 GJB2-negativních pacientů s diagnózou nesyndromové poruchy sluchu. Medián věku pacientů dosáhl 10 let (rozmezí 0-72 let). Kauzální varianty byly detekovány v 50 % případů (19/38). Z tohoto souboru bylo 15 pacientů s neobjasněnou etiologií poruchy sluchu vybráno k retrospektivnímu celoxomovému sekvenování doplněného analýzou mitochondriálního genomu. Ve 2 případech (13,3 %) byla identifikována syndromová forma poruchy sluchu. Od 6/2025 byl změněn diagnostický algoritmus a GJB2-negativní pacienti jsou primárně analyzováni pomocí celoxomového sekvenování. V období 6/2025-12/2025 bylo vyšetřeno dalších 12 pacientů (medián věku 28 let) s poruchami sluchu, přičemž byly detekovány kauzální varianty v 67 % případů (8/12). V kompletním souboru analyzovaných pacientů (panel/WES) byly nalezeny kauzální SNV varianty v genech MYO15A, PTPRQ, OTOA, STRC, WFS1, stejně jako rozsáhlé rekurentní aberace zahrnující geny STRC, CATSPER2 a OTOA.

Závěr: Implementace celoxomového sekvenování do diagnostického algoritmu, ihned po negativním screeningu variant v GJB2 genu, přispívá k diagnostické výtěžnosti, objasnění etiologie geneticky heterogenních hereditárních sensorineurálních poruch sluchu a zlepšuje možnost přesného genetického poradenství pro pacienty a jejich rodiny.

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

OmiCZ: Od vize k praxi – budování národní genomické infrastruktury pro federovanou Evropu

Bystrý V.

CEITEC, Masarykova univerzita, Brno

Iniciativa 1+Million Genomes a její implementační projekty jako Genomic Data Infrastructure (GDI) a FEAGA postupně přecházejí od vize k prvním praktickým výstupům. V letošním roce dochází k nasazení celoevropského portálu pro vyhledávání alelických frekvencí v populacích napříč členskými státy a ve spolupráci s projektem ERDERA pro výzkum vzácných onemocnění se vyvíjí systém pro federované sledování a vyhledávání variant napříč zeměmi. Tyto první instance však představují teprve začátek – cílem je vybudovat robustní federovanou síť schopnou poskytovat data pro klinický výzkum v onkologii, kardiogenetice a dalších oblastech, založenou na principu federované analýzy bez nutnosti fyzického přenosu citlivých genomických dat mezi zeměmi. Předpokladem úspěchu těchto aktivit je ovšem nejen technická infrastruktura, ale především důvěra a ochota producentů dat ke sdílení a tuto důvěru je potřeba začít budovat na národní úrovni jednotlivých států. Proto v České republice chceme vytvořit prostředí, které poskytne bezpečné a spravedlivé řešení pro ukládání a sdílení genomických dat a zároveň zachová plnou kontrolu producentů dat nad jejich využitím. V rámci přednášky představíme OmiCZ – Český národní omický repozitář pro ukládání citlivých genomických dat, vznikající ve spolupráci s ELIXIR CZ a v rámci projektu Open Science II. OmiCZ zahrnuje tři ekvivalentní uzly (Praha, Brno, Olomouc) a nabídne producentům dat zabezpečené technické řešení pro ukládání, zpracování a řízené sdílení genomických dat. Nikdo nebude nucen data sdílet, infrastruktura však umožní na vyžádání extrahovat necitlivé agregované informace, jako jsou alelické frekvence, pravděpodobnosti variant či polygenic risk scores, a tím přispět k bohatšímu analytickému kontextu na evropské úrovni a současně z něj čerpat. Představíme technické řešení repozitáře OmiCZ, jeho napojení na evropskou infrastrukturu a diskutujeme přínosy pro klinickou diagnostiku, výzkum i mezinárodní spolupráci české lékařské genetiky.

Odpovědné sdílení genomických dat: model etické správy a řízení přístupu

Franková V.¹, Bystrý V.², Šišovská K.³, Dudová Z.³, Houdová L.⁴, Kleibl Z.¹

1 Ústav lékařské biochemie a laboratorní medicíny, 1. LF UK a VFN v Praze

2 CEITEC, Masarykova univerzita, Brno

3 CESNET, zájmové sdružení právnických osob, Praha

4 Fakulta aplikovaných věd, Západočeská univerzita v Plzni

Sdílení lidských genomických dat může zásadním způsobem zrychlit rozvoj diagnostiky a výzkumu dědičných onemocnění, současně však vyvolává zásadní etické otázky. Specifická povaha genomických dat, a to zejména jejich důvěrnost a celoživotní platnost, vyžaduje promyšlený systém správy a jasné definované pravidla přístupu.

V příspěvku chceme představit model etické správy a řízení přístupu ke genomickým datům, který vymezuje práva a povinnosti tří klíčových aktérů: producentů dat, správců repozitáře a uživatelů dat. Model je založen na principech odpovědnosti, transparentnosti, proporcionality a spravedlnosti, zároveň usiluje o vyvážení ochrany práv jedinců (právo na soukromí a sebeurčení) a podporou legitimního klinického a výzkumného využití dat. Součástí tohoto modelu je i Data Access Committee (DAC), tedy komise rozhodující o udělení přístupu k datům. V příspěvku přiblížíme její složení, kompetence a procesní nastavení hodnocení žádostí. Stručně budou diskutovány také aktuální právní souvislosti sdílení citlivých genomických údajů, zejména v oblasti ochrany osobních údajů a sekundárního využití dat.

Cílem prezentace je popsat prakticky realizovatelný model správy genomických dat, který může přispět k systematickému a eticky odpovědnému nastavení sdílení genomických dat v klinické i výzkumné praxi,

Tato práce vznikla s podporou projektu Open Science II, reg. č. CZ.02.01.01/00/24_030/0015041 financovaného z OP JAK. Spolufinancováno Evropskou unií.

Deep Learning Classification of Genetic Sequences from Short DNA Fragments

Jan Židek^{1,2}, Karolína Brdičková², Radim Brdička²

1 CEITEC, Brno University of Technology, Purkynova 123, Brno, Czech Republic

2 Biogen s.r.o. Ke sv. Izidoru 2293/4A 140 00 Praha 4

Jan.zidek@ceitec.vutbr.cz

Gene sequencing and genomic data analysis are fundamental for diagnostics, the development of biological therapies, and the monitoring of genetic diversity. Traditional workflows require complete loading and storage of entire genomic datasets, which imposes substantial demands on data storage (on the order of terabytes) and computational infrastructure, thereby limiting the adoption of advanced machine learning models in smaller research facilities.

This contribution presents two approaches to the classification of genetic sequences using artificial intelligence models. The first application describes a data processing strategy that eliminates the need to analyze complete genomes—DNA sequences are represented as text, from which random fragments of 200–500 base pairs are sampled (a total of 48 FASTA files). A software package was developed comprising two classifiers (CNN and BioBERT), with a meta-model based on logistic regression that automatically selects the most suitable approach depending on the input. The system further enables the detection of gene motifs and functional features, including recombination sequences, toxins, and resistance genes.

The second approach focuses on improving the interpretability of genetic analysis outputs. Variant Call Format (VCF) files are typically difficult for non-expert users to interpret, as they contain large volumes of technical information about identified genetic variants. Using AI, these data can be automatically interpreted and transformed into a human-readable report in natural language, clearly describing the significance of individual mutations, their potential biological impact, and relevant contextual relationships. Such an approach significantly facilitates result interpretation and broadens their practical applicability.

This work was supported by the Ministry of Industry and Trade and co-funded by the European Union under project CZ.01.01.01/01/24_062/0007616, “SW Platform for Automated Analysis and Treatment Based on Genetic Data.”

Dvouleté zkušenosti s Centrálním sekvenováním ve Fakultní nemocnici Olomouc

Kriegová E., Maňáková J., Nesnadná R., Wojewodová K., Trajerová M., Savara J., Petráčková A.

Ústav imunologie, LF UP v Olomouci a FN Olomouc

Prudký rozvoj využití genetických analýz a znalost genetického profilu pacienta patří mezi nejpokročilejší řešení současné precizní diagnostiky. V reakci na rostoucí potřebu klinického genetického testování metodou sekvenování nové generace (NGS) vedení Fakultní nemocnice Olomouc (FNOL) začátkem roku 2024 rozhodlo o vytvoření střediska Centrální sekvenace pro všechna svá pracoviště. Cílem bylo efektivně využít přístrojové vybavení, zkrátit dobu odezvy genetických analýz a zajistit jednotnou kvalitu výstupů. Centrální sekvenace vznikla při Ústavu imunologie jako první nemocniční pracoviště tohoto typu v České republice.

Efektivní provoz centrálního sekvenátoru je umožněn slučováním požadavků na sekvenaci z různých pracovišť nemocnice prostřednictvím moderní webové aplikace coreSEQ, kterou vyvinul tým doc. Kriegové za podpory Úseku informačních technologií. Aplikace coreSEQ zajišťuje registraci knihoven z jednotlivých oddělení, plánování sekvenačních běhů, automatizované slučování „SampleSheetů“ jednotlivých knihoven, předávání FASTQ dat a reportů kvality jednotlivým pracovištím. Aplikace coreSEQ také umožňuje koordinaci odlišných požadavků na dobu odezvy genetických analýz, od delší doby v případě germinálního celoxomového sekvenování po krátkou dobu u onkologických panelů nebo předtransplantačního vyšetření HLA.

Provoz Centrální sekvenace byl zahájen v lednu 2024 na platformě NextSeq 2000 (Illumina) a od června 2024 probíhá na přístroji SurfSeq 5000 (GeneMind). Příprava knihoven probíhá v jednotlivých laboratořích FNOL a následná sekvenace se provádí jednou až dvakrát týdně podle požadavků. U nestatimových analýz se osvědčilo spouštění sekvenačního běhu v pátek, kdy demultiplexovaná sekvenační data jsou jednotlivým pracovištím k dispozici na nemocničním úložišti v pondělí ráno. Bioinformatická analýza a klinická interpretace dat probíhá na jednotlivých pracovištích, mezi která patří Ústav imunologie, Hematoonkologická klinika, Ústav lékařské genetiky a Ústav klinické a molekulární patologie.

Během dvouletého provozu Centrální sekvenace od ledna 2024 do ledna 2026 bylo realizováno 164 sekvenačních běhů s celkovým objemem požadavků na sekvenaci 13 000 Gbp a za toto období bylo evidováno 10 žádostí o servis přístroje či reklamaci sekvenační chemie. Dvouleté zkušenosti potvrzují, že centrální model klinické sekvenace umožňuje zkrácení doby odezvy genetických analýz, efektivní využití vysokokapacitní technologie a standardizaci kvality výstupů.

Kontakt na odborné garanty Centrální sekvenace FNOL: doc. Dr. Eva Kriegová (eva.kriegova@fnol.cz), Anna Petráčková (anna.petrackova@fnol.cz).

Grantová podpora: JG_2024_035, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), IGA_LF_2026_013.

Postery

Fosforylace a izoformová exprese TTN u pacientů s dilatační kardiomyopatií a TTN trunkujícími variantami: korelace s echokardiografickými parametry

Adamová M.¹, Koser F.², Kubánek M.¹, Krebsová A.¹, Melenovský V.¹, Linke W.²

1 Klinika kardiologie, IKEM, Praha

2 Ústav fyziologie II, Univerzita v Münsteru, Německo

Cíl: Molekulární mechanismy srdečního selhání (HF) u pacientů s heterozygotními protein-trunkujícími variantami genu TTN (TTNtv) nejsou dosud plně objasněny. Vzhledem k mimořádné velikosti genu a komplexní izoformové expresi titinu, představuje analýza jeho transkriptů významnou metodologickou výzvu. Cílem studie bylo analyzovat vztah mezi proteinovou expresí jednotlivých izoform TTN v levé komoře (LV) a echokardiografickými parametry hodnocenými pomocí transtorakální echokardiografie (TTE) u pacientů s pokročilým HF. Sekundárním cílem bylo stanovit míru fosforylace titinu u pacientů s pokročilým HF a porovnat tyto nálezy s kontrolní skupinou.

Soubor a metodika: Analyzováno bylo 44 vzorků explantovaných LV získaných při transplantaci srdce (29 pacientů s dilatační kardiomyopatií [DCM], 15 kontrol; 38 mužů; věk 44 ± 14 let). Genetické vyšetření bylo provedeno ze vzorků periferní krve. Ve skupině DCM bylo 19 pacientů DCM-TTNtv+ a 10 pacientů DCM-TTNtv- s patogenními variantami v jiných kardiomyopatických genech. Relativní zastoupení izoform titinu (N2BA, N2B, Cronos, T2) a míra fosforylace oblastí PEVK a N2Bus byly stanoveny pomocí gelové elektroforézy vysokomolekulárních proteinů. Echokardiografické parametry byly získány metodou TTE.

Výsledky: Parametry proteinové analýzy LV významně korelovaly s echokardiografickými ukazateli funkce pravé komory. V oblasti N2Bus byla na serinu 4185 (S4185) zjištěna signifikantně snížená fosforylace u DCM-TTNtv+ oproti kontrolám. Naproti tomu fosforylace oblasti PEVK se mezi skupinami významně nelišila.

Závěr: Výsledky naznačují, že TTNtv mohou narušovat regulaci fosforylačních míst v oblasti N2Bus, která se podílí na diastolické poddajnosti myokardu. Patofyziologický rozdíl mezi DCM-TTNtv+ pacienty a kontrolami tak pravděpodobně nespočívá primárně pouze v množství titinu, ale také v jeho posttranslační modifikaci.

Podpořeno Ministerstvem zdravotnictví ČR ve spolupráci s Agenturou pro zdravotnický výzkum ČR v rámci projektu č. NW25J_02_00024. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

Patogenní varianty v genu SDHA a jejich variabilní manifestace

Bačíková D.¹, Štufková H.¹, Lišková P.², Křížová J.¹, Tóthová K.¹, Honzík T.¹, Zeman J.¹, Hansíková H.¹, Tesařová M.¹

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

2 Oční klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Gen SDHA (NM_004168.4) kóduje jednu ze čtyř podjednotek komplexu II dýchacího řetězce, sukcinátdehydrogenázy (SDH). Jedná se o kritický metabolický enzymový komplex, který propojuje citrátový (Krebsův) cyklus s elektron-transportním řetězcem vazbou oxidace sukcinátu za současné redukce ubiquinonu. Patogenní varianty v tomto genu vykazují jak monoalelickou, tak bialelickou dědičnost a mohou se manifestovat závažnou leukoencefalopatií s nástupem během prvního roku života, neurodegenerací a ataxií, optickou atrofií nebo kardiomyopatií a myopatií s rozvojem v dospělosti. V neposlední řadě heterozygoti pro patogenní varianty v genu SDHA (typu LOF) mají významně zvýšené riziko vzniku gastrointestinálního stromálního tumoru, paragangliomu/feochromocytomu a karcinomu ledvin. Cílem studie je charakterizovat nové vzácné varianty v genu SDHA, které jsme našli u dvou pacientů v bialelické formě a u jednoho pacienta ve formě monoalelické. U 11letého pacienta s nystagmem se rozvinula oboustranná optická atrofie a porucha zraku. Byly nalezeny dvě heterozygotní varianty c.476C>T (p.Pro159Leu) a c.1016C>T (p.Ser339Phe), které jsou predikované jako pravděpodobně patogenní. Snížená aktivita komplexu II a snížená mitochondriální respirace byly detekovány v lymfocytech pacienta. Monoalelická heterozygotní varianta c.1351C>T (p.Arg451Cys) byla nalezena u 35letého pacienta s bilaterální optickou atrofií a nystagmem. Tato varianta již byla dříve popsána a v heterozygotní formě vede k významnému poklesu aktivity SDH. Dvě nové heterozygotní varianty c.421T>G (p.Tyr141Asp) a c.553C>G (p.Gln185Glu) jsme našli u 38leté pacientky s ataxií, mozečkovou atrofií a mentální retardací. Varianty mají za důsledek významně sníženou aktivitu SDH ve svalu, lymfocytech a kultivovaných fibroblastech (20–30 % kontrolních hodnot) a snížení obsahu podjednotek SDHA i SDHB ve svalu. Výsledky ukazují význam funkčních analýz k potvrzení patogenity nových variant v genu SDHA.

Podpořeno výzkumným projektem RVO VFN64165 a grantem AZV 22-7-00614.

ABCA4: když genotypy tropí čertoviny a pravdu musí najít andělská trpělivost. Ani tři patogenní varianty nemusí stačit pro potvrzení diagnózy

Bakalář R.¹, Slavíková P.¹, Řeboun M.¹, Svačinová R.¹, Vlášková H.¹, Štorkánová G.¹, Ďudáková L.¹, Lišková P.², Vajter M.², Pešková K.¹, Dvořáková L.¹

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

2 Oční klinika, 1. LF UK a VFN v Praze

Gen ABCA4 kóduje sítnicový ABC transportér, který zajišťuje transport retinoidů ve fotoreceptorech a brání hromadění toxických derivátů. Bialelické mutace v ABCA4 jsou asociovány se Stargardtovou chorobou a dalšími příbuznými retinopatiemi. V HGMD je uvedeno 2039 kauzálních mutací, včetně 60 hlubokých intronových variant.

Na našem pracovišti je gen ABCA4 vyšetřován metodou NGS v rámci panelu 314 genů souvisejících s onemocněními zadního segmentu oka. Vyšetření pokrývá všech 50 kódujících exonů, 5' a 3' nepřekládané oblasti, okrajové části intronů a 51 hlubokých intronových variant.

V letech 2024–2025 bylo na našem pracovišti vyšetřeno 29 pacientů s klinickým podezřením na makulární dystrofii, patogenní varianty v ABCA4 jsme identifikovali u 18 z nich. U 12 pacientů jsme našli 2 varianty, 4 pacienti nesli 3 varianty a dva pacienti dokonce 4 varianty. Segregační analýza s použitím Sangerova sekvenování byla doposud provedena v 8 rodinách.

U jednoho pacienta jsme metodou NGS identifikovali 3 rekurentně popisované nesynonymní varianty, nicméně segregační analýza v rodině prokázala jejich konfiguraci in cis. Sangerovým sekvenováním bylo následně vyšetřeno dalších 13 popsaných hlubokých intronových variant, které pomocí NGS nedetekujeme. Tímto způsobem byla identifikována čtvrtá varianta in trans a diagnóza byla potvrzena.

Tento příklad ukazuje nutnost doplňujících analýz i u zdánlivě objasněných genotypů. Segregační analýza je klíčová pro správnou interpretaci nálezu a pro potvrzení diagnózy na molekulárně genetické úrovni.

Podpora: MZ ČR – RVO-VFN 64165

Deficit fosforibosylformylglycinamidin syntázy (dPFAS): Klinická, genetická a metabolická charakterizace nového deficitu dráhy de novo syntézy purinů

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

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

2 Department of Clinical Genetics, Erasmus MC University Medical Center, Rotterdam, the Netherlands

3 Wake Forest School of Medicine, Section on Nephrology, Winston-Salem, NC, USA

Cíle: De novo syntéza purinů zahrnuje deset po sobě jdoucích reakcí katalyzovaných šesti enzymy, včetně fosforibosylformylglycinamidinsyntázy (PFAS). Dosud byly u člověka popsány genetické defekty tří enzymů této dráhy - ATIC, ADSL a PAICS. V této práci popisujeme dva pacienty s novým onemocněním – deficitem PFAS.

Metody: Pacienti byli identifikováni na základě metabolického a genetického screeningu u pacientů s neurologickým postižením. Patogenita zjištěných variant byla hodnocena pomocí strukturálních modelů a funkčních studií.

Výsledky: Probandi C1 a C2 se prezentovali předčasným porodem, růstovou retardací, opakovanými záchvaty a mírným neurologickým postižením. U pacienta C1 byla zjištěna zvýšená exkrece formylglycinamidribosidu (FGAr) v moči a přítomnost bialelických variant v genu PFAS: NC_000017.10:g.8159584G>A a g.8168756C>T (GRCh37). První varianta způsobuje alternativní sestřih mezi intronem 6 a exonem 7, což vede k in-frame deleci NM_012393.3:c.681_689del, NP_036525.1:p.(Glu228_Ser230del), druhou variantou je missense substituce, NM_012393.3:c.2431C>T, NP_036525.1:p.(Arg811Trp). Probandka C2 je 20letá žena s homozygotní variantou NM_012393.3:c.792C>G vedoucí k missense substituci NP_036525.1:p.(Asn264Lys). Strukturální analýza ukázala, že všechny tyto změny pravděpodobně narušují stabilitu PFAS. V kožních fibroblastech pacienta C1

bylo zjištěno snížení množství i enzymatické aktivity PFAS spolu s poruchou tvorby purinosomů. Transfekce konstruktem pTagBFP_PFAS_wt vedla k obnovení normální purinosomové organizace. Všechny tři rekombinantní mutantní varianty PFAS vykazovaly signifikantně sníženou enzymatickou aktivitu ve srovnání s wt proteinem. Patogenita zjištěných variant tedy byla potvrzena.

Závěr: Ačkoli jsou poruchy de novo syntézy purinů tradičně spojovány s těžkým neurologickým postižením, naše data ukazují, že mohou být asociovány i s mírnějšími klinickými fenotypy. Z tohoto důvodu by měly být zvažovány i u pacientů s méně závažným neurologickým postižením a epilepsií.

Financování: Tato práce byla podpořena grantem NU23-01-00500 Ministerstva zdravotnictví České republiky, MULTIOMICS_CZ (Program Johannes Amos Comenius, Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, //ID projektu CZ.02.01.01/00/23_020/0008540) – Spolufinancováno Evropskou unií.

Práce byla publikována: Marie Zikanova et al: Phosphoribosylformylglycinamide synthase (PFAS) deficiency: Clinical, genetic, and metabolic characterization of a novel defect in purine de novo synthesis. JIMD, 2025, DOI: 10.1002/jimd.70041

Národní centrum lékařské genomiky České republiky

Bendová B.¹, Hartmannová H.¹, Hodaňová K.¹, Trešlová H.¹, Nosková L.¹, Stránecký V.¹, Kmoch S.¹

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

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

NCMG (National Center for Medical Genomics; Národní centrum lékařské genomiky) je výzkumná infrastruktura genomických laboratoří 1. a 2. lékařské fakulty a Lékařské fakulty v Plzni, Univerzity Karlovy, Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, Fakultní nemocnice v Motole; BIOCEVu - Biotechnologického a biomedicínského centra Akademie věd a Univerzity Karlovy ve Vestci, Interní hematologické kliniky, Centra molekulární biologie a genové terapie Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity, Fakultní nemocnice Brno; CEITECu - Středoevropského technologického institutu, Masarykovy univerzity v Brně a Ústavu molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Plzeň.

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

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

Dále také nabízíme ke stažení veřejně dostupnou databázi genomických variant české i slovenské populace.

<https://ncmg.cz/>

Identifikace atypické fúze PML-RAR pomocí RNA NGS

Beránková M.¹, Libra A.¹, Baudyšová K.¹, Gančarčíková M.¹, Lánská M.², Žák P.², Pavlíková L.¹, Hyšpler R.¹

1 Ústav klinické biochemie a diagnostiky

2 IV. interní hematologická klinika, Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Úvod: Akutní promyelocytární leukémie (APL) představuje biologicky i klinicky specifický subtyp akutní myeloidní leukémie, typicky asociovaný s translokací t(15;17)(q24;q21) a vznikem fúzního genu PML::RARA. Ve více než 95 % případů jsou přítomny klasické izoformy (bcr1, bcr2, bcr3), zatímco atypické varianty s neobvyklými místy zlomu jsou vzácné a mohou unikat detekci standardní qRT-PCR.

Kazuistika: Prezentujeme kazuistiku pacientky s morfologicky i imunofenotypově typickým obrazem APL (cca 20 % abnormálních promyelocytů v periferní krvi, fenotyp CD45+, CD34–, CD117+, HLA-DR–, cMPO++, s koagulační alterací (D-dimery 7,36 mg/l)) a průkazem translokace t(15;17) metodou FISH ve 18 % jader. Standardní molekulární vyšetření však neprokázalo běžnou izoformu PML-RARA.

Pomocí RNA sekvenování (SureSelect XT HS2 RNA, Agilent; platforma MGI G400; analýza Arriba) byla identifikována raritní atypická fúze charakterizovaná skippingem exonu 5 genu PML, sestřihem na počátku exonu 6, inzercí 18 nukleotidů z intronu 2 genu RARA a následným napojením na exon 3 RARA. Tato struktura odpovídá heterogenním variantám typu bcr2 (V-forma), avšak s unikátní kombinací delece a inzerce.

Závěr: Ztráta exonu 5 je biologicky významná, neboť tato oblast kóduje část alfa-helikální domény proteinu PML. Její absence může modifikovat konformaci fúzního proteinu a snižovat citlivost na kyselinu all-trans retinovou (ATRA). Literární údaje naznačují, že klony postrádající exon 5 mohou perzistovat během léčby jako reziduální populace a podílet se na časném relapsu, což je spojováno s horší prognózou a potenciální rezistencí na terapii.

Tento případ zdůrazňuje význam přístupu RNA sekvenování u pacientů s diskrepancí mezi morfologií, FISH a negativní standardní qPCR. Současně poukazuje na nutnost návrhu pacient-specifické PCR eseje pro přesné monitorování měřitelné zbytkové nemoci. Včasná identifikace atypické fúze je klíčová pro optimalizaci léčebné strategie a minimalizaci rizika relapsu.

Komplexný karyotyp v éře NGS: analýza a korelácia genetických nálezov pri novodiagnostikovanej AML

Blahová A., Majerová L., Lengyelová K., Krajčíková M., Baránková K., Hladíková A., Hercegová A., Ondreičková V., Ferková L., Lachkovičová L., Vallová S.

Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex s.r.o., Bratislava, Slovensko

Komplexný karyotyp (KK) pri de novo akútnej myeloidnej leukémii (AML) je definovaný prítomnosťou ≥ 3 cytogenetických aberácií, pričom sa nezahŕňajú prognosticky priaznivé inverzie a balansované prestavby. Vyskytuje sa približne u 10–14 pacientov s AML a je spojený s nepriaznivou prognózou, kratším celkovým prežívaním a horšou odpoveďou na liečbu. U pacientov s KK sú často prítomné aj molekulové aberácie, viac ako polovica pacientov má prítomné mutácie génu TP53 asociované s chromozómovou nestabilitou.

V práci predstavujeme súbor pacientov s novodiagnostikovanou AML, ktorých vzorku kostnej drene alebo periférnej krvi sme v rokoch 2020–2025 vyšetrili na našom oddelení lekárskej genetiky. Vyšetrenia boli uskutočnené štandardnou cytogenetickou analýzou G-Bandu, FISH metódou a molekulovou analýzou pomocou metódy NGS (NGS oncoReveal Myeloid Panel, Pillar).

Prinášame prehľad cytogenetických a molekulových nálezov a poukazujeme na význam komplexnej genetickej diagnostiky pre presnejšiu stratifikáciu rizika a optimalizáciu terapeutického manažmentu pacienta.

Našich 10 let s MKK: Vyšetření aneuploidií chromozomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR, kterou pořádáme pro laboratoře v ČR a trochu i v SR

Dobšáková Z., Nikulenkov Grochová D.

Cytogenetická laboratoř Brno, s.r.o.

Shrneme vývoj za posledních 10 let. Budou grafy, statistiky, a hlavně zajímavé případy, o které jsme se s účastníky vždy s nadšením podělili. Budeme moc rády, když se u „plakátu“ sejdeme se zájemci o prenatální testování nejčastějších aneuploidií, a oceníme zpětnou vazbu k pořádání MKK.

A pak, že se Turnerův syndrom nedědí! Zajímavá kazuistika

Drábová J.¹, Turnovec M.¹, Plachý L.², Kutilová T.¹, Slámová Z.¹, Novotná D.¹

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

2 Pediatrická klinika, 2. LF UK a FN Motol a Homolka, Praha

Turnerův syndrom (TS) představuje fenotypově i geneticky heterogenní skupinu onemocnění, zahrnující pacientky s úplnou monozomií chromozomu X (45,X) i s parciální ztrátou chromozomu X (delece Xp nebo Xq různého rozsahu). U přibližně poloviny patientek se monozomie X vyskytuje v mozaice, nejčastěji v kombinaci s normální buněčnou linií. Většina žen s TS (95–98 %) je neplodná v důsledku gonadální dysgeneze. Približně 5–25 % žen s TS si však zachovává alespoň částečnou ovariální funkci, což může vést ke spontánnímu nástupu puberty a menstruačního cyklu. Navzdory tomu jsou spontánní koncepce a narození zdravých potomků u žen s TS popisovány pouze ojediněle, přičemž se tyto případy týkají téměř výhradně mozaikových forem TS.

K vyšetření karyotypu byla indikována 14letá dívka s malým vzrůstem (148,4 cm; –2,6 SD), avšak se spontánním nástupem puberty. Karyotyp byl 45,X a metodou FISH byla monozomie X prokázána ve 100 % vyšetřených buněk (468 buněk z periferní krve a 571 buněk z bukalního stěru). Vzhledem k nápadně menší tělesné výšce matky probandky (152,2 cm) bylo i u ní doplněno vyšetření karyotypu, které rovněž potvrdilo monozomii X, tedy TS. Metoda FISH prokázala, obdobně jako u dcery, monozomii X ve 100 % vyšetřených

buněk (456 buněk z periferní krve). U matky se kromě malého vzrůstu vyskytuje také předčasné ovariální selhání, Hashimotova tyreoiditida a sludge ve žlučníku. Navzdory potvrzenému TS byl nástup puberty u matky též spontánní a dvakrát spontánně otěhotněla.

Podpořeno projektem koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203/6004.

Genetická příčina familiárně malého vzrůstu a mnohočetné epifyzární dysplázie – kazuistika

Elblová L.¹, Šenkeříková M.¹, Malá T.¹, Morávková P.², Farkašová A.², Gančarčíková M.²

1 Oddělení lékařské genetiky, FN Hradec Králové

2 Ústav klinické biochemie a diagnostiky, FN Hradec Králové

V etiopatogenezi malého vzrůstu hraje významnou roli nejen osa GH-IGF-1, ale také růstová ploténka včetně chondrocytů a extracelulární matrix chrupavky nebo základní intracelulární procesy. Dle aktuálních studií může být genetická příčina familiárně malého vzrůstu objasněna až ve 40 % případů a významně se na ní podílí právě geny růstové chrupavky. Ty jsou klíčové také pro velkou heterogenní skupinu onemocnění kostních dysplázií. Autozomálně dominantně dědičné kostní dysplázie jsou relativně častou příčinou familiárně malého vzrůstu u dětí.

Naše kazuistika představuje rodinu s mnohočetnou epifyzární dysplázií (MED) a nízkým vzrůstem v několika generacích. Probandem je chlapec (nyní 8 let) s tělesnou výškou pod 3. percentilem (-2,05 SD), který byl od 2 let sledován pro malý vzrůst. Postava je disproporcionální se zkrácením končetin převážně rhizomelického typu. Jeho otec s výškou 161 cm (-2,08 SD) byl veden pod dg. MED typu Ribbing, která se vyskytuje v rodině ve 4 generacích a u něhož dosud nebyla genetickou analýzou objasněna příčina onemocnění. Celoxomovým sekvenováním v rámci trio analýzy byla u chlapce i jeho otce detekována heterozygotní missense varianta c.653A>G, p.Tyr218Cys v genu MATN3. V následné segregační analýze byla varianta potvrzena u dalších členů rodiny s klinickými znaky MED. Gen MATN3 kóduje protein extracelulární matrix chrupavky matrilin 3 a varianty v tomto genu jsou asociované s autozomálně dominantní MED typu 5 (OMIM: 607078). Mírně disproporcionální vzrůst v dolním spektru normy nebo lehce subnormální může být projevem onemocnění. V případě naší rodiny se dospělá výška postižených členů pohybuje v rozmezí -0,1 až -2,08 SD. Informace o účinnosti terapie růstovým hormonem pro gen MATN3 jsou velmi omezené, ale vzhledem k molekulární podstatě tohoto onemocnění, není zásadní efekt této léčby očekáván.

Celoxomové sekvenování se stává standardním nástrojem v diagnostice vzácných geneticky podmíněných onemocnění. Objasnění molekulární příčiny familiární kostní dysplázie je zásadní pro management onemocnění, včetně odhadu finální výšky a zvážení vhodné terapie.

Genetická heterogenita epilepsií: analýza 350 pacientů s potvrzeným genetickým nálezem

Fajkusová L.^{1,2}, Soukup Vodičková M.¹, Jeřábková B.¹, Zídková J.¹, Synková I.¹, Hrubá Z.¹, Pouchlá S.¹, Réblová K.¹

1 Centrum molekulární biologie a genetiky, FN Brno

2 Národní centrum pro výzkum biomolekul, PF MU, Brno

Úvod: Genetická etiologie epilepsií je vysoce heterogenní a zahrnuje široké spektrum monogenních onemocnění. Přestože neexistuje jednotná definice „genů asociovaných s epilepsií“, tímto pojmem se obvykle označují geny, jejichž varianty jsou spojeny s epilepsií nebo se syndromy, u nichž je epilepsie klíčovým klinickým rysem. V závislosti na kritériích zařazení mohou tyto seznamy zahrnovat i geny primárně asociované s neurovývojovými či metabolickými poruchami nebo s malformacemi mozku, u nichž je epilepsie častým, nikoli však univerzálním projevem.

Materiál a metody: Retrospektivně jsme analyzovali genetické nálezy u 350 nepříbuzných pacientů s epilepsií, z nichž každý nesl genetickou variantu/varianty vysvětlující příslušný fenotyp. Molekulární genetické vyšetření bylo provedeno pomocí masivně paralelní sekvenace cíleného panelu genů a/nebo celoxomové sekvenace.

Výsledky: U 350 pacientů bylo identifikováno celkem 376 mutantních alel v 99 genech, zahrnujících 335 typů variant s předpokládaným patogenním efektem. Nejčastějším typem dědičnosti byla dědičnost autozomálně dominantní (82 %), následovaná X-vázanou (11 %) a autozomálně recesivní (7 %). Geny byly rozděleny do 11 skupin podle funkce kódovaného proteinu. Nejvíce zastoupenou skupinou byly iontové kanály (34,4 %); následované proteiny spojenými se synapsí (16,1 %), mTOR dráhou (9,7 %), opravou DNA, remodelací chromatinu a transkripcí (9,2 %); neurotransmiterové receptory (7,2 %); proteiny spojené se strukturální integritou/homeostázou buněk (6,6 %); transportéry (6,4 %); proteiny spojené s biosyntézou/degradací proteinů (3,2 %), buněčným metabolismem (2,3 %) a mitochondriální funkcí (1,2 %); poslední skupinu tvořily jiné či vícefunkční proteiny (4,0 %). Korelace klinických a genetických nálezů v mnoha případech ukázala, že patogenní varianty v genech regulujících základní buněčné procesy mají závažné pleiotropní účinky na výsledný fenotyp pacientů a tyto ve většině případů trpí závažným fenotypem vývojových epileptických encefalopatií a/nebo neurovývojových onemocnění.

Závěr: Naše výsledky potvrzují výraznou genetickou heterogenitu epilepsií a ukazují, že patogenní varianty jsou často lokalizovány v genech s klíčovými rolí v regulaci základních buněčných procesů. Funkční klasifikace genů poskytuje přehledný rámec pro interpretaci genetických nálezů a usnadňuje porozumění komplexním vztahům mezi genotypem a fenotypem, zejména u pacientů se závažnými formami vývojových epileptických encefalopatií a neurovývojových poruch.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)

„Hodnocení kvalitativních parametrů somatických vzorků v platformě SeqOne“

Faldynová L., Adamczyková L., Orlíková A., Walczysková S.

FN Ostrava, ÚKMPLG, Oddělení lékařské genetiky, Laboratoř DNA diagnostiky, ÚKMPLG, FN Ostrava

Úvod: Hodnocení kvalitativních výstupů genomické analýzy somatických vzorků (nádorové tkáně) pomocí komerčního NGS kitu Comprehensive Genomic Profiling with Sure Select Cancer „CGP“ Assay s následnou analýzou v software SeqOne (CE IVD). Jedná se o cloudové řešení pro podporu klinického rozhodování založené na umělé inteligenci (model DiagAI/UP²), které molekulárním laboratorům umožňuje rychlou a škálovatelnou analýzu genetických dat. V kontextu somatické diagnostiky platforma slouží k identifikaci patogenních variant (missense, frameshift, sestřihové varianty) a stanovení komplexních parametrů MSI, TMB, tumor purity, CNV detekce a HRD, což je klíčové pro precizní onkologii. Předmětem hodnocení budou kvalitativní parametry rutinně zpracovávaných somatických vzorků.

Metodika: Analýza byla provedena na souboru 16 vzorků DNA a 7 vzorků RNA různé kvality. Hodnocení probíhalo na datech prostých artefaktů a duplikátů. Sledovány byly kritické parametry Total number of reads (celkový počet čtení), on-target rate, pokrytí (coverage depth), uniformita, Aligned reads a práh Q30. Tyto a další parametry byly SeqOne vyhodnoceny třemi kvalitativními stupni: passed, warning a failed. Vzorky reprezentující různé kvalitativní úrovně byly vybrány k analýze shody detekce variant s již zavedeným přístupem in house NGS panelu-FNO Onkopanelu v.11, v.12 (řešení f. ROCHE, Custom enrichment sondy KAPA HyperChoice) s následnou analýzou software FinalistDx (IAB, a.s.).

Závěr: V klinické praxi je velmi častá situace, kdy nádorové vzorky vykazují nedostatečné kvalitativní a kvantitativní hodnoty, reprezentovány popisem warning nebo failed. U vzorků z FFPE je naprosto běžné a očekávané, že parametry nedosahují ideálních hodnot předpokládaných bioinformatickou pipeline. U FFPE vzorků, které jsou starší několika let nebo byly špatně fixovány, jsou popis jako warning nebo dokonce failed u uniformity a coverage depth, standardem. Pokud toto nastane, platforma SeqOne nabádá k manuální validaci (zaměření se na relevantní geny, kontrola jejich pokrytí, vypadlých úseků atd.). Je vhodné prověřit, zda se "varování" týká klinicky relevantních genů pro daného pacienta. V těchto případech je do výsledkové zprávy uvedena věta o nejistotě nálezu: Pokud je více úseků/variant nedostatečných, je zvažováno uzavřít vzorek jako „nehodnotitelný“. Tato hraniční situace by nastala na úrovni DNA za předpokladu, kdy je extrémně nízká hloubka pokrytí (coverage depth) a to < 50x–100x, velmi nízká uniformita (< 80 % při 50x) a případně vysoká míra duplicity (více než 80–90 %). U RNA tato situace může nastat u vzorků s Total number of reads pod 1 milion.

Analytická citlivost detekce relevantních sekvenčních variant zachycených přístupem FNO Onkopanel včetně analýzy softwarem FinalistDx vykazovaly ve srovnání s CGP panelem včetně analýzy softwarem SeqOne 100% shodu a tedy analytickou citlivost 1. Nebyl prokázán žádný falešně negativní výstup. U některých vzorků byly zachyceny odchylky v procentuálním zastoupení varianty (VAF). Toto se týkalo vzorků, které vykazovaly kvalitativní parametry failed. I přes sníženou kvalitu byly u všech těchto vzorků relevantní varianty zachyceny.

U vzácných onkologických vzorků se často i z horších dat dá získat pro pacienta kruciólní informace, pokud je interpretována se znalostí limitací daného materiálu.

Ked' fenotyp zavádza: genetická a biochemická analýza v diagnostike miernej formy Smith–Lemli–Opitz syndrómu

Forgáčová N.^{1,2,3}, Hríčková G.³, Skalická K.³, Bokorová S.^{2,4}, Krامل W.^{2,4}, Sedláčková T.^{2,4}, Tóthová Tarová E.¹, Szemes T.^{2,4,5}, Radvánszky J.^{1,2,5}, Začková A.¹

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

2 Vedecký park UK Bratislava, Slovensko

3 Ambulancia lekárskej genetiky, Detská klinika NÚDCH, Bratislava, Slovensko

4 Geneton s.r.o., Bratislava, Slovensko

5 Prírodovedecká fakulta UK Bratislava, KMB, Bratislava, Slovensko

Úvod: Smith–Lemli–Opitz syndróm (SLOS) je zriedkavé autozomálne recesívne metabolické ochorenie spôsobené mutáciami v géne DHCR7, ktorý kóduje enzým 7-dehydrocholesterol reductázu zodpovednú za posledný krok biosyntézy cholesterolu. Klinické prejavy ochorenia sú veľmi variabilné a

siahajú od závažných kongenitálnych malformácií až po mierne alebo atypické formy s nenápadnými dysmorfickými znakmi a neurovývinovými ťažkosťami, čo môže výrazne komplikovať klinickú diagnostiku.

Metódy: Popisujeme prípad pacienta s normálnym mužským karyotypom (46,XY) so svalovou hypotóniou, zaostávaním psychomotorického vývinu, tremorom, hypermobilitou a plochonožím. V rámci diagnostického procesu bolo najskôr realizované genetické vyšetrenie pomocou MLPA analýzy pri podozrení na spinálnu muskulárnu atrofiu a vzhľadom na klinické prejavy aj celoxómové sekvenovanie s analýzou virtuálneho panelu génov asociovaných s kolagenopatiami a s ochoreniami zo skupiny cutis laxa. Tieto vyšetrenia však nevedli k identifikácii kauzálneho genetického variantu. Pre pretrvávajúcu diagnostickú nejasnosť a komplexný klinický fenotyp bolo následne realizované celogenómové sekvenovanie s cieľom identifikovať genetickú príčinu ochorenia.

Výsledky: Celogenómové sekvenovanie identifikovalo dva varianty v géne DHCR7: patogénny nonsense variant NM_001360.3:c.452G>A (p.Trp151*) a missense variant NM_001360.3:c.92G>A (p.Arg31His), ktorý doposiaľ nebol v literatúre opísaný. Na základe genetického nálezu bolo následne realizované cielečné biochemické vyšetrenie, ktoré potvrdilo zvýšené hladiny 7-dehydrocholesterolu a definitívne potvrdilo diagnózu SLOS.

Záver: Prezentovaný prípad poukazuje na význam celogenómového sekvenovania pri diagnostike pacientov s nejasným alebo atypickým klinickým obrazom a zdôrazňuje prínos integrácie genomických a cielečných biochemických vyšetrení, ktoré umožňujú odhaliť aj mierne formy zriedkavých metabolických ochorení.

Podporené: APVV-23-0611 SkeletIT a VEGA 2/0114/24.

Charakterizace vícečetných CNVs na jednom chromozomu pomocí metody optického mapování genomu

Hladílková E.^{1,2,3}, Režný D.², Dynková Filková H.^{1,3}, Štolfa M.¹, Šoukalová J.³, Vallová V.^{1,2}

1 Centrum molekulární biologie a genetiky, FN Brno

2 Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

3 Ústav lékařské genetiky a genomiky, FN Brno

Variety počtu kopií (CNVs) představují významnou třídu genomových změn, které mohou být příčinou patologického fenotypu. Standardní cytogenetické i moderní metody sice CNVs spolehlivě detekují, poskytují však pouze omezené informace o jejich strukturních vztazích, genomovém kontextu a případném společném původu. Zejména pacienti nesoucí více CNVs na jednom chromozomu často představují výzvu z hlediska interpretace.

Do studie byli zařazeni čtyři pacienti s neurovývojovými poruchami a vícečetnými CNVs postihujícími jeden chromozom (např. chromozom 3, 6 nebo 12), které byly dříve identifikovány rutinními diagnostickými metodami. K rekonstrukci genomové architektury na úrovni celého chromozomu byla využita metoda optického mapování genomu (OGM), umožňující detailní posouzení strukturní organizace a vzájemných vztahů detekovaných variant.

Metoda OGM poskytla komplexní charakterizaci všech CNVs na postižených chromozomech, včetně jejich přesné lokalizace, počtu kopií, orientace a strukturní konfigurace. OGM umožnilo spolehlivě rozlišit mezi tandemovými a inserčními duplikacemi a objasnilo jejich prostorové uspořádání v rámci chromozomu. Současně byly identifikovány dříve nezachycené strukturní varianty, například inverze, což poskytlo hlubší vhled do základní genomové architektury a možných mechanismů vzniku CNVs.

U pacientů s vícečetnými CNVs omezenými na jeden chromozom odhaluje OGM strukturní vztahy vyšší úrovně, které při použití standardních diagnostických metod zůstávají neobjasněny. Tento přístup významně zlepšuje charakterizaci typů duplikací, jejich pozičního kontextu i celkové chromozomální complexity a přispívá k přesnější interpretaci strukturních variant v klinické genetice.

Grant OP JAK ACGT2 CZ.02.01.01/00/23_020/0008555

Diagnostický přínos trio-WES u novorozence s dysmorfickými rysy: potvrzení Bohring-Opitz syndromu (ASXL1) – kazuistika

Hodúlová M.¹, Raušová E.², Král J.¹, Hovhannisyan M.¹, Svatoň J.¹, Kovář M.¹, Honysová B.¹, Dvořáčková H.¹, Koudová M.¹, Bittóová M.¹

1 GNTLabs by GENNET, Praha

2 ÚPMD, Praha

Úvod: Bohring-Opitz syndrom (BOS; OMIM 605039) je vzácná vývojová porucha způsobená heterozygotními patogenními variantami se ztrátou funkce v genu ASXL1 vznikajícími de novo. Klinický obraz zahrnuje kraniofaciální dysmorfii (typický je prominentní glabelární névus flammeus, hypotonická facies s plnými tvářemi a prominentní nebo proptotické oči, nízko nasazené uši), poruchu růstu, výrazné vývojové opoždění a těžkou mentální retardací, epilepsii a další vrozené anomálie.

Metodika: Probandem byl novorozenec s výraznou prenatální i postnatální růstovou restrikcí, trigonocefálií s prominentním metopickým švem, dozadu rotovanými boltci, exoftalmem, nevus flammeus a výraznými kloubními kontrakturami. Bylo provedeno trio vyšetření (pacient a oba rodiče) metodou WES (Exome 2.0 VCGS) na platformě Illumina NovaSeq X Plus. Sekundární analýza byla provedena nástrojem DRAGEN a terciální analýza pomocí platformy Franklin (Genoox). Vyhodnocení se zaměřilo na geny spojené s fenotypem pacienta zadaným pomocí HPO termínů. Byly vyhodnoceny jak SNP, tak CNV varianty.

Výsledky: U probanda byla identifikována heterozygotní de novo frameshift varianta c.1384_1385del; p.(Ser462Glnfs*22) genu ASXL1. Varianta nebyla dosud popsána v klinických databázích, ale je predikována jako ztrátová s patogenním mechanismem typickým pro BOS (LoF). V kontextu fenotypu pacienta považujeme tento nález za kauzální.

Závěr: Trio-WES analýza umožnila rychlé potvrzení diagnózy BOS a poskytla podklad pro cílené klinické poradenství s návrhem další dispenzarizace a léčby probanda a prekoncepční péče pro jeho rodiče. Reprodukční riziko pro další graviditu rodičů probanda je nízké, je však nutné zohlednit možnost gonadální mozaiky.

Výsledky externího hodnocení kvality pro kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu za rok 2025

Hrabáková, P., Leontovyčová, M., Laštovková, H., Přerovská, R., Zvolská, A., Hvalčáková, T., Žižková, R., Staňková, M., Březinová, D., Stefflová, L.

Oddělení buněčného chimerizmu, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Oddělení buněčného chimerizmu Ústavu hematologie a krevní transfuze organizuje externí hodnocení kvality (EHK) pro kvantitativní vyšetření buněčného chimerizmu již od roku 2005. V roce 2025 se EHK účastnilo 15 laboratoří, z toho 5 českých a 10 ze zahraničí. V základní variantě se účastnilo pět laboratoří, deset laboratoří v rozšířené variantě. Každý účastník zpracoval vzorky metodami běžně používanými ve své laboratoři. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí mediánu získaných hodnot a směrodatné odchylky, která byla následně přepočtena na hodnotu Z-skóre a výsledek rozřazen do jedné z pěti hodnotících kategorií. Celkem bylo 82,8 % výsledků v kategorii Výborné, 7,6 % v kategorii Dobré, 3,4 % v kategorii Akceptovatelné, 0,7 % v kategorii Kritické a 5,5 % výsledků v kategorii Pod detekční limit laboratoře. Všichni účastníci splnili podmínky úspěšné účasti (dosažení minimálně 80% úspěšnosti), jeden účastník dosáhl 90% úspěšnosti a ostatní účastníci dosáhli 100% úspěšnosti. V loňském kole byla opět možnost vyzkoušet si reprodukovatelnost svých metod analýzou dvou vzorků, které byly připraveny jako dva alikvoty z jednoho původního vzorku. Testování dopadlo velmi dobře, většina laboratoří udávala rozdíl mezi dvěma stejnými vzorky 1 % a méně. Příští řádné kolo EHK pro oblast kvantitativního vyšetření buněčného chimerizmu bude probíhat v první polovině roku 2026 podle obvyklého harmonogramu.

Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví ČR) koncepčního rozvoje výzkumné organizace (00023736, ÚHKT).

Vzácná manifestace adenokarcinomu appendixu u nositele varianty v genu BRCA1. Kazuistika

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

1 Ústav lékařské genetiky, LF UP a FN Olomouc

2 Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc

Úvod: Adenokarcinom appendixu je mimořádně vzácná malignita a dostupná literatura jen ojediněle zmiňuje jeho možnou souvislost se zárodečnými mutacemi v genu BRCA1. Předkládáme kazuistiku probanda s adenokarcinomem appendixu a patogenní variantou v tomto genu a diskutujeme význam nálezu pro genetické poradenství, screening a možnosti cílené léčby.

Anamnéza: U probanda byl ve věku 48 let při akutní apendektomii diagnostikován adenokarcinom appendixu z prstenčitých buněk bez neuroendokrinní diferenciaci. V průběhu následného vyšetřování byla z onkologického pracoviště doplněna informace o nově diagnostikovaném acinárním adenokarcinomu prostaty.

V rodinné anamnéze je přítomen maligní melanom u polovičního bratra ve 33 letech. Matka zemřela v 56 letech na srdeční selhání. Nejsou k dispozici údaje o zdravotním stavu zemřelých: otce, dvou matčinych bratrů a prarodičů.

Metodika: U probanda i jeho bratra bylo provedeno vyšetření metodou sekvenování nové generace (NGS) s využitím panelu CZEANCA (Roche; 226 genů) a digitální MLPA (26 genů). Nalezená varianta byla následně potvrzena Sangerovým sekvenováním.

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

Závěr: Prezentovaný případ rozšiřuje spektrum nádorů potenciálně asociovaných se zárodečnými variantami v genu BRCA1. Kromě známého zvýšeného rizika karcinomu prsu, ovarií, pankreatu a prostaty může být u nositelů těchto variant zvýšeno i riziko adenokarcinomu appendixu. Tento nálezn upozorňuje na potřebu zvážit rozšíření preventivních opatření u nositelů patogenních variant, včetně úvahy o preventivní apendektomii u vysoce rizikových jedinců. Přínos takového postupu však bude nutné ověřit v dalších studiích.

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

CNV nálezy v genech souvisejících s nádorovou predispozicí a jejich detekce v DNA diagnostice

Jelínková S., Chvojka Š., Hodulová M., Černá L., Urbanová M., Chudá K., Honysová B., Koudová M., Bittóová M.

GNTLabs by Gennet, Praha

Varianty v počtu kopií genových úseků (copy number variations, CNV) představují strukturální změny genomu charakterizované ztrátou (delece) nebo zmnožením (duplikace) úseků DNA. Tyto změny mohou postihovat oblasti různé velikosti – od jednotlivých exonů až po celé geny či rozsáhlé chromozomální regiony. Přestože jsou CNV běžnou součástí lidské genomové variability, v případě genů s klíčovou biologickou funkcí, zejména genů asociovaných s nádorovou predispozicí, mohou významně ovlivnit buněčné procesy a podílet se na vzniku onemocnění.

Cílem tohoto sdělení je prezentovat přístup k detekci CNV nálezů v genech s nádorovou predispozicí v rámci rutinní molekulárně-genetické diagnostiky na našem pracovišti a shrnout spektrum zjištěných nálezů u pacientů indikovaných ke genetickému testování.

Vyšetření metodou celoxomového sekvenování (whole exome sequencing, WES na platformě Illumina) je na našem pracovišti prováděno dva roky. Ve sledovaném období bylo analyzováno 5 673 pacientů v rámci 68 sekvenačních runů. Detekce CNV probíhá dvěma nezávislými přístupy – in-house bioinformatickou pipeline založenou na analýze hloubky pokrytí a komerční platformou Franklin. Suspektní nálezy jsou následně verifikovány metodami MLPA (multiple ligation-dependant probe amplification) nebo array CGH (komparativní genomová hybridizace) a dále předány k odbornému hodnocení.

Na základě publikovaných dat lze očekávat, že CNV tvoří přibližně 7–11 % všech patogenních/pravděpodobně patogenních variant detekovaných v hereditárních nádorových panelech. Většina záchytů CNV představuje delece postihující jeden či více exonů u tumorsupresorových genů. Nejvyšší podíl CNV je dlouhodobě popisován u genu BRCA1 (přibližně 10–13 % všech patogenních variant v tomto genu), následuje CHEK2, kde CNV tvoří 5–7 % patogenních variant.

CNV tak představují menší, avšak klinicky významnou část genetických nálezů v oblasti nádorové predispozice. Implementace robustního bioinformatického a validačního workflow umožňuje jejich spolehlivou detekci z WES dat a přispívá ke zvýšení diagnostické výtěžnosti genetického vyšetření.

Dědičná predispozice ke vzniku karcinomu žaludku u pacientů v české populaci

Just P.^{1,2}, Janatová M.¹, Kleiblová P.^{1,3}, Konečná B.¹, Matějková K.^{1,2}, Nehasil P.^{1,2}, Soukupová J.¹, Kleibl Z.^{1,4}

1 Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

2 Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. LF UK

3 Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

4 Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

Karcinom žaludku (GC) je celosvětově pátým nejčastějším nádorovým onemocněním a navzdory postupnému poklesu incidence v České republice zůstává závažným onemocněním s nepříznivou prognózou. U 3–20 % případů vzniká GC na podkladě genetické predispozice. GC je možnou manifestací více hereditárních nádorových syndromů. Jedná se o velmi vzácná dědičná onemocnění, mezi která patří hereditární difúzní karcinom žaludku (HDGC), syndrom adenokarcinomu žaludku a mnohočetné polypózy žaludku (GAPPS) či gastrointestinální stromální tumor (GIST). HDGC je nejčastěji spojen se zárodečnými patogenními variantami (gPV) v genech CDH1 a méně často CTNNA1. GAPPS je podmíněn gPV v promotoru genu APC, zatímco GIST je asociovaný s gPV v genech KIT, SDHB a SDHC. V klinické praxi jsou však u pacientů s GC zachycovány i gPV v dalších nádorových predispozičních genech, včetně BRCA1, BRCA2, PALB2, TP53 a genu Lynchova syndromu, což poukazuje na genetickou heterogenitu a možný překryv jednotlivých nádorových syndromů.

Provedli jsme genetické testování zárodečné DNA pomocí panelového sekvenování u 167 českých pacientů s GC s cílem identifikovat gPV ve 40 nádorových predispozičních genech. Nosiči gPV byli u pacientů s GC významně častější v porovnání s neselektovanými, populačně specifickými kontrolami (18/167; 10,8 % vs. 348/6877; 5,1 %; $p=0,02$; $OR=1,8$), z čehož geny asociované s HDGC/GAPPS/GIST byly zachyceny u čtyř GC pacientů (2,39 %) a dvou kontrol (0,03 %).

Ačkoliv je frekvence hereditárních forem GC nízká, výsledky podtrhují důležitost komplexního genetického testování pro identifikaci jedinců s vyšším genetickým rizikem GC a případných dalších asociovaných nádorů, kterým může být nabídnuta odpovídající dispenzarizace a genetické poradenství.

Podpořeno projekty: MZ ČR (RVO-VFN-00064165, NU23-03-00150, NW24-03-00092), UK (COOPERATIO, SVV260631, UNCE/24/MED/022) a MŠMT (projekt MULTIOMICS_CZ, ID Project CZ.02.01.01/00/23_020/0008540).

Genomická analýza separovaných populací u víceklonální chronické lymfocytární leukémie

Kazdová N.¹, Štrignerová J.^{1,2}, Skuhrová Francová H.¹, Borský M.¹, Reigl T.^{2,3}, Stránská K.^{1,3}, Plevová K.^{1,2,3}

1 Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno a LF MU, Brno

2 Ústav lékařské genetiky a genomiky, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita, Brno

3 Centrum molekulární medicíny, CEITEC, Masarykova univerzita, Brno

Úvod: Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je lymfoproliferativní onemocnění charakterizované monoklonální expanzí zralých B lymfocytů se specifickým fenotypem. Buňky jednoho klonu sdílejí stejný B-buněčný receptor (BCR) s unikátní přestavbou těžkého a lehkého řetězce imunoglobulinu. U malého, avšak

klinicky významné části pacientů dochází k současné expanzi několika klonů B lymfocytů s odlišnými BCR, což vede k rozvoji víceklonální CLL. Přítomnost paralelních klonů může pro pacienta představovat riziko nepříznivého vývoje, protože klony obvykle nesou odlišné genomické aberace. Analýza klonální architektury poskytuje hlubší vhled do biologie víceklonální CLL a umožňuje přesnější predikci jejího klinického průběhu.

Materiál a metody: U 11 pacientů s víceklonální CLL jsme na základě rozdílné povrchové exprese lehkých řetězců imunoglobulinů kappa (IGK) a lambda (IGL) rozlišili dvě klonální populace, které jsme oddělili pomocí fluorescencí aktivovaného sortování buněk (FACS). Ze sortovaných buněčných populací jsme izolovali DNA, kterou jsme analyzovali pomocí genomického čipu CytoScan HD Array (Thermo Fisher Scientific). Data jsme vyhodnotili v softwaru Chromosome Analysis Suite v4.5. Výsledky jsme korelovali s dalšími molekulárně genetickými výsledky a klinickým průběhem.

Výsledky: Celkem jsme hodnotili 22 populací od 11 pacientů. Ve všech 11 případech byly zjištěny somatické genomické změny alespoň v jednom z koexistujících klonů; pouze u dvou pacientů se vyskytoval klon bez chromozomových aberací. Genomické změny byly zastoupeny rovnoměrně mezi IGK i IGL klony, bez preference k určitému typu lehkého řetězce. Nejčastěji byly pozorovány ztráty v oblasti 13q14 (9/11 pacientů). V pěti případech byly ztráty na chromozomu 13 přítomny v obou klonech, avšak s odlišnými zlomovými místy, což naznačuje nezávislý vznik aberace v paralelních klonech. Ztráty 13q14 byly bialelické v sedmi klonech. Znamky chromotripse byly detekovány u dvou klonů – v jednom případě na chromozomech 6 a 8, ve druhém na chromozomech 1, 4, 9 a 13. Klony s vyšším počtem genomických změn měly tendenci v průběhu nemoci expandovat.

Závěr: U většiny pacientů jsme identifikovali somatické změny v obou koexistujících klonech. Naše výsledky ukazují, že koexistující klony získávají chromozomové změny nezávisle na sobě a tyto změny přispívají ke klonální evoluci nemoci.

Práce byla podpořena projekty AZV NW24-03-00052 and RVO FNBr65269705.

Identifikace klonální hematopoézy neurčitěho potenciálu (CHIP) u pacientů vyšetřovaných pro hereditární nádorovou predispozici

Konečná B.¹, Soukupová J.¹, Kleiblová P.^{1,2}, Matějková K.¹, Nehasil P.¹, Kleibl Z.^{1,3}

1 Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

2 Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

3 Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

Sekvenování nové generace (NGS) je široce využíváno v germinální diagnostice hereditárních nádorových predispozic; detekce patogenních variant s nízkým zastoupením variantní alely (VAF) v periferní krvi však představuje významný interpretační problém. Tyto nálezy mohou odrážet germinální mozaicismus nebo somatické varianty vzniklé v rámci klonální hematopoézy neurčitěho potenciálu (CHIP), zejména v genech asociovaných s hereditární nádorovou predispozicí.

Analýzovali jsme prevalenci a dynamiku CHIP na základě panelových NGS dat u jedinců vyšetřených pro hereditární nádorovou predispozici. Systematicky byly revidovány VCF a BAM soubory 3 000 osob testovaných v letech 2018–2024 se zaměřením na geny nádorové predispozice často vyskytující se v rámci CHIP (TP53, CHEK2, ATM, BRCA1/2, RUNX1, PPM1D). Patogenní a pravděpodobně patogenní varianty (P/LP) s nízkým VAF byly identifikovány pomocí optimalizovaných bioinformatických filtračních postupů.

Celkem bylo identifikováno 104 (3,5 %) jedinců s P/LP variantami s nízkým VAF v genech nádorové predispozice konzistentními s CHIP. Z toho bylo 68 nosičů pozváno k prospektivnímu sledování a v roce 2025 byl zahájen opakovaný odběr periferní krve za účelem hodnocení klonální dynamiky. Paralelně jsme vyvinuli cílený panel specifický pro CHIP („CHIPera“) zahrnující dalších 20 genů nejčastěji asociovaných s rozvojem CHIP, umožňující citlivější detekci a detailní charakterizaci klonální architektury.

Studie ukazuje, že CHIP představuje častý a klinicky významný faktor v genetickém testování hereditárních nádorových predispozic a zdůrazňuje význam longitudinálního sledování a cílených přístupů pro zvýšení diagnostické přesnosti a optimalizaci péče o pacienty.

Studie byla podpořena Grantovou agenturou Univerzity Karlovy (GAUK), č. projektu 535225.

Molekulárně genetická diagnostika skeletálních dysplazií

Kopečková L.¹, Dušková L.¹, Borská R.¹, Réblová K.¹, Šoukalová J.², Fajkusová L.¹

¹Centrum molekulární biologie a genetiky, FN Brno, ²Ústav lékařské genetiky a genomiky, FN Brno

Skeletální dysplazie představují heterogenní skupinu vzácných geneticky podmíněných onemocnění charakterizovaných abnormálním vývojem kostí, kloubů a chrupavek, často spojených s poruchami růstu. Vzhledem k výrazné fenotypové i genotypové variabilitě zavedení sekvenování nové generace (NGS) významně rozšířilo možnosti přesné a efektivní diagnostiky těchto onemocnění.

Z celkového počtu 400 vyšetřených pacientů se podařilo stanovit molekulární diagnózu u 37 % z nich a identifikovat jak známé, tak i vzácné či dosud nepopsané patogenní sekvenční varianty. K analýze byly využity cílené genové panely zahrnující geny asociované se skeletálními dysplaziemi, případně celoxomové sekvenování. Mezi nejčastěji diagnostikovaná onemocnění patřila osteogenesis imperfecta s patogenními variantami v genech *COL1A1* a *COL1A2* (61 % případů), dále achondroplazie s variantami v genu *FGFR3* (9 % případů) a mnohočetné exostózy s variantami v genech *EXT1* a *EXT2* (4 % případů). Zbývající případy zahrnovaly vzácnější skeletální dysplazie, spojené například s patogenními variantami v genech *COL2A1*, *COMP*, *IFITM5*, *NPR2*, *PHEX* a *PTPN11*.

Výsledky potvrzují, že NGS představuje klíčový nástroj v diagnostickém algoritmu skeletálních dysplazií, umožňuje významné zkrácení diagnostického procesu pacientů a přispívá k přesnější klinické péči a cílenému genetickému poradenství v rodině.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)

Diagnostický prínos WES u pacientov so suspektným primárnym imunodeficitom

Krasňanská G.^{1,2}, Ďurišová P.¹, Ďurišová K.¹, Čepčková K.¹, Baldovič M.¹, Bľandová G.¹, Eliaš V.¹, Konečný M.^{1,2}

¹ Laboratórium genomickej medicíny, Agel GEN s.r.o., Bratislava, Slovensko

² Ústav biológie a biotechnológie, Katedra Biológie, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, Trnava, Slovensko

Primárne imunodeficiencie (PID) predstavujú heterogénnu skupinu geneticky podmienených porúch imunitného systému s variabilnou klinickou manifestáciou, zahŕňajúcou opakované infekcie,

autoimunitné a autoinflamačné komplikácie či alergické prejavy. Diagnostika PID je často náročná, keďže klinický obraz môže byť nešpecifický a oneskorená diagnostika vedie k závažným komplikáciám.

Poznanie genetickej podstaty PID poskytuje komplexnejší pohľad na fungovanie imunitného systému a môže prispieť k lepšiemu pochopeniu biologických dráh a možnosti terapeutických zásahov. Včasná a presná diagnostika je kľúčová pre zlepšenie zdravia a kvality života pacientov.

V našej štúdii sme analyzovali vzorky pacientov so suspektným PID v slovenskej populácii využitím celoexómového sekvenovania (WES). Zamerali sme sa na mieru určenia kauzality identifikovaných DNA variantov, distribúciu pacientov podľa pohlavia, klasifikáciu kauzálnych variantov do jednotlivých tried podľa Medzinárodnej únie imunologickej spoločnosti a taktiež charakterizáciu najčastejšie identifikovaných DNA variantov v slovenskej populácii.

WES sa v súčasnosti považuje za štandard molekulárnej diagnostiky PID. Predstavuje nevyhnutný nástroj pre skoré a presné určenie príčiny ochorenia, umožňuje personalizovanú terapiu pacientov a poskytuje rodinám cenné informácie pre genetické poradenstvo.

Kľúčové slová: primárne imunodeficiencie, WES, kauzálne DNA varianty

Karcinom prsu jako vstupní brána k odhalení Sticklerova syndromu. KAZUISTIKA

Kroupová K.^{1,2}, Šercl A.¹, Krulišová V.¹, Michalovská R.¹, Vlčková Z.¹

¹GHC Genetics s.r.o., Praha, ²Laboratoře lékařské genetiky s.r.o., Pardubice

Sticklerův syndrom (STL) je progresivní multisystémové onemocnění pojivové tkáně patřící mezi kolagenopatie s neúplnou penetrancí, variabilní expresivitou a incidencí 1:7500 až 1:9000 novorozenců. STL má několik typů dle kauzálního genu a typu dědičnosti. Nejčastější formou je asi v 80-90% případů Sticklerův syndrom 1. typu způsobený patogenní variantou v genu *COL2A1* s autosomálně dominantní dědičností.

Předkládaná kazuistika se zaměřuje na autosomálně dominantně dědičný Sticklerův syndrom 2. typu, asociovaný s patogenní variantou v genu *COL11A1*, jenž tvoří přibližně 10–20 % případů. Mezi hlavní klinické projevy patří senzorické poruchy, artropatie a kraniofaciální dysmorfie (např. hypoplazie střední části obličeje, mikrognacie či prominující oči). Přítomny mohou být také rozštěpové vady, typicky rozštěp patra.

Naše kazuistika prezentuje 47letou ženu odeslanou ošetřujícím onkologem pro recentně diagnostikovaný unilaterální karcinom prsu. V osobní anamnéze dále dominuje senzorické postižení – od dětství zhoršující se nedoslýchavost a progredující ztráta zraku na podkladě opakovaných amocií sítnice, katarakty a myopie. Rodinná anamnéza je rovněž zatížená – syn probandky se narodil s izolovaným rozštěpem patra, sluchové a zrakové postižení se vyskytuje u matky probandky a pravděpodobně také u dalších vzdálenějších příbuzných v maternální linii, avšak zde má probandka velmi omezené informace.

Z důvodu podezření na monogenně podmíněný fenotyp bylo u pacientky provedeno molekulárně genetické vyšetření klinického exomu. Výsledkem bylo vyloučení kauzální varianty spojené s hereditárními nádorovými syndromy, zároveň byla v heterozygotním stavu detekována patogenní varianta c.1630-2del v genu *COL11A1* (rs1057517989), která je asociovaná se Sticklerovým syndromem 2. typu a vysvětluje celoživotní zdravotní obtíže pacientky.

Expanze CGG repetit v genu *FMR1* s nálezem somatického mozaicismu

Kryštofová H.^{1,2}, Sítková R.¹, Walczysková S.¹, Sochová A.¹, Hladíková A.³

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

²Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

³Ambulance lékařské genetiky, Spadia a.s. Lab, Frýdek-Místek

Úvod: Syndrom fragilního X (FXS) je nejčastější dědičnou příčinou mentálního postižení a významnou monogenní příčinou poruch autistického spektra. Onemocnění je způsobeno expanzí trinukleotidových repetit CGG v genu *FMR1* na chromozomu X, která vede k jeho metylaci a snížené nebo chybějící expresi proteinu FMRP, klíčového pro správný vývoj a funkci centrálního nervového systému. Muži jsou obecně postiženi více, zatímco u žen se FXS může projevovat méně závažným fenotypem v důsledku kompenzační aktivace nepostiženého chromozomu X.

Specifickou podskupinu pacientů tvoří jedinci s mozaikou, u nichž se vyskytují různé buněčné linie s odlišným počtem CGG repetit nebo rozdílným stupněm metylace. Mozaicismus může významně ovlivnit fenotypové projevy, závažnost postižení i výsledky molekulárně-genetického vyšetření.

Kazuistika: 17letá dívka s nerovnoměrným a opožděným psychomotorickým vývojem (PMV), se středně těžkou mentální retardací, motorickou dyskoordinací, smíšenou vývojovou dysfázií, ADHD, afektivní apnoe v dětství. Karyotyp, normální ženský bez patologie, bez prokázaných dědičných poruch metabolismu.

Kromě pacientky byli vyšetřeni také její bezpříznakoví příbuzní - matka, otec, sestra a maternální babička.

Metodika: Vyšetření bylo provedeno metodou TP-PCR s následnou fragmentační analýzou pomocí diagnostické soupravy AmpliX PCR/CE *FMR1* (f. Asuragen) na přístroji ABI 3130XL (f. Applied Biosystems).

Výsledky: Stanovení počtu CGG repetit v 5'UTR oblasti genu *FMR1* v rodině probandky jsou uvedeny v tabulce níže.

	Počet CGG repetit	Interpretace
probandka	29±1/>200	normální / plná mutace
matka probandky	24±1/163±3	normální / premutace
sestra probandky	29±1/68±1/>200	normální / premutace / plná mutace
babička probandky	28±1/93±1/97±1	normální / premutace
otec probandky	29±1	normální

Závěr: Genetické vyšetření v rodině probandky potvrdilo expanzi CGG repetit v genu *FMR1*. Zatímco u matky byla detekována premutace, u probandky již došlo k přechodu v plnou mutaci. Pozoruhodný je nález u sestry a babičky probandky, kdy byl vedle normálního počtu prokázán také zvýšený počet CGG repetit, a to zřejmě v několika buněčných populacích. Tento nález svědčí pro tkáňový mozaicismus, který pravděpodobně přispívá k intrafamiliární variabilitě klinického obrazu.

Ačkoliv použitá metoda neumožňuje přesnou kvantifikaci jednotlivých linií, zjištěná přítomnost mozaicismu (kombinace premutace a plné mutace u sestry probandky) může vysvětlovat rozdílný fenotypový projev u obou sester.

fastGEN EGFR/HER2 II kit – rychlá NGS diagnostika pro personalizovanou léčbu NSCLC

Křepelková I.¹, Forgáč M.¹, Slavkovský R.², Kosztyu P.¹

¹*Divize molekulární diagnostiky, Biovendor – Laboratorní medicína s.r.o., Brno,*

²*Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci*

V molekulární diagnostice nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) je identifikace cílených driver mutací klíčová pro volbu personalizované terapie. Gen EGFR je u NSCLC dlouhodobě etablovaným markerem pro predikci odpovědi na EGFR tyrosinkinázové inhibitory. Vzhledem k rostoucímu významu mutací genu HER2 (ERBB2) pro NSCLC, byla vyvinuta rozšířená verze stávajícího kitu fastGEN LUNG Cancer kit (EGFR) obohacená o oblasti s nejvyšší terapeutickou relevancí genu HER2.

Souprava fastGEN EGFR/HER2 II slouží k jednorázové přípravě amplikonové sekvenční knihovny, na kterou navazuje NGS s vysokou hloubkou čtení. Tato rozšířená souprava již nevyžaduje použití specifických sekvenčních primerů a tím ještě více zjednodušuje práci v laboratoři. Souprava vykazuje excelentní analytické i klinické parametry, včetně limitu detekce, přesnosti a reprodukovatelnosti, a umožňuje paralelní detekci klinicky relevantních mutací EGFR a HER2 z FFPE tkáně i ctDNA od 1 ng vstupní DNA.

Pro vyhodnocení soupravy fastGEN EGFR/HER2 II lze využít bioinformatickou workflow implementovanou v softwaru Genovesa, která zajišťuje citlivou a specifickou detekci bodových mutací a malých inzercí/delecí. Spolehlivost interpretace dále zvyšuje implementace nového bioinformatického filtru pro eliminaci variant vykazujících tzv. strand bias a optimalizovaný algoritmus pro vyhodnocení sloučených více nukleotidových a komplexních variant.

Souprava fastGEN EGFR/HER2 II tak splňuje všechny požadavky pro primární screening nejčastějších klinicky významných mutací v genech EGFR a HER2 a usnadňuje rutinní implementaci personalizované onkologické péče u pacientů s NSCLC.

Tato práce byla podpořena projektem Národního centra kompetence, NCK2 Personalizovaná medicína: Od translačního výzkumu k biomedicínským aplikacím PerMed: T2BA (TN02000109) financovaným Technologickou agenturou České republiky.

Případ parciální trizomie 13q v mozaice s atypickým fenotypem

Kutilová T., Slámová Z., Drábová J., Řezáčová H., Vosecká T., Palánová M., Krejčová V., Holubová A., Novotná D.

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

Parciální trizomie distální části chromozomu 13q je poměrně vzácná chromozomová abnormalita, při které dochází k duplikaci segmentu dlouhého raménka chromozomu 13. Klinické projevy jsou variabilní a závislé na rozsahu a lokalizaci duplikovaného úseku. Mohou se překrývat s fenotypem úplné trizomie 13 (Patauova syndromu), avšak zpravidla bývají mírnější. Ke společným fenotypovým projevům patří psychomotorické opoždění, mikrocefalie a kraniofaciální dysmorfie.

Prezentujeme případ osmileté pacientky s atypickým fenotypem zahrnujícím poruchu řeči a grafomotoriky, disproportionální postavu, kraniofaciální dysmorfii, epileptické záchvaty a předčasnou pubertu. Analýza karyotypu lymfocytů z periferní krve odhalila v převažující buněčné linii (74 %) přítomnost

derivovaného chromozomu 13 s nadbytečným genetickým materiálem, translokovaným do oblasti satelitní části krátkých ramen. Následně provedené vyšetření metodou array CGH upřesnilo nález jako parciální trizomii rozsáhlé oblasti dlouhého raménka chromozomu 13 (13q21.32→qter) v přibližně 50 % mozaice. Duplikace zmíněné oblasti srovnatelného rozsahu je v literatuře popisována jen výjimečně; většina případů se týká nebalancovaných translokací s fenotypem ovlivněným doprovodnou delecí jiného chromozomu. U naší pacientky fenotyp poměrně dobře odpovídá literárně popisovaným projevům. Mírnější klinický obraz lze pravděpodobně vysvětlit mozaikovou přítomností aberace ve zhruba 50 % buněk.

Podpořeno projektem koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203/6004

Význam a možnosti ultrazvukové fenotypizace plodu

Leontovyčová M., Stefflová L., Hrabáková P., Laštovková H., Žižková R., Přerovská R., Zvolská A., Hvalčáková T., Staňková M., Březinová D., Marínov I., Válková V.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

V aktuálně probíhající studii (výsledky z 06/2025–01/2026) jsme se zaměřili na současný monitoring chimerizmu v periferní krvi (PK) a ve frakci T-lymfocytů (CD3+) u pacientů v časném období po alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk (alo-HSCT). Celkem bylo vyšetřeno 109 vzorků od 66 pacientů s různými diagnózami, především akutní myeloidní leukémií (AML) a myelodysplastickým syndromem (MDS). Analýza probíhala kvantifikací polymorfizmů typu Short Tandem Repeats (STR) a krátkých inzercí a delecí (InDel). Součástí studie byl i výběr nejvhodnějšího kitu pro izolaci DNA z malého počtu buněk. Z prvních výsledků je patrný rozdílný chimerizmus mezi vyšetřením v celkové periferní krvi a v CD3+ frakci (u 68 % vzorků). Sledování chimerizmu u pacientů v T-lymfocytech představuje citlivější a specifitější marker pro hodnocení engraftmentu po HSCT než chimerizmus v celkové periferní krvi. Smíšený T-buněčný chimerizmus může znamenat nedostatečný graft-versus-leukemia (GVL) efekt a zvýšené riziko relapsu. Chimerizmus v celkové periferní krvi je důležitý nespecifický marker relapsu převážně myeloidních malignit. Pro konečné vyhodnocení klinické studie je potřeba pokračovat v paralelním sledování chimerizmu v PK i CD3+ frakci a získat více dat.

Podpořeno projektem Ministerstva zdravotnictví ČR koncepčního rozvoje výzkumné organizace (00023736, ÚHKT).

The CoreSEQ application: system for management of clinical genetic sequencing in hospitals

Manakova J.^{1*}, Savara J.^{1*}, Petrackova A.^{1*}, Nesnadna R.³, Skoda D.², Kriegova E.¹

¹Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital Olomouc, Czech Republic

²Department of Informatics, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital Olomouc, Czech Republic

**contributed equally*

Background

Due to growing demand for clinical genetic sequencing, hospitals are increasingly establishing centralized sequencing units (core facilities) to maximize cost efficiency by utilizing high-throughput next-generation sequencing (NGS) platforms with lower costs per base. The core facility must need to manage the entire sequencing process for several departments, coordinate sequencing requests, balance varying turnaround time requirements for applications, ranging from germline whole-exome sequencing to targeted oncology panels, while ensuring efficient utilization of high-throughput platforms, maintaining quality control, and complying with accreditation standards.

Methods

To meet the needs of core sequencing in hospitals and health care facilities, we present a web-based laboratory database system CoreSeq suitable for the management of sequencing data in diagnostics. Our CoreSeq system includes all functionalities to manage sequencing runs across different departments, from ordering the sequencing capacity, data quality assessment and data reports. The modular system was created using JavaScript programming language, and is highly configurable and extensible and it may be easily implemented with additional open source tools.

Results

We have developed CoreSEQ, a user-friendly open-source web application designed to manage sequencing requests and runs in hospital core facilities. Departments/users can register NGS libraries with metadata and schedule sequencing via an integrated calendar. Core staff optimise run parameters in CoreSEQ according to department/user requests. After sequencing, CoreSEQ provides departments/users with automated reports, including data upload to hospital storage, run-level and library-level quality assessments. The application has been validated and used continuously in routine hospital practice for more than one year, demonstrating its robustness and utility.

We present our real-world experience of using CoreSeq system for managing the diagnostic germline and somatic sequencing in University Hospital Olomouc, reaching more than 13,300 Gbp sequencing outputs and over 70 runs using SURFSeq5000 system (GeneMind).

Conclusions

CoreSEQ is an easy-to-use application for coordinating sequencing requests across multiple hospital departments to address routine genetic clinical needs. System improves the efficiency of management and communication between departments for core sequencing unit and replaces the lengthy, manual multi-step process with a user-friendly and intuitive electronic tool.

Grant support: JG_2024_035, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), IGA_LF_2026_013.

Methylation profiling of the H19/Igf2 imprinting control region in patients with chronic lymphocytic leukaemia – a pilot study

Nesnadna R.¹, Petrackova A.¹, Manakova J.¹, Savara J.^{1,2}, Turcsanyi P.³, Papajik T.³, Kriegova E.¹

¹Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic

²Faculty of Electrical Engineering and Computer Science, VSB – Technical University of Ostrava, Ostrava, Czech Republic

³*Department of Haemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic*

Introduction:

Aberrant methylation of the H19/Igf2 imprinting control region (ICR) has been reported in various cancers. Whether the H19/Igf2 ICR is epigenetically altered in chronic lymphocytic leukaemia (CLL) is unknown.

The aim of this study: To assess the DNA methylation status of the H19/Igf2 ICR in CLL cells compared with CD19+ B cells obtained from healthy control subjects.

Method:

DNA methylation at H19/Igf2 ICR was assessed by targeted bisulphite next generation sequencing in enriched CLL cells obtained from 25 patients with CLL and B cells from 6 healthy controls. Differentially methylated CpGs (DMCs) and regions (DMRs) were identified using methylKit (R software). Group differences in methylation levels were assessed using the Wilcoxon signed-rank test and p values < 0.01 was considered significant.

Results:

Overall, methylation levels at 332 CpG dinucleotides in the analysed loci were compared, median coverage of analysed CpGs was 14 000. We identified 22 deregulated DMCs (p < 0.01), of which 11 (50.0%) were hypermethylated in CLL cells compared to CD19+ B cells from healthy controls. Regarding DMRs, we detected 6 deregulated DMR in CLL cells compared to CD19+ B cells from healthy controls, of which 4 (66.6%) were hypermethylated in CLL patients. In addition, one DMC was located in the H19 promoter and one DMC was mapped to exon 1 of H19. Two DMRs were identified in intron 2 of IGF2, which contains the MIR483 locus; these DMRs were hypomethylated in CLL cells compared to CD19+ B cells from healthy controls. The expression profiling of genes H19, IGF2, and MIR483 that may be influenced by the DNA methylation status of the H19/Igf2 ICR in patients with CLL is ongoing.

Conclusion:

In this pilot study, targeted bisulphite sequencing revealed methylation changes at the H19/Igf2 locus in CLL cells. These preliminary findings will be validated in a larger cohort.

Grant support:

JG_2024_035, MH CZ – DRO (FNOI, 00098892), IGA_LF_2026_013.

Familiární nebalancovaná translokace der(18)t(4;18)(q35.1;p11.32) bez zjevného klinického vyjádření

Pecková A., Čejnová V., Lišková L., Landová J., Dejová L., Madarová J., Laštůvková J.

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

Nebalancované chromozomové přestavby jsou obvykle spojeny s klinickými projevy různé závažnosti. Vzácně však mohou být zjištěny i u fenotypově bezpříznakových jedinců, což zásadně komplikuje prenatální genetické poradenství a odhad prognózy plodu.

Genetické vyšetření bylo u probandky doporučeno na základě věkového a screeningového rizika těhotenství. Probandka původně zvolila vyšetření NIPT (Prenascan) - neinvazivní prenatální testování vyhodnotilo nízké riziko aneuploidii. Opakovaná ultrazvuková vyšetření, včetně fetální echokardiografie, neprokázala závažné strukturální vrozené vady. U plodu byly zjištěny cysty choroidálního plexu a jediná pupečnicková arterie. Probandka se rozhodla pro odběr plodové vody. Cytogenetickým vyšetřením byl u plodu prokázán patologický karyotyp 46,XY,add(18)(p?), který byl následně metodou FISH upřesněn na der(18)t(4;18)(q35.1;p11.32), což představuje nebalancovanou translokaci s parciální monosomií 18p a parciální trizomií 4q. Vyšetření metodou array CGH potvrdilo 5,7 Mb terminální duplikaci 4q35.1–q35.2 zasahující 20 OMIM genů (hodnoceno jako patogenní), a současně 773 kb terminální delecii 18p11.32 (varianta nejistého klinického významu).

Na základě těchto nálezů bylo indikováno vyšetření rodičů. U manžela byla prokázána identická nebalancovaná translokace t(4;18). Manžel je bez známek intelektové nedostatečnosti či bez zjevných vrozených vad. Pár byl detailně seznámen s možnou variabilitou klinických projevů. Manželé se rozhodli v těhotenství pokračovat. V rodině manžela probíhá cílené genetické vyšetření příbuzných v riziku za účelem objasnění segregace přestavby v rodině.

Tento případ ilustruje výjimečnou situaci, kdy nebalancovaná chromozomová translokace může být kompatibilní s prakticky normálním klinickým fenotypem a zároveň může být přenesena do další generace. Kazuistika zdůrazňuje limity genotypové-fenotypové korelace u parciálních duplikací a delecí, význam vyšetření rodinných příslušníků při prenatálním záchytu strukturálních přestaveb a potřebu individualizovaného genetického poradenství při rozhodování o dalším vedení gravidity.

Resistance-associated mutations in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with targeted therapies

Petráčeková A.¹, Maňáková J.¹, Nesnadná R.¹, Kubová Z.², Turcsányi P.², Savara J.¹, Papajík T.², Kriegová E.¹

¹Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic

²Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic

Background:

Targeted therapies using Bruton tyrosine kinase (BTK) inhibitors (ibrutinib, acalabrutinib) and the BCL2 inhibitor venetoclax have significantly improved outcomes for patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). However, resistance to these agents may develop, leading to treatment failure and disease progression. The mechanisms behind clinical manifestations of resistance have been studied, and are only in part explained by genetic resistance mechanisms. Diagnostic testing for resistance-associated genetic variants in BTK, PLCG2 and BCL2 genes is increasingly being incorporated into routine clinical practice. This study aimed to analyse the landscape of resistance-associated mutations observed in patients with CLL on targeted therapy.

Methods:

A total of 183 patients with CLL on novel agents were included in the study with follow-up >3 years, with a median age of 68 years (range 38–86 years). Of these, 62 patients initiated treatment with venetoclax

(continuous or fixed-duration in combination with anti-CD20 antibody), 100 initiated ibrutinib, and 21 acalabrutinib. Demographic, clinical, and laboratory data related to CLL were collected through a comprehensive review of medical records. Resistance-associated mutations were analysed using diagnostic targeted next-generation sequencing.

Results:

In the ibrutinib group, resistance-associated mutations in BTK and/or PLCG2 genes occurred in 33 % (15/45) of patients who experienced disease progression. BTK mutations were more frequent than PLCG2 mutations (11 patients harboured BTK only, 2 patients PLCG2 only, 2 patients both). The median time to next treatment in patients harbouring BTK/PLCG2 mutation was 43 months (range, 6–93), compared with 16 months (1–73) in patients who progressed without detectable BTK/PLCG2 mutations. In the acalabrutinib group, resistance-associated mutations in BTK occurred in 33 % (2/6) of patients among those who progressed. In patients on venetoclax, resistance-associated mutations in BCL2 occurred in 11 % (3/28) of those who progressed. The median time from detection of resistance-associated mutation to clinical progression was 6 months (range, 1–20) and the median variant allele frequency was 10 % (2–71 %).

Conclusions: Genetic resistance mechanisms are identified in approximately one-third of patients with CLL who progress on targeted therapy. Molecular monitoring enables detection of resistance-associated mutations months before clinical progression, thereby providing predictive biomarkers to identify patients who benefit from closer observation and timely therapeutic intervention.

Grant support: JG_2024_035, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), IGA_LF_2026_013.

Identifikace klonální hematopoézy neurčitěho potenciálu

Piskáčková T.¹, Kebrdlová V.², Hrdlička I.², Dolinová I.¹

¹OGMD, KN Liberec, a.s.

²UBLG, Laboratoř molekulární diagnostiky, VFN v Praze

Huntingtonova choroba (HD) je autozomálně dominantně dědičné progresivní neurodegenerativní onemocnění s kombinací motorických, kognitivních a psychiatrických symptomů vedoucích k postupné ztrátě funkční soběstačnosti. Molekulární podstatou onemocnění je expanze CAG repetice v genu HTT. Alely s 36–39 repeticemi CAG jsou spojeny se sníženou penetrancí, zatímco alely s 40 a více CAG repeticemi jsou považovány za plně penetrantní.

Naše kazuistika prezentuje pacienta ve věku 64 let, který byl zhruba 2 roky neurologicky sledován pro centrální kvadruparézu, zejména dolních končetin, ataktickou chůzi a mimovolní pohyby charakteru chorey, MRI prokázala difúzní atrofii mozku. Neurologem bylo vysloveno podezření na spinocerebelární ataxii, která molekulárně-genetickým vyšetřením prokázána nebyla. S časovým odstupem 2 let bylo u pacienta s jeho souhlasem doplněno molekulárně-genetické vyšetření HD. Rodinná anamnéza byla v tomto ohledu pozitivní, nicméně se jednalo o maternálního bratrance pacienta, u kterého byla HD diagnostikována po 60. roce života. Matka pacienta zemřela v 70 letech na infarkt myokardu a neurologické obtíže neměla, z dostupných informací se nevyskytly neurologické obtíže ani u jejích sourozenců či rodičů. Otec pacienta zemřel ve věku 68 let na kolorektální karcinom a neurologicky se také neléčil. Pacient nemá sourozence ani potomky.

Provedené molekulárně-genetické vyšetření genu HTT prokázalo u pacienta bialelickou expanzi, konkrétně alelu s počtem repetice 38 a alelu s počtem repetice 40.

V literatuře jsou pacienti se dvěma expandovanými alelami genu HTT popisováni vzácně. Bialelická expanze CAG repetice byla zaznamenána napříč různými etnickými skupinami s odhadovanou prevalencí 0,1–0,4 %. V kontextu České republiky se jedná o mimořádně vzácný nález. V Laboratoři molekulární diagnostiky UBLG VFN Praha, kde je vyšetřována významná část pacientů s podezřením na HD, byli v posledních 20 letech zachyceni pouze dva pacienti s bialelickou expanzí v genu HTT – jeden pacient se dvěma plně penetrantními alelami a druhý pacient s kombinací neúplně penetrantní a plně penetrantní alely; tímto druhým případem je námi prezentovaný pacient.

Klinický obraz u popisovaných případů je většinou srovnatelný s heterozygotními nosiči z hlediska věku nástupu i průběhu onemocnění, ačkoli některé studie uvádějí možnost závažnějšího fenotypu a rychlejší progresi.

Prezentovaný případ dokumentuje vzácnou bialelickou expanzi genu HTT v oblasti neúplně penetrantní a plně penetrantní (38/40 CAG). Přítomnost dvou expandovaných alel může potenciálně ovlivňovat fenotypovou expresi onemocnění a komplikuje odhad věku nástupu obtíží i genetické poradenství. Kazuistika podtrhuje význam korelace molekulárně-genetického nálezu s klinickým obrazem a zároveň otevírá otázku, zda alela se sníženou penetrancí může v případě bialelické expanze ovlivňovat průběh a projevy Huntingtonovy choroby.

Cílené NGS panelové sekvenovanie v precíznej onkológii

Pobjecká Lukačková R., Tatayová L., Zemjarová Mezenská R.

Agellab s r. o, Laboratórium lekárskej genetiky, Bratislava, Slovensko

Precízna onkológia dnes smeruje k maximálne cielenej terapii založenej na molekulárnom profile nádorov. Masívne paralelné sekvenovanie (Next Generation Sequencing – NGS) predstavuje kľúčový nástroj v precíznej onkológii, ktorý umožňuje individualizáciu liečby, vďaka simultánnej detekcii viacerých génov alebo variantov s vysokou senzitivitou. V súčasnosti sa v onkodiagnostike čoraz bežnejšie využívajú malé, cílené NGS panely, ktoré analyzujú len kľúčové gény alebo špecifické miesta v genóme s priamym terapeutickým, prognostickým alebo diagnostickým významom. Komplexné riešenie pre onkologickú diagnostiku poskytuje NGS panel epicGEN Solid Cancer & MSI Kit (Biovendor). Umožňuje simultánnu detekciu 44 klinicky relevantných génov vrátane stanovenia MSI statusu bez potreby použitia zdravého tkaniva. Vyšetrenie nachádza uplatnenie najmä pri kolorektálnom karcinóme, nemalobunkovom karcinóme pľúc, karcinóme prsníka, pankreasu, melanóme a ďalších solídnych nádoroch. Varianty klasifikované ako TIER I/II podľa AMP/ASCO/CAP (InDel, SNP, CNV, MSI) sú detegované s vysokou senzitivitou (VAF > 1 % pri približne 500× pokrytie) z minimálneho množstva vstupného materiálu (<1 ng FFPE alebo ctDNA). Kompatibilný je s bežnými sekvenáčnymi platformami. V prípade MSI analýzy je baseline stanovená pomocou referenčných MS-stabilných vzoriek, čo uľahčuje diagnostiku. MSI kit zahŕňa 13 validovaných mono/dinukleotidových markerov, ktoré umožňujú štandardizované testovanie. Panely epicGEN sú integrované do bioinformatického softvéru GENOVESA, ktorý zjednodušuje interpretáciu výsledkov prostredníctvom používateľsky prehľadného rozhrania, rýchlej analýzy a prehľadnej vizualizácie genetických variantov, čím prispieva k zefektívneniu práce laboratórnych špecialistov. Malé NGS panely zohrávajú čoraz dôležitejšiu úlohu aj v oblasti monitorovania ochorenia, najmä v kontexte detekcie minimálnej reziduálnej choroby (MRD), predikcie relapsu a dynamického prispôbovania liečby. Do budúcnosti sa ich potenciál

bude ešte viac zvyšovať – vďaka prepojeniu s digitálnymi klinickými nástrojmi, harmonizácii laboratórnych procesov, širšiemu zavedeniu do úhradových mechanizmov a ich integrácii do národných stratégií precíznej onkológie.

H3F3A, H3F3B asociovaný Bryant Li Bhoj syndrom 2 – poddiagnostikované vzácne onemocnění?

Ptáčníková N., Balaščaková M., Wayhelová M.

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

Somatické varianty v histonu H3.3 jsou známými promotory onkogeneze. Zárdečné varianty v genech kódujících H3.3 byly v roce 2019 asociovány s neurovývojovým syndromem Bryant–Li–Bhoj 2 (MIM #619721). Dosud popsané klinické projevy jsou značně nespecifické a variabilní. Zahrnují těžké neurovývojové postižení s poruchou intelektu, často doprovázené epilepsií. Pacienti mají výraznou, ale nespecifickou faciální dysmorfii. Vzácněji jsou přítomné i vrozené somatické odchylky, zahrnující poruchu růstu, kraniosynstózu, vady zraku, dále pak vývojové vady mozku a srdce.

V posteru prezentujeme dvě kazuistiky pacientů s touto diagnózou a porovnání jejich klinických nálezů s dosud publikovanými daty.

Prvním pacientem je nyní 3,5letý chlapec sledovaný na našem pracovišti od novorozeneckého věku pro IUGR, faciální dysmorfii, hypoglykémii a nekrotizující enterokolitidu s perforací střeva. Na MRI mozku byla popsána hypoplasie corpus callosum a rozšíření subarachnoidálních prostor. Rodinná anamnéza je bez pozoruhodností. V průběhu sledování se manifestovalo [těžké](#) opoždění psychomotorického vývoje [s hypotonii](#), bilaterální senzorineurální ztráta sluchu, jednostranná atrofie optického disku, strabismus, hypermetropie a plagiocefalie. Pacient dosud bez epileptických záchvatů. NGS WES v triu detekovalo dosud nepopsanou de novo pravděpodobně patogenní variantu NM_005324.5(H3F3B):c.11C>T, p.(Thr4Ile) v genu H3F3B.

Druhou pacientkou je 15letá dívka referovaná neurologem ke genetickému vyšetření pro těžký intelektový deficit, poruchy chování a faciální dysmorfii, bez průkazu orgánové vady, bez epilepsie. Rodinná anamnéza je zatížena opakovaným výskytem psychiatrických diagnóz, bez výskytu intelektového deficitu či vrozených vývojových vad. Vyšetření NGS WES detekovalo patogenní variantu NM_002107.6(H3F3A):c.326A>G, p.(Asn109Ser) v genu H3F3A; de novo původ varianty byl potvrzen Sangerovým sekvenováním.

V literatuře bylo dosud popsáno méně než 100 jedinců se syndromem Bryant–Li–Bhoj 2. Na našem pracovišti však byli v krátkém časovém období diagnostikováni dva noví pacienti. Tato skutečnost naznačuje, že toto vzácne onemocnění může být v klinické praxi významně poddiagnostikováno. Současně poukazuje na význam systematických reanalýz dříve získaných NGS dat u dosud nediagnostikovaných pacientů, které mohou u části z nich vést k definitivnímu stanovení klinické diagnózy i s odstupem mnoha let.

Primární intrakraniální sarkom s mutací DICER1 diagnostikovaný metylačním profilováním u dospělého pacienta s germinální mutací DICER1, aneb blahorečení pana T.: kazuistika

Ptáková N.^{1,2}, Hájková V.¹, Vaněček T.¹, Martínek P.¹, Šteiner P.¹, Hasch M.¹, Šubrt I.³

¹Laboratoř molekulární genetiky, Bioptická laboratoř, Plzeň

Odstraněno:

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

³Ústav lékařské genetiky, LF v Plzni UK a FN Plzeň

Primární intrakraniální sarkom s mutací DICER1 je vzácný nádor centrálního nervového systému, který postihuje převážně děti, přičemž u dospělých jsou popsány pouze ojedinělé případy. Předkládáme případ 30letého muže s primárním vysoce maligním nádorem, který byl původně diagnostikován a léčen jako glioblastom/gliosarkom. O devatenáct let později vedlo vyšetření DNA metylačního profilu k překlasifikování na primární intrakraniální sarkom s mutací DICER1. Následné genetické testování potvrdilo zárodečnou mutaci DICER1, která byla poté potvrzena u pacienta i jeho syna. Je pozoruhodné, že radikální resekce nádoru následovaná externí radioterapií vedla k velmi neobvykle prodlouženému přežití bez relapsu, což se jeví jako unikátní ve srovnání s dosud hlášenými případy u dospělých pacientů se sarkomem DICER1. Toto sdělení zdůrazňuje klíčovou roli epigenomického profilování nádorů CNS s atypickým klinickým průběhem, a to i po mnoha letech (desetiletích) po původní diagnóze, pro dosažení přesné diagnózy, klasifikace a optimalizace léčby pacienta.

Odhad epigenetického věku na základě metylace DNA pomocí technologií Illumina a Oxford Nanopore

Rožánková Z.¹, Mečiarová T.¹, Pokorná J.¹, Škopová M.¹, Líznerová B.^{1,2}, Jurtíková H.^{1,2}, Hajdúch M.^{1,2,3}

¹ Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP v Olomouci

² Laboratoř experimentální medicíny, FN Olomouc

³ Český institut výzkumu a pokročilých technologií, Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP v Olomouci

Úvod

Metylace DNA představuje klíčový epigenetický mechanismus podílející se na regulaci genové exprese a biologického stárnutí. Epigenetické hodiny založené na metylaci DNA umožňují odhad biologického věku a poskytují vhled do fyziologických změn souvisejících s věkem. V této studii jsme porovnali odhady věku založené na metylaci DNA získané pomocí technologie Illumina iScan array a sekvenování Oxford Nanopore Technologies (ONT).

Materiál a metody

Analýzovali jsme profily metylace DNA, získané z plné krve, u 80 jedinců reprezentujících zdravou českou populaci. Metylační data byla generována pomocí sekvenování ONT, Illumina Infinium MethylationEPIC v2.0 BeadChip a Infinium Methylation Screening Array. Epigenetický věk byl odhadnut pomocí Horvathovy a Levineho hodin (PhenoAge). Před srovnávacími analýzami byla provedena kontrola kvality specifická pro danou platformu a harmonizace dat. Byly posouzeny souvislosti mezi chronologickým věkem a odhady epigenetického věku napříč technologiemi.

Výsledky

Oboje epigenetické hodiny prokázaly silnou korelaci mezi chronologickým věkem a biologickým věkem odvozeným z metylace DNA na všech platformách. Srovnatelné trendy související s věkem byly pozorovány u dat založených na technologiích ONT a Illumina. Byly však zjištěny rozdíly v odhadech absolutního

epigenetického věku mezi jednotlivými technologiemi, které pravděpodobně odrážejí rozdíly v pokrytí CpG míst, hloubce sekvenování a principech detekce metylace.

Závěr

Naše výsledky ukazují, že sekvenování ONT poskytuje biologicky významná data o metylaci DNA vhodná pro odhad epigenetického věku a vykazuje dobrou shodu se zavedenými platformami založenými na Illumina array. Tato studie podporuje použití ONT jako doplňkového přístupu pro analýzy epigenetických hodin a přispívá k validaci markerů stárnutí založených na metylaci DNA u středoevropské populace.

Podpora projektu

Tato práce byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (NCMG – LM2023067), Evropským fondem pro regionální rozvoj – projektem „A-C-G-T 2“ (CZ.02.01.01/00/23_020/0008555) a projektem SALVAGE (CZ.02.01.01/00/22_008/0004644) s podporou OP JAK, a spolufinancován z EU a státního rozpočtu.

Hereditární nádorové syndromy: analýza dat genetického testování z let 2018–2024 EUC laboratoře CGB a.s.

Satková P.¹, Smolíková M.¹, Urbanovská I.¹, Kubová B.¹, Vaňáková K.¹, Konvalinka D.¹, Trombik I.¹, Kazárik Maršálková K.¹, Trombik L.¹, Krokerová A.¹, Žebráková I.¹, Harazimová A.¹, Maier J.¹, Žmolíková J.², Šimová J.¹, Uvírová M.^{1,2,3}

¹EUC Laboratoře CGB a.s., Laboratoř molekulární genetiky, Ostrava

²EUC Laboratoře CGB a.s., Cytogenetická laboratoř, Ostrava

³Lékařská fakulta, Ostravská Univerzita

Maligní nádorová onemocnění jsou po kardiovaskulárních chorobách druhou nejčastější příčinou úmrtí v České republice. Většina solidních nádorů vzniká sporadicky na základě akumulace somatických mutací získaných v průběhu života. Menší, ale klinicky významnou skupinu nádorových onemocnění tvoří hereditární nádorové syndromy, které vznikají v důsledku přítomnosti zárodečné patogenní varianty. Tyto formy představují 5–10 % všech případů maligních nádorových onemocnění, přičemž zastoupení dědičných forem se u jednotlivých diagnóz liší. Identifikace kauzální varianty má zásadní význam pro diagnostiku, léčbu a prevenci nejen u samotného pacienta, ale i u jeho příbuzných. V letech 2018–2024 bylo v Laboratoři molekulární genetiky EUC Laboratoře CGB a.s. vyšetřeno celkem 1432 pacientů v rámci diagnostiky hereditárních nádorových syndromů. U indikovaných pacientů byla v souladu s tehdy platnými kritérii (výkon 94981) provedena analýza panelu 22 genů metodou masivně paralelního sekvenování (NGS). Patogenní (P) nebo pravděpodobně patogenní (LP) varianta byla identifikována u 159 osob (11,1 %). Varianty počtu kopií (CNV) tvořily 8,2 % všech pozitivních nálezů. Celkově bylo detekováno 99 různých P/LP variant. Nejčastěji byly zachyceny P/LP varianty v genech: *BRCA2*, *MUTYH*, *BRCA1*, *ATM*, *CHEK2*, *NBN*, *PALB2*, *BRIP1*.

The diagnostic utility of the T2T reference genome for structural variant detection and annotation

Savara J.^{1,2}, Novosad T.², Gajdos P.², Petrackova A.¹, Behalek M.², Manakova J.¹, Kriegova E.¹

¹Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic

²Department of Computer Science, Faculty of Electrical Engineering and Computer Science, VSB-Technical University of Ostrava, Ostrava, Czech Republic

Background: Structural variants (SVs) are important contributors to human diseases; however, their detection and interpretation remains challenging because of structural complexity, variable size across individuals, and limitations of current sequencing technologies and reference genomes.

Aim: To compare the clinical utility of short-read sequencing (SRS) and long-read-sequencing (LRS) for the detection of SVs using hg38/GRCh38 and T2T-CHM13 reference genomes.

Methods: To compare the SVs detected in whole-genome datasets for NA12878 and SKBR3 cell lines obtained by SRS, different LRS platforms, and optical genome mapping (OGM), we developed LongReadChecker (LoReC). This multiplatform framework LoReC serves for SV comparison and annotation based on distance variance, intersection factor, size proportion, gene overlap, and the closest SV in the clinical database(s) using hg38/GRCh38 and T2T-CHM13 reference genomes. LoReC also generates coverage plots for SVs and genes and support annotation.

Results: LRS identified approximately twice as many SVs ($\approx 25,000$ SVs/genome) comparing to SRS datasets with greater read mapping accuracy. Most SVs detected by SRS were confirmed by LRS. When comparing datasets using hg38/GRCh38 and the gapless T2T-CHM13 reference genomes, T2T-CHM13 yielded $\sim 20\%$ more deletions and $\sim 20\%$ less insertions, particularly in long-read datasets. Since $\sim 80\%$ of SVs detected by LRS/SRS were smaller than 0.5 kbp, OGM did not detect the majority of SVs. Importantly, reference choice also affected gene annotation context, with approximately half of matched protein-coding genes showing a >10 bp difference in annotated genomic span between hg38/GRCh38 and T2T-CHM13. We also present the clinical utility of LoReC for SV annotation in diagnostics.

Conclusions: Our results showed that LRS, especially when combined with the gapless T2T-CHM13 reference, improves SV detection and interpretation and may strengthen genetic diagnostics in cases when SRS is inconclusive. LoReC provides a user-friendly framework for analysis of SVs, irrespective of type of SRS/LRS technology, and their annotations in diagnostics.

Grant support: JG_2024_035, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), IGA_LF_2026_013

Přínos CNV analýzy WES dat u vzácných neurologických onemocnění

Sedláčková L.¹, Musilová A.¹, Uhrová Mészáros A.¹, Šafka Brožková D.^{1,2}, Laššuthová P.^{1,2}

¹Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie, 2. LF UK a FN Motol a Homolka, Praha

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

Úvod

Většinu monogenních příčin vzácných neurologických onemocnění lze v současné době diagnostikovat pomocí sekvenování exomu s krátkým čtením (WES) a identifikací kauzálních jednobodových variant nebo malých inzercí/delecí (SNV/indel). Vyhodnocení WES dat také umožňuje analýzu variant počtu kopií (CNV) duplikací/delecí, zejména těch, které jsou pod rozlišením metod arrayCGH.

Metodika a soubor pacientů

CNV analýza WES dat byla provedena u 1380 pacientů s diagnózou dědičné periferní neuropatie, nelesionální epilepsie, nesyndromické hluchoty, dědičné spastické paraparézy a poruchy autistického spektra. Germinální CNV byly detekovány pomocí pracovního postupu GATK4 gCNV. Nalezené CNV byly ověřeny pomocí metody MLPA, pokud byly k dispozici sondy pro příslušné oblasti genů, nebo pomocí arrayCGH, případně custom-arrayCGH zaměřené na danou oblast.

Výsledky

Kauzální CNV varianta byla zjištěna u 20 pacientů (1,4 %). Tito pacienti představují 5,4 % (20/367) všech potvrzených genetických diagnóz v naší kohortě. Analýza podle GATK4 postupu byla schopná identifikovat také delecí v délce jednoho exonu genu *ALDH7A1*. Retrospektivní nález tohoto CNV společně s již identifikovanou patogenní missense variantou na druhé alele umožnilo potvrzení diagnózy biallelické pyridoxin-dependentní epilepsie způsobené změnami v genu *ALDH7A1* u jednoho našeho pacienta.

Závěr

CNV analýza podle GATK4 gCNV postupu je schopná detekovat také krátké delece/duplikace jednoho nebo více exonů, a to i z dat WES, což bylo potvrzeno jinou genetickou metodou. Ačkoli většina pacientů je diagnostikována pomocí variant typu SNV/indel, provedení citlivé CNV analýzy je přínosné, protože umožňuje diagnostikovat další pacienty, kteří by jinak zůstali neobjasnění.

Práce byla podpořena grantem: AZV NW24-04-00349

Porovnání poměru očekávaných a pozorovaných genetických variant u masivních amplikonových konfirmačních analýz směsných vzorků

Soukup Vodičková M., Kolaříková K., Kolaříková M., Vodička R.

Ústav lékařské genetiky, FN Olomouc a LF UP v Olomouci

Standardní konfirmační metodou genetických variant nalezených pomocí NGS je v současné klinické a laboratorní praxi především Sangerovo sekvenování, které je však časově i kapacitně omezené a umožňuje analýzu pouze omezeného počtu variant a vzorků současně. Rozvoj masivního paralelního sekvenování (NGS) otevírá možnost využít cílené amplikonové panely jako inovativní konfirmační nástroj umožňující paralelní hodnocení velkého množství variant i vzorků v jednom analytickém běhu. Cílem práce bylo posoudit shodu mezi teoreticky očekávaným poměrem variant (p_0), vycházejícím z definovaného mixing-ratio směsných DNA vzorků, a skutečně pozorovaným zastoupením variant při masivních amplikonových konfirmačních analýzách. Do studie bylo zahrnuto 278 genetických variant pocházejících od 86 vzorků, ze kterých bylo vytvořeno 16 směsných DNA mixů. Pro každý analyzovaný případ byl porovnán pozorovaný počet variant (k) z celkového počtu hodnocených pozic (n) s očekávaným poměrem p_0 pomocí oboustranného exaktního binomického testu. P -hodnoty byly korigovány metodou Benjamini–Hochberg (FDR). Ve většině případů byla pozorována velmi dobrá shoda s teoretickým očekáváním – 88,5 % analyzovaných kombinací nevykazovalo statisticky významnou odchylku. Statisticky významná odchylka byla zjištěna u 11,5 % případů ($q < 0,05$), přičemž část vykazovala vyšší a část nižší než očekávaný podíl variant. Zjištěné odchylky jsou pravděpodobně podmíněny technickými faktory, jako je variabilita přípravy směsí, rozdílné pokrytí amplikonů nebo locus-specific dropout, nikoli biologickými vlivy. Výsledky ukazují, že masivní amplikonové sekvenování představuje vhodnou a kapacitně efektivní konfirmační metodu, která

umožňuje současnou analýzu rozsáhlého souboru variant i vzorků při zachování vysoké míry souladu s očekávanými poměry. Tento přístup má potenciál významně zefektivnit konfirmační genetické testování oproti tradičnímu Sangerovu sekvenování.

Studie byla podpořena: IGA_LF_2025_019, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), AZV project NW25-04-00194

Long – read sequencing: nanopore nebo SMRT

Steiner Mrázová L.¹, Vrbacká A.¹, Majer F.¹, Adamová M.³, Bittar I.², Kmoch S.¹, Stránecký V.¹

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

²*Biomedicínské centrum, LF UK v Plzni*

³*Klinika kardiologie, IKEM, Praha*

Long-read sekvenování je dnes běžnou součástí výzkumných a diagnostických laboratoří. Tato metoda hraje zásadní roli při vyšetření pacientů s geneticky podmíněnými onemocněními, kde usnadňuje identifikaci strukturních variant, analýzu repetitivních oblastí nebo fázování alel. V naší laboratoři jsou využívány dva technologicky odlišné přístupy: SMRT sekvenování na platformě PacBio a nanopórové sekvenování od Oxford Nanopore Technologies (ONT).

Cílem příspěvku je sdílet praktické zkušenosti s oběma systémy a na konkrétních příkladech porovnat jejich limity a přednosti jako jsou náročnost přípravy knihoven, požadavky na kvalitu vstupní DNA, délka čtení a výsledná přesnost. Výběr konkrétní technologie v praxi pak závisí na prioritách projektu, mezi které patří přesnost čtení, délka čtení a také dostupnost a cena.

Podpora a granty: NW25-07-00217, National Center for Medical Genomics LM2023067, CZ.02.01.01/00/23_020/0008555, NW25J-02-00024, NW24-04-00067, UNCE/24/MED/022 and Cooperatio, LUAUS24087

Využití digitálního PCR v neinvazivní diagnostice chromozomálních aneuploidií

Šenkyřík P.¹, Hořínek A.¹, Doubková K.¹, Pazourková E.¹, Calda P.², Korabečná M.¹

¹*Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze*

²*Klinika gynekologie, porodnictví a neonatologie 1. LF UK a VFN v Praze*

Cíl: Ověřit využitelnost digitálního PCR (dPCR) jako alternativy neinvazivního prenatalního testování (NIPT) pro detekci aneuploidií chromosomů 13, 18, 21 a pohlavních chromosomů pomocí soupravy iSAFE NIPT-100QS (Atila BioSystems) na platformě QIAcuity (Qiagen) a optimalizovat preanalytické i analytické kroky včetně vyhodnocení.

Materiál a metody: Analyzována byla plazma z periferní krve těhotných žen, ze které byla izolována cirkulující volná DNA (cfDNA). Celkem bylo provedeno 158 dPCR měření u 129 vzorků plazmy (včetně opakování po nevyhovující kontrole kvality nebo ověřovacích měření). V rámci optimalizace byl zvýšen vstupní objem plazmy pro izolaci cfDNA z 2 ml na 3 ml. Fetální frakce byla stanovována dvěma přístupy: z počtu kopií chromosomu Y a pomocí univerzálních fetálních markerů. Výsledky byly vyhodnocovány dvěma způsoby – původním postupem (ruční odečet v QIAcuity Software Suite a výpočty poměrů v MS Excel) a automatizovaně pomocí softwaru ATILA NIPT-100QS od výrobce.

Výsledky: Navýšení vstupního objemu plazmy na 3 ml vedlo k výraznému zlepšení plnění kritérií kontroly kvality stanovených výrobcem (60 000–160 000 kopií cílových chromosomů 21, 18, 13 a X): QC nesplnil 1 vzorek ze 119 izolovaných ze 3 ml, zatímco při izolaci ze 2 ml nevyhovělo 6 vzorků z 56. Referenční soubor euploidních těhotenství byl rozšířen na 89 vzorků, což snížilo variabilitu referenčních poměrů. V paralelním režimu s rutinní diagnostikou bylo testováno 81 vzorků (54 euploidních a 27 aneuploidních; T21 n=16, T18 n=5, XO n=5, T13 n=1). Porovnání způsobů vyhodnocení prokázalo vyšší záchyt při použití softwaru ATILA oproti výpočtům v MS Excel (senzitivita/specifita 96,2 % / 94,6 % vs. 73,1 % / 98,9 %). Opakované měření u původně falešně negativního vzorku vedlo ke správné klasifikaci. Dále byla porovnána izolace cfDNA na instrumentu E22 Connect (Qiagen) s manuálním kitem QIAamp MinElute ccfDNA (Qiagen); instrument poskytoval srovnatelné výtěžky při přínosu standardizace a zrychlení procesu.

Závěr: dPCR se soupravou iSAFE NIPT-100QS na platformě QIAcuity vykazuje slibný potenciál jako rychlá, flexibilní a potenciálně levnější alternativa ke standardnímu NIPT. Zvýšení vstupního objemu plazmy zlepšilo úspěšnost kontroly kvality a rozšíření referenční kohorty stabilizovalo referenční poměry. Automatizované vyhodnocení softwarem ATILA významně zvyšuje senzitivitu a je vhodné jako primární způsob interpretace. Další práce bude zaměřena na finalizaci referenčního souboru, standardizaci izolace (včetně implementace E22 Connect) a hodnocení vlivu preanalytických faktorů na výtěžnost cfDNA a diagnostickou výkonnost.

Podpora projektu: MZ ČR – RVO VFN64165

Genetické příčiny u pacientů s deficitem antitrombinu, proteinu S a proteinu C

Šimoníková M., Provazníková D., Radovská A.

NRL pro poruchy hemostázy, ÚHKT, Praha

Dědičné trombofilie představují významnou skupinu poruch hemostázy, které zvyšují predispozici k žilnímu tromboembolismu. Mezi nejzávažnější formy patří vrozené deficity přirozených inhibitorů koagulace: antitrombinu (AT), proteinu C (PC) a proteinu S (PS), jež jsou způsobeny patogenními variantami v genech *SERPINC1*, *PROC* a *PROS1*. Ty vedou k poruše syntézy, struktury nebo jejich funkce, což narušuje rovnováhu mezi prokoagulačními a antikoagulačními mechanismy. Klinická manifestace je variabilní – od asymptomatického průběhu až po časné, rekurentní či život ohrožující trombózy. Porozumění genetickým příčinám těchto deficitů je zásadní pro přesnou diagnostiku, stratifikaci rizika trombózy i volbu optimální léčby.

Cílem naší analýzy bylo zjistit genetickou příčinu u pacientů s deficitem koagulačních inhibitorů AT, PS a PC a zhodnotit výsledky za posledních 5 let.

Při diagnostice byly provedeny nejdříve funkční koagulační testy. Následovala genetická analýza metodami NGS a Sangerovým sekvenováním. Kde nebyla nalezena kauzální varianta těmito metodami, byla provedena MLPA. Dosud neznámé patogenní varianty byly zhodnoceny predikčním softwarem VarSome.

V souboru pacientů s poruchami hemostázy bylo analyzováno celkem 256 pacientů a příbuzných ze 164 nepříbuzných rodin. Bylo vyšetřeno 166 pacientů ze 108 rodin s deficitem AT. Identifikovali jsme 26 různých patogenních variant, z toho 7 dosud nepopsaných. Bylo vyšetřeno 52 pacientů z 28 rodin s deficitem PS, kde bylo nalezeno 32 různých patogenních variant, z toho 14 nových, přičemž u 6 pacientů nebyla varianta nalezena. Dále jsme vyšetřili 38 pacientů z 28 rodin s deficitem PC a identifikovali 13 různých variant, z toho jednu novou a u 9 pacientů nebyla varianta nalezena.

Během posledních 5 let jsme našli 22 nových variant. Téměř polovina byla predikována jako VUS (varianta neznámého významu), 2 varianty jako pravděpodobně benigní. U všech nových variant jsme ověřili patologický fenotyp. Varianty, které byly vyhodnoceny jako benigní, byly spojeny s mírnějším fenotypem.

Naše analýza potvrdila velkou variabilitu patogenních variant v genech pro *SERPINC1*, *PROC* a *PROS1*. Prokázali jsme, že při hodnocení patogenity nových variant nelze spoléhat na predikční softwary jako na jediný zdroj informací. Jejich výstupy je nutné doplnit funkčními testy.

Záchyt Krabbeho choroby s následnou reanalýzou CNV genu GALT u pacientů se suspektní hereditární neurologickou chorobou

Štanclová D.¹, Grečmalová D.², Staneková T.¹, Šafka Brožková¹, Musilová A.¹, Uhrová Mészárosová A.¹

¹Neurogenetická laboratoř, Klinika dětské neurologie, 2. LF UK a FN Motol a Homolka, Praha

²Oddělení lékařské genetiky, FN Ostrava

Úvod: Krabbeho choroba (globoidní leukodystrofie) je autozomálně recesivní onemocnění způsobené deficitem lyzozomálního enzymu galaktosylceramidázy (GALT), který vede k poruše katabolismu myelinu a progresivní demyelinizaci nervového systému. Klinický obraz sahá od závažné infantilní formy s rychlou neurodegenerací až po mírnější formy s pozdním nástupem. V genu GALT bylo dosud popsáno přibližně 328 patogenních variant, z nichž významnou část tvoří rozsáhlé delece.

Materiál a metody: DNA izolovaná z periferní krve, exomové sekvenování (SureSelect, Agilent Technologies; TWIST Biotechnologies) s bioinformatickým zpracováním dat a CNV (copy number variant) analýzou (GATK4, BroadInstitute), MLPA (kit P446 GALT, MRC-Holland)

Výsledky: U dvou sourozenců (*2018 a *2021) s progresivní poruchou chůze a podezřením na hereditární onemocnění z okruhu neuropatií byla pomocí NGS detekována synonymní varianta c.195G>C, p.(Gly65=) v heterozygotním stavu. Vzhledem k její pozici na posledním nukleotidu exonu 1 byla predikována porucha sestřihu mRNA, což potvrzují i literární údaje (De Gasperi, 1996; Bernardini, 1997) asociující tuto variantu s adultní formou onemocnění. Bioinformatická CNV analýza exomových dat následně u obou sourozenců detekovala deleci v genu GALT v oblasti exonů 16–17. Tato delece byla následně ověřena metodou MLPA, čímž byla u obou sourozenců potvrzena diagnóza Krabbeho choroby. Segregační analýzou byl prokázán maternální původ delece a paternální synonymní varianty.

Na základě těchto výsledků byla provedena reanalýza CNV exomových dat u pacientů se suspektním hereditárním neurologickým onemocněním (≈ 1500 pacientů), která odhalila přítomnost heterozygotních delecí různých rozsahů v genu GALT u dalších 18 pacientů, přičemž významně častěji se opakoval nález delece v rozsahu exonů 11–17 (u 8 pacientů). Ve 12 případech se ověřením nálezu pomocí MLPA prokázalo, že se jedná o falešně pozitivní výsledek, u šesti pacientů MLPA nález potvrdila. Čtyřikrát byla potvrzena heterozygotní delece exonů 11–17, což odpovídá ≈ 0,13% frekvenci (4 alely z 3 000) ve skupině zahrnutých pacientů.

Závěr: Na základě detekce onemocnění Krabbeho choroba u dvou sourozenců způsobeného kombinací heterozygotní synonymní varianty a delece exonů 16–17 v genu GALT byla následnou reanalýzou zachycena opakující se heterozygotní delece exonů 11–17 v genu GALT. Tento výsledek ukazuje, že tato delece má pravděpodobně poměrně vysokou frekvenci přenašečů v naší populaci. GATK4 CNV analýza

exomových dat je dobrým nástrojem pro detekci delecí z exomových dat, nález je ale vhodné ověřit jinou nezávislou metodou.

CRISPR/Cas9 knock-in modely patogenních variant SBDS vykazují sníženou expresi proteinu SBDS

Štika J.^{1,2}, Vrzalová Z.^{1,2,3}, Radová L.^{1,2,3}, Staňo Kozubík K.^{1,2,3}, Held P.¹, Blaháková I.^{2,3}, Trizuljak J.^{1,2,3}, Pospíšilová Š.^{1,2,3}, Doubek M.^{1,2,3}

¹*Ústav lékařské genetiky a genomiky, FN Brno a LF MU, Brno*

²*Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno*

³*Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno a LF MU, Brno*

Shwachmanův–Diamondův syndrom (SDS) je vzácné autozomálně recesivní onemocnění charakterizované selháváním kostní dřeně, exokrinní pankreatickou insuficiencí a skeletálními abnormalitami. Přibližně 90 % pacientů se SDS nese bíalelické patogenní varianty v genu SBDS, který kóduje protein nezbytný pro pozdní fázi zrání ribozomů. Patogenní varianty SBDS jsou typicky spojeny se sníženou expresí proteinu SBDS.

V minulosti jsme funkčně charakterizovali dvě varianty genu SBDS identifikované u sourozenců s klinickými projevy SDS – známou patogenní variantu c.355T>C; p.(Cys119Arg) a novou variantu c.536C>T; p.(Pro179Leu), klasifikovanou původně jako VUS. Obě varianty vedly ke snížení exprese proteinu SBDS v overexpresních experimentech, které však plně neodrážejí fyziologické podmínky lidské buňky.

Za účelem přesnějšího modelování přirozeného buněčného prostředí jsme následně připravili CRISPR/Cas9 knock-in klony buněk HeLa nesoucí sledované patogenní varianty. Bylo vytvořeno a validováno několik klonů s různým alelickým zastoupením mutací. Analýza metodou western blot prokázala sníženou expresi proteinu SBDS u knock-in klonů s oběma patogenními variantami ve srovnání s divokým typem, což potvrzuje jejich negativní dopad za fyziologických podmínek exprese genu SBDS.

Nově vytvořené knock-in buněčné modely představují vhodnou experimentální platformu pro následné funkční studie zaměřené na objasnění dopadu deficitu proteinu SBDS na sestavování ribozomů a udržování buněčné homeostázy. Tyto modely umožňují detailně analyzovat molekulární mechanismy, které jsou narušeny v důsledku patogenních variant genu SBDS, a přispívají tak k hlubšímu porozumění patofyziologii onemocnění.

Současně tento přístup vytváří systematický rámec pro funkční testování dalších variant s nejasným klinickým významem (VUS) v genu SBDS. Experimentální ověření jejich biologického dopadu může významně napomoci k přesnější interpretaci jejich klinické relevance u pacientů se Shwachman-Diamondův syndrom (SDS). Tím lze podpořit zpřesnění genetické diagnostiky i informovanější klinické rozhodování.

Projekt byl podpořený grantem DRO (FNBr, 65269705); AZV projektem MZ (NW25-03-00204)

Vzájemné doplňování se metod NGS-WES a array CGH+SNP v rutinní diagnostice vrozených onemocnění

Štolfa M.¹, Dynková Filková H.¹, Hladílková E.¹, Režný D.¹, Slabá K.², Zídková J.³, Kramářová T.³, Pokorná P.⁴, Vallová V.¹

¹*Sekce cytogenomiky, Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická klinika, FN Brno*

²*Ambulance pro dětské pacienty bez diagnózy, Centrum precizní medicíny, Pediatrická klinika, FN Brno; Ústav lékařské genetiky a genomiky, FN Brno*

³*Sekce vrozených genetických onemocnění, Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická klinika, FN Brno*

⁴*Biologický ústav, Lékařská fakulta, CEITEC – Central European Institute of Technology, Masarykova univerzita, Brno*

Uvedení příkladů vzájemného doplňování se metody celoxomového sekvenování nové generace (NGS-WES) a metody array CGH+SNP v rámci rutinního vyšetření germinálního genomu pacientů s vrozeným onemocněním.

Zaměření se na možné principy detekce variant v počtu kopií (CNVs) z dat NGS a s tím spojené limity při sekvenování jednoho vzorku. Demonstrování na případu „zdánlivě“ homozygotní varianty genu u pacienta.

Možnosti využití metody digitální MLPA. Teoretické zhodnocení nahrazení metody array CGH+SNP metodou NGS-WES.

VZÁCNÉ VARIANTY V GENECH KÓDUJÍCÍCH MITOCHONDRIÁLNÍ tRNA: nízká hladina heteroplazmie jako příčina fenotypu?

Tóthová K.¹, Trefilová E.¹, Štufková H.¹, Honzík T.¹, Ptáček H.¹, Giertlová M.², Kolníková M.³, Kyselá M.⁴, Zeman J.¹, Hansíková H.¹, Tesařová M.¹

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

²*II. dětská klinika SZU, DFNSP Banská Bystrica*

³*Klinika dětské neurologie, DFNSP Bratislava*

⁴*Ústav klinické a molekulární patologie a lékařské genetiky, FN Ostrava*

Mitochondriální onemocnění (MO) tvoří klinicky a geneticky heterogenní skupinu chorob, manifestující se v jakémkoliv věku, jež může postihovat jakýkoliv orgán nebo tkáň. Tato onemocnění tvoří největší skupinu vrozených poruch metabolismu s odhadovanou incidencí minimálně 1:5000. V databázi MITOMAP je v současné době popsáno celkem 130 potvrzených mitochondriálních onemocnění, z nichž téměř polovinu tvoří onemocnění způsobená patogenními variantami v genech kódujících mitochondriální tRNA, přitom tyto geny zahrnují pouze asi 5% mitochondriálního genomu (mtDNA). Masivní paralelní sekvenování významně zefektivnilo diagnostiku MO s maternální dědičností, protože umožnilo detekovat varianty i s velmi nízkou hladinou heteroplazmie (2-4%), za využití DNA izolované z krve, a tím významně snížilo nutnost svalové biopsie (obvykle vyšší hladina heteroplazmie) u pacientů pro potřeby genetické diagnostiky. Na druhé straně, záchyt variant s velmi nízkými hladinami heteroplazmie znamená nutnost určit, zda nalezená varianta je příčinou klinického fenotypu, nebo zda se jedná o náhodný nále. Shrnujeme

nálezů u pěti pacientů s podezřením na MO, u kterých byly detekovány varianty nejasného významu (VUS) v genu *MT-TI* (3x) a patogenní varianty v genech *MT-TK* (1x), resp. *MT-TN* (1x). U tří pacientů (P1 – patogenní varianta *MT-TK*(NC_12920.1): m.8344A>G; P2 – varianta nejasného významu *MT-TI*(NC_12920.1):m.4327T>C; P3 – varianta nejasného významu *MT-TI*(NC_12920.1): m.4278A>G) byla nalezena nízká hladina heteroplazmie (do 15%) ve všech vyšetřených tkáních, včetně svalové biopsie. Ve svalových mitochondriích byl pozorován různě závažný deficit systému oxidativní fosforylace (OXPHOS). Naproti tomu u pacientky P4, u které byla nalezena varianta nejasného významu *MT-TI*(NC_12920.1):m.4311G>A s hladinami heteroplazmie 74-98% ve všech vyšetřených tkáních, byl dopad na OXPHOS ve svalu pouze minimální. U pacienta P5, u kterého byla detekována pravděpodobně patogenní varianta *MT-TN*(NC_12920.1):m.5669G>A byla hladina heteroplazmie v krvi a bukalním stěru 3%, nicméně v moči již 28% a ve svalové biopsii až 67%, tedy „obvyklá“ distribuce hladiny heteroplazmie. Pro určení kauzality vzácných variant v mtDNA nejenom s nízkou hladinou heteroplazmie, patogenních i VUS, nalezených u pacientů s podezřením na MO je nezbytné stanovit distribuci hladiny heteroplazmie v dostupných tkáních (P5). Rozhodnutí může usnadnit i segreganční analýza v tkáních maternálních příbuzných (P4). Největší nejistota o kauzalitě variant je u pacientů s velmi nízkými hladinami heteroplazmie sledovaných variant i v invazivně odebraných tkáních (P1-P3), kde je nezbytné vyloučit v maximálním rozsahu přítomnost variant v jaderně kódovaných genech.

Práce byla podpořena RVO-VFN64165 a AZV NU22-01-00499.

Detekce variant v genu U2AF1 při použití maskované reference hg38

Valterová T., Kvasničková K., Žejšková L., Kalinová M.

Laboratoř genomické medicíny, Centrální laboratoře, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha

Gen U2AF1 hraje důležitou roli v pre-mRNA sestřihu a je často mutován u myeloidních neoplázií, nejčastěji u MDS a AML. Somatické mutace v tomto genu jsou považovány za důležité diagnostické a prognostické markery a u pacientů s myeloidními malignitami jsou spjaty s nepříznivou prognózou.

Navzdory klinickému významu genu U2AF1, naráží rutinní analýza na bioinformatickou bariéru při použití referenčního genomu hg38. Na rozdíl od starší reference hg19 nebo nejnovější T2T (Telomere-to-Telomere) obsahuje hg38 na chromozomu 21 specifické homologní sekvence genu U2AF1 (falešné duplikace). Tyto artefakty způsobují chybné mapování sekvenčních dat mimo oblast genu U2AF1. To vede k nízkému pokrytí a důsledkem je znemožnění detekce reálných variant v genu U2AF1. Tento problém je kritický především při využití komerčních softwarů (včetně CE-IVD), které jsou často uzavřené a neumožňují nezbytnou customizaci referenční sekvence.

Jediným efektivním řešením při použití referenční sekvence hg38, je její maskování v problematických homologních oblastech. To umožní správné mapování sekvenčních čtení na oblast genu U2AF1 a identifikaci mutací v tomto genu. Proto jsme vytvořili vlastní vyšetřovací algoritmus, ve kterém využíváme maskovanou referenci hg38 v homologních oblastech U2AF1. Tuto referenci jsme použili ve vlastním bioinformatickém workflow, pomocí kterého jsme retrospektivně analyzovali NGS data z hematologického panelu. Výsledky workflow byly následně úspěšně ověřeny pomocí sangerova sekvenování exonů 2, 6, 8 genu U2AF1.

Analýza variant mtDNA u pacientů se vzácnými neurologickými onemocněními

Vášová J., Šafka Brožková, D., Uhrová Mészárosová A., Musilová A., Sedláčková L., Lašuthová P.

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

Mitochondriální genom obsahuje 37 genů. Patogenní varianty v těchto genech způsobují široké spektrum neurologických onemocnění, která postihují přibližně 1 z 4 300 osob. Klinické projevy mohou zahrnovat psychomotorickou regresi, dystonii, ataxii, periferní neuropatii, epilepsii nebo poruchy sluchu, přičemž závažnost často závisí na míře heteroplazmie v různých tkáních. Analýza mtDNA historicky nebyla součástí standardní NGS analýzy.

V rámci retrospektivní analýzy NGS dat u 1 591 neobjasněných pacientů s neurologickými onemocněními jsme se zaměřili na varianty v mitochondriálních genech. K detekci SNV a krátkých insercí/delecí v mtDNA byl použit GATK4 Best Practices Workflow. Patogenní varianty byly ověřeny Sangerovým sekvenováním u probanda, matek či dalších dostupných příbuzných, včetně kontroly úrovně heteroplazmie. Kde to bylo možné, byly analyzovány vzorky DNA z různých tkání, včetně periferní krve a bukalního stěru.

U 14 nepříbuzných rodin jsme identifikovali 10 unikátních patogenních variant v sedmi různých mitochondriálních genech. Čtyři z těchto variant byly nalezeny v genu MT-ATP6, z nichž tři se objevily u pacientů s axonální neuropatií. Jeden z pacientů s neuropatií nesl variantu v genu MT-RNR1, která však představuje náhodný nále. Varianty v genech MT-CO1, MT-ND4 a MT-TF byly spojeny s projevy epilepsie. Pacienti s hereditární spastickou paraplegií nesli po jedné variantě v genech MT-ATP6 a MT-TV. Většina variant byla homoplazmická; heteroplazmie byla přítomna pouze u čtyř pacientů, kteří vykazovali různé fenotypy.

Zařazení analýzy mitochondriálních genů do rutinní NGS diagnostiky dědičných onemocnění přináší významný přínos, odhadovaný na 0,9 %, a zlepšuje interpretaci klinických fenotypů u pacientů s neurogenetickými poruchami.

Podpořeno granty: MZ ČR NW24-04-00349.

Konfirmace není legrace! (zvláště v genu *OPN1LW*) – kazuistika

Vlášková H.¹, Hnízdová Boučková M.¹, Wiederlechnerová H.¹, Štorkánová G.¹, Pešková K.¹, Nosková L.², Steiner Mrázová L.², Vrbacká A.², Ďudáková L.², Lišková P.²

¹Laboratoř DNA diagnostiky DMP, KPDPM 1. LF UK a VFN v Praze

²Laboratoř pro studium vzácných nemocí, KPDPM 1. LF UK a VFN v Praze

Úvod: Vzácné dědičné onemocnění sítnice zvané monochromacie modrých čípků (Blue Cone Monochromacy, BCM, OMIM # 303700) je X-vázaná porucha zraku, která se projevuje nízkou zrakovou ostrostí, světloplachostí a výrazně narušeným barevným viděním. Příčinou je ztráta funkce čípků citlivých na dlouhé (červené) a střední (zelené) vlnové délky světla.

Onemocnění je způsobeno mutacemi v genovém klastru *OPN1LW / OPN1MW* na chromozomu X (oblast Xq28), který kóduje červený a zelený opsin. Bylo popsáno mnoho strukturálních variant – tedy delecí a komplexních přestaveb DNA. Analýza zlomových míst ukázala, že strukturální varianty vznikají různými

mechanismy, např. nehomologním nebo mikrohomologním spojováním konců, rekombinací mezi repetitivními Alu sekvencemi, replikačními chybami či genovou konverzí.

Kazuistika: 5letý pacient s nystagmem a poruchou barvocitu byl vyšetřen na zahraničním pracovišti metodou WES s nálezem NM_020061.6 (*OPN1LW*): c.607T>C hemizygotně jen ve čtyřech čteních. Tato varianta byla již mnohokrát popsána jako patogenní, spojená s BCM.

Konfirmace nálezu Sangerovým sekvenováním byla požadována u probanda, segregace u jeho matky a o dva roky staršího asymptomatického bratra. Amplifikace specifického PCR produktu pro oblast mutace byla úspěšná pouze u matky a bratra (s negativním výsledkem pro hledanou mutaci). Předpokládali jsme strukturální přestavbu u probanda a tudíž jsme nemohli vyloučit přenašečství u matky.

Rozhodli jsme se pro dlouhé čtení PCR produktů na platformě Minlon. Připravili jsme dlouhý PCR produkt specifický pro gen *OPN1LW* o délce cca 6 kb a také produkt směsný pro *OPN1LW* / *OPN1MW* (tato oblast obsahuje tandemově uspořádané kopie velmi homologních genů, ≈ 98–99 % sekvenční identity). PCR produkt specifický pro gen *OPN1LW* se opět podařilo připravit pouze u matky a bratra nikoli u probanda.

Závěr: V současnosti probíhá analýza metodou čtení dlouhých PCR produktů na Minlon platformě. Předpokládáme, že v době konání konference již budou k dispozici výsledky této analýzy.

Podpořeno projekty MZ ČR - RVO VFN 64165, NU23-07-00281, LM2023067 a NW24-06-00083.

Mutace genu pro progranulin (GRN) s proteinopatií FTLD-TDP projevující se jako frontotemporální demence s parkinsonismem

Vodička R.¹, Kolaříková K.¹, Tučková L.², Menšíková K.³, Hraboš D.², Kaňovský P.³

¹Ústav lékařské genetiky, LF UP v Olomouci a FN Olomouc

²Ústav klinické a molekulární patologie, LF UP v Olomouci a FN Olomouc

³Neurologická klinika, LF UP v Olomouci a FN Olomouc

Mutace v genu pro progranulin (GRN) jsou významnou příčinou frontotemporální lobární degenerace s inkluzemi TDP-43 (FTLD-TDP) a projevují se širokou škálou klinických fenotypů, včetně atypického parkinsonismu. Tato práce prezentuje klinicko-patologickou korelaci u dvou členek rodiny (matky a dcery) s patogenní frameshift variantou NM_002087.4(GRN):c.675_676del (p.Ser226fs).

U matky (Case 1) se onemocnění projevilo v 58 letech poruchou řeči a progresivní poruchou chůze. Později se vyvinul parkinsonismus s hypokinezi, rigiditou a třesem. Postmortální neuropatologické vyšetření prokázalo těžkou difúzní atrofii mozku a přítomnost TDP-43 pozitivních inkluzí, což odpovídá diagnóze FTLD-TDP typu A. U dcery (Case 2) začaly symptomy v 52 letech změnami chování a osobnosti, následovanými rozvojem dysexekutivního syndromu a těžkého parkinsonismu s apraxií chůze.

Genetická analýza pomocí NGS a Sangerova sekvenování potvrdila u obou pacientek identickou mutaci v exonu 7, která vede k předčasnému stop kodonu. Výsledná haploinsuficience progranulinu pravděpodobně spouští kaskádu vedoucí k patologické agregaci proteinu TDP-43. Tato kazuistika zdůrazňuje význam genetického testování u pacientů s časným nástupem demence a parkinsonismu a podtrhuje fenotypovou variabilitu v rámci jedné rodiny.

Studie byla podpořena: IGA_LF_2025_019 a MH CZ – DRO (FNOI, 00098892)

Genetické změny u feochromocytomů a paragangliomů související s 11p15.5

Vosecká T.¹, Jenčová P.², Štolová L.², Rychlá M.², Voříšková D.², Zelinka T.³, Musil Z.⁴, Guha A.⁵, Dušková J.⁶, Brož P.^{2,7}, Vícha A.²

¹Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. LF UK a FN Motol a Homolka, Praha

²Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol a Homolka, Praha

³III. interní klinika – klinika endokrinologie a metabolismu, 1. LF UK a VFN v Praze

⁴Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

⁵Otorinolaryngologická klinika, 3. LF UK a FNKV, Praha

⁶Ústav patologie, 1. LF UK a VFN v Praze

⁷BIOXSYS Praha

Feochromocytomy a paragangliomy (PPGL) jsou neuroendokrinní nádory. Vývoj těchto nádorů je spojen s více než 20 geny, které jsou rozděleny do tří klastrů: pseudohypoxický (1), kinázové signální (2) a Wnt klaster (3).

Pseudohypoxický klaster je jediný, u kterého byla prokázána souvislost se změnami metylace DNA, včetně změn v chromozomové oblasti 11p15.5. Cílem této studie bylo identifikovat změny v oblasti 11p15.5, zjistit jejich prevalenci u PPGL a následně je porovnat s genomovými a somatickými mutacemi, které se u PPGL vyskytují. Analýze bylo podrobeno 150 pacientů, z nichž celkem 90 případů (60 %) nevykazovalo žádné změny v oblasti 11p15.5. Nejčastějšími detekovanými změnami byly ztráta mateřské alely, pozorovaná ve 45 případech (30 %), pUPD (paternální uniparentální disomie) v 5 případech (3,33 %) a získání otcovské alely ve 4 případech (2,67 %).

Naše data dále naznačují zapojení dvou mechanismů do vzniku PPGL, a to sníženou expresi *CDKN1C* (delece mateřské alely) a nadměrnou expresi *IGF2* (pUPD, získání otcovské alely).

Také byl pozorován statisticky významný rozdíl ve frekvenci změn v oblasti 11p15.5 při porovnání klastru 1 a 2 (hodnota $P < 0,0001$). Tato studie je první, která popisuje pUPD a získání otcovské alely jako somatické změny u PPGL. Naše studie navíc naznačuje, že změny v oblasti 11p15.5 se netýkají výhradně klastru 1, a proto je nelze považovat za marker pro tento klaster.

Podpořeno projektem Univerzity Karlovy Cooperatio – Chirurgické disciplíny a metabolická onemocnění (Cooperatio SURG a METD) 207037-1.

Pane, vy jste Turnerka?! Kazuistika

Vrbická D., Štefeková A., Čapková P., Trávníčková Š., Petřková J.

ÚLG Ústav lékařské genetiky, FN Olomouc

Pacient přichází pro kardiopatii v OA a RA. U pacienta bylo zahájeno genetické vyšetření.

Vyšetření microarray odhalilo mozaiku: arr[GRCh37] (1-22)x2(X)x1/(1-22)x2(X,Y)x1 mos.

V karyotypu byla zjištěna zanedbatelná gonozomální mozaika, FISH z periferní krve odhalila 20% gonozomální mozaiku.

Popis variant u tří rodin s genetickou zátěží parkinsonismem s využitím dat WGS

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

¹Ústav lékařské genetiky LF UP a FN Olomouc

²Neurologická klinika, LF UP v Olomouci a FN Olomouc

Úvod a cíl: Parkinsonismus vykazuje významnou genetickou heterogenitu, zejména u familiárních případů. Cílem této studie bylo analyzovat data z celogenomového sekvenování (WGS) u tří rodin postižených parkinsonismem, aby bylo možné identifikovat varianty spojené s onemocněním a posoudit jejich segregaci s fenotypem. Studie si rovněž kladla za cíl odlišit zděděné varianty od potenciálních de novo variant.

Metodika: Bylo analyzováno pět rodinných trií, z nichž každé zahrnovalo dvě osoby postižené parkinsonismem. Genomová DNA byla připravena pomocí soupravy Illumina TruSeq DNA PCR-free kit a sekvenována na platformě NovaSeq 6000. Identifikace variant a klinické anotace byly provedeny pomocí nástroje VarSome Clinical. Varianty byly filtrovány na základě fenotypů souvisejících s parkinsonismem, jejich absence nebo velmi vzácného výskytu v populačních databázích a klinické klasifikace.

Výsledky: Na jeden genom bylo detekováno přibližně sedm milionů variant, z nichž asi 300 000 se nacházelo v exonových a sestrňových oblastech. Po filtrování podle fenotypu zůstalo 102–168 vzácných variant na trojici, z nichž 23–35 bylo klasifikováno jako patogenní nebo pravděpodobně patogenní. Opakující se varianty byly identifikovány v genech, které jsou funkčně spojeny s dopaminergní signalizací, mitochondriální funkcí a intracelulárními signálními drahami. Mezi tyto geny patří LRRK2, SLC18A2 (VMAT2), GIGYF2 a PAK6. Byly také detekovány hluboké intronové a mitochondriální varianty, což zdůrazňuje přidanou hodnotu WGS. Několik variant vykazovalo segregaci s onemocněním v rámci rodin.

Závěr: Analýza trií založená na WGS umožňuje komplexní detekci vzácných kódujících a nekódujících variant, které přispívají k familiárnímu parkinsonismu, a podporuje oligogenní model dědičnosti onemocnění.

Podpora: MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), IGA_LF_2025_019, projekt AZV NW25-04-00194

Genetická analýza vrozených predispozic k hematologickým malignitám

Vrzalová Z.^{1,2,3}, Trizuljak J.^{1,3}, Radová L.^{1,2}, Staňo Kozubík K.^{1,2,3}, Blaháková I.^{1,2}, Held P.^{2,3}, Pospíšilová Š.^{1,2,3}, Doubek M.^{1,2,3}

¹Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno a LF MU, Brno

²Středoevropský technologický institut (CEITEC), Masarykova univerzita, Brno

³Ústav lékařské genetiky a genomiky, FN Brno a LF MU, Brno

Díky rozvoji technologií sekvenování nové generace (NGS) se genetická analýza stala nedílnou součástí standardního hematologického vyšetření u familiárních onemocnění krve. Je známo, že u

těchto pacientů se vrozené predispozice k hematologickým malignitám mohou vyskytovat až v 15 % případů. Například u syndromů selhání kostní dřeně, chromosomální nestability, dědičných cytopenií a hematologických malignit (akutní/chronické myeloidní leukemie - AML/CML, myelodysplastického syndromu - MDS), nejčastěji na základě variant genů CEBPA, DDX41, ETV6, RUNX1, DDX41, ANKRD26 a GATA2.

Genetická analýza vrozených predispozic byla indikována klinickým genetikem na základě aktuálních diagnostických kritérií. Celkem bylo vyšetřeno 134 jedinců (90 symptomatických pacientů a 44 nepostižených příbuzných; medián věku 43 let) ze 69 rodin z důvodu podezření na riziko dědičných hematologických malignit. U všech jedinců bylo provedeno celoxomové sekvenování (WES) s aplikací cíleného virtuálního panelu genů sestaveného dle doporučení European Leukemia Net (2022). K ověření kauzálních variant zjištěných pomocí WES a k testování rodinných příslušníků bylo použito Sangerovo sekvenování. Pro detekci intragenových přestaveb u dědičných forem MDS/AML byla využita metoda MLPA.

Kauzální varianty segregující s fenotypem jsme detekovali u 13 % rodin (9/69). Jednalo se převážně o varianty v genech CEBPA, ETV6, ANKRD26, ETV6, RUNX1 a TUBB1 spojené s autozomálně dominantní dědičností. Výjimku představovala rodina s autozomálně recesivním Shwachman-Bodian-Diamondovým syndromem (SBDS gen) a rodina s X-vázaným Wiskott-Aldrichovým syndromem (WAS gen). Také byl proveden screening defektních variant genů ve zdravé kohortě A-C-G-T T (<https://www.acgt.cz/>; 1257 českých genomů).

Pravděpodobně kauzální genetické varianty byly zjištěny u rodin s opakovaným výskytem hematologických malignit a/nebo u rodin, kde se vyskytuje cytopenie společně s hematologickými malignitami. U variant klasifikovaných jako nejasného významu (VUS) by bylo vhodné ověřit jejich patogenitu pomocí funkčních testů. Aktuálně se věnujeme funkční analýze vybraných VUS variant genů zejména u rodin, kde sledovaná varianta segreguje s přítomností onemocnění.

Projekt byl podpořený grantem DRO (FNBr, 65269705); AZV projektem MZ (NW25-03-00204).

Záchyt vzácné spinocerebelární ataxie typu 27A s časným nástupem symptomů

Zich M., Čejnová V., Pecková A., Laštůvková J.

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

Úvod: Spinocerebelární ataxie je skupina progresivních neurodegenerativní dědičných onemocnění, které postihují hlavně mozeček. Spinocerebelární ataxie typu 27A (SCA27A) vzniká v důsledku heterozygotních mutací genu *FGF14* a je charakterizována pomalu progredující ataxií, tremorem, poruchou chůze, dysartrií a nystagmem. Věk nástupu onemocnění je velmi proměnlivý, zároveň je popisována inter i intrafamiliární variabilita.

Metody: AMC, karyotyp, array CGH, klinické vyšetření

Výsledky: Diagnóza SCA27A byla u našeho probanda stanovena již prenatálně. Matka probanda podstoupila v graviditě pro pozitivitu kombinovaného screeningu I. trimestru s rizikem M.Down 1 z 69 AMC – byl stanoven normální karyotyp plodu 46, XY, vyšetření array CGH však detekovalo 135-346 kb heterozygotní patogenní mikrodeleci genu *FGF14*. Stejná delece byla následně zjištěna i u otce,

paternálního strýce a paternální babičky. Otec probanda ve svých 35 letech příznaky SCA27A nevykazoval, jeho bratr a matka již v minulosti byli vyšetřeni pro esenciální tremor s nystagmem od raného věku, resp. potíže typu spinocerebelární ataxie trvající od dětství, genetické vyšetření v roce 2008 u paternální babičky neprokázalo spinocerebelární ataxie typu 1,2,3,6 a 7. Molekulárně genetické vyšetření aCGH u nich diagnózu stanovilo a upřesnilo na SCA27A. U probanda ve věku 6 měsíců byl zjištěn třes končetin při febrilii. Dle dostupných zdrojů jsou symptomy SCA27A exacerbovány horečnatým infektem či stresem.

Závěr: Tato kazuistika ilustruje záchyt velmi vzácného onemocnění spadajícího do kategorie spinocerebelárních ataxií. Vzhledem k doložené inter a intrafamiliární variabilitě však nelze vyloučit, že je toto onemocnění poddiagnostikováno. Zároveň se u našeho probanda jedná o jeden z nejčasněji popsaných symptomatických případů spinocerebelární ataxie typu 27A. U chlapce je nutná dlouhodobá dispenzarizace z důvodu rizika nástupu dalších potenciálních klinických projevů.

Generální partner konference

3GENES

Hlavní partneři konference

 **DYNEX**

ALLO
GENE

 **BioVendor**
MDx



Partneři konference



