

Slovenská spoločnosť lekárskej genetiky SLS

Slovenská lekárska spoločnosť

Fakultná nemocnica Nitra



Program a abstrakty

XXVIII. Izakovičov memoriál

18. 10. -20. 10. 2017

Nitra

Generálni partneri:



Hlavní partneri:



Príhovor prezidenta SSLG SLS

Vážené kolegyně, vážení kolegovia, milé priateľky, milí priatelia,

stretávame sa už na XXVIII. Izakovičovom memoriáli, vrcholovej vedeckej a odbornej akcii Slovenskej spoločnosti lekárskej genetiky SLS, ktorá sa pravidelne organizuje každoročne od roku 1990 na počesť zakladateľa lekárskej genetiky na Slovensku a nášho veľkého učiteľa prof. Viliama Izakoviča. Osobnosť a dielo prof. Izakoviča sme si na doterajších memoriáloch sprítomnili v memoriálových prednáškach, prednesených poprednými domácimi alebo zahraničnými odborníkmi a od roku 1999 Výbor SSLG udeľuje Pamätnú medailu Viliama Izakoviča osobnosti, ktorá sa významným dielom zaslúžila o rozvoj lekárskej genetiky na Slovensku. Nebude tomu inak ani v tomto roku.

Izakovičov memoriál organizujú už tradične striedavo jednotlivé pracoviská klinickej genetiky na Slovensku, so zámerom, aby sa lekárska genetika propagovala vo všetkých regiónoch našej republiky. Organizátorom aktuálneho ročníka je po prvý raz Laboratórium lekárskej genetiky FN Nitra. Menom Výboru SSLG ako aj svojim menom ďakujem celému organizačnému tímu za ich náročnú prácu pri organizačnom zabezpečení.

Je potešujúce, že popularita Izakovičovho memoriála sa dlhodobo udržiava na vysokej úrovni, ba dokonca rastie. Svedčí o tom vysoký počet prihlásených príspevkov z každej oblasti lekárskej genetiky. Tradične veľký záujem je aj zo strany našich českých kolegov a priateľov, ktorí každý rok vo veľkom počte navštevujú túto našu konferenciu a s hodnotnými prezentáciami prispievajú k jej vysokej vedeckej a odbornej úrovni. Som presvedčený, že aj v tomto roku si budeme môcť vypočúť veľa hodnotných prednášok a pozrieť veľa zaujímavých posterov a získame prehľad o práci jednotlivých pracovísk, aké majú úspechy, skúsenosti, ale aj problémy. Verím, že v širokom spektre prezentácií každý z Vás nájde niečo, čo ho zaujme, získa nové poznatky a skúsenosti, nadviaže nové kontakty a spolupráce, ktoré bude môcť uplatniť vo svojej každodennej práci v prospech pacientov.

Dovoľte mi aby som Vám mene výboru SSLG SLS ako aj miestnych organizátorov srdečne privítal a poprial Vám vedecky aj spoločensky hodnotný XXVIII. Izakovičov memoriál.

prof. RNDr. Ľudevít Kádaši, DrSc.
prezident SSLG SLS

Organizačné informácie

Záštita podujatia

MUDr. Kamil Koleják, PhD., MSc., generálny riaditeľ FN Nitra

Odborný garant podujatia

prof. RNDr. Ľudevít Kádaši, DrSc., prezident SSLG SLS

Organizačné zabezpečenie

Kolektív pracovníkov Laboratória lekárskej genetiky FN Nitra

Programový a organizačný výbor

prof. RNDr. Ľudevít Kádaši, DrSc.	prezident SSLG SLS
RNDr. Michal Konečný, PhD.	viceprezident SSLG SLS
MUDr. Iveta Mlkvá	vedecká sekretárka SSLG SLS
MUDr. Silvia Vogelová	ÚLM-LLG FN Nitra
RNDr. Andrea Kollárová	ÚLM-LLG FN Nitra
RNDr. Alexandra Pôbišová, PhD.	ÚLM-LLG FN Nitra

Kredity

Podujatie je zaradené do kreditného systému ARS CME.

Prednášky

Doba prednášky: 10 min. Diskusia k prednáške: 5 min.
Prednášky zaradené do súťaže o najlepší príspevok mladého autora do 35 rokov sú vyznačené **farebne**.

Postery

Preferovaný rozmer posterov: šírka 60 cm, výška 90 cm. Vyvesenie posterov bude možné vo štvrtok 18.10.2017 od 17.00 hod. v hlavnej prednáškovej sále. Postery bude potrebné zvesiť do ukončenia konferencie v piatok 20.10.2017 do 13.30 hod.

Spoločenský večer

Doprava na spoločenský večer bude zabezpečená formou kyvadlovej dopravy. Vo štvrtok 19.10.2017 bude zabezpečený odchod autobusu o 17.45 hod. z miesta konania konferencie (Hotel Zlatý Klúčik) do DAB. Po ukončení spoločenského večera bude autobus odchádzať o 23.30 hod. do Hotela Zlatý Klúčik.

Odborný program

Streda 18.10.2017

15.00 - 17.00 Zasadnutie Výboru SSLG SLS

17.00 - 18.00 Registrácia účastníkov

Štvrtok 19.10.2017

8.00 - 9.00 Registrácia účastníkov

9.00 - 9.15 Slávnostné otvorenie memoriálu

9.15 - 10.00 **Memoriálová prednáška**
Peter Celec
(Genomická) medicína založená na dôkazoch

10.00 - 10.15 Prestávka

10.15 - 12.30 Blok: **Prenatálna diagnostika**

13.30 - 14.45 Blok: **Klinická genetika I.**

15.00 - 16.30 Blok: **Molekulárna diagnostika**

18.30 Spoločenský večer – Predstavenie „Z rúčky do rúčky“ (DAB, Nitra)

Piatok 20.10.2017

8.30 - 10.30 Blok: **Klinická genetika II.**

10.45 - 13.15 Blok: **Onkogenetika**

13.15 Ukončenie memoriálu

Streda 18.10.2017

- 15.00-17.00 Zasadnutie Výboru SSLG SLS
17.00-18.00 Registrácia účastníkov

Štvrtok 19.10.2017

- 8.00-9.00 Registrácia účastníkov
9.00-9.15 Slávnostné otvorenie memoriálu
9.15-10.00 **Memoriálová prednáška**

Peter Celec • (Genomická) medicína založená na dôkazoch

10.00-10.15 **Prestávka**

10.15-12.30 Blok: Prenatálna diagnostika

Predsedníctvo: Janka Barošová a Juraj Šimko

- 10.15-10.30 Černáková I., Petrovič R., Fischerová M., Grossová M., Tazberiková L., Reismulerová L., Války J.
Genetické vyšetrenia pre páry s opakovanými spontánnymi potratmi
- 10.30-10.45 Minichová L., Hagemann F., Vlčková Z., Fischer M-T., Genčík M.
aCGH v prenatálnej diagnostike
- 10.45-11.00 Balcová M., Horák J., Horňák M., Oráčová E., Veselá K., Trávník P.
Frekvencia a charakteristika chromozómových aberácií vyskytujúcich sa v mozaike u ľudských IVF embryí
- 11.00-11.15 Svobodová E., Grochová I., Hořínová V., Kadlecová J., Matyášová M., Michenková A., Vlašín P., Nikulenkov Grochová D.
Ultrazvukové nálezy u prenatálne diagnostikovaných prípadů syndromu Noonanové
- 11.15-11.30 Repiský G., Konečná B., Shelke G.V., Lässer C., Izrael Vlková B., Minárik G.
Je DNA placentárneho pôvodu v exozómoch izolovaných z maternálnych telových tekutín?

- 11.30-11.45 Sekelská M., Valentínová L., Izsáková A., Venghová M., Kúchová Ž., Lukačková R., Landlová D., Križan P., Hýblová M., Budiš J., Szemes T., Minárik G.
Výsledky prospektívnej štúdie využitia Trisomy testu®
- 11.45-12.00 Minárik, G., Barošová, J., Kršiaková, J., Hýblová, M., Budiš, J., Szemes, T., Gnip, A., Landlová, D., Lukačková, R., Križan, P.
Náhodné a kontroverzné nálezy v NIPT
- 12.00-12.15 Szemes, T., Gazdarica J., Striešková L., Gazdaricová I., Venghová M., Frno R., Ďuriš F., Budiš J.
Potenciál využitia dát NIPT testu pri stanovení populačných frekvencií jednonukleotidových variantov
- 12.15-12.30 Gnip, A., Križan, P.
Výpočet zvyškového rizika iných chromozómových aberácií pri vylúčení trizómii 21,18 a 13 metódou NIPT

12.30-13.30

Obed**13.30-14.45 Blok: Klinická genetika I.**

Predsedníctvo: Nadežda Mišovicová a Ján Chandoga

- 13.30-13.45 Chandoga, J., Hlavatá, A., Knapková, M., Kramarová, V., Repiský, M., Petrovič, R., Lisyová, J., Cisárik, F.
Zriedkavé dedičné metabolické ochorenia v ére „OMICS“ a národná stratégia v systéme zdravotnej starostlivosti SR
- 13.45-14.00 Giertlová, M., Minárik, G., Flimelová, K., Karabinoš, A., Gnip, A., Križan, P.
Využitie genomických analýz v diagnostike zriedkavých dedičných ochorení
- 14.00-14.15 Petrovič, R., Pastoráková, A., Pribilincová, Z., Lysinová, M., Chandog, J., Böhmer, D.
Skúsenosti s molekulárno-genetickou diagnostikou kongenitálnej adrenálnej hyperplázie na Slovensku
- 14.15-14.30 Jungová, P., Petrovič, R., Mattošová, S., Špalek, P., Chandoga, J.
Fenotypová variabilita familiárnej transtyreťinovej amyloidózy
- 14.30-14.45 Uhrová Mészárosová, A., Šafka Brožková, D., Mazanec, R., Vyháněk, M., Laštůvková, J., Bittóová, M., Koudová, M., Seeman, P.
Nová homozygotní varianta v genu FA2H u českého pacienta s autozomálně recesívní hereditární spastickou paraparézou typu SPG35

14.45-15.00

Prestávka**15.00-16.30 Blok: Molekulárna diagnostika**

Predsedníctvo: Michal Konečný a Ján Radvánszky

15.00-15.15 Firemná prednáška generálneho a hlavného partnera

15.15-15.30 Kubiritová, Z., Hýblová, M., Budiš, J., Szemes, T., Kádaši, L., Radvánszky, J.
Náhodné a sekundárne zistenia pri genomických analýzach - čo vlastne pre nás znamenajú?

15.30-15.45 Konečný M., Michalovská R., Hrabíková M., Vlčková Z., Blaškova M., Baldovič M.
Molekulárno genetická interpretácia DNA variantov identifikovaných metódou masívneho paralelného sekvenovania

15.45-16.00 Radvánszky, J., Kubiritová, Z., Hýblová, M., Budiš, J., Szemes, T., Kádaši, L.
Farmakogenomika v praxi, alebo čo vieme vyčítať z genómu jedinca za hranicami asociačných štúdií

16.00-16.15 Židek, R., Šnirc, M., Belej, L.
Využitie Microarray a GWAS pre odhad rizikovej kompozície živín

16.15-16.30 Hančárová, M., Prchalová, D., Havlovicová, M., Vlčková, M., Stráneček, V., Drábová, J., Šterbová, K., Valachová, A., Vyháňková, M., Simandlová, M., Gécz, J., Sedláček, Z.
Objasnenie prípadov mentálnej retardácie a porúch autistického spektra využitím genomických metód

18.30

Spoločenský večer
– Predstavenie „Z rúčky do rúčky“ (DAB, Nitra)

Piatok 20.10.2017**8.30-10.30 Blok: Klinická genetika II.**

Predsedníctvo: Denisa Ilencíková a Alica Valachová

8.30-8.45 Fábryová, V., Kollárová, A., Božek, P.
Starostlivosť o hemoglobinopatie na Slovensku

8.45-9.00 Kovács L., Hrkčková G., Skalická K., Jankó V., Kytnarová J., Čižmárová M., Tesařová M., Košťálová L., Virgová D., Dallos T., Hána V., Lebl J., Zeman J.
Familiárny neurohypofýzový diabetes insipidus v siedmich českých a slovenských rodinách - dve nové mutácie a diagnostický prínos genetického testovania

9.00-9.15 Běhalová L., Minichová L., Michnová A., Císárik F., Kantarská D., Genčík M.
Mutácie v SPRED1 géne u slovenských pacientov – kazuistiky

9.15-9.30 Ilencikova, D., Csillag, B., Webersinke, G., Laccone, F., Meiss, M., Duba, H-Ch.
MIRAGE syndrome - a novel developmental disorder with predisposition to severe myelodysplasia

9.30-9.45 Hrkčková G., Dallos T., Twigg S.R., Kovács L.
(Dočasne) odložený prípad

9.45-10.00 Péčová, T., Péčová, K., Nemilová, Š., Vorčáková, K., Žaliová, M., Burjanivová, T., Malicherová, B., Plank, L., Adamicová, K., Péč, M., Trka, J., Martinásková, K., Péč, J.
Testikulárny nádor u jednovaječných dvojčiat so systémovou mastocytózou

10.00-10.15 Vasovčák, P.
Autozomálne dominantné polycystické ochorenie obličiek - molekulová diagnostika

10.15-10.30 Skalická K., Hrkčková G., Vaská A., Baranyaiová A, Janega P, Žilinská Z., Daniš D., Kovács L.
Primárne ciliom v molekulovej patogenéze autozómovo-dominantnej polycystickej chorobe obličiek

10.30-10.45

Prestávka

10.45-13.00 Blok: OnkogenetikaPredsedníctvo: *Olívia Hamidová a Regina Lohajová Behulová*

10.45-11.15 Čekan, P.

Vývoj kvantitatívnych a multiplexných diagnostických technológií a aplikácií

11.15-11.30 Hamidová O., Slamka T., Vavrová Ľ., Závodná K., Lohajová Behulová, R..

Klinický a molekulárno - genetický manažment pacienta so suspektným onkogenetickým syndrómom

11.30-11.45 Žideková, D., Slamka, T., Hamidová, O., Lohajová Behulová, R.

Kauzálné varianty génu CHEK2 v diagnostike HBOC

11.45-12.00 Vavrová, Ľ., Slamka, T., Dolešová, L., Hamidová, O., Kajo, K., Lohajová Behulová, R.

Diagnostika patologických variantov u pacientok so seróznym karcinómom ovária identifikovaných vo vzorkách izolovaných z PK a FFPE pomocou NGS

12.00-12.15 Farkašová A., Scheerová K., Huťka Z., Plank L.

Nové trendy v analýze ctDNA

12.15-12.30 Tóthová, M., Čermák, M., Svoreň, Z., Džubasová, M., Hikkel, I., Konkoľová, J., Čabráková, Z., Straková. K.

Prestavby MLL u pacientov OLG NOÚ

12.30-12.45 Fiedlerová K., Fröhlichová L.

Špecifická FISH diagnostiky u solídnych tumorov

12.45-13.00 Malicherová B., Burjanivová T., Mináriková E., Bobrovská M., Homola I., Lasabová Z., Plank L.

Malígný melanóm - detekcia nových „driver“ mutácií

13.15

Ukončenie memoriálu

13.30

Obed**Doc. MUDr. Ing. RNDr. Peter Celec, DrSc., MPH****Osobné údaje:**

Dátum narodenia: 21.8.1979; Miesto narodenia: Krupina; Národnosť: slovenská; Jazykové znalosti: Nemčina (C2), Angličtina (C2)

Kontakt:Ústav Molekulárnej Biomedicíny – www.imbm.sk
Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava
Tel: +421 2 593 57 296; Fax: +421 2 593 57 601; E-mail: petercelec@gmail.com**Profesný životopis****Vzdelanie**

- 1997-2003 MUDr., všeobecné lekárstvo, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave (UK)
- 2000-2001 štúdium na Georg-August Universität, Göttingen, Nemecko
- 1998-2004 Ing., národné hospodárstvo, financie, bankovníctvo, investovanie, Národohospodárska fakulta, Ekonomická univerzita, Bratislava
- 2001-2004 Bc., molekulárna biológia, Prírodovedecká fakulta UK
- 2003-2005 PhD, normálna a patologická fyziológia, Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta UK
- 2004-2006 Mgr., molekulárna biológia, Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta UK
- 2005-2008 MPH, riadenie vo verejnom zdravotníctve, Fakulta verejného zdravotníctva, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava
- 2013 Doc., normálna a patologická fyziológia, Lekárska fakulta UK
- 2014 hosťujúci profesor, Interná klinika II, RWTH Aachen, Nemecko
- 2015 DrSc., molekulárna biológia, Slovenská akadémia vied, Bratislava

Zamestnanie

- 2005- odborný asistent a docent, Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta UK
- 2006- vedec, Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta UK
- 2010- prednosta Ústavu molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta UK
- 2013-2015 riaditeľ Molekulárno-medicínskeho centra, Slovenská akadémia vied

Vedecko-výskumná činnosť

Publikácie: počet publikácií podľa WoS: 236, počet SCI citácií: 1580, h-index: 22

Granty: 3x APVV, 1x MZ SR, 3x VEGA

Pedagogika

Lekárska fakulta UK (Patofyziológia, Fyziológia, Úvod do vedy, Bioštatistika), Prírodovedecká fakulta UK (Základy teoretickej a experimentálnej medicíny, Molekulárna endokrinológia, Behaviorálna genetika, Pokroky v molekulárnej biológii, Molekulárna genetika človeka, Vybrané metódy v molekulárnej biológii, Špeciálna genetika I), vyškolených 6 doktorandov, v súčasnosti školiteľ 2 doktorandov

Ocenenia

Zondekova cena na European Students Conference 2001, Akademická pochvala rektora UK 2002, Akademická pochvala dekana Lekárskej fakulty UK 2003, Študentská osobnosť Slovenska 2004, Pamätný list ministra školstva, vedy, výskumu a športu SR udeľovaný mladým pracovníkom výskumu a vývoja do 35 rokov 2013, Osobnosť mesta Krupina 2014, pozvaný prednášať na Fyziologických dňoch 2014, na Harvard University 2014, na Massachusetts Institute of Technology 2015, Guothova cena SLS 2015, Ig Nobelova cena 2015, Vedecko-kvalifikačný stupeň I

Iné aktivity

Spoluzakladateľ občianskeho združenia Klub Detskej Nádeje na pomoc detským onkologickým pacientom www.kdn.sk, člen hodnotiacej komisie pre rámcový program EK, European Union Contest for Young Scientists, české, švajčiarske, španielske a belgické ministerstvo školstva, APVV a veľký počet biomedicínskych časopisov, popularizácia vedy v médiách

(Genomická) medicína založená na dôkazoch

Peter Celec • Ústav Molekulárnej Biomedicíny, Lekárska fakulta UK, Bratislava

Medicína bola celé stáročia založená na skúsenostiach a názore lekárov. Zároveň existujú ale analýzy, ktoré ukázali, že v priemere bolo až do 19. storočia lepšie pri zdravotných problémoch nejsť k lekárovi. Absolútne kľúčovým bolo zistenie, že rozhodovanie v klinickej praxi musí byť založené na kvalitných a informatívnych klinických štúdiách a tak sa koncom 20. storočia presadila medicína založená na dôkazoch – evidence based medicine. Technický vývoj v molekulárnej biológii umožnil zavedenie tisícok genetických testov i celogenómovú analýzu. Validita sekvenovania DNA je dnes pre odborníkov na iné analytické postupy priam neuveriteľná. Postupne, veľmi postupne sa dokonca zlepšuje aj schopnosť interpretovať výsledky a to najmä vďaka veľkým asociačným štúdiám. Lenže tento nesporný pokrok ešte ani zďaleka neznamená, že tzv. personalizovaná medicína založená na genetických a genomických analýzach aj skutočne zlepšuje diagnostiku a prognózu pacientov. Systematické prehľady analýz efektivity takýchto prístupov v klinickej praxi na zlepšenie morbidity a mortality priniesli tristné výsledky. Najmä však poukázali na to, že štúdií zameraných nie na účinnosť genomickej medicíny je málo a majú chabú informatívnu hodnotu. V rámci interdisciplinárnej spolupráce medzi genetikmi, molekulárnymi biológmi a príslušnými klinickými odborníkmi je potrebné zamerať sa už nielen na technickú validitu, ale aj na klinickú efektivitu genetických a genomických analýz. Ináč hrozí, že síce pacientovi prečítame veľmi presne celý genóm, ale pre neho bude v skutočnosti opäť lepšie k nám nejsť.

Abstrakty prednáškových prezentácií

Prenatálna diagnostika

1. Genetické vyšetrenia pre páry s opakovanými spontánnymi potratmi

Černáková I., Petrovič R., Fischerová M., Grosseová M., Tazberíková L., Reismulerovalá L., Války J.
Reprogen, Prokopova 2, Bratislava

2. aCGH v prenatálnej diagnostike

Minichová L.¹, Hagemann F.³, Vlčková Z.², Fischer M-T.², Genčík M.^{1,2,3}
¹ Medgene, Bratislava
² Praxis fuer Humangenetik, Wien
³ Diagenos, Osnabrueck

• V posledných 15 rokoch prišlo k zmenám indikácie, frekvencie a metóde prenatálnej detekcie chromozomálnych aberácií. Na jednej strane sa vďaka pokroku sonografických a NIPT technológií zmenil pomer invazívnych vs. neinvazívnych vyšetrení, na druhej strane vývoj molekulárno-cytogenetických metód viedol k zlepšeniu detekcie submikroskopických genomických imbalancií. V tomto rámci predstavujeme naše viac ako 10-ročné skúsenosti s prenatálnym využitím aCGH, porovnávame výhody a obmedzenia jednotlivých metód, diskutujeme etické aspekty.

3. Frekvencia a charakteristika chromozómových aberácií vyskytujúcich sa v mozaike u ľudských IVF embryí

Balcová M., Horák J., Horňák M., Oráčová E., Veselá K., Trávník P.
Repromeda, Studentská 812/6, Brno

• Vznik a vývoj ľudského embrya, či už v prirodzených podmienkach, alebo *in vitro*, predstavuje zložitý sled bunkových delení a komplexných molekulárne – genetických procesov a počas tohto krátkého obdobia musí dôjsť k presnému rozdeleniu genetickej informácie na chromozómovej úrovni. Až u polovice všetkých embryí však dôjde k vzniku chromozómovej abnormality, ktorá následne vedie k zlyhaniu implantácie, spontánnemu potratu, či narodeniu dieťaťa postihnutého vrodenou chromozómovou aberáciou. Skrining ľudských embryí v rámci preimplantačnej genetickej analýzy umožňuje tieto abnormality včas odhaliť, a tým výrazne zvýšiť šancu na otehotnenie a narodenie zdravého potomka. S použitím modernej metódy sekvenovania novej generácie (NGS) je pri veľkosti zmien nad 10 Mb možné detekovať chromozómový mozaicizmus, pri ktorom sa daná aberácia nachádza len v istej proporcii buniek vyvíjajúceho sa embrya. V rámci cyklov preimplantačného genetickeho skriningu (PGS) na klinike Repromeda bolo od zavedenia metódy NGS VeriSeq testovaných viac než 1300 vzoriek trofektodermy, z ktorých len polovica vykazovala euploidnú zostavu chromozómov. Približne u štvrtiny všetkých embryí bol detekovaný chromozómový mozaicizmus postihujúci viac ako 20 % buniek biopotovaného trofektodermy. Na rozdiel od aneuploidíí, ktorých prevažnou príčinou je meiotická chyba počas vývoja

oocytov u starších žien, mozaicizmus sa na základe dosiahnutých výsledkov ukazuje ako jav nezávislý na veku pacientky. Prednáška bude zameraná na charakteristiku mechanizmu vzniku a výskyt mozaicizmu a tiež možné klinické dopady v porovnaní s embryami euploidnými a aneuploidnými.

4. Ultrazukové nálezy u prenatálne diagnostikovaných prípadů syndromu Noonanové

Svobodová E.⁴, Grochová I.², Hořínová V.³, Kadlecová J.¹, Matyášová M.¹, Michenková A.², Vlašín P.², Nikulenkov Grochová D.¹
¹ Cytogenetická laboratoř Brno, s.r.o., Veveří 39, Brno 602 00
² Centrum prenatální diagnostiky, s.r.o., Veveří 39, Brno 602 00
³ Genetická poradna nemocnice Jihlava, Vrchlického 59, Jihlava 586 01
⁴ Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kotlářská 267/2, Brno 611 37

• RASopatie predstavujú skupinu syndromů, jejichž příčinou jsou zárodečné mutace v genech kódujících komponenty signální dráhy RAS/MAPK. Do této skupiny patří řada onemocnění, např. syndrom Noonanové, kardio-facio-kuťánní syndrom, LEOPARD syndrom, Neurofibromatosis-Noonan syndrom, neurofibromatóza typu 1, neurofibromatóza typu 2 aj. Pro molekulární diagnostiku RASopatií je v naší laboratoři využíváno cílené sekvenování 20 vybraných genů spojených s těmito syndromy. Analýza probíhala za pomoci protokolu HaloPlex HS enrichment system (Agilent) s následným masivně paralelním sekvenováním na přístroji MiSeq. Mezi ultrazukové indikace, podle kterých byla vybrána skupina analyzovaných prenatálních případů, bylo zařazeno zvýšení šíjového projasnění, výskyt lymfatických vaků, srdečních vad, hydro-psu plodu, vad ledvin atd. Celkem bylo vyšetřeno více než 35 prenatálních vzorků, ze kterých byly k prezentaci vybrány kazuistiky s detekovanou potenciálně patogenní/patogenní variantou. Většina těchto případů měla jako ultrazukovou indi-

kaci zvýšené šíjové projasnění v kombinaci s další přidruženou vadou. Touto metodou lze upřesnit diagnózu u některých plodů s variabilními ultrazukovými nálezy, kdy konvenční cytogenetické i molekulárně genetické metody (př. array-CGH) neprokázaly žádnou patologii. To má velký přínos pro genetické poradenství a lékařskou péči v prenatálním i neonatálním období.

5. Je DNA placentárneho pôvodu v exozómoch izolovaných z maternálnych telových tekutín?

Repiská G.¹, Konečná B.², Shelke G.V.³, Lässer C., Izrael Vlková B.², Minárik G.⁴

¹ Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovensko
² Ústav molekulárnej biomedicíny, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovensko
³ Krefting Research Centre, Institutionen för medicin, Sahlgrenska akademien, Göteborgs universitet, Göteborg, Švédsko
⁴ Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovensko

• Exozómy uvoľňované placentárnymi bunkami do maternálnej cirkulácie počas tehotenstva sú detegovateľné v maternálnej krvi a odlišiteľné od exozómov maternálneho pôvodu vďaka prítomnosti placentárne-špecifických proteínov a miRNA. V našej štúdií sme sa zamerali na overenie hypotézy, či voľná cirkulujúca fetálna/placentárna DNA, ktorá cirkuluje v maternálnej krvi a je bežne používaná v oblasti neinvazívnej prenatálnej diagnostiky, je zbalená a chránená v nanovezikulách – exozómoch. Z plazmy a séra tehotných žien boli exozómy izolované pomocou ultracentrifugácie a následne charakterizované prostredníctvom RNA profilovania a detekcie špecifických proteínových markerov. Na detekciu celkovej a placentárne-špecifickej DNA pomocou qPCR boli použité markery pre gény lokalizované na X a Y chromozóme. Naše výsledky naznačujú, že exozómy izolované

z oboch maternálnych telových tekutín obsahujú DNA. V exozómoch izolovaných z plazmy a séra tehotných žien bolo detegované v priemere 77.97 GEq/mL (SD±38.87 GEq/mL) a 667.41 GEq/mL (SD ±207.96 GEq/mL) celkovej DNA. V exozómoch izolovaných z krvi tehotných žien čakajúcich plod mužského pohlavia bola tiež detegovaná DNA placentárneho pôvodu. V exozómoch izolovaných z maternálnej plazmy bolo detegované v priemere 1.70 GEq/mL (SD ±1.31 GEq/mL) a exozómoch izolovaných z maternálneho séra v priemere 0.94 GEq/mL (SD±0.52 GEq/mL) placentárnej DNA. Získané výsledky po prvýkrát ukázali, že exozómy izolované z plazmy a séra tehotných žien obsahujú nielen DNA maternálneho ale aj placentárneho pôvodu a sú východiskom pre ďalší výskum extracelulárnych vezikul v tehotenstve a komplikáciách s nim spojených.

Táto práca vznikla vďaka podpore grantu VEGA 1/0064/17.

6. Výsledky prospektívnej štúdie využitia Trisomy testu®

Sekelská M.^{1,2}, Valentínová L.^{1,2}, Izsáková A.^{1,2}, Venghová M.^{1,3}, Kúchová Ž.¹, Lukačková R.¹, Landlová D.¹, Križan P.^{1,4}, Hýblová M.³, Budiš J.³, Szemes T.³, Minárik G.^{1,2}

¹ Medirex a.s., Galvaniho 17/C, 821 04 Bratislava

² Trisomy test, s.r.o., Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava

³ Geneton s.r.o., Galvaniho 7, 821 04 Bratislava

⁴ Nemocničná a.s., Duklianskych hrádinov 34, 90122 Malacky

- Neinvazívne prenatálne testovanie (NIPT), založené na analýze cirkulujúcej DNA u tehotných žien, sa stáva významnou súčasťou prenatálnej genetiky. V posledných rokoch mnoho laboratórií po celom svete zaradilo tento test do rutínnej laboratórnej praxe. Cieľom našej štúdie bola prospektívna validácia Trisomy testu®. Ide o test z kategórie NIPT, ktorý je založený na metóde celogenómového sekvenovania s nízkym pokrytím využívajúci vlastnú bioinformatickú metódu pre identifikáciu

trizomických plodov. V období od septembra 2015 do decembra 2016 sme analyzovali celkovo 2981 vzoriek tehotných žien, z čoho 2805 vzoriek bolo vyhodnotených ako euploidné, 58 ako trizomické a 117 vzoriek nebolo možné vyhodnotiť. Zo všetkých trizomických vzoriek sme identifikovali trizómiu chromozómu 21 (T21) v 40-tich prípadoch, trizómiu chromozómu 18 (T18) v 10-tich a trizómiu chromozómu 13 (T13) v 6-tich prípadoch. Zaznamenali sme celkovo dve falošne negatívne vzorky (T21 a T18), teda celková senzitivita použitej metódy je 96,97%. Taktiež sme zaznamenali dve falošne pozitívne vzorky (T21 a T13), teda celková špecifická metódy 99,93%. Výsledok sme nemohli vyhodnotiť po prvom odbere u 3,92% vzoriek, takmer 3/4 vzoriek sa podarilo vyhodnotiť po opakovanom odbere s dvojtýždňovým prípadne štvortýždňovým odstupom od prvého odberu. Výsledný podiel nevyhodnotiteľných vzoriek z celého súboru bol 0,63%. Najčastejší dôvod neinformativnosti výsledku bola nízka fetálna frakcia, ktorá bola v konkrétnych vzorkách asociovaná s užívaním nízkomolekulového heparínu (N=4) alebo s vysokou váhou tehotnej (N=20). Ďalším dôvodom neinformativnosti výsledku bol nejednoznačný (šedožný) výsledok detekcie testovaných trizómií (N=15).

7. Náhodné a kontroverzné nálezy v NIPT

Minárik, G.^{1,2}, Barošová, J.³, Kršiaková, J.⁴, Hýblová, M.⁵, Budiš, J.⁵, Szemes, T.⁵, Gnip, A.¹, Landlová, D.¹, Lukačková, R.¹, Križan, P.¹

¹ Medirex a.s., Galvaniho 17/C, 821 04 Bratislava

² Trisomy test, s.r.o., Ilkovičova 8, 841 04 Bratislava

³ GENET, s.r.o., Rázusova 16, 949 01 Nitra

⁴ M - GENETIK, s. r. o., P. Mudroňa 504/7, 036 01 Martin

⁵ Geneton s.r.o., Galvaniho 7, 821 04 Bratislava

- Neinvazívny prenatálny DNA skrining (NIPT) sa v súčasnosti stáva nedielnou súčasťou prenatálnej starostlivosti o tehotné ženy. Okrem vysokej špecifity a senzitivity metód analyzujúcich voľnú fetálnu DNA sa ohľadom na detekciu možných časťoch trizómií plodu so sebou tieto časť metód vyu-

žívajúcich celogenómový sken nesie riziko identifikácie nežiadanych náhodných či kontroverzných nálezov. Tieto si následne vyžadujú správny výber a zvládnutie pokročilých laboratórnych a klinických testov či komplikovanú interpretáciu získaných výsledkov. Okrem zvládnutia náročnosti kombinovania výsledkov z rôznych použiteľných laboratórnych testov do tohto procesu vstupuje vopred neidentifikovateľná biologická variabilita. Práve jej konkrétne príklady získané ako súčasť rutinného používania Trisomy testu alebo s jeho pomocou budú prezentované v komplexnom pohľade s porovnaním výsledkov ďalších komplementárnych či nadväzujúcich laboratórnych metód. Pri kritickom hodnotení týchto výsledkov je dôležité mať na zreteli nielen technickú a klinickú rovinu problému ale je potrebné zohľadniť aj s tým asociované etické aspekty takéhoto genetického testovania.

8. Potenciál využitia dát NIPT testu pri stanovení populačných frekvencií jednonukleotidových variantov

Szemes, T.^{1,2,3}, Gazdarica J.^{1,2}, Striešková L.^{1,2}, Gazdaricová I.², Venghová M.^{1,2}, Frno R.^{1,2}, Ďuriš F.¹, Budiš J.¹

¹ Geneton s.r.o., Bratislava

² Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Bratislava

³ Univerzitný vedecký park, Univerzita Komenského, Bratislava

- Neinvazívne prenatálne testovanie na časté chromozómové aberácie sa stáva čoraz bežnejšou súčasťou prenatálnej starostlivosti, v niektorých krajinách dokonca ako výkon hrađený poisťovňami. Existuje viacero alternatívnych testov, využívajúcich pokročilé molekulárno-genetické metódy s istými principiálnymi odlišnosťami. Svetovo najviac testov je však na báze celogenómového sekvenovania. Celogenómové sekvenovanie prvorotne slúži na stanovenie DNA variantov až na úroveň jedného nukleotidu. V takomto prípade typicky sekvenujeme každú bázu 30x. Pri neinv-

zívnom prenatálnom teste však používame veľmi nízke pokrytie, v priemere okolo 0,1x. Nie je teda možné hodnotiť všetky varianty jedinca. V tomto príspevku však chceme poukázať na to, že skupinu dát je možné vhodným spôsobom analýzy využiť na stanovenie populačných frekvencií pre jednonukleotidové varianty. Ich špecifické poznanie pre jednotlivé populácie, prípadne subpopulácie je veľmi dôležité práve pri zodpovednej implementácii personalizovanej genomickej medicíny. Dedikované štúdie na stanovenie populačných frekvencií sú však zdĺhavé a veľmi nákladné. Zúročenie dát z NIPT testov na báze celogenómového sekvenovania by mohla byť vhodnou alternatívou. Vlastným algoritmom sme agregovali dáta 1548 osôb a identifikovali sme SNV varianty. Analyzovali sme tie, pre ktoré boli definované frekvencie v databáze dbSNP a ExAC a zároveň sme pre dané pozície mali aspoň 100 pozorovaní alely. Na stanovenie hodnovernosti metódy sme naše pozorované frekvencie porovnali s definovanými frekvenciami podľa ExAC pre známe populácie pomocou PCA metódy. Vybrané varianty sme verifikovali aj pomocou Sangerovho sekvenovania.

9. Výpočet zvyškového rizika iných chromozómových aberácií pri vylúčení trizómií 21, 18 a 13 metódou NIPT

Andrej Gnip, Peter Križan
Medirex, a. s., Galvaniho 17C, Bratislava

- Biochemický a ultrazvukový skrining počas tehotenstva je štandardnou metódou pre vyhodnotenie rizika trizómií 21, 18 a 13 u plodu. Na základe jeho výsledku je možné tehotnej odporučiť jeden z troch postupov: v prípade nízkeho rizika nepokračovať v ďalšom vyšetrovaní, v prípade vysokého rizika odporučiť vyšetrenie z plodovej vody, alebo v prípade stredne veľkého rizika odporučiť neinvazívne vyšetrenie z krvi tehotnej, tzv. NIPT. Metóda NIPT môže byť pre svoju neinvazivitu pre pacientku menej nepríjemná, avšak nedosahuje

takú senzitivitu ako vyšetrenie z plodovej vody. Pri rozhodovaní sa medzi vyšetrením z krvi a vyšetrením z plodovej vody je preto vhodné vedieť, aké je zvyškové riziko chromozómových aberácií po vylúčení trizómii 21, 18 a 13 metódou NIPT. U skupiny tehotných, ktorá bola na základe biochemického a ultrazvukového skríningu vyhodnotená ako vysokoriziková, sú známe pomery medzi jednotlivými typmi chromozómových aberácií vzhľadom na vek tehotnej v čase odberu plodovej vody, okolo 17. týždňa gravidity. Podiel trizómii 21, 18 a 13

medzi všetkými chromozómovými aberáciami narastá s vekom. Vo všeobecnosti teda platí, že čím je vyššie skriningové riziko trizómii 21, 18 a 13, a čím je nižší vek tehotnej, tým je vyššie zvyškové riziko ostatných chromozómových aberácií. Na základe pomerov medzi jednotlivými typmi aberácií sme vytvorili algoritmus na výpočet zvyškového rizika a taktiež počítačovú aplikáciu, ktorá podľa tohto algoritmu zvyškové riziko počíta.

nových patológií. Genomika a projekt humánneho genómu výrazne dynamizoval problematiku DMP a dnes diagnóza metabolickej poruchy je spravidla potvrdená DNA analýzou. Premena genotypu na fenotyp – realizácia genetickej informácie v trojdimenzionálnom priestore a čase má svoju postupnosť a sieť interakcií podmienených génmi, transkriptami, proteínmi a rezultujúcimi metabolitami, k čomu pribúdajú interakcie s faktormi vonkajšieho prostredia. OMICS vedy sú pokusom a predpokladom pre holistický prístup k štúdiu molekulových základov života – **SYSTÉMOVÁ BIOLÓGIA (HIGH DIMENSIONAL BIOLOGY)**. OMICS technológie sú určené na detekciu a charakterizáciu stavu mnohotvárneho genómu, epigenómu, transkriptómu, proteómu a metabolómu. V oblasti molekulových patológií, vrátane DMP by mali OMICS technológie umožniť spoľahlivú diagnostiku, objasnenie zmien vo fenotypových prejavoch, klinickej manifestácii, napomôcť určeniu prognózy ochorenia a umožniť monitorovanie účinnosti terapie. Pre plnenie týchto cieľov stále dominujú metabolické a genomické technológie. Zriedkavé choroby (ZCH) sa v populácii vyskytujú s frekvenciou nižšou ako 1:2000, avšak vzhľadom na ich veľký počet (6000 až 8000) pravdepodobne postihujú až 300 000 obyvateľov SR. Predpokladá sa, že geneticky podmienené ZCH majú v populácii prevalenciu 4% až 6%, teda by mohli postihnúť minimálne 200 000 obyvateľov. Odhad počtu pacientov s DMP by mohol vychádzať aj z údajov počtu všetkých známych genetických ochorení (približne 7000) a z počtu známych DMP ochorení (približne 600), čo by predstavovalo minimálne 20 000 pacientov v SR. Incidencia DMP sa odhaduje na 0,2% a pri plnom záchytech by malo byť novo diagnostikovaných v SR približne 100 pacientov ročne. V novorodeneckom skríningu sa zachytí ročne približne 50 pacientov s DMP. Rozvoj medicínskej oblasti DMP v SR má spoločné začiatky a históriu s ČR a bezo sporu túto etapu možno považovať ako veľmi úspešnú a prospešnú pre obe krajiny. Krátky samostatný rozvoj odboru v SR bol viac založený na iniciatíve zdola ako na vypracovanej koncepcii a stratégii zhora. V posledných rokoch však problematika ZCH

a zdravotnej starostlivosti o pacientov je zakomponovaná do legislatívy a aktivít štátnych orgánov a zdravotníckych zariadení a je podporovaná EÚ. Napriek problémom s finančnými zdrojmi vývoj v oblasti diagnostiky, terapie a komplexnej zdravotnej starostlivosti o pacientov s DMP kopíroval všetky podstatné trendy vyspelých európskych krajín a SR je v tejto oblasti štandardnou krajinou. NS umožňuje zachytiť 9 DMP a ďalšie ochorenia, u ktorých dochádza k zmene parametrov v AMK a acylkarnitínoch. Škála špecifických biochemicko-genetických metód poskytovaných pracoviskami špecializovanými na diagnostiku DMP zaručuje vysoký záchyt týchto ochorení. Je zabezpečená confirmácia porúch pomocou molekulárno-genetických vyšetrení a personalizovaný prístup s možnosťou diagnostiky aj extrémne zriedkavých DMP. V prednáške sa zaoberáme jednotlivými stránkami tohto procesu s konštatovaním, že progresívny vývoj v SR možno akcelerovať dlhodobými, usmernenými aktivitami štátnych orgánov a poskytovateľov špecializovanej zdravotnej starostlivosti. Vlastná stratégia zdravotnej starostlivosti zameranej na pacientov so zriedkavým DMP by mala:

- vychádzať z poznania genetických determinánt obyvateľstva SR a rozdielov podmienených etnicitou,
- vychádzať z programu efektívneho a včasného záchytu DMP resp. genetického rizika,
- zahrňovať tehotenský biochemický skríning a rozšíriť aplikáciu nových markerov (metabolických, proteomických) pre DMP,
- rozšíriť a zdokonaľiť metódy prenatálnej diagnostiky DMP,
- zabezpečiť rozvoj a aktuálnu modifikáciu schém celopopulačného NS,
- navrhnúť aplikáciu algoritmov a logistických krokov pre vytypovanie potenciálnych pacientov s frekventovanejšími DMP,
- zabezpečiť spoľahlivú confirmáciu DMP s využitím dostupných OMICS technológií,
- vypracovať a realizovať systém registrácie genetických a klinických údajov o pacientoch so zriedkavými DMP a ich dostupnosť pre účely osvetly a edukácie implementovať terapeutické

Klinická genetika

10. Zriedkavé dedičné metabolické ochorenia v ére „OMICS“ a národná stratégia systému zdravotnej starostlivosti SR

Ján Chandoga¹, Anna Hlavatá²,
Mária Knapková³, Veronika Kramarová¹,
Marcel Repiský¹, Robert Petrovič¹, Jana Lisyová¹,
František Cisárik⁴

¹ Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky, Nemocnica Staré Mesto, Bratislava

² Detská klinika LF UK a DFNSP, Bratislava

³ Skriningové centrum novorodencov SR, DFNSP, Banská Bystrica

⁴ Oddelenie lekárskej genetiky FNŠP, Žilina

Rozvoj chémie začiatkom 20. storočia a neskôr biochémie a genetiky podmienil vznik konceptu vrodenných metabolických porúch ako dôsledku narušenia fyziológie chemických procesov. U pôvodne štyroch porúch (alkaptonúria, pentozúria, cystinúria, albinizmus), ktoré A. G. Garrod popisuje v r.1908 vo svojej práci **Inborn errors of metabolism**, predpokladá existenciu blokov v metabolizme, ktoré sú podmienené vrodenuou deficienciou. Ďalšie desaťročia boli potrebné na to, aby sa objasnili metabolické cesty a deficity enzýmov, ktoré

vyvolávajú uvedené poruchy metabolizmu. Trvalo pol storočia, aby sa vďaka detailnému poznaniu metabolických dráh a participujúcich konštituentov (enzýmy, transportné bielkoviny, receptory) a subcelulárnych komponentov (jadrá, mitochondrie, lyzozómy, peroxizómy, mikrozómy) tento koncept molekulárnych patológií stal vitálnym a kreoval odbor **dedičných metabolických porúch (DMP; inborn errors of metabolism – IEM)**. Z vyššie uvedeného vyplýva aj tradičné delenie DMP na poruchy metabolizmu a) aminokyselín, sacharidov, organických kyselín, purínov a pyrimidínov, lipoproteínov atď. b) mitochondrií, lyzozómov, peroxizómov atď. Rozvoj biochemických metód (separácie a detekcie molekúl) umožnil odhaliť špecifické biomarkery DMP v biologických vzorkách v koncentračnej škále mol/l až 10⁻⁹ mol/l. Rozvoj odboru výrazne revolucionizovala aplikácia metód ako sú plynová chromatografia spriahnutá s hmotovou spektrometriou (GC/MS) a tandemová hmotová spektrometria (MS/MS). Z hľadiska možnosti skrínovania DMP v novorodeneckom skríningu (NS) používajú sa termíny pretandemový a posttandemový skríning. Koncept DMP získava ďalší podstatný pilier v molekulárnej genetike a v rozvoji diagnostických metód identifikácie gé-

postupy krajín EU a zdokonalit' systém dispenzárnej starostlivosti o pacientoch s DMP.

11. Využitie genomických analýz v diagnostike zriedkavých dedičných ochorení

Mária Giertlová, Gabriel Minárik, Klaudia Flimelová, Anton Karabinoš, Andrej Gnip, Peter Križan
Oddelenie klinickej genetiky Medirex a.s.,
Magnezitárska 2/C 04013 Košice

- Zavedenie sekvenovania novej generácie (NGS) do bežnej laboratórnej praxe prinieslo možnosť finančne a časovo efektívnej celoxomovej ako aj celogenómovej analýzy. Tým sa mení aj stratégia laboratórnej genetickej diagnostiky zriedkavých ochorení a NGS v indikovaných prípadoch nahrádza testovanie jednotlivých kandidátnych génov. NGS umožňuje nielen detekciu genetických zmien na úrovni mutácií ale aj aneuploidii, čím sa stáva pomerne univerzálnym nástrojom najmä pri genetickej diagnostike ochorení, u ktorých neviem supponovať konkrétne genetické zmeny na základe ich klinického obrazu. Tento prístup elegantne dopĺňa existujúce genetické inštrumentárium vrátane techniky array komparatívnej génomovej hybridizácie a významne tak zefektívňuje identifikáciu nových genetických ochorení. Prezentujeme pilotné výsledky analýz s použitím komerčného robustného exómového panelu v prenatalnej aj postnatalnej genetickej diagnostike a skúsenosti s implementáciou NGS v laboratóriu klinickej genetiky.

12. Skúsenosti s molekulárno-genetickou diagnostikou kongenitálnej adrenálnej hyperplázie na Slovensku

Robert Petrovič¹, Andrea Pastoráková¹,
Zuzana Pribilincová², Miroslava Lysinová³,
Ján Chandoga¹, Daniel Böhmer¹

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

² Detská klinika LF UK a DFNsP, Bratislava

³ II. detská klinika SZU, Banská Bystrica

- Kongenitálna adrenálna hyperplázia (CAH, OMIM 201910) patrí medzi vrodené poruchy metabolizmu a zahŕňa súbor autozómovo recesívnych ochorení, ktorých spoločným znakom je enzýmový defekt syntézy steroidných hormónov zabezpečujúcich tvorbu kortizolu, aldosterónu a pohlavných hormónov. Zníženie produkcie kortizolu spôsobí nárast sekrécie adrenokortikotropného hormónu (ACTH), čo má za následok hyperpláziu kôry nadobličiek. Variabilita klinických fenotypov je determinovaná rôznym stupňom insuficiencie kôry nadobličiek v syntéze steroidných hormónov a nadprodukcii androgénov. Deficiencia 21-hydroxylázy je najfrekvencovanejšou poruchou spôsobujúcou CAH (90% všetkých prípadov) s incidenciou 1:5.000 až 18.000. Pomerne rozsiahle mutačné spektrum CYP21A2 koreluje aj s rôznym stupňom závažnosti klinickej manifestácie. Klasická CAH so solňou poruchou je najťažšia forma, charakterizovaná chýbaním mineralokortikoidov aj glukokortikoidov. V dôsledku zvýšenej stimulácie prostredníctvom ACTH sa pri CAH so solňou poruchou hromadia pred enzymatickým blokom steroidné prekursorzy progesterón a 17-hydroxyprogesterón, ktoré sú využívané v biosyntéze androgénov. Zvýšená hladina androgénov vedie k prenatalnej maskulinizácii žien (obojaký vonkajší genitál) a postnatalnej virilizácii oboch pohlaví. Klasická jednoduchá virilizujúca forma má miernejší klinický obraz – prenatalnú maskulinizáciu u žien a postnatalnú virilizáciu oboch pohlaví, ale absenciu solnej poruchy. Neklasická neskorá manifestujúca sa forma, sa môže klinicky prejaví iba počas puberty alebo u dospelých žien

miernou enzýmovú deficienciu spôsobujúcu nadbytok androgénov. Druhou najčastejšou príčinou, predstavujúcou približne 5% CAH, je deficiencia 11-βhydroxylázy (CYP11B1). Prejavom CYP11B1 deficiencie je akumulácia mineralokortikoidu 11-deoxykortikosterónu, čo v konečnom dôsledku zapríčiňuje hypertenziu. V tomto prípade tiež dochádza k hypersekrécii ACTH, nadprodukcii androgénov, maskulinizácii ženských plodov a skorej popôrodnej virilizácii. CAH môže súvisieť aj s menej častými deficienciami ako sú: defekt 17-αhydroxylázy (CYP17A1), 3-βhydroxysteroiddehydrogenázy (HSD3B2), akútneho steroidogénneho regulačného proteínu (STAR). Novorodenecký skrining (na Slovensku ho vykonáva od r.2003 Skriningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Banská Bystrica) má cieľ identifikovať jedincov s klasickou formou CAH, ktorí sú ohrození solňou krízou. Takýto skrining môže odhaliť aj jedincov s neklasickou formou 21-OHD CAH. Vykonáva sa meraním koncentrácie 17-OHP z krvnej kvapky odobratej z päty novorodenca. Terapie pri všetkých formách CAH je založená na substitučnej terapii kortikoidmi, ktorá upraví kortizolovú deficienciu a abnormálny hormonálny profil spôsobený nadprodukciiu ACTH. Pacientom s deficienciou mineralokortikoidov a pohlavných hormónov sú tiež podávané potrebné hormóny. Možná je aj prenatálna terapia, ktorá benefítne pôsobí u postihnutých plodov ženského pohlavia. Väčšina dievčat/žien s prenatalnou maskulinizáciou podstupuje chirurgickú korekciu. V prednáške bude sumarizovaný záchyt pacientov molekulárne diagnostikovaných na našom pracovisku, korelácia zistených mutácií s fenotypom, s novorodeneckým skriningom a skúsenosti s prenatalnou diagnostikou.

13. Fenotypová variabilita familiárnej transtyretínovej amyloidózy

Petra Jungová^{1,2}, Robert Petrovič², Slavomíra Mattošová², Peter Špalek³, Ján Chandoga²

¹ Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky UNB a LFUK Bratislava, Ambulancia lekárskej genetiky 2 Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky 3 Centrum pre neuromuskulárne ochorenia, Neurologická klinika SZU a UNB, Univerzitná nemocnica Bratislava - Ružinov

- Transtyretínová amyloidová polyneuropatia je najčastejším typom familiárnej systémovej amyloidózy. Toto autozómovo dominantné ochorenie s vysokou penetranciou a nástupom príznakov v dospelosti je spôsobené mutáciami v géne TTR, ktorý kóduje plazmatický transportný proteín transtyretín. Transtyretín je tetramerický proteín, ktorý je syntetizovaný najmä v pečeni. Mutácie v géne vedú k ukladaniu (extracelulárnym depozitom) nerozpustných amyloidových agregátov mutovaného transtyretínu v rôznych tkanivách a orgánoch, ako sú periférne a autonómne nervy, srdce, pigmentový epitel sietnice či CNS. Na ochorenie je potrebné myslieť pri akejkol'vek idiopatickej progresívnej axonálnej senzo-motorickej polyneuropatii najmä v prítomnosti príznakov autonómnej dysfunkcie (transtyretínová polyneuropatia). Ďalšie fenotypy predstavujú transtyretínová kardiomyopatia a veľmi zriedkavá okulo-leptomeningeálna forma s primárnym postihnutím centrálnej nervovej sústavy. Všetky formy ochorenia sú pravdepodobne celosvetovo poddiagnostikované. Prezentujeme charakteristiky týchto fenotypov s príkladmi pacientov a ich rodín, poukazujeme na dôležitosť spolupráce medzi genetikom, neurológom a kardiológom pre spoľahlivú a rýchlu diagnostiku ochorenia. V prednáške sa zaoberáme aj terapeutickými možnosťami ovplyvnenia priebehu ochorenia a následným dopadom na genetickú konzultáciu.

14. Nová homozygotní varianta v genu FA2H u českého pacienta s autozomálně recesivní hereditární spastickou paraparézou typu SPG35

Anna Uhrová Mészárosová¹,
Dana Šafka Brožková¹, Radim Mazanec²,
Martin Vyhnaněk², Jana Laštůvková³,
Martina Bittóová⁴, Monika Koudová⁴, Pavel Seeman^{1,4}

¹ DNA laboratoř, Klinika dětské neurologie, FN Motol a 2.LF Univerzity Karlovy, Praha

² Neurologická klinika, FN Motol a 2.LF Univerzity Karlovy, Praha

³ Oddělení lékařské genetiky, Masarykova Nemocnice, Ústí nad Labem

⁴ Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny GENNET, s.r.o., Praha

• Hereditární spastická paraparéza (HSP nebo SPG) je vzácné dědičné onemocnění centrálního motoneuronu charakterizované progresivní spasticitou a slabostí dolních končetin. Do dnešní doby bylo jako příčina onemocnění popsáno mnoho variant ve více než 50 genech. Jedním z nich je gen *FA2H*, kódující hydroxylázu zapojenou v metabolismu sfingolipidů a mastných kyselin nezbytných pro tvorbu myelinových obalů. Patogenní varianty v genu *FA2H* jsou příčinou autozomálně recesivně dědičné tzv. fatty acid hydroxylase associated neurodegeneration (FAHN), jejímiž formami jsou spastická paraparéza typu SPG35 a vzácné též *FA2H*-related leukodystrofie nebo neurodegenerace spojená s kumulací železa v mozku. Do dnešní doby bylo v genu popsáno 29 variant spojovaných s fenotypem SPG. U jakého procenta pacientů s touto diagnózou jsou příčinou varianty v genu *FA2H* není přesně známo, pravděpodobně se jed-

ná o vzácnou příčinu SPG a v české populaci zatím nebyl takový případ popsán. Pomocí NGS sekvenování panelu 38 genů spojovaných s hereditární spastickou paraparézou s vlastním designem prob (kit SureSelect, Agilent Technologies) byla u 30-letého pacienta s progresivní spastickou paraparézou nalezena dosud nepopsaná missense varianta c.130C>T (p.Pro44Ser) v exonu 1 genu *FA2H* (NM_024306.4) v homozygotním stavu. Nalezená varianta není uvedena v populačních databázích (ExAC, 1000Genomes, gnomAD a další), predikuje záměnu vysoce konzervované aminokyseliny na středně odlišnou a in silico predikčními algoritmy je hodnocena jako závažná/patogenní. DNA zdravých rodičů probanda nemáme zatím k dispozici, ale byla vyšetřena zdravá sestra probanda, která je heterozygotem pro tuto variantu. Rodiče pacienta nejsou sice pokrevní příbuzní, ale pacient pochází z české menšiny- izolátu v Banátu v Rumunsku, což by vysvětlovalo i homozygotitu varianty u pacienta- nalezená nová varianta v homozygotním stavu nejspíše pochází od jednoho předka probanda a jde o tzv. founder efekt a tato varianta může tedy mít vyšší frekvenci v tomto izolátu. Také fenotypové projevy u pacienta včetně neurologických nálezů a MRI mozku jsou ve shodě s popisovanými projevy SPG typu 35 (časný nástup, poměrně rychlá progresie potíží, zhoršení kognitivních funkcí, na MRI mozku hyperintenzní změny v bílé hmotě, tenké corpus callosum, atrofie cerebella). Z výše uvedených důvodů předpokládáme, že se jedná o kauzální mutaci u pacienta, která je příčinou pacientových obtíží a potvrzuje jeho diagnózu SPG typu 35.

Projekt byl podpořen granty: 2.LF UK IPE 699 011 a AZV 15-33041A

Molekulárna diagnostika

15. Náhodné a sekundárne zistenia pri genomických analýzach - čo vlastne pre nás znamenajú?

Zuzana Kubiritová^{1,2}, Michaela Hýbllová^{2,3},
Jaroslav Budiš³, Tomáš Szemes^{2,3},
Lúdevít Kádaši^{1,2} a Ján Radvánszky^{1,3}

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

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

³ Geneton s.r.o., Bratislava

• Postupné zavedenie masívne paralelného sekvenovania do klinickej praxe v poslednom desaťročí prinieslo v oblasti diferenciálnej diagnostiky dedičných, ale aj mnohých nededičných ochorení, obrovské možnosti. Tieto sa pritom netýkajú už len diagnostiky suspektnej klinickej entity ale aj mnohých iných fenotypových prejavov organizmu. Rozdelil sa pritom pojem aj náhodných zistení pri genetickej analýze. Za náhodné zistenia sa považujú nálezy, ktoré sa identifikujú v génoch primárneho cieľa analýzy, čiže v génoch, ktoré sú priamo kauzálne spojené so suspektou diagnózou. Masívne paralelné sekvenovanie však umožňuje generovanie dát s ďaleka väčšieho počtu génov než sú tie majúce priamu súvislosť so suspektou diagnózou. Klinicky relevantné nálezy v génoch iných, než sú tie primárne asociované s klinickým podozrením, sa označujú za sekundárne zistenia. Špecifické podmienky ich reportovania sú pritom stále otázkou rozsiahlych odborných diskusií. Náš príspevok bude zameraný na náhodné a sekundárne zistenia u vybraného súboru pacientov doteraz analyzovaných na našich pracoviskách za diferenciálno-diagnostickým a/alebo výskumným účelom.

16. Molekulárno genetická interpretácia DNA variantov identifikovaných metódou masívneho paralelného sekvenovania

Konečný M., Michalovská R., Hrabíková M.,
Vlčková Z., Blaškova M., Baldovič M.

GHC Genetics, Vedecký park UK, Ilkovičova 8, Bratislava

• Využitie masívneho paralelného sekvenovania v klinickej diagnostike prináša v aktuálnej dobe komplikovanú analýzu obrovského objemu bioinformatických dát. V genetickom testovaní komplexných hereditárnych onkologických syndrémov sa stáva táto technológia súčasťou rutínnej diagnostiky. Hlavným zameraním je masívne paralelné sekvenovanie panelov génov asociovaných s rozličnými syndrómami, pričom v rámci jednej analýzy je možné testovať niekoľko desiatok génov a diferencovať tak medzi rôznymi dedičnými ochoreniami, ktoré majú často spoločné črty. Medzi charakteristické znaky patria najmä zvýšený výskyt nádorov v rodinnej anamnéze, výskyt bilaterálnych foriem nádorov, diagnostika ochorení v mladom veku, ako aj špecifická histológia dedičných nádorov. Identifikácia viacerých patologických alebo potenciálne patologických DNA variantov u jedného pacienta predstavuje často interpretačný problém. Okrem týchto výsledkov však diagnostiku komplikuje aj zapojenie sa multidisciplinárnych tímov bioinformatikov, molekulárnych genetikov a klinických genetikov do procesu. Každá z týchto odborností rieši v rámci metodických procesov špecifické problémy. Bioinformatik sa potýka najmä s problémami správneho spracovania surových sekvenáčnych dát a ich správneho zarovnania voči referenčnému genómu, posúdenia pokrytia jednotlivých amplikónov panelov génov a správnu anotáciu variantov. Molekulárny genetik rieši najmä správnu biologickú interpretáciu rôznych druhov variantov a komplexný pohľad na

identifikovaný genotyp jednotlivca. Klinický genetik zasa interpretuje informácie v spracovanej podobe pacientovi a ich využíva ich v klinickom preventívnom manažmente rizikových jednotlivcov. V uvedenej prezentácii sa zameriame na popis postupnosti analýzy DNA variantov identifikovaných masívnym paralelným sekvenovaním, na ich spracovanie za využitia prístupných databáz a predikčných softvérov a ich správnu biologickú interpretáciu.

17. Farmakogenomika v praxi, alebo čo vieme vyčítať z genómu jedinca za hranicami asociačných štúdií

Ján Radvánsky^{1,2}, Zuzana Kubitová^{1,3},
Michaela Hýblová^{2,3}, Jaroslav Budiš²,
Tomáš Szemes^{2,3} a Ľudvík Kádaš^{1,3}

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

² Geneton s.r.o., Bratislava

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

• Cieľom prezentovanej práce bolo testovať aktuálne možnosti praktickej aplikácie moderných genomických analýz u konkrétneho jedinca, a to z hľadiska farmakogenomických súvislostí. Ako modelový príklad sme zvolili farmakogenomické aspekty kortikosteroidovej rezistencie cez retrospektívnu analýzu podrobných klinických a genomických dát pacienta s niekoľkoročnými ťažkosťami zápalového črevného ochorenia (ulcerózna kolitída). V liečbe u pacienta s kombinovanou imunosupresívnou liečbou boli postupne nasadené orálne terapeutiká ako mesalazín (Salofalk), kortikosteroidy (Prednison) a azatioprin (Imuran), s doplnením o topickú aplikáciu kortikosteroidových klyziem obsahujúcich budesonid (Entocort Enema), intravenózne kortikosteroidovej terapie (Solu-Medrol s účinnou látkou metyl-prednisolón) a anti-TNFalfa biologickej liečby (Remicade). Terapeutická a klinická história pacienta naznačila kortikosteroid-rezistentnú formu ochorenia, pričom aj efektívnosť orálne podaného azatioprinu zostala

otvorenou otázkou. Pozitívna reakcia na lokálnu a intravenóznou kortikosteroidovú terapiu však poukazuje na pomerne vysokú pravdepodobnosť limitácie uvedenej kortikosteroidovej rezistencie na orálne podaný prednizón. U pacienta bola následne vykonaná sekvenčná analýza viac ako 4800 proteín kódujúcich génov pomocou masívne paralelného sekvenovania. V našom príspevku budú vzájomne komplementované detailné klinické údaje s genomickými údajmi pacienta, pričom sa budeme snažiť poukázať na aktuálne možnosti a limitácie retrospektívnych a prospektívnych individualizovaných farmakogenomických prístupov, ako aj na výraznú potrebu podrobnej fenotypizácie pacientov.

18. Využitie Microarray a GWAS pre odhad rizikovej kompozície živín

Radoslav Židek^{1,2}, Marek Šnirc¹, Ľubomír Belej¹

¹ Katedra hygieny a bezpečnosti potravín, Fakulta biotechnológie a potravinárstva, SPU v Nitre

² NU3Gen s.r.o., Žilina

• Vzájomná interakcia medzi zdravím, výživou a životným štýlom je v súčasnosti témou mnohých vedeckých prác a štúdií. Postupy nutričnej genomiky však poukazujú na výrazné odlišnosti v individuálnej interakcii medzi zdravím jedinca, kompozíciou živín, telesnou aktivitou a inými faktormi životného štýlu. Niektoré efekty založené na génovej expresii a epigenetických mechanizmoch nie je možné aplikovať v procese hodnotenia rizika obyvateľstva pre ich cenovú náročnosť a komplexnosť. Iné dôležité faktory, ako je sčítací efekt bodových polymorfizmov nachádzajúcich sa v minor a majorgénoch, sa spolu so znižovaním cien génových čipov pod hodnotu 100 Euro stáva cenovo dostupnou formou hodnotenia rizika. Firmy ako spoločnosť 23andMe, ktoré majú celogenómovo identifikovaných viac ako 2 milióny ľudí z rôznych etník na alternovanej platforme HumanOmniExpress 24, predstavujú v súčasnosti obrovskú základu pre štúdie GWAS, ako aj zdroj veľmi kom-

plexných a pomerne dôveryhodných informácií mapujúcich genetické predispozície jednotlivca. Cieľom prezentovanej práce bolo identifikovať dôležité bodové mutácie na platforme 23andMe verzia 4 využiteľné pre hodnotenie rizika kompozície živín, životného štýlu ako aj mutácií evidovaných v databázach ClinVar a OMIM. Na vzorke 50 respondentov porovnať frekvencie výskytu minoritných alel s ich výskytom v európskej populácii popísanej projektom „1000 Genomes“ a následne normalizovať dáta za účelom eliminácie chybných genotypov. Analýzou dostupných GWAS Meta štúdií bolo možné identifikovať 185 bodových mutácií využiteľných pre hodnotenie odlišnosti v metabolizme makronutrientov, mikronutrientov, xenobiótik, alergénov a vnímania chuti. V oblasti životného štýlu bolo identifikovaných 77 mutácií asociovaných so športovou výkonnosťou. Analyzované surové dáta genového čipu 23andMe V4 obsahovali aj 9019 bodových polymorfizmov označených databázou ClinVar príznakom „Pathogenic“.

19. Objasnenie prípadov mentálnej retardácie a porúch autistického spektra využitím genomických metód

Miroslava Hančárová¹, Darina Prchalová¹,
Markéta Havlovicová¹, Markéta Vlčková¹,
Viktor Stránecký², Jana Drábová¹,
Katalin Šterbová³, Alica Valachová⁴,
Emílie Vyhnálková¹, Martina Simandlová¹,
Jozef Gécz⁵, Zdeněk Sedláček¹

¹ Ústav biologie a lékařské genetiky, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika

² Ústav dědičných metabolických poruch, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha, Česká republika

³ Klinika dětské neurologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol, Praha, Česká republika

⁴ Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Trenčín, Trenčín, Slovenská republika

⁵ The University of Adelaide and South Australian

Health and Medical Research Institute, Adelaide, Australia

• Mentálna retardácia (MR) a poruchy autistického spektra (PAS) postihujú 1-3 % populácie. Zatiaľ čo MR je často monogénna, vysoko funkčný autizmus má skôr polygénnu dedičnosť. Obe tieto ochorenia sú často komorbidné a ich závažné formy sú podmieňované *de novo* mutáciami. Počet kauzálnych génov neustále narastá. Predpokladá sa účasť až tisícov génov, z nich väčšina zostáva zatiaľ neznáma. Vzhľadom k tejto nesmiernej genetickej heterogenite vyžaduje štúdium týchto ochorení celogenómové metódy analýzy. Účinným nástrojom je najmä analýza variant v počte kópií (CNV) metódou SNParray či analýza nukleotidových variant (SNV) masívne paralelným sekvenovaním. CNV analýzu pomocou SNParray sme previedli u 327 pacientov z 307 rodín, analýzu SNV cieľným sekvenovaním panelov génov u 480 pacientov z 478 rodín a celogenómové sekvenovanie (WES) u 48 pacientov z 32 rodín. Pomocou SNParray sme odhalili kauzálny genetický defekt u 13 % pacientov. U SNParray negatívnych pacientov malo WES záchyt asi 30%. SNParray analýzou sme napríklad zachytili malú deléciu v oblasti 2p15p16.1. Pacientka fenotypovo odpovedala rovnomennému mikrodelečnému syndrómu, ale jej delécia bola najkratšia spomedzi publikovaných a zahrňovala iba 3 proteín-kódujúce gény. Nasledujúci pacienti s ešte kratšími deléciami a pacienti s bodovými mutáciami v géne *BCL11A* definitívne potvrdili kľúčovú úlohu tohto génu v 2p15p16.1 mikrodelečnom syndróme. Zaujímavosťou u týchto pacientov je perzistencia fetálneho hemoglobínu zvažovaná aj u génovej terapie kosáčikovitej anémie. WES napomohlo v mnohých prípadoch stanoveniu diagnózy po veľmi dlhom čase. Príkladom môže byť dlho neobjasnený nešpecifický fenotyp dospelého probanda, kde až narodenie ďalšieho postihnutého člena rodiny a WES odhalilo variantu v géne *IQSEC2* podmieňujúcu ochorenie v rodine. Nie ojedinělým prípadom je ďalšia pacientka čakajúca na diagnózu 30 rokov, u ktorej WES odhalilo intrónovú nekódujúcu variantu v géne *SYNGAP1* postihujúcu zostrih mRNA. Metóda WES je taktiež skvelým nástrojom

pri odhalovaní nových kandidátnych génov spojených s MR a PAS. Vzhľadom k tomu, že celosvetový počet pacientov s rovnakým mutovaným génom je zvyčajne veľmi malý, výskum nových génov vyžaduje medzinárodnú spoluprácu. Funkčná štúdia zahrňujúca aj jednu našu rodinu s variantou v géne *HCFC1* tak potvrdila úlohu tohto génu v X-viaza-

nej MR, a ďalšia skúmaná rodina možno prispeje k identifikácii úplne nového kauzálneho génu pre to isté ochorenie.

Podporené grantom 17-29423A.

Klinická genetika II.

20. Starostlivosť o hemoglobínopatie na Slovensku

V. Fábryová¹, A. Kollárová², P. Božek¹

¹ OHT, Nemocnica sv. Michala, Bratislava

² ÚLM, Laboratórium lekárskej genetiky, FN Nitra

• Od r. 1993 pôsobí na Slovensku „Študijná skupina pre vyhľadávanie beta-talasémii a iných hemoglobínopatií“. Centrami jej činnosti sú bratislavské hematologické pracoviská - Nemocnica sv. Michala, Dérerova nemocnica UN Bratislava, Detská fakultná nemocnica v Bratislave, hematologické pracovisko FN L. Pasteura v Košiciach a ÚLM, laboratórium lekárskej genetiky vo FN Nitra. Na práci študijnej skupiny sa doteraz podieľalo viac ako 70 lekárov z rôznych oblastí Slovenska. Vďaka zvýšenej informovanosti o výskyte hemoglobínopatií v SR sa na mnohých pracoviskách zaviedlo vyšetrenie elektroforézy hemoglobínu alebo metóda vysoko účinnej tlakovej chromatografie (HPLC) a na genetických pracoviskách diagnostika hemoglobínopatií (ÚLM, FN Nitra, metóda reverznej hybridizácie).

Celkove je t.č. v našom dispenzári 540 pacientov so suspektnou hemoglobínopatiou, z toho je 32 (5,8%) cudzincov. Geneticky bolo doteraz vyšetrených 213 (38,45%) pacientov, z toho u 188 (33,93%) sa potvrdila heterozygotná beta-talasémia. Celkove sme diagnostikovali 13 rôznych mutácií, až na jednu z nich sú všetky stredomorského typu. U 25 vyšetrených pacientov sa beta-talasémia nedokázala. Tiež boli diagnostikovaní 3 ne-

príbuzní pacienti ako heterozygoti pre kosáčikovú anémiu (HbS), dvaja z nich majú otca afrického pôvodu, jedna pacientka je černoška. Dlhodobu sledujeme tiež pacientku s raritným nestabilným hemoglobínom Santa Ana (diagnostikovaná vo FN Olomouc). V poslednom období sme vyšetrovali aj mutácie hereditárnej hemochromatózy, ktoré by mohli komplikovať stav z nadbytku železa pri vrodených hemolytických anémiách. Ich výskyt v heterozygotnej forme v kombinácii s beta-talasémiami je vyšší ako by sa očakávalo podľa prevalencie v slovenskej populácii. Všetci pacienti s diagnostikovanou hemoglobínopatiou sú sledovaní v uvedených centrách. V liečbe sa uplatňujú hlavne vitamíny, zriedkavo je potrebná transfúzia erytrocytov. Súčasne je im a ich rodinám poskytnuté genetické poradenstvo. Dôležitým výsledkom uvedenej činnosti je aj fakt, že problematika hemoglobínopatií sa dostala do povedomia širokej lekárskej verejnosti, vďaka čomu sa stále objavujú nové prípady. Významne sa zredukovalo podávanie preparátov železa, čo je pri uvedenej diagnóze kontraproduktívne. Celá problematika je aktuálna práve v tomto období vzhľadom na aktuálne politické zmeny vo svete a očakávaný príchod utečencov z krajín s vysokým výskytom hemoglobínopatií k nám. Pre klinickú medicínu by bolo prínosom naďalej rozširovať genetickú diagnostiku hemoglobínopatií a ostatných vrodených erytrocytových porúch.

21. Familiárny neurohypofýzový diabetes insipidus v siedmich českých a slovenských rodinách - dve nové mutácie a diagnostický prínos genetického testovania

Kovács L., Hrkčková G., Skalická K., Jankó V., Kytarová J., Čižmárová M., Tesařová M., Košťálová L., Virgová D., Dallos T., Hána V., Lebl J., Zeman J.

Detská klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Detskej fakultnej nemocnice s poliklinikou, Bratislava, Slovensko

Detská klinika Prvej lekárskej fakulty Karlovej univerzity a Všeobecnej univerzitnej nemocnice, Praha, Česká republika

Detské oddelenie Nemocnice v Leviciach, Slovensko
Klinika endokrinológia a metabolizmu Prvej lekárskej fakulty Karlovej univerzity a Všeobecnej univerzitnej nemocnice, Praha, Česká republika

Detská klinika Druhej lekárskej fakulty Karlovej univerzity a Univerzitnej detskej nemocnice v Motole, Praha, Česká republika

• Familiárny neurohypofýzový diabetes insipidus (FNDI) je zriedkavá dedičná porucha s neznámym výskytom charakterizovaným nedostatkom hormónu arginín-vazopresín (AVP), čo vedie k polyúrii a polydipsii od raného detstva. Autori uvádzajú klinické prejavy a výsledky genetických testov v siedmich nepríbuzných rodinách českého alebo slovenského pôvodu s fenotypom FNDI. Vek pri manifestácii ochorenia sa pohyboval od 2 do 17 rokov s pozoruhodnou inter- a intrafamiliárnou variabilitou. U troch detí vo veku 7 a 17 nález smädivého testu neumožnil stanoviť definitívnu diagnózu, analýza génu AVP však aj v týchto prípadoch umožnila jednoznačný záver a prispela k začatiu správnej liečby pacientov. V siedmich vyšetrených rodinách sa zistilo päť rôznych mutácií, z ktorých dve boli nové (c.164C> A, c.298G> C). Navyše analýza DNA preukázala stav nosičstva mutácie u jedného asymptomatického 1-ročného dieťaťa. Daná práca spolu identifikovala 38 jedincov s FNDI v študovanej populácii 16 miliónov, čo predpovedá prevalenciu choroby 1: 450 000 pre stredoeurópsky región. Výsledky zdôrazňujú, že

výsledky klasického smädivého testu môžu byť pre stanovenie diagnózy nepresvedčivé aj u polyurických detí s čiastočným diabetes insipidus a zároveň poukazujú na klinický význam analýzy génu AVP na prítomnosť mutácie u probanda a jeho / jej prvostupňových príbuzných.

22. Mutácie v SPRED1 géne u slovenských pacientov – kazuistiky

Běhalová L.¹, Minichová L.¹, Michnová A.¹, Cisárik F.², Kantarská D.³, Genčík M.⁴

¹ MedGene, Bratislava, Slovensko

² Oddelenie lekárskej genetiky NsP, Žilina, Slovensko

³ Fakultná nemocnica s poliklinikou F.D.Roosevelta, Banská Bystrica, Slovensko

⁴ MedGene Austria, Viedeň, Rakúsko

• Legius syndróm je zriedkavé, autozomálne dominantné genetické ochorenie, spôsobené mutáciou v géne *SPRED1*. Klinika ochorenia sa v skorých štádiách prelína s Neurofibromatózou typu 1 (NF1). Z toho dôvodu sú pacienti mnohokrát klinicky identifikovaní a geneticky primárne vyšetrovaní na NF1. Hlavnými klinickými prejavmi ochorenia sú mnohopočetné "café au lait" škvrny, zmeny v pigmentácii pokožky, v niektorých prípadoch makrocefália, alebo poruchy sústrednosti (ADD), a hyperaktivita (ADHD). Chýbajúce sú niektoré znaky typické pre NF1, ako sú Lischové uzly dúhovky, neurofibrómy a nádory centrálného nervového systému. Ochorenie je spôsobené mutáciami v géne kódujúcom negatívneho regulátora MAPK-signalnej dráhy – *SPRED1* (*sprouty-related EVH1 domain – containing protein 1*). *SPRED1* sa nachádza na chromozóme 15q14 a pozostáva zo siedmich kódujúcich exónov. Zo štyroch vyšetrených slovenských pacientov na Legius syndróm sa nám podarilo zachytiť dve evidentne patogénne mutácie v heterozygotnom stave. 1). - Pacient s klinickými prejavmi Legius syndrómu bol u nás vyšetovaný v roku 2010 a bol zistený delečný variant p.G3851fsX20 (c.1149_1152delAGAG) v heterozygotnom stave. Identifikovaná mutácia bola popísaná v práci Brems, H. (2007). Rodinná anamnéza

naznačuje familiárny výskyt. Vzhľadom k charakteru mutácie bolo odporúčané genetické vyšetrovanie rodinných príslušníkov pacienta. 2). - V roku 2017 sme u druhého pacienta testovaného negatívne na NF1 v rámci diferenciálnej diagnózy NF1 navrhli vyšetrovanie *SPRED1* génu. U pacienta sme identifikovali terminujúcu mutáciu p.Arg16Ter (c.46C>T) v heterozygotnom stave. Mutácia bola popísaná v práci Spurlock (2009). Charakter mutácie potvrdzuje diagnózu Legius syndrómu u tohto pacienta. Podobné klinické prejavy v skorých štádiách výskytu NF1 a Legius syndrómu komplikujú určenie správnej diagnózy u niektorých pacientov. V týchto prípadoch je dôležité zvážiť možnosti diferenciálnej diagnózy ďalších génov, konkrétne *SPRED1*.

23. MIRAGE syndrome - a novel developmental disorder with predisposition to severe myelodysplasia

Denisa Ilenciková¹, Bernard Csillag², Gerald Webersinke³, Franco Laccone⁴, Manfred Meissl⁵, Hans-Christoph Döberlein¹

¹ Institute of Medical Genetics, Kepler University Hospital, Med Campus IV, Linz, Austria

² Dept. of Neonatology Intensive Care, Kepler University Hospital, Med Campus IV, Linz, Austria

³ Laboratory for Molecular Biology and tumor Cytogenetics, Dept. of Internal Medicine I, Hospital of Barmherzige Schwestern, Linz, Austria

⁴ Institute of Medical Genetics, Center of Pathobiochemistry and Genetics, Medical University of Vienna, Austria Department of Pediatrics, Kepler University Hospital, Med Campus IV, Linz, Austria

⁵ Dept. of Pediatrics, Kepler University Hospital, Med Campus IV, Linz, Austria

• We report a 14 months old Austrian boy with a features of syndromic adrenal hypoplasia. He was born at 32+0th pregnancy week per caesarean section because of prenatal growth retardation and Oligohydramnios. The infant presented with birth weight of 996 g (-2.25 s.d.) and birth length 39 cm (-1.44 s.d.), OFC 26 cm (-2.55 s.d.), penoscrotal hypospadia and APGAR 6/7/8. He developed respira-

tory and catecholamine-dependent circulatory insufficiency. After administration of cortisol it took a turn to immense clinical improvement. and by ultrasound an adrenal hypoplasia was diagnosed. Causative genes for syndromic adrenal hypoplasia as DAX1 and CDKN1C were without finding of any germline mutation. At the age of 1 month he presented disturbed myelopoiesis with thrombocytopenia and anemia. Since birth he was treated for recurrent infections (more than 16 times) and for the chronic watery diarrhea with severe wound healing perianal and chronic ulcers. At the age of 10 month we performed Exome sequencing and during the analysis we investigated the first information about a novel multisystem disorder named MIRAGE (Myelodysplasia, Infection, Restriction of growth, Adrenal hypoplasia, Genital phenotypes, Enteropathy) published in May 2016 by Narumi *et al.* Considering this we supposed a germline mutation in the SAMD9 gene. The Exom-analysis revealed a heterozygous Mutation p.Leu641Pro in mosaic form (22% pathologic cell line). It has probably evolved postzygotic and arised *de novo* as all published 11 Corian and Japanese cases by Narumi *et al.* We here, to our best knowledge, present the first report about European infant with MIRAGE Syndrome.

24. (Dočasne) odložený prípad

Hrčková G.¹, Dallos T.¹, Twigg S.R.², Kovács L.

¹ Pracovisko genetickej diagnostiky, Detská klinika LF UK a DFNSP, Bratislava

² Pracovná skupina klinickej genetiky, Weatherallský Inštitút Molekulej Mediecin, Nemocnica Johna Radcliffea, Oxfordská Univerzita, Spojené Kráľovstvo

• Signálna dráha Hedgehog je jedinečnou reťazou biochemických dejov, ktorou cieľové bunky komunikujú s extracelulárnym prostredím. Jej úloha je nepostrádateľná v embryogenéze a môže viesť k vzniku vrodených vývojových chýb a nádorov. Prezentujeme prípad 11-ročného pacienta liečeného pre meduloblastóm, u ktorého boli ďalej

prítomné skeletálne zmeny (dolichocefália, kožné a kostné syndaktýlie prstov rúk, zdvojený palec pravej nohy, pectus excavatum), kožné abnormality (pruhovité hypopigmentácie s atrofiou kože), leiomyomatóza čreva a pravostranný kolobóm dúhovky. Podozrivá anamnéza nositeľstva aberácie 9. chromozómu u matky odvieďla našu pozornosť ku Gorlinovmu-Goltzovmu syndrómu a génu *PTCH1*, ktorého lokus je na tomto chromozóme. Pri neúplnej zhode hlavných diagnostických kritérií a vylúčení predpokladanej chromozómovej imbalance sme našli fenotypový prekryv s Curryho-Jonesovým syndrómom. Jeho etiológia však nebola v tom čase známa a posledné údaje z literatúry boli takmer 10 rokov staré. Otázka presnej diagnózy pacienta ostala preto otvorená. Od prvého popisu asociácie jednostrannej koronárnej kraniosynotózy, kožných syndaktýlií, preaxiálnej polydaktýlie chodidiel a nezvyčajných kožných lézií ubehlo 30 rokov a o jeden rok menej nakoniec trvalo rozlúštenie hádanky jej genetickej podstaty. Z archivovanej vzorky meduloblastómu bola u pacienta identifikovaná somatická mutácia c.1234C>T (p.Leu412Phe) génu *SMO*, ktorá u neho Curryho-Jonesov syndróm napokon potvrdila. Gény vyšetrované u pacienta, *PTCH1* a *SMO* sú asociované so syndrómami, ktorých znaky sa parciálne prelínajú. Je to na vrub toho, že oba sú súčasťou Hedgehog signálnej dráhy a jej nadmerná aktivácia vedie k poruchám embryogenézy. Extrémne zriedkavý Curryho-Jonesov syndróm je zapríčinený mozaicizmom rekurentnej somatickej mutácie génu *SMO* a postihnutého jedinca predisponuje k tumorigenéze.

25. Testikulárny nádor u jednovaječných dvojčiat so systémovou mastocytózou

Péčová Tatiana¹, Péčová Klauďia¹, Nemilová Štefánia¹, Vorčáková Karolína¹, Žaliová Markéta², Burjanivová Tatiana^{3,4}, Malicherová Bibiana^{3,4}, Plank Lukáš⁵, Adamicová Katarína⁶, Péč Martin⁶, Trka Jan², Martinásková Klára⁷, Péč Juraj¹

¹ Dermatovenerologická klinika UNM, Martin,

² CLIP—Childhood Leukaemia Investigation, Praha,

³ Martinské centrum pre biomedicínu, Divízia onkológia, Martin,

⁴ Ústav molekulovej biológie JLF UK a UNM, Martin,

⁵ Ústav patologickej anatómie JLF UK a UNM, Martin,

⁶ Ústav lekárskej biológie JLF UK a UNM, Martin,

⁷ Dermatovenerologická klinika FNŠP, Prešov

• Mastocytóza patrí medzi myeloproliferatívne neoplázie, pri ktorých dochádza ku klonálnej proliferácii mastocytov alebo ich progenitorových CD34+ buniek a ich akumulácii v jednom alebo viacerých orgánoch. Ochorenie môže byť sprevádzané kutánnymi prejavmi alebo systémovým postihnutím s postihnutím kostnej drene až klonálnou expanziou mastocytárných alebo nemastocytárných línií buniek. Mastocytóza detského veku máva zvyčajne benigný priebeh so spontánnou remisiou ochorenia pred nástupom puberty, zatiaľčo mastocytóza u dospelých býva perzistentná a môže byť asociovaná so systémovým postihnutím. Najrozšírenejšou formou mastocytózy je kožná mastocytóza – urticaria pigmentosa. Pri tomto ochorení sú prítomné hnedo-červené až hnedé makuly, papuly, prípadne noduly veľké 2-3 cm vyskytujúce sa hlavne v oblasti trupu. V našej práci popisujeme zaujímavý prípad jednovaječných dvojčiat s urticaria pigmentosa. U týchto súrodencov sa ochorenie detekovalo už vo veku 4 mesiacov. Teraz majú obaja pacienti 43 rokov. Lézie u popisovaných dvojčiek ostali počas života klinicky stacionárne okrem obdobia počas chemoterapeutickej liečby, kedy došlo k regresii až úplnému vymiznutiu prejavov. Difúzne makuly postihujú celé telo okrem tváre. V roku 2003 bol odstránený ľavý semenník u jedného dvojčaťa a v roku 2004

bola vykonaná orchiektómia pravého semenníka u druhého brata. Obidve dvojčatá boli úspešne liečené 4 cyklami chemoterapie. Kožná biopsia potvrdila u obidvoch súrodencov diagnózu urticaria pigmentosa bez infiltrácie do kostnej drene. Real time PCR nepotvrdilo vo vzorkách krvi a kostnej drene D816V mutáciu. Po osekvenovaní celého c-KIT génu nebola zistená mutácia pomocou Sangerovho sekvenovania. Zaujímavé výsledky však boli zistené celoexómovou sekvenáciou na prístroji Ion Torrent. Tu bola detekovaná mutácia D816V u jedného súrodencu v 4% a u druhého v 8% vo vzorkách DNA izolovaných z periférnej krvi.

26. Autozomálne dominantné polycystické ochorenie obličiek - molekulová diagnostika

Vasovčák, P.

Laboratórium lekárskej genetiky, Alpha medical, Košice

27. Primárne ciliium v molekulovej patogeneze autozómovo-dominantnej polycystickej chorobe obličiek

Skalická K.¹, Hrková G.¹, Vaská A.¹,

Baranyaiová A.¹, Janega P.², Žilinská Z.³,

Daniš D.⁴, Kovács L.¹

¹ Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky LFUK a DFNsP, Bratislava

² Ústav patologickej anatómie LFUK, Bratislava

³ Urologická klinika s Centrom pre transplantácie obličiek, Univerzitná nemocnica, Bratislava

⁴ Cytopathos, Bratislava

• Autozómovo-dominantná polycystická choroba obličiek (ADPKD) je najčastejšie dedičné ochorenie obličiek charakteristické progresívnou expanziou renálnych cýst, ktoré vedie k zlyhaniu obličiek. Ochorenie je spôsobené inaktiváciou polycystínov a poruchou funkcie primárneho cilia. Presný mole-

kulový mechanizmus patogenezy tohto procesu nie je známy, čo značne ovplyvňuje vývoj cielej liečby. Cieľom nášho štúdia bolo identifikovať mutačný profil ciliárnych génov, ktorých genetické zmeny môžu spôsobiť poruchy štruktúry alebo funkcie primárneho cilia. Do analýzy bolo zahrnutých 10 vzoriek tkanív s histologicky a geneticky potvrdenou diagnózou ADPKD získaných nefrektómiou a 3 kontrolné vzorky zdravých obličiek získaných nekropsiou. Všetky tkanivá predstavovali vzorky zaliate do parafínov blokov (FFPE). Metódou cielejho sekvenovania novej generácie bolo analyzovaných 191 génov kódujúcich štruktúrne komponenty primárneho cilia a 110 génov kódujúcich kľúčové komponenty ciliárnych signálnych dráh. Celkovo sme identifikovali 123 patogénnych variantov v 43 štruktúrnych komponentoch primárneho cilia a 102 patogénnych variantov v 38 komponentoch ciliárnych signálnych dráhach. Zo štruktúrnych variantov dominovali genetické poruchy v kľúčových proteínoch zahrnutých v tvorbe primárneho cilia (*CEP89* a *SCLT1*, *CEP90*, *KIF19*), ktoré boli prítomné vo všetkých analyzovaných vzorkách ADPKD. Analýzou signálnych molekúl sme odhalili patogénne varianty v génoch zahrnutých v signálnych dráhach Notch (*NCOR2*) a Sonic-hedgehog (*LRP2*). Keďže ich výskyt bol prítomný vo všetkých analyzovaných vzorkách ADPKD možno rovnako predpokladať ich vplyv v patogeneze ochorenia. Výsledky našej práce odhalili genetické zmeny ovplyvňujúce štruktúrne a funkčné proteíny primárneho cilia, ktoré môžu byť kľúčovým faktorom v patogeneze ADPKD. Navyše, identifikované varianty ciliárnych signálnych dráh môžu predstavovať možné ciele pre vývoj novej cielej liečby.

Práca bola podporená grantom Agentúry na podporu výskumu a vývoja č. APVV-14-0234.

Onkogenetika

28. Vývoj kvantitatívnych a multiplexných diagnostických technológií a aplikácií

Pavol Čekan

MultiplexDX Inc.

• Nádorové ochorenia predstavujú obrovský zdravotný, psychický a sociálny problém pre pacientov i celú spoločnosť. Zmena životného štýlu, prostredia, ako aj nárast vekového priemeru populácie spôsobujú, že počet ochorení a nových diagnostických prípadov sa neustále zvyšuje. Racionálnym postupom v boji proti rakovine je hľadanie moderných diagnostických metód a aplikácií, ktoré by dopomohli k rýchlemu a presnému odhaleniu ochorenia a k výslednej úspešnej terapii. Hoci sa dnešná diagnostika opiera o moderné smery genomiky, proteomiky, metabolomiky, bioinformatiky, atď., mnohí onkologickí pacienti stále zomierajú kvôli neskoršej, nesprávnej alebo nepresnej diagnostike. Hlavnými príčinami sú chýbajúce biomarkery, nesprávna charakteristika rakoviny, nevhodná patológia tkaniva kvôli limitujúcim diagnostickým technológiám, neadekvátna genetická a genomická informácia prístupná v čase diagnózy, atď. No najväčším problémom naďalej zostáva, že špecifický biomarker nie je možné presne kvantifikovať, a tým správne nastaviť terapiu. Onkologickí pacienti sú nezriedka poddávovaní alebo predávkovaní, čo vedie k zhoršeniu klinického obrazu, zvýšeniu prejavu nežiaducich účinkov liečby, zníženiu kvality života pacienta a niekedy až k predčasnemu úmrtiu. Naším cieľom je preto vyvinúť presné, špecifické, kvantifikovateľné a multiplexné diagnostické metódy, ktoré by dopomohli k správnej charakterizácii nádorov a k ich efektívnej a úspešnej liečbe. A preto sme sa rozhodli, pre čo najpresnejšiu kvantifikáciu RNA biomarkera, spojiť do našej metódy vizualizačnú technológiu (RNA FISH) a sekvenáčnu technológiu (RNAseq). V posledných rokoch sa zistilo, že mikroRNA sú vynikajúce biomarkery pre charakterizáciu tumorov, stanovenie prognózy, monitorovanie účinkov onkologic-

kých terapeutík alebo skrínovanie chorôb. Avšak pre monitorovanie miRNA expresie v ľudských vzorkách chýbajú precízne kvantitatívne miRNA diagnostické metódy. A preto sme vyvinuli našu multiplexnú metódu spájajúcu vizualizačnú a sekvenáčnu technológiu, miRNA FISH a miRNAseq. Metódu sme aplikovali na rakoviny kože a správnou kvantifikáciou miRNA páru (miRNA-205, miRNA-375) sme dokázali od seba odlišiť dva histologicky podobné karcinomy kože, bazálny a Merkelov a tak úplne eliminovať ich smrteľne nebezpečnú misdiagnostiku. To dokazuje a indikuje obrovský potenciál našej multiplexnej diagnostickej metódy v personalizovanej medicíne pri správnej charakterizácii nádorov a následnej efektívnej a úspešnej liečbe rakoviny.

29. Klinický a molekulárno - genetický manažment pacienta so suspektným onkogenetickým syndrómom.

Hamidová O.¹, Slamka T.¹, Vavrová L.¹,

Závodná K.¹, Lohajová Behulová R.¹

¹ Oddelenie lekárskej genetiky, Onkologický ústav sv. Alžbety, Heydukova 10, Bratislava

• Približne 10% prípadov onkologických ochorení je podľa súčasných literárnych údajov považovaných za hereditárne – asociované s dedičnou predispozíciou. V rámci genetického poradenstva je možné identifikovať zdravých vysokorizikových jedincov (nositeľov patologického variantu) z konkrétnych rodín a ich následné zaradenie do adekvátnej preventívnej starostlivosti. Implementácia metód sekvenovania novej generácie (NGS) do diagnostiky dáva možnosť simultánneho vyšetrenia celého panelu viacerých génov a umožňuje odhaliť kauzalitu viacerých génov s nižšou penetranciou v rámci hereditárnych onkologických ochorení. Príťažou sa sebou aj novú problematiku interpretácie výsledkov a detekciu variantov s neznámym kli-

nickým efektom. Uvádame prehľad indikačných kritérií na molekulo- genetické vyšetrenie najčastejších onkogenetických syndrómov vyšetovaných na našom pracovisku, indikácie panelového sekvenovania a odporúčané dispenzarizačné programy, prípadne možnosti profylaktických zákrokov pre nositeľov patologických variantov.

30. Kauzálne varianty génu CHEK2 v diagnostike HBOC

Daniela Žideková, Tomáš Slamka, Olívia Hamidová, Regina Lohajová Behulová

Oddelenie lekárskej genetiky, Onkologický ústav sv. Alžbety, Heydukova 10, Bratislava

• Karcinóm prsníka je jedným z najčastejšie sa vyskytujúcich onkologických ochorení. Približne 10% prípadov je dedične podmienených a patrí k syndrómu hereditárneho karcinómu prsníka a ovarií (HBOC). Odhaduje sa, že patologické germinatívne varianty v stredne penetrantnom géne CHEK2 sú prítomné až u jednej tretiny HBOC rodín s patologickým variantom, ktoré sú zároveň BRCA1/2 negatívne. CHEK2 mutácie zvyšujú riziko vzniku karcinómu prsníka a prostaty 2-4x v porovnaní s bežnou populáciou. Ich prítomnosť je asociovaná aj s inými malignitami, ako je kolorektálny karcinóm, melanóm, osteosarkóm, karcinóm štítnej žľazy a obličiek. Na identifikáciu germinatívnych variantov vo všetkých 14 exónoch génu CHEK2 (22q12.1) bolo použité Sangerovo sekvenovanie. V ľudskom génome je prítomných niekoľko nefunkčných kópií uvedeného génu (tzv. pseudogénov), čo si vyžaduje pre-amplifikáciu exónov 10-14 pomocou Long-Range PCR. Na identifikáciu veľkých prestavieb génu bola použitá MLPA analýza. Medzi kauzálne patologické varianty tohto génu patrí veľká delécia zasahujúca exóny 9-10, bodový variant c.1100delC a unikátny patologický variant c.85C>T, ktoré vedú ku skráteniu a nefunkčnosti proteínu a zvýšeniu rizika nádorového ochorenia. Veľmi častým variantom je aj c.470T>C, ktorého interpretácia je však kontroverzná a považujeme ho za potenciálne

patologický. Testovanie germinatívnych variantov v géne CHEK2 sa odporúča vo vysoko rizikových rodinách s familiárnym alebo sporadickým výskytom nádoru prsníka a s karcinómom prostaty, kde bolo primárne indikované vyšetrenie BRCA1/2 génov avšak s negatívnym výsledkom. Pri identifikácii patologického variantu je odporúčané prediktívne testovanie u príbuzných postihnutého pacienta, ktoré je významné pre včasné odhalenie predispozície onkologického ochorenia a následné nastavenie preventívneho klinického manažmentu.

31. Diagnostika patologických variantov u pacientok so seróznym karcinómom ovária identifikovaných vo vzorkách izolovaných z PK a FFPE pomocou NGS

Ludmila Vavrová¹, Tomáš Slamka¹, Lenka Dolešová¹, Olívia Hamidová¹, Karol Kajo², Regina Lohajová Behulová¹

¹ Oddelenie lekárskej genetiky OÚSA

² Oddelenie klinickej patológie a cytológie, Ústav patológie SZU a OÚSA, Onkologický ústav sv. Alžbety, Heydukova 10, 812 50 Bratislava

• Patologické varianty v génoch BRCA1 a BRCA2 sú u žien asociované so zvýšeným rizikom ovariálneho karcinómu. Klinické štúdie preukázali benefit vo forme predĺženia prežívania bez progresie ochorenia (PFS) u pacientok s rekurentným high grade seróznym karcinómom ovária (HGSK) senzitivným na platínu a zároveň s patologickým variantom v génoch BRCA1 alebo BRCA2 (germinatívnym alebo somatickým) pri liečbe inhibítormi poly (ADP-ribose) polymerázy (PARPi; Olaparib, Lynparza). OLG OÚSA preto rozšírilo ponuku vyšetovania germinatívnych variantov v génoch BRCA1/2 u pacientok s karcinómom prsníka resp. ovária o diagnostiku variantov z tumorového tkaniva (FFPE) u pacientok s HGSK a následné rozlíšenie či ide o germinatívny alebo somatický variant. Pomocou NGS

analýzy (MiSeq Illumina, Multiplicom BRCA Mastr Plus) sme vyšetrili 22 pacientok z FFPE. V 10 vzorkách bolo nájdených 12 patologických variantov. V géne BRCA1 sme identifikovali 8 a v géne BRCA2 4 patologické varianty. Vo vzorkách 3 pacientok s negatívnym NGS nálezom bola vykonaná analýza veľkých génových prestavieb BRCA1/2 (MLPA, MRC Holland) z PK rovnako s negatívnym výsledkom. V našom príspevku odporúčime aj následný klinický manažment pacientok s patologickým nálezom. Správne nastavený manažment pacientok zabezpečí, aby okrem vhodnej terapie indikovanej klinickým onkológom, boli zistené patologické varianty interpretované aj klinickým genetikom. V prípade dokázania germinatívneho patologického variantu je odporúčané dovyšetrenie pokrvných príbuzných pacientky a ich dispenzarizácia.

32. Nové trendy v analýze ctDNA

Farkašová A.¹, Scheerová K.¹, Huťka Z.², Plank L.^{1,2}

¹ Martinské bioptické centrum, s. r. o., Martin, Slovensko

² Ústav patologickej anatómie, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského a Univerzitná nemocnica, Martin, Slovensko

• Cirkulujúca nádorová DNA (ctDNA) predstavuje nový potenciál v analýze mutačného stavu špecifických génov u onkologických pacientov. Môže byť využitá ako pri primodiagnostike nádorového ochorenia, tak pri monitoringu liečebnej odpovede a prípadnom vzniku relapsu. Od decembra 2015 sme začali s mutačnými analýzami ctDNA izolovanej zo separovanej plazmy pacientov s NSCLC, u ktorých nastal v priebehu liečby TKI relaps a takých, u ktorých bioptický alebo cytologický materiál nebol vhodný na analýzu mutačného stavu EGFR génu. DNA bola izolovaná pomocou cobas® cfDNA Sample Preparation Kit. Testovanie bolo realizované na platforme cobas® Z480 (Roche Molecular Diagnostics) s použitím CE-IVD kitu cobas® EGFR Mutation test. Na základe výsledkov sme v júli 2017 pristúpili k retestovaniu vybraných pacientov pro-

stredníctvom TaqMan Liquid Biopsy dPCR Assays pre T790M (ThermoFisher). Od septembra 2017 tiež plánujeme zaviesť pre toto testovanie metódu BEAMing (Sysmex). Na základe mutačných analýz bioptického materiálu a ctDNA s využitím metódy Cobas u pacientov pri primodiagnostike s ohľadom na záchyt tzv. aktivačných mutácií môžeme konštatovať, že výsledky analýz sú porovnateľné. V skupine pacientov, u ktorých došlo k relapsu ochorenia bola ctDNA analyzovaná s cieľom identifikácie najmä tzv. rezistentnej mutácie T790M. V tejto skupine pacientov sme dosiahli senzitivitu 22,7 % (oproti 50 – 60 % uvádzaným v odbornej literatúre), čo môže byť spôsobené nízkym počtom pacientov (n = 22), nedostatočnou senzitivitou tejto metódy, príp. nižšou senzitivitou detekcie T790M mutácie vo všeobecnosti. Výsledky komparatívnej analýzy ctDNA analyzovanej metódou Cobas, digitálnou PCR a metódou Beaming môžu prispieť k nastaveniu algoritmu vyšetovania pacientov s NSCLC.

Táto práca bola podporená grantom firmy Boehringer Ingelheim a AstraZeneca.

33. Prestavby MLL u pacientov OLG NOÚ

M. Tóthová, M. Čermák, Z. Svoreň, M.

Džubasová, I. Hikkel, J. Konkolová, Z. Čabráková, K. Straková

Oddelenie lekárskej genetiky, Národný onkologický ústav, Bratislava.

• Gén MLL (KMT2A), ktorý sa nachádza na dlhom ramienku chromozómu 11 (11q23), kóduje DNA viažúci proteín, ktorého funkcia je nevyhnutná na reguláciu správnej hemopoézy. Tento gén však podlieha častým narušeniam rôznymi chromozómovými preskupeniami – translokáciami, inserciami, prípadne duplikáciami až amplifikáciami, ktoré sú sprievodným javom vývoja primárnych, alebo sekundárnych hematologických malignít. Akútne leukémie s aberáciami génu MLL (KMT2A) sa obvykle spájajú s nepriaznivou prognózou, kvôli čomu je ich identifikácia klinicky významná. Vyšetrenie aberácií génu MLL na úrovni klasickej cytoge-

netiky, FISH a pomocou molekulárných metód patrí na našom oddelení medzi štandardné vyšetrenia pri všetkých typoch akútnych leukémií. V období rokov 2012 – 2016 bolo na Oddelení lekárskej genetiky NOÚ vyšetrených 447 vzoriek pacientov s akútnymi leukémiami. V tomto súbore sme zachytili 37 vzoriek s aberantným génom *MLL*. Z toho bolo 25 vzoriek s prestavbou, kde sme ďalej pokračovali v analýze najčastejších fúzy partnerov, 11 vzoriek bolo pozitívnych na prítomnosť parciálnej tandemovej duplikácie a dve vzorky mali prítomnú amplifikáciu génu *MLL*.

34. Špecifická FISH diagnostika u solídnych tumorov

Fiedlerová K., Fröhlichová L.
Oddelenie patológie, UNLP Košice

• Fluorescenčná in situ hybridizácia (FISH) je už dlhé roky integrálnou súčasťou rôznych oblastí genetickej diagnostiky a i keď z určitého uhla pohľadu je jej využitie univerzálne, z iného – detailnejšieho - uhla pohľadu je zrejme, že každá z FISH „aplikácií“ má svoje špecifiká odvíjajúce sa napr. od typu východiskového materiálu, spektra vyšetovaných genetických aberácií či od kritérií hodnotenia a dvojnásobne to platí pre FISH diagnostiku u solídnych tumorov. Limitovanosť materiálu a kvalita excízie (malé broncho a gastroskopie, cor cut biopsie, tenkoihlové biopsie), kvalitná predanalytická príprava (fixácia materiálu, kvalita rezov, natrávenie tkaniva), nevyhnutnosť multidisciplinárneho prístupu (histomorfologická a imunohistochemická predanalýza), vysoký histologický background (od neho závisí absolútne kľúčový výber správnej nádorovej oblasti pre FISH analýzu), problematika genetickej heterogenity či tumor - špecifické kritériá hodnotenia – to je prehľad len tých najzákladnejších špecifik, ktoré je potrebné pri FISH diagnostike solídnych tumorov brať do úvahy. Ich zodpovedné posúdenie a zosúladenie je o to dôležitejšie ak si uvedomíme fakt, že väčšina genetických aberácií detegovaných u solídnych tumorov metódou FISH sú prediktívne

markery určujúce nasadenie cielenej terapie pre onkopacientov. Preto sa v našej prezentácii zameriame na ich podrobnejšiu analýzu u vybraných typov solídnych tumorov.

35. Malígny melanóm - detekcia nových „driver“ mutácií

Malicherová B.^{1,2}, Burjanivová T.^{1,2},
Mináriková E.³, Bobrovská M.⁴, Homola I.⁵,
Lasabová Z.^{1,2}, Plank L.⁴

¹ Martinské centrum pre biomedicínu, Divízia onkológia, Martin

² Ústav molekulovej biológie JLF UK a UNM, Martin

³ Dermatovenerologická klinika UNM, Martin

⁴ Ústav patologickej anatómie JLF UK a UNM, Martin

⁵ Oddelenie plastickej chirurgie UNM, Martin

• Malígny melanóm kože je u ľudí jeden z najagresívnejších a prognosticky najnepriaznivejších zhubných nádorov s celosvetovo stále stúpajúcou incidenciou. Z týchto dôvodov sa zvyšujú požiadavky na zlepšenie jeho diagnostiky a najmä identifikáciu tých klinicko-patologických a v súčasnosti aj molekulových markerov, ktoré by mohli predpovedať priebeh ochorenia a usmerniť ďalší manažment pacienta. Včasný záchyt malígneho melanómu (MM) je kľúčovým faktorom úspešnosti liečby. Zjednodušené možno povedať, že melanóm v štádiu orgánovej diseminácie zostáva napriek určitým pokrokom prakticky neliečiteľným ochorením. Voľbu liečebného postupu ovplyvňuje klinické štádium malígneho melanómu, histopatologické štádium MM pacienta. Používané liečebné postupy možno rozdeliť na chirurgické a nechirurgické (chemoterapia, imunoterapia, rádioterapia). Dôležitým terapeutickým cieľom je gén *BRAF*, ktorý je mutovaný u 50% melanómov. Gén *BRAF* je člen MAPK (mitogénom aktivovaná proteinkináza) signálnej dráhy, regulujúcej bunkový rast, delenie, diferenciáciu a apoptózu. Najčastejšou mutáciou je *BRAF*^{V600E}, ktorá sa vyskytuje u približne 90% mutovaných tumorov. U pacientov s *BRAF*^{V600E} bola pozorovaná klinicky významná odpoveď na liečbu. Problémom však bola

po čase vzniknutá rezistencia. Z celogenómových sekvenácií u pacientov s malígnym melanómom, bola zistená aj prítomnosť mutácií v génoch *RAC1*, *PPP6C* a *STK19*. Mutácie v spomínaných génoch by mohli byť tzv. „driver“ variácie, ktoré sú rozhodujúce pre onkogenézu a poskytujú nádorovým bunkám selektívnu výhodu. Cieľom práce je analyzovať gény *RAC1*, *PPP6C*, *STK19* a *BRAF* z tkanivovej DNA, ktoré podľa dnes dostupných údajov predstavujú potenciálne prediktívne ciele pre pacientov s malígnym melanómom a zároveň porovnať všetky klinické a histopatologické parametre nádorového ochorenia s výsledkami mutačných a sekvenčných analýz. V súbore 113 pacientov s diagnózou malígneho melanómu sme vyšetřili gény *STK19*, *PPP6C*, *RAC1*, *BRAF* z parafínových bločkov. Tieto mutácie boli prítomné u 20 pacientov. U jedného pacienta nám kvalita bioptického materiálu neumožnila detekovať prítomnosť mutácií. Naše výsledky ukazujú, že sme schopní detekovať prítomnosť mutácií, ktoré predstavujú potenciálne ciele pre terapiu u pacientov s malígnym melanómom. Naše výsledky v porovnaní s niektorými doteraz publikovanými prácami zistili prítomnosť mutácií aj v génoch *STK19*, *PPP6C* a *RAC1*. Detekcia týchto mutácií môže viesť k optimalizácii prebiehajúcej terapie a zlepšiť prežívanie pacientov s týmto závažným onkologickým ochorením. V blízkej budúcnosti plánujeme porovnať a korelovať tieto výsledky s tekutou biopsiou. Analýza biopsie nemusí vždy odrážať úplnú skladbu nádoru kvôli nádorovej heterogenite.

Práca bola podporená grantom UK/14/2016.

Abstrakty posterov

1. Mutačná analýza génu pre faktor VIII u pacientov s hemofiliou A

Marian Baldovič¹, Veronika Oľšavská¹,
Tatiana Prigancová², Anna Morongová²,
Angelika Bátorová², Ľudevít Kádaš^{1,3}

¹ Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave

² Klinika hematológie a transfuziológie lekárskej fakulty UK, SZU, Univerzitná nemocnica, Bratislava

³ Ústav klinického a translačného výskumu BMC SAV

• Hemofília A (HA) je najčastejšia a najdlhšie známa X-viazaná geneticky podmienená porucha krvnej koagulácie. HA je zapríčinená defektom alebo deficienciou faktora VIII (FVIII), súčasťou kaskády krvnej koagulácie, ktorého reziduálna aktivita ovplyvňuje závažnosť klinických symptómov HA. Celosvetovo v podstate rovnaká incidencia HA je 1:5000 - 10000 novorodených chlapcov, vzhľadom na vysoký podiel de novo mutácií je skutočný výskyt prenášačiek trochu nižší, 1 : 3500 – 7000. Deficit faktora VIII je spôsobený širokým spektrom mutácií v géne pre faktor VIII (v súčasnosti viac ako 2000 známych mutácií), a to prakticky všetkých známych typov. Vyskytujú sa po celej dĺžke génu F8C. S výnimkou inverzií sú zväčša zriedkavé a jedinečné pre danú rodinu. Ukazuje sa, že až okolo 30 % mutácií vzniká de novo. Inverzie sú najčastejšou príčinou závažnej formy HA (37 – 57 %). Najčastejšia inverzia je spôsobená homologickou rekombináciou medzi génom F8A v intróne 22 a jednou z jeho extragénových kópií, lokalizovaných asi 400 kb telomericky od génu F8C, ktorá oddelí exóny 1-22 od exónov 23-26 a prakticky vždy vedie ku ťažkým formám hemofílie A. Hemofília A vykazuje jednak výraznú genetickú heterogenitu a jedna širokú variabilitu klinického fenotypu, ktorá vzniká aj pod vplyvom tvorby inhibujúcich aloprotilátok ako imunitnej reakcie proti podávanému FVIII, spôsobujúcej neutralizáciu jeho koagulačnej aktivity. Hoci tvorba protilátok je podmienená tak genetickými ako aj vonkajšími faktor-

mi, korelácia medzi typom mutácie, rizikom tvorby protilátok a závažnosťou klinického fenotypu sa stáva čoraz zrejmejšou. Pre viaceré a najmä populárne špecifické mutácie F8C génu u slovenských pacientov ako aj ostatné genetické faktory však riziko tvorby inhibitorov nie je známe. Za účelom stanovenia mutačného spektra génu F8 sme, v súbore 140 pacientov HA bez prítomnosti inverzie, priamym sekvenovaním kódujúcej časti génu pre faktor VIII detegovali 35 rôznych mutácií, z toho 25 je unikátnych. Najčastejšia mutácia c.1311delG; p.Ile438Leufs*44 sa zaznamenala len u 3,6 % pacientov. Len v 4 prípadoch ide o inzerčno-delečnú mutáciu a v 15 prípadoch ide o dosiaľ neznáme mutácie. Nájdené mutácie vytvárajú predpoklady pre štúdium genotypovo-fenotypových korelácií a predikciu tvorby inhibitorov.

2. CarrierTest

Bittóová M., Lhota F., Zembol F., Dohnalová L.,
Vilímová Z., Honysová B., Koudová M.,
Stejskal D.

Gennet s.r.o., Centrum lekárskej genetiky a reprodukčnej medicíny, Praha

• CarrierTest je rozšírený prekoncepčný NGS panel, ktorý jsme vyvinuli na našom pracovišti pro pacienty podstupujúci IVF program. CarrierTest vyšetruje skryté prenášeství 840 častých patogenných mutácií 79 recesívnych genů způsobujících více než 61 genetických chorob a stavů, které mohou postihnout potomky zdravých prenášečů. Patří mezi ně cystická fibróza, spinální muskulární atrofie, vrozené vady metabolismu (např. phenyketonurie), poruchy zraku a sluchu, choroby pohybového aparátu a kůže. Mutace další skupiny genů obsažených v tomto panelu mohou být významné pro vyšetřované v souvislosti s jejich

životním stylem (hemochromatóza) nebo s léčbou poruch plodnosti (trombofilní profil, odezva na hormonální léčbu). U této skupiny genů se může projevit vliv mutace již u přenašečů. Metodou je custom-designed NGS panel, který využívá amplikonové cílené sekvenování s vlastní bioinformatickou analýzou pro zpracování hrubých sekvenáčnických dat, jejich anotaci a databázovou implementaci do klinicko-laboratorního softwarového systému. Pro nahrazení MLPA a fragmentační analýzy byla vyvinuta analýza sekvenáčnického pokrytí, umožňující detekci častých CNV (copy number variant) aberací v genech *SMN1* a *CFTR*. Máme vlastní softwar pro semi-automatickou tvorbu zpráv. Součástí výstupu je i komparativní analýza nalezených variant pro posouzení prekoncepční kompatibility páru a zvážení možnosti prenatalní nebo preimplantační genetické diagnostiky. Za sedm měsíců od zavedení CarrierTestu do rutinního vyšetřování jsme otestovali 1206 jedinců. Z tohoto počtu bylo 1064 jedinců z páru před koncepcí a 142 dárců gamet. Nejčastější výskyt nosičů v testovaném souboru byl zaznamenán jak u běžně vyšetřovaných genů (*SMN*, *CFTR*, *GJB2*), tak i v nových genech, o které byl díky CarrierTestu screening rozšířen (např.: *BTD*, *MEFV*, *ABCA4*, *SERPINA1*, *ACADS*, *DHCR7*, *AR*). Hlavním účelem rozšířeného prekoncepčního screeningu je informované reprodukční rozhodnutí. Vyšetřením párů a dárců gamet CarrierTestem umožňujeme odhalit větší počet přenašečů závažných AR onemocnění a nabídnout jim vhodnou preventivní péči.

3. Nebalansovaná prestavba der(9;18)(p10;q10) u pacientky s polycytémiou vera (kazuistika)

Andrea Blahová, Kristína Lengyelová, Alena Žákovičová, Kristína Juríková, Jakub Petrik,
Miroslav Tomka, Renata Lukačková
Oddelenie klinickej genetiky, Medirex a.s., Bratislava

• Polycytémia vera (pravá polycytémia, PV) patrí medzi klonálne myeloproliferatívne neoplázie charakterizované zvýšenou produkciou erytrocytov

v kostnej dreni. Ochorenie sa môže transformovať do myelofibrózy alebo akútnej leukémie. Medián prežívania je 8-11 rokov a priemerný vek v čase diagnózy je nad 60rokov. Príčina polycytémie vera je neznáma. Ochorenie je zvyčajne získané, vo vzácných prípadoch môže byť dedičné. O polycytémii vera svedčí aj nález: mutácia JAK 2 – v približne 95% prípadov, nízka hladina hormónu erytropoetínu (EPO), ktorý je zodpovedný za produkciu červených krviniek, zmnoženie krvných buniek v kostnej dreni zistené biopsiou kostnej drene. V marci 2017 bola u 79ročnej pacientky určená diagnóza pravá polycytémia. Na cytogenetickej úrovni sme po 24hodinovej kultivácii kostnej drene zaznamenali zriedkavú prestavbu der(9;18)(p10;q10), následkom čoho je u pacientky prítomná trizómia 9p a monozómia 18p. Molekulovou analýzou sme taktiež potvrdili prítomnosť mutácie V617 v géne JAK2. Súčasný výskyt JAK2 V617F mutácie a chromozómovej prestavby der(9;18), ktorej výsledkom je extra kópia 9p oblasti, môže byť príčinou zvýšeného rizika transformácie PV do postpolycytemickej myelofibrózy a potenciálne až do akútnej myeloidnej leukémie.

4. Cri du chat syndróm – klasická delécia 5p a mikrochromozóm (array CGH detekcia)

Anna Bolčeková, Henrietta Sadiku, Martina Hikkelová, Eveline Fiedler, František Cisarík
Oddelenie lekárskej genetiky FNsP Žilina

• Presentujeme kazuistiku dieťaťa s atypickou deléciou 5p s mikroduplicáciou a triplicáciou 5p. V rámci genetického konzília na detskom oddelení JIS vo FNsP ZA sme vyšetrili 3.mesačné dievča z 3. gravidity, narodené v 39.g.t. SC s parametrami 2890g/50cm, AS 9/10, prenatalny integrovaný skrining bol negat. U dieťaťa bola pri narodení bola prítomná polytigmatizácia: kvadratická hlava, plochá štvorcovitá tvár, bilaterálne epikanty, menší nos, mikroretromandibula s tupým uhlom sánky; hrubšie, primerane nasadajúce ušnice s preaurikulárnymi

foveolami, krátky krk s tracheostómiou, na ulnárnej strane ľavej ruky je rudiment 6. prsta, laterálne uložené prsných bradaviek, mierna hepatomegália. Glosoptóza u dieťaťa spôsobovala ťažké stridorózne dyspnoe s cyanózou - vyžadovala supraglotickú plastiku vo veku 1 mesiaca, ktorá však bola neúspešná – dieťa vyžaduje tracheostómiu. V perinatálnom období zistený VDS a ASD a hypertrofická kardiomyopatia – riešené v DKC, OAE sú opakovane nevybavené, USG mozgu bolo s nálezom asymetrie postranných komôr v prospech ľavej mozgovej komory. Pracovnou diagnózou bola Pierre Robin sekvencia. Vyšetrenie karyotypu odhalilo ženský karyotyp a deléciu 5p s nejasnou mikroduplicáciou oblasti 5p: 47,XX,+mar,ish del (5)(p15.2)(D5S23,D5S721-). Následné vyšetrenie arrayCGH potvrdilo terminálnu heterozygotnú deléciu chromozómovej oblasti 5p15.33 až 5p14.1 o veľkosti 28,29 Mb, prekrývajúcu kritickú oblasť „Cri du chat syndrómu“ (CdCS; OMIM:123450) a 3 ďalšie imbalance: mikroduplicáciu chromozómovej oblasti 5p12 o veľkosti 1,45Mb a mikroduplicáciu chromozómovej oblasti 5p11.1 o veľkosti 865kb a triplikáciu chromozómovej oblasti 5q.11.1-5q.11.2 o veľkosti cca 1,83Mb. Deletovaná oblasť zahŕňa 380 génov popisovaných v databáze HGNC resp. 51 génov popisovaných v databáze OMIM. Podľa literárnych údajov, najmä delécia génov *TER-1,UBE2QL1, SEMA5A, CTNND2* môže mať klinický význam, pričom niektoré popisované znaky sú totožné s klinickým prejavom našej pacientky. Kým klinický obraz Cri-du chat syndrómu je veľmi variabilný a závislý na rozsahu delécie, mikroduplicácie a triplikácie oblasti 5p sú raritné. Doposiaľ bolo popisovaných 5 prípadov s podobným fenotypovým prejavom, ako u našej pacientky.

5. Vplyv zmeny metylačného statusu kandidátnych génov na tumorigenézu mezenchymálnych tumorov tela matrice

Dušan Braný^{1,2}, Dana Dvorská^{1,2},
Marcela Ňachajová², Erika Halášová¹,
Zuzana Danková³, Jozef Višňovský²

¹ Biomed Martin, Divízia Molekulová medicína, JLF UK v Martine

² Gynekologicko - pôrodnická klinika OJLF UK a UNM Martin

³ Biomed Martin, Divízia Onkológia, JLF UK v Martine

• Leiomyómy tela matrice, hoci benigne a účinne odstrániteľné môžu značne ovplyvňovať kvalitu života pacientky, v krajnom prípade ohroziť jej fertilitu. Aj napriek ich veľmi častému výskytu a snahe rozšíriť možnosti nechirurgickej liečby zostáva molekulárno-genetické pozadie vzniku týchto tumorov stále relatívne neobjasnené. V rámci našich analýz sme sa zamerali na možnosti vplyvu zmien v hladinách metylácie „CpG-rich“ promótorových oblastí vybraných tumor-supresorových génov na vznik leiomyómov. Ide o gény, u ktorých boli v prípade týchto tumorov preukázané zmeny v hladinách expzie, konkrétne: *CTGF* – dôležitý mitotaktant, sekretovaný vaskulárnymi endotelialnymi bunkami, ovplyvňujúci adhéziu viacerých typov buniek, vrátane fibroblastov, myofibroblastov aj endotelialných buniek; *ATF3* – estrogen-responzívny transkripčný faktor, zahrnutý v komplexnom procese bunkovej odpovede na vnútorné aj vonkajšie stresové faktory; *KLF4* – transkripčný faktor typu zinkový prst, dôležitý mediátor zastavenia bunkového cyklu po identifikácii poškodenia v G1/S, resp. G2/M kontrolnom bode, esenciálny pri diferenciácii kmeňových buniek, ale aj pri tvorbe dermálnych a kostrových štruktúr. Do štúdie bolo zaradených 63 pacientiek s diagnostikovanými leiomyómami matrice, ktoré boli operované na GPK JLF UK a UNM Martin. Pacientkam bolo odobraté tumorové tkanivo, ako aj tkanivo okolitého myometria, ktoré slúžilo ako kontrolná vzorka. Kontrolný súbor bol doplnený 7 tkanivami od pacientiek, ktoré podstúpili hysterektómiu z iných dôvodov. Odobraté

tkanivá boli stabilizované v roztoku RNA-later. Použitím DNeasy Blood & Tissue Kitu[®] bola izolovaná celková DNA. Po overení kvalitatívnych a kvantitatívnych parametrov bola získaná DNA bisulfidovo modifikovaná použitím Epitect Bisulfite kitu[®]. Analýzy sledujúce zmeny metylačného statusu promótorových oblastí boli vykonané na zariadení LightCycler480[®]. Výsledná hodnota miery metylácie sledovaných vzoriek bola porovnávaná k hodnotám metylačných dilučných rád a štatisticky spracovaná metódou Mann-Whitney U testu a Chí-kvadrát testu. V prípade sekvencií promótorových oblastí génu *CTGF* neboli pozorované zmeny v metylačnom stave medzi nádorovými a kontrolnými vzorkami – v oboch prípadoch zostávala hladina metylácie na minimálnej úrovni. V rámci analýz génu *ATF3* dochádzalo k zmene metylačného statusu iba ojedinele (mierna demetylácia), pričom tieto zmeny neboli štatisticky významne signifikantné ($p > 0,05$). Promótorové sekvencie *ATF3* však u zdravých aj nádorových tkanív vykazovali vysoké hladiny metylácie. V prípade génu *KLF4* takmer všetky vzorky myometria vykazovali veľmi nízku úroveň metylácie, naopak, tumorové vzorky sa preukázali ako rozdielne metylované s vysokou signifikanciou ($p < 0,01$), v širokej škále od 0%-100%. Vzhľadom k faktu, že neboli pozorované rozdiely v úrovni metylácie vybraných „CpG-rich“ promótorových sekvencií génov *CTGF* a *ATF3* medzi zdravými a tumorovými tkanivami, možno sa prikloniť k názoru, že epigenetické modifikácie tohto typu s vysokou pravdepodobnosťou neovplyvňujú expzie daných génov. Na definitívny záver by však bolo nutné analyzovať rozsiahlejšie sekvencie promótorových oblastí. Na druhej strane, gén *KLF4* vykazoval výrazne zmeny v úrovni metylácie medzi nádorovými a zdravými tkanivami, ako aj tumorovými tkanivami navzájom, v zhode so zníženou mierou expzie tohto génu. Dá sa teda očakávať, že tieto zmeny sa môžu v nezanedbateľnej miere podieľať na tumorigenéze leiomyómov a poukazujú na dôležitosť *KLF4* ako transkripčného faktora v rámci širokého spektra bunkových procesov.

6. Prenatálna genetická diagnostika v SR za rok 2016

František Cisarík et al.

Oddelenie lekárskej genetiky FNŠP Žilina,
Spanyola 43, Žilina

• Od roku 2010 zaznamenávame rýchly pokles počtu vykonaných invazívnych odberov vzoriek na prenatálne genetické vyšetrenie. V roku 2010 to bolo 3707 vzoriek, v roku 2016 bol odber 2010 vzoriek. Počet diagnostikovaných chromozómových anomálií stúpil zo 121 v roku 2010 na 163 v roku 2016 a v posledných rokoch sa pohybuje medzi 151 až 167 ročne. Stúpa tak aj efektívnosť zistenia chromozómových chýb, v roku 2016 na 8,1%, teda na zistenie 1 chromozómovej anomálie je potrebné vykonať cca 12-13 invazívnych odberov vzoriek (v podstate odberov plodovej vody). V tejto súvislosti je zaujímavá štatistika novorodených detí s Downovým syndrómom (DS), ktorá sa prakticky mení minimálne. V roku 2016 sa narodilo 43 detí s DS. V rokoch 1994-2016 sa počet novorodencov s DS pohyboval v rozmedzí 32 až 67 ročne. Od roku 2004 (kedy začalo sledovanie) počet prenatálne zistených kazuistik s DS významne stúpa (34 v roku 2004, 84 v roku 2016) a v posledných rokoch sa pohybuje medzi 83-90 kazuistikami ročne. Pozoruhodný je údaj o prenatálnej diagnostike Downovho syndrómu u novorodencov s touto diagnózou. V roku 1994 to bolo 8,7%, v roku 2016 to bolo 40% novorodencov u ktorých sa stanovila dg. Downovho syndrómu prenatálne. Štatistiky prenatálnej a postnatálnej zistených kazuistik s Downovým syndrómom dávajú autori do súvislosti so štatistikou všetkých chromozómových anomálií zistených prenatálne, s vývojom skríningových stratégií, so záujmom o prenatálnu genetickú diagnostiku zo strany matiek a pod.

7. Prvé skúsenosti s RHD genotypizáciou u pacientov so slabým RhD fenotypom v SR

Čamajová J.¹, Gorcová M.¹, Kučeráková M.², Holienková J.², Melegová J.¹, Vavřík J.¹

¹ KLINICKÁ BIOCHÉMIA s.r.o., Oddelenie molekulárnej biológie, Žilina

² HTO FNsp Žilina, NTS SR Žilina

RhD antigén je jedným z najimunogénnejších a tým klinicky najvýznamnejších antigénov erytrocytov. Predstavuje súbor epitopov na povrchu extramembránovej časti RhD proteínu. Jeho správne určenie má veľký význam pri prevencii hemolytickej potransfúznej reakcie a pri prevencii a liečbe hemolytického ochorenia novorodencov. Antigény Rh systému kódujú 2 homologné gény *RHD* a *RHCE*, ktoré sa nachádzajú v RH lokuse a sú orientované oproti sebe na chromozóme 1 (1p36.11). Majú 93,8% homológiu. *RHD* gén je obklopený 2 DNA segmentami - tzv. Rhesus boxami, ktoré umožňujú nerovnomerný crossing-over a tým kompletnú deleciiu génu *RHD*. Stanovenie RhD je komplikované existenciou kvalitatívnych (t.j. variantné D antigény, ktorým chýbajú niektoré epitopy) a kvantitatívnych (t.j. slabé - D weak antigény) foriem RhD proteínu. Viac ako 200 *RHD* alieli je kategorizovaných podľa mutácií, ktoré vedú ku kvalitatívnym alebo kvantitatívnym zmenám v expresii D antigénu. Môže sa jednať o zmenu 1 alebo viacerých nukleotidov, čo vedie k zámene aminokyseliny v RhD proteíne alebo vznik hybridných alieli z oboch génov v dôsledku génovej konverzie. Sérologické vyšetrenie antigénu D neumožňuje odlišenie variantných a slabých D a je potrebné využitie možností molekulárno-genetickej genotypizácie. Znalosť zastúpenia jednotlivých variantných a slabých D antigénov v konkrétnej populácii je dôležitá aj pre správny výber diagnostik na vyšetrenie darcov krvi a pacientov. V prvej fáze boli vzorky vyšetrené sérologicky s Extended RhD setom firmy Bio-Rad, ktorý obsahuje 12 monoklonálnych anti-D umožňujúcich rozpoznanie najčastejších variantov D. Na základe sérologického vyšetrenia je možné základné odlišenie variantných a slabých D, definitívny záver je

však možný až po genetickom vyšetrení. Pri molekulárno-genetickom vyšetrení RHD boli použité komerčné CE IVD kity pre detekciu alieli atypických D foriem pomocou metódy PCR-SSP (BAGene Weak D-TYPE, BAGene Partial D-TYPE (BAG Health Care)). DNA bola izolovaná z venóznej krvi. BAGene Partial D-TYPE kitom je možné molekulárno-genetické určenie parciálneho D: DII, DIII, DIV, DV, DVI, DVII, DAU, DBT, DFR, DHMI, DNB a DHAR (Rh33), zatiaľ čo BAGene Weak D-TYPE kit slúži na odlišenie slabých D typov, vrátane 1/1.1, 2, 3, 4.0 / 4.1, 4.2, 5, 11, 15, 17 a 20. Pri doterajších vyšetreniach boli vyšetřovaní pacienti, u ktorých výsledky sérologických vyšetrení poukazovali na suspektnú weak formu D antigénu. *RHD* genotypizáciu sme aktuálne detekovali D weak typy 1, 2 alebo 3, pričom najčastejší bol zatiaľ D weak typ 1. V kaukazskej populácii v strednej Európe približne 93% pacientov so sérologickým D weak fenotypom má D weak typ 1, 2 alebo 3. Títo pacienti môžu byť ošetrení ako RhD pozitívni, nakoľko u nich nebola dokázaná aloimunizácia anti-D. Tento jav je pravdepodobne spôsobený faktom, že daná *RHD* alela kóduje všetky epitopy RhD, hoci v menšej povrchovej hustote ako u wild-type červených krviniek. U iných D weak typoch bola aloimunizácia pozorovaná a teda musia byť ošetrení ako Rh-negatívni. Metódy *RHD* genotypizácie tak môžu identifikovať osoby s takým fenotypom D weak, ktoré môžu byť ošetrované ako Rh-pozitívni a nevyžadujú RhIG pre prenatálnu alebo popôrodnú imunoprophylaxiu. Molekulárno-genetické testy dopĺňajú sérologické metódy, aby pomohli rozriešiť diskrepancie v sérologickom typovaní, keď sú antigény exprimované slabé alebo majú chýbajúce alebo zmenené epitopy. Z praktického hľadiska je významné hlavne odlišenie D weak typ 1, 2 a 3, pri ktorých nebola dokázaná aloimunizácia anti-D a teda títo pacienti môžu dostať pri hemoterapii RhD pozitívnu krv a tehotné ženy a ženy po pôrode nevyžadujú RhIG imunoprophylaxiu. Pri iných RhD^{wt} sa odporúča podanie RhD negatívnej krvi a u gravidných podľa zváženia RhIG imunoprophylaxia. Odlišenie weak D typov 1, 2 a 3 je možné len na základe *RHD* genotypizácie.

8. Uplatnenie nízko penetrujúcich polymorfizmov v predikcii rizika vzniku rakoviny prsníka

Danková Z.¹, Šťastný I.^{1,2}, Žúbor P.^{1,2}, Jagelková M.^{1,2}, Zelinová K.^{1,2}, Grendár M.³, Gondová A.², Kasajová P.², Kalman M.⁴, Lasabová Z., Danko J.

¹ Divízia onkológia, Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

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

³ Oddelenie bioinformatiky, Martinské centrum pre biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

⁴ Ústav patologickej anatómie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica v Martine

Rakovina prsníka je závažný, celosvetovo rozšírený zdravotný problém, ktorý vzniká v dôsledku interakcie environmentálnych (vonkajších) faktorov a genetickej predispozície. Rakovina prsníka predstavuje približne 25% zo všetkých nádorových chorôb. Toto multifaktoriálne ochorenie je značne ovplyvňované rozdielne penetrujúcimi genetickými faktormi. Približne 10% všetkých karcinómov prsníka je dedičných, teda vyvolaných zárodočnými mutáciami v predispozičných génoch s vysokou penetranciou (*BRCA-1*, *BRCA-2*, *TP53*). S rakovinou prsníka tiež úzko súvisí aj viacero polymorfizmov s nízkou penetranciou. Ich objav a validácia vytvára príležitosť zistiť, či tieto SNP môžu byť použité ako prediktory vzniku tohto závažného ochorenia. Cieľom tejto štúdie bolo zistiť, v akej miere sa polymorfizmy s nízkou penetranciou-*TOX3* rs3803662 (*C/T*), *MAP3K1* rs889312 (*A/C*), *FGFR2* rs2981582 (*C/T*), a *FGF10* rs4415084 (*C/T*), uplatňujú pri predikcii vzniku rakoviny prsníka. Sledovaný súbor pozostával zo 170 žien s nádorom prsníka (57,06±11,60 rokov) a zo 146 žien bez histórie akéhokoľvek malígneho ochorenia (50,24±10,69 rokov). Na detekciu genotypov sme použili vysoko-rozlišovacu analýzu kriviek topenia (HRM) s validáciou Sangerovým sekvencovaním. P-hodnota chi-kvadrát testu bola

počítaná simuláciou Monte Carlo, presnosť „RandomForest“ prediktívneho modelu bola hodnotená oblasťou pod ROC krivkou (AUC). Zo štyroch nami vyšetřovaných polymorfizmov, sa v sledovanom súbore pacientok ako najvýznamnejšie pri predikcii karcinómu prsníka ukázali dva, a to konkrétne *FGFR2* (*C/T*) ($p=0,015$) a *MAP3K1* (*A/C*) ($p=0,032$). Pomer šancí (OR) pre *FGFR2* bol v prípade alely T 1,517 (95% CI: 1,096-2,104, $p=0,014$) a pre *MAP3K1* v prípade alely C 1,675 (95% CI: 1,167-2,421, $p=0,006$). Multivariačná logistická regresia zahŕňajúca všetky SNP a vek ukázala ako významné prediktory rakoviny prsníka *FGFR2*, *MAP3K1* a vek. Presnosť testu, determinovaná ROC krivkou bola 69,5%. Predikčná schopnosť testu hodnotená klasifikačným algoritmom bola 67,3%, jeho špecifita 88,6% a senzitivita 35,9%. V sledovanom súbore pacientok sme detegovali významnú úlohu v predikcii karcinómu prsníka v prípade dvoch polymorfizmov (*FGFR2* rs2981582 a *MAP3K1* rs889312).

9. Skúsenosti s diagnostikou DiGeorge syndrómu na našom pracovisku v období od roku 2007 – 2016

Drozdíková V., Fojtíková M., Zmajkovičová D., Pietrzyková M.

Oddelenie lekárskej genetiky UNB Staré mesto, Americké námestie 3, Bratislava

DiGeorge syndróm (DGS) je spájaný s mikrodenciou dlhého ramena chromozómu 22 v oblasti 22q11.2 s frekvenciou výskytu približne 1:4000, čiže sa jedná o najfrekventovanejší mikrodenciálny syndróm. Klinické príznaky DiGeorge syndrómu zahŕňajú predovšetkým vrodené vývojové chyby srdca (hlavne konotrunkálneho typu), hypoplastický až aplastický týmus s poruchou imunity (deficit T - lymfocytov), typickú somatofaciálnu dysmorfriu a neonatálnu hypokalcémiu. Oneskorený psychomotorický vývoj a porucha učenia sú prítomné u 70%-90% prípadov. Diagnostika DiGeorge syndrómu sa môže uskutočňovať metódou fluorescenčnej *in situ* hybridizáciou (FISH) použitím sond

N25 (100kb) a TUPLE1 (110kb). Obidve tieto sondy hybridizujú s oblasťou kritického úseku pre DGS. Pomocou FISH je možné diagnostikovať 85-90% pacientov s mikrodéleciou 22q11.2. V niektorých prípadoch, aj napriek prítomnosti fenotypových znakov DGS, nebola delécia FISH metódou potvrdená. Predpokladá sa, že môže ísť o mikrodéleciu na inom chromozóme (DGS-like syndróm) alebo že sa jedná o mikrodéleciu menšieho rozsahu. Našom pracovisku robíme molekulovo-cytogenetické vyšetrenie metódou FISH na mikrodélečné syndrómy od roku 1997. Súbor pacientov, ktorý vyhodnocujeme v tejto práci, je z obdobia rokov 2007 – 2016. Indikovaných bolo 277 pacientov s podozrením na DGS. FISH vyšetrenie odhalilo mikrodéleciu u 41 pacientov (14,8%). Delécia nastala v miestach pre obidve sondy, N25 aj TUPLE1 (okrem 1 prípadu, kde sme zistili menšiu deléciu, len v oblasti sondy TUPLE1). V našej práci sa tiež zaoberáme variabilnými fenotypovými prejavmi delécie v oblasti 22q11.2 v súbore našich pacientov.

10. Aberácie v aktivite esenciálnych génov v tkanivách leiomyómov maternice

Dana Dvorská^{1,2}, Dušan Braný^{1,2}, Marcela Ňachajová¹, Erika Halašová¹, Jozef Višňovský^{1,2}

¹ Martinské centrum pre biomedicínu, Divízia Molekulová medicína, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

² Gynekologicko - pôrodnická klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin, Slovenská republika

• Maternicové leiomyómy predstavujú veľmi heterogénnu skupinu onemocnení. Jednotlivé tumory sa v rámci tej istej maternice môžu výrazne odlišovať vo veľkosti ako aj v rýchlosti rastu. Rovnako, aj počet leiomyómov môže variovať od solitárnych až po niekoľko desiatok. Táto variabilita sa odráža aj v pozadí ich vzniku. Každý jeden leiomyóm, vznikajúci autoklonálne, môže vzniknúť pôsobením rôznych

genetických, hormonálnych a ďalších spúšťačov. Doposiaľ bolo popísaných viacero aberantne exprimovaných génov, chromozomálnych prestavieb ako aj konkrétnych mutácií spojených so vznikom leiomyómov. V neposlednom rade sa na tumorogénne leiomyómov môžu podieľať aj epigenetické faktory, respektíve pôsobenie krátkych nekódujúcich RNA. Naším cieľom je určiť, či dochádza v tkanivách leiomyómov k zmene aktivity vybraných, zväčša tumor-supresorových génov *TIMP3*, *ANXA11*, *KLF4*, *ATF3* a *CTGF*, respektíve, či takáto zmena môže byť považovaná za marker leiomyómov maternice. Do našej štúdie bolo zaradených 63 vzoriek od pacientiek s diagnostikovaným nálezom leiomyómov maternice. Biobanka bola vytvorená v spolupráci s Gynekologicko-pôrodnickou klinikou JLF UK a UNM, Ústavom Patologickej Anatómie JLF UK a UNM a Divíziou Molekulová medicína BioMed JLF UK v Martine. Okrem DNA odobraného z nádorového tkaniva maternice banka obsahuje aj zdravé vzorky pacientov, ktoré slúžia ako kontrolné. Odobraté tkanivá boli stabilizované a zamrzené v roztoku RNA-later. RNA bola izolovaná použitím RNeasy® Mini Kitu. Po overení kvalitatívnych a kvantitatívnych parametrov bola získaná RNA prepísaná do cDNA s pomocou High-Capacity RNA-to-cDNA™ Kitu. Sledovanie miery expície vybraných génov bolo vykonané na zariadení Applied Biosystem 7500® Fast. Získané výsledky boli štatisticky vyhodnotené použitím Mann-Whitney U testu. V prípade všetkých piatich génov sme preukázali zníženú mieru expície v tumorových tkanivách oproti tkanivám zdravého myometria. Dochádza teda pravdepodobne k nefyziologickému utlmeniu expície/aktivity týchto génov. Konkrétne, gén *TIMP3* bol podexprimovaný ~ 2,12 násobne ($p < 0,05$); *ANXA11* ~ 2,49 nás. ($p < 0,05$); *KLF4* ~ 4,74 nás. ($p < 0,05$); *ATF3* ~ 3,92 nás. ($p < 0,05$); a *CTGF* ~ 2,7 nás ($p < 0,05$). Gén *TIMP3* pôsobí ako inhibitor metaloproteináz, čo je skupina peptidáz zahrnutá v degradácii extracelulárnej matrix (ECM). Ako je známe, rast leiomyómov je spätý s excesívnou produkciou disorganizovanej extracelulárnej matrix, ktorá zostáva aberantne stá-

la a relatívne nemenná. Jednou z príčin tohto stavu môže byť práve aj znížená aktivita metaloproteináz. Možno teda konštatovať, že práve aberantná aktivita génu *TIMP3* môže mať potenciálne vplyv na vznik tohto stavu. Annexin A11 patrí do rodiny Ca²⁺ regulovaných, na fosfolipidoch závislých a na membránu viazaných aneXínových cytosolických proteínov, ktorých hlavnou úlohou je sprostredkovať prenos informácií medzi proteínmi v bunkovej membráne a ostatnými proteínmi v bunke. Je známe, že expresia *ANXA11* býva bežná za fyziologických podmienok zvýšená a jej zníženie možno teda považovať za aberantné. Gény *KLF4* a *ATF3* predstavujú významne transkripčné faktory, regulujúcich rozsiahlu kaskádu bunkových procesov, pričom ich aberantná aktivita sa môže odraziť v dysregulácii viacerých bunkových dráh. Záverom, gén *CTGF* predstavuje dôležitý faktor pre správny priebeh angiogenézy, teda zmena aktivity tohto génu sa môže podieľať na formovaní typického modelu krvného zásobovania leiomyómov.

11. Rutledge lethal multiple congenital anomaly syndrome: a rare form of Smith-Lemli-Opitz syndrome

Gécová D.¹, Karelová J.¹, Repiský M.², Lisyová J.², Lexová Kolejková K.², Lukačková R.³, Čajková J.⁴, Ďurovčíková D.¹

¹ Klinika lekárskej genetiky SZU a UNB

² Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LFUK a UNB

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

⁴ Novorodenecké oddelenie UNB

• Rutledge multiple congenital anomaly syndrome is a severe neonatal and lethal 'type II' disorder of Smith-Lemli-Opitz syndrome (SLOS). This autosomal recessive disorder is caused by homozygous or compound heterozygous mutations in delta-7-dehydrocholesterol reductase; located on chromosome 11q12-q13. In 1984 J.C. Rutledge first described multiple congenital malformations including joint contractures, polydactyly, craniofa-

cial deformations, cardiac and respiratory anomalies, cerebellar hypoplasia, sex reversal and early lethality. Prenatal diagnosis by ultrasonography and analysis of cholesterol level by amniocentesis is possible. We report a case of a premature female newborn sent to our department with multiple malformations including hypotrophy, ventricular septal defect, facial stigmatization, skeletal dysplasia, clubfoot, hexadactyly, syndactyly, hypoplastic kidney and lungs. Several blood samples were taken for classic cytogenetic examination, molecular and biochemical analysis. Biochemical analysis proved a high level of 7-dehydrocholesterol and a low level of cholesterol which is significant for Smith-Lemli-Opitz syndrome. A multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) method was used to rule out possible microdeletion or microduplication syndromes and came out as negative. Molecular methods such as PCR-RFLP (polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism) revealed the most frequent mutation W151X (one allele) in exon 6. This mutation leads to a premature termination codone and therefore a dysfunctional protein. Additional sequencing of exon 3 – 9 revealed another mutation IVS8-1G>C in intron 8 which affects mRNA splicing and leads to a dysfunctional protein as well. Cytogenetic methods (G- and C-banding) were used to confirm a sex reversal karyotype 46,XY supported by molecular analysis of Y-specific sequences with no other structural or numerical abnormalities. This phenotypically female baby, who died at the age of 2 days, was a confirmed compound heterozygote in the DHCR7 gene with the manifestation of the Smith-Lemli-Opitz syndrome type II. As with any genetic disorder, genetic counseling for the parents is a very important part of this work and a necessary component for their future offspring.

12. Prenatální diagnostika Downova syndromu v Česku

Vladimír Gregor^{1,2,4}, Antonín Šípek^{1,2,3},
Antonín Šípek Jr.^{1,5}, Jiří Horáček^{1,6}

¹ Oddělení lékařské genetiky, Thomayerova nemocnice, Praha

² PRONATAL Sanatorium, Praha, Praha

³ Ústav lékařské genetiky, 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

⁴ Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha, Katedra lékařské genetiky

⁵ Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. lékařská fakulta University Karlovy a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

⁶ Gennet, Praha

• Historie registrace diagnóz ze skupiny vrozených vad a chromozomových aberací má v našich zemích dlouhou tradici. Oficiální a celoplošná registrace vrozených vad v tehdejších Československu byla zahájena k 1. lednu 1964. Vyústila tak několikaletá snaha o založení celostátního registru, jednoho z prvních na světě. Se založením registru se neodmyslitelně pojí jméno dr. Jiřího Kučery z pražského Ústavu pro péči o matku a dítě. Za více jak 50 let historie prošla registrace vrozených vad a chromozomových aberací v českých zemích významnými změnami. Spektrum hlášených diagnóz se postupně rozšiřovalo. Jisté je třeba zmínit rok 1985, kdy se aktivně začala sbírat i data o prenatálně diagnostikovaných případech vrozených vad a chromozomových aberací. Oficiální součástí národní registrace se stala prenatální diagnostika v roce 1996. Úkolem této registrace není jen prosté sčítání veškerých hlášených případů a porovnání čísel s rokem minulým. Důležitou součástí jsou podrobnější analýzy všech zjištěných trendů, například vyhodnocování vlivu měnící se strategie prenatálních screeningových vyšetření v posledních dvou dekádách. Data z České republiky jsou navíc dále vyhodnocována i v mezinárodním kontextu – ve spolupráci s organizacemi ICBDSR a EUROCAT. Přes více jak padesátiletou zkušenost s registrací je stále zapotřebí vzájemnou spolupráci rozvíjet. Moderní doba nabízí nové výzvy pro registraci, na které je potřeba průběžně reagovat změnami metodiky.

Velkou výhodou naší registrace je excelentní spolupráce s odborníky na všech úrovních, bez jejichž příkladné a trpělivé spolupráce by vybudování podobného registru nebylo nikdy možné.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR. AZV 17-29622A

13. Interpretácia tehotenstiev s dvojčikami v NIPT teste

Hýblová M., Ďuriš F., Kucharik M., Budiš J., Minárik G., Szemes T.

Genet, UVP, Ilkovičova 8, Bratislava

• V štúdiu sme validovali *in house* algoritmus a jeho citlivosť detegovať pohlavie dvojčiat v dvojplodových graviditách, ktorých výsledok sa overoval v telefonickom prieskume po ich narodení. Primárnym cieľom tejto štúdie nebolo len potešiť rodičov informáciou o pohlaví oboch plodov ale jeho širšie využitie by pomohlo pri identifikácii syndrómu miznúceho dvojčata, keďže je známe že tento fenomén je pri viacplodových graviditách pomerne častý, s vekom narastá a môže byť zdrojom falošne pozitívnych výsledkov v neinvazívnom prenatálnom testovaní. Kým pri monozygotných dvojčatách je karyotyp oboch plodov rovnaký, a tým pádom detekcia pohlavia testom nepredstavuje problém, výzvu predstavujú hlavne dizygotné tehotenstvá s diskordantným karyotypom. Celogenómovým sekvenovaním sme podrobili analýze 60 dvojplodových tehotenstiev, v 54 prípadoch (90%) sme kombináciu pohlaví stanovili správne. Z 18 tehotenstiev sa narodili chlapec – chlapec (30%), rovnako z 18 tehotenstiev sa narodili dievča – dievča (30%) a v 24 prípadoch sa narodili dvojčatá chlapec – dievča ako najčastejšia alternatíva (40%). V 6 prípadoch bol výsledok neinformatívny (10%), kde ako výsledok pripadali do úvahy možnosti dievča chlapec aj kombinácia chlapec chlapec.

14. Analýza somatických patogénnych variantov u pacientok s karcinómom prsníka alebo ovárií využitím „tekutej biopsie“ - pilotná štúdia

Jagelková M.^{1,3}, Zelinová K.^{1,3}, Laučeková Z.³, Grendár M.², Lasabová Z.^{1,4}, Dókuš K.³

¹ Martinské centrum pre biomedicínu, Divízia Onkológia, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko

² Martinské centrum pre biomedicínu, Oddelenie bioinformatiky, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko

³ Gynekologicko-pôrodná klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin, Slovensko

⁴ Ústav molekulovej biológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovensko

• Karcinóm prsnej žľazy patrí v súčasnej dobe medzi najčastejšie diagnostikované onkologické ochorenia a je hlavnou príčinou úmrtí asociovaných s rakovinou u žien. Ovariálny karcinóm je v poradí siedmym najčastejším nádorovým ochorením s vysokou mortalitou. Pre oba typy nádorov sú charakteristické genetické zmeny v rôznych génoch zapojených v dôležitých signálnych dráhach, ktoré sa vyznačujú veľkou mierou heterogenity. „Tekutá biopsia“ umožňuje analýzu génových mutácií vyskytujúcich sa v heterogénnych nádoroch využitím voľne cirkulujúcej tumorovej DNA (ctDNA), ktorá sa uvoľňuje do periférnej krvi. Cirkulujúca tumorová DNA bola izolovaná pomocou QIAamp DSP Virus kit (QIAGEN, Nemecko) zo vzoriek krvnej plazmy od pacientok s histologicky potvrdeným karcinómom prsníka alebo ovárií odobratej pred operáciou. Izolovaná ctDNA bola následne zakoncentrovaná využitím prístroja CentriVap Concentrator (LABCONCO, USA). DNA knižnica bola pripravená pomocou TruSight Tumor 26 Kit (Illumina, USA) a sekvenovaná na platforme MiSeq (Illumina, USA). Kvalita a kvantita DNA knižnice bola stanovená prostredníctvom Qubit 2.0 Fluorometer (Invitrogen, USA) a 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Nemecko). Získané sekvenáčne dáta boli vyhodnotené bioinformatic-

kým nástrojom Ingenuity Variant Analysis (QIAGEN, Nemecko) a jednotlivé somatické varianty génov boli porovnané s externou databázou COSMIC. Vyšetrovaný súbor tvorili tri pacientky s diagnostikovaným karcinómom prsnej žľazy a štyri pacientky s ovariálnym karcinómom. U všetkých siedmich pacientok sme detekovali viaceré somatické patogénne varianty v sledovaných 26 génoch, pričom u šiestich pacientok sme identifikovali frameshiftovú mutáciu v géne *MSH6* (c.3261delC, p.F1088fs*2). Medzi najčastejšie mutované gény patrili *TP53*, *APC* a *MSH6*. Sekvenovaním novej generácie sme analyzovali somatické varianty s patologickým efektom v ctDNA získanej z krvnej plazmy pred operáciou. Výsledky analýzy ctDNA v ďalších testoch porovnáme s génovým profilom zo vzoriek plazmy odobratej od pacientok po absolvovaní adjuvantnej liečby.

Táto práca bola podporená projektom APVV-14-0815 a grantom Univerzity Komenského č. UK/28/2017.

15. Variabilita v génoch kódujúcich adipocytokíny, ich plazmatické koncentrácie a vzťah ku klinickým parametrom u pacientov s diabetes mellitus 2. typu a chronickou parodontitídou

Július Jánoš¹, Petra Bořilová Linhartová^{1,2},
Hana Poskerová¹, Lydie Izakovičová Hollá^{1,2}

¹ Stomatologická klinika, Lekárska fakulta, Masarykova univerzita a Fakultná nemocnica u sv. Anny, Brno

² Ústav patologickej fyziológie, Lekárska fakulta, Masarykova univerzita, Brno

• Adipocytokíny - adiponektín (ADIPOQ) a rezistín (RETN), hrajú rolu v modelácii zápalovej odpovede, ktorá je charakteristická pre ochorenie diabetes mellitus 2. typu (T2DM) aj chronickú parodontitídu (CP) a súvisí aj s recipročným vzťahom medzi týmito chorobami. Cieľom našej štúdie bolo analyzovať 3 vybrané polymorfizmy v génoch pre tieto cytokíny, stanoviť ich koncentrácie v plazme a výsledky

korelovať s klinickými parametrami u pacientov s CP s/bez T2DM a u systémovo zdravých jedincov bez CP v českej populácii. V rámci štúdie kontrol a prípadov bolo vyšetrených 77 osôb: 37 pacientov s T2DM a CP, 20 systémovo zdravých jedincov s CP a 20 zdravých kontrol. Stanovenie genotypov v polymorfnych oblastiach v génoch *ADIPOQ* (rs2241766, rs1501299) a *RETN* (rs1862513) bolo založené na princípe metódy polymerázovej reťazovej reakcie s následným štiepením reštrikčnou endonukleázou (PCR-RFLP) alebo na real-time PCR s využitím fluorescenčne značených TaqMan sond. Koncentrácie adipocytokínov v plazme boli analyzované s pomocou ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) kitov. Distribúcie alelických a genotypových frekvencií u všetkých študovaných polymorfizmov v génoch pre adipocytokíny boli medzi skupinami pacientov s T2DM+CP, iba s CP alebo zdravými kontrolami podobné ($P>0,05$). Nezistili sme ani štatisticky významný rozdiel v koncentráciách *ADIPOQ* a *RETN* v plazme pacientov vs. kontrol ($P>0,05$); koncentrácia *ADIPOQ* v plazme však korelovala s glykémiou ($P<0,05$) aj s koncentráciou glykovaného hemoglobínu ($P\leq 0,01$). Našli sme vzťah aj medzi variabilitou v *ADIPOQ* (rs2241766) a koncentráciou LDL (low density lipoprotein, $P<0,01$) a genotyp CC polymorfizmu *RETN* (rs1862513) sme asociovali so zvýšenou hladinou triglyceridov ($P<0,05$). Hoci u českých pacientov neboli potvrdené asociácie vybraných polymorfizmov v génoch *ADIPOQ* a *RETN* s T2DM alebo CP zistené v iných populáciách, varianty *ADIPOQ* (rs2241766) a *RETN* (rs1862513) môžu mať vplyv na lipidový profil a koncentrácia *ADIPOQ* v plazme súvisí s dôležitými parametrami sledovanými pri diagnostike a v priebehu DM.

Štúdia bola finančne podporená z prostriedkov poskytnutých Lekárskou fakultou MU juniorskému výskumníkovi Petre Bořilovej Linhartovej, z projektu MUNI/A/0948/2016 a z grantu GAČR GB14-37368G.

16. Molekulárno-genetická podstata a diagnostika familiárnej hypercholesterolémie

Juhosová, M., Kramárová, V., Hlavatá, A., Jungová, P., M., Chandoga, J.
Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LFUK a UNB Oddelenie molekulovej a biochemickej genetiky - Centrum zriedkavých genetických chorôb, Nemocnica Staré Mesto, Mickiewiczova 13, Bratislava

Familiárna hypercholesterolémia (FH) tvorí skupinu autozómovo dedičných metabolických ochorení spôsobených mutáciami v génoch pre LDL receptor (*LDLR*), v géne pre apolipoproteín B-100 (*APOB-100*) alebo proproteínkonvertázu subtilisin/kexin typ 9 (*PCSK9*) – autozómovo dominantné hypercholesterolémie (60-80%), raritne v géne pre LDL receptor adaptor protein (*LDLRAP1*, známy aj ako *ARH*) - autozómovo recesívna hypercholesterolémia. FH je charakterizovaná výrazne zvýšenou hladinou LDL cholesterolu, sľachovými xantómami a zvýšeným rizikom koronárnej srdcovej choroby. Fenotypová expresia je variabilná, ovplyvnená vekom, pohlavím, diétou, génom, v ktorom sa mutácia nachádza. Ochorenie sa vyskytuje v miernejšej heterozygotnej a závažnej homozygotnej forme. Heterozygoti pre FH majú patogénny variant v jednom z troch génov (*LDLR*, *APOB-100*, *PCSK9*), s prevalenciou 1:200-500. Títo jedinci majú počet LDL častíc v plazme dvojnásobne zvýšený (priemerné hodnoty TC: 9-14 mmol/l, LDL-C 5-10mmol/l). Homozygotná forma FH môže byť zapríčinená bialelovým patogenetickým variantom v jednom z uvedených génov, alebo prítomnosťou jedného patogénneho variantu v dvoch rôznych uvedených génoch. Prevalencia je 1:160000 až 1:1000000 (priemerné hodnoty TC: 17-26mmol/l, LDL-C:15,5 mmol/l). Bez adekvátnej liečby sa u heterozygotnej formy vyvíjajú príznaky kardiovaskulárnych ochorení u mužov bežne vo štvrtjej dekáde a u žien v piatej dekáde života (častejšie koronárna srdcová choroba než NCMP). U pacientov s homozygotnou formou sa manifestujú závažné kardiovaskulárne príhody v detstve, často už v druhej dekáde života. Diagnostikovať FH je dôležité vo včasnom štádiu.

V SR sa v rámci preventívnych prehliadok na základe Metodického pokynu MZ 13010/2004 vykonáva univerzálny skrining celkového cholesterolu u detí vo veku 11 a 17 rokov. Problematika FH zotrúva predmetom záujmu predovšetkým lekárov, ktorí aktívne vstupujú do liečebného procesu a denne sa stretávajú s ochoreniami kardiovaskulárneho systému a s jej fatálnymi následkami u postihnutých jedincov. Molekulárno-genetické vyšetrenia FH smerujú k potvrdeniu či vylúčeniu suspektnej diagnózy a k určeniu možnej genetickej príčiny. Na našom pracovisku v prvom kroku realizujeme PCR-RFLP najčastejšej mutácie R3500Q v géne *APOB-100*. V prípade negatívneho nálezu sa pokračuje mutačnou analýzou génu pre LDL receptor (sekvenčná analýza, MLPA), prípadne *PCSK9* génu. Do molekulárno-genetickej analýzy *APOB-100*, *LDLR* a *PCSK9* génu sú zahrnutí pacienti, ktorí spĺňajú klinické a laboratórne kritériá (výsledky biochemických testov lipidových parametrov, pozitívna osobná či rodinná anamnéza). Celkovo bolo v rokoch 2015-2017 analyzovaných 40 vzoriek probandov detí suspektných pre FH, v 18 prípadoch bola potvrdená mutácia v *LDLR* géne. U dospelými probandov zo 44 analyzovaných vzoriek bola potvrdená mutácia v *LDLR* v 12 prípadoch a v géne *APOB* v 3 prípadoch.

17. Myelodysplastický syndróm s komplexným karyotypom – kazuistika

Juríková, K.¹, Žákovičová, A.¹, Oravcová, A.¹, Václavová, V.¹, Tomka, M.¹, Durošková, M.¹, Večeřová, D.², Marcinek, J.³, Železníková, T.⁴
¹ Medirex a.s., Oddelenie genetiky, Bratislava
² Fakultná nemocnica Trenčín
³ Martinské biopické centrum, s.r.o., Martin
⁴ Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava

Myelodysplastický syndróm (MDS) predstavuje heterogénnu skupinu ochorenia krvotvorby, ktorá vzniká v dôsledku poškodenia pluripotentnej kmeňovej hematopoetickej bunky. Kazuistika popisuje 77 ročnú pacientku, ktorej vzorka kostnej drene

bola zaslaná na oddelenie genetiky s podozrením na MPN/ MDS (myeloproliferatívna neoplázia, myelodysplastický syndróm). Cytogenetické vyšetrenie sme uskutočnili z heparinizovanej kostnej drene, ktorá bola krátkodobo kultivovaná (24 h), opracovaná kolcemidom, chloridom draselným (KCl) a následne spracovaná trojitou fixáciou (metanol/kys. octová). Preparát bol potom zafarbený Wrightovým farbivom (G-band). Fluorescenčnú *in situ* hybridizáciu (FISH) sme uskutočnili z rovnakého materiálu. Aplikovali sme komerčne dostupné sondy (MetaSystems). Cytogenetickým vyšetrením pomocou metódy G-banding sme u pacientky stanovili komplexný karyotyp vo všetkých analyzovaných metafázach. FISH vyšetrením sme potvrdili trizómiu 8, deléciu 5q31 a p53, ktoré sú charakteristické pre MDS. Rovnako sme pozorovali aj monozómiu chromozómu 8 a t(1;2;21;?). Zároveň sme identifikovali tetraploidné bunky v 15% populácie. Cytogenetic risk group (IPSS-R, 2012): very poor. Takýchto pacientov (diagnóza MDS + komplexný karyotyp) je veľmi málo, cca 7%, pričom ich medián prežívania je len 0,7/rok (IPSS-R, 2012). Molekulové vyšetrenie bolo negatívne a preto sme nepotvrdili prítomnosť mutácií v génoch *JAK2*, *CALR* a *MPL*. Fúzny transkript *BCR-ABL* sme tiež nedokázali. Momentálne je pacientka liečená Vidázou. Kazuistika je doplnená o klinické údaje pacientky, výsledky z trepanobiopsie kostnej drene, imunofenotypizácie a cytologického vyšetrenia.

18. Low-level 45,X/46,XX mosaicism is not associated with congenital heart disease and thoracic aorta dilatation: prospective magnetic resonance imaging and ultrasound study

E. Klaskova^{1,2}, Z. Tudos³, A. Sobek¹,
J. Zapletalova², J. Dostal⁴, B. Zborilova¹,
A. Sobek Jr¹, K. Adamova⁵, D.Vrbicka¹,
V. Lattova⁴, Z. Dostalova¹ and M. Prochazka^{1,5}

¹ FERTIMED, Infertility Centre, Olomouc, Czech Republic;

² Department of Cardiology, Department of Paediatrics, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc, Czech Republic;

³ Department of Radiology, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc, Czech Republic;

⁴ Infertility Centre, Department of Gynecology and Obstetrics, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc, Czech Republic;

⁵ Department of Medical Genetics, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc, Czech Republic

• Objective To establish the prevalence of risk factors for aortic dissection, such as bicuspid aortic valve, aortic coarctation and ascending aorta dilatation, in women with low-level 45,X/46,XX mosaicism undergoing an in-vitro fertilization (IVF) procedure. Methods The study group comprised 25 women with low-level 45,X/46,XX mosaicism (ranging from 3.3% to 10.0%) who were referred to two reproductive medicine units between 2009 and 2013 because of infertility and who underwent subsequent karyotyping. In accordance with the recommendation of the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine for patients with Turner syndrome (TS), prior to the IVF procedure, all women underwent careful cardiovascular screening for congenital heart disease and thoracic aorta dilatation, including standard cardiac examination, echocardiography and non-contrast cardiac magnetic resonance imaging. Aortic size index (ASI, diameter of the

ascending aorta normalized to body surface area) and the prevalence of coarctation of the aorta and of bicuspid aortic valve were compared with findings previously reported in women with TS and the general population. Results Bicuspid aortic valve without any stenosis or regurgitation was found in one woman in the study group with low-level 45,X/46,XX mosaicism, a statistically significantly lower prevalence of bicuspid aortic valve than that reported in women with TS. Aortic coarctation was not identified in any individual. The ASI was below the 95th percentile in all cases and the mean value was significantly lower than the mean reference values for both the general population and women with TS. Conclusion Compared with the general population, the prevalence of risk factors for aortic dissection was not found to be higher in women with low-level 45,X/46,XX mosaicism without any noticeable features except infertility.

„Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. 17-29111A. All rights reserved.“

19. Mutačné spektrum pri haploinsuficiencii SHOX génu

Katarína Lexová Kolejková,
Slavomíra Mattošová, Jana Lisyová,
Lívia Kotysová, Veronika Kramarová,
Petra Jungová, Ján Chandoga
Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky
LF UK a UNB, Mickiewiczova 13, 81369 Bratislava

• Na regulácii procesu rastu sa podieľa väčší počet génov. Jeden z hlavných regulátorov rastu je produkt génu *SHOX*. Gén *SHOX* (*Short stature Homeobox-containing gene*) je lokalizovaný v pseudoautosomálnej oblasti PAR1 nachádzajúcej sa na krátkom ramienku pohlavných chromozómov X (Xp22.33) a Y (Yp11.3). PAR oblasti nepodliehajú inaktivácii X chromozómu a preto tu lokalizované gény sú exprimované z oboch chromozómov X,Y a počas bunkového delenia dochádza k ich rekombinácii. Gén *SHOX* je organizovaný do 7 exónov. Produkty génu *SHOX* majú funkciu transkripčných aktivátorov a ex-

primujú sa v kostrových svaloch, fibroblastoch kostnej drene, placente, pankrease, v srdci a v najväčšej miere v chondrocytoch rastovej platničky. Za vznik štandardného fenotypu zodpovedá prítomnosť oboch kópií génu *SHOX*. Zmeny v počte kópií (delecie/duplikácie), patogénne varianty v kódujúcej sekvencii a nevyvážené chromozómové prestavby majú za následok zníženie hladiny expzie génu – haploinsuficienciu. *SHOX* proteín má široký funkčný záber a defekty v *SHOX* géne vedú k idiopatickej rastovej retardácii, mezomelickému skrúteniu postavy, vzniku Madelungovej deformity, Léri-Weill dyschondrosteózy, Langerovho syndrómu (LMD) a k poruche rastu pri Turnerovom syndróme. LWD vzniká v dôsledku nefunkčnosti jednej kópie *SHOX* génu, TS má prítomnú tiež len jednu funkčnú kópiu génu a LMD vzniká pri absencii oboch kópií. Pre klinickú diagnostiku *SHOX* haploinsuficiencie a úplného deficitu *SHOX* proteínu, existuje bodovací systém pre základný skríning pacientov a pre odlišenie *SHOX* haploinsuficiencie od pacientov s nízkou postavou. Zahŕňa osem hlavných klinických príznakov s bodovým ohodnotením, s možnosťou zisku maximálne 26 bodov. Keďže sú zmeny v počte kópií génu *SHOX* a jeho regulačných oblastí príčinou vzniku porúch rastu a *SHOX* haploinsuficiencie u cca 70% pacientov, sa ako prvý krok v molekulárno-genetickej diagnostike používa metóda MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Za približne 15% prípadov *SHOX* haploinsuficiencie (prípadne úplnej absencie produktov génu *SHOX*) sú zodpovedné patogénne varianty v kódujúcej oblasti génu. U pacientov s negatívnym výsledkom z MLPA analýzy a opodstatneným klinickým nálezom, ktorí získali z bodovacieho hodnotenia skóre minimálne štyri body, sa odporúča sekvenčná analýza exónov (ex2–ex6a) *SHOX* génu. Molekulárno-genetická diagnostika *SHOX* haploinsuficiencie sa na našom pracovisku vykonáva pomocou MLPA analýzy od roku 2011. Vyšetrenie bolo indikované endokrinológmi a klinickými genetikmi u približne 600 pacientov a to vrátane rodinných príslušníkov. Pozitívnu diagnózu sme potvrdili u 30 pacientov. Z toho u 20 pacientov sme identifikovali delécie rôzneho rozsahu a u 10 sme zistili duplikácie

taktiež rôzneho rozsahu. Sekvenovanie kompletnej izoformy *SHOXa* sme zaviedli do rutínnej praxe ako nadväzujúcu analýzu po MLPA začiatkom roku 2013. U dvoch pacientov sme identifikovali kauzálny patogénny variant v heterozygotnom stave.

20. Neinvazívne prenatálne testovanie aneuploidií v Martine

D. Loderer, M. Grendár, Z. Laučeková, M. Hrtánková, Z. Lasabová, J. Danko.

Divízia Molekulová medicína, Biomedicínske centrum Martin JLF UK, Malá Hora 4C, Martin

• Prítomnosť voľnej cirkulujúcej fetálnej DNA (cffDNA) bola odhalená v plazme tehotných žien v roku 1997 Denisom Lo s kolektívom. Tento objav viedol ku zavedeniu viacerých metód využívajúcich cffDNA v prenatálnej diagnostike pri určovaní RhD statusu, pohlavia plodu a pri odhaľovaní prítomnosti monogénných ochorení. Avšak využitie tohto typu fetálneho genetického materiálu na prenatálnu detekciu aneuploidií plodu predstavovalo veľký problém. Až vývin molekulárnej metódy známej ako sekvenovanie druhej generácie (NGS) dokázalo preklenúť všetky limitácie spojené s cffDNA - predovšetkým jej relatívne malé množstvo v krvnom obehu tehotných žien. Neinvazívne prenatálne testovanie (NIPT) je založené na masívnom paralelnom sekvenovaní (MPS). Vďaka značným výhodám, akými sú rýchlosť, presnosť a hlavne neinvazívnosť, si NIPT za krátku dobu svojej existencie získalo výraznú obľubu v radoch gynekológov ako aj budúcich matiek. V Martinskom centre pre biomedicínu JLF UK sme zaviedli metodiku NIPT založenú na báze celogenómového MPS. Sledujeme najčastejšie sa vyskytujúce trizómie chromozómov 21, 18 a 13 (T21, T18, T13) a v prípade záujmu určujeme aj pohlavie plodu. Percentuálne zastúpenie cffDNA, resp. fetálnu frakciu (ff), odhadujeme pomocou vlastnej modifikácie metódy vyvinutej firmou Sequenom. Pri detegovaní aneuploidií používame ako jedno z prvých pracovísk na svete prístup charakterizovaný systematickým vyhodnotením

informácií o chromozómovej reprezentácii a súčasne aj o fetálnej frakcii. Metodika bola doposiaľ overená na 136 vzorkách, z ktorých 17 vykazovalo prítomnosť T21, 2 vzorky niesli T18 a 6 vzoriek T13. Detekčná schopnosť našej metódy bola 99.3%. O jednej vzorke sme nevedeli rozhodnúť, či je plod nositeľom aneuploidie kvôli nízkej ff - jedná sa o prípad tzv. "no call", pričom sa jednalo o euploidnú vzorku. Ani pri jednej vzorke sme nezaznamenali falošne pozitívne, resp. falošne negatívne výsledky.

21. 1p36 delečný syndróm v asociácii s duplikáciou chrom. oblasti 9q33.3-q34.3: variabilita fenotypového prejavu-kazuistika

Machalová, S., Čmelová, E., Ďurovčíková, D.
Klinika lekárskej genetiky SZU a UNB, Limbová 5,
Bratislava

22. Kazuistika: Pacient s potvrdenou chronickou myelocytovou leukémiou a 52 bp deléciou v géne CALR

Majerová, I¹, Hatalová A², Slezáková, K², Tomka, M¹, Juríková, K¹, Lukačková, R¹
¹ Oddelenie klinickej genetiky, Medirex a.s., Bratislava
² Klinika hematológie a transfuziológie LF UK, SZU a UNB, Bratislava

- Myeloproliferatívne neoplázie (MPN) rozdelujeme na Ph pozitívne (chronická myelocytová leukémia - CML) a Ph negatívne (polycytémia vera PV, esenciálna trombocytémia ET, primárna myelofibróza PM). Ph pozitívne MPN sa vyznačujú prítomnosťou recipročnej translokácie t(9;22) (q34;q11). Panel vyšetrení Ph negatívnych MPN zahŕňa mutácie v génoch *JAK2* (V617F) (+stanovenie kvantity a sekvenovanie exónu 12, *CALR*, *MPL*, *C-KIT*). Kalretikulín (CALR) je chaperónový proteín v endoplazmatickom retikule, ktorý sa významne podieľa na regulácii signálnej transdukcie. Mutácie v exóne 9 v géne *CALR* sa nachádzajú u 70 % JAK2-negatív-

ných ET a u 60 – 80 % pacientov s JAK2-negatívnou MF a nenachádza sa u PV pacientov. Mutácie v géne *CALR* sa zriedkavo vyskytujú u pacientov s CML. V našej kazuistike popisujeme pacienta s potvrdenou CML a mutáciou v géne *CALR*.

23. Gaucherova choroba – diagnostika s efektívnym algoritmom

S. Mattošová¹, P. Jungová¹, V. Kramarová¹, P. Ďurina¹, A. Hlavatá², J. Šaligová³, J. Chandoga¹
¹ Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB
² Detská klinika LF UK a DFNSP Bratislava
³ Detská fakultná nemocnica Košice

- Gaucherova choroba je autozómovo recesívne ochorenie spôsobené deficienciou lyzozomálneho enzýmu β -glukozidázy, ktorá katalyzuje hydrolyzu glykolipidu glukozylceramidu na ceramid a glukózu. Gaucherovu chorobu môžeme rozdeliť do troch fenotypických tried založených na absencii (typ 1) alebo prítomnosti a vážnosti (typ 2 a 3) postihnutia centrálného nervového systému. Klinicky sa ochorenie prejavuje hepatosplenomegáliou, hematologickými poruchami, objavujú sa aj patológie skeletu. Gén pre β -glukozidázu (*GBA*) je lokalizovaný na chromozóme 1, v oblasti 1q21. Dodnes bolo v *GBA* géne identifikovaných približne 460 rozličných patogénnych variantov, ktoré spôsobia čiastočnú alebo úplnú deficienciu β -glukozidázy. V súčasnosti je u pacientov dostupná liečba podávaním chýbajúceho enzýmu tzv. enzýmová substitučná terapia (ERT) a taktiež terapia redukcie substrátu (SRT). Algoritmus diagnostiky Gaucherovej choroby pozostáva so skríningových metód stanovenia aktivity β -glukozidázy v suchých kvapkách krvi a stanovenia aktivity chitotriozidázy (CHTT) v sére, ktorá je u pacientov niekoľko násobne zvýšená v porovnaní so zdravými jedincami. Pacienti s ERT spravidla reagujú signifikantným znížením aktivity tohto enzýmu, preto je monitorovanie zmien CHTT užitočné pre posúdenie efektívnosti terapie. Obmedzením použitia chitotriozidázy na skríningové účely ako aj sledovanie efektívnosti terapie je výskyt duplikácie 24

bp v géne pre CHTT, ktorá u homozygotných jedincov spôsobí deficit aktivít. Molekulárno-genetické vyšetrenie tejto duplikácie umožňuje spoľahlivejšie využitie tohto parametra v diagnostike lyzozomových ochorení. Keďže tieto vyšetrenia sú skríningové, na potvrdenie diagnózy je potrebné vyšetrenie enzýmových aktivít v suspenzii izolovaných leukocytov. Po potvrdení enzýmového deficitu je ďalším krokom molekulárno-genetická diagnostika, ktorá pozostáva so sekvenčnej analýzy kódujúcej oblasti *GBA* génu. Pomocou uvedeného algoritmu sme na pracovisku doposiaľ určili diagnózu Gaucherovej choroby u 19 pacientov.

24. Asociácia medzi 3'UTR polymorfizmami v génoch *AGTR1*, *ACVR2A*, *RGS2* a preeklampiou

Mendelová, A.¹, Holubeková, V.², Grendár, M.³, Žúbor, P.⁴, Švecová, I.⁴, Šňahničanová, Z.^{2,5}, Lasabová, Z.², Danko, J.⁴

¹ Divízia Molekulová medicína, Martinské centrum pre Biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

² Divízia Onkológia, Martinské centrum pre Biomedicínu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika

³ Oddelenie Bioinformatiky, Martinské centrum pre Biomedicínu

⁴ Gynekologicko-pôrodná klinika, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika, ⁵ Klinika detí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Slovenská republika.

- Preeklampsia (PEE) je multisystémová porucha, ktorá patrí do spektra hypertenzných ochorení tehotných žien, postihuje 2-8% všetkých tehotných a je jednou z hlavných príčin materskej, fetálnej a neonatálnej mortality a morbitity. K vzniku PEE môže negatívne prispievať vyšší vek matky, obezita alebo asistovaná reprodukcia. Medzi rizikové faktory patria genetické faktory (polymorfizmy), envi-

romentálne faktory a imunologické faktory. Podľa nedávnych štúdií, aj miRNA môžu mať regulačný vplyv na niektoré procesy, ako je proliferácia, apoptóza, migrácia a invázia buniek trofoblastu a tiež delenie buniek placenty. Jedným z faktorov ovplyvňujúcich funkciu miRNA sú polymorfizmy v 3'UTR oblasti, lokalizovanej za terminačným kodónom translácie. Cieľom tejto práce bolo zistiť, či sú SNP (rs15186, rs13430086, rs4606) v 3'UTR oblastiach génov (*AGTR1*, *ACVR2A*, *RGS2*) asociované s výskytom preeklampsie. Do štúdie bolo zaradených 92 vzoriek, z ktorých 50 vzoriek bolo získaných od tehotných žien s diagnostikovanou PEE a 42 vzoriek tvorilo kontrolnú skupinu. DNA bola izolovaná z periférnej krvi a jednotlivé varianty alel boli stanovené metódou alelickej diskriminácie na prístroji 7500 Fast Real-Time PCR systém. V prípade rs13430086, AA genotyp bol signifikantne asociovaný s vyšším rizikom vzniku preeklampsie v porovnaní s TT genotypom (OR: 5.39, 95% IS: 1.21-31.54, p=0.026). V recesívnom modeli, kombinácia genotypov AA a AT predstavovala takmer 5x vyššie riziko vzniku PEE oproti genotypu TT (OR: 4.46, 95% IS: 1.28-23.24, p=0.018). Hoci alela A bola významne asociovaná so zvýšeným rizikom vzniku PEE v porovnaní s alelou T, výsledky ukázali len slabú signifikanciu (OR: 1.71, 95% IS: 0.95-3.11, p=0.072). Slabú signifikanciu sme zaznamenali aj v skupine neskorej PEE v porovnaní s kontrolnou skupinou, kde genotyp AA bol významne zvýšený v porovnaní s genotypom TT (AA vs TT: OR: 4.26, 95%CI: 0.92-25.43, p=0.075). V prípade génových polymorfizmov rs15186 a rs4606 neboli zistené žiadne asociácie s PEE. Naše výsledky naznačujú možnú asociáciu medzi génom *ACVR2A* a preeklampiou, najmä AA genotyp. Sú však potrebné ďalšie štúdie pre lepšie pochopenie úlohy génu *ACVR2A* v patogeneze PEE.

Táto práca bola podporená VEGA grantom 1/0102/15 a projektom „Biomedicínske Centrum Martin“ (ITMS: 26220220187)

25. NGS a diagnostika karcinómu prsníka a vaječníkov

Michnová A.¹, Minichová L.¹, Vlčková Z.², Hagemann F.³, Warking O.³, Genčík A.^{1,3}, Genčík M.²

¹ Medgene, Bratislava

² Praxis fuer Humangenetik, Wien

³ Diagenos, Osnabrueck

• U 30% pacientiek s karcinómom prsníka a/alebo vaječníkov (Hereditary breast – ovarian cancer syndromes HBOC) sa dá pozorovať rodinný alebo veľmi skorý nástup týchto ochorení. Genetické zmeny sú detekované u 5-10% pacientiek. Aj naopak, zdravé nosičky genetických kauzálnych zmien majú z časti signifikantne zvýšené riziko rakoviny prsníka a vaječníkov v priebehu ich života. Štandardné molekulárno-genetické vyšetrenie pacientiek s podozrením na HBOC je dostupné už skoro dve desaťročia a zahŕňa analýzu dvoch vysoko penetrantných génov BRCA1 a BRCA2. Literatúra avšak jasne popisuje kauzalitu mutácií aj v iných génoch s nižšou penetranciou pri BRCA1 a BRCA2 negatívnych pacientkách. Nemecké konzorcium pre HBOC (GC-HBOC) preto rozšírilo spektrum analýzy a odporúča vyšetrenie zatiaľ desiatich tzv "core genes": *ATM, BRCA1, BRCA2, CDH1, CHEK2, NBN, PALB2, RAD51C, RAD51D* a *TP53*. Naše pracovisko implementovalo toto odporúčaniedo rutinej diagnostiky na báze NGS. Prezentujeme doterajšie výsledky.

26. Schinzel-Giedion syndróm s epilepsiou u dvoch českých pacientov v dôsledku de novo mutácií v SETBP1 géne

Neupauerová¹, Štěrbová², Komárek², Havlovicová³, Vlčková³, Gřegořová⁴, Staněk¹, Seeman¹, Laššuthová¹

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

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

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

⁴ Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Ostrava, Ostrava-Poruba

• Schinzel-Giedion syndróm (SGS) je extrémne vzácné ochorenie s autozomálne dominantným typom dedičnosti postihujúce rovnako obe pohlavia, prevalencia nie je známa. Celosvetovo je zaznamenaných len 50 prípadov. Medzi typické príznaky SGS patrí: postnatálna rastová retardácia, ťažké oneskorenie psychomotorického vývoja, faciálna dysmorfia, hypoplázia strednej časti tváre, makroglosia, exoftalmus, hirsutismus, a mnohé vrodené malformácie, v dôsledku ktorých sa nie všetci pacienti dožívajú dospelého veku. Missense varianty v *SETBP1* géne, predominantne v exóne 4, boli popísané ako kauzálne pre SGS syndróm. Prezentujeme prvých dvoch pacientov v ČR s de novo mutáciami v *SETBP1* géne a so Schinzel-Giedion syndrómom. Prvým pacientom je 20-ročný muž s faciálnou dysmofiou, farmakorezistentnou epilepsiou, závažnou intelektuálnou nedostatočnosťou a poruchou autistického spektra (podľa literatúry sa jedná pravdepodobne o najstaršieho pacienta s touto diagnózou). Epilepsia u pacienta začala vo veku 7 rokov myoklonickými, neskôr tonicko-klonickými záchvatmi. Pacienta sme zaradili na vyšetrenie panelu génov spájaných s rôznymi formami ťažkých detských epilepsií (97 génov). Po neobjasnení príčiny sme doplnili celoxómové sekvenovanie (WES). Vyhodnotením dat z WES bola nájdená heterozygotná mutácia v exóne 4 génu *SETBP1* (NM_015559.2): c. 2601 C>G (p.Ser867Arg), ktorá už bola popísaná ako príčina syndrómu Schinzel-Giedion. Táto mutácia nebola preukázaná u zdravých rodičov ani u zdravých

sestier. Po zhodnotení fenotypu nášho pacienta s literárnymi údajmi, sa zdá byť vysoko pravdepodobné, že fenotyp zodpovedá SGS. Preto predpokladáme, že varianta je príčinou SGS u tohoto pacienta a objasňuje príčinu jeho epilepsie a postihnutia. Druhým pacientom je ročné dievčatko s mikrocefáliou, hypertelorizmom, hirsutizmom a exoftalmom. Korelácia a prehodnocovanie fenotypu prvého pacienta z detských čias s fenotypom u ročného dievčatka boli kľúčové pre presnú syndromologickú diagnostiku Schinzel-Giedion syndrómu klinickým genetikom. Pacientku sme následne zaradili na cieľnú DNA analýzu génu *SETBP1* – konkrétne len exónu 4 (oblasť najčastejších mutácií u SGS). Klasickým Sangerovým sekvenovaním sme potvrdili variantu (NM_015559.2): c. 2608 G>A (p.Gly870Ser). Táto varianta už bola publikovaná ako patogénna. Obe varianty sú de novo pôvodu, nepreukázali sme ich u zdravých rodičov, bola overená aj správna parentita. Nález variant v exóne 4 génu *SETBP1* u oboch našich pacientov podporuje skutočnosť, že v exóne 4 *SETBP1* sú varianty u SGS nachádzané najčastejšie. Podporené projektom GAUK 438216

27. Molekulová analýza prítomnosti HR-HPV vo vzorkách sterov z krčka maternice

Oravcová A., Ondreichková V., Babišová A., Lukačková R.

Medirex,a.s, Galvaniho 17/C, Bratislava

• Hlavnou príčinou karcinómu krčka maternice je infekcia jedným z typov ľudského papilomavírusu. V súčasnej dobe poznáme viac ako 100 typov HPV. Nie všetky spôsobujú vo viacvrstvovom dlaždicovom epiteli krčka maternice malígne zmeny. Tie, ktoré môžu spôsobiť karcinóm krčka maternice označujeme ako vysokorizikové (HR-HPV). Aj keď väčšina typov nespôsobuje malígne zmeny epiteli krčka maternice, sú príčinou bradavicovitých výrastkov papilómov a kondylómov. Tieto typy sú označované ako nízkorizikové (LR-HPV). Stanovenie prítomnosti infekcie ľudským papilomavírusom

je vďaka preukázanej spojitosti s malígnou transformáciou epiteli krčka maternice spoľahlivou metódou, ktorá určuje riziko vzniku tohto ochorenia. Genetické testovanie ľudského papilomavírusu zahŕňa veľmi senzitívne a špecifické molekulárne techniky, ktorými detegujeme HPV na úrovni DNA alebo mRNA, čo nám umožňuje odlišiť produktívnu a perzistentnú HPV infekciu. V našej práci prinášame analyzovaný súbor pacientiek v období od 1. apríla 2017 do 30. júna 2017, kedy sme spolu vyšetřili 1945 pacientiek. Genetickú analýzu zameranú na detekciu prítomnosti aktívnej formy vírusovej infekcie jedným alebo viacerými zo 14 vysokorizikových typov HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) sme uskutočnili u každej z nich. Prítomnosť vírusovej infekcie sme potvrdili u 25 % vyšetřovaných vzoriek. Na detekciu aktívnej vírusovej formy sme použili molekulovo-genetickú metódu APTIMA®HPV assay, ktorou sa detegujú len aktívne vírusy s onkogénnym charakterom. Testom je možné kvalitatívne diagnostikovať vírusovú mRNA exprimujúcich sa onkogénov E6 a E7 ľudského papilomavírusu. Ten určuje, či sú HPV gény spôsobujúce malígne zmeny prítomné a aktívne vo vzorke zo steru z krčka maternice.

28. Genetická analýza súboru pacientov so syndrómom CATCH 22

Pollačeková E.¹, Kantarská D.¹, Očenášová Z.¹, Mlkvá I.² a kol.

¹ Oddelenie lekárskej genetiky, Banská Bystrica

² Oddelenie Lekárskej genetiky Ústavu lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LFUK a UNB, Bratislava

• Syndróm CATCH 22 je názvom pre niekoľko syndrómov s prekrývajúcimi sa fenotypovými prejavmi a zväčša rovnakým genetickým základom, mikrodéleciou v intersticiálnej oblasti 22q11.2. Je najčastejším známym mikrodeleným syndrómom s variabilnou expresiou a takmer 100% penetranciou, pričom fenotypové prejavy varíujú od prípadov s minimom príznakov až po život ohrozujúce defekty postihujúce väčšinu orgánových sústav. Väčšina delécií vzniká *de novo*, ale sú známe aj prípady s familiárnym výskytom. Syndróm je autozomálne dominantne dedičný. V súčasnosti v genetickej diagnostike CATCH 22 je využívaná cytogenetická analýza, metóda FISH, array CGH, MLPA a iné molekulárne metódy. Poster predstavuje výsledky z analýzy súboru 53 pacientov s deléciou 22q11.2 zachytených FISH metódou zo vzoriek periférnej krvi v laboratóriách oddelenia Lekárskej genetiky Ústavu lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LFUK a UNB na Americkom námestí v Bratislave. Uvádza tiež rozbor dát, markerov a fenotypových prejavov pacientov v súbore a porovnanie s inými štúdiami podobného charakteru.

29. Genetická analýza vybraných exónov u pacientov s primárnou ciliárnou dyskinéziou

Sňahníčanová Z., Ďurdík P., Marušiaková L.,

Kasajová J., Lasabová Z., Bánovčin P.

Divízia Onkológia, Biomedicínske centrum Martin, JLF UK, Adresa pracoviska: Malá Hora 4C, 03601 Martin

• Primárna ciliárna dyskinézia (PCD) je zriedkavé, geneticky heterogénne ochorenie s autozomálne recesívnou dedičnosťou. Príčinou vzniku ochorenia sú štruktúrne a funkčné defekty pohyblivých riasiniek vedúce k poruchám mukociliárneho transportu, laterality a fertility. Diagnostika PCD je pomerne zložitá a vyžaduje si nielen dôsledné vyšetrenie klinických príznakov, ale aj identifikáciu štruktúrnych abnormalít a zmien vo frekvencii a vzore kmitania cilií, rovnako ako určenie genetickej príčiny ochorenia. Cieľom našej práce bolo objasnenie genetickej príčiny vzniku PCD u slovenských pacientov za účelom potvrdenia diagnózy a určenia prevalencie týchto mutácií v slovenskej populácii. Do nášho súboru bolo zaradených 16 pacientov s klinickými prejavmi PCD, pozitívnymi výsledkami skríninových vyšetrení a zhoršenou motilitou cilií, ktorí boli vyšetrení na Klinike detí a dorastu JLF UK a UNM. Metódou Sangerovej dideoxysekvencie sme analyzovali exóny 34, 50, 63, 76 a 77 génu *DNAH5* a exóny 1, 13, 16, 17 a 18 génu *DNAI1*, ktoré sú podľa literatúry exónmi so zvýšeným výskytom mutácií. V rámci genetickej analýzy sme sa zamerali aj na tri ancestrálne mutácie génu *SPAG1* lokalizované v exónoch 9 a 16 a rozsiahlu 11 971bp, ktorá zahŕňa 5'UTR a štart kodón *SPAG1* génu. Mutácie zodpovedné za PCD fenotyp sme stanovili u 6 pacientov z nášho súboru. U jedného pacienta sme detekovali missense mutáciu c.1612G>A v *DNAI1* géne, štyria pacienti boli pozitívni pre *SPAG1* nonsense mutáciu c.2014C>T a u jedného pacienta sme zaznamenali *DNAH5* mutáciu c.10815delT v heterozygotnom stave. Na Klinike detí a dorastu JLF UK a UNM využívame na diagnostiku PCD skríninové metódy ako sacharínový test, meranie vydychovaného nazálneho NO a kinematiky cilií pomocou vysokorychlost-

nej mikroskopie. Keďže tieto metódy majú svoje limity, snažíme sa zlepšiť diagnostiku určením genetickej príčiny dysfunkcie cilií, a tým jednoznačne potvrdiť, že sa jedná o PCD. V našom prvom genetickom testovaní 16 PCD pacientov sme zvolenou stratégiou určili mutáciu u 6 z nich. Zaujímavým výsledkom našej práce je zvýšený výskyt mutácie c.2014C>T v *SPAG1* géne v slovenskej populácii PCD pacientov.

Práca bola podporená grantom UK 115/2016, projektom „Meranie kinetiky cilií respiračného traktu“ (ITMS 2622022019) financovaného zo zdrojov EÚ a tiež Martinským centrom pre biomedicínu (ITMS 26220220187).

30. Kazuistika: UPD chromozomu 14 jako výsledek trisomic rescue

Soldátová I., Koudová M., Vilimová Z., Trková M., Jenčíková N., Věra Nedomová, Mansfeldová R., Březinová S., Horáček J., Bittoová M., Stejskal D. GENNET s.r.o.

• Gravidní pacientka geneticky konzultovaná v 13. týdnu tehotenství pro riziko chromozomální aberace plodu - pozitivní kombinovaný screening I. trimestru (risk T21 1/10, risk T13+T18 1/200, vyšší NT 3,2mm) a UZ zjištěná VVV plodu (drobná omfalokéla). Indikováno invazivní vyšetření - odběr choriových klků (CVS). QF-PCR vyšetření z CVS vyloučilo aneuploidii chromozomů 13,18,21. Metoda array CGH z nekultivované tkáně CVS prokázala trizomii chromozomu 14, ale nebylo možné vyloučit ev. mozaiku. V kultivovaném vzorku CVS byla zjištěna mozaiková forma trizomie chr.14 v kombinaci s Robertsonskou translokací chr. 13 a 14 (mos45,XX,-der(13;14)(q10;q10)[22] / 46,XX,der(13;14)(q10;q10),+14[19] / 46,XX[6]). Vyšetřením karyotypu páru byla u partnera prokázána balancovaná Robertsonská translokace chr.13 a 14, u pacientky byl normální karyotyp. Kontrolním UZ vyšetřením v 16. týdnu gravidity zjištěny mimo omfalokélu další anomálie plodu- přetrvávající zvýšené prosáknutí

šíje, atypická facies (mikromandibula, vysoké čelo) a kratší dlouhé kosti končetin. Vzhledem k riziku uniparentální disomie chr.14, progredujícímu UZ nálezu a k posouzení chromozomální výbavy plodu byl indikován odběr plodové vody. DNA z CVS a DNA z plodové vody spolu s DNA obou rodičů byla vyšetřena metodou QF-PCR pomocí panelu STR markerů které jsou lokalizované na chr.14. DNA profil z CVS odpovídal trizomii chromozomu 14 paternálního původu a DNA profil z plodové vody v oblasti centromery 14q12 vykazoval UPD chromozomu 14 – heterodizomii a v oblasti 14q32 UPD – izodizomii paternálního původu. U plodu tedy došlo ke ztrátě maternálního genomu chromozomu 14, což je označováno jako trisomic rescue. Dva typy UPD a heterodizomie v pericentromerickém regionu chromozomu spolu s prokázanou mozaikou svědčí pro chybu v I. meiotickém dělení (*publ. Yamazawa K,Ogata T,Ferguson-Smith AC.2010.Uniparental disomy and human diseases: Am J Med Genet Part C Semin Med Genet 154C:329-334*). Imprinting paternálního původu chr.14 je popsán jako Kagami-Ogata syndrom, UPD(14)pat (OMIM608149), který je spojen se závažným postižením plodu, včetně vad odpovídajících UZ nálezům v našem případě. Karyotyp plodu byl na základě vyšetření kultivovaných buněk z AMC 45,XX,der(13;14)(q10;q10) pat. Po závěrečné genetické konzultaci se partneři rozhodli pro ukončení gravidity. Vzhledem k riziku nebalancované chromozomální vady či UPD(14) pro další graviditu byla páru doporučena léčba metodami asistované reprodukce (IVF) s provedením preimplantační genetické diagnostiky, ev. invazivní prenatalní diagnostika (CVS) při spontánní koncepci.

31. The case study of aggressive type of Mantle cell lymphoma characterized by hallmark t(11;14) and the most frequent secondary genetic events deletion of TP53 and monoallelic and biallelic deletion of CDKN2A genes

Strnkova A., Lencesova Z., Mickova A., Truhlikova L., Stoklasova M., Kudelka L., Ondrejкова A., Brejcha M., Drevojankova B. AGEL Laboratories, Laboratory of Medical Genetic, Novy Jicin, Czech Republic
AGEL Laboratories, Bioptic and Cytological Laboratory, Novy Jicin, Czech Republic
AGEL Laboratories, Laboratory of Immunology, Novy Jicin, Czech Republic
The Hospital of Novy Jicin, Haemathology, Czech Republic

Mantle cell lymphoma is aggressive type of lymphoma. The rearrangement of genes *IGH* and *CCND1* is a crucial diagnostic marker to distinguish by the other lymphomas. Additional genetic aberrations occur in many cases and help assess prognostic importance. Our case is 77 years old woman with suspected MCL. The classical cytogenetic presents two pathological clones with complex karyotype and common translocatin t(11;14). FISH analysis detected biallelic and monoallelic deletion of *CDKN2A*, deletion of *TP53* and gain of *BCL6* and *MYC*. *CDKN2A* and *MYC* aberrations were associated with a high MCL international prognostic index (MIPI). *CDKN2A/TP53* losses correlated with an unfavourable outcome. The examination was done from bone marrow and material of lymph node. Histologic biopsy identifies diffuse growing lymphoma with nodular bearing. The cytology examination finds lymphoid elements with irregularly nucleolus of centrocytoid morphology. The clonal population of B-lymphocytes in peripheral blood and bone marrow is demonstrated by immunophenotyping. MIPI score 7,2 of patient is associated with high-risk prognosis with median survival 29 months. The combination of chemotherapeutic treatment R-CHOP/ R-ARAC and Rituximab is brought. The patient is dying for central nervous system attack after 4 months.

32. Zaujímavé cytogenetické nálezy u pacientov s akútnou myeloblastovou leukémiou.

Svoreň Z., Džubasová M., Tóthová M., Čabráková Z., Janíková P., Štuková M., Straková K., Kolová Z., Čermák M. Oddelenie lekárskej genetiky, Národný onkologický ústav, Bratislava.

• Akútna myeloblastová leukémia (AML) predstavuje veľmi heterogénnu skupinu zhubných nádorových ochorení krvotvorby. Charakterizovaná je malígnou transformáciou myeloidných progenitorových buniek. Incidencia AML je približne 2 - 3 prípady na 100 000 obyvateľov ročne. Jej výskyt sa zvyšuje s vekom (v skupine nad 65 rokov je incidencia 15 - 17 prípadov na 100 000 obyvateľov). AML tvorí 15-20% leukémií u detí a až 80% leukémií dospelých. Asi u 70% AML je prítomná chromozómová aberácia. Medzi najčastejšie aberácie patria monozómie -5, -7, delécie del(5), del(7), trizómie +8, inverzie inv(16), prípadne abnormality zahŕňajúce dlhé rameno chromozómu 11. Ďalšiu skupinu aberácií predstavujú translokácie, z ktorých najväčšie zastúpenie majú t(8;21) a t(15;17). V práci prezentujeme kazuistiky 3 pacientov s diagnózou AML. V dvoch prípadoch sme zaznamenali zriedkavú chromozómovú aberáciu idic(X)(q13). Izodicentrický chromozóm X s bodmi zlomu v oblasti Xq13 je zriedkavá cytogenetická abnormalita so zmožnou oblasťou Xpter-q13 a stratou oblasti Xq13-qter. Vyskytuje sa pri myeloidných malignitách (MDS, AML, zriedkavo pri MPN), pričom prognóza je u pacientov variabilná. V jednom prípade sme zaznamenali izochromozóm dlhého ramena chromozómu 20 s intersticiálnou deléciou jeho časti. Ider(20)(q10)del(20)(q11q13) je zriedkavá cytogenetická abnormalita u myeloidných malignít. Frekvencia sa odhaduje na 0,49 % pri MDS a 0,26 % pri AML. Prognóza je v porovnaní s pacientmi s deléciou 20q zlá, čo môže byť zapríčinené stratou tumor supresorových génov (*ADA*, *L3MBTL*) lokalizovaných na dlhom ramene a súčasne stratou ďalších 281 génov lokalizovaných na krátkom ramene chromozómu 20. Vyšetrenie sme realizovali metódami klasickej

cytogenetiky, fluorescenčnej *in situ* hybridizácie a metódou molekulovej genetiky. Vo všetkých troch prípadoch bola klasická cytogenetika najdôležitejšou metódou pri identifikácii spomínaných chromozómových abnormalít.

33. Veková distribúcia u prípadů Downova syndromu v České republice

Antonín Šípek^{1,2,3}, Vladimír Gregor^{1,2,4}, Antonín Šípek Jr.^{1,5}, Jiří Horáček^{1,6}

¹ Oddělení lékařské genetiky, Thomayerova nemocnice, Praha

² PRONATAL Sanatorium, Praha, Praha

³ Ústav lékařské genetiky, 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

⁴ Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha, Katedra lékařské genetiky

⁵ Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

⁶ Gennet, Praha

• Prenatální diagnostika Downova syndromu v uplynulých letech prodělala změny jak kvantitativní, tak kvalitativní. V období 1994 - 2015 došlo ke změnám v oblasti screeningových testů i v možnostech prenatální diagnostiky tohoto syndromu. Zároveň dochází i ke změnám v zastoupení případů těhotenství předčasně ukončených a neukončených po prenatální diagnostice. V našem příspěvku jsme se zaměřili na věkovou distribuci diagnostikovaných případů. V naší práci jsme retrospektivně analyzovali data o prenatálně a postnatálně diagnostikovaných případech Downova syndromu v České republice v období 1994 - 2015. Zpracovali jsme údaje nejen podle zastoupení prenatálně a postnatálně diagnostikovaných případů, ale i podle věku těhotných. Celková záchytnost prenatální diagnostiky Downova syndromu v uvedeném období se zvyšuje. Procento prenatálně diagnostikovaných a pro diagnózu ukončených případů se zvýšilo nad 80 %, v několika posledních letech se blíží hranici 90%. Podíl narozených dětí s Downovým syndromem oproti prenatálně diagnostikova-

ným případům je vyšší u mladších žen, u starších žen je zastoupení narozených dětí s DS nižší, než bychom očekávali. V posledních letech pozorujeme nárůst celkové incidence Downova syndromu, který vysvětlujeme jak zvyšováním kvality prenatální diagnostiky, tak i nepříznivými demografickými trendy (rostoucí věk matek v České republice). Vysvětlení rozdílu v zastoupení prenatálně a postnatálně diagnostikovaných případů Downova syndromu věku matky bude vyžadovat další analýzy.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR: AZV 17-29622A

34. Prenatální diagnostika chromozomových aberací v ČR - aktuální data

Antonín Šípek Jr.^{1,2}, Vladimír Gregor^{1,3,4}, Antonín Šípek^{1,4,5}, Jiří Horáček^{1,6}

¹ Oddělení lékařské genetiky, Thomayerova nemocnice, Praha

² Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

³ Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví, Praha, Katedra lékařské genetiky

⁴ PRONATAL Sanatorium, Praha

⁵ Ústav lékařské genetiky, 3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

⁶ Gennet, Praha

• Prenatální diagnostika chromozomových aberací v České republice za uplynulých dvacet let prodělala významný rozvoj. Došlo ke změnám v provádění screeningových vyšetření, stále častěji se také využívá neinvazivního prenatálního testování. Významné kvantitativní změny se dotkly také výkonů invazivní prenatální diagnostiky a to v absolutních i v relativních číslech. Retrospektivní epidemiologická analýza zaměřená na vývoj četnosti vybraných chromozomálních aberací v České republice v časovém období 1994 - 2016. Pro tuto analýzu byly vybrány nejčastější autozomální trizómie - tedy syndromy Downův, Edwardsův a Patauův. Hodnoceny byly četnosti syndromů jak u narozených dětí, tak i v rámci prenatálně diagnostikovaných případů,

dále celková úspěšnost prenatalní diagnostiky a její další aspekty (spektrum indikací, spektrum invazivních výkonů, týden těhotenství při diagnostice aj.). V posledních letech jsme svědky významných kvantitativních změn v prenatalní diagnostice. Nadále významně klesá počet provedených aminocentéz, s určitými výkyvy naopak stoupají počty provedených biopsií choria. Celkově však počty invazivních výkonů významně klesají a to jak v absolutních, tak i v relativních číslech. Celková záchytnost prenatalní diagnostiky ovšem neklesá – naopak. Například pro nejčastější diagnózu (Downův syndrom) se procento prenatalně diagnostikovaných a pro diagnózu ukončených případů drží dlouhodobě nad 80 % a v posledních letech se dokonce blíží k hranici 90 %. Pozorujeme také zvyšující se počty případů všech autozomálních trizomií, zejména pak Downova syndromu. Prenatální diagnostika chromozomálních aberací zůstává v České republice na velmi vysoké úrovni. V posledních letech pozorujeme nárůst případů trizomií (zejména Downova syndromu), který vysvětlujeme jak zvyšováním kvality prenatalní diagnostiky, tak i nepříznivými demografickými trendy (rostoucí věk matek v České republice). Zvyšující se kvalita screeningových vyšetření se projevuje postupně rostoucí efektivitou prenatalní diagnostiky a to i přes pokles počtu invazivních výkonů prenatalní diagnostiky.

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR: AZV 17-29622A

35. Genetická diagnostika pacienta so zriedkavou formou epileptickej encefalopatie

Martina Škopková¹, Miriam Kolníková²,
Denisa Ilenčíková³, Daniel Daniš¹, Juraj Staník³,
Iwar Klimeš¹, Daniela Gašperíková¹

¹ Laboratórium diabetu a porúch metabolizmu, Ústav experimentálnej endokrinológie, Biomedicínske centrum, Slovenská akadémia vied, Bratislava

² Klinika detskej neurológie, LF UK a DFNSP, Bratislava

³ Detská klinika, LF UK a DFNSP, Bratislava Bratislava

• Včasné epileptické encefalopatie sú heterogénnou skupinou závažných neurologických ochorení vyznačujúcich sa skorým nástupom epilepsie u detí spojenej s psychomotorickou retardáciou. V databáze OMIM je s touto diagnózou spojených vyše 50 génov. V tejto práci popisujeme dievčatko s generalizovanými myoklóniami prítomnými od prvého dňa života, u ktorého sa v 6 týždňoch života objavili infantilné spazmy. Liečba antiepileptikami bola len s malým efektom. Vo veku 4 rokov je pacientka ťažko hypotonická so závažnou psychomotorickou retardáciou. Rodinná anamnéza je negatívna. V rámci diferenciálnej diagnostiky bol u nej v priebehu prvých rokov života vylúčený infekčný pôvod ochorenia, ako aj poruchy metabolizmu alebo mitochondriálnych funkcií.

V rámci výskumného projektu bola DNA pacientky analyzovaná pomocou celoexómového sekvenovania (BGI, HongKong), pričom prioritizácia variantov bola prevedená prostredníctvom vlastného bioinformatického pipeline pomocou voľne dostupných nástrojov a s využitím GEMINI databázy. U pacientky sme identifikovali dosiaľ nepopísaný *de novo* „in-frame“ inzerčný variant v géne *DNM1* (NM_004408.3:c.1090_1091insTTCCAC; p.(N363_R364insLP)). Tento gén kóduje dynamín - GTPázu, ktorá má úlohu pri endocytóze synaptických vezikúl. V posledných rokoch boli v literatúre popísané *de novo* missense patogénne varianty v tomto géne u vyše 20 pacientov s včasnou epileptickou encefalopatiou. Ide o vysoko konzervovaný gén s veľmi malým počtom polymorfizmov v zdravej populácii („gene constraint Z-score“=5.97, pLI=1). Variant nájdený u našej pacientky je lokalizovaný

v strednej doméne zodpovednej za oligomerizáciu dynamínu pri konstrikcii synaptických vezikúl. Podľa systému klasifikácie variantov ACMG môžeme tento variant hodnotiť ako patogénny. Tento prípad ilustruje užitočnosť celoexómového sekvenovania v prípadoch, keď sa pomocou štandardných diagnostických postupov nedarí stanoviť diagnózu, či už z dôvodu genetickej heterogenity, atypického klinického prejavu alebo extrémnej zriedkavosti ochorenia.

Podporené APVV-187-12, VEGA 2/0083/17.

36. Molekulárna diagnostika Turnerovho syndrómu v mozaike

Tomka M., Tomková E., Minárik G., Házašová S.,
Križan P., Lukačková R.
Medirex, a. s., Galvaniho 17C, Bratislava

• Turnerov syndróm (TS) (monozómia X) je vrodené ochorenie s incidenciou 1:2500 živonarodených dievčat. Jeho príčinou je čiastočná alebo kompletná strata jedného z páru pohlavných X chromozómov. TS je charakterizovaný súborom klinických prejavov, medzi ktoré patria poruchy rastu, opuchy rúk a nôh (lymfedém), poruchy sluchu, zraku, pigmentácie, neúplný rozvoj sekundárnych pohlavných znakov a neplodnosť. TS sprevádzajú aj iné príznaky, ako napr. kožná riasa po stranách krku, miskovitý tvar nechtov, opakované zápaly stredného ucha v detstve, ochorenia štítnej žľazy a iné. Klinický obraz môže byť variabilný, pričom sa niektoré znaky syndrómu vôbec nemusia prejavíť. Diagnostika TS je možná už v prenatalnom období. Najčastejšou indikáciou je pozitívny biochemický a ultrasonografický nález. TS môže byť diagnostikovaný aj náhodne pri preventívnom vyšetrení plodovej vody u starších rodičiek. Genetická diagnostika sa opiera o metódy klasickej cytogenetiky, ale aj o moderné metódy molekulárnej biológie, ktoré prítomnosť TS jednoznačne dokazujú alebo vyvracajú. V prípadoch TS s mozaikou však môže byť potvrdenie komplikované. Prezentujeme prípad potrateného plodu s Turnerovým syndrómom v mozaike. Pri diagnostike bola použitá kvantita-

tívna fluorescenčná polymerázová reťazová reakcia (QF-PCR), komparatívna genómová hybridizácia (aCGH) a neinvazívne prenatálne testovanie (NIPT). Kým QF-PCR prítomnosť TS nepreukázala, aCGH aj NIPT syndróm zhodne potvrdili. Tieto pozorovania poukazujú na dôležitosť kombinácie metódik pri neštandardných prípadoch.

37. Identifikácia KRAS mutácií u pacientov s diagnostikovaným mKRK pomocou ddPCR

Váňová, B.¹, Malicherová, B.¹, Jašek, K.¹,
Lasabová, Z.^{1,2}, Plank, L.³

¹ Martinské centrum pre biomedicínu, Divízia Onkológia, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

² Ústav molekulevej biológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

³ Ústav patologickej anatómie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave a Univerzitná nemocnica Martin

• Kolorektálny karcinóm (KRK) predstavuje karcinogénne ochorenie, ktorého výskyt sa najčastejšie spája s gastrointestinálnym traktom. V 95% prípadov ide o adenokarcinóm, pričom vznik nádoru podmieňujú viaceré genetické ako aj environmentálne faktory. Najčastejšou terapeutickou voľbou pri dosiahnutí metastatického štádia stále ostáva chirurgická sekcia spojená s chemoterapiou a rádioterapiou. Avšak v posledných rokoch sa dostáva do popredia ďalší typ cielených terapeutík, kedy sa liečba nastavuje pacientovi v závislosti od mutačného statusu nádoru. Pri výbere pacientov vhodných na protilátkový typ liečby mierenej proti EGF receptoru sa sleduje výskyt mutácie v géne pre KRAS. Bolo totiž dokázané, že pacienti nesúci danú mutáciu na anti-EGFR terapiu vôbec neodpovedajú. Nie vo všetkých prípadoch (60-70%) má však liečba požadovaný efekt, a to aj napriek tomu, že pacienti danú charakteristiku spĺňajú. Preto je tomu tak, je ale stále otáznе. Cieľom práce bolo zaviesť na takúto testovanie novú techniku PCR – droplet digital PCR (ddPCR), pri ktorej výrobca uvádza

citlivosť až 0,001% pri 100 ng použitej DNA. Ďalším cieľom bolo objasnenie nádorovej heterogenity medzi primárnym tumorom (PT) a metastaticky infiltrovanými lymfatickými uzlinami (MILU), kedy vzorky pochádzali od jedného pacienta, nakoľko je taktiež potenciálnou príčinou neúspešnej liečby. Z 32 FFPE vzoriek PT s už stanoveným mutačným stavom génu KRAS (IVD kit) a 31 FFPE vzoriek MILU od rovnakých pacientov bez detegovaného stavu KRAS génu, bola pomocou blackPREP DNA FFPE Kitu (AnalytikJena AG) izolovaná DNA. Vzorky boli následne testované na prítomnosť 7 najčastejších KRAS mutácií vyskytujúcich sa v exóne 2 za využitia KRAS Multiplex Screening Kitu (BioRad). Výsledky dosiahnuté ddPCR metódou boli evaluované pomocou komerčného softvéru QuantaSoft (BioRad) za pomoci výrobcu. Pre konfirmáciu výsledkov bola pre každú vzorku MILU následne prevedená sekvenáčna analýza podľa Sangeru s využitím BigDye v1.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific). Z 32 vzoriek primárnych tumorov, u ktorých bola známy mutačný stav KRAS génu, v 31 prípadoch boli výsledky dosiahnuté ddPCR zhodné s predchádzajúcou analýzou. V 1 prípade droplet digital PCR stanovila silnú pozitivitu v použitej vzorke, zatiaľ čo IVD kit ju označil ako negatívnu. Pri 31 vzorkách MILU sme mutačný stav určovali na našom pracovisku pomocou metodiky Sangerovho sekvenovania a taktiež pomocou ddPCR. Po porovnaní výsledkov došlo až v 8 prípadoch k diskordancii, kde sekvenáčna analýza stanovila vzorky ako WT, zatiaľ čo ddPCR ako pozitívne. Pri dvoch pacientoch (č. 6 a č. 10) bol navyše detegovaný výskyt tumorovej heterogenity, čím sme si potvrdili existenciu tohto fenoménu. Po porovnaní výsledkov dosiahnutých ddPCR a IVD kitom je možné tvrdiť, že droplet digital PCR predstavuje prijateľnú metódu pre testovanie pacientov na prítomnosť KRAS mutácií a v budúcnosti je možné jej využitie aj v diagnostickej oblasti. Existencia tumorovej heterogenity ako ďalší cieľ práce bola potvrdená, pričom publikácie zaoberajúce sa uvedenou tematikou nie sú jednotné, čo predstavuje výzvu pre ďalšie analýzy týkajúce sa tohto javu.

38. Dupliácia a delécia 5q14.3-5q23.1 u príbuzných

Vasil M., Mažeriková Z., Mistrík M. Drusová E., Demočková J., Tretinárová D., Cisárik F., Rošáková K.
Alpha medical s.r.o., Humenné, Spišská Nová Ves, Bratislava
Oddelenie lekárskej genetiky FNSP, Žilina

• Autori popisujú prítomnosť duplikácie 5q14.3-5q23.1 u jedného a delécie 5q14.3-5q23.1 u druhého dieťaťa. Obe deti získali uvedené aberácie (ako bratranec a sesternica) od svojich rodičov. Ich rodičia (súrodenci) sú nosičmi vyváženej translokácie 5;9. Rodičia získali translokáciu od svojej matky. Translokácia vznikla deléciou na dlhých ramienkách 5. chromozómu o veľkosti cca 31 Mb. Uvedený úsek potom inzeroval do dolných ramienok 9. chromozómu. Na 9. chromozóme je prítomná aj pericentrická inverzia. Proband s duplikáciou 5q14.3-5q23.1 má vo veku 4 rokov prítomné: Nižšie čelo, redšie obočie, odstávajúce ušnice, nenápadne prominujúcu hornú časť, širšie ústa, nepravidelné zuboradie, väčšie interdentálne štrbiny, je prítomná psychomotorická retardácia. Proband s deléciou 5q14.3-5q23.1 mal vo veku dvoch rokov prítomnú stigmatizáciu: Vyššie čelo, hypertelorizmus, kratší chrbát nosa, antevertované nostrily, nižšie uložené, odstávajúce ušnice, prominenciu hornej čeluste, širšiu ústnu štrbinu. Ďalej boli prítomné febrility nejasnej etiológie, hypotonický syndróm, na MRI prejavy atrofie mozgu, stenčený corpus callosum, psychomotorická retardácia. Vyšetrenia boli robené pomocou: Karyotypov (G,C pásiky), aCGH na BlueGnome (CytoChyp) 44K; The CytoSure Oligo SNP/array (4x180k OGT/Agilent,GB); a FISH (WCP5,9).

39. Chromozómové abnormality bez fenotypového prejavu

Verchovodková V., Landlová D., Hajičková V., Patasi C., Lukáčková R.
Genetika, Medirex a.s., Galvaniho 17/C, Bratislava

• Vyšetrenie karyotypu je stále jednou z kľúčových vyšetrovacích metód v klinickej genetike. Okrem známych numerických a štruktúrových aberácií súvisiacich s určitým typom ochorenia sa často stretávame s chromozómovými zmenami bez zvláštneho klinického prejavu. Hovoríme o heteromorfizme. Tieto abnormality možno zatriediť do troch skupín: 1. chromozómové varianty (varianty centromerického heterochromatínu, varianty krátkych ramien akrocentrických chromozómov a fragilné miesta), 2. štruktúrové prestavby vzniknuté v dôsledku translokácie „neškodného materiálu“ ako heterochromatín alebo NOR (nucleolar organizing region) z jedného chromozómu na druhý, 3. euchromatínové abnormality bez vplyvu (prípadne bez známeho vplyvu) na fenotyp. Touto prezentáciou by sme chceli zdôrazniť dôležitosť rozlíšenia variantov bez fenotypového prejavu od patologických aberácií pre následnú správnu klinickú interpretáciu.

40. Genetické varianty CIZ1 u pacientov s dystóniou

Židzik J., Habalová V., Haň V., Klimčáková L., Škorvánek M., Gdovinová Z.
Univerzita P. J. Šafárika, Lekárska Fakulta, Ústav lekárskej biológie, Univerzita P. J. Šafárika, Košice

• Dystónia je porucha hybnosti charakterizovaná trvalými alebo prerušovanými svalovými kontrakciami, ktoré spôsobujú abnormálne, často opakované pohyby, postury alebo oboje. Ochorenie s prevalenciou 16:100000 (približne dvakrát častejšie u žien) je tretou najčastejšou poruchou hybnosti a má preukázateľne významný negatívny vplyv na kvalitu života pacienta. Navyše môže mať výrazne limitujúci charakter a znemožňovať vykonávanie aj najzákladnejších samoobslužných výkonov. Etiolo-

patogenéza dystónie v súčasnosti nie je spoľahlivo vysvetlená. Rozvoj dystónie je s najväčšou pravdepodobnosťou podmienený kombináciou genetických a environmentálnych faktorov. Zoznam génov asociovaných s dystóniou postupom času narastá, pričom populačná prevalencia ich variantov a ich asociácia s fenotypovým spektrom ochorenia nie je zatiaľ dostatočne preskúmaná. V našej štúdií sme sa zamerali na výskyt variantov v géne pre *CDKN1A interacting zinc finger protein 1 (CIZ1)* lokalizovanom na chromozóme 9 (9q34.11). Do štúdie bolo zaradených 56 pacientov (16 mužov, 40 žien) s fokálnou, segmentálnou alebo multifokálnou dystóniou liečených v Ambulancii pre extrapyramídové ochorenia pri Neurologickej klinike Lekárskej fakulty UPJŠ a UNLP ako aj v špecializovanej ambulancii Neurologického oddelenia Fakultnej nemocnice s poliklinikou J. A. Reimana v Prešove. Priemerný vek vzniku dystónie (presne známy u 27 pacientov) bol 44,9±15,0 rokov (min. 13 a max. 69 rokov). Vo vzorkách DNA izolovanej z periférnej krvi boli priamou Sangerovou sekvenáciou analyzované exóny s príľahlými intrónovými a UTR oblasťami. Na predikciu dôsledkov zistených variantov bol použitý softvér MutationTaster2. V súbore pacientov boli zachytené v populácii veľmi zriedkavé (MAF <0.01) alebo ešte nepopísané varianty v géne *CIZ1*. Päť variantov bolo použitým softvérom vyhodnotených ako potenciálne spôsobujúce ochorenie. Tiež sme identifikovali ešte nepopísaný variant v 5' UTR oblasti. Asociácia uvedených variantov s etiopage- nézou dystónií si vyžaduje podrobnejšie funkčné analýzy.

Práca bola podporená grantom VEGA-1/0724/15

Handwriting practice area on page 62, consisting of 25 horizontal dashed lines.

Handwriting practice area on page 63, consisting of 25 horizontal dashed lines.

