

Univerzita Karlova

2. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Lukáš Plachý

Stanovení genetické příčiny malého vzrůstu jako cesta k pochopení
patofyziologických mechanismů ovlivňujících růst člověka

Determining the genetic cause of short stature as a way to understand the
pathophysiological mechanisms affecting human growth

Disertační práce

Školitel: doc. MUDr. Štěpánka Průhová, PhD.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 12.1.2021

Lukáš Plachý

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval své školitelce doc. MUDr. Štěpánce Průhové, PhD. za její nápady, bez kterých by tento projekt nevznikl, za vše, co mě v průběhu mého postgraduálního studia naučila, a zejména za její vždy vstřícný a kamarádský přístup a celkový životní nadhled, který pro mě je velkou inspirací. Dále bych rád poděkoval svým dalším mentorům prof. MUDr. Janu Leblovi, CSc., prof. MUDr. Zdeňku Šumníkovi, PhD. a MUDr. Lence Petruželkové, PhD. za jejich výraznou pomoc s realizací projektu. Velké poděkování také patří pracovníkům Molekulárně genetické laboratoře Pediatrické kliniky 2. LF UK RNDr. Petře Dušátkové, PhD., Mgr. Lence Elblové, PhD., Bc. Kláře Veselé, Mgr. Pavle Kaňkové a Mgr. Kateřině Kolářové za pomoc s laboratorní částí projektu a klinickým antropologům RNDr. Daně Zemkové a Mgr. Kláře Maratové, PhD. za pomoc s antropologickou částí projektu. V neposlední řadě patří poděkování všem kolegům z endokrinologického oddělení Pediatrické kliniky FN v Motole za podporu, mým rodičům za podporu a za pomoc zejména při předchozím vzdělávání a mé manželce za lásku, podporu a nekonečnou trpělivost.

Stanovení genetické příčiny malého vzrůstu jako cesta k pochopení patofyziologických mechanismů ovlivňujících růst člověka

Abstrakt

Malý vzrůst patří mezi nejčastější poruchy, se kterými se dětský endokrinolog zabývá. Patofyziologické mechanismy vedoucí k růstové poruše jsou komplexní, jednoznačná příčina je ale většinou neznámá. Naše studie je první prací, která se komplexně zabývala etiopatogenezí familiárně malého vzrůstu (FSS). Cílem práce bylo pomocí metod sekvenování nové generace (NGS) objasnit monogenní příčinu poruchy růstu u skupiny rodin s FSS, a přispět tak k pochopení patofyziologických mechanismů vedoucích k této specifické růstové poruše, a následně u vybraných genetických diagnóz popsat fenotyp včetně odpovědi na léčbu GH. V rámci centra pro léčbu GH ve FN Motol jsme sestavili unikátní kohortu 98 rodin s FSS s jednoznačným vymezením výšky <-2 SD u dítěte před léčbou GH i menšího rodiče. Pomocí NGS byla etiologie FSS objasněna u 40/98 (41 %) rodin; 32/40 neslo geneticky podmíněnou poruchu růstové ploténky. V rámci kohorty byly nalezeny tři geneticky homogenní podskupiny rodin (porucha kolagenů růstové ploténky – 10/98 [10,2 %] rodin, deficit proteinu SHOX – 6/98 [6,1 %] rodin a porucha receptoru natriuretického peptidu typu C – 4/98 [4,1 %] rodin). Ve fenotypu všech podskupin dominovala růstová porucha bez výraznějších přidružených patologií. Popsali jsme nový fenotyp kolagenopatií růstové ploténky, jež byly doposud známy jen jako příčina syndromického malého vzrůstu. Navrhli jsme klinické prediktory pro monogenní formu FSS. U všech podskupin byla zjištěna dobrá odpověď na léčbu GH.

Klíčová slova

Familiárně malý vzrůst, léčba růstovým hormonem, malý vzrůst, poruchy růstové ploténky, porucha růstu, růstová ploténka, sekvenování nové generace

Determining the genetic cause of short stature as a way to understand the pathophysiological mechanisms affecting human growth

Abstract

Short stature is one of the most common disorders followed-up by a paediatric endocrinologist. Pathophysiologic mechanisms leading to growth disorders are complex, however, the exact cause is mostly unknown. Our study is the first to evaluate the aetiopathogenesis of familial short stature (FSS). Using next-generation sequencing (NGS) techniques, we aimed to describe the monogenic aetiology of growth impairment in a group of FSS families, and therefore to elucidate mechanisms leading to this specific growth disorder. In selected genetic diagnoses, we additionally aimed to describe the phenotype including GH treatment response. Within Motol University Hospital centre for GH therapy, we formed a group of 98 FSS families with clear height definition in ≤ -2 SD in both the child height before GH therapy and in his shorter parent. Using NGS, the FSS aetiology was elucidated in 40/98 (41%) families; 32/40 had a genetic growth plate disorder. Within the cohort, three genetically homogeneous subgroups of families were described (collagenopathies – 10/98 [10.2%] families, SHOX deficiency – 6/98 [6.1%] families, and C type natriuretic peptide receptor disorder – 4/98 [4.1%] families). Dominant phenotype in all the subgroups was the growth disorder without apparent associated pathologies. As mutations in growth plate collagen genes have previously been known only to cause syndromic short stature, a new phenotype has been revealed. Moreover, the clinical predictors for monogenic FSS have been proposed. All the subgroups responded well to GH treatment.

Key words

Familial short stature, growth disorders, growth hormone treatment, growth plate, growth plate disorders, next-generation sequencing, short stature

Seznam použitých zkratk a symbolů

ACAN – aggrekan
ACMG – Americká vysoká škola lékařské genetiky a genomiky
ACTH – adrenokortikotropní hormon
AD – autosomálně dominantní dědičnost
ALS – acidolabilní podjednotka
AR – autosomálně recesivní dědičnost
BA – kostní věk
CA – kalendářní věk
cGMP – cyklický guanosinmonofosfát
CNP – natriuretický peptid typu C
COL 1, 2, 9, 10, 11 – kolagen typ I, II, IX, X, XI
COMP – oligomerní protein extracelulární matrix chrupavky
EMA – Evropská léková agentura pro léčivé přípravky
EXT2 – exostin glykosyltransferáza typ 2
F – žena
FDA – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
FGFR3 – receptor pro fibroblastový růstový faktor typ 3
FISH – fluorescenční in situ hybridizace
FLNB – filamin typ B
FOA – foramen ovale apertum
FSH – folikulostimulační hormon
FSS – familiárně malý vzrůst
GH – růstový hormon
GHD – deficit růstového hormonu
GHR – receptor pro růstový hormon
GTP – guanosintrifosfát
IGF-1 – inzulínu podobný růstový faktor 1
IGF-1R – receptor pro inzulínu podobný růstový faktor typ 1
IGF-2 – inzulínu podobný růstový faktor 2
IGFBP3 – IGF vázající protein typ 3
IHH – indian hedgehog signální molekula
IL-1, IL-6 – interleukin 1, interleukin 6
IQR – mezikvartýlový rozptyl
IRS-1 – substrát inzulínového receptoru typ 1
JAK2 – janus kináza typ 2
LH – luteinizační hormon
LP – pravděpodobně patogenní varianta
M – muž
M/- – hemizygot
M/M – homozygot
M/n – heterozygot
MATN3 – matrilin 3
MLPA – Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification (metoda molekulárně-genetické diagnostiky)
MPHD – mnohočetný deficit hormonů adenohipofýzy
N – normální výsledek
NGS – sekvenování nové generace
NPPC – natriuretický peptid typu C

NPR-B – receptor pro natriuretický peptid typ 2
P – patogenní varianta
PAPPA2 – pappalyzin 2
PAR1 – pseudoautosomální oblast 1
PMR – psychomotorická retardace
PSIS – syndrom přerušené stopky hypofýzy
PTHrP – peptid příbuzný parathormonu
PWS – Prader-Williho syndrom
RAS/MAPK – RAS intracelulární signální kaskáda
RR – růstová rychlost
SD – směrodatná odchylka
SGA – narozen malý s ohledem na gestační věk
SHH – sonic hedgehog signální molekula
SOD – septo-optická dysplázie
STAT5b – přenašeč signálu a aktivátor transkripce typ 5b
TNF – tumor nekrotizující faktor
TS – Turnerův syndrom
TSH – tyreotropní hormon
WES – celoexomové sekvenování
XL – X-vázaná dědičnost

1. OBSAH

1.	Obsah.....	8
2.	Úvod.....	10
2.1	Definice malého vzrůstu.....	10
2.2	Patofyziologie malého vzrůstu.....	10
2.2.1	Porucha sekrece růstového hormonu.....	10
2.2.2	Porucha působení růstového hormonu.....	13
2.2.3	Primární poruchy tvorby a působení IGF-1.....	14
2.2.4	Poruchy růstové ploténky.....	16
2.2.4.1	Poruchy v mezibuněčné hmotě chrupavky.....	18
2.2.4.1.1.	Mutace v genech COL1A1, COL1A2.....	19
2.2.4.1.2.	Mutace v genu COL2A1.....	19
2.2.4.1.3.	Mutace v genech COL9A1, COL9A2, COL9A3, COL10A1, COL11A1, COL11A2, COMP a MATN3.....	20
2.2.4.1.4.	Mutace v genu ACAN.....	21
2.2.4.2.	Porušená parakrinní signalizace.....	25
2.2.4.2.1.	Mutace v genu FGFR3.....	25
2.2.4.2.2.	Mutace v genu NPR2.....	26
2.2.4.2.3.	Ostatní poruchy parakrinní signalizace růstové ploténky.....	27
2.2.4.3.	Poruchy v základních dějích buňky.....	29
2.2.4.3.1.	Mutace v genu SHOX.....	29
2.2.4.3.2.	Skupina RASopatií.....	30
2.2.5	Sekundární příčiny poruch růstu.....	31
2.3	Genetické příčiny malého vzrůstu.....	31
2.3.1.	Cesty k odhalení genetické příčiny malého vzrůstu.....	31
2.3.2.	Odpověď na léčbu růstovým hormonem u jedinců s geneticky definovanou příčinou malého vzrůstu.....	33
2.3.2.1.	Léčba růstovým hormonem u dětí s Turnerovým syndromem a deficitem SHOX.....	34
2.3.2.2.	Léčba růstovým hormonem u dětí s Prader-Willi syndromem.....	34
2.3.2.3.	Léčba růstovým hormonem u dětí se syndromem Noonanové.....	35
2.3.2.4.	Léčba růstovým hormonem u dětí s achondroplazií.....	35
2.3.2.5.	Léčba růstovým hormonem u dětí s jinými genetickými příčinami malého vzrůstu.....	35
2.4	Familiárně malý vzrůst.....	36
3.	Cíl práce.....	37
4.	Vědecká hypotéza.....	37

5.	Metodika.....	38
5.1.	Kritéria pro zařazení do studie	38
5.2.	Klinické vyšetření dětí po zařazení do studie.....	38
5.3.	Genetické vyšetření.....	39
5.3.1.	Základní genetické vyšetření.....	39
5.3.2.	Genetické vyšetření pomocí metod sekvenování nové generace	39
5.4.	Hledání klinických prediktorů monogenní příčiny malého vzrůstu.....	41
5.5.	Zhodnocení fenotypu jednotlivých genetických příčin malého růstu a reakce na růstový hormon	41
6.	Výsledky.....	43
6.1.	Etiologie familiárně malého vzrůstu	43
6.2.	Klinické prediktory monogenní příčiny FSS	49
6.3.	Charakteristika geneticky homogenních skupin dětí s FSS	50
6.3.1.	Porucha kolagenu růstové ploténky	50
6.3.2.	SHOX-deficit	53
6.3.3.	Porucha receptoru natriuretického peptidu typu C.....	55
6.3.4.	Vzájemné porovnání jednotlivých příčin růstové poruchy	57
7.	Diskuse	59
8.	Vztah práce k testovaným hypotézám.....	64
9.	Závěr.....	65
10.	Souhrn	66
11.	Summary	67
12.	Literatura	68
13.	Příloha č. 1 – Seznam 398 genů v panelu pro NGS	75
14.	Příloha č. 2 - Seznam použitých genů	76
15.	Příloha č. 3 - Seznam publikací autora.....	78

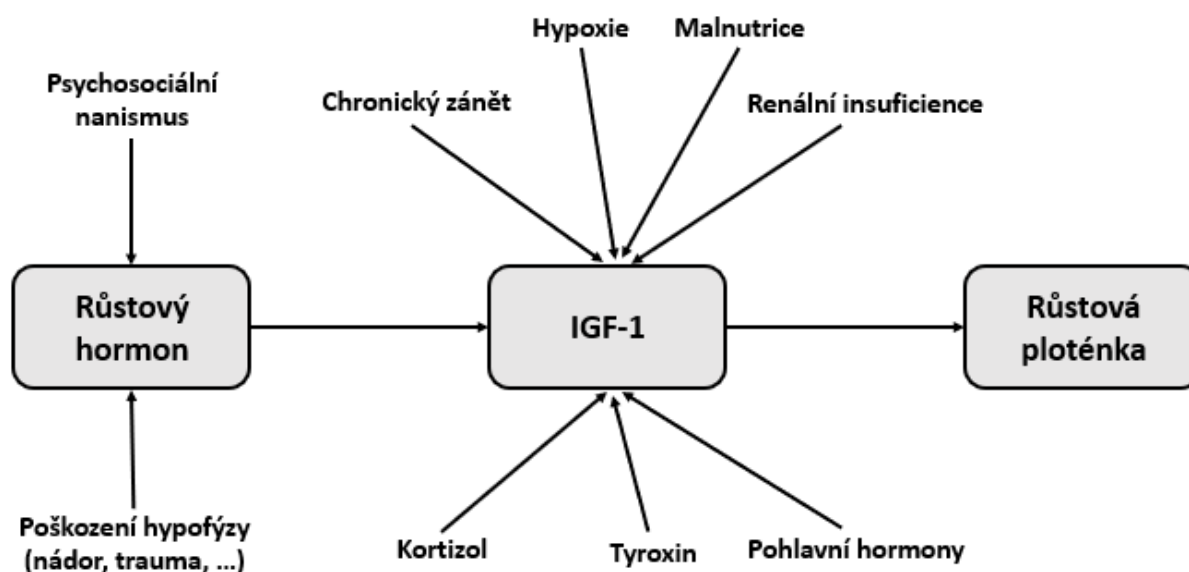
2. ÚVOD

2.1 Definice malého vzrůstu

Malý vzrůst je definován jako tělesná výška dítěte pod 3. percentilem pro daný věk a pohlaví. Za růstovou poruchu se rovněž považuje, pokud je růstová rychlost dítěte nižší než 25. percentil pro daný věk a pohlaví, která byla spočítaná ze dvou přesných měření v odstupu minimálně 6 měsíců. V běžné klinické praxi se snížená růstová rychlost projeví poklesem v grafu tělesné výšky o více než jedno percentilové pásmo (Lebl et al. 2016).

2.2 Patofyziologie malého vzrůstu

Dle klasického konceptu hraje v etiopatogenezi malého vzrůstu zásadní roli osa růstový hormon – IGF-1. Přední lalok hypofýzy (adenohypofýza) produkuje růstový hormon, který stimuluje tvorbu IGF-1 v játrech a růstové ploténce, jenž vede svým působením na růstovou ploténku dlouhých kostí ke stimulaci růstu dítěte do délky. Malý vzrůst je dle tohoto konceptu způsoben poruchami jednotlivých součástí této osy (Baron et al. 2015) **Obrázek 1.**



Obrázek 1 - Klasický koncept etiopatogeneze poruch růstu. Upraveno dle (Lebl et al. 2016)

2.2.1 Porucha sekrece růstového hormonu

Růstový hormon, tvořený společně s dalšími hormony v předním laloku hypofýzy, hraje klíčovou roli v regulaci tělesného růstu dítěte (Dauber et al. 2014). Hypofýza se v průběhu embryonálního vývoje vyvíjí ze dvou odlišných základů – Rathkeho výchlípku, základ adenohypofýzy, se tvoří z orálního ektodermu, neurohypofýza z přední nervové lišty. V první

fázi morfogeneze vzniká hypofýza, následně se ve fázi diferenciaci vyvíjí jednotlivé buněčné linie se svou specifickou hormonální produkcí (Lebl et al. 2016).

Vývoj hypofýzy probíhá souběžně s vývojem středočárových mozkových a obličejových struktur souhrou působení několika transkripčních faktorů (Dauber et al. 2014). Poruchy těchto transkripčních faktorů vedou k poruše morfogeneze hypofýzy. Deficit růstového hormonu bývá v tomto případě spojen s deficitem dalších hormonů hypofýzy (panhypopituitarismus) a poruchou středočárových struktur (např. hypotelorismus, kyklopie, rozštěpy rtu a patra, ztenčení corpus callosum nebo ektopická neurohypofýza) (Lebl et al. 2016). Znamou poruchou morfogeneze hypofýzy je holoprosencefalie s porušenou diferenciací telencefala na dvě mozkové hemisféry. Dalšími příklady mohou být například septooptická dysplázie, Riegerův syndrom nebo syndrom přerušené stopky hypofýzy (Pfäffle a Klammt 2011; Lebl et al. 2016). Genetické příčiny poruchy morfogeneze hypofýzy jsou shrnuty v **Tabulce 1**.

V průběhu diferenciaci předního laloku hypofýzy se postupně vyvíjí pět buněčných linií buněk, které následně produkují růstový hormon, TSH, ACTH, gonadotropiny (FSH a LH) a prolaktin. Pro poruchy diferenciaci hypofýzy je charakteristický kombinovaný deficit hormonů hypofýzy bez přítomnosti sdružených anomálií středočárových struktur (Lebl et al. 2016). Mutace v *PROPI* genu jsou nejčastější genetickou příčinou panhypopituitarismu, dědičnost je autosomálně recesivní, hypofýza může být hypoplastická, nebo paradoxně zvětšená připomínající adenom (Correa et al. 2019). Gen *POU1F1* řídí závěrečnou fázi diferenciaci nezralých hypofyzárních buněk na somatotrofy produkující růstový hormon, tyreotrofy produkující TSH a laktotrofy produkující prolaktin. Nositelé defektu v genu *POU1F1* mají proto téměř nulovou produkci růstového hormonu, závažný deficit TSH a téměř úplný deficit prolaktinu (Lebl et al. 2016). Genetické příčiny poruchy diferenciaci hypofýzy jsou shrnuty v **Tabulce 1**.

Izolovaný deficit růstového hormonu může být důsledkem poruchy v genech *GHRHR* nebo *GHSR*, které řídí sekreci růstového hormonu, nebo může být mutován přímo gen *GHI* pro růstový hormon (Dauber et al. 2014; Chanoine et al. 2009). Nejčastěji genetická příčina izolovaného deficitu růstového hormonu není známa a hovoří se o tzv. idiopatickém deficitu růstového hormonu (Lebl et al. 2016). Kromě idiopatických a geneticky podmíněných poruch

existují navíc jasně definovatelné sekundární příčiny deficitu růstového hormonu, které jsou podrobněji popsány později v textu. Genetické příčiny izolovaného deficitu růstového hormonu jsou také shrnuty v **Tabulce 1**.

Tabulka 1 - Genetické příčiny deficitu růstového hormonu. Upraveno dle (Lebl et al. 2016; Baron et al. 2015), seznam zkratk genů je v Příloze 2 na straně 78.

Gen	Dědičnost	Klinický obraz
<i>SHH</i>	AD	Holoprosencefalie
<i>PTCH1</i>	AD	Holoprosencefalie
<i>GLI2</i>	AD	Holoprosencefalie
<i>OTX2</i>	AD	Syndrom hypopituitarismus-anoftalmie, SOD, PSIS
<i>SOX2</i>	AD	Syndrom hypopituitarismus-anoftalmie, SOD
<i>SOX3</i>	XL	PSIS, mentální retardace
<i>HESX1</i>	AD, AR	Syndrom hypopituitarismus-anoftalmie, PSIS, SOD
<i>RIEG</i>	AD	Riegerův syndrom
<i>FGF8</i>	AD	SOD
<i>FGFR1</i>	AD	SOD
<i>LHX3</i>	AR	MPHD
<i>LHX4</i>	AD	MPHD, mikropenis, hypoplázie skrota, PSIS
<i>IGSF1</i>	XL	Centrální hypotyreóza, variabilní deficit GH a prolaktinu, zvětšená testes
<i>PROP1</i>	AR	MPHD
<i>POU1F1</i>	AR, AD	Deficit GH a prolaktinu, centrální hypotyreóza
<i>GHI</i>	AR, AD	Izolovaný deficit GH
<i>GHRHR</i>	AR	Izolovaný deficit GH
<i>GHSR</i>	AR, AD	Parciální izolovaný deficit GH

Deficit růstového hormonu se dle současných doporučení diagnostikuje pomocí kombinace auxologických, biochemických a radiologických dat. Děti s klinickým podezřením na GHD (viz rámeček níže) podstoupí cílené vyšetření hodnotící sekreci GH (Kommunehospital 2000). Růstový hormon je z předního laloku hypofýzy secernován v nepravidelných pulzech, mezi kterými je jeho koncentrace v krvi velmi nízká. Běžné vyšetření koncentrace GH nelze tedy k diagnostice GHD použít (Murray et al. 2016). Za orientační marker sekrece GH se při běžném biochemickém vyšetření využívá koncentrace IGF-1 v séru, jehož sekrece je závislá na růstovém hormonu (GH stimuluje sekreci IGF-1 v játrech) a jehož sérové koncentrace jsou ve srovnání s GH výrazně stabilnější (Murray et al. 2016). Sérové koncentrace IGF-1 <-2 SD ve srovnání s průměrem pro daný věk a pohlaví výrazně podporují diagnózu GHD (Kommunehospital 2000). Vyšetření pomocí různých testů

stimulujících sekreci GH je v současnosti zlatým standardem diagnostiky GHD. Jejich princip je založen na aplikaci látky, která způsobí výraznou stimulaci sekrece GH v hypofýze. Pomocí těchto testů je tedy hodnocena maximální schopnost sekrece GH. Maximální stimulovaná koncentrace GH $<10 \text{ ug/l}$ ve dvou různých testech je diagnostická pro GHD (Kommunehospital 2000). Existuje velké množství látek využívaných ke stimulaci GH, v České republice je standardně používána aplikace klonidinu (látka stimulující tvorbu GH stimulací alfa-1 adrenergických receptorů) a inzulinem indukovaná hypoglykémie (Lebl et al. 2016).

Klinické parametry vedoucí k podezření na deficit růstového hormonu, upraveno dle (Kommunehospital 2000)

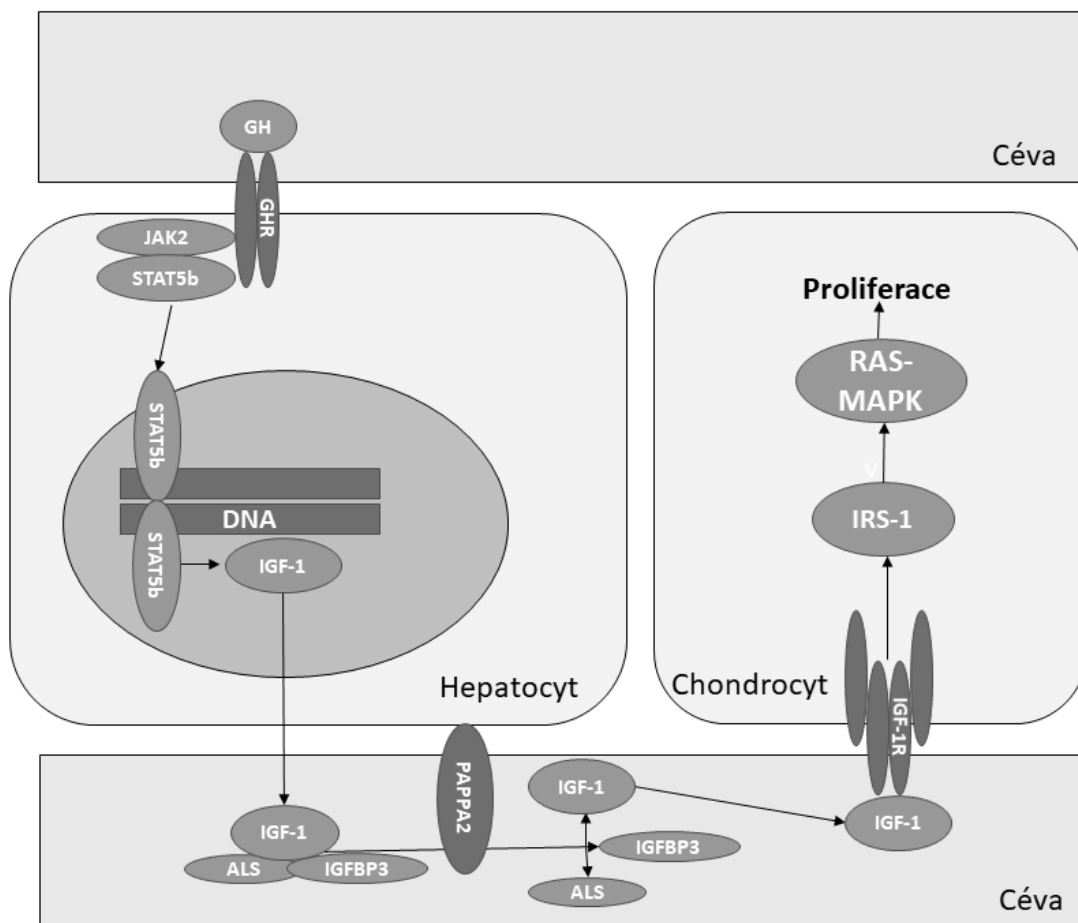
- 1) **Těžká růstová porucha** (tělesná výška $<-3 \text{ SD}$ dle věku a pohlaví)
- 2) **Růst výrazně pod rodičovskou predikcí** (tělesná výška o $<-1,5 \text{ SD}$ nižší ve srovnání s průměrem směrodatné odchylky výšky obou rodičů)
- 3) **Kombinace nízké tělesné výšky s nízkou růstovou rychlostí** (tělesná výška $<-2 \text{ SD}$ dle věku a pohlaví a růstová rychlost $<-1 \text{ SD}$ dle věku a pohlaví po dobu minimálně 1 roku, resp. pokles tělesné výšky o $>0,5 \text{ SD}$ za dobu 1 roku u dítěte staršího 2 let věku)
- 4) **Výrazné zpomalení růstové rychlosti** (růstová rychlost $<-2 \text{ SD}$ dle věku a pohlaví po dobu minimálně 1 roku, resp. růstová rychlost $<-1,5 \text{ SD}$ dle věku a pohlaví po dobu minimálně 2 let)
- 5) **Nitrolební patologie** (např. mozkový nádor, ozáření, trauma, ...)
- 6) **Mnohočetný deficit hormonů adenohipofýzy**

2.2.2 Porucha působení růstového hormonu

Růstový hormon stimuluje růst především regulací exprese IGF-1. Ačkoli téměř všechny orgány v lidském organismu jsou schopné IGF-1 vytvářet, cirkulující (tj. endokrinně působící) IGF-1 pochází především z jater (Lebl et al. 2016). Poruchy působení růstového hormonu mohou být způsobeny tvorbou biologicky nefunkčního růstového hormonu, nebo poruchou v signalizační dráze působení růstového hormonu vedoucí ke stimulaci tvorby IGF-1 (Dauber et al. 2014).

První geneticky známou příčinou rezistence k růstovému hormonu byla porucha receptoru pro růstový hormon (Dauber et al. 2014). Poruchy tohoto receptoru, způsobené homozygotními mutacemi v *GHR* genu, způsobují tzv. Laronův syndrom. Děti s Laronovým syndromem mají klinické známky odpovídající vrozenému těžkému deficitu růstového hormonu, koncentrace růstového hormonu v krvi je ale u těchto dětí překvapivě vysoká, léčba růstovým hormonem není účinná (Laron 2015).

Vazba růstového hormonu na jeho receptor vede k přenosu signálu dovnitř do buňky. Nejdůležitější signální kaskáda vede přes signální molekulu STAT5b. Jakmile je STAT5b fosforylován působením JAK2, vytvoří homodimer, který se přesouvá do buněčného jádra, kde reguluje expresi cílových genů včetně IGF-1 (Lebl et al. 2016). STAT5b není důležitý jen pro regulaci tělesného růstu, hraje rovněž významnou roli při vývoji imunitního systému. Porucha imunity spojená s těžkým ekzémem a chronickým plicním poškozením je proto dalším typickým fenotypickým znakem u pacientů s mutacemi v *STAT5b* genu (Hwa 2016).



Obrázek 2 – Působení růstového hormonu a IGF-1. Upraveno dle (Lebl et al. 2016; Dauber et al. 2016; Lebl et al. 2020; Li a Dong 2016)

2.2.3 Primární poruchy tvorby a působení IGF-1

Porucha tvorby IGF-1 způsobená bíalelickými mutacemi v *IGF-1* genu je další známou příčinou malého vzrůstu. Protože je sekrece IGF-1 v průběhu nitroděložního vývoje nezávislá na působení růstového hormonu, děti s primárním deficitem růstového hormonu nebo s rezistencí k působení růstového hormonu mívají normální porodní parametry a jejich růstová

porucha typicky začíná až postnatálně. V případě primárního poškození tvorby IGF-1 se děti rodí malé na svůj gestační věk. IGF-1 rovněž hraje podstatnou roli ve vývoji centrálního nervového systému, proto bývá u dětí s porušenou tvorbou IGF-1 rovněž přítomna mikrocefalie, psychomotorická retardace a porucha sluchu (Dauber et al. 2014). Poruchy receptoru pro IGF-1 způsobené mutacemi v *IGF1R* genu rovněž vedou k poruše růstu, která se od předchozí poruchy odlišuje zejména vysokou koncentrací IGF-1 v séru (Lebl et al. 2016).

Molekuly IGF-1 necirkulují v krevním řečišti samotné, nýbrž navázané společně s acidolabilní podjednotkou a IGF-vázajícím proteinem 3 do tzv. ternárního komplexu. Tato vazba stabilizuje IGF-1 a prodlužuje jeho biologický poločas (Lebl et al. 2016). Mutace v genu *IGFALS* pro acidolabilní podjednotku vedou k porušení ternárního komplexu, a následně k malému vzrůstu (Grandone et al. 2014). Pouze volný IGF-1 (nenavázaný v rámci ternárního komplexu) je biologicky aktivní, správné uvolňování IGF-1 z vazby z ternárního komplexu je proto rovněž nezbytné pro normální růst člověka. Nedávné odhalení mutací v *PAPPA2* genu a objasnění jeho funkce (gen kóduje proteázu štěpící IGFBP3, čímž dochází k uvolňování volného IGF-1 z ternárního komplexu) vedlo k dalšímu rozšíření pochopení etiopatogeneze poruchy růstu člověka. Jedinci s mutací v *PAPPA2* genu mají nedostatek volného IGF-1, a z toho plynoucí malý vzrůst (Dauber et al. 2016).

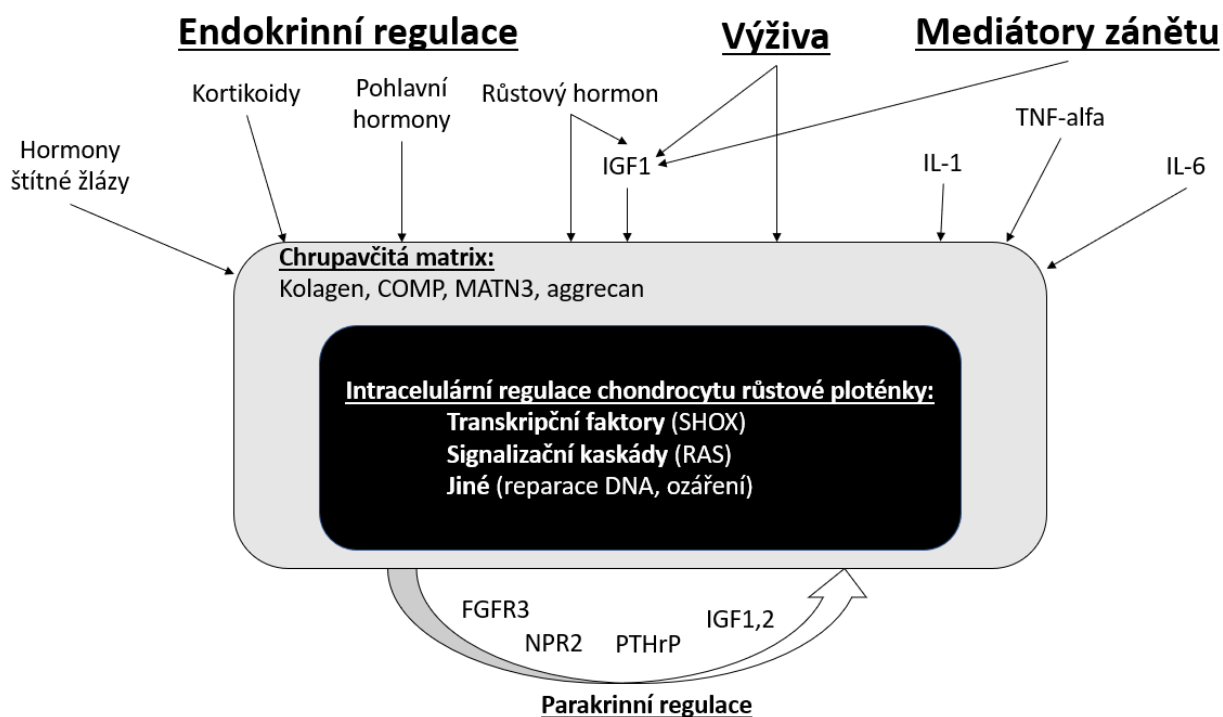
Podobně jako IGF-1 i IGF-2 hraje důležitou roli v regulaci růstu. Dle klasického konceptu je IGF-2 zásadní zejména v průběhu nitroděložního vývoje, po narození již dominuje IGF-1 (Gicquel a Le Bouc 2006). Nález rodiny s těžkou prenatální i postnatální poruchou růstu způsobenou mutacemi *IGF2* genu prokázala, že porušená funkce IGF-2 se uplatní rovněž v postnatálním růstu (Begemann et al. 2015). Většina pacientů se syndromem Silver-Russell spojeným s prenatální i postnatální růstovou poruchou má rovněž narušenou expresi genu *IGF2* (Wakeling et al. 2017).

Tabulka 2 - Genetické příčiny poruchy působení růstového hormonu a poruchy tvorby a působení IGF-1. Upraveno dle (Lebl et al. 2016; Dauber et al. 2016; Begemann et al. 2015)

Gen	Dědičnost	SGA	IGF-1	GH	Další možné fenotypové známky
<i>GHR</i>	AR, AD	ne	↓	↑	Opoždění puberty, mírně zvýšený prolaktin
<i>STAT5B</i>	AR, AD	ne	↓	N/↑	Imunitní defekt, opoždění puberty, zvýšený prolaktin
<i>IGF1</i>	AR	ano	↓/↑	↑	Mikrocefalie, psychomotorická retardace, hluchota
<i>IGFALS</i>	AR, AD	ano/n e	↓	↑	Opoždění puberty
<i>PAPP2A</i>	AR	ano/n e	↑	↑	Mikrocefalie
<i>IGF1R</i>	AR, AD	ano	↑	N/↑	Mikrocefalie, psychomotorická retardace
<i>IGF2</i>	AD	ano	N	N/↑	Relativní makrocefalie, trojúhelníkový obličej, poruchy krmení, kryptorchismus, psychomotorická retardace, opožděná puberta

2.2.4 Poruchy růstové ploténky

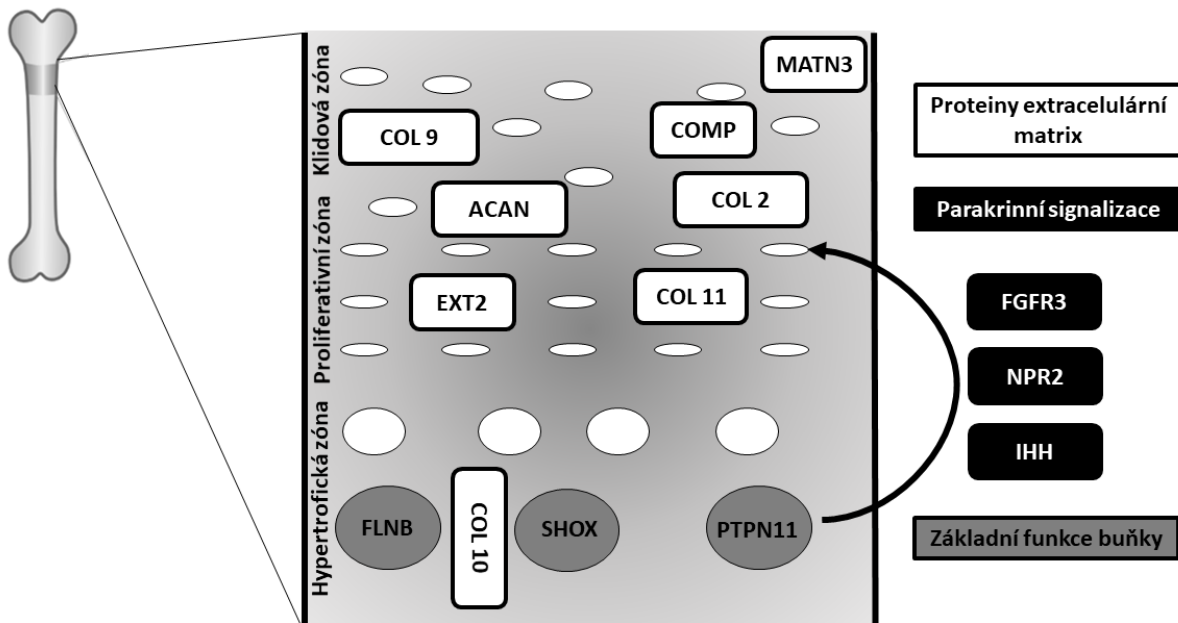
Klasický koncept hodnocení patogeneze malého vzrůstu vnímá růstovou chrupavku zejména jako konečné místo působení osy GH-IGF-1 (Baron et al. 2015). Primární poruchy způsobené mutacemi v některém z genů důležitých pro správnou funkci růstové ploténky, jsou dle tohoto konceptu příčinou vzácných nemocí spojených typicky s výrazně asymetrickým malým vzrůstem. Tyto nemoci klinicky nazýváme **kostní dysplázie** (Krakow a Rimoin 2010; Bonafe et al. 2015). V nedávné době bylo zjištěno, že poruchy růstové ploténky hrají v etiopatogenezi růstových poruch mnohem významnější roli. U několika genů tradičně spojovaných s kostními dysplaziemi (*SHOX*, *FGFR3*, *NPR2*, *ACAN*) bylo zjištěno, že mohou způsobovat zcela symetrickou růstovou poruchu, u které nebyla příčina až do provedení genetického vyšetření známa a byla nazývána idiopatickým malým vzrůstem (Dauber et al. 2014). Nové možnosti v genetickém vyšetřování způsobily výrazný pokrok v chápání příčin poruch růstu. Bylo vytvořeno **nové paradigma, že růstová ploténka hraje klíčovou roli v etiopatogenezi malého vzrůstu** a osa GH-IGF-1 je jen jedním z faktorů její komplexní regulace (Baron et al. 2015).



Obrázek 3 – Nové paradigma etiopatogeneze poruch růstu s klíčovou rolí růstové ploténky. Upraveno dle (Baron et al. 2015)

Růstová ploténka je tenká vrstva hyalinní chrupavky mezi epifýzou a metafýzou dlouhých kostí. V růstové ploténce rozlišujeme tři odlišné vrstvy – klidovou, proliferující a hypertrofickou. Klidová vrstva slouží jako obnovující se zásobárna buněk, ze kterých se stávají chondrocyty proliferující vrstvy. V proliferující vrstvě se chondrocyty množí a tvoří sloupce buněk, které se postupně diferencují v prehypertrofické a hypertrofické chondrocyty. K růstu v proliferující vrstvě přispívá i zvýšená produkce mezibuněčné hmoty. V hypertrofické zóně na distálním konci růstové ploténky začíná mezibuněčná hmota mineralizovat, hypertrofické chondrocyty podléhají apoptóze, do oblasti vstoupí cévy společně s osteoblasty a osteoklasty, chrupavčitá matrix je degradována a osteoblasty začínají tvořit kost. **Růst kosti do délky (resp. růst člověka do výšky) je tedy umožněn proliferací a diferenciací chondrocytů růstové ploténky** (Ornitz a Legeai-Mallet 2017).

Příčiny **primární poruchy funkce růstové ploténky** mohou být způsobeny poruchami v mezibuněčné hmotě chrupavky, porušenou parakrinní signalizací nebo poruchami v základních nitrobuněčných dějích, které jsou důležité pro správnou funkci růstové chrupavky (Superti-Furga et al. 2002). Možné příčiny poruchy růstové ploténky jsou shrnuty v **Obrázku 4**.



Obrázek 4 – Příčiny poruchy struktury a funkce růstové chrupavky.

2.2.4.1 Poruchy v mezibuněčné hmotě chrupavky

Poruchy mezibuněčných strukturálních bílkovin vytvářejí jednu z nejlépe popsáných skupin poruch růstové ploténky. Mezibuněčná hmota chrupavky není jen inertní výplň prostoru mezi buňkami, ale její složky fungují také jako receptory, vážou cytokiny a růstové faktory, podílejí se na pevnosti a pružnosti nebo na omezené stlačitelnosti chrupavky. Významná je také buněčná signalizace a mezibuněčné (např. parakrinní) působení (Baron et al. 2015). Normální složení je zásadní i v procesu stárnutí jednotlivých struktur kloubů nebo chrupavek meziobratlových plotének. Porucha struktury se tak v průběhu růstu může projevit menším vzrůstem nebo odlišnou dynamikou růstu (např. chyběním pubertálního růstového výšvihu), v pozdějším věku pak nejrůznějšími formami degenerativních kloubních poruch.

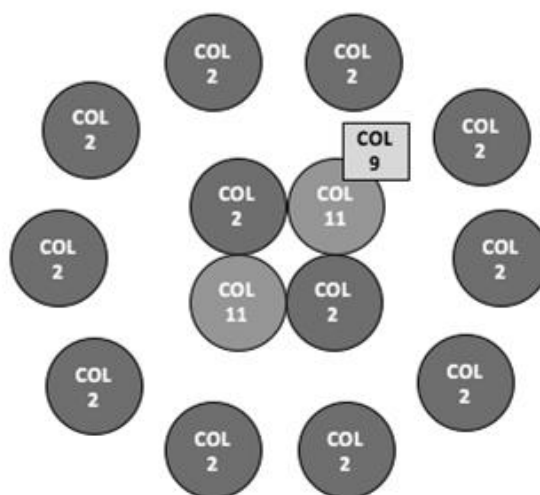
Zásadní roli ve struktuře i funkci mezibuněčné hmoty chrupavky tvoří molekuly různých druhů kolagenů. V lidském organismu existuje více než 20 druhů kolagenu, které se od sebe liší strukturou, funkcí a svým zastoupením v různých tkáních. V mezibuněčné hmotě růstové chrupavky nalezneme kolageny typu II, IX, X a XI. Mezi kostní dysplázie řadíme také poruchy v kolagenu I, který mimo jiné tvoří významnou součást kostní hmoty. Kromě kolagenopatií patří do této skupiny i mutace v genech *COMP* a *MATN3*, jejichž funkcí je přemostovat jednotlivé proteiny extracelulární matrix (Fallis 2013; Superti-Furga et al. 2002), a mutace v genu *ACAN* (Gkourogianni et al. 2016).

2.2.4.1.1. Mutace v genech COL1A1, COL1A2

Geny *COL1A1* a *COL1A2* kódují řetězce alfa-1 a alfa-2 kolagenu typu 1, nejvíce zastoupeného proteinu kostní tkáň. Mutace v těchto genech způsobují **osteogenesis imperfecta**, vzácnou skupinu kostních chorob, u kterých v klinickém obraze dominuje kostní fragilita spojená s opakovanými frakturami. Dalšími fenotypickými známkami osteogenesis imperfecta jsou malý vzrůst, deformity dlouhých kostí, malý objem svalové hmoty, hypermobilita kloubní a u některých pacientů i modré skléry. Klinická tíže je u různých pacientů s osteogenesis imperfecta značně variabilní. Stejně různorodý je i způsob dědičnosti. V případě autosomálně dominantní dědičnosti se v rodině může dědit malý vzrůst společně se zvýšenou kostní fragilitou a ostatními známkami kostního postižení z generace na generaci, u některých pacientů se ale jedná o mutace de novo (Marr et al. 2017).

2.2.4.1.2. Mutace v genu COL2A1

Kolagen typu II je hlavním kolagenem tvořícím chrupavčitou tkáň. Společně s molekulami kolagenu typu XI tvoří fibrily, které jsou základní strukturální složkou mezibuněčné hmoty obratlové ploténky (**Obrázek 5**) (Holmes a Kadler 2006). Kromě kloubní chrupavky jej můžeme najít ve sklivci oka, ve vnitřním uchu a v nucleus pulposus meziobratlové ploténky. V současné době je popsáno minimálně 16 chorob různé klinické závažnosti známých jako kolagenopatie typu II, které jsou následkem zejména heterozygotních mutací v *COL2A1* genu. Pro tyto choroby je charakteristické, v souladu s orgánovou lokalizací jejich genové exprese, postižení nejen skeletu, ale také zrakového a sluchového ústrojí a orofaciální oblasti. Spektrum klinické závažnosti se u nich výrazně liší – od letální achondrogeneze, přes Kniestovu dysplázii s těžkou poruchou růstu až po syndromy s výrazně mírnější růstovou poruchou (např. Sticklerův syndrom). Byly popsány také případy, kdy se v postižených rodinách mutace v *COL2A1* manifestuje pouze avaskulární nekrózou hlavice kosti stehenní (Perthesovou chorobou). Velká fenotypická variabilita byla popsána i v rámci pacientů z jedné rodiny (Barat-Houari et al. 2016; Miyamoto et al. 2007). Nejznámějším příkladem kolagenopatie typu II je spondyloepifyzální dysplázie, která se projevuje malým vzrůstem, abnormalitami epifýz, nižší výškou obratlových těl, kostními deformitami, hypertelorismem a dalšími faciálními dysmorfiiemi, krátkozrakostí a senzorineurální poruchou sluchu (Deng et al. 2016).



Obrázek 5 – Uspořádání kolagenů růstové ploténky. Fibrila je tvořena jádrem, které se skládá ze dvou molekul COL2 a dvou molekul COL11, a obalem tvořených deseti molekulami COL2. Molekuly COL 9 netvoří fibrily, jsou připojeny k molekulám COL 11, jejich funkcí je interakce fibril s ostatními součástmi extracelulární hmoty růstové chrupavky. Upraveno dle (Ricard-Blum 2011; Holmes a Kadler 2006; Van Camp et al. 2006)

2.2.4.1.3. Mutace v genech *COL9A1*, *COL9A2*, *COL9A3*, *COL10A1*, *COL11A1*, *COL11A2*, *COMP* a *MATN3*

Další typy kolagenu a proteoglykany pomáhají stabilizovat vlákna kolagenu II a jsou zodpovědné za charakteristické vlastnosti chrupavky.

Kolagen typu IX funguje v mezibuněčné hmotě jako most propojující kolagen typu II s dalšími strukturami chrupavky jako jsou COMP a MATN3 (**Obrázek 5**) (Andrade et al. 2017). Mutace v těchto genech způsobují autosomálně dominantně dědičnou mnohočetnou epifyzální dysplázií. Toto onemocnění obvykle způsobuje malý vzrůst (dospělá výška je v dolním rozpětí normy nebo těsně pod normou), mírné zkrácení dlouhých kostí a časnou osteoartritidu (zejména kyčlí a kolen) obvykle vyžadující náhradu kloubu ve druhé až třetí dekádě života (Briggs et al. 1993). Heterozygotní mutace v *COMP* genu, způsobující hromadění proteinu v buňkách a následné poškození chondrocytů, jsou rovněž příčinou pseudoachondroplázie, autosomálně dominantně přenosné kostní dysplázie, která má mnohé známky shodné s mnohočetnou epifyzální dysplázií. Typický je disproporcionální malý vzrůst s krátkými končetinami. Na rozdíl od klasické achondroplázie (způsobené aktivační mutací v genu *FGFR3*) nejsou přítomny dysmorfické znaky v obličeji. Časté jsou ortopedické problémy včetně kloubních deformit, nestability krční páteře a progresivního degenerativního onemocnění kloubů (Briggs a Wright 2004).

Výskyt **kolagenu typu X** je omezen na hypertrofickou zónu růstové ploténky. Tvoří membránovitou strukturu kolem každého chondrocytu, kde podporuje proces kalcifikace a enchondrální osifikace (Shen 2005). Heterozygotní mutace v genu pro kolagen typu X (gen *COL10A1*) způsobují Schmidův typ metafyzární chondrodysplázie, při které je malá postava spojena s rozšířením růstových plotének a deformitou dlouhých kostí (Mäkitie et al. 2005).

Molekuly **kolagenu typu XI** tvoří společně s kolagenem typu II fibrily, které jsou základní součástí mezibuněčné hmoty růstové ploténky (**Obrázek 5**) (Holmes a Kadler 2006). Mutace v genu pro kolagen XI vedou ke Sticklerově dysplázii typu 2 s postižením očí (gen *COL11A1*) nebo bez postižení očí (gen *COL11A2*) (Acke et al. 2014).

2.2.4.1.4. Mutace v genu *ACAN*

Gen *ACAN* kóduje proteoglykan aggrecan, který je jako součást extracelulární hmoty nezbytný pro správnou strukturu a funkci růstové chrupavky. Autosomálně recesivně dědičné formy onemocnění představují závažnou kostní dysplázii, spondyloepimetafyzární dysplázii aggrecanového typu (Gibson a Briggs 2016). U malého vzrůstu vznikajícího na podkladě heterozygotní mutace při AD dědičnosti bývají jen diskrétní změny skeletu. V průběhu dospívání se zvyrazňuje jistá disproporcionalita s typicky kratším dolním segmentem. Od většiny ostatních pacientů s malým vzrůstem odlišuje nositele změn v genu *ACAN* nápadně urychlený kostní věk. V průběhu života se zvyšuje riziko časně nastupující osteoartritidy (Gkourogiani et al. 2016).

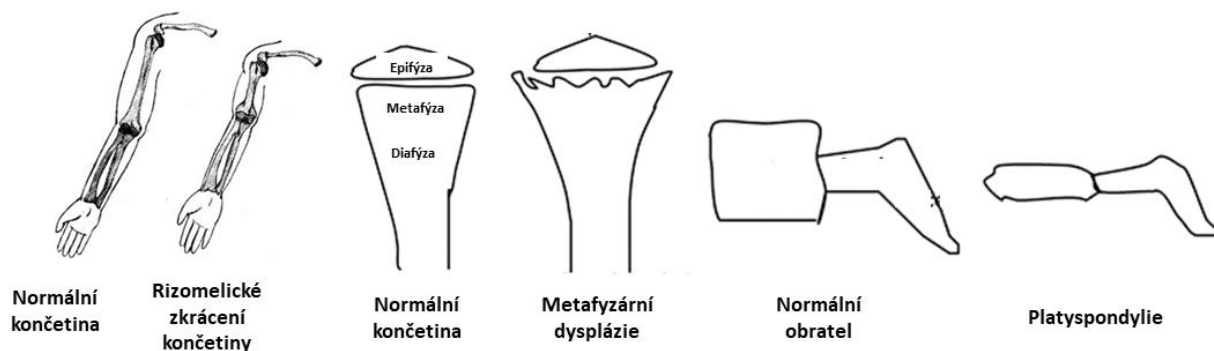
Tabulka 3 – Poruchy extracelulární matrix růstové chrupavky. Shrnutí dle (Deng et al. 2016; Majava et al. 2007; Tompson et al. 2010; Vuoristo et al. 2004; Sirko-Osadsa et al. 1998; Van Camp et al. 2006; Czarny-Ratajczak et al. 2001; Bonnemann et al. 2000; Mäkitie et al. 2005; Andrade et al. 2017; Gkourogiani et al. 2016)

Fenotyp (dědičnost)	Kosterní fenotypické známky	Mimokosterní fenotypické známky
<i>COL1A1, COL1A2</i>		
Osteogenesis imperfecta (AD)	Malý vzrůst, kostní fragilita s opakovanými frakturami dlouhých kostí a obratlových těl	Malý objem svalové hmoty, modré skléry

COL2A1		
Achondrogeneze typ 2, hypochondrogeneze (AD)	Těžká porucha růstu s mikromelickým zkrácením končetin, nekompletní osifikace obratlových těl, malý hrudník, hypoplastická pánev, epifyzální dysplázie	Rozštěp patra, hypoplázie střední části obličeje, vyklenující se břicho, úmrtí prenatalně nebo krátce po narození.
Platyspondylická kostní dysplázie, typ Torrance (AD, mutace v doméně C-propeptidu)	Těžká porucha růstu s mikromelickým zkrácením končetin, platyspondylie, malý hrudník, krátká žebra, bederní hyperlordóza, hypoplastická pánev, brachydaktylie, metafyzární dysplázie	Rozštěp patra, hypoplázie střední části obličeje, porucha sluchu, vyklenující se břicho, často úmrtí prenatalně nebo těsně po narození
Spondyloperiferální dysplázie (AD, mutace v doméně C-propeptidu)	Těžká porucha růstu s mikromelickým zkrácením končetin, platyspondylie, dysplázie kyčlí, brachydaktylie	Hypoplázie střední části obličeje, zraková porucha, porucha sluchu
Spondyloepifyzální kongenitální dysplázie (AD)	Asymetrická porucha růstu se zkráceným trupem, fraktury dens axis, subluxace krčních obratlů, skolióza, nadměrná kyfóza, coxa vara, genua valga, plochá noha, pes equinovarus, metafyzární dysplázie	Hypoplázie střední části obličeje, porucha sluchu, porucha zraku, hypoplastická svalovina břicha, tříselná kýla
Spondyloepimetafyzární dysplázie, typ Strudwick (AD)	Asymetrická porucha růstu se zkráceným trupem, hypoplázie dens axis, skolióza, nadměrná lordóza, pectus carinatum, ztuhlost v kyčelním kloubu, coxa vara, genua valga, pes equinovarus	Hypoplázie střední části obličeje, porucha zraku
Kniestova dysplázie (AD)	Asymetrická porucha růstu se zkráceným trupem, platyspondylie, kloubní kontraktury, kyfoskolióza, deformity dlouhých kostí	Hypoplázie střední části obličeje, rozštěp patra, převodní porucha sluchu, krátkozrakost
Mnohočetná epifyzální dysplázie s krátkozrakostí a hluchotou (AD)	Malý vzrůst, epifyzální dysplázie s mírnými abnormalitami článků kostí, hlavice kosti stehenní a páteře	Hypoplázie střední části obličeje, rozštěp patra, porucha sluchu, porucha zraku
Otospondylometaeepifyzální dysplázie (AR)	Asymetrická porucha růstu se zkrácenými končetinami, generalizovaná epifyzální dysplázie, předčasná osteoartróza	Hypoplázie střední části obličeje, rozštěp patra, porucha sluchu, porucha zraku
Sticklerův syndrom, typ 1 (AD)	Normální vzrůst, předčasná osteoartróza, kloubní hypermobilita	Hypoplázie střední části obličeje, porucha sluchu, porucha zraku

Česká dysplázie (AD)	Normální velikost, progresivní pseudorevmatoidní artritida, platyspondylie, spondyloartropatie, krátký třetí a čtvrtý prst na noze	Porucha sluchu
Osteoartritida s mírnou chondrodysplázií (AD)	Normální velikost, dysplázie obratlů, bolest a ztuhlost kloubů, zúžení kloubních prostor, subchondrální skleróza, osteofyty	-
Avaskulární nekróza hlavice stehenní kosti (AD)	Předčasná osteoartróza, bolest kloubů, avaskulární nekróza hlavice stehenní kosti	-
Spondyloepifyzální dysplázie, typ Namaqualand (AD)	Bolest kyčlí, degenerativní artropatie	-
<i>COL11A1</i>		
Sticklerův syndrom, typ 2 (AD)	Normální vzrůst, předčasná osteoartróza, kloubní hypermobilita	Hypoplázie střední části obličeje, rozštěp patra, porucha sluchu, porucha zraku
Marshallův syndrom (AD)	Malý vzrůst, mírná platyspondylie, ztlustění klenby lebni	Hypoplázie střední části obličeje, porucha sluchu, porucha zraku, ektodermální dysplázie (absence zubů, snížené pocení)
Fibrochondrogeze 1 (AR)	Asymetrický malý vzrůst s rizomelickým zkrácením končetin, malý zvonovitý hrudník, platyspondylie	Hypoplázie střední části obličeje, omfalokéla, úmrtí prenatálně nebo v průběhu novorozeneckého období
<i>COL11A2</i>		
Sticklerův syndrom bez postižení očí (AD)	Normální vzrůst, předčasná osteoartróza	Hypoplázie střední části obličeje, rozštěp patra, porucha sluchu
Otospondylometaepifyzální dysplázie (AR)	Asymetrický malý vzrůst se zkrácenými končetinami, pectus excavatum, těžká osteoartróza	Hypoplázie střední části obličeje, rozštěp patra, porucha sluchu
Fibrochondrogenese 2 (AD, AR)	Asymetrický malý vzrůst s rizomelickým zkrácením končetin, malý zvonovitý hrudník, platyspondylie	Hypoplázie střední části obličeje, omfalokéla, úmrtí prenatálně nebo v průběhu novorozeneckého období
Nesyndromický rozštěp patra (AD)	-	Rozštěp patra
Nesyndromická ztráta sluchu (AD, AR)	-	Porucha sluchu

COL9A1, COL9A2, COL9A3		
Mnohočetná epifyzální dysplázie (AD)	Mírná porucha růstu, epifyzální dysplázie, předčasná osteoartróza, nepravidelnosti obratlových těl, Schmorlovy uzly, zúžení meziobratlových disků	Proximální svalová slabost (gen <i>COL9A3</i>)
Sticklerův syndrom, typ 5 (AR)	Normální vzrůst, předčasná osteoartritida, hypermobilita kloubů	Hypoplázie střední části obličeje, rozštěp patra, porucha sluchu, porucha zraku
COL10A1		
Metafyzární dysplázie, typ Schmid	Malý vzrůst, normální porodní parametry, deformity kloubů, metafyzární dysplázie	-
COMP		
Mnohočetná epifyzální dysplázie (AD)	Mírná porucha růstu, epifyzální dysplázie, předčasná osteoartróza, nepravidelnosti obratlových těl, Schmorlovy uzly, zúžení meziobratlových disků	-
Pseudoachondroplázie (AD)	Asymetrická porucha růstu s krátkými končetinami, kloubní deformity, nestabilita krční páteře, předčasná osteoartróza, brachydaktylie	Bez dymorfických známek obličeje, myelokomprese v oblasti krční páteře
MATN3		
Mnohočetná epifyzální dysplázie (AD)	Mírná porucha růstu, epifyzální dysplázie, předčasná osteoartróza, nepravidelnosti obratlových těl, Schmorlovy uzly, zúžení meziobratlových disků	-
ACAN		
Malý vzrůst s urychleným kostním věkem (AD)	Malý vzrůst, zkrácení končetin, urychlený kostní věk, předčasná osteoartróza, degenerace meziobratlových plotének, omezení hybnosti v loketních a v dalších kloubech, brachydaktylie	Hypoplázie střední části obličeje
Spondyloepimetafyzární dysplázie aggrekanového typu (AR)	Výrazná disproporcionální porucha růstu, spondyloepimetafyzární dysplázie, kloubní hypermobilita, platyspondylie, rozštěpy obratlových těl, brachydaktylie	Hypoplázie střední části obličeje, nízko posazené ušní boltce



Obrázek 6 – Některé fenotypické znaky kolagenopatií růstové ploténky. Upraveno dle (Stagi et al. 2016)

2.2.4.2. Porušená parakrinní signalizace

Endokrinní regulace růstové chrupavky růstovým hormonem, hormony štítné žlázy, pohlavními hormony nebo kortizolem jsou již poměrně dobře známy. Poznatky o řízení růstu a diferenciaci chondrocytů růstové ploténky na tkáňové úrovni (parakrinní regulace) se objevují až v posledních desetiletích. V tomto komplexním ději je důležité si uvědomit, že procesy proliferace a diferenciaci i jejich inhibice jsou velmi jemně vyváženy a narušení této rovnováhy zpravidla vede k narušení vývoje skeletu (Baron et al. 2015; Li a Dong 2016).

2.2.4.2.1. Mutace v genu *FGFR3*

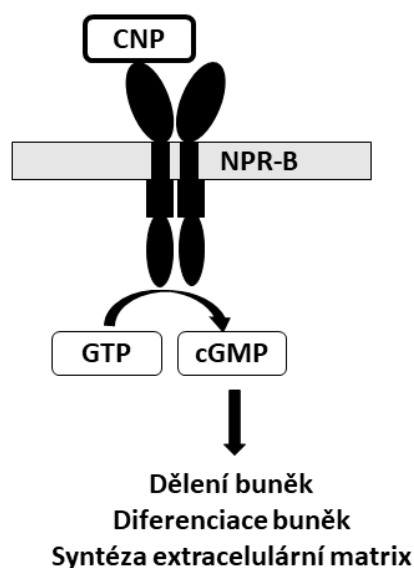
Gen *FGFR3* kóduje receptor pro fibroblastový růstový faktor 3. Navázání tohoto ligandu na receptor spouští signalizační kaskádu vedoucí k inhibici množení a hypertrofie chondrocytů růstové ploténky, která může skončit až jejich apoptotickou smrtí. V důsledku toho aktivační mutace vedou k poruchám růstu – zejména achondroplazii a hypochondroplazii. Nejtěžší formu představuje letální thanatoforní dysplázie (Andrade et al. 2017).

Achondroplazie je nejčastější závažnou kostní dysplázií slučitelnou se životem, její četnost je 1:16000 až 1:26000 živě narozených dětí (Lebl et al. 2016). Achondroplazie vede k disproporcionálně malé postavě s dospělou výškou odpovídající průměrně 125 cm u žen a 132 cm u mužů. Charakteristické je výrazné zkrácení proximální části dlouhých kostí končetin (rizomelie). Mimo to je achondroplazie spojena s makrocefalií, prominujícím čelem, hypoplazií střední části obličeje, oploštěným kořenem nosu, poruchami zakřivení páteře, krátkými prsty a varózními nebo valgózními deformitami kloubů. Zúžení foramen magnum a spinální stenóza jsou u achondroplazie také relativně běžné a mohou vyžadovat neurochirurgické řešení (Lebl et al. 2016; Ornitz a Legeai-Mallet 2017).

Hypochondroplazie je mírnějším fenotypem aktivační mutace *FGFR3* s typickou menší postavou (142 ženy, 155 cm muži) s relativní makrocefalií, mesomelickým zkrácením končetin a dalšími známkami kostní dysplázie. Klinické spektrum hypochondroplazie může být velmi pestré od jasně klinicky vyjádřených forem až po nenápadné formy, kde proporcionální menší vzrůst je jediným nápadným znakem (Lebl et al. 2016; Ornitz a Legeai-Mallet 2017).

2.2.4.2.2. Mutace v genu *NPR2*

Gen *NPR2* kóduje receptor, jehož ligandem je typ C natriuretického peptidu. Jedná se o molekulu s minimálními natriuretickými a hemodynamickými účinky, ale s významnou úlohou v regulaci enchondrálního růstu kostí. Homozygotní mutace v tomto genu vedou k velmi vzácné akromesomelické dysplázii typu Maroteaux, kostní dysplázii s velmi malým vzrůstem (dospělá výška < -5 SD), výraznou disproporcionalitou a deformitami dlouhých kostí (Irfanullah et al. 2018). Heterozygotní mutace způsobují méně závažnou růstovou poruchu (Vasques et al. 2013). Tito pacienti mohou mít zkrácené záprstní kůstky, cubitus valgus, vysoce klenuté patro nebo epifýzy kuželovitého tvaru, často jsou ale znaky disproporcionality velmi diskrétní (Vasques et al. 2017). Jejich nositele proto můžeme najít i mezi jedinci s idiopatickým malým vzrůstem (Vasques et al. 2013). Heterozygotní mutace v *NPR2* genu byly rovněž nalezeny u jedinců s klinickým obrazem Lériho-Weillova syndromu, i když nemají typickou Madelungovu deformitu předloktí (Hisado-Oliva et al. 2015). V nedávné době bylo prokázáno, že malý vzrůst může být rovněž způsoben heterozygotními mutacemi přímo v genu pro natriuretický peptid typu C (gen *NPPC*). U jedinců z popsanych rodin se kromě malého vzrůstu rovněž vyskytovaly krátké dlaně a chodidla, brachydaktylie a různé kloubní deformity (Hisado-Oliva et al. 2018).



Obrázek 7 – Schéma parakrinní regulace růstové ploténky pomocí receptoru typu B pro natriuretický peptid. Upraveno dle (Irfanullah et al. 2018). Navázání natriuretického peptidu typu C na receptor typu B pro natriuretický peptid vede ke spuštění intracelulární signální dráhy vedoucí ke stimulaci dělení a diferenciaci chondrocytů a syntézy extracelulární hmoty růstové ploténky.

2.2.4.2.3. Ostatní poruchy parakrinní signalizace růstové ploténky

Mezi další poruchy parakrinní signalizace, které působí kostní dysplázie, patří mutace v genech *IHH* a *GNAS*, které řídí velikost skupiny proliferujících chondrocytů a rovnováhu mezi buněčným dělením a hypertrofickou diferenciací chondrocytů (Andrade et al. 2017).

Tabulka 4 – Poruchy parakrinní regulace růstové chrupavky. Shrnuje dle (Ornitz a Legeai-Mallet 2017; Andrade et al. 2017; Irfanullah et al. 2018; Vasques et al. 2013; Hisado-Oliva et al. 2015; 2018; Vasques et al. 2018; Hellemans et al. 2003; Cianferotti a Brandi 2018)

Fenotyp (dědičnost)	Kosterní fenotypické známky	Mimokosterní fenotypické známky
<i>FGFR3</i>		
<i>Achondroplazie (AD)</i>	Výrazná asymetrická porucha růstu s rizomelickým zkrácením končetin, relativní makrocefalie, poruchy zakřivení páteře, brachydaktylie, kloubní deformity, zúžení foramen magnum, spinální stenózy	Hypoplázie střední části obličeje, opakované záněty středního ucha, převodní porucha sluchu, komprese mozkového kmene
<i>Hypochondroplazie (AD)</i>	Asymetrická porucha růstu s mesomelickým zkrácením končetin, relativní makrocefalie, metafyzární kostní dysplázie, kloubní deformity	-

Idiopatický malý vzrůst (AD)	Symetrický malý vzrůst bez výraznějších známek kostní dysplázie	-
Thanatoforní dysplázie (AD)	Velmi těžká asymetrická růstová porucha s mikromelickým zkrácením končetin, úzký hrudník, těžká platyspondylie,	Hydrocefalus, respirační insuficience, většinou úmrtí prenatálně nebo časně po narození
NPR2		
Idiopatický malý vzrůst (AD)	Symetrický malý vzrůst bez výraznějších známek kostní dysplázie	-
Léri-Weillův syndrom (AD)	Asymetrická porucha růstu s mesomelickým zkrácením končetin, vysoce klenuté patro, brachydaktylie, deformity kostí, bez Madelungovy deformity předloktí	-
Akromesomelická kostní dysplázie, typ Maroteaux (AR)	Výrazná asymetrická růstová porucha s akromesomelickým zkrácením končetin, brachydaktylie, epimetafyzální dysplázie, deformity kostí, omezená extenze v lokti, zvýšená bederní lordóza, gibbus	Volná nadbytečná kůže na prstech
NPPC		
Malý vzrůst (AD)	Malý vzrůst, malé dlaně a chodidla, brachydaktylie, kloubní deformity	-
IHH		
Akrokapitofemorální dysplázie (AR)	Asymetrická porucha růstu s krátkými končetinami, relativní makrocefalie, úzký hrudník, pectus carinatum/excavatum, výraznější bederní lordóza, kloubní deformity, dysplázie kyčelního kloubu, brachydaktylie	-
Malý vzrůst s brachydaktylií (AD)	Malý vzrůst, mírná disproporcionalita s kratšími končetinami, brachydaktylie, klinodaktylie	
GNAS		
Albrightové hereditární osteodystrofie (AD)	Malý vzrůst, brachydaktylie (zkrácení obzvláště 4. a 5. metakarpu)	Obezita, nystagmus, katarakta, hypoplázie skloviny, podkožní osifikace, hypokalcémie, hypogonadismus, hypotyreóza, mentální retardace, epilepsie

2.2.4.3. Poruchy v základních dějích buňky

Hormonální i parakrinní signály je třeba předávat dál do jádra buňky a následně na ně odpovídat. Poruchy růstu proto mohou vzniknout i v případech poškozené nitrobuněčné signalizace nebo při narušení základních buněčných dějů (dělení buňky, reparace DNA, exprese DNA, funkce centrozomu aj.) (Baron et al. 2015).

2.2.4.3.1. Mutace v genu *SHOX*

SHOX gen je lokalizován v pseudoautosomální oblasti 1 distální části krátkého raménka obou pohlavních chromozomů. Kóduje transkripční faktor, který regulací buněčné proliferace hraje nezastupitelnou roli ve funkci chondrocytů růstové chrupavky (Choi et al. 2015).

Poruchy genu *SHOX* vedou k malému vzrůstu s velmi variabilním fenotypem. Výsledek působení genu je závislý na množství funkčních alel. Heterozygotní mutace byla nalezena u 50-90 % pacientů s klinickým obrazem Lériho-Weillova syndromu (Binder 2011), který je kromě malé postavy charakteristický mesomelickým zkrácením končetin (zkrácením předloktí a bérců) a klasickou Madelungovou deformitou předloktí (zakřivení a zkrácení vřetenní kosti, prominence hlavičky loketní kosti a vychýlení kůstek zápěstí palmárním a ulnárním směrem). Tyto deformity bývají často diskrétní u předškolních dětí, zhoršují se v pubertě, ženy bývají postiženy výrazněji než muži (Choi et al. 2015; Pedicelli et al. 2009). Porodní délka nebývá výrazně snížena, růstová porucha typicky začíná časně v prvních letech života (Binder 2011). Průměrná dospělá výška odpovídá 164 cm u mužů, 151 cm u žen. Heterozygotní poruchu *SHOX* genu rovněž nacházíme u 2-15 % dětí s klinickým obrazem idiopatického malého vzrůstu. Turnerův syndrom je téměř vždy spojen se ztrátou jedné alely *SHOX* genu (Binder 2011).

Ztráta obou funkčních alel genu *SHOX* (homozygotní mutace) vede k závažné formě kostní dysplázie, k tzv. Langerově mesomelické dysplázii. Porucha růstu je velmi výrazná (dospělá výška přibližně 103 cm u žen, 114 cm u mužů) (Binder 2011) a je spojena s mesomelickým a rizomelickým zkrácením končetin, bilaterální Madelungovou deformitou, hypoplastickými lýtkovými kostmi a mikrognacií (Irfanullah et al. 2018).

2.2.4.3.2. Skupina RASopatii

Jako RASopatie označujeme skupinu genetických syndromů způsobených mutacemi v genech kódujících některé ze složek signalizační kaskády RAS-MAPK (např. geny *PTPN11*, *SOS1*, *RAF1*, *RIT1*, *SIT1*, *SHOC2*, *KRAS*, *HRAS*, *CRAF*, *BRAF*, *MEK1*, *MEK2*) (Rauen 2013; Lebl et al. 2020). Tato kaskáda přenáší do buňky signál zejména z membránového tyrosinkinázového receptoru, ale podílí se také na přenosu signálu z receptoru pro růstový hormon (Lebl et al. 2016). Mezi klinické projevy typické pro RASopatie patří porucha růstu, psychomotorická retardace, poruchy sluchu a zraku, srdeční vady, kraniofaciální malformace, abnormity kůže a adnex a zvýšené onkologické riziko. Nejčastějšími RASopatiemi jsou syndrom Noonanové a neurofibromatóza 1. typu. (Lebl et al. 2016; Rauen 2013).

Tabulka 5 – Poruchy v základních buněčných dějích růstové chrupavky. Shrnutí dle (Choi et al. 2015; Pedicelli et al. 2009; Binder 2011; Irfanullah et al. 2018; Lebl et al. 2020; Cimino a Gutmann 2018)

Fenotyp (dědičnost)	Kosterní fenotypické známky	Mimokosterní fenotypické známky
<i>SHOX</i>		
Léri-Weillův syndrom (AD)	Asymetrický malý vzrůst s mesomelickým zkrácením končetin, Madelungova deformita zápěstí, vysoce klenuté patro	-
Idiopatický malý vzrůst (AD)	Symetrický malý vzrůst bez výraznějších známek kostní dysplázie	-
Langerova mesomelická dysplázie (AR)	Výrazná asymetrická porucha růstu, mesomelické a rizomelické zkrácení končetin, bilaterální Madelungova deformita zápěstí, hypoplastické fibuly, mikrognázie, nadměrná bederní lordóza	-
<i>PTPN11, SOS1</i>		
Syndrom Noonanové (AD)	Malý vzrůst, pectus carinatum/pectus excavatum	Vrozené srdeční vady, psychomotorická retardace, faciální stigmatizace, opožděný nástup puberty, kryptorchismus
<i>NFI</i>		
Neurofibromatóza 1. typu (AD)	Malý vzrůst, dysplázie dlouhých kostí, kloubní obtíže	Pigmentové skvrny café-au-lait, gliomy optiku a mozku, kožní neurofibromy, maligní nádory (př. leukémie, feochromocytom, karcinoid, melanom) vrozené srdeční vady, porucha pozornosti, jiné kognitivní dysfunkce

2.2.5 Sekundární příčiny poruch růstu

Normální růst je ukazatelem celkového zdraví dítěte. Chronické onemocnění nebo dlouhodobé strádání velmi často tělesný růst negativně ovlivní. Sekrece růstového hormonu může být porušena jakýmkoli zevním procesem poškozujícím hypofýzu (např. nádor, radioterapie, krvácení, zánět, ischemie) nebo dlouhodobým psychosociálním strádáním – tzv. psychosociální nanismus. Na úrovni IGF-1 a růstové ploténky může být růst dítěte negativně ovlivněn např. chronickým zánětlivým onemocněním (Crohnova choroba, juvenilní idiopatická artritida), malnutricí (celiakie a jiné malabsorpční syndromy), chronickým onemocněním ledvin nebo různými endokrinopatiemi (Cushingův syndrom, hypotyreóza, poruchy pohlavních hormonů) (Lebl et al. 2016). Vyloučení těchto sekundárních příčin poruchy růstu patří do vstupního vyšetření dítěte u endokrinologa.

2.3 Genetické příčiny malého vzrůstu

Tělesná výška je z výrazné části dána genetickými faktory (Dauber et al. 2014). V poslední době byly identifikovány stovky běžných genetických variant, z nichž každá má pouze malý vliv na výslednou výšku člověka (Lango Allen H et al. 2010). V případě, že se u daného jedince tyto varianty kumulují, mohou výšku již významně ovlivnit, a vést k malé postavě (polygenní dědičnost). V případě velmi malého vzrůstu je daleko častěji možné prokázat příčinu růstové poruchy na molekulární úrovni. Tito lidé mohou nést mutaci v jediném genu, která má na jejich růst výrazný vliv. V těchto případech se jedná o typicky monogenní poruchy (Chan et al. 2011).

2.3.1 Cesty k odhalení genetické příčiny malého vzrůstu

Z recentních publikovaných prací vyplývá, že monogenní příčiny poruch růstu jsou výrazně poddiagnostikovány (Dauber et al. 2014). Identifikovat konkrétní příčinu na genové úrovni ale může být pro další osud pacienta velmi důležité. Pacient a jeho rodina dostanou odpověď na otázku, proč se výrazná porucha růstu v rodině vyskytuje. Objevení konkrétní genové mutace může být pro lékaře vodítkem, jaké komorbidity se u daného pacienta mohou objevit, případně po kterých má aktivně pátrat ještě před jejich klinickou manifestací. Například pacienty se syndromem Noonanové bude třeba vyšetřit ohledně přítomnosti vrozené často doposud nedidiagnostikované vrozené srdeční vady (Ekvall et al. 2015; Roberts et al. 2013), u pacientů s malým vzrůstem na podkladě mutací v genu *ACAN* se ve vyšší míře v mladém věku objevuje osteoartróza (Gibson a Briggs 2016). Naprosto zásadní je role genetického vyšetřování

malého vzrůstu z vědeckého hlediska. Vývoj poznání genetických příčin malého vzrůstu hraje nezastupitelnou roli v pochopení patofyziologie poruch růstu (Baron et al. 2015).

V současné době je k dispozici několik metod umožňující vyšetření genetické příčiny poruchy růstu. U všech dívek s malým vzrůstem neznámé příčiny je vyšetřen karyotyp k vyloučení Turnerova syndromu (Shankar a Backeljauw 2018). U dětí s klinickým podezřením na SHOX-deficit jsou v prvním kroku vyšetřeny delece v genu *SHOX* a v jeho regulačních oblastech pomocí MLPA (multiple ligation probe-dependent amplification) nebo FISH (fluorescenční in-situ hybridizace). Pokud není delece nalezena, vyšetřování pokračuje přímým Sangerovým sekvenováním k nalezení bodových mutací v genu *SHOX* (Binder 2011). Výše uvedené metody je možné úspěšně použít i v případě klinického podezření na jinou konkrétní genetickou příčinu růstové poruchy. U naprosté většiny dětí s malým vzrůstem ale klinické podezření na žádnou konkrétní genovou poruchu nevzniká. Vyšetření potenciálních mutací v obrovském množství genů, které se podílejí na regulaci růstu, není klasickými metodami genetického vyšetřování proveditelné. Monogenní příčina malého vzrůstu u těchto dětí může být odhalena pomocí metod sekvenování nové generace (NGS) (Dauber et al. 2014).

Sekvenování nové generace je soubor moderních metod genetického vyšetřování umožňující paralelní testování velkého počtu genů (cílené vyšetření panelu genů), případně i celoxomové nebo celogenomové sekvenování. Metody NGS jsou založeny na vysokokapacitním, paralelním sekvenování. Sekvenováním nové generace je možné odhalit změny v různých genech, a to i bez předchozího klinického podezření na konkrétní příčinu choroby. Výsledkem NGS je ale produkce obrovského množství výstupních dat, které je třeba následně roztřídit, analyzovat a interpretovat. **Správná interpretace nalezených variant** je nejobtížnější částí vyšetření NGS. V první fázi jsou varianty automaticky profiltrovány různými počítačovými programy např. podle kvality čtení, efektu na kódovaný protein (synonymní varianty) nebo frekvence dané varianty v různých populačních databázích (Behjati a Tarpey 2013). V další fázi pokračuje analýza manuálně. Každá nalezená varianta musí být klasifikována podle doporučení ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) do 5 tříd jako patogenní, pravděpodobně patogenní, varianta s nejasným významem, pravděpodobně benigní nebo benigní (Richards et al. 2015). Dříve používaný název „mutace“ bychom dnes na výsledku genetického vyšetření již neměli najít. Dnes je zastoupena označením patogenní nebo pravděpodobně patogenní varianta. Varianty benigní a pravděpodobně benigní se dříve označovaly jako „polymorfismus“. Označení varianta nejasného významu (často

zkrácena jako VUS) nemá historický ekvivalent. Právě díky metodám NGS a sdíleným populačním databázím (ExAC nebo 1000Genome apod.) je možné zjistit, jak často se nalezená varianta v populaci vyskytuje. Toto srovnání je jedním z hlavních důvodů, proč byla nová klasifikace zavedena. I když najdeme variantu, která byla již v literatuře dříve popsána, neznamená to dnes automaticky, že je označena za patogenní. Naopak, celá řada dříve publikovaných „mutací“ by byla dnes překlasifikována. Přesto se nemusíme v popisu klinických i patofyziologických jednotek nutně slova „mutace“ vzdát. „Mutace“ je v tomto kontextu vnímána jako soubor jednoznačných změn genu, který vede ke změně jeho funkce a vzniku patologického stavu.

2.3.2 Odpověď na léčbu růstovým hormonem u jedinců s geneticky definovanou příčinou malého vzrůstu

Zpočátku byl růstový hormon (GH), určený k léčbě malého vzrůstu, získáván z lidských hypofýz. Pro omezené množství takto extrahovaného GH byla léčba určena pouze pro děti s těžkým deficitem růstového hormonu. Nová rekombinantní DNA technologie zavedena v roce 1985 umožnila vyrobit prakticky neomezené množství GH. Účinnost a bezpečnost GH mohla být proto testována u dalších klinických jednotek, což vedlo ke značnému rozšíření indikací léčby GH (**Tabulka 6**) (Loche et al. 2014).

Tabulka 6 - Indikace léčby růstovým hormonem v Evropě (EMA) a v USA (FDA). Upraveno dle (Lebl et al. 2016; Deodati a Cianfarani 2017; Lebl et al. 2020)

EMA (Evropská léková agentura)	FDA (Úřad pro kontrolu potravin a léčiv)
1) Deficit růstového hormonu	1) Deficit růstového hormonu
2) Turnerův syndrom	2) Turnerův syndrom
3) Růstové selhání u dětí s chronickou renální insuficiencí	3) Růstové selhání u dětí s chronickou renální insuficiencí
4) Prader-Willi syndrom	4) Prader-Willi syndrom
5) Malý vzrůst u dětí narozených s malou porodní hmotností nebo délkou (SGA)	5) Malý vzrůst u dětí s intrauterinní růstovou restrikcí (SGA/IUGR)
6) Deficit SHOX	6) Deficit SHOX
7) Syndrom Noonanové	7) Idiopatický malý vzrůst
	8) Syndrom Noonanové

Naprostá většina jedinců je léčena růstovým hormonem z indikace růstové selhání navazující na narození s malou porodní hmotností nebo délkou, resp. z indikace deficitu růstového hormonu. V obou případech se jedná o značně heterogenní skupinu pacientů. Nízké porodní parametry mohou být způsobeny mateřskými faktory (např. kouření, abusus alkoholu, chronická onemocnění matky), poruchami funkce placenty (např. abnormální implantace

placenty, abrupce placenty) i faktory plodu (např. intrauterinní infekce plodu, vrozené vývojové vady, genetické vady) (Suhag a Berghella 2013). Ve skupině pacientů léčených růstovým hormonem z indikace GHD se kromě dětí se skutečným deficitem růstového hormonu nachází rovněž jedinci se zcela odlišnou příčinou malého vzrůstu, u kterých byl deficit růstového hormonu chybně diagnostikován z důvodu nízké specificity stimulačních testů využívaných k diagnostice (Baron et al. 2015; Ghigo et al. 1996). V obou těchto skupinách tedy můžeme najít i děti s různými monogenními příčinami malého vzrůstu. Menší část dětí je léčena růstovým hormonem z důvodu své genetické diagnózy.

2.3.2.1 Léčba růstovým hormonem u dětí s Turnerovým syndromem a deficitem SHOX

Příčina poruchy růstu u dívek s **Turnerovým syndromem** je multifaktoriální, ale zásadní roli zcela jistě hraje haploinsuficience SHOX genu. Mnoho studií prokázalo příznivý efekt léčby GH na růst dívek s Turnerovým syndromem (Loche et al. 2014). Dívky s TS léčené GH jsou v dospělosti o 5-7,5 cm vyšší než dívky s TS, které růstovým hormonem léčené nebyly (Stephure 2005; Ross et al. 2011). Některé studie ukazují, že včasná léčba GH (zahájena u dívek mladších 4 let) může dokonce výšku normalizovat (Linglart et al. 2011; Davenport et al. 2007). Děti s malým vzrůstem vzniklým na podkladě **deficitu SHOX** (bez Turnerova syndromu) jsou rovněž indikovány k léčbě růstovým hormonem (Ghigo et al. 1996). Tato indikace byla schválena na základě dva roky trvající multicentrické prospektivní studie, která neprokázala rozdíl v reakci na léčbu růstovým hormonem u dětí s deficitem SHOX ve srovnání s dívkami s Turnerovým syndromem (Blum et al. 2007). Většina dětí s deficitem SHOX na léčbě růstovým hormonem má normální dospělou výšku (větší než -2 SD) (Blum et al. 2013).

2.3.2.2. Léčba růstovým hormonem u dětí s Prader-Willi syndromem

Mnoho klinických projevů typických pro Prader-Willi syndrom (např. porucha růstu, nižší svalová síla, změna tělesného složení ve prospěch tuku) odpovídá příznakům, které vidáme u dětí s deficitem růstového hormonu. Většina dětí s PWS má rovněž nízkou koncentraci IGF-1 a nedostatečnou odpověď na různé stimulační testy vyšetřující schopnost sekrece růstového hormonu (Loche et al. 2014). Bylo prokázáno, že léčba růstovým hormonem u dětí s PWS zlepšuje růst (normalizace tělesné výšky po 8 letech léčby GH (Bakker et al. 2013)), tělesné složení, svalovou sílu i kognitivní funkce (Loche et al. 2014).

2.3.2.3. Léčba růstovým hormonem u dětí se syndromem Noonanové

Syndrom Noonanové je autosomálně dominantně dědičný syndrom patřící mezi RASopatie. Děti se syndromem Noonanové mívají charakteristickou faciální stigmatizaci, vrozené srdeční vady, deformity páteře a hrudníku a lehkou mentální retardaci. Většina jedinců má rovněž poruchu růstu. Syndrom Noonanové patří mezi indikace léčby růstovým hormonem v USA (Loche et al. 2014). Retrospektivní studie provedená na 65 pacientech prokázala zlepšení finální výšky o 0,6-2,0 SD ve srovnání s výškou před zahájením léčby (Romano et al. 2009). Od roku 2020 je pro syndrom Noonanové schválena léčba růstovým hormonem i v zemích Evropské unie (Lebl et al. 2020).

2.3.2.4. Léčba růstovým hormonem u dětí s achondroplazií

Růst dětí s achondroplazií vzniklé na podkladě aktivační mutace v genu *FGFR3* je výrazně poškozen. Malý vzrůst je dán zejména krátkými končetinami. Účinnost léčby růstovým hormonem u dětí s achondroplazií není velká, tělesná výška se mírně zvýší (z -5 SD před zahájením léčby na -4 SD po 5 letech léčby), stále ale zůstávají obavy ze zhoršení tělesných disproporcí. Z těchto důvodů nepatří achondroplazie mezi indikace k léčbě růstovým hormonem v Evropě ani v USA (Massart et al. 2015).

2.3.2.5. Léčba růstovým hormonem u dětí s jinými genetickými příčinami malého vzrůstu

S pokroky genetické diagnostiky se daří odhalit genetickou příčinu u stále více jedinců s poruchou růstu. Postupně vznikají etiopatogeneticky homogenní skupiny pacientů se stejnou genetickou příčinou malého růstu a předpokládanou obdobnou odpovědí na léčbu růstovým hormonem. V naprosté většině případů jsou ale informace o účinnosti terapie růstovým hormonem u těchto skupin velmi omezené. Typickým příkladem takové homogenní skupiny jsou děti s malým vzrůstem na podkladě heterozygotních mutací v *NPR2* genu. Tato skupina je relativně velká, zahrnuje přibližně 2-6 % dětí s idiopatickým malým vzrůstem (Vasques et al. 2013; Amano et al. 2014; Wang et al. 2015). Léčba růstovým hormonem byla doposud popsána pouze ve formě kazuistik 10 dětí s velmi různorodými výsledky (Hisado-Oliva et al. 2015; Vasques et al. 2013; Amano et al. 2014; Wang et al. 2015; Vasques et al. 2017; Jacob et al. 2018). Objasnění odpovědi na léčbu růstovým hormonem u geneticky definovaných skupin dětí s malým vzrůstem patří mezi nejdůležitější úkoly současné dětské endokrinologie.

2.4 Familiárně malý vzrůst

Děti s familiárně malým vzrůstem tvoří značnou část pacientů v ambulanci dětského endokrinologa. Jedná se o popisnou diagnózu běžně užívanou v klinické praxi, která vyjadřuje, že se růstová porucha přenáší v rodině ve dvou nebo více po sobě jdoucích generacích (výška <-2 SD u dítěte a u menšího z jeho rodičů). Dítě je sice malé ve srovnání se svými vrstevníky, ale většinou roste v rámci dolního pásma rodičovské predikce, které je dáno výškou jeho menšího rodiče (Lebl et al. 2016; Pedicelli et al. 2009). Některé literární zdroje považují familiárně malý vzrůst za fyziologickou variantu růstu (Barstow a Rerucha 2015; Al-Jurayyan N et al. 2012), což může vést k zastavení diagnosticko-terapeutického postupu. Na druhou stranu mnozí jedinci s FSS splní indikační kritéria pro léčbu růstovým hormonem – nejčastěji jako růstové selhání navazující na intrauterinní růstovou restrikcí, méně často jsou děti testovány a splní kritéria pro diagnózu deficitu růstového hormonu. Jelikož se malý vzrůst vyskytuje v několika generacích, předpokládá se, že je růstová porucha v rodinách s FSS podmíněna geneticky. **To činí skupinu dětí s FSS velice zajímavou z hlediska genetického vyšetřování malého vzrůstu.**

Všeobecně se v rodinách s FSS předpokládá polygenní způsob dědičnosti. Růstová porucha je v tomto případě způsobena změnami ve velkém množství různých genů. Každá taková změna má sama o sobě minimální efekt na výslednou výšku člověka, pokud se ale tyto změny u daného jedince naštědají, mohou jeho růst významněji ovlivnit. Objasnění přesné etiologie polygenního malého vzrůstu není pomocí současných vyšetřovacích metod proveditelné. Genetické vyšetřování polygenního FSS proto zatím nemá potenciál objasnit etiopatogenezi malého vzrůstu u vyšetřovaných jedinců.

V některých případech je ale za růstovou poruchu zodpovědná mutace v jediném genu, která sama způsobí malý vzrůst daného jedince (monogenní způsob dědičnosti). Pokud je tato mutace předávána z generace na generaci (autosomálně dominantní dědičnost), popíšeme u dané rodiny familiárně malý vzrůst. Objasnění genetické příčiny monogenního FSS umožní pochopení etiopatogeneze růstové poruchy v rodině a celkové zlepšení chápání patofyziologie malého vzrůstu obecně. Žádná komplexně pojatá studie zabývající se rodinami s familiárně malým vzrůstem nebyla doposud provedena. Etiopatogeneze, fenotyp a reakce na růstový hormon u dětí s familiárně malým vzrůstem proto zůstává velkou neznámou.

3. CÍL PRÁCE

Pomocí genetických metod včetně metod sekvenování nové generace objasnit na genetické a patofyziologické úrovni příčinu růstové poruchy u skupiny dětí s familiárně malým vzrůstem léčených růstovým hormonem z různých indikací. U vybraných skupin genetických diagnóz podrobně popsat fenotyp a odpověď na léčbu růstovým hormonem.

4. VĚDECKÁ HYPOTÉZA

Hlavní vědecká hypotéza:

Příčinou růstové poruchy u významného počtu dětí s familiárně malým vzrůstem je mutace v jediném genu. Genetické vyšetření povede k lepšímu pochopení etiopatogeneze familiárně malého vzrůstu.

Vedlejší vědecká hypotéza:

Využitím genetického vyšetřování vzniknou skupiny pacientů se stejnou monogenní příčinou familiárně malého vzrůstu, u nichž následně bude možné popsat genově specifický fenotyp a odpověď na léčbu růstovým hormonem.

5. METODIKA

5.1. Kritéria pro zařazení do studie

V databázi pacientů léčených růstovým hormonem na Pediatrické klinice FN Motol a 2. lékařské fakulty UK se k datu 1.11.2016, kdy byl zahájen nábor pacientů do studie, nacházelo 747 jedinců. Po vyloučení dětí se známou chromosomální aberací (Turnerovým syndromem a Prader-Williho syndromem) a se známou sekundární příčinou růstové poruchy (např. chronické onemocnění ledvin, sekundární deficit růstového hormonu z důsledku intrakraniálního nádoru nebo ozařování) zbylo 531 dětí. V rámci této skupiny mělo 128 dětí familiárně malý vzrůst, který byl definován jako výška dítěte před zahájením léčby růstovým hormonem a výška menšího z jeho rodičů ≤ -2 SD.

U 98 dětí s FSS jejich zákonný zástupce podepsal písemný informovaný souhlas a následně byly tyto děti zařazeny do studie. Schéma zařazení pacientů do studie je znázorněno na **Obrázku 8**.

5.2. Klinické vyšetření dětí po zařazení do studie

Výšky všech dětí zařazených do studie byly změřeny při antropologickém vyšetření, při kterém byla rovněž zhodnocena proporcionalita tělesného vzrůstu (poměr výšky vsedě k celkové výšce) a další antropometrické parametry. Informace o porodních parametrech a o vývoji výšky před zahájením studie byly získány z lékařských záznamů (očkovací průkaz nebo kopie porodopisu). Výšky všech rodičů byly změřeny s přesností na 1 mm, výšky ostatních příbuzných byly získány od rodičů. Všechna data byla porovnána se současnými normami (Voigt et al. 2006; Kobzová et al. 2004; Fredriks et al. 2005). U všech dětí byla laboratorními a zobrazovacími metodami vyloučena sekundární porucha růstu, případně byla diagnóza stanovena v minulosti (např. chronické renální selhání). Diagnózy GHD a SGA byly stanoveny podle současných doporučení. U všech dětí s malým vzrůstem, u nichž auxologická data vedla k podezření na GHD nebo měly koncentraci IGF-1 v séru -2 SD nebo nižší (ve srovnání s referenčními hodnotami pro daný věk a pohlaví), byly provedeny stimulační testy hodnotící sekreci růstového hormonu. Priming pohlavními hormony byl proveden u dětí starších 7 let. U dětí s maximální stimulovanou koncentrací růstového hormonu ve dvou různých stimulačních testech (klonidinový test a test inzulinovou hypoglykémií) <10 ug/l byla stanovena diagnóza GHD (Kommunehospital 2000). Děti, jejichž porodní hmotnost nebo porodní délka byla menší než -2 SD v porovnání s referenčními hodnotami standardizovanými pro pohlaví a gestační

stáří, které neprokázaly do 4 let věku dostatečné růstové zlepšení (tělesná výška $<-2,5$ SD a růstová rychlost <0 SD), byly léčeny růstovým hormonem z indikace SGA (Clayton et al. 2007). Kostní věk byl u všech dětí vyšetřen provedením rentgenového snímku levého zápěstí a následně zhodnocen metodou dle Tannera a Whitehouse (Cox 1996).

Věkový medián dětí zařazených do studie byl 12 let (IQR 9-15 let), medián jejich výšky před zahájením terapie GH byl $-3,0$ SD (IQR $-3,5$ až $-2,7$ SD) a medián výšky menšího z jejich rodičů byl $-2,7$ SD (IQR $-3,0$ až $-2,3$ SD). Děti byly léčeny GH po dobu 5 let (medián, IQR 3-7 let) dávkou 33 ug/kg/den (medián, IQR 31-35 ug/kg/den). V rámci této vyšetřované skupiny byl u 65 % (64/98) dětí diagnostikován GHD, jejich maximální stimulovaná koncentrace GH byla 6,4 ug/l (medián, IQR 4,8-7,8 ug/l). Celkem 47 dětí mělo mírnou formu GHD s maximálním stimulovaným GH v rozmezí 5-10 ug/l, zbylých 17 dětí mělo maximální stimulovanou koncentraci GH <5 ug/l. Celkem 54 děti (55 %) se narodily SGA (24 dětí mělo nízkou porodní délku i porodní hmotnost, 27 pouze nízkou porodní délku a 3 pouze nízkou porodní hmotnost), jejich porodní hmotnost a porodní délka byly $-2,0$ SD (medián, IQR $-2,4$ až $-1,6$ SD), respektive $-2,6$ SD (medián, IQR $-3,1$ až $-2,3$ SD). Dvacet dětí (20 %) splnilo jak diagnózu GHD, tak SGA.

5.3. Genetické vyšetření

5.3.1. Základní genetické vyšetření

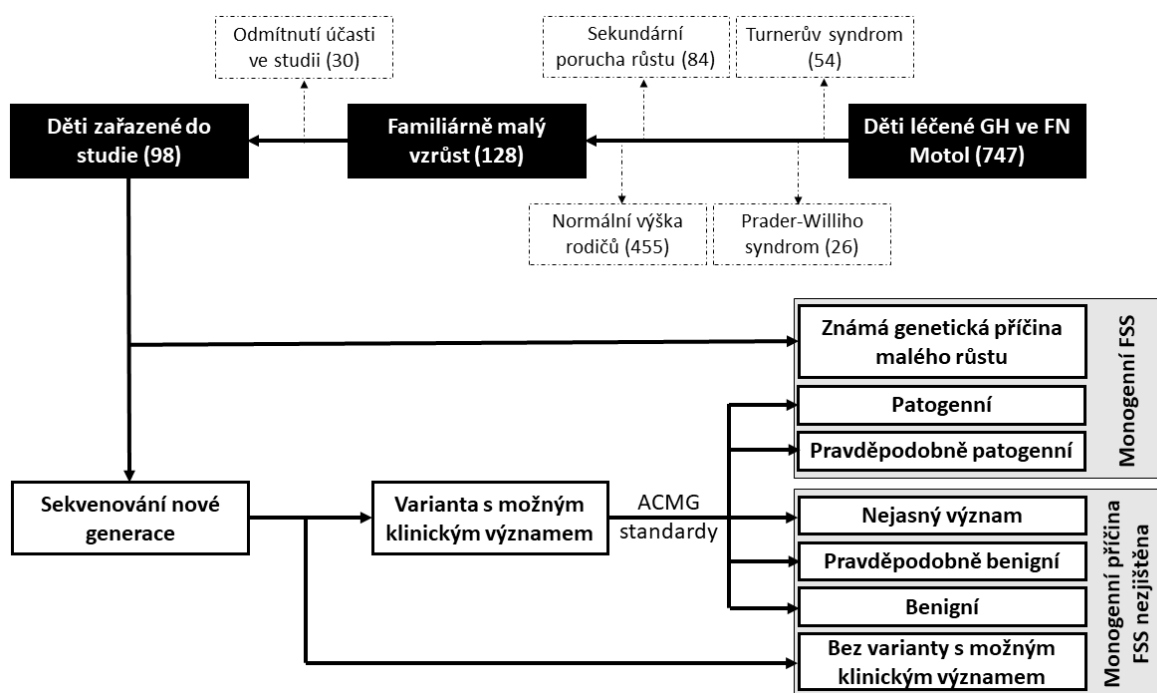
U všech jedinců bylo před zařazením do studie v rámci rutinního vyšetřování příčiny poruchy růstu provedeno základní genetické vyšetření. Všechny dívky byly vyšetřeny pomocí cytogenetické metody FISH za účelem vyloučení Turnerova syndromu a haploinsuficience genu *SHOX*. U všech chlapců s disproporcionálním malým vzrůstem byl vyšetřen deficit proteinu SHOX pomocí Sangerova sekvenování a metody MLPA. U dětí s podezřením na konkrétní genetickou příčinu malého vzrůstu bylo provedeno cílené genetické vyšetření. Základní genetické vyšetření odhalilo monogenní příčinu růstové poruchy u 11 dětí s FSS – geny *SHOX* (6), *ACAN* (2), *PTPN11* (2) a *NFI*.

5.3.2. Genetické vyšetření pomocí metod sekvenování nové generace

Zbývajících 87 dětí, u kterých základní genetické vyšetření neprokázalo etiologii růstové poruchy, bylo vyšetřeno pomocí genetických metod sekvenování nové generace. DNA prvních 28 dětí s těžší formou FSS (výška dítěte před zahájením léčby GH a menšího z jeho rodičů $<-2,5$ SD) byla vyšetřena pomocí celoxomového sekvenování (WES). Zbylých 59 dětí

s FSS bylo vyšetřeno cíleným NGS pomocí panelu 398 genů ovlivňujících růst člověka. Panel genů byl sestaven naší studijní skupinou v rámci tohoto projektu. Do panelu byly po podrobném studiu literatury zařazeny všechny známé geny spojené s malým vzrůstem člověka, dále geny popsané s růstovou poruchou na zvířecích modelech a geny doposud nepopsané s malým vzrůstem, které však dle své funkce mají potenciál hrát roli v patofyziologii malého vzrůstu. Soubor všech genů zařazených do panelu je k dispozici v rámci **Přílohy č. 1**.

DNA z periferní krve byla extrahována pomocí kitu QIAmp DNA Blood Mini Systém (Qiagen, Hilden, Německo). Následné NGS vyšetření bylo provedeno pomocí kitu SureSelect Human All Exon Kit V6 + UTRs (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) a sekvenačního přístroje NextSeq 500 Analyzer (San Diego, CA, USA) se 100násobným průměrným pokrytím v případě WES, respektive pomocí kitu SureSelect (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) a sekvenačního přístroje Illumina MiSeq Platform (San Diego, CA, USA) se 100x průměrným pokrytím v případě cíleného NGS. Kontrola kvality vyšetření byla provedena pomocí programu FastQC. Získané genové sekvence byly srovnány s referenčním lidským genomem (hg 19 build) pomocí BWA softwaru. Nalezené genové varianty byly následně filtrovány pomocí analytického programu Varaft (Quiagen, Hilden, Německo). Úvodní nastavení filtrů odstranilo synonymní varianty, varianty s nízkou kvalitou čtení (call quality <20) a varianty s populační frekvencí v různých databázích (1000 Genome Project nebo ExAc) vyšších než 1 %. Zbýlé genové varianty s možným klinickým významem byly vyhodnoceny pomocí standardů ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) a následně klasifikovány jako patogenní, pravděpodobně patogenní, benigní, pravděpodobně benigní nebo jako varianty s nejasným významem (Richards et al. 2015). Patogenní a pravděpodobně patogenní varianty byly hodnoceny jako kauzální pro malý vzrůst vyšetřovaného jedince. Pro zhodnocení segregace genetické varianty s malým vzrůstem v rodině byla získána DNA od rodičů a od dalších příbuzných a následně vyšetřena pomocí Sangerova sekvenování.



Obrázek 8 – Schéma zařazení pacientů do studie a genetického vyšetření.

5.4. Hledání klinických prediktorů monogenní příčiny malého vzrůstu

Rozdíly ve vybraných klinických parametrech (viz **Tabulku 9**) mezi dětmi s prokázanou monogenní příčinou familiárně malého růstu (nalezena patogenní nebo pravděpodobně patogenní varianta v některém z vyšetřovaných genů) a dětmi, u kterých monogenní příčina růstové poruchy odhalena nebyla, byly porovnány pomocí neparametrického testu (Kruskal-Wallis test). Model mnohonásobné lineární regrese se zpětnou eliminací byl použit k popsání vztahu mezi závislou proměnnou (diagnóza monogenní příčiny FSS) a skupinou nezávislých možných prediktorů monogenního FSS (různé hodnocené klinické parametry). V případě nalezení vhodného kvantitativního prediktoru byl stanoven optimální cut-off předpovídající monogenní příčinu familiárně malého růstu pomocí ROC křivky (nejvyšší Youdenův index). Statistické testy byly provedeny pomocí programu MedCalc verze 19 (Medcalc software 2020), hodnoty $p < 0,05$ byly považovány za statisticky signifikantní.

5.5. Zhodnocení fenotypu jednotlivých genetických příčin malého růstu a reakce na růstový hormon

Po dokončení genetického vyšetření studijní kohorty byly vytvořeny geneticky homogenní skupiny pacientů se stejnou příčinou růstové poruchy. U všech takto vzniklých

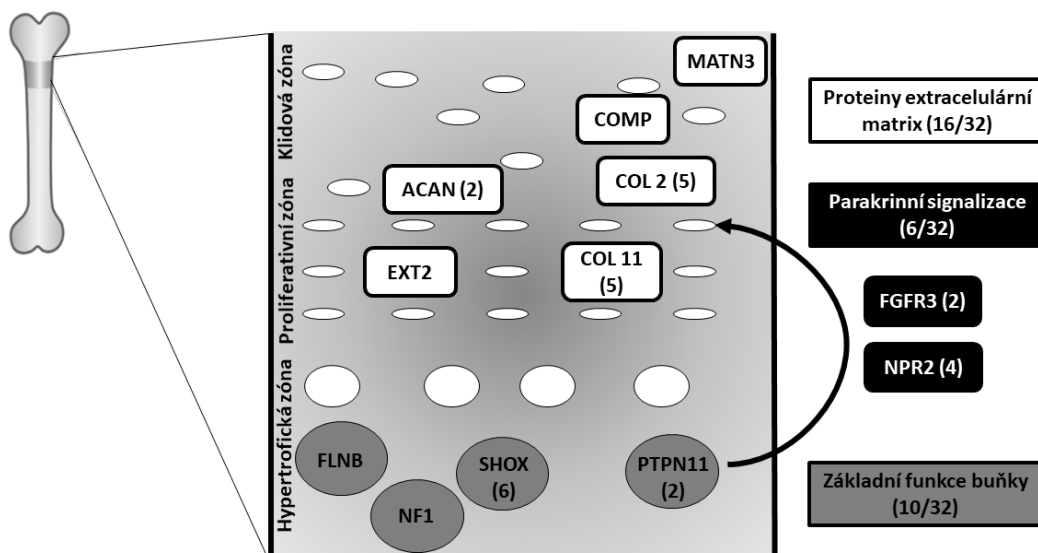
skupin (počet jedinců ve skupině 4 a více) byl podrobně popsán fenotyp (př. auxologické parametry, porodní parametry, laboratorní hodnocení sekrece růstového hormonu, známky kostní dysplázie). Reakce na léčbu růstovým hormonem byla retrospektivně zhodnocena porovnáním růstové rychlosti v roce před zahájením léčby GH s růstovou rychlostí v prvním roce léčby a pomocí vývoje tělesné výšky (vyjádřeno ve směrodatných odchylkách) v prvních třech letech léčby růstovým hormonem. Ke statistickému zhodnocení vývoje růstových parametrů byl použit párový T-test, resp. ANOVA test pro opakované měření). Srovnání fenotypických znaků mezi jednotlivými vyšetřovanými skupinami bylo provedeno pomocí Kruskal-Wallis testu. Statistické testy byly provedeny pomocí programu MedCalc verze 19 (MedCalc software 2020), hodnoty $p < 0,05$ byly považovány za statisticky signifikantní.

6. VÝSLEDKY

6.1. Etiologie familiárně malého vzrůstu

Genetické vyšetření prokázalo etiologii růstové poruchy u 40/98 (41 %) dětí s familiárně malým vzrůstem. Před zahájením studie byla genetická diagnóza známa u 11 (označeno níže hvězdičkou), v 29 případech byla stanovena pomocí sekvenování nové generace.

U 32/40 dětí (80 %) byla růstová porucha zapříčiněna poškozením funkce nebo struktury růstové chrupavky. Byly nalezeny kauzální varianty v genech *SHOX** [6], *COL2A1* [5], *COL11A1* [4], *NPR2* [4], *ACAN** [2], *FGFR3* [2], *PTPN11** [2], *COL11A2*, *COL1A2*, *COMP*, *MATN3*, *EXT2*, *NF1** a *FLNB*). U 5/40 dětí (13 %) byla poškozena některá ze složek osy GH-IGF-1 (nalezeny kauzální varianty v genech *GHSR*, *HGMA2*, *IGF1R*, *IGFALS* a *OTX2*), u zbylých 3/40 dětí (7 %) byla nalezena jiná příčina malého růstu (nalezeny kauzální varianty v genech *TRHR*, *SALL4* a *MBTPS2*). Mutace v genu *TRHR* způsobuje centrální hypotyreózu, správná funkce genu *SALL4* je nutná pro optimální vývoj končetin a mutace v genu *MBTPS2* způsobují tzv. IFAP syndrom, který kromě malého vzrůstu zahrnuje poškození kůže a jizvení rohovky. Konkrétní genové varianty a individuální fenotypické známky jednotlivých dětí s prokázanou monogenní etiologií FSS jsou shrnuty v **Tabulce 7**. Nalezené nekauzální genové varianty jsou vypsány v **Tabulce 8**.



Obrázek 9 – Kauzální genové varianty způsobující primární poruchu růstové chrupavky.

Tabulka 7 – Fenotyp a genetické nálezy jednotlivých pacientů s prokázanou monogenní příčinou familiárně malého vzrůstu.

Číslo	Pohlaví	Věk při posledním vyšetření (roky)	Věk při zahájení léčby GH (roky)	Dávka GH (ug/kg/den)	Výška menšího z rodičů (SD)	Porodní hmotnost (SD)	Porodní délka (SD)	Výška před zahájením léčby GH (SD)	Výška po 1 roce léčby GH (SD)	Výška po 3 letech léčby GH (SD)	RR před zahájením léčby GH (cm/rok)	RR v prvním roce léčby GH (cm/rok)	BA před zahájením léčby GH (rozdíl s CA, roky)	IGF-1 před léčbou GH (SD)	Maximální koncentrace GH (ug/l)	SHH poměr (SD)	Další fenotypické znaky	Metoda genetického vyšetření	Gen	Stav genové varianty	Transkripční varianta	Proteinová varianta	Klasifikační varianty
Geny ovlivňující růstovou chrupavku																							
Extracelulární matrix růstové chrupavky																							
1	M	14	7	30	-3,6	-1,6	-3,3	-3,7	-2,9	-2,2	3,7	8,6	1,7	-1,6	3,2	0,9	-	Sanger	ACAN	M/n	c.[1425_1425 delA. 1425=]	p.Val478fs*14	P
2	F	9	6	34	-2,9	-1,2	-2,3	-3,3	-2,8	-2,5	2,0	7,6	2,0	-0,1	NA	0,5	-	Sanger	ACAN	M/n	c.916A>T	p.Ser306Cys	P
3	F	14	3	40	-2,4	-1,5	-1,9	-2,8	-2,6	-1,7	7,4	7,3	0,3	-1,3	9,7	1,2	Skolióza	NGS panel	COL11A1	M/n	c.475A>G	p.Ile159Val	LP
4	M	16	9	35	-2,4	-1,0	-0,7	-3,4	-2,7	-2,1	3,8	7,8	-1,3	-1,2	8,0	-0,6	-	NGS panel	COL11A2	M/n	c.3706C>T	p.Arg1236Cys	LP
5	F	12	3	40	-3,5	-1,6	-3,1	-4,3	-3,6	-2,7	6,2	9,1	NA	-1,7	11,0	0,9	Plochá noha,	WES	COL11A1	M/n	c.2921C>A	p.Pro974Gln	LP

17	F	5	4	35	-2,4	-1,6	-2,4	-3,0	-2,9	NA	3,7	6,7	NA	-2,1	4,0	0,3	-	NGS panel	FGFR3	M/n	c.251C>T	p.Ser84Leu	P
18	M	9	7	32	-2,4	-0,9	-1,7	-2,9	-2,2	NA	5,5	9,1	-1,7	-1,4	4,7	0,3	-	NGS panel	NPR2	M/n	c.613C>T	p.Arg205*	LP
19	F	15	10	36	-2,1	-1,4	-1,2	-3,0	-2,7	-2,2	3,7	7,4	-2,1	-1,6	5,8	2,2	Brachydaktylie	NGS panel	NPR2	M/n	c.1673T>C	p.Ile558Thr	P
20	M	10	5	32	-3,7	-2,0	-3,1	-4,0	-3,3	-2,5	4,2	8,4	-1,1	-1,5	4,5	1,2	FOA	NGS panel	NPR2	M/n	c.1808G>C	p.Ser603Thr	LP
21	F	11	3	37	-2,5	-1,8	-2,0	-3,8	-3,1	-2,6	5,3	9,0	NA	-1,7	12,7	1,0	Plochá noha	NGS panel	NPR2	M/n	c.1670G>A	p.Arg557His	LP
Základní nitrobuňkové děje růstové chrupavky																							
22	M	12	8	33	-2,9	-2,4	-3,4	-2,7	-2,0	-1,3	4,6	9,0	0,5	-1,0	5,9	0,5	-	WES	EXT2	M/n	c.2034G>C	p.Lys527Asn	LP
23	M	7	5	30	-3,6	-1,4	-1,2	-2,1	-1,4	NA	6,2	9,8	-0,4	-2,3	7,0	x	-	WES	FLNB	M/n	c.1601T>G	p.Ile534Ser	LP
24	M	16	11	33	-2,9	1,0	-1,2	-3,9	-2,9	-2,6	2,5	9,2	0,5	-4,3	6,2	0,7	Vitiligo	Sanger	PTPN11	M/n	c.211T>A	p.Phe71Ile	P
25	M	12	7	33				-2,7	-1,9	-1,2	4,0	9,3	-1,6	-1,4	4,8	1,5	-	Sanger	PTPN11	M/n	c.1403C>T	p.Thr468Met	P
26	F	12	6	33	-3,9	1,0	0,1	-2,5	-1,7	-1,0	4,8	8,7	-0,7	-1,1	1,2	?	Skvrny cafe-au-lait	Sanger	NF1	M/n	c.4267A>G	p.Lys1423Glu	P
27	M	13	7	46	-3,4	-1,6	-1,9	-2,1	-1,3	-0,4	6,0	9,6	-1,1	-0,5	NA	2,2	Gotické patro, šavlovité předloktí	MLPA	SHOX	M/n	SHOX delece (1MB)	-	P
28	M	13	6	33	-2,4	-1,6	-1,7	-2,7	-2,2	-1,8	5,3	8,0	-0,2	-2,1	NA	-0,6	-	MLPA	SHOX	M/n	46.X inv dup (Y) (pterp 11.1)	-	P
29	M	17	11	52	-3,2	-1,0	-2,4	-2,9	-2,3	-2,1	3,4	9,5	1,5	-0,6	NA	0,4	-	MLPA	SHOX	M/n	PAR1 duplikace	-	P
30	F	4	1	48	-2,9	-1,2	-3,5	-2,5	-2,3	NA	8,9	9,7	NA	-1,4	NA	2,4	-	FISH	SHOX	M/n	del Xp22.3	-	P
31	F	15	12	49	-2,9	-1,1	-1,0	-2,7	-2,3	-1,8	7,8	8,9	-0,3	-1,6	NA	4,1	-	FISH	SHOX	M/n	del Xp22.3	-	P
32	M	9	6	48	-3,5	-0,5	-1,1	-2,6	-1,8	-0,9	5,1	10,6	NA	-1,1	NA	2,6	-	MLPA	SHOX	M/n	del Xp22.3	-	P
Geny ovlivňující osu GH-IGF-1																							
33	F	10	7	31	-2,8	-2,6	-3,1	-3,2	-2,1	-1,4	4,2	10,6	-0,6	-2,1	7,2	0,1	-	WES	GHSR	M/n	c.526G>A	p.Gly176Arg	P

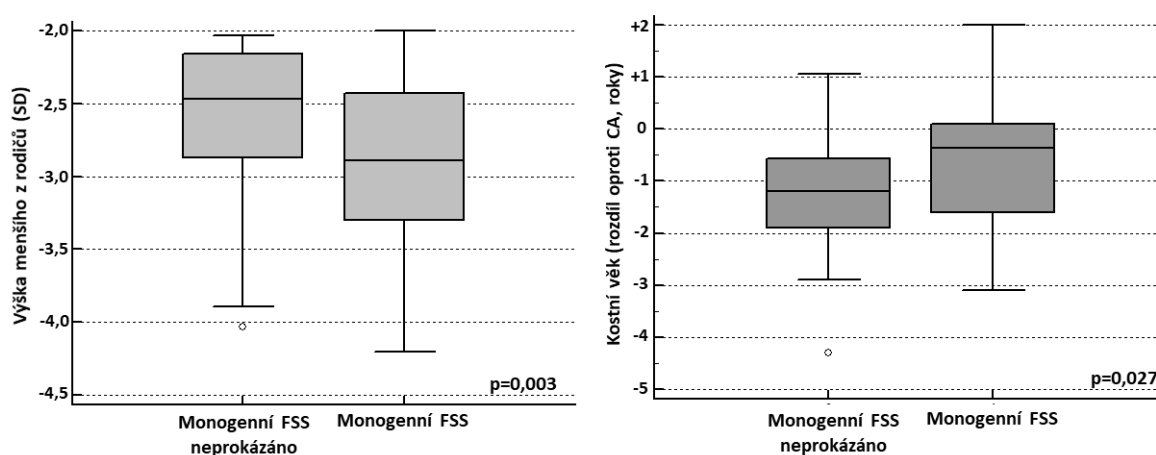
34	M	7	4	33	-3,9	-2,0	-1,4	-3,1	-2,4	-1,9	5,1	9,1	-2,0	-2,2	8,3	0,7	Strabis- mus	WES	HGMA2	M/n	c.223C>T	p.Arg75Trp	LP
35	M	12	9	36	-3,3	-1,4	-2,1	-2,9	-2,3	-1,6	4,7	7,2	-1,5	-0,6	29,7	0,8	-	WES	IGF1R	M/n	c.158C>T	p.Thr53Met	LP
36	M	11	7	34	-2,8	-1,6	-1,7	-3,5	-2,6	-1,6	5,3	9,8	-0,2	-1,8	6,1	0,6	-	WES	IGFALS	M/n	c.589C>T	p.Arg197Cys	P
37	M	10	6	28	-2,8	-1,2	-1,1	-6,3	-5,0	-3,4	4,5	12,1	0,0	<-3	1,7	0,4	PMR	NGS panel	OTX2	M/n	c.106delC	p.Arg36fs	P
Ostatní geny																							
38	M	10	5	34	-2,7	-1,1	-1,8	-4,4	-4,0	-3,6	5,9	7,2	NA	-1,1	6,4	0,9	Imuno- deficit, hyper- keratóza ulcerace rohovky	WES	MBTPS2	M/-	c.1538T>C	p.Leu513Pro	LP
39	M	12	7	34	-2,4	-1,8	-1,4	-2,8	-2,1	-1,0	6,3	8,7	NA	-1,0	4,6	-0,3	Defekt radiál- ního paprsku, dystopie pravé ledviny	WES	SALL4	M/n	c.1717C>T	p.Arg573*	P
40	M	16	12	33	-2,9	-1,6	-2,4	-4,0	-3,6	-3,3	4,2	7,6	-3,1	-3,7	10,0	2,6	Centrální hypo- tyreóza	WES	TRHR	M/M	c.392T>C	p.Ile131Thr	LP

Tabulka 8 – Nalezené genové varianty bez prokázané kauzality.

Gen	Transkripční varianta	Proteinová varianta	Typ varianty	ACMG klasifikace
<i>ALPL</i>	c.40C>T	p.Leu14Phe	M/n	Benigní
<i>COL10A1</i>	c.1518G>C	p.Lys527Asn	M/n	Pravděpodobně benigní
<i>COL10A1</i>	c.773G>A	p.Arg258Gln	M/n	Nejasný význam
<i>COL11A1</i>	c.1896G>A	p.Met632Ile	M/n	Nejasný význam
<i>COL1A2</i>	c.2642A>C	p.Glu881Ala	M/n	Nejasný význam
<i>COL1A2</i>	c.2798A>G	p.Asp933Gly	M/n	Benigní
<i>COL1A2</i>	c.2777G>A	p.Arg926His	M/n	Nejasný význam
<i>COL2A1</i>	c.3713A>C	p.Tyr1238Ser	M/n	Pravděpodobně benigní
<i>COL9A2</i>	c.1834G>A	p.Gly612Arg	M/n	Benigní
<i>COL9A2</i>	c.1798C>T	p.Arg600Cys	M/n	Nejasný význam
<i>COL9A2</i>	c.185C>T	p.Pro62Leu	M/n	Nejasný význam
<i>COL9A2</i>	c.1693G>A	p.Gly565Arg	M/n	Benigní
<i>COMP</i>	c.1480G>C	p.Asp494His	M/n	Benigní
<i>EXT1</i>	c.947G>A	p.Arg325Gln	M/n	Nejasný význam
<i>FBLN1</i>	c.1174G>A	p.Gly392Ser	M/n	Nejasný význam
<i>FBN1</i>	c.902G>T	p.Gly301Val	M/n	Nejasný význam
<i>FGFR1</i>	c.2292+3A>G	intronická	M/n	Pravděpodobně benigní
<i>FLNA</i>	c.1463G>A	p.Arg488Gln	M/-	Nejasný význam
<i>FLNB</i>	c.731C>T	p.Pro244Leu	M/n	Nejasný význam
<i>FLNB</i>	c.2935G>A	p.Val979Met	M/n	Pravděpodobně benigní
<i>GHI</i>	c.478C>T	p.Arg160Trp	M/n	Benigní
<i>GHI</i>	c.171+2T>A	Splice site	M/n	Nejasný význam
<i>GHSR</i>	c.709A>T	p.Arg237Trp	M/n	Nejasný význam
<i>GLI2</i>	c.4332G>A	p.Met1444Ile	M/n	Benigní
<i>GLI3</i>	c.1222G>A	p.Gly408Ser	M/n	Nejasný význam
<i>HSPG2</i>	c.12874G>A	p.Glu4292Lys	M/n	Benigní
<i>IGF1R</i>	c.394A>C	p.Asn132His	M/n	Benigní
<i>IGFALS</i>	c.589C>T	p.Arg197Cys	M/n	Nejasný význam
<i>IGFALS</i>	c.860C>T	p.Pro287Leu	M/n	Nejasný význam
<i>IHH</i>	c.1169G>A	p.Arg390His	M/n	Benigní
<i>IHH</i>	c.857C>T	p.Pro286Leu	M/n	Nejasný význam
<i>IHH</i>	c.1169G>A	p.Arg390His	M/n	Benigní
<i>LTBPS3</i>	c.2222C>G	p.Ala741Gly	M/n	Pravděpodobně benigní
<i>PAX6</i>	c.13C>G	p.His5Asp	M/n	Benigní
<i>SHH</i>	c.424G>A	p.Glu142Lys	M/n	Benigní
<i>SOST</i>	c.448G>C	p.Gly150Arg	M/n	Pravděpodobně benigní
<i>SOX9</i>	c.817G>C	p.Val273Leu	M/n	Pravděpodobně benigní
<i>THRA</i>	c.455G>A	p.Arg152Gln	M/n	Nejasný význam
<i>TRPS1</i>	c.793A>G	p.Asn265Asp	M/n	Nejasný význam

6.2. Klinické prediktory monogenní příčiny FSS

V porovnání s dětmi, u kterých nebyla etiologie růstové poruchy pomocí genetických metod nalezena, měly děti s prokázanou monogenní příčinou FSS signifikantně méně opožděný kostní věk a jejich rodiče s malým vzrůstem měly signifikantně výraznější růstovou poruchu (viz **Obrázek 10**, pro komplexní vyhodnocení možných klinických prediktorů monogenního FSS viz **Tabulku 9**). Pomocí mnohočetného regresního modelu bylo potvrzeno, že oba výše uvedené klinické parametry byly vhodnými prediktory monogenní příčiny familiárně malého vzrůstu ($p=0,027$ pro kostní věk a $p=0,003$ pro výšku rodiče s malým vzrůstem). Pomocí ROC křivky bylo určeno, že optimální mezní hodnotou predikce monogenního FSS je opoždění kostního věku před léčbou GH o méně než o 0,5 roku (Youden index 0,31) a výška menšího z rodičů menší než -2,4 SD (Youden index 0,34). V případě dětí, které splnily obě výše uvedená kritéria, byla monogenní etiologie FSS prokázána v 78 % (14/18 dětí).



Obrázek 10 – Klinické prediktory monogenní příčiny familiárně malého vzrůstu. Krabicový graf ukazuje mediány, mezikvartilové rozptyly a rozptyly, ke statistickému zhodnocení byl použit Kruskal-Wallis test.

Tabulka 9 – Porovnání různých klinických parametrů mezi skupinou dětí s monogenním FSS a skupinou dětí, u kterých nebyla zjištěna monogenní příčina FSS.

	Monogenní FSS	Monogenní příčina FSS nezjištěna	P hodnota
Výška před léčbou GH (SD)	-3,1 (-3,6 to -2,7)	-3,0 (-3,5 to -2,7)	0,85
Výška po 1 roce léčby GH (SD)	-2,5 (-2,9 to -2,1)	-2,5 (-2,9 to -2,1)	0,95
Výška po 3 letech léčby GH (SD)	-2,1 (-2,6 to -1,5)	-1,8 (-2,3 to -1,5)	0,44
Poměr celkové výšky k výšce vsedě (SD)	0,7 (0,3 to 1,6)	0,9 (0,3 to 1,5)	0,79
Porodní hmotnost (SD)	-1,6 (-2,2 to -1,2)	-1,6 (-2,2 to -0,7)	0,60
Porodní délka (SD)	-2,1 (-2,7 to -1,4)	-2,1 (-2,7 to -1,4)	0,99
Výška menšího z rodičů (SD)	-2,9 (-3,3 to -2,4)	-2,5 (-2,9 to -2,2)	0,002
Růstová rychlost před léčbou GH (cm/rok)	5,0 (4,2 to 6,2)	5,2 (4,1 to 5,9)	0,83
Růstová rychlost v prvním roce léčby GH (cm/rok)	8,9 (7,8 to 9,5)	8,6 (7,4 to 9,2)	0,16
Věk při prvním endokrinologickém vyšetření (roky)	5 (3 to 7)	5 (4 to 7)	0,56
Věk při zahájení léčby GH (roky)	6,5 (5 to 9)	6 (5 to 9)	0,70
Průměrná dávka GH v prvním roce (ug/kg/den)	33 (32 to 36)	33 (31 to 35)	0,09
Kostní věk před léčbou GH (rozdíl s kalendářním věkem, roky)	-0,4 (-1,6 to 0,1)	-1,2 (-1,9 to -0,6)	0,025
IGF-1 (SD)	-1,4 (-1,8 to -0,9)	-1,4 (-1,9 to -1,1)	0,49
Maximální stimulovaná koncentrace GH (ug/l)	6,4 (4,7-9,6)	7,3 (5,3-8,8)	0,50

6.3. Charakteristika geneticky homogenních skupin dětí s FSS

Po vyhodnocení výsledků genetického vyšetření kohorty s FSS vznikly tři skupiny dětí s geneticky homogenní růstovou poruchou – u 10 dětí byla nalezena porucha některého z kolagenů růstové chrupavky, u 6 dětí byl nalezen SHOX-deficit a u 4 dětí porucha receptoru natriuretického peptidu typu B.

6.3.1. Porucha kolagenu růstové ploténky

Genetická porucha v některém z kolagenů růstové chrupavky, která poškodila extracelulární matrix růstové ploténky, byla nalezena u 10/98 (10,2 %) dětí s familiárně malým

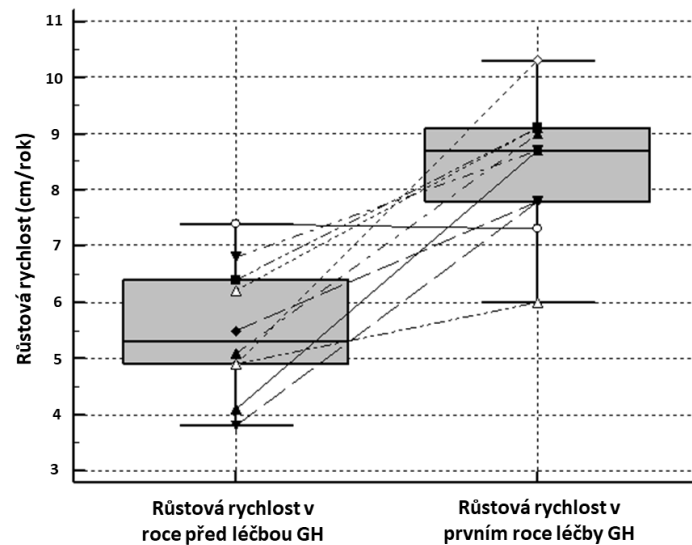
vzrůstem. U 5 dětí byla odhalena kauzální varianta v genu *COL2A1*, u 4 v genu *COL11A1* a u 1 v genu *COL11A2*.

Medián věku dětí s prokázanými kolagenopatiemi při poslední endokrinologické kontrole byl 12,5 let (rozptyl 6-17 let), jejich výška před zahájením léčby růstovým hormonem byla -3,1 SD (-4,3 až -2,4 SD). Porodní délka (medián -2,8 SD, rozptyl -4,1 až -0,7 SD) byla postižena výrazněji než porodní hmotnost (medián -2,1 SD, rozptyl -2,7 až -1,0 SD). Osm dětí (80 %) se narodilo malé na svůj gestační věk. Zbylé 2 děti rovněž měly podprůměrné porodní parametry, jejichž tíže ale nesplňovala definici SGA (porodní hmotnost nebo porodní délka byla v rozmezí -2,0 až -1,0 SD). Tyto děti byly léčeny GH z indikace mírného deficitu růstového hormonu (maximální stimulovaná koncentrace GH 8,0 ug/l, resp. 9,7 ug/l), obě měly normální nález na hypofýze při vyšetření magnetickou rezonancí mozku a normální funkci všech ostatních hormonů hypofýzy. Podrobné vyšetření klinickým antropologem prokázalo proporcionální růstovou poruchu u 8/10 dětí s kolagenopatiemi (SHH -0,99 až +0,99 SD), zbylé 2/10 dětí měly mírně disproporcionální poruchu růstu s kratšími končetinami (SHH 1,2 SD, resp. 2,0 SD). U 4/10 dětí byly nalezeny mírné známky kostní dysplázie (skolióza, výraznější bederní lordóza, omezená extenze v lokti), 2/10 dětí byly krátkozrací.

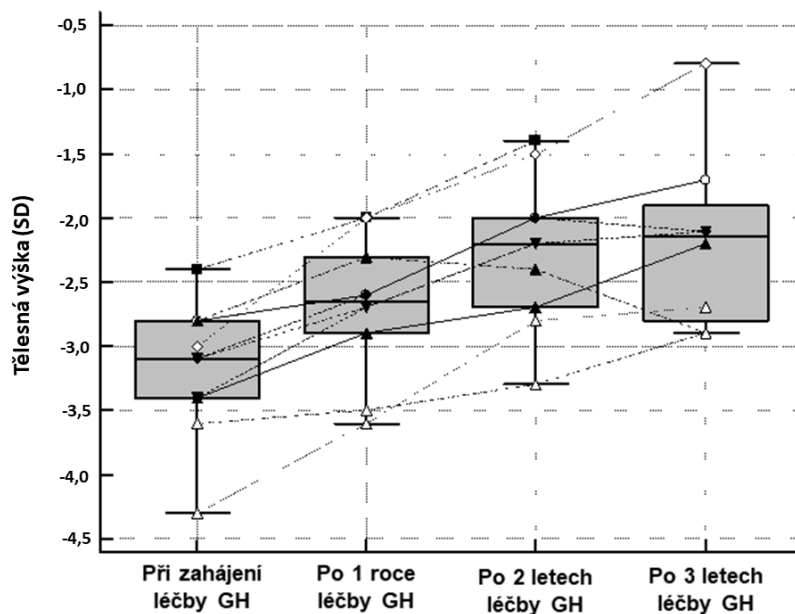
Rodiče dětí s prokázanými kolagenopatiemi s odpovídajícími kauzálními variantami v kolagenových genech měli medián tělesné výšky -2,6 SD (rozptyl -3,5 až -2,2 SD). Devět rodičů (90 %) ve věku 42 let (35-49 let) souhlasilo s podrobným vyšetřením klinickým antropologem. Ve srovnání se svými dětmi měli více vyjádřenu disproporcionalitu tělesného růstu – pouze 2/9 rodičů mělo jasně proporcionální postavu (SHH -0,2 SD, resp. +0,6 SD), 5/9 mělo mírně kratší končetiny (SHH +1,0 až +2,0 SD), zbylí 2/9 rodiče měli jasně disproporcionální poruchu růstu – jeden s krátkými končetinami (SHH +2,9 SD), druhý s krátkým trupem (SHH -3,1 SD). Jeden z rodičů s prokázanou kolagenopatií měl bilaterální Perthesovu chorobu a šavlovité tibie, u jiného byla nalezena brachydaktylie. Závažnější porucha zraku nebo sluchu nebyla nalezena u žádného rodiče s prokázanou kolagenopatií.

Léčba růstovým hormonem u dětí s prokázanými kolagenopatiemi byla zahájena ve věku 6 let (medián, rozptyl 3-13 let), průměrnou dávkou 33 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{den}$ (32-40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{den}$). Jejich růstová rychlost se zlepšila z 5,3 cm/rok (3,8 - 7,4 cm/rok) v roce před zahájením léčby GH na 8,7 cm/rok (6,0-10,3 cm/rok) v prvním roce léčby GH ($p=0,004$). Tělesná výška dětí s prokázanými kolagenopatiemi se zlepšila z mediánu -3,1 SD (rozptyl -4,3 až -2,4 SD) v době zahájení léčby GH na -2,7 SD (-3,6 až -2,0 SD) po prvním roce léčby a na -2,2 SD (-2,9 až -0,8

SD) po třech letech léčby GH ($p < 0,001$). Odpověď na léčbu růstovým hormonem je shrnuta v **Obrázku 11**.



Obrázek 11a – Reakce na léčbu růstovým hormonem (vývoj růstové rychlosti) u dětí s prokázanou kauzální variantou v genu kódujícím některý z kolagenů růstové ploténky. Krabicový graf ukazuje mediány, mezikvartilové rozptyly a rozptyly. Body a spojovací čáry ukazují individuální odpověď jedinců s prokázanými kauzálními variantami v genu kódujícím některý z kolagenů růstové ploténky na léčbu růstovým hormonem.



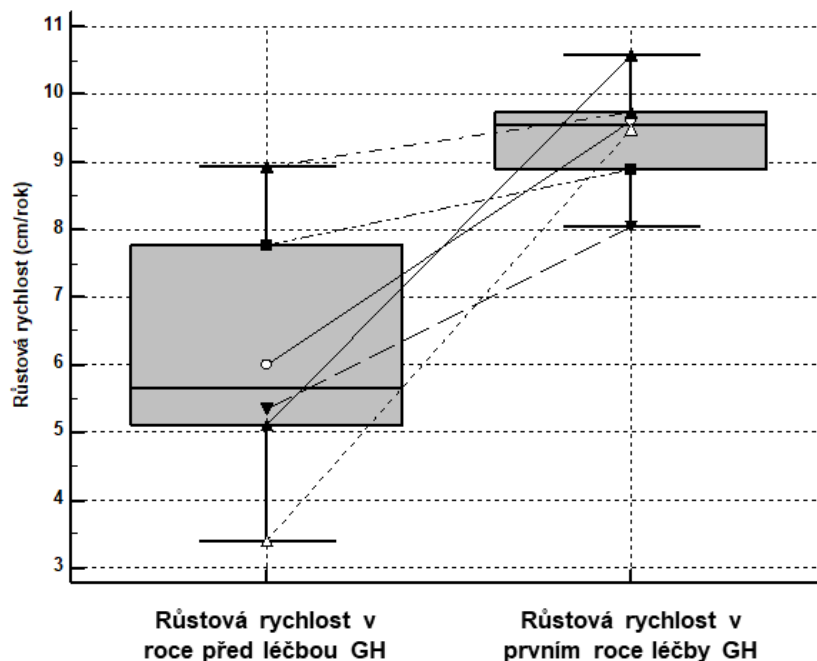
Obrázek 11b – Reakce na léčbu růstovým hormonem (vývoj tělesné výšky) u dětí s prokázanou kauzální variantou v genu kódujícím některý z kolagenů růstové ploténky. Krabicový graf ukazuje mediány, mezikvartilové rozptyly a rozptyly. Body a spojovací čáry ukazují individuální odpověď jedinců s prokázanými kauzálními variantami v genu kódujícím některý z kolagenů růstové ploténky na léčbu růstovým hormonem.

6.3.2. SHOX-deficit

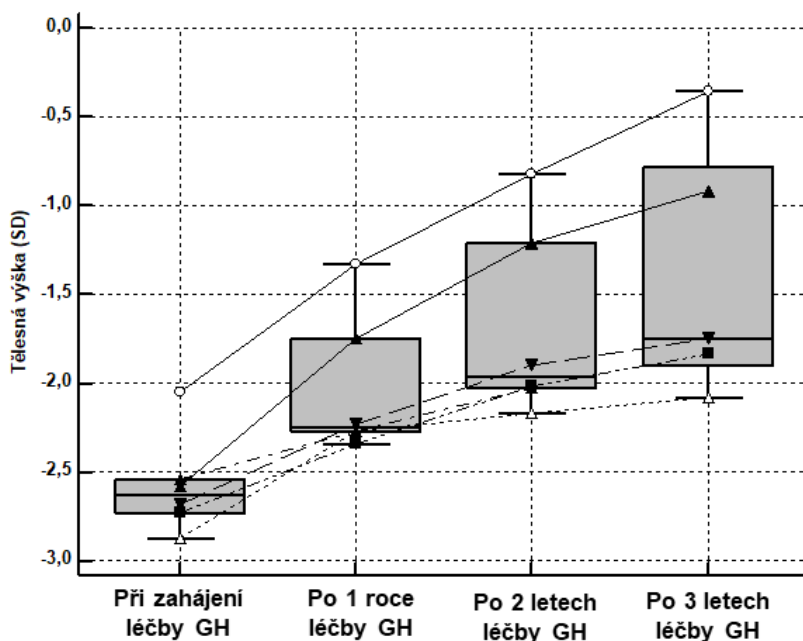
Deficit SHOX proteinu, který je důležitým transkripčním faktorem nezbytným pro správné fungování buněk růstové ploténky, byl nalezen u 6/98 (6,1 %) dětí s familiárně malým vzrůstem.

Medián věku dětí s prokázaným deficitem SHOX proteinu při poslední endokrinologické kontrole byl 13 let (rozptyl 4-17 let), jejich výška před zahájením léčby růstovým hormonem byla -2,7 SD (-2,9 až -2,1 SD). Porodní délka (medián -1,8 SD, rozptyl -3,5 až -1,0 SD) byla postižena mírně výrazněji než porodní hmotnost (medián -1,2 SD, rozptyl -1,6 až -0,5 SD), dvě děti (33 %) se narodily malé na svůj gestační věk. Sérová koncentrace IGF-1 před léčbou GH byla -1,2 SD (medián; rozptyl -0,5 až -2,2 SD). Jelikož je deficit SHOX proteinu genetická diagnóza, jež automaticky indikuje k léčbě růstovým hormonem, nebyly tyto děti vyšetřovány stimulačními testy ke zhodnocení eventuálního deficitu růstového hormonu. Podrobné vyšetření klinickým antropologem prokázalo proporcionální růstovou poruchu u 2/6 dětí (SHH -0,6 SD, resp. +0,4 SD), zbylých 4/6 dětí mělo disproporcionální poruchu růstu s kratšími končetinami (SHH 2,2-4,1 SD). U 1/6 dětí byly nalezeny mírné známky kostní dysplázie (šavlovité předloktí a gotické patro).

Léčba růstovým hormonem u dětí s prokázaným deficitem SHOX proteinu byla zahájena ve věku 6,5 let (medián, rozptyl 1-12 let) dávkou 48 ug/kg/den (33-52 ug/kg/den). Jejich růstová rychlost se zlepšila z 5,6 cm/rok (3,4-8,9 cm/rok) v roce před zahájením léčby GH na 9,6 cm/rok (8,0-10,6 cm/rok) v prvním roce léčby GH ($p=0,014$). Tělesná výška s prokázaným deficitem SHOX proteinu se zlepšila z mediánu -2,6 SD (-2,1 až -2,9 SD) v době zahájení léčby GH na -2,3 SD (-2,3 až -1,3 SD) po prvním roce léčby a na -1,8 SD (-2,1 až -0,4 SD) po třech letech léčby ($p<0,01$). Odpověď na léčbu růstovým hormonem je shrnuta v **Obrázku 12**.



Obrázek 12a – Reakce na léčbu růstovým hormonem (vývoj růstové rychlosti) u dětí s prokázanou kauzální variantou v *SHOX* genu. Krabicový graf ukazuje mediány, mezikvartilové rozptyly a rozptyly. Body a spojovací čáry ukazují individuální odpověď jedinců s prokázanými kauzálními variantami v *SHOX* genu na léčbu růstovým hormonem.



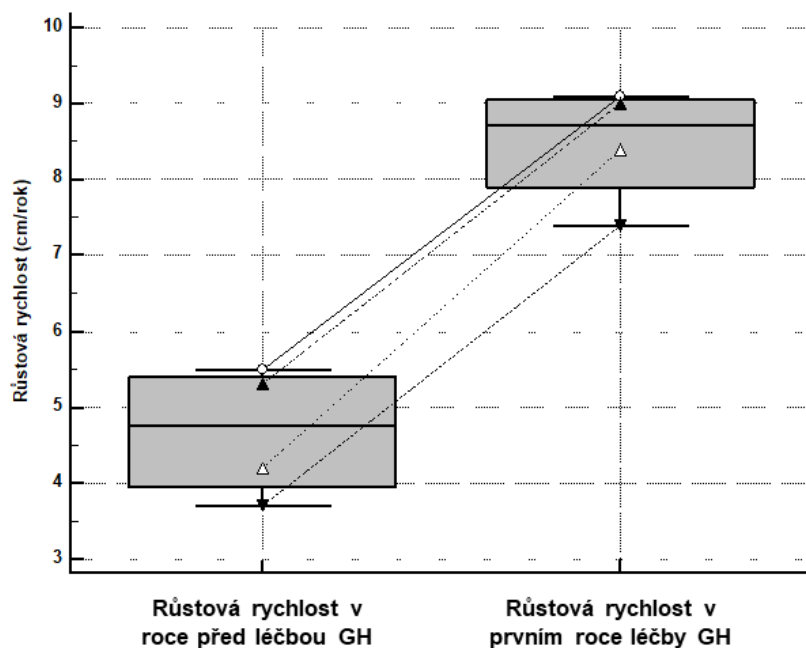
Obrázek 12b – Reakce na léčbu růstovým hormonem (vývoj tělesné výšky) u dětí s prokázanou kauzální variantou v *SHOX* genu. Krabicový graf ukazuje mediány, mezikvartilové rozptyly a rozptyly. Body a spojovací čáry ukazují individuální odpověď jedinců s prokázanými kauzálními variantami v *SHOX* genu na léčbu růstovým hormonem.

6.3.3. Porucha receptoru natriuretického peptidu typu C

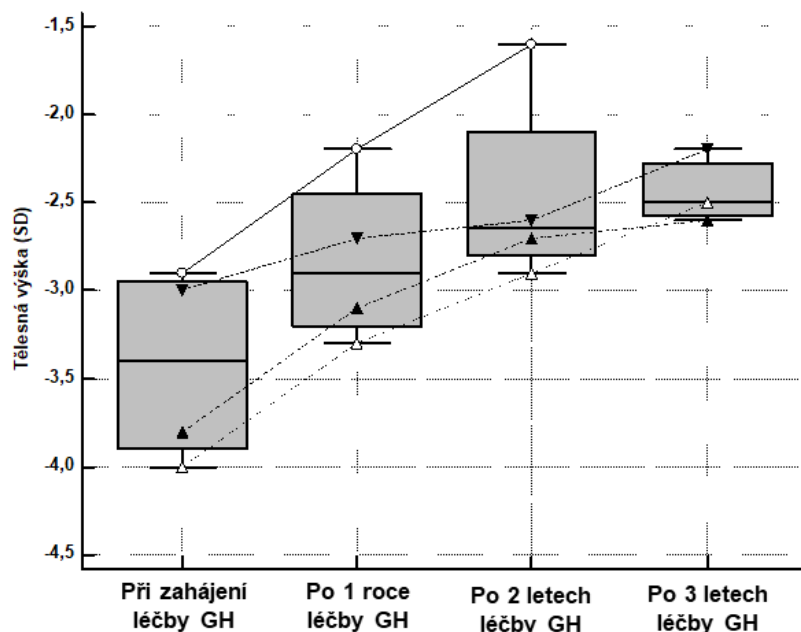
Genetická porucha v receptoru pro natriuretický peptid typu C (gen *NPR2*), který hraje důležitou roli v regulaci růstové chrupavky, byla nalezena u 4/98 (4,1 %) dětí s familiárně malým vzrůstem.

Medián věku dětí s prokázanou kauzální mutací v *NPR2* genu při poslední endokrinologické kontrole byl 10 let (rozptyl 9-15 let), jejich výška před zahájením léčby růstovým hormonem byla -3,4 SD (-4,0 až -2,9 SD). Porodní délka (medián -1,9 SD, rozptyl -3,1 až -1,2 SD) byla postižena mírně výrazněji než porodní hmotnost (medián -1,6 SD, rozptyl -2,0 až -0,9 SD), dvě děti (50 %) se narodily malé na svůj gestační věk. U 3/4 dětí byl diagnostikován deficit růstového hormonu, žádné z nich ale nemělo extrémně nízké koncentrace stimulované sekrece GH, patologický nález na hypofýze při vyšetření magnetickou rezonancí mozku ani poruchu ve funkci ostatních hormonů hypofýzy. Podrobné vyšetření klinickým antropologem prokázalo proporcionální růstovou poruchu u 2/4 dětí (SHH 0,3 SD, resp. 1,0 SD), zbylé 2/4 dětí měly disproporcionální poruchu růstu s kratšími končetinami (SHH 1,2 SD, resp. 2,2 SD). U 2/4 dětí byly nalezeny mírné známky kostní dysplázie (brachydaktylie, plochá noha).

Léčba růstovým hormonem u dětí s prokázanou kauzální mutací v *NPR2* genu byla zahájena ve věku 5,5 let (medián, rozptyl 3-10 let), průměrnou dávkou 34 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{den}$ (32-37 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{den}$). Jejich růstová rychlost se zlepšila ze 4,8 cm/rok (3,7-5,5 cm/rok) v roce před zahájením léčby GH na 8,7 cm/rok (7,4-9,1 cm/rok) v prvním roce léčby GH ($p < 0,001$). Tělesná výška dětí s prokázanými kolagenopatiemi se zlepšila z mediánu -3,4 SD (rozptyl -4,0 až -2,9 SD) v době zahájení léčby GH na -2,9 SD (-3,3 až -2,2 SD) po jednom roce léčby a na -2,5 SD (-2,6 až -2,2 SD) po třech letech léčby ($p = 0,03$). Odpověď na léčbu růstovým hormonem je shrnuta v **Obrázku 13**.



Obrázek 13a – Reakce na léčbu růstovým hormonem (vývoj růstové rychlosti) u dětí s prokázanou kauzální variantou v *NPR2* genu. Krabicový graf ukazuje mediány, mezikvartilové rozptyly a rozptyly. Body a spojovací čáry ukazují individuální odpověď jedinců s prokázanými kauzálními variantami v *NPR2* genu na léčbu růstovým hormonem.



Obrázek 13b – Reakce na léčbu růstovým hormonem (vývoj tělesné výšky) u dětí s prokázanou kauzální variantou v *NPR2* genu. Krabicový graf ukazuje mediány, mezikvartilové rozptyly a rozptyly. Body a spojovací čáry ukazují individuální odpověď jedinců s prokázanými kauzálními variantami v *NPR2* genu na léčbu růstovým hormonem.

6.3.4. Vzájemné porovnání jednotlivých příčin růstové poruchy

Děti, jejichž FSS byl způsoben deficitem SHOX proteinu, měly před zahájením léčby růstovým hormonem signifikantně méně výraznou růstovou poruchu oproti ostatním skupinám (medián výšky -2,7 SD vs. -3,1 SD u poruchy kolagenu růstové ploténky a -3,4 SD u poruchy receptoru pro natriuretický peptid typu C, $p=0,01$). V žádných dalších klinických parametrech hodnocených před zahájením léčby GH se jednotlivé skupiny mezi sebou signifikantně nelišily. Přestože byly děti s deficitem SHOX proteinu dle mezinárodních doporučení (Loche et al. 2014) léčeny vyšší dávkou GH (medián úvodní dávky 48 ug/kg/den vs. 33 ug/kg/den u poruchy kolagenu růstové ploténky a 34 ug/kg/den u poruchy receptoru pro natriuretický peptid typu C, $p=0,02$), reakce na léčbu GH se mezi jednotlivými skupinami signifikantně nelišila. Podrobné porovnání jednotlivých skupin je shrnuto do **Tabulky 10**.

Tabulka 10 – Porovnání různých klinických parametrů mezi skupinami dětí s různými genetickými příčinami familiárně malého vzrůstu.

	Porucha kolagenu růstové ploténky	SHOX-deficit	Porucha receptoru NPPC	p
Četnost (%)	10,2	6,1	4,1	-
Věk (roky)	12,5 (6 až 17)	13 (4 až 17)	10 (9 až 15)	0,83
Porodní hmotnost (SD)	-2,1 (-2,7 až -1,0)	-1,2 (-1,6 až -0,5)	-1,6 (-2,0 až -0,9)	0,053
Porodní délka (SD)	-2,8 (-4,1 až -0,7)	-1,8 (-3,5 až -1,0)	-1,9 (-3,1 až -1,2)	0,18
Výška rodiče se stejnou kauzální variantou (SD)	-2,8 (-3,5 až -2,2)	-3,1 (-3,5 až -2,4)	-2,5 (-3,7 až -2,1)	0,39
IGF-1 (SD)	-1,3 (-2,2 až +0,8)	-1,3 (-2,1 až -0,5)	-1,6 (-1,7 až -1,4)	0,34
BA před léčbou GH (rozdíl s CA, roky)	-0,3 (-1,8 až +1,4)	-0,3 (-1,1 až +1,5)	-1,7 (-2,1 až -1,1)	0,12
Výška při zahájení léčby GH (SD)	-3,1 (-4,3 až -2,4)	-2,7* (-2,9 až -2,1)	-3,4 (-4,0 až -2,9)	0,01
SHH (SD)	0,3 (-0,6 až +2,0)	2,3 (-0,6 až +4,1)	1,1 (+0,3 až +2,2)	0,09
Růstová rychlost před léčbou GH (cm/rok)	5,3 (3,8-7,4)	5,6 (3,4-8,9)	4,8 (3,7-5,5)	0,47
Úvodní dávka GH (ug/kg/den)	33 (32 až 40)	48* (33 až 52)	34 (32 až 37)	0,02
Věk při zahájení léčby GH (roky)	6 (3 až 13)	6,5 (1 až 12)	5,5 (3 až 10)	0,88
Změna tělesné výšky za 1 rok léčby GH (SD)	+0,5 (+0,1 až +1,0)	+0,6 (+0,2 až +0,8)	+0,7 (+0,3 až +0,7)	0,67
Změna tělesné výšky za 3 roky léčby GH (SD)	+1,2 (-0,1 až +2,2)	+0,9 (+0,8 až +1,7)	+1,2 (+0,8 až +1,5)	0,99
Změna růstové rychlosti v prvním roce po zahájení terapie GH (SD)	+2,8 (-0,1 až +5,4)	+3,2 (+0,8 až +6,1)	3,7 (3,6 až +4,2)	0,64

* signifikantně se odlišuje od ostatních skupin (prokázáno post-hoc analýzou Conover, $p < 0,05$)

7. DISKUSE

Naše studie je první prací, která se komplexně zabývala etiopatogenezí familiárně malého vzrůstu. Sestavili jsme unikátní kohortu rodin s FSS s jednoznačným vymezením výšky dítěte i menšího z jeho rodičů, čímž jsme poprvé ve vědecké literatuře pojem FSS jednoznačně definovali. Pomocí různých metod genetického vyšetření jsme výrazně posunuli chápání patofyziologických mechanismů vedoucích k familiárně malému vzrůstu – nalezením monogenní příčiny malého vzrůstu jsme objasnili etiopatogenezi růstové poruchy u 41 % rodin s FSS. **Výsledky naší práce ukazují, že zásadním patofyziologickým mechanismem vedoucím k familiárně malému vzrůstu je primární porucha struktury nebo funkce růstové ploténky** (nalezena u 32/40 dětí s prokázanou monogenní příčinou FSS). Dále jsme našli vhodné klinické prediktory monogenní etiologie FSS, ukázali na limitace současného způsobu testování deficitu GH a prokázali dobrou účinnost léčby GH dvou geneticky definovaných skupin dětí s malým vzrůstem.

V rámci klasického konceptu jsou primární poruchy růstové ploténky považovány za relativně vzácnou příčinu malého vzrůstu, která bývá spojena s asymetrickou růstovou poruchou a dalšími známkami kostní dysplázie (např. různé deformity kostí a kloubů). Bylo popsáno více než 400 různých kostních dysplázií, z nichž některé (např. Turnerův syndrom, deficit SHOX proteinu nebo achondroplazie) mají charakteristické fenotypické známky, které umožňují relativně snadné určení diagnózy (Binder 2011; Zhang et al. 2015; Shankar a Backeljauw 2018). V jiných případech nemusí být diagnostika konkrétní formy kostní dysplázie pomocí standardních vyšetřovacích metod úspěšná. V těchto situacích svou prospěšnost prokázaly moderní genetické metody sekvenování nové generace. Zhang a spolupracovníci pomocí NGS metod našli monogenní příčinu poruchy růstu u 44/82 (54 %) jedinců s jasnými klinickými známkami kostní dysplázie (Zhang et al. 2015).

V nedávné době bylo zjištěno, že některé primární poruchy růstové ploténky mají výrazně rozmanitější fenotyp, než se původně předpokládalo. Typickým příkladem jsou aktivační mutace v genu *FGFR3*, jehož produkt je velmi důležitým parakrinním regulátorem růstové ploténky. Výsledkem této genové poruchy je achondroplazie, relativně závažná kostní dysplázie s těžkou asymetrickou poruchou růstu s výrazným zkrácením proximálních částí dlouhých kostí končetin a dalšími charakteristickými fenotypickými známkami (např. makrocefalie, hypoplázie střední části obličeje, kloubní deformity, poruchy zakřivení páteře,

stenóza páteřního kanálu). Aktivační mutace ve *FGFR3* genu mohou ale způsobovat i výrazně lehčí růstovou poruchu s mírnějšími známkami kostní dysplázie (tzv. hypochondroplazie). V některých případech nemusí být známky kostní dysplázie přítomny vůbec (nebo mohou být velmi diskrétní), a proporcionální růstová porucha tak zůstává jediným nápadným fenotypickým znakem (Lebl et al. 2016; Ornitz a Legeai-Mallet 2017). Podobná variabilita fenotypu byla popsána i u dalších primárních poruch růstové ploténky způsobené např. mutacemi v genech *SHOX*, *NPR2* nebo *ACAN* (Wit et al. 2011). V rámci naší studie jsme odhalili, že obdobně variabilní fenotyp mají i poruchy kolagenu růstové chrupavky, které byly doposud známy pouze jako příčiny syndromického malého vzrůstu (Barat-Houari et al. 2016). Skutečnost, že primární poruchy růstové ploténky mohou být relativně častou příčinou malého vzrůstu i v případě nepřítomnosti známek kostní dysplázie, vedla ke zformulování zcela **nového paradigmatu etiopatogeneze malého vzrůstu**. Dle tohoto konceptu hraje klíčovou roli růstová ploténka a její komplexní endokrinní a parakrinní regulace (Baron et al. 2015). **Výsledky naší práce toto nové paradigma výrazně podporují.**

Monogenní růstové poruchy se zdají být relativně časté, jejich přesná **prevalence** ale není doposud známa. Různé studie pátrající po monogenních příčinách malého vzrůstu pomocí metod sekvenování nové generace se ve svých výsledcích výrazně liší – monogenní porucha malého růstu byla nalezena v 9-54 % případech (Hauer et al. 2018; Homma et al. 2019; Huang et al. 2018; Kim et al. 2017; Freire et al. 2019; Zhang et al. 2015). Pro zlepšení efektivity vyšetřování je nebytné nalézt klinické prediktory monogenní růstové poruchy, které by umožnily optimalizovat výběr pacientů vhodných k indikaci genetického vyšetření malého vzrůstu. Různá klinická diagnostická kritéria byla vytvořena pro některé konkrétní choroby spojené s malým vzrůstem – např. Netchine-Harbison skórovací systém pro Silver-Russelův syndrom (Wakeling et al. 2017) nebo skórovací systém pro syndrom Noonanové (Van Der Burgt 2007). Žádné obecné prediktory monogenní růstové poruchy, které by byly podpořeny výsledky vědeckých studií, nebyly ale doposud popsány. Dle výsledků naší práce by takovými **vhodnými prediktory** mohly být kostní věk a výška rodičů. Použitím těchto prediktorů by záchytnost monogenní příčiny malého růstu v rámci naší kohorty stoupla ze 41 % na 78 %.

Vyšetřování deficitu růstového hormonu je jednou z nejkontroverznějších otázek současné dětské endokrinologie. Zásadním problémem je, že je růstový hormon z předního laloku hypofýzy secernován v nepravidelných pulzech, mezi kterými je jeho koncentrace v krvi velmi nízká. Nízká koncentrace GH naměřená v rámci standardního biochemického vyšetření

proto nemůže být považována za známku nedostatečné sekrece růstového hormonu. Základem diagnostiky deficitu růstového hormonu se z tohoto důvodu staly různé dynamické stimulační testy. Tyto testy využívají různých farmakologických stimulů (v České republice se nejčastěji využívá podání klonidinu a inzulinem způsobená hypoglykémie) k posouzení maximální schopnosti organismu tvořit růstový hormon (Murray et al. 2016). U dětí s těžkým deficitem růstového hormonu je přítomna výrazná růstová porucha (značně snížená růstová rychlost spojená s výrazným propadem daného jedince v percentilovém grafu tělesné výšky), výrazně snížené koncentrace IGF-1 v krvi a velmi nízká stimulovaná koncentrace GH (Kommunehospital 2000).

Výrazně složitější je správně **identifikovat jedince s mírnějším deficitem růstového hormonu**, kteří mohou mít velmi podobný průběh růstu a výsledky biochemických vyšetření jako děti s normální sekrecí růstového hormonu, jejichž malý vzrůst je způsoben naprosto odlišným patofyziologickým mechanismem. V této situaci je problematická rovněž interpretace testů stimulačních sekreci růstového hormonu. Tito jedinci mají za běžných podmínek nedostatečnou sekreci růstového hormonu, což vede k malému vzrůstu, ale při velmi nefyziologických podmínkách v rámci stimulačního testu jsou schopni vyprodukovat relativně velké množství GH, které se často výrazněji neliší oproti jedincům s normální sekrecí GH. Aby bylo možné jedince s mírnější formou GHD identifikovat (tvoří výraznou většinu dětí s GHD a potřebují léčbu GH k normalizaci své tělesné výšky), bylo nutné postupně navýšit hranici maximální stimulované koncentrace GH užívané k diagnostice deficitu růstového hormonu. Tato hranice ale musela být stanovena arbitrárně, jelikož neexistuje žádný zlatý standard diagnostiky GHD, pomocí kterého by mohly být výsledky stimulačních testů validovány (Murray et al. 2016). Snížení této hranice vedlo k velmi nízké specificitě stimulačních testů. Ghigo se spolupracovníky vyšetřili pomocí různých testů maximální schopnost sekrece růstového hormonu u 472 dětí s normálním růstem a prokázali falešně pozitivní výsledek (maximální stimulovaná koncentrace GH <10 ug/l používaná v ČR) u 15-49 % případů (Ghigo et al. 1996; Lebl et al. 2016).

Z toho důvodu se předpokládá, že děti s diagnostikovaným idiopatickým deficitem růstového hormonu tvoří velmi heterogenní skupinu s do značné míry nepochopenou etiopatogenezí růstové poruchy. Výsledky naší práce tyto předpoklady podporují, jelikož **dětem z naší studijní kohorty byl relativně často chybně diagnostikován deficit růstového hormonu**. Z 21 dětí s klinickou diagnózou deficitu růstového hormonu, u kterých byla

genetickým vyšetřením objasněna etiopatogeneze jejich malého vzrůstu, byl genový defekt ovlivňující sekreci nebo funkci GH nalezen pouze u dvou (geny *GHSR* a *OTX2*). U zbývajících 19 dětí byla prokázána zcela jiná etiologie jejich růstové poruchy – 15 mělo primární poruchu růstové ploténky (geny *ACAN*, *COL11A1*, *COL11A2*, *COL1A2*, *COL2A1*, *FGFR3* [2x], *NPR2* [3x], *EXT2*, *FLNB*, *PTPN11* [2x] a *NFI*), 2 poruchu působení IGF-1 (geny *IGFALS* a *HGMA2*) a 2 měly syndromický malý vzrůst na podkladě mutací v genech *MBTPS2*, resp. *SALL4*. Výsledky naší práce jasně demonstrují **omezené možnosti standardních vyšetřovacích metod objasnit patofyziologické mechanismy vedoucí k poruše růstu.**

Nalezení genetické diagnózy vede k pochopení příčiny malého vzrůstu daného jedince, praktické dopady na léčbu jeho růstové poruchy jsou ale v současné době omezené. Bylo prokázáno, že děti s deficitem SHOX proteinu a se syndromem Noonanové beze sporu profitují z terapie růstovým hormonem, a genetická diagnóza tak vede k automatické indikaci léčby. U jedinců s achondroplazií je oproti tomu efekt GH velmi malý, navíc stále panují obavy ze zhoršení růstové proporcionality vlivem léčby (Massart et al. 2015). U ostatních monogenních růstových poruch jsou informace o efektu léčby GH nedostatečné a většinou omezené pouze na jednotlivé kazuistiky nebo soubory kazuistik. **Objasnění specifických účinků léčby růstovým hormonem s ohledem na jednotlivé genetické příčiny malého vzrůstu patří mezi nejdůležitější výzvy současné dětské endokrinologie.**

V rámci naší studie jsme popsali krátkodobý efekt léčby růstovým hormonem u skupin dětí s nesyndromickými kolagenopatiemi a s kauzálními patogenními variantami v genu *NPR2*. Protože doposud nebyla stanovena jasná definice úspěšné léčby GH, porovnali jsme odpověď obou hodnocených skupin s odpovědí jedinců s deficitem SHOX proteinu. V observačním programu GeNeSis 521 dětí se SHOX-deficitem zlepšilo svou výšku za rok léčby průměrně o 0,53 SD (Benabbad et al. 2017). Ve studii, která vedla ke schválení léčby GH u dětí s SHOX-deficitem, prof. Blum a spolupracovníci popsali zvýšení růstové rychlosti z 4,8 cm/rok před zahájením léčby na 8,7 cm/rok v prvním roce terapie GH a zlepšení tělesné výšky o 1,2 SD za dva roky léčby růstovým hormonem (Blum et al. 2007). Daná pozorování se výrazněji neliší od odpovědi jedinců s nesyndromickými kolagenopatiemi a kauzálními mutacemi v *NPR2* genu v rámci naší vyšetřované kohorty. Protože se efekt léčby GH u těchto dvou skupin signifikantně nelišil ani oproti pacientům se SHOX-deficitem sledovaných v rámci naší kohorty, hodnotíme krátkodobý efekt léčby GH u obou skupin jako dobrý. Počet vyšetřovaných jedinců v obou skupinách je ale relativně malý. K definitivním závěrům hodnotících účinnost léčby GH budou

třeba randomizované prospektivní studie prováděné na větším počtu pacientů, u nichž by rovněž byla k dispozici data o dospělé výšce.

Děti s malým vzrůstem způsobeným různými genetickými příčinami poruch růstové ploténky mohou tedy dobře reagovat na léčbu růstovým hormonem. Ke spolehlivému odhalení genetických příčin malého vzrůstu vhodných k léčbě růstovým hormonem a k následné změně indikačních kritérií k léčbě vede ale velmi dlouhá cesta. Do té doby mohou děti s monogenní příčinou malého vzrůstu profitovat i z nesprávné diagnózy deficitu růstového hormonu, která jim umožní přístup k léčbě GH. **Naše práce ukazuje na tento rozpor a může sloužit jako počátek diskuse na téma etiologie familiárně malého vzrůstu a možnosti jeho ovlivnění.**

Kromě menšího počtu dětí v jednotlivých geneticky homogenních podskupinách a absence dat ohledně jejich dospělé výšky, měla tato práce dvě zásadnější limitace. První limitací bylo, že v rámci naší práce nebyly provedeny žádné funkční studie hodnotící patogenitu nalezených genových variant. Podle současných doporučení nejsou ale funkční studie k prokázání kauzality genové varianty nezbytné a kauzalita genové varianty může být prokázána jiným způsobem (Richards et al. 2015). V rámci naší kohorty byla nejzásadnější segregace genové varianty s malým vzrůstem v dané rodině. Druhou limitací bylo, že pomocí použitých metod sekvenování nové generace není možné odhalit genetické změny mimo exony genů (kromě oblastí hranic mezi exony a introny) ani epigenetické změny. Vzorky probandů bez identifikované změny mohou být následně vyšetřeny s postupem poznání a dostupností metod celogenomového sekvenování a jejich hodnocení.

8. VZTAH PRÁCE K TESTOVANÝM HYPOTÉZÁM

Hlavní vědecká hypotéza: Příčinou růstové poruchy u významného počtu dětí s familiárně malým vzrůstem je mutace v jediném genu. Genetické vyšetření povede k lepšímu pochopení etiopatogeneze malého vzrůstu.

V naší práci jsme potvrdili hlavní vědeckou hypotézu. U 41 % probandů jsme našli patogenní genovou variantu vedoucí k objasnění příčiny malého vzrůstu. K potvrzení hypotézy zásadním způsobem přispěl dobře definovaný soubor rodin s FSS s detailním popisem fenotypu a realisticky navržený panel genů pro poruchy růstu, který byl využit při sekvenování nové generace. Výsledek genetické analýzy potvrdil nové paradigma poruch růstu, dle kterého je růstová ploténka klíčovým faktorem etiopatogeneze malého vzrůstu.

Vedlejší vědecká hypotéza: využitím genetického vyšetřování vzniknou skupiny pacientů se stejnou monogenní příčinou familiárně malého vzrůstu, u nichž následně bude možné popsat genově specifický fenotyp a odpověď na léčbu růstovým hormonem.

V naší práci jsme rovněž potvrdili vedlejší vědeckou hypotézu. Díky stanovení genetické diagnózy jsme definovali 3 skupiny pacientů s monogenní příčinou FSS (porucha kolagenů růstové ploténky, deficit proteinu SHOX a porucha receptoru natriuretického peptidu typu C), což nám umožnilo zhodnotit odpověď na léčbu růstovým hormonem u těchto jasně definovaných skupin pacientů. Naše práce může díky tomu sloužit jako první podklad k diskusi o nových geneticky definovaných skupinách pro léčbu růstovým hormonem.

9. ZÁVĚR

Výsledky prezentované v této práci byly získány zhodnocením doposud nepublikovaných dat, která byla získána klinickým a genetickým vyšetřením pacientů léčených v pediatrických endokrinologických ambulancích růstovým hormonem pro poruchu růstu. Práce se zaměřila na specifickou kohortu dětí s menším rodičem splňující kritéria pro familiárně malý vzrůst. Doktorand v rámci svého PhD. studia organizoval komplexní vyšetření celé kohorty, podílel se na klinickém, antropologickém i molekulárně-genetickém vyšetření pacientů, vyhodnocoval data získaná metodami sekvenování nové generace a statisticky zpracovával a vyhodnocoval výsledky projektu.

Pomocí metod sekvenování nové generace se podařilo nalézt monogenní příčinu růstové poruchy u 41 % dětí s familiárně malým vzrůstem, které byly léčeny růstovým hormonem ve FN v Motole. Tyto výsledky prokázaly, že zásadní roli v etiopatogenezi familiárně malého vzrůstu hrají primární poruchy růstové ploténky, patologie v ose GH-IGF-1 jsou mnohem méně významné. Nejčastějšími příčinami FSS byly kolagenopatie růstové ploténky (10,2 %), deficit proteinu SHOX (6,1 %) a porucha receptoru pro natriuretický peptid typu C (4,1 %). Ve fenotypu pacientů z těchto tří skupin dominovala růstová porucha. Pomocí podrobného vyšetření klinickým antropologem byla u některých dětí zjištěna mírná disproporcionalita malého vzrůstu a mírné známky kostní dysplázie. Krátkodobý efekt léčby růstovým hormonem byl u všech tří výše uvedených genetických diagnóz dobrý. K definitivnímu zhodnocení efektu terapie GH bude zapotřebí provedení prospektivní studie s větším množstvím pacientů, u nichž budou k dispozici rovněž data o dlouhodobém účinku léčby včetně dosažené finální výšky.

10. SOUHRN

V rámci disertační práce jsme se jako první pracovní skupina komplexně zabývali etiopatogenezí familiárně malého vzrůstu. Numericky jsme definovali pojem FSS a sestavili jsme unikátní kohortu rodin s FSS s jednoznačným vymezením výšky dítěte i menšího z jeho rodičů. Pomocí metod sekvenování nové generace jsme výrazně posunuli chápání patofyziologických mechanismů vedoucích k familiárně malému vzrůstu – nalezením monogenní příčiny malého vzrůstu jsme objasnili etiopatogenezi růstové poruchy u 41 % rodin s FSS. Výsledky naší práce ukazují, že zásadním patofyziologickým mechanismem vedoucím k familiárně malému vzrůstu je primární porucha struktury nebo funkce růstové ploténky, která byla nalezena u 32/40 rodin s prokázanou monogenní příčinou FSS. V rámci této práce jsme rovněž odhalili, že tíže růstové poruchy menšího z rodičů a míra opoždění kostního věku u dítěte jsou vhodnými klinickými prediktory monogenní příčiny FSS (v případě opoždění kostního věku dítěte před zahájením léčby GH o méně než 0,5 roku a výšky menšího z rodičů $<-2,4$ SD byla prokázána monogenní příčina růstové poruchy u 14/18, tj. 78 % rodin). Dále jsme ukázali limitace současného způsobu testování deficitu růstového hormonu. Dětem z naší kohorty byl relativně často chybně diagnostikován GHD. Z 21 dětí s klinickou diagnózou GHD, u kterých byla genetickým vyšetřením objasněna etiopatogeneze jejich malého vzrůstu, byl genový defekt ovlivňující sekreci nebo funkci GH nalezen pouze u dvou, u zbývajících 19 dětí byla prokázána zcela jiná etiologie jejich růstové poruchy (15 mělo primární poruchu růstové ploténky, 2 poruchu působení IGF-1 a 2 syndromický malý vzrůst bez ovlivnění sekrece GH). Dále jsme sestavili tři geneticky homogenní podskupiny dětí s FSS (jedinci s poruchou kolagenu růstové ploténky [10/98, tj. 10,2 % rodin], jedinci s deficitem SHOX proteinu [6/98, tj. 6,1 % rodin] a jedinci s porušenou funkcí receptoru pro natriuretický peptid typu C [4/98, tj. 4,1 % rodin]), u nichž jsme podrobně popsali fenotyp a účinek léčby GH. Nově jsme objevili, že poruchy funkce kolagenů růstové chrupavky, které byly dříve známy pouze jako příčina syndromického malého vzrůstu s jasnou asymetrií růstové poruchy, dalšími známkami kostní dysplázie a jinými přidruženými patologiemi, velmi často způsobují i nesyndromickou poruchu růstu bez výraznějších přidružených poruch, a přispívají tak malé výšce v běžné populaci. Naše práce rovněž přinesla první informace o účinku léčby růstovým hormonem popsané na skupině dětí s kolagenopatiemi a poruchou funkce receptoru pro natriuretický peptid typu C. U obou skupin byl efekt léčby hodnocený v horizontu 3 let od zahájení terapie dobrý, srovnatelný s jedinci s deficitem SHOX-proteinu, u nichž je dobrá účinnost léčby již dobře známa.

11. SUMMARY

In the dissertation work, we as a first study group complexly focused on aetiopathogenesis of familial short stature (FSS). We numerically defined the term FSS and formed a unique group of FSS families with clearly defined body height in both the child and his/her shorter parent. Using next-generation sequencing methods we substantially advanced the understanding of the pathophysiological mechanisms leading to familial short stature. By elucidating the monogenic cause of FSS, we clarified the aetiopathogenesis of growth disorder in 41% families. The results of our work demonstrate that the dominating pathophysiological mechanism leading to FSS is the primary disorder of growth plate structure or function (described in 32/40 families with proven monogenic FSS). In this work, we additionally discovered that the severity of growth disorder in the shorter parent and the bone age delay in the child are suitable clinical predictors of monogenic FSS (in case the bone age in child prior to GH treatment is delayed less than by 0.5 years and the shorter parent's height is <-2.4 SD, the monogenic FSS was proven in 14/18 [78%] families). Importantly, we have demonstrated the limitations of current methods of GH deficiency diagnostics. Children from our study cohort were frequently incorrectly diagnosed with GHD. Out of 21 children with clinical diagnosis of GHD with short stature pathogenesis elucidated by genetic methods, only 2 had gene defect influencing GH secretion. In the remaining 19 children, completely different causes of FSS were described (15 had primary growth plate disorder, 2 had impairment of IGF-1 action, and 2 had syndromic short stature without GH secretion impairment). Furthermore, we assembled three genetically homogenous subgroups of children with FSS (individuals with growth plate collagen disorders [10/98 i.e., 10.2% families], SHOX protein deficiency [6/98 i.e., 6.1% families], and impaired natriuretic peptide type C receptor [4/98 i.e., 4.1% families]), in which we described the phenotype in detail and the effect of GH treatment. We have newly demonstrated that growth plate collagen disorders previously known only as the cause of syndromic short stature with clear body asymmetry, apparent signs of bone dysplasia and other associated clinical features also frequently cause nonsyndromic growth failure without apparent associated pathologies and contribute therefore to short stature in the population. Our work also provided the first information about the effect of GH therapy evaluated in a group of children with collagenopathies and C-type natriuretic peptide receptor dysfunction. In both groups, the effect of treatment evaluated within the first 3 years of therapy was good, comparable to individuals with SHOX protein deficiency with well-known good effect of GH treatment.

12. LITERATURA

1. ACKE, F.R., et al., 2014. Novel pathogenic COL11A1/COL11A2 variants in Stickler syndrome detected by targeted NGS and exome sequencing. *Molecular Genetics and Metabolism*. 113(3), pp. 230–235.
2. AL-JURAYYAN N, N.A, et al., 2012. Short stature in children: Pattern and frequency in a pediatric clinic, Riyadh, Saudi Arabia. *Sudanese journal of paediatrics*. 12(1), pp. 79-83.
3. AMANO, N., et al., 2014. Identification and functional characterization of two novel NPR2 mutations in Japanese patients with short stature. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 99(4), pp. 713-718.
4. ANDRADE, A.C., JEE Y.H. a NILSSON O., 2017. New genetic diagnoses of short stature provide insights into local regulation of childhood Growth. *Hormone Research in Paediatrics*. 88(1), pp. 22-37.
5. BAKKER, N.E., et al., 2013. Eight years of growth hormone treatment in children with Prader-Willi syndrome: Maintaining the positive effects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 98(10), pp. 4013-4022.
6. BARAT-HOUARI, M., et al., 2016. Mutation Update for COL2A1 Gene Variants Associated with Type II Collagenopathies. *Human Mutation*. 37(1), pp. 7-15.
7. BARON, J., et al., 2015. Short and tall stature: A new paradigm emerges. *National Reviews Endocrinology*. 11(12), pp. 735-746.
8. BARSTOW, C. a RERUCHA, C., 2015. Evaluation of short and tall stature in children. *American Family Physician*. 92(1), pp. 43-50.
9. BEGEMANN, M., et al., 2015. Paternally inherited IGF2 mutation and growth restriction. *New England Journal of Medicine*. 373(4), pp. 345-356.
10. BEHJATI, S. a TARPEY, P.S., 2013. What is next generation sequencing? *Archives of Disease in Childhood: Education and Practice Edition*. 98(6), pp. 236-238.
11. BENABBAD, I., et al., 2017. Safety Outcomes and Near-Adult Height Gain of Growth Hormone-Treated Children with SHOX Deficiency: Data from an Observational Study and a Clinical Trial. *Hormone Research in Paediatrics*. 87(1), pp. 42-50.
12. BINDER, G., 2011. Short stature due to SHOX deficiency: Genotype, phenotype, and therapy. *Hormone Research in Paediatrics*. 75(2), pp. 81-89.
13. BLUM, W.F., et al., 2007. Growth hormone is effective in treatment of short stature associated with short stature homeobox-containing gene deficiency: Two-year results of a randomized, controlled, multicenter trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 87(1), pp 42-50.

14. BLUM, W.F., et al., 2013. GH treatment to final height produces similar height gains in patients with SHOX deficiency and turner syndrome: Results of a multicenter trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 98(8), pp. 1383-1392.
15. BONAFE, L., et al., 2015. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2015 revision. *American Journal of Medical Genetics*. 167(12), pp. 2869-2892.
16. BONNEMANN, C. G., et al., 2000. A mutation in the alpha 3 chain of type IX collagen causes autosomal dominant multiple epiphyseal dysplasia with mild myopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 97(3), pp. 1212-1217.
17. BRIGGS, M.D a WRIGHT, M.J., 2004. Pseudoachondroplasia. *Gene Reviews* [online]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301660> [updated 2018 Aug 16].
18. BRIGGS, M.D, WRIGHT, M.J. a MORTIER, G.R., 1993. Multiple Epiphyseal Dysplasia, Autosomal Dominant. *GeneReviews* [online]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20301302/> [updated 2019 Apr 25]
19. CHAN, Y., et al., 2011. Common variants show predicted polygenic effects on height in the tails of the distribution, except in extremely short individuals. *PLoS Genetics*. 7(12), e1002439.
20. CHANOINE, J.P., DE WAELE, K. a WALIA, P., 2009. Ghrelin and the growth hormone secretagogue receptor in growth and development. *International Journal of Obesity*. 33(S1), S48-S52.
21. CHOI, W.B., et al., 2015. A Leri-Weill dyschondrosteosis patient confirmed by mutation analysis of SHOX gene. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*. 20(3), pp. 162-165.
22. CIANFEROTTI, L. a BRANDI, M.L., 2018. Pseudohypoparathyroidism. *Minerva Endocrinology*. 2018. 43(2), pp. 156-167.
23. CIMINO, P.J., a GUTMANN, D.H. 2018. Neurofibromatosis type 1. *Handbook of Clinical Neurology*. 148, pp. 799-811.
24. CLAYTON, P.E., et al., 2007. Consensus statement: Management of the child born small for gestational age through to adulthood: A consensus statement of the international societies of pediatric endocrinology and the growth hormone research society. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 92(3), pp. 804-810.
25. CORREA, F.A., et al., 2019. Combined pituitary hormone deficiency caused by PROP1 mutations: Update 20 years post-discovery. *Archives of Endocrinology and Metabolism*. 63(2), pp. 167-174.
26. COX, L.A., 1996. Tanner-Whitehouse method of assessing skeletal maturity: Problems and common errors. *Hormone Research in Paediatrics*. 45(Suppl 2), pp. 53-55.

27. CZARNY-RATAJCZAK, M., et al., 2001. A Mutation in COL9A1 Causes Multiple Epiphyseal Dysplasia: Further Evidence for Locus Heterogeneity. *The American Journal of Human Genetics*. 69(5), pp. 969-980.
28. DAUBER, A., et al., 2016. Mutations in pregnancy-associated plasma protein A2 cause short stature due to low IGF-I availability . *EMBO Molecular Medicine*. 8(4), pp. 363-374.
29. DAUBER, A., ROSENFELD, R.G., a HIRSCHHORN, J.N., 2014. Genetic Evaluation of Short Stature. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 99(9), pp. 3080-3092.
30. DAVENPORT, M.L., et al., 2007. Growth hormone treatment of early growth failure in toddlers with Turner syndrome: A randomized, controlled, multicenter trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 92(9), pp. 3406-3416.
31. DENG, H., HUANG, X. a YUAN, L., 2016. Molecular genetics of the COL2A1-related disorders. *Reviews in Mutations Research*. 768, pp. 1-13.
32. DEODATI, A. a CIANFARANI, S., 2017. The Rationale for Growth Hormone Therapy in Children with Short Stature. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 9(S2), pp. 23-32.
33. EKVALL, S., et al., 2015. Mutation in NRAS in familial Noonan syndrome--Case report and review of the literature. *BMC Medical Genetics*. 16 (95), pp. 95-103.
34. FALLIS, A.G, 2013. Cartilage. *Junqueira's Basic Histology*. 12. vydání, pp. 114-121.
35. FREDRIKS, A.M., et al., 2005. Nationwide age references for sitting height, leg length, and sitting height/height ratio, and their diagnostic value for disproportionate growth disorders. *Archives of Disease in Childhood*. 90(8), pp. 807-812.
36. FREIRE, B.L., et al., 2019. Multigene sequencing analysis of children born small for gestational age with isolated short stature. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 104(6), pp. 2023-2030
37. GHIGO, E., et al., 1996. Reliability of provocative tests to assess growth hormone secretory status. Study in 472 normally growing children. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 81(9), pp. 3323-3327.
38. GIBSON, B.G. a BRIGGS, M.D. 2016. The aggrecanopathies; An evolving phenotypic spectrum of human genetic skeletal diseases. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 11(1), pp. 86-94.
39. GICQUEL, C. a LE BOUC, Y., 2006. Hormonal regulation of fetal growth. *Hormone Research in Paediatrics*. 65(S3), pp. 28-33.
40. GKOUROGIANNI, A., et al., 2016. Clinical characterization of patients with autosomal dominant short stature due to aggrecan mutations. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 102(2), pp. 460-469.

41. GRANDONE, A., et al., 2014. Clinical features of a new acid-labile subunit (IGFALS) heterozygous mutation: Anthropometric and biochemical characterization and response to growth hormone administration. *Hormone Research in Paediatrics*. 81(1), pp. 67-72.
42. HAUER, N.N., et al., 2018. Clinical relevance of systematic phenotyping and exome sequencing in patients with short stature. *Genetics in Medicine*. 20(6), pp. 630-638.
43. HELLEMANS, J., et al, 2003. Homozygous mutations in IHH cause acrocapitofemoral dysplasia, an autosomal recessive disorder with cone-shaped epiphyses in hands and hips. *American Journal of Human Genetics*. 72(4), pp. 1040-1046.
44. HISADO-OLIVA, A., et al., 2015. Heterozygous NPR2 mutations cause disproportionate short stature, similar to Léri-Weill dyschondrosteosis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 100(8), pp. 1133-1142.
45. HISADO-OLIVA, A., et al., 2018. Mutations in C-natriuretic peptide (NPPC): A novel cause of autosomal dominant short stature. *Genetics in Medicine*. 20(1). pp. 91-97.
46. HOLMES, D.F. a KADLER, K.E., 2006. The 10+4 microfibril structure of thin cartilage fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103(46), pp. 17249-17254.
47. HOMMA, T.K., et al., 2019. Genetic Disorders in Prenatal Onset Syndromic Short Stature Identified by Exome Sequencing. *Journal of Pediatrics*. 215, pp. 192-198.
48. HUANG, Z., et al., 2018. Genetic Evaluation of 114 Chinese Short Stature Children in the Next Generation Era: A Single Center Study. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 49(1), pp. 295-305.
49. HWA, V., 2016. STAT5B deficiency: Impacts on human growth and immunity. *Growth Hormone and IGF Research*. 28, pp. 16-20.
50. IRFANULLAH, A.Z., et al., 2018. Molecular and in silico analyses validates pathogenicity of homozygous mutations in the NPR2 gene underlying variable phenotypes of Acromesomelic dysplasia, type Maroteaux. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 102, pp. 76-86.
51. JACOB, M., et al., 2018. Heterozygous NPR2 Mutation in Two Family Members with Short Stature and Skeletal Dysplasia. *Case Reports in Endocrinology* [online]. 2018:7658496
52. KIM, Y.M., et al., 2017. High diagnostic yield of clinically unidentifiable syndromic growth disorders by targeted exome sequencing. *Clinical Genetics*. 92(6), pp. 594-605.
53. KOBZOVÁ, J., et al., 2004. The 6th nationwide anthropological survey of children and adolescents in the Czech Republic in 2001. *Central European Journal of Public Health*. 12(3), pp. 126-130.

54. KOMMUNEHOSPITAL, A., 2000. Consensus Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Growth Hormone (GH) Deficiency in Childhood and Adolescence: Summary Statement of the GH Research Society. GH Research Society. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 85(11), pp. 3990-3993.
55. KRAKOW, D. a RIMOIN, L.R., 2010. The skeletal dysplasias. *Genetics in medicine : Official Journal of the American College of Medical Genetics*. 12(6), pp. 327-341.
56. LANGO ALLEN H., et al., 2010. Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height. *Nature*. 467(7317), pp. 832-838.
57. LARON, Z., 2015. Lessons from 50 years of study of Laron syndrome. *Endocrine Practice*. 21(12), pp. 1395-1402.
58. LEBL, J., et al., 2016. Poruchy tělesného růstu. *Dětská endokrinologie a diabetologie*. První vydání, pp. 67-133.
59. LEBL, J., et al., 2020. Syndrom Noonanové a další RASopatie: Etiologie, diagnostika a terapie. *Československá pediatrie*. 75(4), pp. 219-226.
60. LI, J. a DONG, S., 2016. The signaling pathways involved in chondrocyte differentiation and hypertrophic differentiation. *Stem Cells International* [online]. 2016:2470351.
61. LINGLART, A., et al., 2011. Growth hormone treatment before the age of 4 years prevents short stature in young girls with Turner syndrome. *European Journal of Endocrinology*. 164(6), pp. 891-897
62. LOCHE, S., et al., 2014. Growth hormone treatment in non-growth hormone-deficient children. *Annals of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 19(1), pp. 1-7.
63. MAJAVA, M., et al. A report on 10 new patients with heterozygous mutations in the COL11A1 gene and a review of genotype-phenotype correlations in type XI collagenopathies. *American Journal of Medical Genetics*. 143A(3), pp 258-264.
64. MÄKITIE, O., et al., 2005. Schmid type of metaphyseal chondrodysplasia and COL10A1 mutations - Findings in 10 patients. *American Journal of Medical Genetics*. 137A(3), pp. 241-248.
65. MARR, C., SEASMAN, A., a BISHOP, N., 2017. Managing the patient with osteogenesis imperfecta: A multidisciplinary approach. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*. 10, pp. 145-155.
66. MASSART, F., et al., 2015. Height outcome of short children with hypochondroplasia after recombinant human growth hormone treatment: a meta-analysis. *Pharmacogenomics*. 16(17), pp. 1965-1973.
67. MIYAMOTO, Y., et al., 2007. A recurrent mutation in type II collagen gene causes Legg-Calvé-Perthes disease in a Japanese family. *Human Genetics*. 121(5), pp. 625-629.

68. MURRAY, P.G., DATTANI, M.T. a CLAYTON, P.E., 2016. Controversies in the diagnosis and management of growth hormone deficiency in childhood and adolescence. *Archives of Disease in Childhood*. 101(1), pp. 96-100.
69. ORNITZ, D.M. a LEGEAI-MALLET, L., 2017. Achondroplasia: Development, pathogenesis, and therapy. *Developmental Dynamics*. 246(4), pp. 291-309.
70. PEDICELLI, S., et al., 2009. Controversies in the definition and treatment of idiopathic short stature (ISS). *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 1(3), pp. 105-115.
71. PFÄFFLE, R. a KLAMMT, J., 2011. Pituitary transcription factors in the aetiology of combined pituitary hormone deficiency. *Best Practice and Research in Clinical Endocrinology and Metabolism*. 25(1), pp. 43-60.
72. RAUEN, K.A., 2013. The RASopathies. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 14, pp. 355-369.
73. RICARD-BLUM, S., 2011. The Collagen Family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 3(1), pp. 1-19.
74. RICHARDS, S., et al., 2015. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in Medicine*. 17(5), pp. 405-424.
75. ROBERTS, A.E., et al., 2013. Noonan syndrome. *The Lancet*. 381(9863), pp. 333-342.
76. ROMANO, A.A., et al., 2009. Growth response, near-adult height, and patterns of growth and puberty in patients with Noonan syndrome treated with growth hormone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 94(7), pp. 2338-2344.
77. ROSS, J.L., et al., 2011. Growth hormone plus childhood low-dose estrogen in Turner's syndrome. *New England Journal of Medicine*. 364(13), pp. 1230-1242.
78. SHANKAR, R.K. a BACKELJAUW, P.F., 2018. Current best practice in the management of Turner syndrome. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*. 9(1), pp. 33-40.
79. SHEN, G., 2005. The role of type X collagen in facilitating and regulating endochondral ossification of articular cartilage. *Orthodontics & Craniofacial Research*. 8(1), pp. 11-17.
80. SIRKO-OSADSA, D. A., et al., 1998. Stickler syndrome without eye involvement is caused by mutations in COL11A2, the gene encoding the $\alpha 2(XI)$ chain of type XI collagen. *Journal of Pediatrics*. 132(2), pp. 368-371.
81. STAGI, S., et al., 2016. Growth Hormone Axis in Skeletal Dysplasias. *Restricted Growth - Clinical, Genetic and Molecular Aspects*. 1, p. 12.

82. STEPHURE, D.K., 2005. Impact of growth hormone supplementation on adult height in Turner syndrome: Results of the canadian randomized controlled trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 90(6), pp. 3360-3366.
83. SUHAG, A. a BERGHELLA, V., 2013. Intrauterine Growth Restriction (IUGR): Etiology and Diagnosis. *Current Obstetrics and Gynecology Reports*. 2, pp. 102-11.
84. SUPERTI-FURGA, A., BONAFÉ, L., a RIMOIN, D.L., 2002. Molecular-pathogenetic classification of genetic disorders of the skeleton. *American Journal of Medical Genetics*. 106(4), pp. 283-293.
85. TOMPSON, S.W., et al., 2010. Fibrochondrogenesis results from mutations in the COL11A1 type XI collagen gene. *American Journal of Human Genetics*. 87(5), pp. 708-712.
86. VAN CAMP, G., et al., 2006. A new autosomal recessive form of Stickler syndrome is caused by a mutation in the COL9A1 gene. *American journal of human genetics*. 79(3), pp. 449-457.
87. VAN DER BURGT, I., 2007. Noonan syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2, pp. 4-10.
88. VASQUES, G.A., et al., 2017. Long-term response to growth hormone therapy in a patient with short stature caused by a novel heterozygous mutation in NPR2. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 30(1), pp. 111-116.
89. VASQUES, G.A., et al., 2013. Heterozygous mutations in natriuretic peptide receptor-B (NPR2) gene as a cause of short stature in patients initially classified as idiopathic short stature. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 98(10), pp. 1636-1644.
90. VASQUES, G.A., et al., 2018. IHH gene mutations causing short stature with nonspecific skeletal abnormalities and response to growth hormone therapy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 103(2), pp. 604-614.
91. VOIGT, M., et al., 2006. Analyse des Neugeborenenkollektivs der Bundesrepublik Deutschland. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 66(10), pp. 956-970.
92. VUORISTO, M.M., et al., 2004. A stop codon mutation in COL11A2 induces exon skipping and leads to non-ocular stickler syndrome. *American Journal of Medical Genetics*. 130A(2), pp. 160-164.
93. WAKELING, E.L., et al., 2017. Diagnosis and management of Silver-Russell syndrome: First international consensus statement. *Nature Reviews Endocrinology*. 13(2), pp. 105-124.
94. WANG, S.R., et al., 2015. Heterozygous mutations in natriuretic peptide receptor-B (NPR2) gene as a cause of short stature. *Human Mutation*. 36(4), pp. 474-481.
95. WIT, J. M., KIESS, W. a MULLIS, P., 2011. Genetic evaluation of short stature. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. 99(9), pp. 3080-3092.
96. ZHANG, H., et al., 2015. A pilot study of gene testing of genetic bone dysplasia using targeted next-generation sequencing. *Journal of Human Genetics*. 60(12), pp. 769-776.

13. PŘÍLOHA Č. 1 – SEZNAM 398 GENŮ V PANELU PRO NGS

AAAS, ACAN, ACP5, ACVR1, ADAMTS10, ADAMTS17, ADAMTSL2, ADAMTSL3, ADIPOQ, AGPS, ALPL, ALS, ALX4, ANAPC13, ANKH, ARID3A, ARID5B, ARNT2, ARSB, ARSE, ATF3, B3GAT3, B4GALT7, BMP2, BMP4, BMP6, BMPR1B, BRCA2, BTK, BTRC, CA2, CABLES1, CASR, CAV1, CBL, CCDC8, CDK5, CDK6, CDKN1C, CETP, CIS, CITED1, CLCN7, CLEC2D, CLEC3B, COL10A1, COL11A1, COL11A2, COL1A1, COL1A2, COL2A1, COL3A1, COL9A1, COL9A2, COL9A3, COMP, CPED1, CR1L, CRIPT, CRTAP, CSF1, CSF1R, CSGALNACT1, CTGF, CTSK, CTSV, CUL4B, CUL7, CXORF5, CYP19A1, CYP27B1, DDR2, DHCR24, DLL3, DLX3, DNA2, DOT1L, DPH1, DTDST, DYM, DYNC2H1, E2F1, E2F3, EBF1, EBP, EFEMP1, EFN1, EGR1, EGR2, EHMT2, EI24, EIF2AK3, ELN, ERCC6, ERK2, ESCO2, ESR1, ESR2, EVC1, EVC2, EXT1, EXT2, F2, F5, FAM20C, FBLN1, FBLN5, FBN1, FBN2, FBXW8, FGF10, FGF21, FGF23, FGF8, FGF9, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FGFRL1, FLNA, FLNB, FLT1, FOS, FUBP1, G6PC, GADD45G, GDF5, GH1, GH2, GHR, GHRH, GHRHR, GHSR, GJA1, GLG1, GLI2, GLI3, GLIS3, GNA12, GNAS, GNAS1, GNPAT, GNRH1, GNRH2, GNRHR, GPR161, GRB10, GRB2, GRHL2, GRK2, GSN, H19, HAPLN1, HDAC4, HESX1, HHIP, HMGA1, HMGA2, HNF1A, HNF1B, HOXA11, HOXD13, HRAS, HS3ST1, HSPG2, HUWE1, CHAD, CHRNA4, CHST3, CHSY1, IARS2, IDUA, IFT172, IFT80, IGF1, IGF1R, IGF2, IGF2BP1, IGFALS, IGFBP3, IGFBP4, IGSF1, IHH, IKBKG, IL11, INPPL1, INS, INSR, IRS1, IRS2, ITGA10, JAK2, JUN, KAL1, KDM5C, KLF4, KRAS, LBR, LEMD3, LFNG, LGALS3, LHX3, LHX4, LIFR, LMBR1, LMNA, LMX1B, LRP5, LTBP1, LTBP3, MAF, MATN1, MATN3, MESP2, METTL1, MGP, MIR140, MIR17, MIR18A, MIR19A, MIR19B1, MIR20A, MMP13, MMP14, MMP16, MMP2, MMP9, MSX2, MT1, MT2, MTHFR, NAB1, NAB2, NBAS, NCAPG, NFIX, NFKB1, NFKB2, NOG, NOS3, NPHS2, NPCC, NPR2, OBSL1, OSTM1, OTX2, P3H1, P63, PAPP2, PAPP3, PAX6, PAX8, PCNT, PEX7, PHEX, PI3K, PIAS1, PIAS3, PITX1, PITX2, PKDCC, PLAC1, PLAG1, PLAGL1, PLOD2, PLOD3, PNPLA6, POC1A, POLE, POR, POU1F1, PPARG, PPIB, PPP1R15B, PRG4, PRKAR1A, PRKG2, PRL, PRLR, PRMT7, PROKR2, PROP1, PRRX1, PRRX2, PTGS1, PTGS2, PTH, PTHLH, PTHR1, PTCH1, PTPN1, PTPN11, PTPN2, PTPN3, PTPN6, PXMP3, RANKL, RBL1, RBL2, RBPI, RDH11, RECQL, REV3L, RGS10, RIEG, RMRP, RNPC3, ROR2, RPS6, RUNX2, SALL1, SALL4, SBDS, SCM1, SCUBE2, SCYL1BP1, SEDL, SERPINA3, SF1, SHC1, SHH, SHOX, SIK3, SIRP, SIX3, SKIV2L, SLC34A1, SLC34A3, SLC37A4, SLC39A13, SLC4A4, SMAD3, SMARCA1, SOCS1, SOCS2, SOCS3, SOS1, SOST, SOX2, SOX3, SOX9, SRC, STAT1, STAT3, STAT4, STAT5, STAT5B, STK3, STK4, SUMO1, TBCE, TBX15, TBX19, TBX2, TBX3, TBX4, TBX5, TBXAS1, TCIRG1, TCPTP, TERT, TGFA, TGFB1, THRA, THRB, TITF1, TLE4, TM7SF2, TMEM16E, TNFRSF11A, TNFRSF11B, TNFSF11, TP53, TP63, TRHR, TRIP11, TRMT10A, TRPS1, TRPV4, TTC37, TWIST1, TWSG1, UBA2, UBP1, USP9X, VDR, WISP3, WNT3, WNT4, WNT7A, XBP1, XPA, XRCC4, ZBTB16, ZBTB38, ZMPSTE24, ZNF521

14. PŘÍLOHA Č. 2 - SEZNAM POUŽITÝCH GENŮ

ACAN	Aggrecan gene
BRAF	B-RAF protooncogene
COL1A1	Collagen type I chain alpha 1 gene
COL1A2	Collagen type I chain alpha 2 gene
COL2A1	Collagen type II chain alpha 1 gene
COL9A1	Collagen type IX chain alpha 1 gene
COL9A2	Collagen type IX chain alpha 2 gene
COL9A3	Collagen type IX chain alpha 3 gene
COL10A1	Collagen type X chain alpha 1 gene
COL11A1	Collagen type XI chain alpha 1 gene
COL11A2	Collagen type XI chain alpha 2 gene
COMP	Cartilage oligomeric matrix protein gene
CRAF	Rapidly accelerated fibrosarcoma C gene
FGF8	Fibroblast growth factor 8 gene
FGFR1	Fibroblast growth factor receptor type 1 gene
FGFR3	Fibroblast growth factor receptor type 3 gene
GH1	Growth hormone type 1 gene
GHR	Growth hormone receptor gene
GHRHR	Growth hormone releasing hormone receptor gene
GHSR	Growth hormone secretagogue receptor 1 gene
GLI2	GLI family zinc finger 2 gene
GNAS	Guanine nucleotide binding protein, alpha stimulating activity gene
HESX1	Homeobox expressed in ES cells 1 gene
HRAS	Harvey murine sarcoma virus oncogene
IGF1	Insulin-like growth factor I gene
IGF1R	Insulin-like growth factor receptor I gene
IGF2	Insulin-like growth factor II gene
IGFALS	Insulin-like growth factor-binding protein, acid-labile subunit
IGSF1	Immunoglobulin superfamily member 1 gene
IHH	Indian Hedgehog gene
KRAS	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
LHX3	LIM Homeobox 3 gene
LHX4	LIM Homeobox 4 gene
MATN3	Matrilin 3 gene
MEK1	Meiosis specific serine/threonine protein kinase 1 gene
MEK2	Meiosis specific serine/threonine protein kinase 2 gene
NF1	Neurofibromin 1 gene
NPPC	Natriuretic peptide precursor peptide C gene
NPR2	Natriuretic peptide receptor type 2 gene
OTX2	Orthodencile homeobox 2 gene
PAPP2A	Pappalysin 2 gene
POU1F1	POU domain, class 1, transcription factor 1 gene
PROP1	PROP Paired-like homeobox 1 gene
PTCH1	Protein patched homolog 1 gene

PTPN11	Protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 11 gene
RAF1	V-RAF-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1 gene
RIEG	Rieger syndrome gene
RIT1	RIC-like protein without CAAX motif 1 gene
SHH	Sonic Hedgehog gene
SHOX	Short Stature Homeobox gene
SIT1	SHP2 Interacting transmembrane adaptor protein 1 gene
SOS1	SOS RAS/RAC guanine nucleotide exchange factor 1
SOX2	Sex determining region Y box transcription factor 2 gene
SOX3	Sex determining region Y box transcription factor 3 gene
STAT5B	Signal transducer and activator of transcription 5b

15. PŘÍLOHA Č. 3 - SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA

Publikace, které jsou podkladem dizertace

S impact factorem, 1. kvartil publikací v oboru endokrinologie

Plachý L, Straková V, Elblová L, Obermannová B, Koloušková S, Šnajderová M, Zemková D, Dušátková P, Šumník Z, Lebl J, Průhová Š. High prevalence of growth plate variants in children with familial short stature treated with growth hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019. 104(10), 4273-4281 (**IF=5.605**)

Plachý L, Dušátková P, Maratová K, Petruželková L, Zemková D, Elblová L, Kučerová P, Toni L, Koloušková S, Šnajderová M, Šumník Z, Lebl J, Průhová Š. *NPR2* gene variants are frequent among children with familial short stature and respond well to growth hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020. 105(3), 746-752 (**IF 5.399**)

Plachý L, Dušátková P, Maratová K, Petruželková L, Elblová L, Koloušková S, Šnajderová M, Obermannová B, Zemková D, Šumník Z, Lebl J, Průhová Š. Familial short stature – a novel phenotype of growth plate collagenopathies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021. dgab084 (**IF 5.399**)

Bez impact factoru

Plachý L, Zemková D., Průhová Š, Lebl J. Poruchy růstové ploténky jako příčina familiárně malého vzrůstu. *Čes-Slov Pediat.* 2018. 73(2), 108-115

Publikace s částečným vztahem k tématu dizertace nebo bez vztahu k tématu dizertace

S impact factorem

Petruželková L, Šoupal J, Plasová V, Jiráňová P, Neuman V, Plachý L, Průhová Š, Šumník Z, Obermannová B. Excellent Glycemic Control Maintained by Open-Source Hybrid Closed-Loop AndroidAPS During and After Sustained Physical Activity. *Diabetes Technol Ther.* 2018. 20(11), 744-750 (**IF=2.921**)

Plachý L, Elblová L, Neuman V, Fencel F, Bláhová K, Straňák Z, Lebl J, Průhová Š. For debate: The significance of etiologic diagnosis in neonates with overgrowth syndromes. Lessons learned from Simpson-Golabi-Behmel syndrome. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2018. 16(1), 171-177 (**IF=0.6**)

Petruželková L, Jiráňová P, Šoupal J, Kozák M, Plachý L, Neuman V, Průhová Š, Obermannová B, Koloušková S, Šumník Z. Pre-school and school-aged children benefit from a switch from a sensor-augmented pump to an AndroidAPS hybrid closed-loop: A retrospective analysis. *Pediatr Diabetes.* 2021 (**IF 4.267**)

Bez impact factoru

Lebl J, Plachý L, Bláhová K, Elblová L, Fencel F, Koloušková S, Průhová Š. Nadměrný vzrůst u dětí a dospělých: nový klinický pohled, nové geny, nové fenotypy. *Čas Lék Česk.* 2017. 156, 233-240.

Polák M., Kotaška K., Plachý L., Průša R., Fořtová M., Vzácný pyrofosfátový močový konkrement u pětiletého chlapce s kongenitální hypofosfatázií. *Klin Biochem Metab.* 2019. 2, 90-95

Toni L., Pádrová K., Plachý L., Dušátková P., Elblová L., Koloušková S., Pechová M., Šnajderová M, Šumník Z, Průhová Š, Lebl J. Význam acidolabilní podjednotky (ALS) v etiologii a diagnostice malého vzrůstu. *Čes-Slov Pediat.* 2020. 75(4), 214-218.

Toni L., Plachý L., Amaratunga S.A., Kodytková A., Průhová Š., Lebl J. Etiologie a diagnostika poruchy růstu u dětí, které se narodily malé na svůj gestační věk (SGA) s přetrvávající malou výškou v dětství. *Čes-Slov Pediat.* 2020. 75(4), 240-248.

Lebl J., Koloušková S., Toni L., Kodytková A., Amaratunga S.A., Plachý L., Průhová Š. Syndrom Noonanové a další RASopatie: Etiologie, diagnostika a terapie. *Čes-Slov Pediat.* 2020. 75(4), 219-226.

Plachý L. Tučky a bílkoviny ve stravě dětí a dospělých s diabetem mellitem 1. typu. *Čes Diab.* 2020. 27-29