

UNIVERZITA KARLOVA

2. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



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

Lukáš Plachý

Praha, 2021

Disertační práce byla vypracována v rámci *prezenčního* studia doktorského studijního programu Fyziologie a patofyziologie člověka na *Pediatrické klinice 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy*

Školitel: *doc. MUDr. Štěpánka Průhová, PhD.*

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady *Fyziologie a patofyziologie člověka* dne v od
hod. Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu:
Prof. MUDr. Otomar Kittnar, MBA, CSc.
Fyziologický ústav 1. LF UK

Děkan fakulty: *prof. MUDr. Vladimír Komárek, CSc.*

Tato práce vznikla za podpory grantů
AZV – čísla grantu 16-31211A a NV18-07-00283
GAUK – číslo grantu 976718

S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06, Praha 5 (tel. 224 435 836)

1. Obsah

1. Obsah	3
2. Abstrakt	4
3. Abstract	5
4. Úvod do problematiky.....	6
5. Hypotézy a cíle práce	10
6. Materiál a metodika.....	11
7. Výsledky.....	13
8. Vztah práce k testovaným hypotézám.....	18
9. Závěry.....	19
10. Conclusions	20
11. Použitá literatura	21
12. Přehled publikační činnosti autora	24

2. Abstrakt

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

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 růstovým hormonem (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 u 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.

3. Abstract

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

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.

4. Úvod do problematiky

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 (Lebl et al. 2016). **Dle klasického konceptu hraje v etiopatogenezi malého vzrůstu zásadní roli osa růstový hormon – IGF-1** (inzulinu podobný růstový faktor typ 1). Přední lalok hypofýzy (adenohypofýza) produkuje růstový hormon (GH), 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).

K deficitu růstového hormonu může dojít poškozením různých transkripčních faktorů (způsobené např. mutacemi v genech *SHH* nebo *OTX2*), které vedou k chybnému vývoji hypofýzy a středočárových mozkových a obličejových struktur (tzv. **porucha morfogeneze hypofýzy**). Nedostatečná sekrece růstového hormonu bývá v těchto případech spojena s deficitem dalších hormonů hypofýzy (panhypopituitarismus) a poruchou středočárových struktur (např. rozštěpy rtu a patra, ztenčení corpus callosum, ektopická neurohypofýza) (Dauber et al. 2014). V případě **poruchy diference buněk** do jednotlivých buněčných linií produkujících jednotlivé hormony hypofýzy (způsobená např. mutacemi v genech *PROPI* nebo *POUIF1*) nastává panhypopituitarismus bez přítomnosti sdružených anomálií středočárových struktur (Correa et al. 2019; Lebl et al. 2016). **Izolovaný deficit růstového hormonu** může být způsoben geneticky podmíněnou poruchou řízení sekrece GH z hypotalamu (mutace v genech *GHRHR* nebo *GHSR*), 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).

Další příčinou malého vzrůstu může být **porušené působení růstového hormonu**, které je způsobeno tvorbou biologicky nefunkčního GH, nebo poruchou v signální dráze působení GH (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 vysoká, léčba

GH je neúčinná (Laron 2015). **Porucha tvorby a působení IGF-1** způsobené nejčastěji mutacemi genu přímo pro IGF-1 či pro jeho receptor je dalším známým mechanismem růstové poruchy.

Deficit GH se diagnostikuje pomocí kombinace auxologických, biochemických a radiologických dat. Děti s klinickým podezřením na GHD podstoupí cílené vyšetření hodnotící sekreci GH (Kommunehospital 2000). Růstový hormon je z předního laloku hypofýzy secernován v 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 využívá koncentrace IGF-1 v séru, jehož sérové koncentrace jsou ve srovnání s GH výrazně stabilnější (Murray et al. 2016). **Vyšetření pomocí testů stimulačních sekreci GH je v současnosti zlatým standardem diagnostiky GHD.** Jejich princip je založen na aplikaci látky, která způsobí výraznou stimulaci sekrece GH v hypofýze. Maximální stimulovaná koncentrace GH <10 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 používán klonidin (látko stimulační tvorbu GH stimulací alfa-1 adrenergických receptorů) a inzulinem indukovaná hypoglykémie (Lebl et al. 2016).

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 (klinicky je nazýváme kostní dysplázie) (Krakow a Rimoin 2010; Bonafe et al. 2015). Příčiny primární poruchy funkce růstové ploténky mohou být způsobeny poruchami v mezibuněčné hmotě chrupavky (např. poruchy kolagenů růstové ploténky), porušenou parakrinní signalizací způsobené mutacemi např. v genech *FGFR3* nebo *NPR2* nebo poruchami v základních nitrobuněčných dějích, které jsou důležité pro správnou funkci růstové chrupavky (např. deficit proteinu SHOX nebo různé poruchy RAS-MAPK signalizační kaskády) (Superti-Furga et al. 2002; Lebl et al. 2016). Nové možnosti v genetickém vyšetřování způsobily výrazný pokrok v chápání příčin poruch růstu. Bylo zjištěno, že poruchy růstové ploténky hrají v etiopatogenezi růstových poruch mnohem významnější roli, čímž **vzniklo nové paradigma – 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).

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, krvácení, zánět) 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.

Tělesná výška je z výrazné části dána genetickými faktory (Dauber et al. 2014). Byly identifikovány stovky genových variant, z nichž každá má jen 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 častěji možné prokázat příčinu růstové poruchy na molekulární úrovni. Tito lidé mohou nést mutaci v jediném genu, která má na jejich růst výrazný vliv (**monogenní dědičnost**) (Chan et al. 2011). Identifikace konkrétní příčiny růstové poruchy na genové úrovni je velmi důležitá. Pacient dostane odpověď, proč se porucha růstu v rodině vyskytuje, pro lékaře je toto zjištění vodítkem, jaké komorbidity se mohou u jeho pacienta objevit (a po kterých má aktivně pátrat před jejich klinickou manifestací). Naprosto zásadní je vědecké hledisko genetického vyšetřování malého vzrůstu - **poznání genetických příčin malého vzrůstu má 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). V případě klinického podezření na určitou konkrétní genetickou příčinu poruchy růstu lze využít různé standardní metody cytogenetické a molekulárně-genetické diagnostiky (např. FISH, MLPA, Sangerovo sekvenování). U naprosté většiny dětí s malým vzrůstem ale klinické podezření na žádnou konkrétní genovou poruchu nevzniká. Monogenní příčina malého vzrůstu u těchto dětí může být odhalena pomocí **metod sekvenování nové generace (NGS)** (Dauber et al. 2014).

Naprostá většina jedinců je léčena růstovým hormonem z indikace růstového selhání navazující na narození s malou porodní hmotností nebo délkou, resp. z indikace deficitu

růstového hormonu. Menší část dětí je léčena GH z důvodu své genetické diagnózy. Bylo prokázáno, že děti s Turnerovým syndromem, deficitem SHOX-proteinu, Prader-Williho syndromem a se syndromem Noonanové profitují z léčby GH, genetická diagnóza tyto jedince proto přímo indikuje k léčbě (Loche et al. 2014; Blum et al. 2007). Na druhou stranu účinnost podávání GH u dětí s achondroplazií není velká, léčba proto není indikována (Massart et al. 2015). S pokroky genetické diagnostiky se daří odhalit genetickou příčinu u stále více jedinců s poruchou růstu. Postupně tak vznikají etiopatogeneticky homogenní skupiny pacientů se stejnou genetickou příčinou malého růstu a předpokládanou obdobnou odpovědí na léčbu GH. Ve většině případů jsou ale informace o účinnosti terapie GH u těchto skupin velmi omezené.

Objasnění odpovědi na léčbu růstovým hormonem u geneticky definovaných skupin dětí s malým vzrůstem patří mezi nejdůležitější úkoly současné dětské endokrinologie.

Děti s familiárně malým vzrůstem (FSS) 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). Některé literární zdroje považují FSS 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 u dětí narozených malé na svůj gestační věk (SGA), méně často jsou děti testovány a splní kritéria pro diagnózu deficitu růstového hormonu (GHD). 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.** 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.

5. Hypotézy a cíle práce

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.

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.

6. Materiál a metodika

6.1. Kritéria pro zařazení do studie

V databázi pacientů léčených GH na Pediatrické klinice FN Motol a 2. LF UK se k datu 1.11.2016 (zahájení náboru 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 GH) zbylo 531 dětí. V rámci této skupiny mělo 128 dětí FSS (výška dítěte před zahájením léčby GH 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.

6.2. Klinické vyšetření dětí po zařazení do studie

Výšky všech dětí byly změřeny při antropologickém vyšetření, při kterém byla rovněž zhodnocena proporcionalita tělesného vzrůstu (poměr výšky vsedě k celkové výšce) a další antropometrické parametry. U všech dětí byla laboratorními a zobrazovacími metodami vyloučena sekundární porucha růstu. Diagnózy deficitu GH a narození SGA byly stanoveny podle současných doporučení (Kommunehospital 2000; Clayton et al. 2007), všechny děti s diagnózou GHD byly následně vyšetřeny pomocí magnetické rezonance k vyloučení organické léze mozku. 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 vyšetřované skupiny byl u 65 % (64/98) dětí diagnostikován GHD (vyšetření proběhlo pomocí dvou různých nezávislých stimulačních testů, u dětí starších 7 let byl proveden priming pohlavními hormony). Celkem 54 děti (55 %) se narodily SGA, 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.

6.3. 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 proteinu 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 *NF1*.

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 celoexomového sekvenování (WES). Zbýlých 59 dětí bylo vyšetřeno cíleným NGS pomocí panelu 398 genů ovlivňujících růst člověka. Panel genů byl sestaven naší studijní skupinou v rámci tohoto projektu. Nalezené genetické 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.

6.4.Hledání klinických prediktorů monogenní příčiny malého vzrůstu

Rozdíly ve vybraných klinických parametrech mezi dětmi s prokázanou monogenní příčinou FSS 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).

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

Po dokončení genetického vyšetření 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, známky kostní dysplázie). Reakce na léčbu GH 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 GH. 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.

7. Výsledky

7.1. Etiologie familiárně malého vzrůstu

Genetické vyšetření prokázalo etiologii růstové poruchy u 40/98 (41 %) dětí FSS. U 32/40 dětí (80 %) byla růstová porucha zapříčiněna poškozením funkce nebo struktury růstové chrupavky (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 (kauzální varianty v genech *GHSR*, *HGMA2*, *IGF1R*, *IGFALS* a *OTX2*), u zbylých 3/40 dětí (7 %) byla nalezena jiná příčina malého růstu (kauzální varianty v genech *TRHR*, *SALL4* a *MBTPS2*).

7.2. Klinické prediktory monogenní příčiny familiárně malého vzrůstu

V porovnání s dětmi, u kterých nebyla genetická etiologie růstové poruchy nalezena, měly děti s prokázaným monogenním FSS signifikantně méně opožděný kostní věk (medián - 0,4 let vs. -1,2 let, $p=0,025$) a jejich rodiče s malým vzrůstem měli signifikantně výraznější růstovou poruchu (medián výšky -2,9 SD vs. -2,5 SD, $p=0,002$). Pomocí mnohočetného regresního modelu byly oba výše uvedené parametry potvrzeny jako vhodné prediktory monogenní příčiny FSS ($p=0,027$ pro kostní věk a $p=0,003$ pro výšku rodiče s malým vzrůstem). Pomocí ROC křivky byly určeny optimální mezní hodnoty predikce monogenního FSS – opoždění kostního věku před léčbou GH o <0,5 roku (Youden index 0,31) a výška menšího z rodičů < -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).

7.3. Charakteristika geneticky homogenních skupin s familiárně malým vzrůstem

Po vyhodnocení výsledků genetického vyšetření 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.

Genetická porucha kolagenu růstové chrupavky byla nalezena u 10/98 (10,2 %) dětí s FSS. U 5 byla odhalena kauzální varianta v genu *COL2A1*, u 4 v genu *COL11A1* a u 1 v genu *COL11A2*. Medián věku dětí s prokázanými kolagenopatiemi byl 12,5 let. Porodní délka (medián -2,8 SD) byla postižena výrazněji než porodní hmotnost (medián -2,1 SD). Osm dětí se narodilo SGA. Antropologické vyšetření 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). Po zahájení léčby GH se jejich růstová rychlost zlepšila z mediánu 5,3 cm/rok v roce před zahájením léčby na 8,7 cm/rok v prvním roce léčby GH, jejich výška se se zlepšila z mediánu -3,1 SD v době zahájení léčby GH na -2,2 SD po třech letech léčby ($p < 0,001$).

Deficit SHOX proteinu byl nalezen u 6/98 (6,1 %) dětí s FSS. Medián jejich věku byl 13 let. Porodní délka (medián -1,8 SD) byla postižena výrazněji než porodní hmotnost (medián -1,2 SD), dvě děti se narodily SGA. Antropologické vyšetření 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). Po zahájení léčby GH se jejich růstová rychlost zlepšila z mediánu 5,6 cm/rok v roce před zahájením léčby na 9,6 cm/rok v prvním roce léčby ($p = 0,014$), jejich tělesná výška se se zlepšila z mediánu -2,6 SD v době zahájení léčby na -1,8 SD po třech letech léčby ($p < 0,01$).

Genetická porucha v receptoru pro natriuretický peptid typu C (gen *NPR2*) byla nalezena u 4/98 (4,1 %) dětí s FSS. Medián jejich věku byl 10 let. Porodní délka (medián -1,9 SD) byla postižena výrazněji než porodní hmotnost (medián -1,6 SD), 2 děti se narodily SGA. Antropologické vyšetření 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). Po zahájení léčby GH se jejich růstová rychlost zlepšila z mediánu 4,8 cm/rok v roce před zahájením léčby na 8,7 cm/rok v prvním roce léčby GH ($p < 0,001$), jejich výška se zlepšila z mediánu -3,4 SD v době zahájení léčby na -2,5 SD po třech letech léčby ($p = 0,03$).

Děti, jejichž FSS byl způsoben deficitem SHOX proteinu, měly před zahájením léčby GH 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 hodnocených klinických parametrech 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, reakce na léčbu GH se mezi jednotlivými skupinami signifikantně nelišila.

8. 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 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.

Poruchy růstové ploténky bývají tradičně považovány za vzácnou příčinu malého vzrůstu spojenou s asymetrickou růstovou poruchou a dalšími známkami kostní dysplázie. V nedávné době bylo zjištěno, že některé poruchy růstové ploténky mají rozmanitější fenotyp, než se předpokládalo. Příkladem mohou být aktivační mutace v genu *FGFR3*, které způsobují achondroplazii (závažná kostní dysplázie s těžkou asymetrickou poruchou růstu a dalšími fenotypickými známkami) nebo hypochondroplazii, která je spojena s výrazně mírnějším fenotypem. Znamky kostní dysplázie mohou být v některých případech diskrétní, proporcionální růstová porucha pak zůstává jediným nápadným fenotypickým znakem (Lebl et al. 2016; Ornitz a Legeai-Mallet 2017). Obdobná variabilita byla popsána i u dalších poruch růstové ploténky (mutace 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 častou příčinou malého vzrůstu i v případě nepřítomnosti známek kostní dysplázie, vedla ke zformulování zcela **nového paradigmatu etiopatogeneze malého vzrůstu** – klíčovou roli hraje 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 NGS se ve svých výsledcích liší – monogenní porucha malého růstu nalezena v 9-54 % případů (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 ke genetickému vyšetření malého vzrůstu. 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. Zlatým standardem klinické diagnostiky GHD zůstávají různé testy stimulující sekreci GH, u kterých se ale prokázala velmi nízká specifita (Ghigo et al. 1996). Z důvodu častých falešně pozitivních výsledků se předpokládá, že děti s diagnostikovaným idiopatickým GHD 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 GHD, u kterých byla genetickým vyšetřením objasněna etiopatogeneze malého vzrůstu, byl genový defekt ovlivňující sekreci nebo funkci GH nalezen pouze u dvou (geny *GHSR* a *OTX2*). U zbývajících 19 byla prokázána zcela jiná etiologie růstové poruchy – 15 mělo 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 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**.

U většiny monogenních růstových poruch jsou informace o efektu léčby GH nedostatečné. **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 dobrý krátkodobý efekt léčby GH u skupin dětí s kolagenopatiemi a s kauzálními variantami v genu *NPR2*, který byl srovnatelný s výsledky dětí se SHOX-deficitem (genetická diagnóza se známým dobrým efektem léčby GH automaticky indikující k podávání GH) jak v rámci naší studijní kohorty, tak popsaných v minulosti jinými autory (Benabbad et al. 2017; Blum et al. 2007). K definitivním závěrům 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 poruchami růstové ploténky mohou tedy dobře reagovat na léčbu GH. Ke spolehlivému odhalení genetických příčin malého vzrůstu vhodných k léčbě GH a k následné změně indikačních kritérií ale vede velmi dlouhá cesta. Do té doby mohou děti s monogenní příčinou malého vzrůstu profitovat i z nesprávné diagnózy GHD, 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.

9. 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.

10. Závěry

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. Conclusions

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. Použitá literatura

1. 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.
2. BARAT-HOUARI, M., et al., 2016. Mutation Update for COL2A1 Gene Variants Associated with Type II Collagenopathies. *Human Mutation*. 37(1), pp. 7-15.
3. BARON, J., et al., 2015. Short and tall stature: A new paradigm emerges. *National Reviews Endocrinology*. 11(12), pp. 735-746.
4. 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.
5. 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.
6. BONAFE, L., et al., 2015. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2015 revision. *American Journal of Medical Genetics*. 167(12), pp. 2869-2892.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. DAUBER, A., ROSENFELD, R.G., a HIRSCHHORN, J.N., 2014. Genetic Evaluation of Short Stature. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 99(9), pp. 3080-3092.
12. 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 & Metabolism*. 104(6), pp. 2023-2030
13. 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.

14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. LARON, Z., 2015. Lessons from 50 years of study of laron syndrome. *Endocrine Practice*. 21(12), pp. 1395-1402.
22. LEBL, J., et al., 2016. Poruchy tělesného růstu. *Dětská endokrinologie a diabetologie*. První vydání, pp. 67-133.
23. 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.
24. 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.
25. ORNITZ, D.M. a LEGEAI-MALLET, L., 2017. Achondroplasia: Development, pathogenesis, and therapy. *Developmental Dynamics*. 246(4), pp. 291-309.
26. 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.
27. 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.

28. 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.
29. 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.
30. 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. Přehled publikační činnosti autora

Původní vědecké práce in extenso, které jsou podkladem disertace

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

Původní vědecké práce in extenso 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. Tuky a bílkoviny ve stravě dětí a dospělých s diabetem mellitem 1. typu. Čes Diab. 2020. 27-29

Přednášky, plakátová sdělení na odborných setkáních

Plachý et al. Primary evaluation of genetic and syndromic causes of short stature among children with growth hormone deficiency and those born short for gestational age, prezentováno na konferenci The Pediatric Clinical Research Meeting 2017, Innsbruck, Rakousko

Plachý et al. ACAN gene mutations were found in 22% patients born SGA with familial short stature and accelerated bone age. Prezentováno na konferenci IMPE 2017, Washington D.C., USA

Plachý et al. Growth plate disorders are the main cause of severe familial short stature classified and treated as SGA or GHD. Prezentováno na konferenci ESPE 2018, Atény, Řecko

Plachý et al. Použití různých typů bolusu v léčbě dětí s diabetem mellitem 1. typu. Prezentováno na konferenci Diabetologické dny 2018, Luhačovice, Česká republika

Plachý et al. Nízkosacharidová dieta: Cesta ke zlepšení kontroly glykémie u dětí s diabetem mellitem 1. typu? Prezentováno na konferenci Diabetologické dny 2019, Luhačovice, Česká republika

Plachý et al. *NPR2* gene mutations were found in 5.4% children with familial short stature. Prezentováno na konferenci ESPE 2019, Vídeň, Rakousko

Plachý et al. Poorer glycaemic control by flash glucose monitoring than by real-time continuous glucose monitoring in children with type 1 diabetes during sustained physical activity. Prezentováno na konferenci ATTD 2020, Madrid, Španělsko

Plachý et al. Familial short stature – a novel phenotype of growth plate collagenopathies. Prezentováno jako přednáška na prestižní mezinárodní virtuální konferenci Endocrine Society – ENDO 2021

Kapitoly v monografiích

Lebl J., Zemková D., Plachý L., Toni L., Průhová Š. Regulace tělesného růstu: Vliv vzácných genových variant a epigenetických mechanismů na funkci růstové ploténky. Vzácná onemocnění u dětí, Galén, 2018, strany 69-83

Plachý L., Roženkova K., Mikyška P., Neuman V., Petruželková L., Šumník Z., Kovács L., Průhová Š., Lebl J., Koloušková S. Příběh rodiny s mnohočetným výskytem diabetes insipidus centralis. Poruchy vodní a elektrolytové rovnováhy – 50 let molekuly DDAVP, Galén, 2019, strany 77-81

Neuman V., Plachý L., Roženkova K., Petruželková L., Obermannová B., Koloušková S., Průhová Š., Sumerauer D., Kynčl M., Nováková Kodetová D., Šumník Z., Lebl J. Případ žíznivého dlouhána. Poruchy vodní a elektrolytové rovnováhy – 50 let molekuly DDAVP, Galén, 2019, strany 81-93

Lebl J., Plachý L., Toni L., Maratová K., Zemková D., Průhová Š. Mysteria skeletálního růstu: Jak růstová chrupavka určuje tělesnou výšku. Onemocnění skeletu, Galén, 2019, strany 99-117