

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Epidemiologie a preventivní opatření
u dědičných dystrofií sítnice v České republice

MUDr. Bohdan Kousal

2020

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Preventivní medicína

Předseda oborové rady: doc. MUDr. Alexander Martin Čelko, CSc.

Školící pracoviště: Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu
a Oční klinika, 1. LF UK a VFN v Praze

Školitel: doc. MUDr. Petra Lišková, M.D., Ph.D.

ABSTRAKT

Úvod: Dědičná onemocnění sítnice jsou jednou z nejčastějších příčin neléčitelné slepoty u dětí a mladších dospělých. V České republice nebyla tato onemocnění dosud předmětem systematického výzkumu. Cílem této práce bylo identifikovat, klinicky charakterizovat a molekulárně geneticky analyzovat pacienty s monogenně podmíněnými dědičnými chorobami sítnice a následně implementovat do klinické praxe preventivní a léčebná opatření.

Materiál a metody: U pacientů s různými geneticky podmíněnými chorobami sítnice a jejich rodinných příslušníků jsme provedli komplexní klinické vyšetření, genealogický rozbor a molekulárně genetickou analýzu. Detailní oční vyšetření zahrnovalo optickou koherenční tomografii se spektrální doménou a fotodokumentaci včetně autofluorescence fundu. DNA byla izolována ze vzorků venózní krve, popř. buněk bukalní sliznice. Příčinné varianty byly hledány pomocí Sangerova a masivně paralelního sekvenování a jejich patogenita prokazována v kontextu dříve publikovaných poznatků, bioinformatickou analýzou a sledováním segregace u rodinných příslušníků.

Výsledky: Ve formě publikačních výstupů bylo charakterizováno 103 jedinců ze 76 českých rodin se známkami monogenně dědičných dystrofií sítnice. Konkrétně jsme popsali klinické a molekulárně genetické nálezy u pacientů s retinitis pigmentosa, Usherovým syndromem, Danonovou chorobou, Stargardtovou chorobou, závažnými dystrofiemi sítnice s časnou manifestací, dědičnou poruchou glykosylace typu Iq a achromatopsií. Nejvýznamnější byl popis očních nálezů u dosud největší publikované kohorty pacientů trpících Danonovou chorobou.

Závěr: Náš výzkum pomohl objasnit faktory podílející se na etiopatogenezi různých dystrofií sítnice a upozornil na nutnost jejich detailní korelace genotypu s fenotypem, což je důležité pro časnou diagnostiku, vypracování efektivního screeningového postupu, zlepšení klinického poradenství a péče, zavedení účinných preventivních opatření a výběr pacientů pro cílené terapie. Projekt zvýšil informovanost o geneticky podmíněných onemocněních sítnice jak mezi odborníky, tak i laickou veřejností.

Klíčová slova: dědičná onemocnění sítnice, oftalmologie, prevence, genová léčba

ABSTRACT

Introduction: Inherited retinal diseases (IRDs) are one of the most common causes of incurable blindness in children and young adults. In the Czech Republic, prior to the start of our work, these disorders had not been the subject of a systematic research. The aim of the study was to identify, clinically characterize and molecular genetically analyse Czech patients with monogenic IRDs and based on the knowledge gained subsequently implement preventive and therapeutic measures to clinical practice.

Material and methods: We have performed a comprehensive clinical examination, genealogical analysis and molecular genetic investigation in patients with IRDs and their family members. Detailed ocular examination included spectral domain optical coherence tomography, high-resolution fundus photography and autofluorescence imaging. DNA was isolated from venous blood samples or buccal cells. Causal variants were searched for using Sanger and massively parallel sequencing, and their pathogenicity was evaluated in the context of previously published data, bioinformatical analysis and segregation in available family members.

Results: In total, 103 individuals from 76 Czech families diagnosed with IRDs were characterized and their data published. Specifically, we have described clinical and molecular genetic findings in patients with retinitis pigmentosa, Usher syndrome, Danon disease, Stargardt disease, early-onset severe retinal dystrophies, congenital disorder of glycosylation type Iq, and achromatopsia. The most significant was characterization of ocular findings in the largest single-center cohort of patients suffering from Danon disease.

Conclusions: Our research helped to elucidate factors involved in the etiopathogenesis of various retinal dystrophies and highlighted the need for detailed genotype-phenotype correlations, which is important for early diagnosis, development of effective screening procedure, improvement of clinical counseling and care, implementation of preventive measures and selection of patients for targeted therapies. The project has raised awareness of IRDs among both professionals and the general public.

Key words: inherited retinal diseases, ophthalmology, preventive measures, gene therapy

OBSAH

| | |
|---|----|
| ABSTRAKT | 3 |
| ABSTRACT | 4 |
| 1. ÚVOD | 6 |
| 2. HLAVNÍ CÍLE PRÁCE | 10 |
| 3. MATERIÁL A METODIKA | 11 |
| 4. VÝSLEDKY | 13 |
| 4.1 Nesyndromová retinitis pigmentosa..... | 14 |
| 4.2 Usherův syndrom..... | 15 |
| 4.3 Danonova choroba..... | 16 |
| 4.4 Stargardtova choroba..... | 17 |
| 4.5 Závažné dystrofie sítnice s časnou manifestací..... | 19 |
| 4.6 Achromatopsie..... | 20 |
| 5. DISKUZE | 21 |
| 5.1 Prohloubení poznatků o fenotypu a korelace s genotypem..... | 21 |
| 5.2 Přínosy molekulárně genetického vyšetření onemocnění sítnice z preventivního hlediska..... | 23 |
| 5.2.1 Časná diagnóza..... | 24 |
| 5.2.2 Upřesnění přenosu onemocnění v rodině a jeho ovlivnění..... | 24 |
| 5.2.3 Cílené terapie..... | 25 |
| 5.2.4 Společenské uplatnění..... | 26 |
| 6. ZÁVĚR | 27 |
| LITERATURA | 28 |
| PUBLIKACE VZTAHUJÍCÍ SE K TÉMATU DISERTAČNÍ PRÁCE | 33 |
| OSTATNÍ PUBLIKACE V IMPAKTOVANÝCH A NEIMPAKTOVANÝCH RECENZOVANÝCH ČASOPISECH | 35 |
| KNIŽNÍ PUBLIKACE | 36 |

1. ÚVOD

Vzácná onemocnění jsou v rámci Evropské unie definována jako choroby postihující méně než 5 pacientů na 10 000 obyvatel. Počet známých očních chorob oka s genetickou komponentou v etiologii je nesrovnatelný s jinými orgány. Odhaduje se, že existuje přibližně 900 vzácných onemocnění oka, přičemž kolem 80 % z nich vzniká na genetickém podkladě (Richter T. et al, 2015). Jejich velká klinická a genetická rozmanitost znamená obrovskou zátěž pro pacienty, jejich rodiny a společnost.

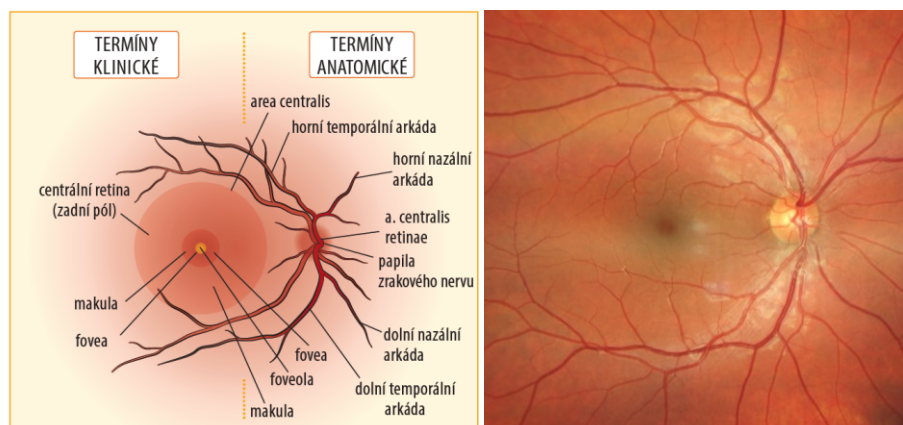
Genetické testování očních chorob se během posledních let velmi změnilo. Dříve bylo dostupné pouze na výzkumné bázi pro dosti omezené množství pacientů, zatímco v současné době je mnoha akreditovanými laboratořemi nabízena řada testů. Přesný počet pacientů se vzácnými genetickými chorobami oka, jejich diagnózy ani molekulárně genetické příčiny nejsou v České republice přesně známy, neboť tato onemocnění začala být předmětem systematického sledování až v nedávné době.

Možnosti terapie této skupiny chorob jsou v současné době v běžné klinické praxi většinou omezeny na léčbu vybraných doprovodných příznaků. Díky pokrokům na poli molekulární biologie ale započal v posledních dvou desetiletích i vývoj cílených terapií. Testované terapie jsou založené na znalosti genetické příčiny onemocnění a představují zcela nový přístup. V současné době nejdále pokročily klinické zkoušky testující terapie vzácných onemocnění sítnice, které patří mezi nejčastější příčiny slepoty u mladších jedinců (Ziccardi L. et al., 2019). První a v současné době jedinou farmakologickou léčbou povolenou pro jakékoliv geneticky podmíněné onemocnění sítnice je voretigen neparvovek určený k léčbě pacientů s potvrzenými bíalelickými mutacemi v genu *RPE65* (Ciulla TA. et al., 2020).

Oko je párový smyslový orgán sloužící k přijímání světelných podnětů a jejich transformaci na nervové impulsy, které jsou dále vedeny do mozku. Paprsky světla vstupují do oka a jsou lámány rohovkou, prostupují přední komorou oční a skrz zornici do čočky, kde jsou dále zaostřeny a po průchodu sklivcem dopadají na sítnici.

Sítnice je uložena uvnitř oční koule a je zodpovědná za vnímání světla. Na sítnici rozlišujeme vrstvu vnitřní lokalizovanou mezi vnitřní a zevní limitující

membránou a vrstvu vnější zahrnující zevní části fotoreceptorů a vrstvy přiléhající k cévnatce. Histologicky lze v sítnici popsat deset vrstev, zevně je pak uložena cévnatka. Fotoreceptory převádějí světelné signály na signály elektrochemické, které pak putují ke zpracování do mozku. Fotoreceptory dělíme na tyčinky a čípky. Tyčinky nevnímají barvy, ale jsou velmi citlivé na světlo. Tři druhy čípků mají za úkol vnímat tři základní barvy a podílejí se na vzniku ostrého barevného obrazu. Uprostřed sítnice je umístěna makula, žlutá skvrna, která je místem nejostřejšího vidění (Obr. 1). V centru jsou uloženy čípky, jejich hustota pak do periferie výrazně klesá. Naopak nejvyšší hustota tyčinek je 5–6 mm od centra sítnice a do periferie pak jejich hustota klesá jen pozvolna.



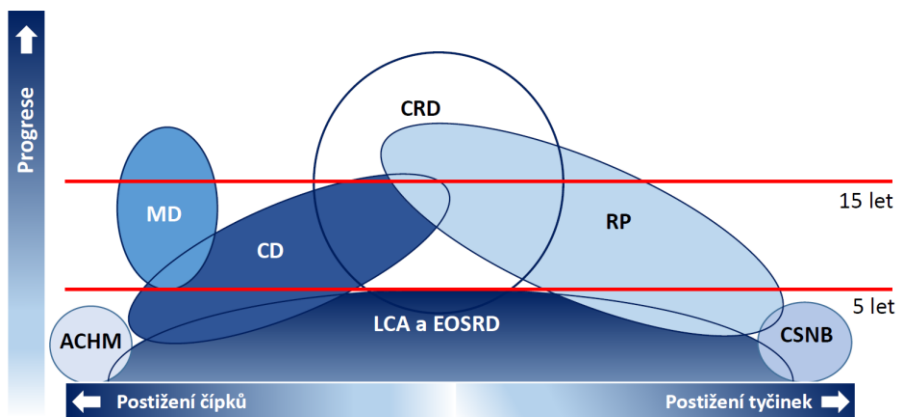
Obr. 1. Vlevo klinická a anatomická terminologie sítnice. Převzato z Heissigerová J. et al. (2018). Vpravo barevná fotografie normální sítnice pravého oka.

Retinální pigmentový epitel (RPE) má zásadní úlohu ve výživě a zpracování odpadních látek fotoreceptorů, fagocytóze jejich použitých a odloučených zevních částí, znovuvyužití zrakového pigmentu a zabraňuje zpětnému odrazu světla. Při degeneraci pigmentových buněk dochází sekundárně k narušení funkcí a snížení počtu životaschopných fotoreceptorů.

U dědičných onemocnění sítnice mohou být postiženy všechny z výše uvedených vrstev a podle počátečního místa vzniku poruchy se pak vyvíjí klinický a funkční nález. Změny se projeví zhoršením zrakových funkcí, které

je výsledkem poruchy metabolismu vysoce citlivých fotoreceptorů sítnice a strukturálních změn zejména zadního pólu oka.

Spektrum chorob sítnice je nebývale široké, popsáno bylo více než 120 klinických jednotek, přičemž nejčastější je retinitis pigmentosa, nejzávažnější pak Leberova kongenitální amauroza (Obr. 2). V disertační práci předkládáme seznam nemocí sítnice, se kterými se v naší klinické praxi setkáváme nejčastěji, a jsou také předmětem našeho výzkumu. Uvádíme jejich epidemiologii, klinické projevy, etiopatogenezi, molekulárně genetickou příčinu a dokumentujeme obrázky. U zkoumaných jednotek uvádíme jejich číslo v databázi OMIM, která je průběžně aktualizovaným katalogem lidských genů a geneticky podmíněných onemocnění.



Obr. 2. Klinické jednotky dědičných onemocnění sítnice a souvislost nástupu příznaků a degenerace buněk (CRD – dystrofie čípků a tyčinek, CSNB – kongenitální stacionární noční slepota, ACHM – achromatopsie, LCA – Leberova kongenitální amauroza, EOSRD – závažné dystrofie sítnice s časnou manifestací, MD – makulární dystrofie, RP – retinitis pigmentosa). Upraveno podle den Hollander AI. et al. (2010).

V řadě vyspělých států, jako např. ve Velké Británii, USA či Německu, představuje genetické testování očních chorob běžnou součást vyšetřovacího procesu. Vzhledem k tomu, že mnoho z těchto testů je poměrně nákladných a dopady výsledků je třeba s postiženými jedinci a jejich rodinami citlivě a důkladně prodiskutovat, jsou pacienti většinou odesíláni do specializovaných očních genetických center, kde pracuje oftalmolog

s odbornými znalostmi na poli genetiky nebo úzce spolupracující oftalmolog a genetik.

Genetické testování onemocnění sítnice prodělalo v průběhu posledního desetiletí značný vývoj od cíleného screeningu vybraných genů Sangerovým sekvenováním, přes použití genotypovacího mikročipu (Jaakson K. et al., 2003; Henderson RH. et al., 2007; van Huet RA. et al., 2015) až po masivní paralelní sekvenování, které již představuje v současné době standard. Vyšetřovány jsou buď vybrané sady genů, např. panel genů účastnících se vzniku sítnicových onemocnění, nebo kódující úseky všech genů, tzv. exomové sekvenování (Stone EM. et al., 2012; Lee K., Couser NL., 2016). U pacientů s negativním výsledkem lze zvážit testování variability počtu kopií segmentu deoxyribonukleové kyseliny (DNA) (Zampaglione E. et al., 2020). Na výzkumné úrovni se dále provádí genomové sekvenování, které je v některých zemích zaváděno i do běžné oftalmologické praxe (Black GC. et al., 2020).

Genetické testování s sebou však nese i specifická úskalí, onemocnění sítnice nevyjímaje. Přestože se rizika mohou jevit ve srovnání s jinými invazivními metodami jako velmi malá, výsledky vyšetření mohou například ovlivnit rozhodnutí mít děti, vyvolat pocity úzkosti nebo viny či narušit vztahy s ostatními členy rodiny. Z těchto důvodů je nutné, aby jedincům, kteří genetické testování podstoupí, bylo poskytnuto odborné poradenství (Marteau TM., Croyle RT., 1998).

2. HLAVNÍ CÍLE PRÁCE

Hlavním předmětem postgraduálního studia a disertační práce bylo:

- identifikovat a klinicky charakterizovat české pacienty se závažnými monogenně dědičnými onemocněními sítnice,
- zkoumat molekulárně genetickou příčinu jejich onemocnění,
- vytvořit a kontinuálně aktualizovat seznam pacientů a všech jejich relevantních dat,
- propojit poznatky o fenotypu se znalostmi o příčině na molekulárně genetické úrovni,
- zlepšit klinické a genetické poradenství pacientům a jejich rodinám,
- implementovat preventivní a léčebná opatření do klinické praxe,
- vytvořit vlastní internetovou doménu s edukačním obsahem,
- zvýšit informovanost o geneticky podmíněných degenerativních onemocněních sítnice mezi odborníky i laickou veřejností.

3. MATERIÁL A METODIKA

Výzkum byl proveden v souladu s Helsinskou deklarací Světové lékařské asociace o etických zásadách pro lékařský výzkum zahrnující lidské bytosti.

Vhodní pacienti s geneticky podmíněnými onemocněními sítnice byli zpočátku vyhledáváni v záznamech Oční kliniky 1. LF UK a VFN v Praze za období 2004–2014. Poté byly vypracovány webové stránky, první svého druhu v českém jazyce, informující pacienty a odbornou zdravotnickou veřejnost o dědičných onemocněních oka, možnostech jejich léčby a preventivních opatřeních. Dále byly rozeslány dotazy obvodním oftalmologům s cílem zjistit výskyt vzácných onemocnění sítnice v České republice, s informacemi o nově zřízených webových stránkách a se žádostí o předání informací pacientům. V rámci dalšího vzdělávání odborné i laické veřejnosti probíhaly edukativní pohovory a přednášky. Průběžně byla sbírána data z předcházejících očních a celkových vyšetření i z dosud provedených vyšetření genetických.

U pacientů a rodinných příslušníků jsme provedli komplexní oftalmologické vyšetření zahrnující stanovení nejlepší korigované zrakové ostrosti, kontrastní citlivosti, barvocitu, hodnocení zorného pole, fotografickou dokumentaci fundu včetně vyšetření autofluorescence, optickou koherenční tomografii se spektrální doménou (SD-OCT) a OCT angiografii. V případě potřeby bylo doplněno elektrofyzilogické hodnocení. Rozsah cíleného klinického vyšetření závisel na aktuálním zdravotním stavu postižených jedinců a příslušníků jejich rodin. Konkrétní metodika je uvedena v jednotlivých publikacích.

Po genealogickém rozboru byla provedena molekulárně genetická analýza. Pacientům a jejich rodinným příslušníkům byly odebírány vzorky biologického materiálu na izolaci DNA. K identifikaci mutací jsme použili různé postupy na základě předpokládaného vztahu mezi fenotypem a genotypem. Po amplifikaci DNA polymerázovou řetězovou reakcí (PCR) byly vzorky dále analyzovány, zpočátku v Laboratoři biologie a patologie oka, později po restrukturalizaci pracoviště a změně názvu v Laboratoři pro studium vzácných nemocí 1. LF UK nebo ve spolupráci se zahraničními pracovišti.

U onemocnění podmíněných jedním genem, při respektování nejlepšího poměru ceny a výkonu metody, probíhal screening často konvenčním Sangerovým sekvenováním, stejná metoda byla použita k ověření přítomnosti zvažované patogenní varianty detekované jinou metodou a pro cílený screening u příbuzných prvního stupně. U onemocnění způsobených mutacemi v mnoha genech nebo v genech extrémně dlouhých jsme využívali sekvenování nové generace (také známé jako masivní paralelní sekvenování mnoha fragmentů DNA), tedy panel genů nebo exomové sekvenování, které jsme pro ekonomickou výhodnost odesílali do velkých servisních laboratoří, které generovaly tzv. „raw data“. Na našem pracovišti pak probíhalo jejich zpracování v podobě anotace DNA variant a komplexní bioinformatické vyhodnocení jejich vlivu, popřípadě i funkční průkazy jejich patogenity, vždy ve vztahu ke klinickému nálezu.

Konkrétně při bioinformatickém zpracování jsme po mapování všech získaných sekvencí o délce 100 párů bází na referenční genom GRCh37 (hg19) získaná data vizualizovali. Následovaly kroky k nalezení všech variant mapované DNA, určení typu mutace, ve které oblasti se nachází a pravděpodobnosti, že nejde o chybu. Poté jsme prováděli hodnocení detekovaných variant na základě prohledání a srovnání jejich frekvencí ve veřejně dostupných referenčních databázích.

Sekvenční varianty s nízkou populační frekvencí ($< 0,005$) byly dále analyzovány pomocí různých softwarových nástrojů. Tyto predikční programy se používají k předpovědi efektu „missense“ mutací, kdy po zadání referenční sekvence a aminokyselinové záměny vyhodnotí patogenitu varianty. Každý pracuje s jiným algoritmem a s určitou mírou spolehlivosti. Následně jsme vliv na sestřih posuzovali vybranými algoritmy a sledovali segregaci varianty a s ní spojeného onemocnění ve vyšetřované rodině.

Nomenklatura popisu variant vycházela z doporučení Společnosti pro variace v lidském genomu, s uvedením referenční sekvence nebo pozice varianty v konkrétní verzi lidského genomu (den Dunnen JT. et al., 2016).

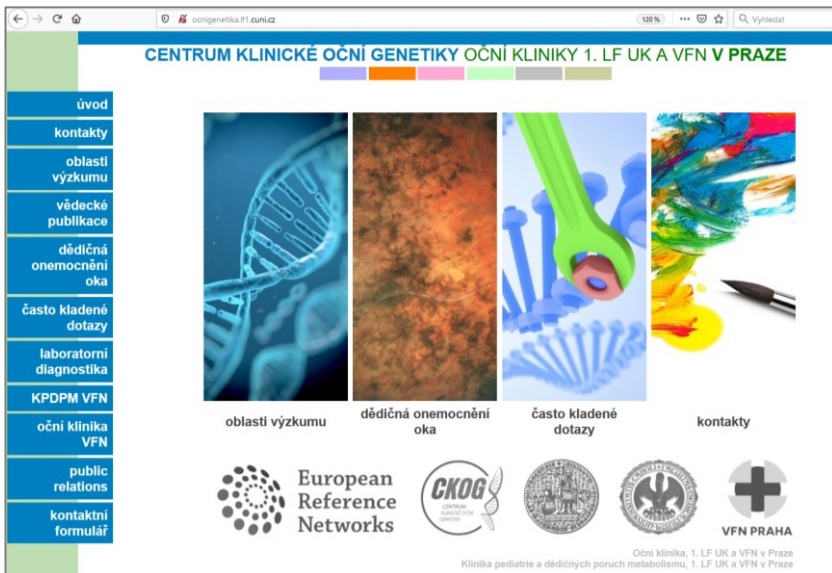
4. VÝSLEDKY

V rámci postgraduálního studia jsme vyhledali, vyšetřili a izolovali DNA od více než 800 pacientů a jejich rodinných příslušníků. Ve formě publikačních výstupů jsme provedli klinickou charakterizaci a identifikaci molekulárně genetické příčiny u 103 jedinců ze 76 rodin s různými dědičnými dystrofiemi sítnice.

Při prosazování oční genetiky jako samostatného podoboru v oftalmologii jsme v roce 2014 založili a průběžně rozšiřovali činnost Centra klinické oční genetiky 1. LF UK a VFN v Praze, které dispensarizuje pacienty s monogenně dědičnými onemocněními oka a při hledání molekulárně genetické příčiny jejich onemocnění úzce spolupracuje s Laboratoří pro studium vzácných nemocí 1. LF UK (skupina doc. Petry Liškové). Od roku 2018 také centrum spolupracuje se společností Laboratoře AGEL, která jako první v ČR zavedla diagnostický panel genů podílejících se na vzniku monogenně podmíněných onemocnění oka.

Účastníme se práce v Evropské referenční síti pro vzácná onemocnění oka (ERN-EYE), která v současné době sdružuje 29 poskytovatelů zdravotnické péče ze 13 evropských zemí. Z České republiky se do ERN-EYE zapojila především díky činnosti námi založeného Centra klinické oční genetiky pouze Oční klinika 1. LF UK a VFN v Praze. Hlavním záměrem je podpora vysoce kvalitní, komplexní a nákladově efektivní zdravotní péče pro pacienty se vzácnými chorobami prostřednictvím úzké spolupráce specializovaných zdravotnických zařízení v rámci celé Evropské unie. Od projektu ERN-EYE je očekáván vývoj nových modelů péče a nástrojů elektronického zdravotnictví.

Provozujeme a průběžně aktualizujeme vlastní internetovou doménu <https://ocnigenetika.lf1.cuni.cz/> s edukačním obsahem o dědičných onemocněních oka včetně výčtu možností preimplantační diagnostiky, o kontroverzní preventivní suplementaci vysokými dávkami vitamínu A a s nastíněním budoucích terapií. Webové stránky jsme také sami graficky navrhli, naprogramovali a realizovali (Obr. 3).



Obr. 3. Internetová doména <https://ocnigenetika.lf1.cuni.cz/>.

4.1 Nesyndromová retinitis pigmentosa

Příloha 1. Klinické nálezy u členů české rodiny s retinitis pigmentosa podmíněnou mutací v ORF15 genu *RPGR*

Příloha 2. Severe retinal degeneration in women with a c.2543del mutation in ORF15 of the *RPGR* gene

V literatuře se nám podařilo u pacientů českého původu zdokumentovat molekulárně genetickou příčinu onemocnění u dvou rodin s X-vázanou formou retinitis pigmentosa.

V jedné velké rodině jsme identifikovali patogenní mutaci c.2426_2427del; p.(Glu809Glyfs*25) v exonu ORF15 genu *RPGR*. Analyzovali jsme klinické záznamy za období 13 let a podrobně jsme vyšetřili dva postižené bratrance ve věku 22 let, tři přenašečky a jednu ženu, u které nebyla mutace zjištěna. (Příloha 1).

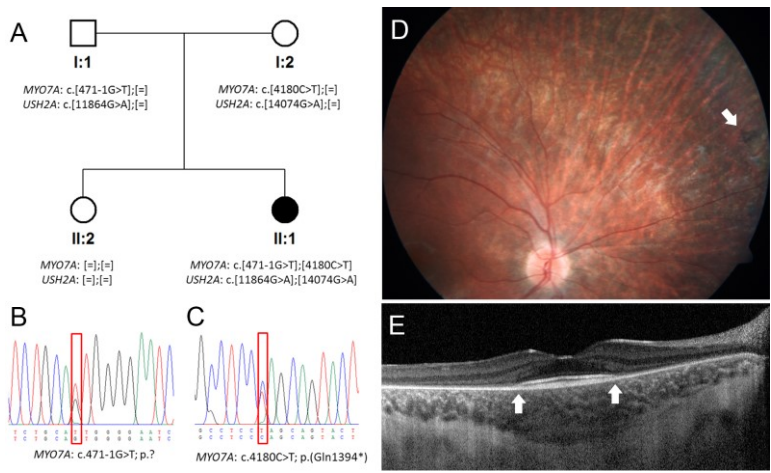
Dále jsme popsali fenotyp a provedli molekulárně genetickou analýzu u 18 členů (9 žen a 9 mužů) pětigenerační rodiny s retinitis pigmentosa. Vzhledem k závažnému postižení žen i mužů v po sobě jdoucích generacích

byl zprvu považován za nejpravděpodobnější autozomálně dominantní typ přenosu. Nicméně tato hypotéza byla nakonec na základě studia literatury přehodnocena a provedeno bylo přímé sekvenování exonu ORF15 genu *RPGR*, kterým byla detekována patogenní varianta c.2543del; p.(Glu848Glyfs*241). Potvrdili jsme, že na rozdíl od typického mírného klinického nálezu může mutace c.2543del vést u přenašeček k úplné slepotě (Příloha 2).

4.2 Usherův syndrom

Příloha 3. SD-OCT imaging as a valuable tool to support molecular genetic diagnostics of Usher syndrome type 1

V rámci detailní klinické charakterizace a hledání molekulárně genetické příčiny Usherova syndromu jsme identifikovali 5 pacientů s Usherovým syndromem typu I (Kousal B. et al., 2017). Na případu 4,75leté probandky jsme poukázali, že SD-OCT je zvláště u dětí, které ještě nemohou podstoupit vyšetření zorného pole, užitečným nástrojem k posuzování vlivu zjištěných mutací na fenotypové projevy a může nejenom potvrdit diagnózu, ale sloužit i k monitoraci progresu onemocnění. U této pacientky s kongenitální hluchotou a poruchou rovnováhy jsme konkrétně našli v pozici trans varianty ve dvou různých genech odpovědných za vznik Usherova syndromu: c.471-1G>T; p.(?) a c.4180C>T; p.(Gln1394*) v genu pro *MYO7A* spojovaný s výskytem Usherova syndromu typu I a c.11864G>A; p.(Trp3955*) a c.14074G>A; p.(Gly4692Arg) v *USH2A* spojovaný s výskytem Usherova syndromu typu II (Obr. 4A–C). Zatímco tři byly vyhodnoceny jako patogenní, u varianty c.14074G>A v *USH2A* byly údaje v literatuře a databázích kontroverzní. I přes téměř normální nález na očním pozadí (Obr. 4D), bez typických shluků pigmentu, jsme pomocí SD-OCT zjistili jasně prokazatelný úbytek fotoreceptorů v oblasti makuly (Obr. 4E), což spolu s poruchou rovnováhy a těžkou kongenitální hluchotou, vyžadující kochlární implantáty, potvrdilo diagnózu Usherova syndromu typu I.



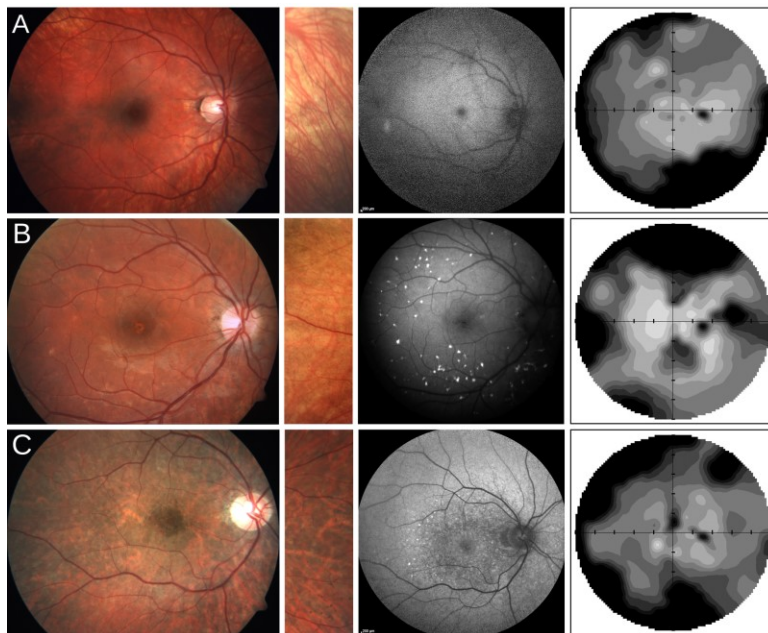
Obr. 4. Segregace vzácných variant identifikovaných v genech asociovaných s Usherovým syndromem ve studované rodině a oční nález u 4,75letého dítěte s Usherovým syndromem typu I. Rodokmen rodiny (A), sekvenční chromatogramy nových mutací spojených s Usherovým syndromem typu I c.471-1G>T (B) a c.4180C>T (C) v *MYO7A*. Barevná fotografie fundu pravého oka ukazuje jeden shluk pigmentu (označen šipkou) a zrnění retinálního pigmentového epitelu ve střední periférii sítnice (D). SD-OCT zobrazuje ztenčení sítnice a cévnatky, šipky vymezují oblast neporušených fotoreceptorů (E).

4.3 Danonova choroba

Příloha 4. Pigmentary retinopathy can indicate the presence of pathogenic *LAMP2* variants even in somatic mosaic carriers with no additional signs of Danon disease

Jako další příklad syndromové retinitis pigmentosa jsme popsali oční fenotyp Danonovy choroby u 10 pacientů (3 postižení muži, 7 postižených heterozygotních žen) ze 7 rodin s již dříve publikovanými mutacemi v genu *LAMP2* (Majer F. et al., 2012, 2014, 2018). Kromě toho jsme uvedli také nález u asymptomatické ženy se somatickým mozaicismem na podkladě *de novo* vzniklé mutace v genu *LAMP2*. U všech 10 pacientů s Danonovou nemocí byla přítomna abnormální distribuce pigmentu v sítnici s korespondujícími oblastmi hyper a hypoautofluorescence (Obr. 5). Pomocí SD-OCT jsme našli ložiskové přerušení linie RPE, chybění a změny ve vrstvě fotoreceptorů. Patologický nález na sítnici byl zjištěn u všech žen, avšak v porovnání s muži podobného věku bylo jejich postižení méně závažné.

U asymptomatické ženy se somatickým mozaicismem byl biomikroskopický nález na fundu i vyšetření SD-OCT bilaterálně v normě, nicméně autofluorescence fundu levého oka vykazovala ložiskovou poruchu distribuce.



Obr. 5. Oční fenotyp a statická perimetrie u mužů s Danonovou chorobou. Barevná fotografie očního pozadí (levý sloupec), detail periferie sítnice (levý prostřední sloupec), autofluorescence fundu (pravý prostřední sloupec) a 50° zorného pole (pravý sloupec) pravého oka 17letého (A), 18letého (B) a 35letého (C) pacienta. V nálezech je pigmentová retinopatie přítomna zejména v periférii sítnice, autofluorescence fundu s oblastmi hyper a hypoautofluorescence koresponduje se změnami retinálního pigmentového epitelu a citlivost zorného pole je difúzně snižena.

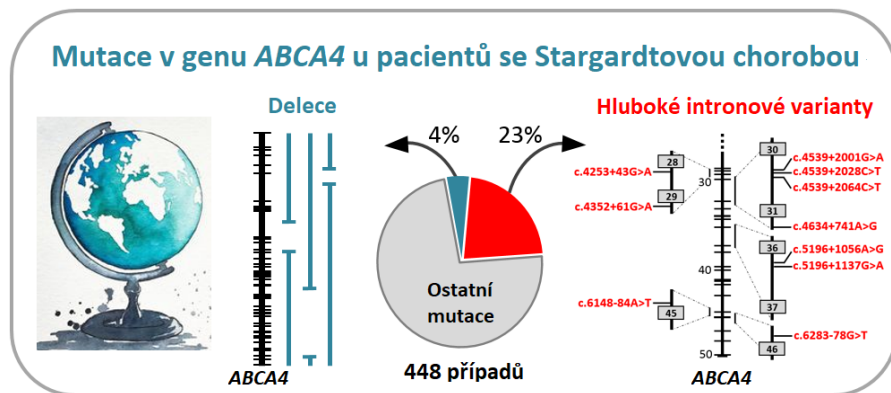
4.4 Stargardtova choroba

Příloha 5. Molekulárně genetická příčina a klinické nálezy u dvou probandů se Stargardtovou chorobou

Příloha 6. Resolving the dark matter of *ABCA4* for 1054 Stargardt disease probands through integrated genomics and transcriptomics

V roce 2014 jsme podali první popis Stargardtovy choroby a její molekulárně genetické příčiny u pacientů českého původu. Klinické vyšetření prokázalo typický nález atrofie makuly s přítomností žlutavých skvrn na očním pozadí. Molekulárně genetickým vyšetřením bylo zjištěno, že první proband je nositelem mutace c.4234C>T; p.(Gln1412*) v exonu 28 a c.5882G>A; p.(Gly1961Glu) v exonu 42 genu *ABCA4*. U druhého probanda byla detekována pouze jedna známá patogenní mutace c.1988G>A; p.(Trp663*) v exonu 14 (Příloha 5).

V mezinárodní studii, které jsme se účastnili spolu s vědci z dalších 20 zemí z celého světa, byly identifikovány doposud neodhalitelné příčinné mutace v genu *ABCA4* u 448 jedinců se Stargardtovou chorobou, z toho 56 probandů bylo vyšetřeno v rámci našeho Centra klinické oční genetiky. Použita byla nákladově efektivní metoda založená na sekvenování celého genu *ABCA4* sestávajícího ze 128 313 párů bází pomocí molekulárních inverzních sond. Nalezeno bylo kromě mutací v kódujících úsecích i 105 kauzálních mutací, které se nacházejí v intronech genu *ABCA4*, což vedlo k narušení sestřihu mRNA a vzniku nefunkčního proteinu ABCA4. Celkově byly tyto doposud neodhalitelné mutace nalezeny u 27 % ze 448 případů, což ukazuje na jejich vysoký podíl u Stargardtovy choroby (Obr. 6). Do souboru byl zavzat i proband 2 publikovaný v roce 2014, a byl tak dořešen nálezem druhé patogenní mutace c.3377T>C; p.(Leu1126Pro) v pozici trans (Příloha 6).



Obr. 6. Identifikace doposud neodhalitelných příčinných mutací v genu *ABCA4* u 448 jedinců se Stargardtovou chorobou pomocí metod genomiky a transkriptomiky.

4.5 Závažné dystrofie sítnice s časnou manifestací

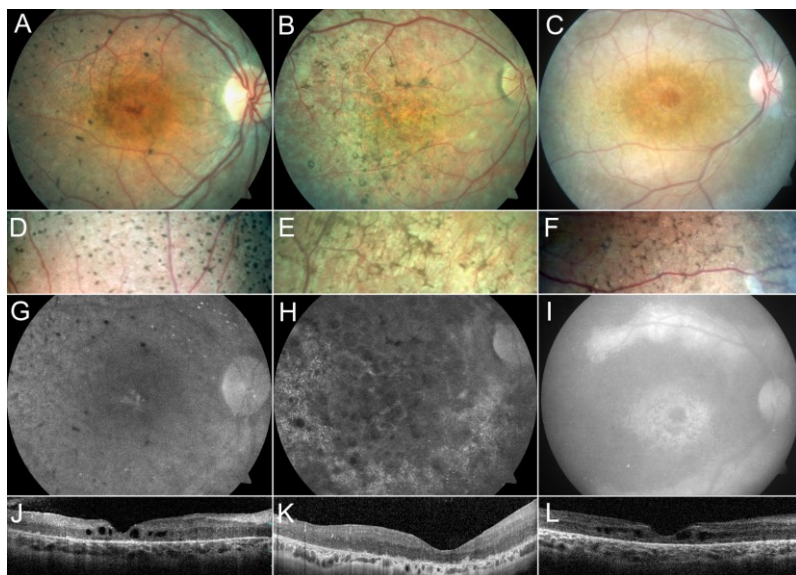
Příloha 7. Phenotypic features of *CRBI*-associated early-onset severe retinal dystrophy and the different molecular approaches to identifying the disease-causing variants

Příloha 8. Review of *SRD5A3* disease-causing sequence variants and ocular findings in steroid 5 α -reductase type 3 congenital disorder of glycosylation, and a detailed new case

Náš výzkum rozšířil spektrum patogenních mutací v genu *CRBI* asociovaných se závažnými dystrofiemi sítnice s časnou manifestací a zdůraznil význam detailního klinického popisu pro interpretaci genetických dat. Průměrný věk dětských pacientů v době vyšetření byl 6,8 let (rozpětí 5,5–8,5 let).

Identifikovali jsme tři pacientky českého původu s mutacemi v genu *CRBI*. Známky onemocnění byly u všech tří probandek poprvé popsány před 7 rokem věku. U dvou probandek byly ve věku 6 a 7 let zjištěny numulární shluky pigmentu v periférii sítnice (Obr. 7A, C, D, F) a pomocí SD-OCT cystoidní prázdné prostory v makulách obou očí (Obr. 7J, L). U třetí probandky byly ve věku 28 let dokumentovány shluky pigmentu tvaru kostních buněk (Obr. 7B, E), zvýšení tloušťky vrstvy nervových vláken a ztluštění sítnice okolo fovey (Obr. 7K). U všech tří jedinců byla detekována příčinná mutace c.2843G>A; p.(Cys948Tyr) v genu *CRBI*. U jedné probandky byla tato mutace v homozygotní konstituci. U dalších dvou probandek byly nalezeny ještě nové mutace c.2308G>A; p.(Gly770Ser) a c.3121A>G; p.(Met1041Val) v heterozygotním stavu. K detekci variant způsobujících onemocnění jsme použili tři různé přístupy zahrnující exomové sekvenování, genotypovací mikročip a metodu přímého sekvenování kandidátního genu (Příloha 7).

U 12leté dívky jsme poukázali na výskyt závažné dystrofie sítnice s časnou manifestací u dědičné poruchy glykosylace typu Iq zapříčiněné novou homozygotní mutací c.436G>A; p.(Glu146Lys) v genu *SRD5A3* (*SRD5A3*-CDG). Souhrnem očních nálezů všech dosud popsaných pacientů v literatuře jsme konstatovali, že dystrofie sítnice je u tohoto onemocnění zřejmě konstantním znakem. U námi vyšetřené probandky byly bilaterálně nalezeny drúzy papil zrakových nervů, které nebyly u tohoto syndromu dříve pozorovány (Příloha 8).



Obr. 7. Závažná dystrofie sítnice s časnou manifestací u tří probandek s mutací v genu *CRB1*. Numulární shluky pigmentu u probandky 1 ve věku 6 let (A), numulární pigmentace a shluky pigmentu tvaru kostních buněk u probandky 2 ve věku 28 let (B) a změny retinálního pigmentového epitelu u probandky 3 ve věku 7 let (C). Detail pigmentových depozit v periférii sítnice u probandky 1 (D), 2 (E) a 3 (F). Snížení intenzity autofluorescence fundu u všech tří jedinců, s izolovanými hyperautofluorescentními tečkami ve střední periférii u probandky 1 (G), nepravidelnou skvrnitou autofluorescencí z důvodu změn retinálního pigmentového epitelu u probandky 2 (H) a relativně zachovaným retinálním pigmentovým epitelem podél cévních arkád a v makule u probandky 3 (I). SD-OCT dokumentovala intraretinální cystoidní prostory, ztlustění sítnice okolo fovey a ztrátu stratifikace sítnice u probandky 1 (J), ztrátu stratifikace vnější vrstvy sítnice u probandky 2 (K) a intraretinální cystoidní prostory u probandky 3 (L).

4.6 Achromatopsie

Příloha 9. Molekulárně genetická příčina achromatopsie u dvou pacientů českého původu

Poprvé jsme u dvou pacientů českého původu s klinickou diagnózou či podezřením na achromatopsii provedli detekci kauzálních mutací. Bylo zjištěno, že proband 1 je nositelem složené heterozygotní mutace c.819_826del; p.(Arg274Valfs*13) a c.1006G>T; p.(Glu336*) v genu *CNGB3* a proband 2 je homozygotem pro mutaci c.1148del; p.(Thr383Ilefs*13) opět v genu *CNGB3*, ve kterém se u pacientů evropského původu nejčastěji nacházejí mutace asociované se vznikem achromatopsie.

5. DISKUZE

Geneticky podmíněná onemocnění sítnice jsou vysoce heterogenní skupinou chorob, jejichž přesná diagnostika je i přes zdokonalující se zobrazovací techniky obtížná. Možnost stanovení diagnózy na úrovni genu a klinické testování nových cílených terapií u dědičných dystrofií sítnice umožnily vznik geneticky zaměřené klinické péče v oftalmologii. V České republice ani v dalších zemích střední a východní Evropy nebyla tato onemocnění dosud předmětem systematického výzkumu. Počet pacientů, spektrum jejich klinického postižení ani molekulárně genetické příčiny nebyly tedy známy. Neexistovala žádná doporučení pro odborné lékaře ani srozumitelné informace pro pacienty v českém jazyce.

Založením Centra klinické oční genetiky 1. LF UK a VFN v Praze byla v roce 2014 vyplněna v České republice odborně dosud nepokrytá oblast a vzácná geneticky podmíněná onemocnění oka začala být předmětem systematického sledování. Centrum splňuje velmi náročná kritéria péče, což bylo jedním z důvodů zařazení Oční kliniky 1. LF UK a VFN v Praze v roce 2016 do ERN-EYE. Postupně bylo u řady pacientů provedeno genetické testování, zpočátku pouze na výzkumné bázi, v roce 2017 byl sestaven panel známých genů způsobujících onemocnění oka a nastaveny podmínky úhrady zdravotními pojišťovnami. Tím se významně zvýšila výtěžnost genetického testování a Česká republika se v oblasti oční genetiky zařadila do skupiny vyspělých států, které považují diagnostiku na úrovni genů za součást standardního vyšetřovacího postupu.

5.1 Prohloubení poznatků o fenotypu a korelace s genotypem

Naše studie dokumentovala intrafamiliární fenotypovou variabilitu u stejně starých pacientů s retinitis pigmentosa vzniklé na podkladě mutací v genu *RPGR*. Přítomnost střední nebo těžké myopie kombinované s astigmatismem u mužů s retinitis pigmentosa, stejně jako refrakční vady u příbuzných žen, mohou být asociovány s X vázanou dědičností (Kousal B. et al., 2013). Současně naše nálezy poukázaly na variabilitu projevů u přenašeček, které mohou být postiženy stejně závažně jako muži (Kousal B. et al., 2014).

Připomněli jsme, že správné vyhodnocení klinických známek často asociovaných s nesyndromovou retinitis pigmentosa vázanou na chromozom X a vyhodnocení rodokmenu při absenci přenosu z muže na muže napomáhá snížit procento záměny s autozomálně dominantním typem dědičnosti (Kousal B. et al., 2013, 2014).

U 4,75leté pacientky s podezřením na Usherův syndrom, nicméně zatím bez typických shluků pigmentu na sítnici, jsme poukázali na užitečnost vyšetření pomocí SD-OCT. Na rozdíl od vyšetření zorného pole, které je u malých dětí buď zcela neproveditelné nebo krajně nespolehlivé, poskytuje SD-OCT objektivní nález (Kremlíkova Pourova R. et al., 2018).

Provedli jsme popis očního nálezu u dosud největší publikované kohorty pacientů trpících Danonovou chorobou a zdůraznili užitečnost podrobného oftalmologického vyšetření a zobrazovacích metod při identifikaci přenašečů variant genu *LAMP2*, včetně jedinců se somatickým mozaicismem. Prokázali jsme, že pigmentová retinopatie spojená s Danonovou chorobou je snadno rozpoznatelná při zobrazení autofluorescence fundu u všech postižených jedinců, stejně tak byly detekovatelné změny pomocí SD-OCT s vysokým rozlišením i při normálním nálezu na očním pozadí. Nově jsme popsali fokálně zvýšené signály ve vnější jaderné vrstvě, která histologicky odpovídá jádrům fotoreceptorů. U asymptomatické přenašečky Danonovy choroby se somatickým mozaicismem jsme detekovali drobné abnormality sítnice při vyšetření autofluorescence sítnice a konstatovali, že tato metoda je jednoduchá a rychlá při vyhledávání potenciálních nositelů patogenních variant v genu *LAMP2* (Kousal B. et al., 2020).

Poprvé jsme u českých pacientů popsali mutace zodpovědné za vznik Stargardtovy choroby (Kousal B. et al., 2014). Nemožnost nalézt jednu nebo obě patogenní sekvenční varianty byla u této choroby za použití dosud aplikovaných metod donedávna častým jevem (Khan M. et al., 2020). Revoluční přístup představuje použití molekulárních inverzních sond (Khan M. et al., 2019). Prostřednictvím rozsáhlé mezinárodní spolupráce jsme se podíleli na detekci dosud neodhalitelných mutací v genu *ABCA4* využívající tuto novou metodu. Proveden byl screening jak kódujících, tak i nekódujících částí tohoto genu. Detekována byla řada hlubokých intronových mutací, které narušují splicing genu *ABCA4* (Khan M. et al., 2020).

U českých pacientů se závažnou retinální dystrofií s časnou manifestací jsme identifikovali mutace v genu *CRB1* (Kousal B. et al., 2016). K určení molekulární příčiny choroby se z hlediska rychlosti a nákladové efektivity ukázalo být nejprínosnější exomové sekvenování. Upozornili jsme na změny uspořádání vrstev sítnice a zvětšení tloušťky vrstvy nervových vláken sítnice, které nebylo pozorováno u jiných genů způsobujících závažnou dystrofií sítnice s časnou manifestací, a proto považujeme za nezbytné zařadit její měření mezi první kroky diagnostického postupu u všech pacientů se závažnou retinální dystrofií s časnou manifestací (Kousal B. et al., 2016).

Detailně jsme popsali oční nález u pacientky s SRD5A3-CDG na podkladě nové homozygotní mutace v genu *SRD5A3* a podali tak další důkaz, že dystrofií sítnice lze považovat za jeden ze znaků tohoto onemocnění (Kousal B. et al., 2019). Z důvodu obtížné spolupráce často nebývá oční vyšetření komplexní (Kahrizi K. et al., 2009; Wheeler PG. et al., 2016), cenné informace tak přináší vyšetření SD-OCT a autofluorescence fundu (Taylor RL. et al., 2017; Khan AO., 2018; Kousal B. et al., 2019). Současně jsme jako první u syndromu SRD5A3-CDG informovali o nálezů drúz zrakového nervu, který dosud nebyl pozorován (Kousal B. et al., 2019).

Detekce kauzálních mutací u achromatopsie byla u pacientů českého původu také provedena poprvé. Screeningem nejčastějších patogenních variant nalezených již dříve u pacientů z jiných evropských zemí jsme našli obě patogenní varianty pouze u dvou probandů z 11 vyšetřených (18 %), což oproti očekávaným 42 % (Mayer AK. et al., 2017) naznačuje, že u českých pacientů je spektrum a frekvence kauzálních mutací jiné (Hlavatá L. et al., 2019).

5.2 Přínosy molekulárně genetického vyšetření onemocnění sítnice z preventivního hlediska

Genetické testování má pro řadu pacientů s dědičným onemocněním sítnice pozitivní přínos. Při správném provedení a interpretaci napomáhá ke zpřesnění či potvrzení diagnózy, určení typu dědičnosti, k lepšímu odhadu

prognózy vývoje onemocnění či stanovení léčebného plánu (Lišková P., Kousal B., 2015).

Získané poznatky jsou aktivně využívány v klinickém a genetickém poradenství v rámci primární a sekundární genetické prevence, vhodní pacienti mohou již nyní podstoupit např. preimplantační diagnostiku. V budoucnosti bude pravděpodobně možné indikovat řadu pacientů i k cíleným terapiím (např. genové) ještě předtím, než dojde k nevratnému poškození sítnice.

5.2.1 Časná diagnóza

Mezi velké přínosy identifikace patogenních mutací u pacientů s geneticky podmíněnými chorobami oka patří časně stanovení diagnózy, a tím i zkrácení často náročného diagnostického procesu spolu s redukcí nákladů (Kumaran N. et al., 2017).

Zvláště u závažných onemocnění sítnice u dětí mohou být oční projevy první známkou syndromového onemocnění, jehož průběh lze někdy ovlivnit pomocí preventivních opatření. V případech, že progresi onemocnění není možno ovlivnit, lze alespoň pacienta ušetřit dalšího zbytečného zdlouhavého vyšetřovacího procesu a koncentrací péče do center, která mají s těmito vzácnými chorobami zkušenosti, podávat podpůrnou léčbu, včetně psychoterapie (Kohlschütter A. et al., 2019).

U dětských pacientů s Usherovým syndromem, kteří nemají ještě patrné známky onemocnění sítnice, je časná diagnostika na úrovni genu důvodem proč zavádět bilaterálně kochleární implantáty, neboť po ztrátě zraku jsou odkázáni na sluchové vjemy a nemohou znakovat (Jatana KR. et al., 2013)

5.2.2 Upřesnění přenosu onemocnění v rodině a jeho ovlivnění

Genetické testování vede k identifikaci členů rodiny rizikových pro vznik určitého onemocnění a může snížit opakovaný výskyt nemoci v rodinách (Kousal B. et al., 2014; Ďuďáková L. et al., 2016). Postižení jedinci mají možnost vyhledat prekoncepční poradenství, jehož cílem jako nástroje

primární prevence je snížit riziko narození postiženého potomka ještě před plánovanou graviditou.

Genetické testování může být obzvláště důležité u jedinců, kteří nemají v širokém příbuzenstvu žádného dalšího stejně postiženého rodinného příslušníka. Je třeba totiž vyvrátit často tradovaný mýtus, že riziko přenosu na další generace je v tomto případě žádné či minimální. I když jde o tzv. sporadický výskyt, pacient může být nositelem *de novo* mutace pro autozomálně dominantní onemocnění a riziko přenosu nemoci na potomstvo je potom 50%.

Pokud se však podaří určit příčinu onemocnění na úrovni genu, lze riziko přenosu nemoci na další generace upřesnit. Je-li vysoké, tj. minimálně 25% u autozomálně recesivních onemocnění, a samotné onemocnění je z hlediska prognózy postižení zraku a časného vzniku obzvláště závažné, lze uvažovat i o podstoupení prenatalní či dnes častěji preimplantační genetické diagnostiky (Hlavatá L. et al., 2016).

5.2.3 Cílené terapie

Kombinace klinických a laboratorních poznatků nám umožňuje vytipovat pacienty pro genové a jiné cílené terapie (Lišková P., Kousal B., 2015). Oko je totiž vzhledem ke snadné dostupnosti, malým rozměrům, imunologickému privilegiu, kompartmentalizaci a možnosti kontralaterální kontroly ideálním cílovým orgánem pro klinické hodnocení nových terapií (Ďudřáková L. et al., 2016; Straňák Z. et al., 2019).

Až na pacienty nesoucí bialelické mutace v genu *RPE65* způsobující přibližně 5 % závažných dystrofií sítnice u dětí (Kumaran N. et al., 2017), pro které byla již genová terapie schválena (Maguire AM., et al., 2019; Ciulla TA., et al., 2020), není účinná léčba pro dědičná onemocnění sítnice zatím k dispozici.

Nové léčebné metody jsou však intenzivně vyvíjeny. Podle mechanismu účinku lze zkoušené terapie dědičných onemocnění sítnice rozdělit do čtyř skupin: zabránění vzniku toxických dimerů vitamínu A (týká se pouze Stargardtovy choroby), genová terapie obnovující funkčnost genu, ochrana buněk sítnice před oxidativním poškozením a náhrada poškozeného RPE a fotoreceptorů pomocí kmenových buněk (Straňák Z. et al., 2019).

Nejblíže mají k zavedení do klinické praxe léčivé přípravky pro genovou terapii, které si kladou za cíl zastavení progresu onemocnění. Základní podmínkou pro zařazení do většiny těchto studií je potvrzení klinické diagnózy na molekulárně genetické úrovni, tedy znalost příčinných mutací (Kousal B. et al., 2016).

V současné době probíhají v zahraničí klinické zkoušky genové terapie u pacientů s bialelickými mutacemi v genech *ABCA4*, *CNGA3*, *CNGB3*, *PDE6B*, *RLBP1*, *MERTK* a *MYO7A* (Garafalo AV. et al., 2019). Antisense oligonukleotidy jsou testovány u pacientů s Leberovou kongenitální amaurozou na podkladě hluboké intronové mutace c.2991+1655A>G v genu *CEP290* (Cideciyan AV. et al., 2019). Předpokládá se, že pokroky na poli výzkumu povedou ke klinickým zkouškám i u řady jiných dědičných onemocnění sítnice, i proto je pro pacienty důležitá znalost molekulárně genetické příčiny jejich onemocnění (Beltran WA. et al., 2017).

Studie zaměřující se na regenerační přístupy, především výzkum kmenových buněk, jsou také nadějně, nicméně jejich začlenění do klinické praxe nelze v brzké době očekávat (Ben M'Barek K., Monville C., 2019).

5.2.4 Společenské uplatnění

U pacientů s dědičnými onemocněními sítnice napomáhá časná diagnóza a určení příčiny na úrovni genu lepšímu odhadu vývoje choroby, u Usherova syndromu pak i k jednoznačné indikaci zavedení kochleárních implantátů v raném dětství. Neméně důležitým faktorem je rovněž přizpůsobení prostředí dítěti s vypracováním specializovaných vzdělávacích plánů nebo integrace do běžných škol, což umožní těmto pacientům vhodné pracovní zařazení a společenské uplatnění.

6. ZÁVĚR

Péče o pacienty s dědičnými onemocněními oka vyžaduje multidisciplinární přístup kombinující oční vyšetření, molekulárně genetickou diagnostiku, genetické poradenství a dlouhodobou péči o pacienty a jejich příbuzné s rizikem vzniku onemocnění. Náš výzkum pomohl objasnit faktory podílející se na etiopatogenezi dědičných onemocnění sítnice u českých pacientů, což je důležité pro časnou diagnostiku, vypracování efektivního screeningového postupu a zlepšení klinického poradenství a preventivní péče.

Projekt realizovaný v rámci postgraduálního studia vedl k monitoraci dědičných dystrofií sítnice v České republice, propojení poznatků o fenotypu se znalostmi o příčině na molekulárně genetické úrovni, zvýšení informovanosti o degenerativních onemocněních sítnice mezi odborníky i laickou veřejností. Dosažen byl přímý socioekonomický přínos díky zlepšení klinického a genetického poradenství pacientům a jejich rodinám zahrnující potvrzení nebo stanovení diagnózy, zpřesnění odhadu vývoje onemocnění, potvrzení nebo stanovení typu dědičnosti či pomoc při plánování rodičovství včetně možnosti podstoupit preimplantační genetickou diagnostiku u vybraných rodin. Znalost patogenních mutací dává postiženým jedincům naději na zapojení do klinických zkoušek testujících nové terapie, v případě nositelů bialelických mutací v genu *RPE65* pak dokonce možnost podstoupit již oficiálně schválenou genovou terapii.

Závěrem lze konstatovat, že lékaři jsou stále více konfrontováni s výsledky genetického testování, oftalmology nevyjímaje. Oční specialisté by měli být schopni rozpoznat případy, u kterých by odeslání do Centra klinické oční genetiky založeného v rámci postgraduálního studia mohlo mít přínos. Genetické testy by měly být v rámci vyšetřovacího procesu rutinně nabízeny zvláště u dědičných onemocnění sítnice, neboť současný výzkum nasvědčuje tomu, že v budoucnosti bude možno řadu dědičných onemocnění oka léčit a základním předpokladem pro tyto nové metody léčby je konkrétní znalost jejich molekulárně genetické příčiny.

LITERATURA

- Beltran WA, Cideciyan AV, Boye SE, Ye GJ, Iwabe S, Dufour VL, Marinho LF, Swider M, Kosyk MS, Sha J, Boye SL, Peterson JJ, Witherspoon CD, Alexander JJ, Ying GS, Shearman MS, Chulay JD, Hauswirth WW, Gamlin PD, Jacobson SG, Aguirre GD. Optimization of retinal gene therapy for X-linked retinitis pigmentosa due to RPGR mutations. *Mol Ther.* 2017; 25(8): 1866–1880.
- Ben M'Barek K, Monville C. Cell Therapy for Retinal Dystrophies: From cell suspension formulation to complex retinal tissue bioengineering. *Stem Cells Int.* 2019; 2019: 4568979.
- Black GC, MacEwen C, Lotery AJ. The integration of genomics into clinical ophthalmic services in the UK. *Eye (Lond).* 2020; 34(6): 993–996.
- Cideciyan AV, Jacobson SG, Drack AV, Ho AC, Charng J, Garafalo AV, Roman AJ, Sumaroka A, Han IC, Hochstedler MD, Pfeifer WL, Sohn EH, Taiel M, Schwartz MR, Biasutto P, Wit W, Cheetham ME, Adamson P, Rodman DM, Platenburg G, Tome MD, Balikova I, Nerinckx F, Zaeytijd J, Van Cauwenbergh C, Leroy BP, Russell SR. Effect of an intravitreal antisense oligonucleotide on vision in Leber congenital amaurosis due to a photoreceptor cilium defect. *Nat Med.* 2019; 25(2): 225–228.
- Ciulla TA, Hussain RM, Berrocal AM, Nagiel A. Voretigene neparvovec-rzyl for treatment of RPE65-mediated inherited retinal diseases: a model for ocular gene therapy development. *Expert Opin Biol Ther.* 2020; 20(6): 565–578.
- den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J, Roux AF, Smith T, Antonarakis SE, Taschner PE. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat.* 2016; 37(6): 564–569.
- den Hollander AI, Black A, Bennett J, Cremers FP. Lighting a candle in the dark: advances in genetics and gene therapy of recessive retinal dystrophies. *J Clin Invest.* 2010; 120(9): 3042–3053.
- Đud'áková L, Kousal B, Kolářová H, Hlavatá L, Lišková P. Genová terapie dědičných onemocnění sítnice a zrakového nervu: současný stav poznání. *Cesk Slov Oftalmol.* 2016; 72(4): 128–136.
- Garafalo AV, Cideciyan AV, Héon E, Sheplock R, Pearson A, WeiYang Yu C, Sumaroka A, Aguirre GD, Jacobson SG. Progress in treating inherited retinal diseases: Early subretinal gene therapy clinical trials and candidates for future initiatives. *Prog Retin Eye Res.* 2019; 77: 100827.
- Heissigerová J. a kol.: *Oftalmologie*. Praha, Maxdorf, 2018, 380 s. ISBN: 978-80-7345-580-4.

- Henderson RH, Waseem N, Searle R, van der Spuy J, Russell-Eggitt I, Bhattacharya SS, Thompson DA, Holder GE, Cheetham ME, Webster AR, Moore AT. An assessment of the apex microarray technology in genotyping patients with Leber congenital amaurosis and early-onset severe retinal dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48(12): 5684–5689.
- Hlavatá L, Ďudřáková L, Moravíková J, Zobanová A, Kousal B, Lišková P. Molekulárně genetická příčina achromatopsie u dvou pacientů českého původu. *Cesk a slov oftalmol.* 2019; 75(5): 272–276.
- Hlavatá L, Ďudřáková L, Trková M, Soldátová I, Skalická P, Kousal B, Lišková P. Preimplantační genetická diagnostika a dědičná onemocnění oka. *Cesk Slov Oftalmol.* 2016; 72(5): 167–171.
- Jaakson K, Zernant J, Külm M, Hutchinson A, Tonisson N, Glavac D, Ravnik-Glavac M, Hawlina M, Meltzer MR, Caruso RC, Testa F, Maugeri A, Hoyng CB, Gouras P, Simonelli F, Lewis RA, Lupski JR, Cremers FP, Allikmets R. Genotyping microarray (gene chip) for the ABCR (ABCA4) gene. *Hum Mutat.* 2003; 22(5): 395–403.
- Jatana KR, Thomas D, Weber L, Mets MB, Silverman JB, Young NM. Usher syndrome: characteristics and outcomes of pediatric cochlear implant recipients. *Otol Neurotol.* 2013; 34(3): 484–489.
- Kahrizi K, Najmabadi H, Kariminejad R, Jamali P, Malekpour M, Garshasbi M, Ropers HH, Kuss AW, Tzschach A. An autosomal recessive syndrome of severe mental retardation, cataract, coloboma and kyphosis maps to the pericentromeric region of chromosome 4. *Eur J Hum Genet.* 2009; 17(1): 125–128.
- Khan AO. Early-onset retinal dystrophy and chronic dermatitis in a girl with an undiagnosed congenital disorder of glycosylation (SRD5A3-CDG). *Ophthalmic Genet.* 2018; 39(5): 628–630.
- Khan M, Cornelis SS, Khan MI, Elmelik D, Manders E, Bakker S, Derks R, Neveling K, van de Vorst M, Gilissen C, Meunier I, Defoort S, Puech B, Devos A, Schulz HL, Stöhr H, Grassmann F, Weber BHF, Dhaenens CM, Cremers FPM. Cost-effective molecular inversion probe-based ABCA4 sequencing reveals deep-intronic variants in Stargardt disease. *Hum Mutat.* 2019; 40(10): 1749–1759.
- Khan M, Cornelis SS, Pozo-Valero MD, Whelan L, Runhart EH, Mishra K, Bults F, AlSwaiti Y, AlTalbish A, De Baere E, Banfi S, Banin E, Bauwens M, Ben-Yosef T, Boon CJF, van den Born LI, Defoort S, Devos A, Dockery A, Dudakova L, Fakin A, Farrar GJ, Sallum JMF, Fujinami K, Gilissen C, Glavač D, Gorin MB, Greenberg J, Hayashi T, Hettinga YM, Hoischen A, Hoyng CB, Hufendiek K, Jäggle H, Kamakari S, Karali M,

- Kellner U, Klaver CCW, Kousal B, Lamey TM, MacDonald IM, Matynia A, McLaren TL, Mena MD, Meunier I, Miller R, Newman H, Ntozini B, Oldak M, Pieterse M, Podhajcer OL, Puech B, Ramesar R, Rütther K, Salameh M, Salles MV, Sharon D, Simonelli F, Spital G, Steehouwer M, Szaflik JP, Thompson JA, Thuillier C, Tracewska AM, van Zweeden M, Vincent AL, Zanlonghi X, Liskova P, Stöhr H, Roach JN, Ayuso C, Roberts L, Weber BHF, Dhaenens CM, Cremers FPM. Resolving the dark matter of ABCA4 for 1054 Stargardt disease probands through integrated genomics and transcriptomics. *Genet Med.* 2020; 22(7): 1235–1246.
- Kohlschütter A, Schulz A, Bartsch U, Storch S. Current and emerging treatment strategies for neuronal ceroid lipofuscinoses. *CNS Drugs.* 2019; 33(4): 315–325.
- Kousal B, Dudakova L, Bujakowska K, Liskova P. Genetic causes of deaf-blindness in sixteen Czech families. *Acta Ophthalmol.* 2017; 95.
- Kousal B, Dudakova L, Gaillyova R, Hejtmankova M, Diblík P, Michaelides M, Liskova P. Phenotypic features of CRB1-associated early-onset severe retinal dystrophy and the different molecular approaches to identifying the disease-causing variants. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2016; 254(9): 1833–1839.
- Kousal B, Duďáková L, Hlavatá L, Lišková P. Klinické zkoušky testující nové terapie pro Stargardtovu chorobu. *Cesk Slov Oftalmol.* 2016; 72(1): 293–297.
- Kousal B, Honzík T, Hansíková H, Ondrušková N, Čechová A, Tesařová M, Stránecký V, Meliška M, Michaelides M, Lišková P. Review of SRD5A3 disease-causing sequence variants and ocular findings in steroid 5 α -reductase type 3 congenital disorder of glycosylation, and a detailed new case. *Folia Biol (Praha).* 2019; 65(3): 134–141.
- Kousal B, Chakarova F, Black GC, Ramsden S, Langrová H, Lišková P. Minimální nález u pacienta s Bestovou chorobou podmíněnou mutací c.653G>A v genu BEST1. *Cesk Slov Oftalmol.* 2011; 67(5–6): 170–174.
- Kousal B, Majer F, Vlaskova H, Dvorakova L, Piheroval L, Meliska M, Langrova H, Palecek T, Kubanek M, Krebsova A, Gurka J, Stara V, Michaelides M, Kalina T, Sikora J, Liskova P: Pigmentary retinopathy can indicate the presence of pathogenic LAMP2 variants even in somatic mosaic carriers with no additional signs of Danon disease. *Acta Ophthalmol.* 2020. doi: 10.1111/aos.14478.
- Kousal B, Skalická P, Diblík P, Kuthan P, Langrová H, Lišková P. Klinické nálezy u členů české rodiny s retinitis pigmentosa podmíněnou mutací v ORF15 genu RPGR. *Cesk Slov Oftalmol.* 2013; 69(1): 8–15.

- Kousal B, Skalicka P, Valesova L, Fletcher T, Hart-Holden N, O'Grady A, Chakarova CF, Michaelides M, Hardcastle AJ, Liskova P. Severe retinal degeneration in women with a c.2543del mutation in ORF15 of the RPGR gene. *Mol Vis*. 2014; 20: 1307–1317.
- Kousal B, Záhlava J, Vejvalková Š, Hejtmánková M, Lišková P. Molekulárně genetická příčina a klinické nálezy u dvou probandů se Stargardtovou chorobou. *Cesk Slov Oftalmol*. 2014; 70(6): 228–233.
- Kremlikova Pourova R, Paderova J, Copikova J, Kousal B, Dudakova L, Liskova P. SD-OCT imaging as a valuable tool to support molecular genetic diagnostics of Usher syndrome type 1. *J AAPOS*. 2018; 22(4): 312–314.
- Kumaran N, Moore AT, Weleber RG, Michaelides M. Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: clinical features, molecular genetics and therapeutic interventions. *Br J Ophthalmol*. 2017; 101(9): 1147–1154.
- Lee K, Couser NL. Genetic Testing for Eye Diseases: A Comprehensive Guide and Review of Ocular Genetic Manifestations from Anterior Segment Malformation to Retinal Dystrophy. *Curr Genet Med Rep*. 2016; 4: 41–48.
- Lišková P, Kousal B. Dědičná onemocnění oka: genetické testování a poradenství. *In: Brdička R, Didden W. Genetika v klinické praxi III*. Praha, Galén, 2015, 190 s. ISBN 978-80-7492-226-8.
- Maguire AM, Russell S, Wellman JA, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, Wittes J, Pappas J, Elci O, Marshall KA, McCague S, Reichert H, Davis M, Simonelli F, Leroy BP, Wright JF, High KA, Bennett J. Efficacy, Safety, and Durability of Voretigene Neparvovec-rzyl in RPE65 Mutation-Associated Inherited Retinal Dystrophy: Results of Phase 1 and 3 Trials. *Ophthalmology*. 2019; 126(9): 1273–1285.
- Majer F, Pelak O, Kalina T, Vlaskova H, Dvorakova L, Honzik T, Palecek T, Kuchynka P, Masek M, Zeman J, Elleder M, Sikora J. Mosaic tissue distribution of the tandem duplication of LAMP2 exons 4 and 5 demonstrates the limits of Danon disease cellular and molecular diagnostics. *J Inherit Metab Dis*. 2014; 37(1): 117–124.
- Majer F, Piherova L, Reboun M, Stara V, Pelak O, Norambuena P, Stranecky V, Krebsova A, Vlaskova H, Dvorakova L, Kmoch S, Kalina T, Kubanek M, Sikora J. LAMP2 exon-copy number variations in Danon disease heterozygote female probands: Infrequent or underdetected? *Am J Med Genet A*. 2018; 176(11): 2430–2434.
- Majer F, Vlaskova H, Krol L, Kalina T, Kubanek M, Stolnaya L, Dvorakova L, Elleder M, Sikora J. Danon disease: a focus on processing of the novel LAMP2 mutation and comments on the beneficial use of peripheral white blood cells in the diagnosis of LAMP2 deficiency. *Gene*. 2012; 498(2): 183–195.

- Marteau TM, Croyle RT. The new genetics. Psychological responses to genetic testing. *BMJ*. 1998; 316(7132): 693–696.
- Mayer AK, Van Cauwenbergh C, Rother C, Baumann B, Reuter P, De Baere E, Wissinger B, Kohl S; ACHM Study Group. CNGB3 mutation spectrum including copy number variations in 552 achromatopsia patients. *Hum Mutat*. 2017; 38(11): 1579–1591.
- Richter T, Nestler-Parr S, Babela R, Khan ZM, Tesoro T, Molsen E, Hughes DA; International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research Rare Disease Special Interest Group. Rare disease terminology and definitions-a systematic global review: Report of the ISPOR rare disease special interest group. *Value Health*. 2015; 18(6): 906–914.
- Stone EM, Aldave AJ, Drack AV, Maccumber MW, Sheffield VC, Traboulsi E, Weleber RG. Recommendations for genetic testing of inherited eye diseases: report of the American Academy of Ophthalmology task force on genetic testing. *Ophthalmology*. 2012; 119(11): 2408–2410.
- Straňák Z, Kousal B, Ardan T, Veith M. Inovativní postupy v léčbě sítnicových onemocnění. *Cesk a slov oftalmol*. 2019; 75(6): 287–295.
- Taylor RL, Arno G, Poulter JA, Khan KN, Morarji J, Hull S, Pontikos N, Rueda Martin A, Smith KR, Ali M, Toomes C, McKibbin M, Clayton-Smith J, Grunewald S, Michaelides M, Moore AT, Hardcastle AJ, Inglehearn CF, Webster AR, Black GC; UK Inherited Retinal Disease Consortium and the 100,000 Genomes Project. Association of steroid 5 α -reductase type 3 congenital disorder of glycosylation with early-onset retinal dystrophy. *JAMA Ophthalmol*. 2017; 135(4): 339347.
- van Huet RA, Pierrache LH, Meester-Smoor MA, Klaver CC, van den Born LI, Hoyng CB, de Wijs IJ, Collin RW, Hoefsloot LH, Klevering BJ. The efficacy of microarray screening for autosomal recessive retinitis pigmentosa in routine clinical practice. *Mol Vis*. 2015; 21: 461–476.
- Wheeler PG, Ng BG, Sanford L, Sutton VR, Bartholomew DW, Pastore MT, Bamshad MJ, Kircher M, Buckingham KJ, Nickerson DA, Shendure J, Freeze HH. SRD5A3-CDG: Expanding the phenotype of a congenital disorder of glycosylation with emphasis on adult onset features. *Am J Med Genet A*. 2016; 170(12): 3165–3171.
- Zampaglione E, Kinde B, Place EM, Navarro-Gomez D, Maher M, Jamshidi F, Nassiri S, Mazzone JA, Finn C, Schlegel D, Comander J, Pierce EA, Bujakowska KM. Copy-number variation contributes 9% of pathogenicity in the inherited retinal degenerations. *Genet Med*. 2020; 22(6): 1079–1087.

Ziccardi L, Cordeddu V, Gaddini L, Matteucci A, Parravano M, Malchiodi-Albedi F, Varano M. Gene Therapy in Retinal Dystrophies. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(22): E5722.

PUBLIKACE VZTAHUJÍCÍ SE K TÉMATU DISERTAČNÍ PRÁCE

Kousal B, Skalicka P, Valesova L, Fletcher T, Hart-Holden N, O'Grady A, Chakarova CF, Michaelides M, Hardcastle AJ, Liskova P. Severe retinal degeneration in women with a c.2543del mutation in ORF15 of the *RPGR* gene. *Mol Vis.* 2014; 20: 1307–1317.

IF (2013) = 2.245.

Kousal B, Dudakova L, Gaillyova R, Hejtmankova M, Diblik P, Michaelides M, Liskova P. Phenotypic features of *CRB1*-associated early-onset severe retinal dystrophy and the different molecular approaches to identifying the disease-causing variants. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2016; 254(9): 1833–1839. **IF (2015) = 1.991.**

Kremlikova Pourova R, Paderova J, Copikova J, **Kousal B**, Dudakova L, Liskova P. SD-OCT imaging as a valuable tool to support molecular genetic diagnostics of Usher syndrome type 1. *J AAPOS.* 2018; 22(4): 312–314. **IF (2016) = 0.997.**

Kousal B, Honzík T, Hansíková H, Ondrušková N, Čechová A, Tesařová M, Stránecký V, Meliška M, Michaelides M, Lišková P. Review of *SRD5A3* disease-causing sequence variants and ocular findings in steroid 5 α -reductase type 3 congenital disorder of glycosylation, and a detailed new case. *Folia Biol (Praha).* 2019; 65(3): 134–141.

IF (2019) = 1.073.

Majer F, **Kousal B**, Dusek P, Piherova L, Reboun M, Mihalova R, Gurka J, Krebsova A, Vlaskova H, Dvorakova L, Krihova J, Liskova P, Kmoch S, Kalina T, Kubanek M, Sikora J. *Alu*-mediated *Xq24* deletion encompassing *CUL4B*, *LAMP2*, *ATP1B4*, *TMEM255A*, and *ZBTB33* genes causes Danon disease in a female patient. *Am J Med Genet A.* 2020; 182: 219–223. **IF (2019) = 2.197.**

Khan M, Cornelis SS, Pozo-Valero MD, Whelan L, Runhart EH, Mishra K, Bults F, AlSwaiti Y, AlTalbish A, De Baere E, Banfi S, Banin E, Bauwens M, Ben-Yosef T, Boon CJF, van den Born LI, Defoort S, Devos A, Dockery A, Dudakova L, Fakin A, Farrar GJ, Sallum JMF, Fujinami K, Gilissen C, Glavač D, Gorin MB, Greenberg J, Hayashi T, Hettinga YM, Hoischen A, Hoyng CB, Hufendiek K, Jäggle H, Kamakari S, Karali M, Kellner U, Klaver CCW, **Kousal B**, Lamey TM, MacDonald IM, Matynia A, McLaren TL, Mena MD, Meunier I, Miller R, Newman H, Ntozini B, Oldak M, Pieterse M, Podhajcer OL, Puech B, Ramesar R, Rütther K, Salameh M, Salles MV, Sharon D, Simonelli F, Spital G, Steehouwer M, Szaflik JP, Thompson JA, Thuillier C, Tracewska

- AM, van Zweeden M, Vincent AL, Zanlonghi X, Liskova P, Stöhr H, Roach JN, Ayuso C, Roberts L, Weber BHF, Dhaenens CM, Cremers FPM. Resolving the dark matter of *ABCA4* for 1054 Stargardt disease probands through integrated genomics and transcriptomics. *Genet Med.* 2020; 22(7): 1235–1246. **IF (2018) = 8.683.**
- Kousal B**, Majer F, Vlaskova H, Dvorakova L, Piherova L, Meliska M, Langrova H, Palecek T, Kubanek M, Krebsova A, Gurka J, Stara V, Michaelides M, Kalina T, Sikora J, Liskova P: Pigmentary retinopathy can indicate the presence of pathogenic *LAMP2* variants even in somatic mosaic carriers with no additional signs of Danon disease. *Acta Ophthalmol.* 2020. doi: 10.1111/aos.14478. **IF (2020) = 3.060.**
- Runhart EH, Khan M, Cornelis SS, Roosing S, Del Pozo-Valero M, Lamey T, Liskova P, Roberts L, Stöhr H, Klaver CCW, Hoyng CB, Cremers FPM, Dhaenens CM; for **the ABCA4 disease consortium study group**. Association of Sex With Frequent and Mild *ABCA4* Alleles in Stargardt Disease. *JAMA Ophthalmol.* 2020. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2020.2990. **IF (2019) = 6.198.**
- Kousal B**, Skalická P, Diblík P, Kuthan P, Langrová H, Lišková P. Klinické nálezy u členů české rodiny s retinitis pigmentosa podmíněnou mutací v ORF15 genu *RPGR*. *Cesk Slov Oftalmol.* 2013; 69(1): 8–15.
- Kousal B**, Záhlava J, Vejvalková Š, Hejtmánková M, Lišková P. Molekulárně genetická příčina a klinické nálezy u dvou probandů se Stargardtovou chorobou. *Cesk Slov Oftalmol.* 2014; 70(6): 228–233.
- Kousal B**, Ďudřáková L, Hlavatá L, Lišková P. Klinické zkoušky testující nové terapie pro Stargardtovu chorobu. *Cesk Slov Oftalmol.* 2016; 72(1): 293–297.
- Hlavatá L, Ďudřáková L, Trková M, Soldátová I, Skalická P, **Kousal B**, Lišková P. Preimplantační genetická diagnostika a dědičná onemocnění oka. *Cesk Slov Oftalmol.* 2016; 72(5): 167–171.
- Ďudřáková L, **Kousal B**, Kolářová H, Hlavatá L, Lišková P. Genová terapie dědičných onemocnění sítnice a zrakového nervu: současný stav poznání. *Cesk Slov Oftalmol.* 2016; 72(4): 128–136.
- Kousal B**, Ďudřáková L, Moravíková J, Lišková P. Vzácná oční onemocnění v oftalmologické praxi. *Oftalmologie pro praxi.* 2018; 7–11.
- Hlavatá L, Ďudřáková L, Moravíková J, Zobanová A, **Kousal B**, Lišková P. Molekulárně genetická příčina achromatopsie u dvou pacientů českého původu. *Cesk a slov oftalmol.* 2019; 75(5): 272–276.

Straňák Z, **Kousal B**, Ardan T, Veith M. Inovativní postupy v léčbě sítnicových onemocnění. *Cesk a slov oftalmol.* 2019; 75(6): 287–295. **2. místo v hodnocení o nejlepší práci publikovanou v časopise Česká a slovenská oftalmologie v roce 2019.**

OSTATNÍ PUBLIKACE V IMPAKTOVANÝCH A NEIMPAKTOVANÝCH RECENZOVANÝCH ČASOPISECH

Kolářová H, Honzík T, Ďudřáková L, **Kousal B**, Kulhánek J, Diblík P, Tesařová M, Havránková P, Forgáč M, Zeman J, Lišková P. Leberova hereditární neuropatie optiku. *Cesk Slov Neurol N.* 2017; 80/113: 534–544. **IF (2017) = 0.368.**

Kousal B, Kolarova H, Meliska M, Bydzovsky J, Diblík P, Kulhanek J, Votruba M, Honzik T, Liskova P. Peripapillary microcirculation in Leber hereditary optic neuropathy. *Acta Ophthalmol.* 2019; 97(1): e71–e76. **IF (2019) = 3.153.**

Kelifová S, Honzík T, Tesařová M, **Kousal B**, Lišková P, Havránková P, Kolářová H. Dominantní (Kjerova) atrofie optiku asociovaná s mutacemi v *OPA1* genu. *Cesk Slov Neurol N.* 2020; 83(1): 33–42. **IF (2018) = 0.355.**

Kousal B, Dubská Z. Věkem podmíněná makulární degenerace – principy a léčba. *Postgrad Med.* 2010; 12(3): 257–264.

Kousal B, Chakarova F, Black GC, Ramsden S, Langrová H, Lišková P. Minimální nález u pacienta s Bestovou chorobou podmíněnou mutací c.653G>A v genu BEST1. *Cesk Slov Oftalmol.* 2011; 67(5–6): 170–174.

Kousal B, Dubská Z, Beňova A, Diblík P, Langrová H, Kalvodová B. Chlorochinová retinopatie: kazuistika a doporučení pro screening. *Prakt Lek.* 2013; 93(4): 181–185.

Beňová A, Břichová M, Svozílková P, **Kousal B**, Jeníčková D, Heissigerová J, Říhová E. Cytomegalovirová retinitida u HIV negativních pacientů – retrospektivní studie. *Cesk Slov Oftalmol.* 2013; 69: 227–234.

Kousal B, Kalvodová B. Aflibercept v oftalmologii. *Remedia.* 2014; 24: 428–434.

Cigánek P, Matoušková L, **Kousal B**. Dynamická vitreomakulární trakce. *Cesk Slov Oftalmol.* 2015; 71(1): 23–28.

Beňová A, Kuthan P, **Kousal B**, Diblík P, Meliška M. Příběh jedné papily. *Cesk a slov oftalmol.* 2015; 71(2): 116–121.

Kousal B: Věkem podmíněná makulární degenerace – aktuální možnosti farmakoterapie v České republice. *Remedia.* 2016, 26: 162–167.

Kousal B: Věkem podmíněná makulární degenerace. *ZN Plus* 2018; 67: 18–21.

KNIŽNÍ PUBLIKACE

- Němec P, Löfflerová V, **Kousal B**. Optická koherenční tomografie – Klinický atlas sítnicových patologií. 1. vyd. Praha, Mladá fronta, 2015, 304 s. ISBN 978-80-204-3810-2. **Cena předsednictva ČLS JEP za rok 2015 za nejlepší vědecké práce – knižní publikaci.**
- Svozílková, P, Heissigerová J, Diblík P, Becková J, Beňová A, Betková J, Brichová M, Dubská Z, Dvořák J, Fichtl M, Glezgová J, Huňa L, Janek M, Kaincová I, Kalvodová B, Klofáčová E, **Kousal B**, et al. Diferenciální diagnostika v oftalmologii v obrazech. 1. vyd. Praha, Mladá fronta, 2015, 222 s. ISBN 978-80-204-3393-0.
- Lišková P, **Kousal B**. Dědičná onemocnění oka: genetické testování a poradenství. *In:* Brdička R, Didden W. Genetika v klinické praxi III. Praha, Galén, 2015, 190 s. ISBN 978-80-7492-226-8.
- Němec P, **Kousal B**, Löfflerová V. Optická koherenční tomografie – Klinický atlas sítnicových patologií. 2. přepracované a doplněné vyd. Praha, Mladá fronta, 2017, 408 s. ISBN 978-80-204-4414-1.
- Heissigerová J, Brichová M, Diblík P, Dubská Z, Fichtl M, Glezgová J, Huňa L, Kalvodová B, Klímová A, **Kousal B**, Kuthan P, Lišková P, Michaličková M, Novák P, Rezková L, Růžičková E, Skalická P, Sklenka P, Svozílková P. Oftalmologie: pro pregraduální i postgraduální přípravu. 1. vyd. Praha, Maxdorf, 2018, 380 s. ISBN 978-80-7345-580-4. **Cena předsednictva ČLS JEP za rok 2018 za nejlepší vědecké práce – knižní publikaci.**
- Studnička J, Dusová J, Heissigerová J, **Kousal B**, Langrová H, Macháčková M, Matušková V, Stěpanov A, Vysloužilová D. Onemocnění sítnice a cévnatky v praxi. Praha, Mladá fronta, 2018, 423 s. ISBN 978-80-204-4945-0. **Ocenění v Soutěži vysoce kvalitních monografií na UK hodnocené v roce 2020.**
- Kousal B**. Léčiva s antiproliferačním účinkem. *In:* Suchopár J. a kol.: Compendium – Léčiva používaná v podmínkách ČR. Praha, Panax Co, 2018, 1139 s. ISBN 978-80-902806-7-0.
- Lízrová Preiningerová J, Němec P, **Kousal B**, Diblík P. Optická koherenční tomografie v neurologii. Praha, Maxdorf, 2020, 156 s. ISBN 978-80-7345-661-0.