

Použití Human Phenotype Ontology při filtrování dat z celogenomových necílených laboratorních genetických metod

The use of Human Phenotype Ontology in variant filtration to improve laboratory genomic non-targeted diagnostic methods

Martin Schwarz¹, Lenka Šodková², Eva Míšová²

1 PRENET - Laboratoře Lékařské Genetiky s.r.o., Pardubice

2 Stomatologická klinika dětí a dospělých 2. LF UK a FN Motol, Praha

Korespondence: Martin Schwarz, martin.schwarz@prenet.cz

Martin Schwarz <https://orcid.org/0000-0002-5585-8376> martin.schwarz@prenet.cz

Lenka Šodková <https://orcid.org/0009-0007-3517-6339> lenkasodkova@email.cz

Eva Míšová <https://orcid.org/0000-0002-0936-4367> eva.misova@fnmotol.cz

Klíčové slova: masivní paralelní sekvenování; arrayCGH; microarray; optické genomové mapování; Human Phenotype Ontology; HPO; filtrace; prioritizace variant

Abstrakt

Úvod: Vzácna onemocnění představují heterogenní skupinu převážně dědičných poruch s nízkou prevalencí, které mohou mít závažné multisystémové projevy. Identifikace nových genetických variant je klíčová pro zajištění přesné diagnostiky, přičemž metody jako masivní paralelní sekvenování (MPS), komparativní genomová hybridizace na nosičích (arrayCGH) a optické mapování genomu (OGM) nahrazují tradiční karyotyp.

Metody: Laboratorní metody poskytují pokročilé nástroje pro detekci genetických mutací, přičemž každá z nich má specifické výhody a omezení. MPS se zaměřuje na mutace na úrovni jednoho nukleotidu, arrayCGH na mikrolece a mikroduplikace, a OGM kombinuje výhody vícero přístupů, přičemž umožňuje detekci strukturálních chromozomových aberací. Filtrace variant je nezbytná pro eliminaci falešně pozitivních nálezů a prioritizaci variant na základě fenotypu pacienta, což je umožněno terminologií Human Phenotype Ontology (HPO).

Výsledky: Diagnostika vzácných onemocnění je ztížená kvůli možnosti výskytu mutací ve větším počtu genů. Bez možnosti filtrace jednotlivých variant by bylo nabízeno nepřehledné množství potenciálně relevantních mutací, což by vedlo k neefektivnímu procesu stanovení diagnózy. Filtrace pomocí HPO termínů umožňuje přesnější přiřazení variant ke klinickému fenotypu, čímž pomáhá oddělit kauzální varianty od náhodných.

Diskuze: HPO termíny se staly mezinárodním standardem pro popis fenotypu a prioritizaci genetických variant. Rozšiřování této terminologie i její integrace do diagnostických nástrojů umožňuje zlepšit přesnost molekulárně genetické diagnostiky. V budoucnosti se předpokládá překlad HPO termínů do různých jazykových variant, což umožní lepší přístupnost zdravotnických informací a zvýšení bezpečnost pacientů.

Abstract

Introduction: Rare diseases represent a heterogeneous group of predominantly hereditary disorders with low prevalence, which can have serious multisystem manifestations. The identification of new genetic variants is crucial for ensuring accurate diagnosis. Methods such as massive parallel sequencing, array-based comparative genomic hybridization, and optical genome mapping are increasingly replacing traditional karyotyping.

Methods: Laboratory techniques have their advantages and limitations. Variant filtration is essential for eliminating false positives and prioritizing variants based on the patient's phenotype, which is facilitated by the Human Phenotype Ontology (HPO) terminology.

Results: Diagnosing rare diseases is challenging due to the potential involvement of mutations across multiple genes. Without the ability to filter individual variants, a vast number of potentially relevant mutations would be offered, leading to an inefficient diagnostic process. Filtration using HPO terms allows more accurate assignment of variants to the clinical phenotype, helping to distinguish causal variants from incidental ones.

Discussion: HPO terms have become an international standard for describing phenotypes and prioritizing genetic variants. The expansion of this terminology and its integration into diagnostic tools enhance the accuracy of molecular genetic diagnostics. In the future, the translation of HPO terms into various languages is anticipated, which will improve the accessibility of medical information and increase patient safety.

Úvod

Vzácná onemocnění (VO) tvoří klinicky i etiologicky heterogenní skupinu převážně dědičných onemocnění s velmi nízkou prevalencí v obecné populaci, tj. nižší než 1/2 000 (1). V současné době je popsáno více než 6 000 klinických jednotek spadajících do kategorie VO. Odhaduje se, že v Evropské Unii žije přes 30 milionů lidí s VO, což znamená, že tito pacienti tvoří 6 až 8 % z celkové populace EU (2). Řada VO se manifestuje již záhy po narození a má charakter multisystémového/syndromického postižení. Z postižených dětí 30% zemře před dosažením pěti let věku (3). Identifikace nových, doposud nepopsaných genetických variant asociovaných k jednotlivým VO je v popředí zájmu nejen genetiků, ale i lékařů spolupracujících odborností s cílem zajistit přesnější a efektivnější diagnostiku VO (4). Navzdory stále lepší dostupnosti metod necílené laboratorní genetické analýzy je přetrvávajícím problémem u VO v řadě případů opožděná diagnostika a v některých případech také nejasný či obtížně interpretovatelný nález. Řada případů tak zůstává přes veškerou snahu neuzavřena z hlediska genetické etiologie (5).

Účelem laboratorních metod je detekce změn v germinálním či somatickém genomu na různých úrovních, v kontextu lékařské genetiky se jedná o vyhledávání patogenních variant spojených s genetickým onemocněním (6). V rámci této práce budeme používat pro takové změny rovněž slovo mutace. Mezi necílené metody čtení genomu, kterými lze mutace odhalit, patří metody na bázi masivního paralelního sekvenování (MPS), komparativní genomová hybridizace na nosičích (arrayCGH) a z nejnovějších cytogenetických metod také optické mapování genomu (OGM) (7). Tyto metody víceméně nahrazují původní necílený zlatý standard necílené genetické diagnostiky, a to karyotyp.

Metody

MPS používá při čtení genomu automatické sekvenátory, které usnadňují a automatizují přípravu sekvenační směsi a její nanesení, průběh sekvenační reakce, odečítání signálu a počítačové vyhodnocování výsledků, čímž zrychlují a zlevňují celý proces. Účelem je zejména detekce mutací na úrovni jednoho nukleotidu. Existuje několik různých metod, jak provádět MPS. Nevýhodou řešení některých výrobců je, že nesekvencují dlouhá čtení a metoda tak může být chybová. Proto se pozitivní výsledky obvykle ověřují Sangerovou metodou. Přestože novější generace MPS umí číst i dlouhé úseky DNA, určitá chybovost stále přetrvává (8). Mezi nejčastěji používané sekvenátory patří stroje od firmy Illumina (illumina.com; U.S.A.).

ArrayCGH je biočipová technologie, která se využívá k detekci klinicky signifikantních rozsáhlých mikrolecí nebo mikroduplikací (copy number variant, CNV) genomu s vysokou senzitivitou zachytu submikroskopických aberací (desítky až stovky kilobází). Rozlišovací schopnost metody je až tisíckrát vyšší než u klasického karyotypu. Biočip označuje malou, plochou destičku, obvykle vyrobenou ze skla nebo křemíku, na které probíhá hybridizační reakce fluorescenčně značené DNA. V závislosti na tom, zda je určitý úsek vyšetřované DNA amplifikován či deletován, pak ve výsledku v různých místech chromosomu převládá fluorescence vyšetřované nebo referenční DNA. Hlavním výrobcem dominujícím trhu je opět Illumina (illumina.com; U.S.A.) (9).

OGM je metoda, která pomocí fluorescenčního značení a světelné mikroskopie zjišťuje umístění konkrétních sekvencí párů bází a jejich opakování na jednotlivých molekulách DNA (7). Po označení sekvenčních motivů a obarvení celé DNA následuje natažení molekul DNA, vizualizace DNA včetně sekvenčních motivů a analýza získaného obrazu. Na základě překryvů spekter

sekvenčních motivů (čárových kódů) charakteristických pro každý z fragmentů DNA je sestavena optická mapa (10). OGM kombinuje záchytnost karyotypu a arrayCGH. Je schopno zachytit CNV včetně balancovaných translokací, absence heterozygosity, inverzí, a v zásadě všechny známé typy strukturálních chromozomových aberací. U translokací jasně určí původ jednotlivých fragmentů (7,10). Konkordance záchytu stejných abnormalit pomocí OGM jako u karyotypu je 100 %, u arrayCGH se ke 100 % blíží (11,12). Aktuálně se nejvíc používají platformy firmy Bionano (bionano.com; U.S.A.), která tuto metodu vyvinula. Porovnání jednotlivých metod je v Tabulce 1. Zdroje pro Tabulku 1 (12–15).

Tab. 1 Porovnání standardní karyotypizace, arrayCGH, OGM a MPS

Metoda (tento sloupec níže), co je schopna zachytit (další sloupce vpravo)	Chromozomální aneuploidie	Delece / duplikace od velikosti	Jednonukleotidové polymorfismy	Balancované translokace	Jiné strukturální aberace	Mozaicismus od úrovně
Karyotyp	ano	5 - 10 mbp	ne	ano	ano	5 % u SCA
ArrayCGH	ano	5 mb, dle dizajnu do úrovně genů až nukleotidů	dle dizajnu, není to primární funkce	ne	některé	10-30 % u SCA
Optické genomové mapování	ano	500 bp	ne	ano	ano	5 % u SCA
Masivní paralelní sekvenování	ano, není to primární funkce	dle dizajnu, do úrovně nukleotidu, není to primární funkce	ano	ne	některé	1-2 % u SNV 10 % u SCA

bp - base pairs (páry bazí), **mbp** - mega base pairs (páry bazí krát 1000), **SNV** - jednonukleotidové polymorfismy, **SCA** - strukturální chromozomální aberace

V potaz byly brány obvykle používané designy metod. Jednotlivé designy různých výrobců se mohou významně lišit.

U detekovaných variant je potřeba popsat jejich povahu a účinek. Vzhledem k obrovskému množství nalézáných variant je vhodná prioritizace, tj. filtrování a seřazení variant dle

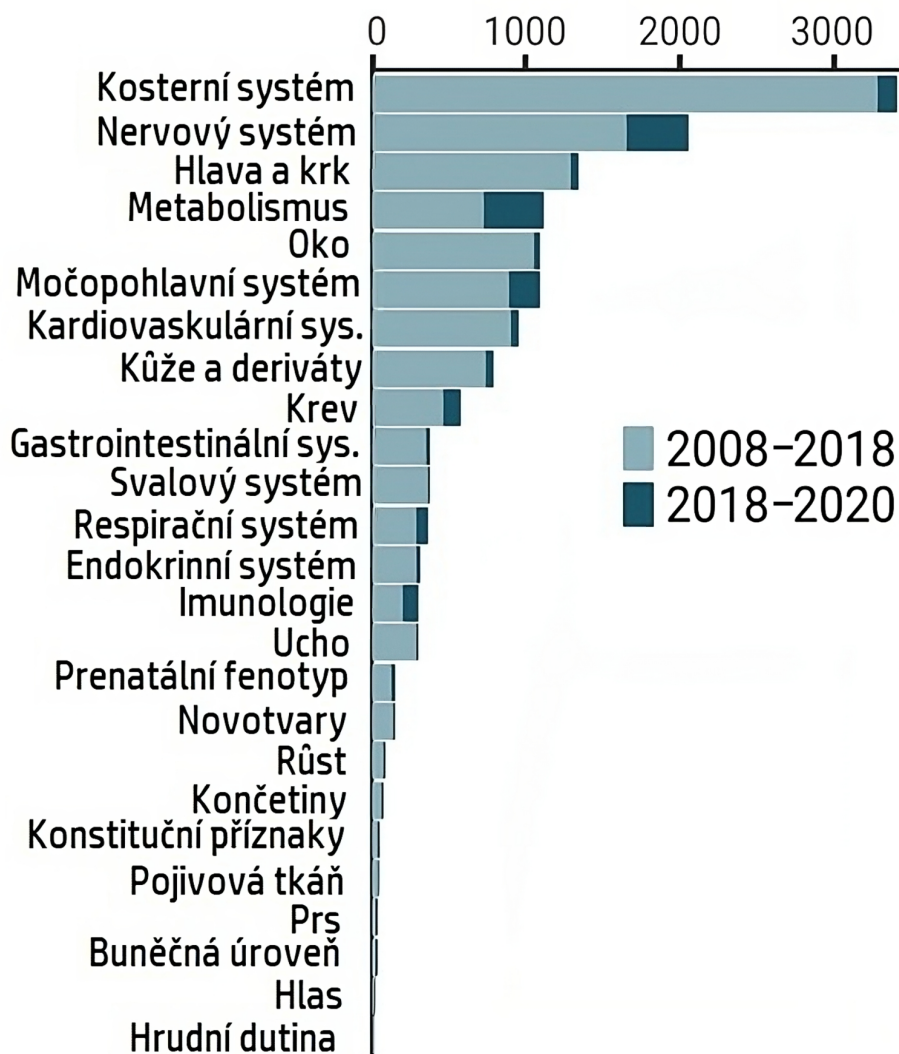
pravděpodobnosti kauzality. K tomu lze využít HPO termíny, které umožní omezení množství nalezených variant pouze na takové, které souvisejí s popsáním fenotypem pacienta. Tyto varianty je možné seřadit dle pravděpodobnosti, s jakou se vyskytují v souvislosti s klinickým obrazem pacienta. Celosvětově rozvíjená HPO terminologie/ontologie (<https://hpo.jax.org/app/>) vzniká od roku 2008 (16). Projekt HPO v současné době obsahuje ~ 13 000 termínů ke komplexnímu popisu fenotypu VO, ze kterých vzniklo 156 000 anotací k 7 800 dědičným nemocem (Tabulka 2, Tabulka 3, Obrázek 1). Každý z termínů představuje specifický fenotypový rys, jako jsou anatomické abnormality, fyziologické znaky, vývojové anomálie a charakteristiky chování. Tyto termíny jsou uspořádány hierarchicky, přičemž širší termíny zahrnují specifitější dílčí termíny. Tato hierarchická struktura, vycházející především z katalogu OMIM (www.omim.org), umožňuje podrobné a systematické znázornění fenotypových znaků. Používání HPO termínů k popisu fenotypu je dnes již mezinárodním zlatým standardem. HPO termíny se uplatní se jak v diagnostice, tak i při hledání nových genů, objasňování mechanismů molekulární biologie a u kohortových studií. Kromě podrobného popisu fenotypu a prioritizace variant je lze použít jako vstup k automatizovanému navrhování diagnóz na základě zadaných příznaků například v rámci programů Phenomizer (<https://compbio.charite.de/phenomizer/>) nebo Face2Gene (<https://app.face2gene.com/>). Zjednodušují dolování znalostí z textu (text mining) a komunikaci mezi pracovišti ohledně fenotypových projevů podobných pacientů (match making). HPO termíny lze využít v elektronických zdravotnických záznamech (Electronic Health Records, (17). Strukturovaný slovník HPO také přispívá k vývoji výpočetních nástrojů a algoritmů, které pomáhají při prioritizaci a interpretaci variant. České termíny jsou součástí vydání HPO verze dostupné na serveru Github od 5.4.2023 (<https://github.com/obophenotype/humanphenotype-ontology/releases>). Překlad termínů HPO se stal součástí oficiálních diagnostických doporučení,

oficiálně je uveden na webu Společnosti lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP (SLG; <https://slg.cz/hpo/>).

Tab. 2 Příklad HPO termínu	
Název	Epicanthus
Identifikátor	HP:0000286
Definice	A fold of skin starting above the medial aspect of the upper eyelid and arching downward to cover, pass in front of and lateral to the medial canthus.
Synonyma	Epicanthal fold, Epicanthal folds, Epicanthic folds, Eye folds, Palpebronasal fold, Plica palpebronasalis, Prominent eye folds

Tab. 3 Příklad anotované nemoci	
Nemoc	Cystická Fibróza (OMIM: 219700)
Termíny HPO (výběr)	HP:0006528 Chronic lung disease HP:0001738 Exocrine pancreatic insufficiency HP:0004401 Meconium ileus HP:0003251 Male infertility HP:0006538 Recurrent bronchopulmonary infections

Počet přidanych termínů



Obr. 1 Zastoupení počtu HPO termínů v jednotlivých kategoriích, dle postupného přidávání, převzato z (18).

Výsledky

Bez provedení filtrace variant bychom metodou aCGH odkryli u každého člověka kolem ~ 12 různých CNV (21). OGM u každého detekuje tucty, potenciálně až stovky strukturálních variant

(22,23). U MPS je počet výrazně vyšší, u každého člověka bychom z exomového sekvenování získali ~ 500 suspektních kódujících vzácných jednonukleotidových variant (24). Většinou však hledáme pouze jednu kauzální variantu. Několik procent pacientů s VO může mít více genetických mutací buď v jednom totožném genu nebo ve více genech naráz. Postupné “vypínání” alel je podkladem vzniku genetických nádorů dle Knudsonovy teorie (19). U pacientů s nenádorovými VO rovněž nastávají tyto “double hit”, či “multi hit” situace se souhrou vícera genetických mutací. Vzhledem k překryvu symptomů ztěžují diagnózu a mohou vést k letité “diagnostické odysee” (20). Proto potřebujeme z desítek až stovek podezřelých genetických variant vytržít jenom pár. Kromě fenotypových znaků se filtruje dle různých dalších kritérií, jako je např. frekvence varianty v populaci, hloubka čtení, kontrola kvality nalezených variant, úroveň kontaminace atp. (21). Dále se používají *in silico* predikční programy hodnotící vliv varianty na strukturu proteinu, např. Polyphen, SIFT, Mutation Taster, CADD a další (22).

Každý gen byl anotován HPO termíny odpovídajícími symptomům patologie, kterou jeho mutace (patogenní varianta) způsobuje. Tento seznam se podezřelých mutací srovnává s HPO symptomy popsanými u pacienta. Samotná filtrace na základě HPO termínů se může mírně lišit dle jednotlivých použitých interpretačních softwarů. U MPS se používají např. software SOPHiA DDM (<https://www.sophiagenetics.com/sophia-ddm/>; Švýcarsko) nebo platforma Franklin by Genoox (<https://franklin.genoox.com/>; U.S.A.). U aCGH je možné uvést např. SeqOne CGH Array Interpretation (www.seqone.com; Francie) nebo Emedgene (<https://emea.illumina.com/products/by-type/informatics-products/emedgene.html>; U.S.A.). Bionano používá v rámci OGM svůj proprietární software VIA™ (<https://bionano.com/via-software/>; U.S.A.). Naše laboratoř pro svoje potřeby uvádí jako ideální počet HPO termínů pro jednoho pacienta deset až dvanáct. Filtrace může mít různý charakter. Inkluzivní přístup znamená,

že podezřelá varianta je zvažována, pokud k ní asociovaný gen popisem příznaků odpovídá alespoň některým zadaným HPO termínům. Exkluzivní přístup znamená, že podezřelá varianta je zvažována v případě, že k ní asociovaný gen popisem příznaků odpovídá všem zadaným HPO termínům. Lze postupovat iterativně: Filtrace je aplikována postupně, přičemž každé kolo mírně zpřesňuje dataset. Příliš přísná filtrace může vést k vyloučení potenciálně kauzálních variant a k falešné negativitě výsledku. Příliš benevolentní filtrace bere v potaz nadměrné množství podezřelých variant a plýtvá tak časové a personální zdroje laboratoře. Může pak rovněž dojít k přehlédnutí potenciálně kauzální varianty a falešné negativitě výsledku. Je známo, že rozdílné technologické přístupy a kvalifikace laboratorních pracovníků v rámci jednotlivých laboratoří mohou vést k rozdílným interpretacím totožného vzorku (23). S tímto faktem musí klinický genetik počítat, a v případě přetrvávajícího podezření na konkrétní VO indikovat reanalýzu dat s jinými vstupními parametry tou samou či jinou laboratoří.

Diskuze

HPO je v současné době standardem při popisu fenotypů a prioritizaci variant. Přidávání nových termínů stále probíhá a HPO se průběžně aktualizuje. Jelikož se ontologie periodicky rozšiřuje, je nutné nové termíny překládat. Překlady jsou v režii Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR (www.uzis.cz/index.php?pg=registry-sber-dat--klasifikace--hpo-human-phenotype-ontology). Plánuje se rozšíření terminologie pro behaviorální abnormality, různé oblasti související s prenatální a perinatální medicínou a také pro běžná onemocnění a choroby .

HPO se liší od ostatních dostupných klinických terminologií několika zásadními způsoby (18). Za prvé, HPO má podstatně hlubší a širší pokrytí fenotypů než jakákoliv jiná klinická terminologie. V roce 2014 Bodenreider et al. porovnali pokrytí fenotypů HPO s kombinovaným pokrytím všech

ostatních relevantních terminologií v United Medical Language System (UMLS) (24). UMLS je sada souborů a softwaru dostupného z National Library of Medicine (<https://www.nlm.nih.gov/>), která sdružuje mnoho biomedicínských slovníků a standardů pro léky, nemoci, postupy, laboratorní testy, lékařská zařízení, organismy, anatomii, geny a další. Zjistilo se, že zdroje UMLS pokrývají pouze kolem 35 % termínů přítomných v HPO (24,25). Následkem toho bylo HPO začleněno do UMLS. Za druhé, HPO není pouze jednoduchou terminologií, ale hlavně plnohodnotným Web Ontology Language (OWL). OWL je sémantický jazyk určený k publikování a sdílení ontologií, tedy znalostí o věcech, skupinách věcí a vztazích mezi věcmi, na internetu (26). HPO umožňuje sofistikované analýzy, včetně logické inference (27). A konečně, HPO termíny jsou využívány ve většině (ne-li ve všech) současných fenotypem řízených genomických diagnostických softwarech (28).

Výhledově by občané České republiky také mohli profitovat z překladu HPO do etnicky minoritních jazyků jako je např. romština nebo vietnamština. Standardizovaná jazyková lokalizace zdravotnických informací zajišťuje, aby byly zdravotnické informace, produkty a služby přesně přeloženy a přizpůsobeny jazykovým, kulturním a regulačním požadavkům různých zemí a regionů (29). Jedním z klíčových přínosů je vyšší bezpečí pacientů. Nepřesné překlady, popisy fenotypu nebo různá nedorozumění mohou vést k závažným chybám v lékařské péči, které mohou mít katastrofální následky. Medicínské jazykové lokalizace tak pomáhají zvýšit spokojenost a spolupráci pacientů. Pacienti se s větší pravděpodobností aktivně zapojí do procesu péče, ve kterém jsou informace prezentovány v jejich rodném jazyce. To může vést k lepším léčebným výsledkům.

Použití HPO termínů výrazně zpřesňuje molekulárně genetickou diagnostiku. Například ve studii o poruchách imunity došlo při použití HPO ke snížení počtu kandidátních genů z 35 na 2, přičemž záchytnost se zvýšila z 66% na 86% (30). V naší laboratoři rovněž pozorujeme zjednodušení work flow a zlepšení výsledků při adekvátním popisu fenotypu pacienta. HPO termíny jsou jedinečnou iniciativou sjednocující mezinárodní spolupráci genetiků.

Literatura

1. Mascalzoni D, Knoppers BM, Aymé S, Macilotti M, Dawkins H, Woods S, et al. Rare diseases and now rare data? *Nat Rev Genet.* 2013 Jun;14(6):372–372.
2. Rohani-Montez SC, Bomberger J, Zhang C, Cohen J, McKay L, Evans WRH. Educational needs in diagnosing rare diseases: A multinational, multispecialty clinician survey. *Genetics in Medicine Open* [Internet]. 2025 Jan 4 [cited 2025 Apr 1];1(1). Available from: [https://www.gimopen.org/article/S2949-7744\(23\)00817-8/fulltext](https://www.gimopen.org/article/S2949-7744(23)00817-8/fulltext)
3. The Lancet Global Health. The landscape for rare diseases in 2024. *The Lancet Global Health.* 2024 Mar 1;12(3):e341.
4. Chakravorty S, Hegde M. Inferring the effect of genomic variation in the new era of genomics. *Hum Mutat.* 2018 Jun;39(6):756–73.
5. Braconi D, Nadwa H, Bernardini G, Santucci A. Omics and rare diseases: challenges, applications, and future perspectives. *Expert Review of Proteomics* [Internet]. 2025 Feb 23 [cited 2025 Apr 1]; Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14789450.2025.2468300>
6. Ilyas M, Mir A, Efthymiou S, Houlden H. The genetics of intellectual disability: advancing technology and gene editing. *F1000Res.* 2020;9:F1000 Faculty Rev-22.
7. Pyle J, Sy K, Vicente J, Chen J. Optical Genome Mapping. In: *Encyclopedia of Chemical Processing.* Taylor & Francis; 2019.
8. McGinn S, Gut IG. DNA sequencing - spanning the generations. *N Biotechnol.* 2013 May 25;30(4):366–72.
9. Aradhya S, Cherry AM. Array-based comparative genomic hybridization: clinical contexts for targeted and whole-genome designs. *Genet Med.* 2007 Sep;9(9):553–9.
10. Raksi A, Lam E, Velazquez-Muriel J, Zhang D, Miller N, Pang A, et al. Optical genome mapping capability expanded to enable detection of absence of heterozygosity. *Genetics in*

Medicine. 2022 Mar 1;24(3, Supplement):S245.

11. Flunkert J. Implementation of optical genome mapping in a cytogenetic clinical laboratory [Internet]. Technical Workshop Bionano Genomics; 2022 Mar 18. Available from: https://medicover-genetics.com/wp-content/uploads/2023/02/Bionano_Vortrag_GFH_2022.pdf
12. Genotyping Team, Cologne Center for Genomics, University of Cologne. Cologne Center for Genomics. 2022 [cited 2025 Apr 1]. Next Generation Cytogenomics. Available from: <https://ccg.uni-koeln.de/technologies/next-generation-cytogenomics>
13. Theisen A. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). Nature Education. 2008;1(1):45.
14. Wong ECC, Dietzen DJ, Bennett MJ, Haymond S, editors. Biochemical and Molecular Basis of Pediatric Disease. 5th edition. Waltham: Academic Press; 2021. 1168 p.
15. Ma N, Xi H, Chen J, Peng Y, Jia Z, Yang S, et al. Integrated CNV-seq, karyotyping and SNP-array analyses for effective prenatal diagnosis of chromosomal mosaicism. BMC Medical Genomics. 2021 Feb 25;14(1):56.
16. Groza T, Köhler S, Moldenhauer D, Vasilevsky N, Baynam G, Zemojtel T, et al. The Human Phenotype Ontology: Semantic Unification of Common and Rare Disease. Am J Hum Genet. 2015 Jul 2;97(1):111–24.
17. Linder JE, Bastarache L, Hughey JJ, Peterson JF. The Role of Electronic Health Records in Advancing Genomic Medicine. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2021 Aug 31;22:219–38.
18. Köhler S, Gargano M, Matentzoglou N, Carmody LC, Lewis-Smith D, Vasilevsky NA, et al. The Human Phenotype Ontology in 2021. Nucleic Acids Res. 2020 Dec 2;49(D1):D1207–17.
19. Knudson AG. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. PNAS. 1971 Apr 1;68(4):820–3.
20. Evans WR, Rafi I. Rare diseases in general practice: recognising the zebras among the horses. Br J Gen Pract. 2016 Nov 1;66(652):550–1.
21. Musilová A. NGS – analýza dat [Internet]. 2016 Dec 16 [cited 2025 Jan 4]; 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha. Available from: https://clip.lf2.cuni.cz/sites/clip/files/userfiles/2016_krouzek_analyzaNGSdat.pdf
22. Tang H, Thomas PD. Tools for Predicting the Functional Impact of Nonsynonymous Genetic Variation. Genetics. 2016 Jun;203(2):635–47.
23. Zhang K, Lin G, Han D, Han Y, Wang J, Shen Y, et al. An Initial Survey of the Performances of Exome Variant Analysis and Clinical Reporting Among Diagnostic Laboratories in China. Front Genet [Internet]. 2020 Nov 2 [cited 2025 Apr 6];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2020.582637/full>
24. Bodenreider O. Evaluating the Quality and Interoperability of Biomedical Terminologies. Technical Report to the LHNCBC Board of Scientific Counselors April 2018 [Internet]. 2018

[cited 2025 May 19]; Available from: <https://lhncbc.nlm.nih.gov/LHC-publications/pubs/EvaluatingtheQualityandInteroperabilityofBiomedicalTerminologies.html>

25. Köhler S, Doelken SC, Mungall CJ, Bauer S, Firth HV, Bailleul-Forestier I, et al. The Human Phenotype Ontology project: linking molecular biology and disease through phenotype data. *Nucleic Acids Res.* 2014 Jan;42(Database issue):D966-974.
26. Antoniou G, van Harmelen F. Web Ontology Language: OWL. In: Staab S, Studer R, editors. *Handbook on Ontologies* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2004 [cited 2025 Apr 6]. p. 67–92. (International Handbooks on Information Systems). Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-540-24750-0_4
27. Haendel MA, Chute CG, Robinson PN. Classification, Ontology, and Precision Medicine. *N Engl J Med.* 2018 Oct 11;379(15):1452–62.
28. Singleton MV, Guthery SL, Voelkerding KV, Chen K, Kennedy B, Margraf RL, et al. Phevor combines multiple biomedical ontologies for accurate identification of disease-causing alleles in single individuals and small nuclear families. *Am J Hum Genet.* 2014 Apr 3;94(4):599–610.
29. Bhattacharya A. The Importance of Medical Localization [Internet]. 2023. Available from: <https://www.linkedin.com/pulse/importance-medical-localization-avishek-bhattacharya/>
30. Maassen W, Legger G, Kul Cinar O, van Daele P, Gattorno M, Bader-Meunier B, et al. Curation and expansion of the Human Phenotype Ontology for systemic autoinflammatory diseases improves phenotype-driven disease-matching. *Front Immunol* [Internet]. 2023 Sep 12 [cited 2025 Apr 6];14. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1215869/full>