

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Doktorský studijní program v biomedicině

Studijní obor: Preventivní medicína a epidemiologie



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Anna Čechová

**Studium klinických, biochemických a molekulárně-genetických aspektů
vybraných dědičných metabolických poruch**

Dědičné poruchy glykosylace

**Study of clinical, biochemical and molecular genetic aspects of selected
inborn errors of metabolism**

Congenital disorders of glycosylation

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Honzík, Ph.D.

Praha, 2023

Prohlášení

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

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

V Praze dne:

MUDr. Anna Čechová

Identifikační záznam

ČECHOVÁ, Anna. *Studium klinických, biochemických a molekulárně-genetických aspektů vybraných dědičných metabolických poruch. [Study of clinical, biochemical and molecular genetic aspects of selected inborn errors of metabolism.]* Praha, 2023. 71 stran, 8 příloh. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu. Vedoucí závěrečné práce: prof. MUDr. Tomáš Honzík, PhD.

Souhrn

Dědičné poruchy glykosylace (congenital disorders of glycosylation, CDG) jsou novou rychle rostoucí a různorodou skupinou dědičných poruch metabolismu zahrnující více než 160 klinických jednotek, často jen s několika málo popsányými pacienty. Jako takové mohou být pro lékaře často diagnostickým oříškem a pro pacienty a jejich rodiny může být doba hledání diagnózy a správně nastavené péče zdlouhavá a zatěžující.

Tato práce si klade za cíl přispět k lepšímu popisu klinického průběhu a k zefektivnění klinických postupů u vybraných subtypů CDG a zároveň se snaží u několika pacientů s podezřením na CDG přispět k objasnění etiologie nemoci s cílem umožnit vhodnou péči a včasné genetické poradenství v postižených rodinách.

Výstupem práce je osm článků z toho sedm v impaktovaných časopisech. Jedná se o tři souhrny doporučených postupů, guidelines, zahrnující komplexní review literatury doplněnou o doporučení mezinárodní expertní skupiny pro diagnostiku a management nejčastějších či léčitelných subtypů CDG (PMM2-CDG, MPI-CDG a PGM1-CDG). Ty umožňují každému ošetřujícímu lékaři rychlou orientaci v tématu a pomáhají tak urychlení diagnostiky, omezení výskytu preventabilních komplikací a nadbytečných vyšetření. Se stejným cílem vznikla i review zaměřená na novinky v oblasti CDG v letech 2017-2020. Další článek shrnuje situaci PMM2-CDG pacientů v České republice. Nedílnou součástí práce jsou také dvě kazuistiky prvních českých pacientů s raritními subtypy SRD5A3-CDG a ALG3-CDG rozšiřující fenotypické i genotypické spektrum těchto onemocnění. Součástí doktorského studia byla také spolupráce na mezinárodní observační studii nejčastějšího subtypu PMM2-CDG, v rámci které jsme zatím publikovali doporučení pro prevenci adrenální insuficience, potenciálně život ohrožující komplikace tohoto onemocnění, a v přípravě jsou publikace další.

Disertační práce tak přispěla k lepšímu pochopení vybraných subtypů CDG a rozšíření známého fenotypického a genotypického spektra těchto poruch. Výsledky práce poskytují užitečné algoritmy pro lékaře, což umožňuje rychlejší diagnostiku, vhodnější péči a včasné genetické poradenství pro postižené rodiny. Další výzkum by měl směřovat především k hledání efektivních terapeutických možností pro PMM2-CDG, vzniku mezinárodního registru CDG pacientů a hledání pacientů s lehkými formami onemocnění.

Klíčová slova: vzácná onemocnění, dědičné poruchy metabolismu, dědičné poruchy glykosylace, CDG, deficit fosfomanomutázy 2, deficit fosfomanoizomerázy, deficit fosfoglukomutázy 1, SRD5A3-CDG, ALG3-CDG

Abstract

Congenital disorders of glycosylation (CDG) are a new, rapidly growing, and diverse group of inherited metabolic disorders comprising more than 160 clinical entities, often with only a few described patients. As such, they can often be a diagnostic challenge for physicians, and for patients and their families, the time to find a diagnosis and proper care can be lengthy and burdensome.

This doctoral thesis aims to contribute to a better description of the clinical course and to improve clinical management of selected subtypes of CDG. At the same time, it aims to elucidate the aetiology of the disease in several patients with suspected CDG to enable appropriate care and early genetic counselling in affected families.

The work has resulted in eight articles, seven of them in impacted journals. These are three guidelines, including recommendations of an international expert group on the diagnosis and management of the most common/treatable CDG subtypes (PMM2-CDG, MPI-CDG and PGM1-CDG). These allow each treating physician to get to know the topic quickly and thus help to speed up the diagnosis and to reduce the number of preventable complications and unnecessary examinations. With the same aim, we published a review focusing on new discoveries in the field of CDG in 2017-2020. The next article summarizes the situation of PMM2-CDG patients in the Czech Republic. Two published case reports of the first Czech patients with rare SRD5A3-CDG and ALG3-CDG subtypes expand the phenotypic and genotypic spectrum of these diseases. As a part of my doctoral study, I have also collaborated on an international observational study of the most common subtype PMM2-CDG, in which we have so far published recommendations for the prevention of adrenal insufficiency, a potentially life-threatening complication of this disease, and more publications are in preparation.

The dissertation thus contributed to a better understanding of selected CDG subtypes and to the expansion of the known phenotypic and genotypic spectrum of these disorders. The results of the thesis provide useful guidelines for clinicians, allowing faster diagnosis, more appropriate care and early genetic counseling for affected families. Further research should be focused on finding effective therapeutic options for PMM2-CDG, establishing an international registry of CDG patients, and finding patients with mild forms of those diseases.

Key words: rare diseases, inborn errors of metabolism, congenital disorder of glycosylation, CDG, PMM2-CDG, MPI-CDG, PGM1-CDG, SRD5A3-CDG, ALG3-CDG

Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala svému školiteli prof. MUDr. Tomáši Honzíkovi, PhD. za vědecké vedení, zajímavé příležitosti a osobní inspiraci západem pro vědu a pacienty. Za cenné vědecké, etické i jazykové podněty děkuji také milému Mgr. et Mgr. Tomáši Weissovi, PhD. Dále děkuji celému CDG týmu a to především RNDr. Haně Hansíkové, CSc. a RNDr. Nině Ondruškové, PhD. za inspirativní spolupráci. Práce by nemohla vzniknout také bez kolegů lékařů, sester a laboratorních pracovníků z Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu VFN a 1. LF UK. V neposlední řadě také velmi oceňuji spolupráci všech našich pacientů a jejich rodin a jejich ochotu pomáhat posouvat vědu vpřed. Velký dík za podporu a pochopení pro čas věnovaný vědě patří také celé mé rodině a dcerám.

Seznam zkratek:

ACTH	adrenokortikotropní hormon
ACTHR	receptor pro adrenokortikotropní hormon
AI	adrenální insuficience
ALG3	alfa-1,3-manosyltransferáza
ALS	acid-labile subunit
ALT	alaninaminotransferáza
ApoCIII	apolipoprotein C-III
AR	autosomálně recesivní
AST	aspartátaminotransferáza
AT	antitrombin
CBG	transkortin, z angl. corticoid binding globulin
CDG	dědičné poruchy glykosylace, z angl. „congenital disorders of glycosylation“
CDT%	podíl hypoglykosylovaných forem transferinu, z angl. "carbohydrate-deficient transferrin"
CK	kreatinkináza
CMP	cévní mozková příhoda
CNS	centrální nervová soustava
CRHR1	receptor 1 pro kortikoliberin
CT	počítačová tomografie, z angl. "computerized tomography"
DNA	deoxyribonukleová kyselina, z angl. deoxyribonucleic acid
DPM	dědičné poruchy metabolismu
EEG	elektroencefalografie
EMG	elektromyogram
EOSRD	časně nastupující těžká retinální dystrofie, z angl. early-onset severe retinal dystrophy
ERN	European Reference Network
FHM	familiární hemiplegická migréna
FSH	folikulostimulační hormon
GIT	gastrointestinální trakt
GPI	glykosylfosfatidylinositol
GSD	glykogenóza, z angl. glycogen storage disease
ID	intelektuální disabilita
IEF	izoelektrická fokusace

IGF-1	inzulinu podobný růstový faktor -1, z angl. Insulin-like Growth Factor 1
IGFBP3	vazebný globulin 3 pro inzulinu podobný růstový faktor -1
LB	počet živě narozených, z angl. "live birth"
Lipo Man-1-P	manóza-1-fosfátu inkorporovaného do liposomu
LLO	oligosacharid vázaný na lipid, z angl. „lipid-linked oligosaccharide“
MPI	manózofosfátizomeráza
MR	magnetická rezonance
NGS	sekvenování nové generace, z angl. next-generation sequencing
NHS	studie přirozeného průběhu onemocnění, z angl. "Natural History Study"
NPCRS	Nijmegenské pediatrické CDG hodnotící skóre, z angl. "The Nijmegen Paediatric CDG Rating Scale"
PC	protein C
PC 1/3	prohormon konvertáza 3
PGM1	fosfoglukomutáza 1
PLE	exudativní enteropatie, z angl. protein-losing enteropathy
PMM2	fosfomanomutáza 2
PMR	psychomotorická retardace
PMV	psychomotorický vývoj
PS	protein S
RTG	rentgen
SD-OCT	„spectral-domain“ optická koherenční tomografie
SIGN	Skotská meziuniverzitní skupina pro metodiku guidelines, z angl. "Scottish Intercollegiate Guidelines Network"
SLE	stroke-like epizody
SRD5A3	steroid 5 α -reduktáza 3
SUR1	sulfonylureový receptor 1
TBG	vazebný globulin pro tyroxin, z angl. thyroxine binding globulin
TIEF	izoelektrická fokusace transferinu
UDP	uridindifosfát
VVV	vrozená vývojová vada
XL	dědičnost vázaná na chromozom X, z angl. X-linked

Obsah

1. ÚVOD	11
1.1. DĚDIČNÉ PORUCHY METABOLISMU	11
1.2. DĚDIČNÉ PORUCHY GLYKOSYLACE (CDG, CONGENITAL DISORDERS OF GLYCOSYLATION)	12
1.2.1. Glykosylace	13
1.2.2. Prevalence CDG	14
1.2.3. Etiologie CDG	15
1.2.4. Patogeneze CDG	15
1.2.5. Klinické projevy CDG	16
1.2.6. Diagnostika CDG	17
1.2.7. Terapie CDG	19
1.2.8. CDG v České republice	19
1.2.9. Prevence CDG	21
1.2.10. Vybrané subtypy CDG	21
2. CÍLE PRÁCE	28
2.1. A) PŘÍSPĚT K LEPŠÍMU POPISU KLINICKÉHO PRŮBĚHU ONEMOCNĚNÍ A ZEFEKTIVNĚNÍ KLINICKÝCH POSTUPŮ U VYBRANÝCH SUBTYPŮ CDG A POMOCI TAK K OMEZENÍ VÝSKYTU PREVENTABILNÍCH KOMPLIKACÍ A NADBYTEČNÝCH VYŠETŘENÍ.	29
2.1.1. A1) Shrnout nové poznatky týkající se biochemických, klinických, diagnostických i terapeutických aspektů CDG a umožnit tak snadnější orientaci v tomto rychle se rozvíjícím tématu.	29
2.1.2. A2) Charakterizovat klinický průběh nejčastějšího subtypu PMM2-CDG, zpracovat soubor našich pacientů pro potřeby mezinárodní klinické studie a navrhnout efektivní postupy diagnostiky a klinického managementu tohoto onemocnění.	29
2.1.3. A3) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu MPI-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.	29
2.1.4. A4) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu PGM1-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.	30
2.2. B) PŘÍSPĚT K OBJASNĚNÍ ETIOLOGIE NEMOCI A ANALYZOVAT KLINICKÝ PRŮBĚH U PACIENTŮ S PODEZŘENÍM NA CDG S CÍLEM UMOŽNIT VČASNÉ GENETICKÉ PORADENSTVÍ V POSTIŽENÝCH RODINÁCH.	30
2.2.1. B1) Rozšířit spektrum znalostí a genotypické spektrum u onemocnění SRD5A3-CDG.	30
2.2.2. B2) Rozšířit spektrum znalostí a genotypické spektrum u onemocnění ALG3-CDG.	30
3. MATERIÁL A METODIKA	31
3.1. TÝKAJÍCÍ SE CÍLE A1) SHRNOU NOVÉ POZNATKY TÝKAJÍCÍ SE BIOCHEMICKÝCH, KLINICKÝCH, DIAGNOSTICKÝCH I TERAPEUTICKÝCH ASPEKTŮ CDG A UMOŽNIT TAK SNADNĚJŠÍ ORIENTACI V TOMTO RYCHLE SE ROZVÍJEJÍCÍM TÉMATU.	31
3.1.1. CDG 2017-2020 review	31
3.2. TÝKAJÍCÍ SE CÍLE A2) CHARAKTERIZOVAT KLINICKÝ PRŮBĚH NEJČASTĚJŠÍHO SUBTYPU PMM2-CDG, ZPRACOVAT SOUBOR NAŠICH PACIENTŮ PRO POTŘEBY MEZINÁRODNÍ KLINICKÉ STUDIE A NAVRHNOUT EFEKTIVNÍ POSTUPY DIAGNOSTIKY A KLINICKÉHO MANAGEMENTU TOHOTO ONEMOCNĚNÍ.	31
3.2.1. PMM2-CDG guidelines	31

3.2.2.	<i>Soubor pacientů zahrnutých do mezinárodní studie</i>	32
3.2.3.	<i>Soubor českých pacientů s PMM2-CDG.....</i>	32
3.3.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE A3) CHARAKTERIZOVAT KLINICKÝ PRŮBĚH LÉČITELNÉHO SUBTYPU MPI-CDG A NAVRHNOUT EFEKTIVNÍ POSTUPY DIAGNOSTIKY, KLINICKÉHO MANAGEMENTU A TERAPIE TOHOTO ONEMOCNĚNÍ	33
3.3.1.	<i>MPI-CDG guidelines.....</i>	33
3.4.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE A4) CHARAKTERIZOVAT KLINICKÝ PRŮBĚH LÉČITELNÉHO SUBTYPU PGM1-CDG A NAVRHNOUT EFEKTIVNÍ POSTUPY DIAGNOSTIKY, KLINICKÉHO MANAGEMENTU A TERAPIE TOHOTO ONEMOCNĚNÍ.	34
3.4.1.	<i>PGM1-CDG guidelines</i>	34
3.5.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE B1) ROZŠÍŘIT SPEKTRUM ZNALOSTÍ A GENOTYPICKÉ SPEKTRUM U ONEMOCNĚNÍ SRD5A3-CDG.	34
3.5.1.	<i>Pacient.....</i>	34
3.5.2.	<i>Oční vyšetření.....</i>	34
3.5.3.	<i>Izoelektrická fokusace transferinu.....</i>	34
3.5.4.	<i>Molekulárně-genetická analýza</i>	34
3.6.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE B2) ROZŠÍŘIT SPEKTRUM ZNALOSTÍ A GENOTYPICKÉ SPEKTRUM U ONEMOCNĚNÍ ALG3-CDG.	35
3.6.1.	<i>Pacient.....</i>	35
3.6.2.	<i>Oční vyšetření.....</i>	35
3.6.3.	<i>Izoelektrická fokusace transferinu.....</i>	35
3.6.4.	<i>Molekulárně-genetická analýza</i>	35
4.	VÝSLEDKY A DISKUZE	36
4.1.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE A1) PŘÍSPĚT K LEPŠÍMU POPISU KLINICKÉHO PRŮBĚHU ONEMOCNĚNÍ A ZEFEKTIVNĚNÍ KLINICKÝCH POSTUPŮ U VYBRANÝCH SUBTYPŮ CDG A POMOCI TAK K OMEZENÍ VÝSKYTU PREVENTABILNÍCH KOMPLIKACÍ A NADBYTEČNÝCH VYŠETŘENÍ.....	36
4.2.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE A2) CHARAKTERIZOVAT KLINICKÝ PRŮBĚH NEJČASTĚJŠÍHO SUBTYPU PMM2-CDG, ZPRACOVAT SOUBOR NAŠICH PACIENTŮ PRO POTŘEBY MEZINÁRODNÍ KLINICKÉ STUDIE A NAVRHNOUT EFEKTIVNÍ POSTUPY DIAGNOSTIKY A KLINICKÉHO MANAGEMENTU TOHOTO ONEMOCNĚNÍ.	40
4.3.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE A3) CHARAKTERIZOVAT KLINICKÝ PRŮBĚH LÉČITELNÉHO SUBTYPU MPI-CDG A NAVRHNOUT EFEKTIVNÍ POSTUPY DIAGNOSTIKY, KLINICKÉHO MANAGEMENTU A TERAPIE TOHOTO ONEMOCNĚNÍ	48
4.4.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE A4) CHARAKTERIZOVAT KLINICKÝ PRŮBĚH LÉČITELNÉHO SUBTYPU PGM1-CDG A NAVRHNOUT EFEKTIVNÍ POSTUPY DIAGNOSTIKY, KLINICKÉHO MANAGEMENTU A TERAPIE TOHOTO ONEMOCNĚNÍ.	53
4.5.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE B1) ROZŠÍŘIT SPEKTRUM ZNALOSTÍ A GENOTYPICKÉ SPEKTRUM U ONEMOCNĚNÍ SRD5A3-CDG.	55
4.6.	TÝKAJÍCÍ SE CÍLE B2) ROZŠÍŘIT SPEKTRUM ZNALOSTÍ A GENOTYPICKÉ SPEKTRUM U ONEMOCNĚNÍ ALG3-CDG.	57
5.	ZÁVĚRY A DOPADY PRÁCE.....	59
5.1.	KONKRÉTNÍ PŘÍNOSY PRÁCE.....	59
5.2.	PREVENTIVNÍ ASPEKTY PRÁCE.....	60
6.	ORIGINÁLNÍ ČLÁNKY AUTORKY	61
7.	POUŽITÁ LITERATURA	63
8.	PŘÍLOHY	71

1. Úvod

Ve svém studiu se zabývám dědičnými poruchami metabolismu (DPM), podskupinou vzácných onemocnění (tzv. rare diseases, orphan diseases). Evropskou komisí jsou vzácná onemocnění definována jako život ohrožující, závažně invalidizující nebo závažná a chronická onemocnění s prevalencí v populaci pod 5:10 000 obyvatel (Parliament and Union 2000). Zahrnují různorodou skupinu geneticky podmíněných chorob, dědičných poruch metabolismu, vzácných malignit včetně všech malignit dětského věku, ale i některých infekčních a autoimunních onemocnění. Celkem zahrnují asi 8000 klinických jednotek, čímž tvoří i přes nízkou prevalenci nezanedbatelnou položku v celkové morbiditě a mortalitě populace. Odhaduje se, že jimi v EU trpí 27-36 milionů obyvatel, což je 6-8 % populace (Aronson 2006).

1.1. Dědičné poruchy metabolismu

Dědičné poruchy metabolismu představují přes 1450 klinických jednotek (Ferreira et al. 2021) a ve skupině vzácných chorob představují téměř čtvrtinu známých onemocnění. Zahrnují i několik poměrně častých chorob jako jsou familiární dyslipidémie (s prevalencí až 1:80 (Brunham and Hegele 2021)), které nespádají mezi vzácná onemocnění. Dále mezi nejčastější DPM patří poruchy metabolismu aminokyselin (prevalence 14,7 /100 000 živě narozených (live birth, LB)), lysosomální strádavá onemocnění (prevalence 13,3 /100 000 LB), poruchy metabolismu organických kyselin (prevalence 8,7 /100 000 LB), mitochondriální poruchy (prevalence 8,2 /100 000 LB) a poruchy metabolismu mastných kyselin (prevalence 6,5 /100 000 LB) (Waters et al. 2018). Patofyziologicky se u těchto poruch nejčastěji jedná o geneticky podmíněný deficit enzymů či transportních proteinů vedoucí k hromadění toxických prekurzorů či chybění produktů. Dědičnost je nejčastěji autosomálně recesivní se zřejmým zvýšeným výskytem v populacích s vyšší parentální konsangvinitou (Evropa 50 /100 000 LB, Blízký východ 76 /100 000 LB) (Waters et al. 2018), ale uplatňuje se i autosomálně dominantní, dědičnost vázaná na chromozom X (XL) a maternální dědičnost. DPM se mohou manifestovat od prenatálního do dospělého věku nejrůznějšími projevy od akutního orgánového selhání přes nespecifické chronické celkové projevy (psychomotorická retardace, neprospívání, porucha růstu, aj.) po izolované orgánově specifické změny (hepatopatie, kostní dysplázie, aj.).

Vzhledem k zřejmým specifikům všech vzácných nemocí (omezený počet pacientů, nedostatek dat a znalostí, malý počet expertů, omezené terapeutické možnosti, aj.) vyžaduje jejich včasné odhalení a zahájení léčby nutné k omezení morbidity, mortality i poklesu kvality života pacientů

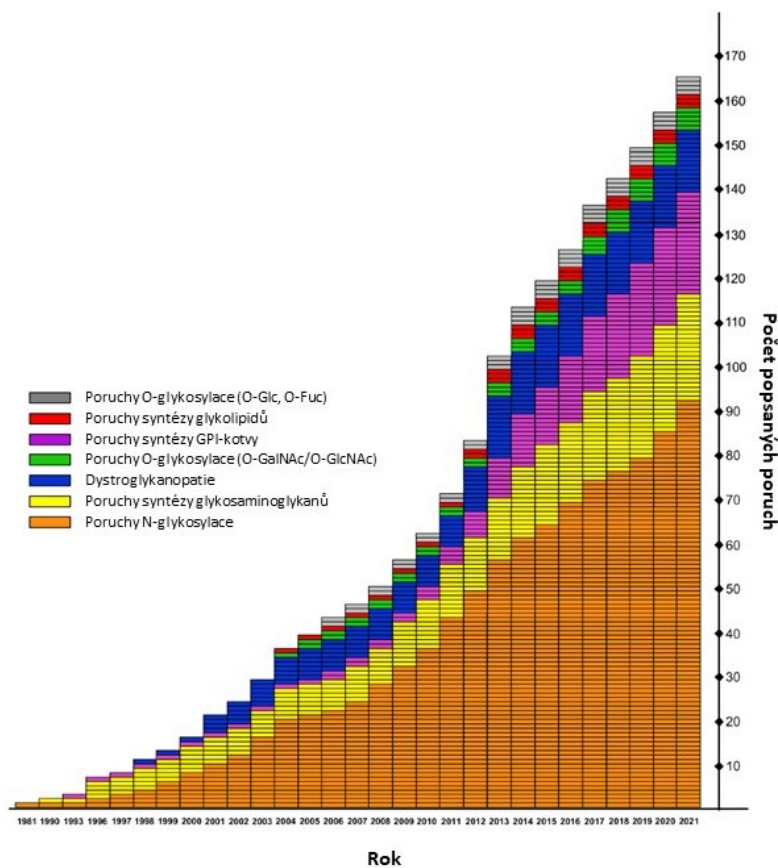
specifický přístup po lékařské i organizační stránce. Důležitým krokem je sdílení a šíření informací o těchto vzácných nemocech zahrnující osvětu v oblasti primární péče pro časnou diagnostiku, soustředění následné péče do specializovaných center, mezinárodní spolupráce v rámci specializovaných skupin European Reference Networks (ERN, např. MetabERN, <https://metab.ern-net.eu>) a sdílení dat mezi centry i státy EU díky registrům nemocí (např. European Registry and Network for Intoxication type Metabolic Diseases, www.e-imd.org).

Mezi další důležitá preventivní opatření patří laboratorní novorozenecký screening vybraných vzácných onemocnění. Celoplošné systematické testování novorozenců bylo na území ČR zahájeno screeningem fenylketonurie v roce 1975 (Blehova et al. 1976), následovalo r. 1985 zavedení screeningu kongenitální hypotyreózy (Hnikova et al. 1989), r. 2006 kongenitální adrenální hyperplázie (Votava et al. 2012) a r. 2009 cystické fibrózy (Sommerburg et al. 2014) spolu s 9 DPM (Chrastina et al. 2008). Počet testovaných chorob dnes zahrnuje 18 onemocnění vyšetřovaných ze suché krevní kapky - kongenitální hypotyreózu, kongenitální adrenální hyperplázii, cystickou fibrózu, fenylketonurii/hyperfenylalaninémii a další čtyři poruchy metabolismu aminokyselin, 3 organické acidurie, 6 poruch metabolismu mastných kyselin a deficit biotinidázy (Pešková et al. 2018). Jedná se o onemocnění, jejichž včasná diagnostika umožňuje předejít akutnímu život ohrožujícímu metabolickému rozvratu nebo nevratnému orgánovému poškození (obzvl. poškození CNS). Počet včasné zachycených případů byl v ČR mezi lety 2010 a 2017 celkově 767 (David et al. 2019).

Primární prevence se vzhledem ke genetické podstatě většiny zmiňovaných onemocnění omezuje na genetické poradenství v rodinách se známým rizikem onemocnění. Těmto rodinám můžeme nabídnout možnosti preimplantační genetické diagnostiky a prenatalní diagnostiky s případným ukončením těhotenství postiženého plodu či možností dárcovství gamet či adopce v případě vysokého rizika. Neméně důležité je také terciární prevence ve formě pravidelného sledování a edukace pacientů ohledně průběhu onemocnění a možných komplikací s prevencí relapsů a dekompenzací.

1.2. Dědičné poruchy glykosylace (CDG, congenital disorders of glycosylation)

Dědičné poruchy glykosylace jsou heterogenní a rychle se rozvíjející skupina DPM. Od svého objevení prof. Jaakem Jaekenem v roce 1980 (Jaeken et al. 1980) již bylo popsáno více než 160 jednotlivých subtypů CDG (Freeze et al. 2022; Ondruskova et al. 2021; Sosicka et al. 2022), které tvoří až 10 % všech klinických jednotek DPM (Obr. 1).



Obr. 1: Počet známých subtypů CDG. Graf ukazuje rychlý nárůst známých subtypů CDG od jejich prvního popsání v roce 1980 do současnosti. Barevně jsou odlišeny jednotlivé kategorie CDG. Upraveno dle (Sosicka et al. 2022).

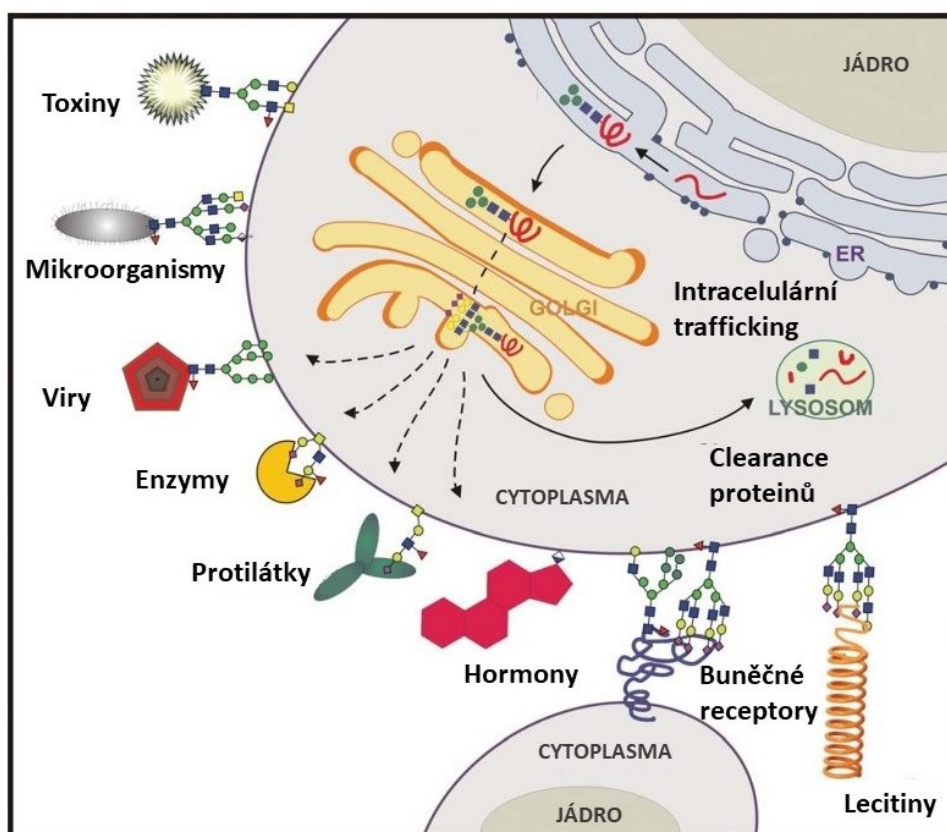
1.2.1. Glykosylace

Glykosylace je častým typem kotranslační a posttranslační úpravy proteinů (včetně syntézy více než poloviny plasmatických proteinů, glykosaminoglykanů, kolagenu, glykosylfosfatidylinositolové (GPI) kotvy a v širším smyslu i glykogenu) a lipidů (včetně syntézy glykosfingolipidů a gangliosidů). Jedná se o složitý proces, na kterém se podílí velké množství enzymů lokalizovaných v cytosolu, jádře, endoplasmatickém retikulu i Golgiho aparátu. Zahrnuje postupné kroky produkce glykosylačních substrátů, tvorby komplexních glykanových řetězců, transfer glykanů na cílový protein/lipid s následnými modifikacemi a exkreci do extracelulárního prostoru.

Glykosylaci proteinů dále dělíme dle typu vazby, kterou je glykan vázán na protein, a to na evolučně vysoce konzervovanou N-glykosylaci (glykosid vázán přes aminoskupinu

asparaginu) a variabilnější O-glykosylaci (glykosid vázán přes OH skupinu serinu, treoninu či hydroxyლისinu). Méně častými typy jsou C-manosylace (glykosid vázaný přes C-C vazbu tryptofanu) a glypiace neboli připojení GPI kotvy.

Glykoproteiny a glykolipidy mají řadu důležitých funkcí v mnoha tkáních a orgánech (Obr. 2) – kromě správné konformace, rozpustnosti, stability a lokalizace proteinů se jedná například o molekuly zajišťující mezibuněčnou a nitrobuňčnou signalizaci, imunologické rozpoznávání, vazbu cytoskeletu a extracelulární matrix či propustnost membrán.



Obr. 2: Přehled různých funkcí glykoproteinů. Upraveno dle (Defaus et al. 2014).

1.2.2. Prevalence CDG

CDG jsou celosvětově panetnický se vyskytující onemocnění. Souhrnná prevalence CDG není známá a odhady se výrazně liší - různé studie jí v Evropě odhadují na 1/20 000 (při odhadu dle prevalence přenašečů v populaci) (Schollen et al. 2000) až 0,1-0,5/100 000 (dle počtu diagnostikovaných pacientů) (Peanne et al. 2018).

Prevalence jednotlivých CDG subtypů není vzhledem k absenci registru těchto pacientů přesně známa, ale určitou představu poskytlo šetření, do kterého se v roce 2016 zapojilo 12 evropských laboratoří s 1350 CDG pacienty (Peanne et al. 2018). Beze sporu nejčastějším je deficit fosfomanomutázy 2 (PMM2-CDG) tvořící přibližně 2/3 případů (v souboru 834 pacientů, v literatuře více než 900 pacientů s enzymologicky/molekulárně-geneticky potvrzenou diagnózou) (Peanne et al. 2018). Dalšími běžnými subtypy jsou výrazně vzácnější ALG6-CDG (8 %, n=101), SRD5A3-CDG (3 %, n=43), ALG1-CDG (3 %, n=43) a MPI-CDG (3 %, n=36) (Peanne et al. 2018). CDG II jsou výrazně vzácnější a tvoří jen asi 6 % diagnostikovaných případů – nejběžnější jsou MAN1B-CDG (1,5 %, n=18) a COG7-CDG (1 %, n=10) (Peanne et al. 2018).

1.2.3. Etiologie CDG

Příčinou CDG je u téměř 90 % případů deficit různých glykosylačních enzymů – v polovině případů jde o transferázy, ale dále např. glykosidázy, deacylázy, mutázy, syntázy či multiproteinové enzymatické defekty. Méně časté jsou defekty transportérů, receptorů a chaperonů účastnících se glykosylačních procesů. (Jaeken and Peanne 2017)

Dědičnost je u většiny onemocnění autosomálně recesivní, a proto byla u části pacientů popsána konsangvinita. Malé množství podtypů je autosomálně dominantně (GANAB-CDG, PRKCSH-CDG, EXT1/EXT2-CDG, POFUT1-CDG, POGLUT1-CDG) či XL(ALG13-CDG, SSR4-CDG, PIGA-CDG, SLC35A2-CDG, ATP6AP1-CDG) dědičných. U onemocnění s autosomálně dominantní dědičností se obvykle jedná o *de novo* mutace (Chang et al. 2018).

1.2.4. Patogeneze CDG

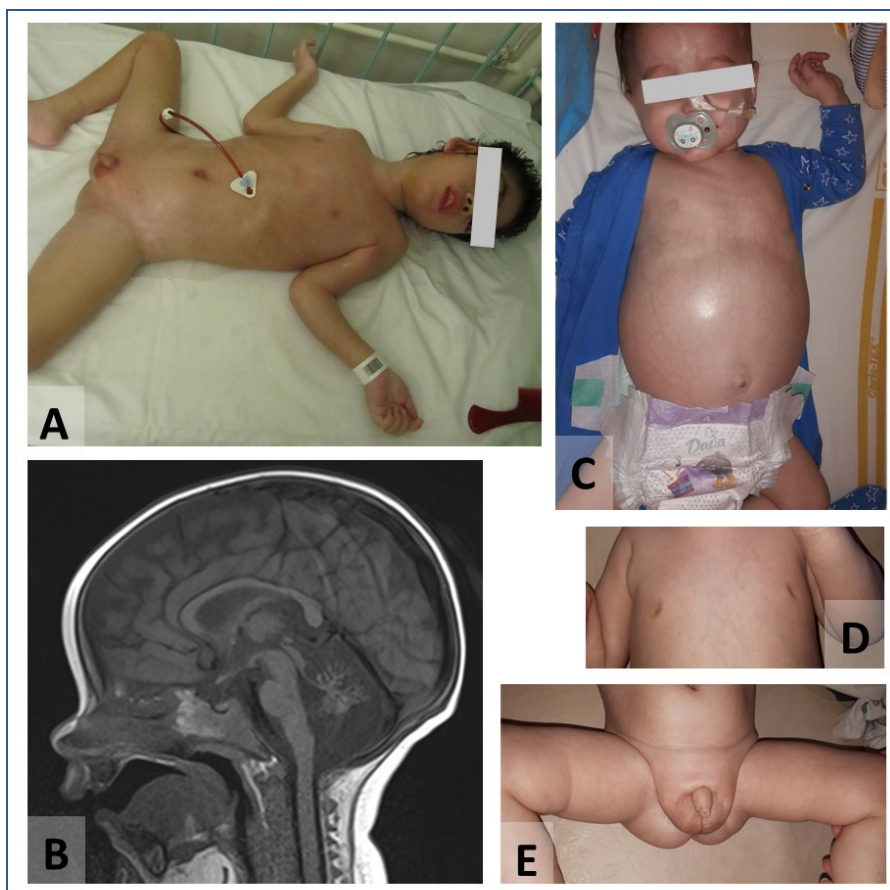
Vzhledem k množství proteinů dotčených glykosylací jsou patogenetické mechanismy mnohočetné a různorodé. Zahrnují například poruchy funkce enzymů (např. trombotické epizody v důsledku hypoglykosylace antitrombinu (Iijima et al. 1994), poruchy cílení proteinů a fetální migrace (např. poruchy neuronální migrace vedoucí k vrozeným vývojovým vadám mozku a epilepsii (Paprocka et al. 2021), poruchy funkce iontových kanálů (např. hypoglykosylace napěťově řízených kalciových kanálů v mozku a mozečku vedoucí k jejich zvýšené aktivitě a následně ataxii (Martinez-Monseny et al. 2019), poruchy funkce specifických receptorů (např. hypoglykosylace receptoru SUR1 vedoucí k hyperinsulinemickým

hypoglykémii (Conti et al. 2002)), poruchy funkce přenašečů a urychlené odbourávání molekul (např. urychlené odbourávání kortizolu v důsledku hypoglykosylace a malfunkce kortikoidního přenašeče transkortinu (CBG) (Simard et al. 2018) nebo poruchy mezibuněčných spojů (např. zhoršená soudružnost enterocytů z důvodů chybění glykoproteinů vedoucí k exudativní enteropatii (Liem et al. 2008). V mnoha případech jsou také přesné mechanismy obtíží dosud neznáme a předmětem studií.

1.2.5. Klinické projevy CDG

Defekty glykosylačních enzymů a souvisejících regulačních drah se mohou projevit širokou škálou příznaků na úrovni téměř jakékoliv orgánové soustavy. Nejčastěji se CDG projevují jako multisystémové onemocnění, i když existují i podtypy spojené např. s izolovanou kostní dysplázií (POGLUT1-CDG, POFUT1-CDG, CSGALNACT1-CDG a TRIP11-CDG), muskulárním (ALG2-CDG, ALG14-CDG, GFPT1-CDG), neurologickým (GALNT2-CDG a GPAA1-CDG), retinálním (DHDDS-CDG) či hepatálním postižením (MPI-CDG, TMEM199-CDG a VMA21-CDG) (Ferreira et al. 2018).

U multisystémových forem se téměř konstantně vyskytuje neurologické postižení (opoždění psychomotorického vývoje (Obr. 3A), epilepsie, cerebelární atrofie s neo- i paleo- cerebelárním syndromem (Obr. 3B), polyneuropatie, stroke-like epizody, aj.). Dále se často vyskytuje postižení jater (hepatopatie, fibróza a cirhóza, hepatomegalie a jaterní selhávání) (Obr. 3C), GIT (malabsorbce s neprospíváním, exudativní enteropatie s hypoalbuminemií, cyklické zvracení, aj.), endokrinní (hypoglykémie, hypotyreóza, porucha růstu, hypergonadotropní hypogonadismus, aj.), kostní (kostní deformity, osteoporóza, kostní dysplázie, aj.), koagulační (smíšená koagulopatie s krvácivými i trombotickými epizodami), kardiovaskulární (perikardiální výpotek, kardiomyopatie, poruchy rytmu, aj.), oční (pigmentová retinopatie, strabismus, nystagmus, refrakční vady, aj.), renální (mikrocystóza, aj.), muskulární (svalová dystrofie, svalová slabost, rhabdomyolýzy, aj.) a imunologické (časté infekce, imunodeficit, aj.). U řady podtypů CDG je také přítomná typická dysmorfie s atypickým rozložením tuku, vpáčenými bradavkami a nespecifickou kraniofaciální dysmorfii. (Obr. 3D, E)



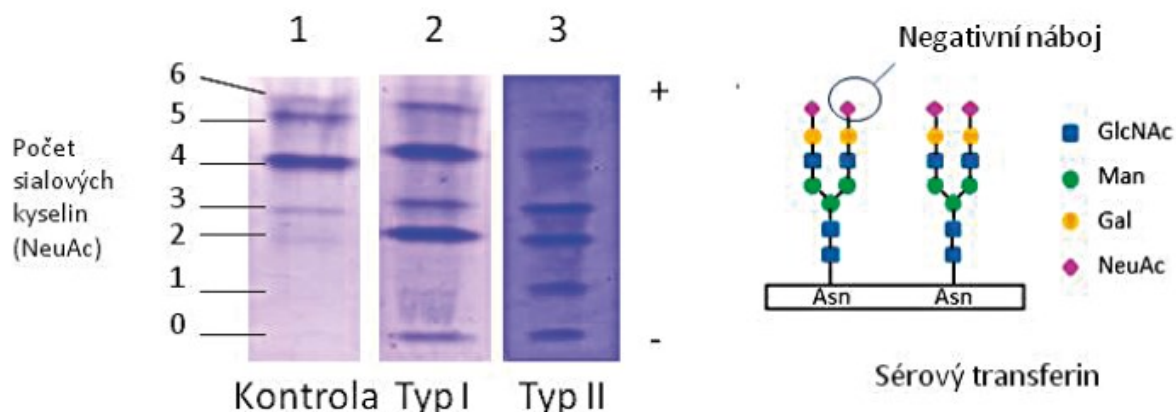
Obr. 3: Klinický obraz CDG. A) Praktická zástava psychomotorického vývoje u 5letého chlapce s NUS1-CDG. B) Jaterní selhání s hepatomegalií a ascitem u 11měsíčního chlapce s ATP6AP1-CDG. C) Významná atrofie mozečku u 10měsíčního chlapce s PMM2-CDG (MRI CNS sagitální projekce T1-vážený obraz). D), E) Invertace prsních bradavek a atypická distribuce tuku v oblasti genitálu a u 10měsíčního chlapce s PMM2-CDG. Zdroj: archiv prof. Honzíka, Radiodiagnostická klinika VFN a 1. LF UK.

Nástup onemocnění i jeho tíže se i v rámci jednoho subtypu může lišit od letálních novorozeneckých forem (Resende et al. 2014; Wurm et al. 2007) po téměř asymptomatické dospělé (Helander et al. 2014; Vuillaumier-Barrot et al. 2012).

1.2.6. Diagnostika CDG

Diagnostika CDG probíhá na několika úrovních. Screeningovou metodou je isoelektrická fokusace vybraných glykosylovaných sérových proteinů, kterou prokazujeme nízkosialylované

formy transferrinu (N-glykosylační poruchy) a ApoCIII (O-glykosylační poruchy) (de Koning, Dorland, et al. 1998; Jaeken et al. 1984). Na základě odlišného výsledného vzorce rozlišujeme 2 podtypy poruch N-glykosylace: CDG I (porucha syntézy tzv. lipid-linked oligosacharidu = LLO, zvýšení di- a asialotransferrinových proužků) a CDG II (porucha zpracování a sestřihu na protein vázaného LLO, zvýšení tri-, di-, mono- a asialotransferrinových proužků) (Obr. 4).



Obr. 4: Diagnostika CDG pomocí izoelektrické fokusace transferrinu (TIEF). U pacientů s CDG typu I (proužek 2) a CDG typu 2 (proužek 3) je ve srovnání s kontrolou (proužek 1) výrazně vyšší zastoupení nízkosialovaných forem transferrinu. Převzato z (Čechová et al. 2018).

Nízkosialylované formy transferrinu můžeme hodnotit také kvantitativně s využitím tekuté chromatografie pomocí stanovení tzv. poměru carbohydrate-deficient transferrinu (CDT%) (Helander et al. 2004), metody dříve používané k diagnostice chronického alkoholismu (Helander et al. 2016). Falešně pozitivní výsledky mohou být způsobené relativně častými polymorfismy transferrinu (Zuhlsdorf et al. 2015), které je v případě pozitivního nálezu třeba vyloučit preinkubací s neuramindázou (Hendriksz et al. 2001) či analýzou vzorků rodičů (Cechova et al. 2020). Diagnostika poruch syntézy GPI kotvy využívá analýzy povrchových GPI-vázaných proteinů granulocytů pomocí průtokové cytometrie (Knaus et al. 2018). Dalším slibným biomarkerem některých vzácných obtížně diagnostikovatelných subtypů (např. NUS1-CDG) mohou být isoformy dolicholu v moči analyzované pomocí kapalinové chromatografie a tandemové hmotnostní spektrometrie (Zdrzilova et al. 2020). Vzhledem k nízké specifitě těchto metod by diagnóza měla být vždy potvrzena a specifikována enzymologicky a molekulárně-geneticky. Vhodné je také provedení genetického poradenství a prenatální diagnostiky v postižených rodinách.

1.2.7. Terapie CDG

Přestože počet známých typů CDG rychle roste, efektivní terapie je známá jen u malé části z nich. V současné době byla popsána u 12 subtypů (Boyer et al. 2022; Ondruskova et al. 2021). U 7 subtypů se jedná o orální monosacharidovou substituční terapii - manóza u MPI-CDG (Niehues et al. 1998), galaktóza u PGM1-CDG (Tegtmeyer et al. 2014), SLC35A2-CDG (Dorre et al. 2015), SLC39A8-CDG (Park et al. 2015) a TMEM165-CDG (Morelle et al. 2017), fukóza u SLC35C1-CDG (Etzioni and Tonetti 2000), uridin u CAD-CDG (Ng et al. 2015) a mangan u SLC39A8-CDG (Park et al. 2018). U tří primárně myastenických chorob (GFPT1-CDG, ALG2-CDG, ALG14-CDG) je používána terapie inhibitory acetylcholinesterázy (Cossins et al. 2013; Senderek et al. 2011). U PIGM-CDG je využívána modulace transkripce pomocí sodium butyrátu (Almeida et al. 2009; Almeida et al. 2007). U nejčastějšího podtypu PMM2-CDG je se slibnými výsledky používána terapie acetazolamidem působícím změnu neuronální excitability pomocí inaktivace Ca²⁺ kanálů (Martinez-Monseny et al. 2019). Mezi další částečně efektivní léčebné modalitty se řadí také možnosti transplantací (např. jater u MPI-CDG a CCDC115-CDG, srdce u DOLK-CDG nebo kostní dřeně u PGM3-CDG (Jansen et al. 2016; Janssen et al. 2014; Kapusta et al. 2013; Stray-Pedersen et al. 2014)).

1.2.8. CDG v České republice

V Česku bylo od zavedení diagnostiky dosud diagnostikováno na molekulárně-genetické úrovni 124 pacientů s 29 různými subtypy CDG. Největší je skupina pacientů s nejběžnějším podtypem PMM2-CDG (28 případů) (Cechova et al. 2018), s FKRP-CDG s kongenitální muskulární dystrofií (26 případů) (Stehlikova et al. 2017) a s EXT1/EXT2-CDG s mnohočetnými exostózami (31 pacientů) (Medek et al. 2017). Ostatní subtypy jsou ojedinělé. (Tab. 1)

Tab. 1: CDG v České republice. Zastoupení jednotlivých subtypů CDG a konkrétní počty pacientů s molekulárně-geneticky potvrzenou diagnózou CDG sledovaných na našem pracovišti.

CDG v ČR (k 04/2023)	Počet pacientů
Porucha syntézy a interkonverze monosacharidů	
<i>S alterací primárně N-glykosylace</i>	
PMM2-CDG	28
PGM1-CDG	1
N-glykosylace	
<i>Poruchy syntézy LLO v procesu N-glykosylace</i>	
RFT1-CDG	2
ALG3-CDG	2
ALG8-CDG	1
ALG13-CDG	1
DPAGT1-CDG	1
<i>N-glykan transfer na protein</i>	
SSR4-CDG	1
<i>Porucha modifikace N-glykanů v Golgiho aparátu</i>	
MAN1B1-CDG	1
O-glykosylace	
<i>Alfa-dystryglykanopatie (O-Man glykosylace)</i>	
FKRP-CDG	26
POMT2-CDG	2
ISPD-CDG	1
CRPPA-CDG	1
<i>Porucha O-glykosylace via Glc</i>	
POGLUT1	1
<i>Porucha biosyntézy glykosaminoglykanů (O-Xyl glykosylace)</i>	
EXT1, EXT2-CDG	31
B3GAT3_CDG	1
B3GALT6-CDG	1
Poruchy biosyntézy GPI-kotvy	
PIGN-CDG	1
PIGV-CDG	1
Mnohočetné poruchy glykosylačních drah	
<i>Poruchy syntézy a utilizace dolicholu (dolichol-fosfátu)</i>	
SRD5A3-CDG	4
NUS1-CDG (Nogo-BR)	4
<i>Porucha syntézy nukleotidů a jejich transportu</i>	
GMPPB-CDG	1
SLC35A2-CDG	1
<i>Porucha funkce glykosyltransferáz či jejich mislokalizace</i>	
SLC37A4-CDG	1
<i>Poruchy vezikulárního transportu</i>	
TRAPPC11-CDG	3
SEC23B-CDG	2
<i>Golgi pH a iontová homeostáza</i>	
ATP6A1-CDG	2
SLC10A7-CDG	2
CELKEM pacientů / subtypů	124 / 29

1.2.9. Prevence CDG

Preventivní péče o pacienty s CDG zahrnuje především snahu o včasný záchyt, prevenci akutních dekompenzací (např. symptomatické hypoglykémie, trombotické a krvácivé ataky) i chronických komplikací (např. těžká osteoporóza s kostními deformitami) a genetické poradenství v postižených rodinách. Celoplošný screening CDG není zaveden; existuje sice poměrně jednoduchá screeningová metoda – isoelektrická fokusace transferrinu / ApoCIII, ale vzhledem k chybějící efektivní terapii u nejčastějších poruch není screeningově využívána, neboť by ani časné rozpoznání nevedlo k zabránění orgánového poškození. Probíhá výzkum ohledně možnosti screeningu léčitelného podtypu PGM1-CDG pomocí modifikované verze Beutlerova enzymatického testu (Tegtmeyer et al. 2014).

Pro prenatální diagnostiku CDG jsou nejčastěji využívány molekulárně-genetické metody. Biochemická diagnostika naráží na nedostatečnou spolehlivost isoelektrické fokusace transferrinu, která může být v prenatálním a neonatálním období falešně negativní až ve 20 % případů (Clayton et al. 1993; de Koning, Toet, et al. 1998; Stibler and Skovby 1994). Prenatální enzymatická diagnostika z amniocytů či buněk trofoblastu je možná, ale vzhledem k nízkým hladinám enzymu ve špatně kultivovatelných prenatálních tkáních jsou výsledky naopak často falešně pozitivní (Matthijs et al. 2004).

1.2.10. Vybrané subtypy CDG

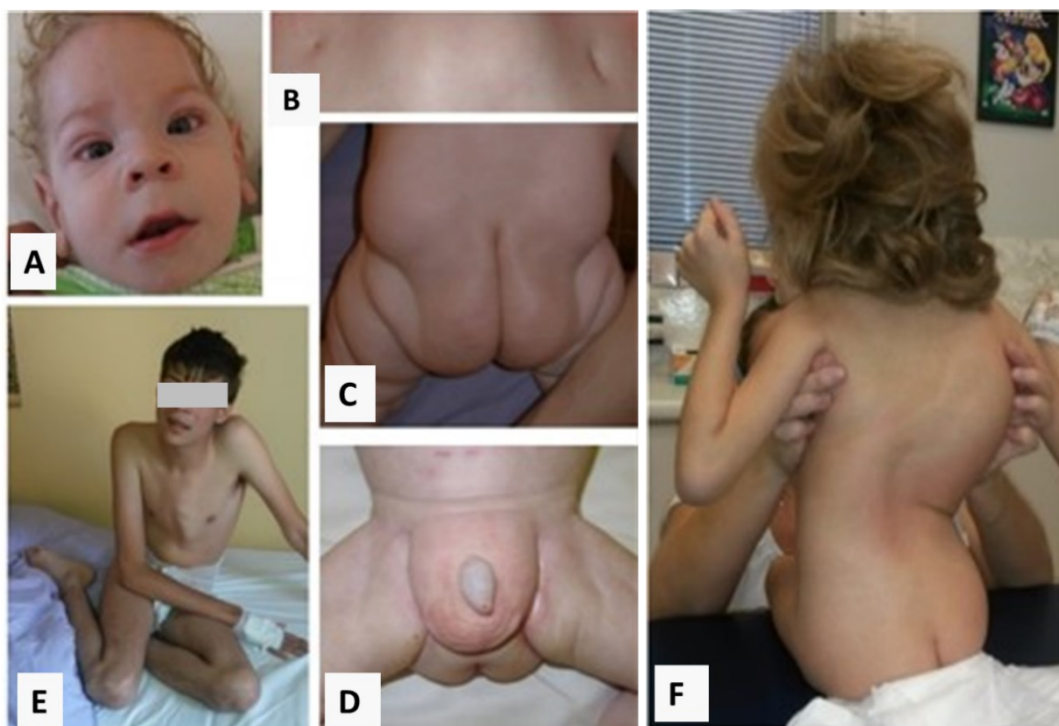
1.2.10.1. PMM2-CDG

Deficit fosfomanomutázy 2 (PMM2-CDG, CDG-Ia, MIM # 212065) je nejčastějším typem poruch N-glykosylace. Jedná se o autosomálně recesivně dědičné onemocnění vyskytující se panetnicky. Diagnóza PMM2-CDG byla molekulárně-geneticky či enzymologicky potvrzená u více než 900 pacientů, ale odhadovaná prevalence onemocnění je až 1:20 000 (Matthijs et al. 2000; Schollen et al. 2000). V Česku bylo dosud diagnostikováno 28 pacientů.

Příčinou onemocnění jsou mutace obou alel *PMM2* genu pro cytosolický enzym fosfomanomutázu 2. Pacienti jsou obvykle složení heterozygoti s nejčastější missense mutací R141H, homozygotní forma této mutace je zřejmě neslučitelná se životem (Matthijs et al. 1998; Vals et al. 2018). Biochemickou podstatou onemocnění je porucha přeměny manóza-6-fosfátu na manóza-1-fosfát (Man-1-P), který je důležitým prekurzorem pro syntézu oligosacharidu vázaného přes lipid (LLO, lipid-linked oligosaccharide). Následná hypoglykosylace postihuje

velké množství glykoproteinů včetně sérových, membránových a transportních proteinů. Narušené je také cílení proteinů projevující se například sníženou funkcí lysosomálních enzymů (Barone et al. 1998). Nebyla popsána žádná jasná souvislost mezi genotypem a fenotypem či reziduální enzymatickou aktivitou (Citro et al. 2018).

Klinicky se onemocnění projevuje širokou škálou příznaků a stupněm tíže od těžkého prenatálního postižení neslučitelného se životem po mírné formy manifestující se v dospělosti. Nejčastější je ale manifestace v kojeneckém věku hypotonií, strabismem (Obr. 5 B), opožděním vývoje, typickou dysmorfii – invertací mamil (Obr. 5 D) a atypickou distribucí tuku (Obr. 5 E, F), atrofii mozečku (Obr. 3 C) a koagulopatií. Mezi další časté symptomy patří epilepsie, kardiální postižení s perikardiálním výpotkem či kardiomyopatií, hepatomegalie s hepatopatií, koagulační poruchy a časté infekce. V dospělosti jsou nejčastější komplikace plynoucí z osteoporózy, kostních deformit (Obr. 5 A, C) a periferní neuropatie. Průběh onemocnění se může akutně komplikovat výskytem tzv. stroke-like epizod (ataka s fokálním neurologickým deficitem a někdy i alterací celkového stavu klinicky imitující cévní mozkovou příhodu, ale bez odpovídajícího neuroradiologického nálezu) či trombotických příhod obzvláště při probíhající infekci či dehydrataci (Dinopoulos et al. 2007; Pearl and Krasnewich 2001). Přestože bylo popsáno několik případů asymptomatických či oligosymptomatických dospělých (Giurgea et al. 2005; Noreau et al. 2014; Vuillaumier-Barrot et al. 2012), tak prognóza tohoto onemocnění je obvykle závažná.



Obr. 5: Klinický obraz PMM2-CDG u českých pacientů. A) kraniofaciální dysmorfie, strabismus, B) invertace mamil, C, D) atypická distribuce tuku v oblasti hýždí a genitálu, E) kostní deformity – pectus carinatum, F) kostní deformity – skolióza. Upraveno dle (Cechova et al. 2018).

Diagnostika onemocnění probíhá pomocí izoelektrické fokusace transferrinu ukazující nález typický pro CDG I. typu (Jaeken et al. 1997). Nutná je confirmace diagnózy stanovením snížené enzymatické aktivity PMM2 v leukocytech (Van Schaftingen and Jaeken 1995) a/nebo průkazem 2 patogenních mutací v genu *PMM2* (Schollen et al. 2007).

Účinná léčba všech příznaků PMM2-CDG dosud není známá. Orální ani intravenózní suplementace manózou se opakovaně ukázala neúspěšná (Grunert et al. 2019; Kjaergaard et al. 1998; Mayatepek and Kohlmuller 1998). V současné době probíhá farmakologický výzkum manóza-1-fosfátu inkorporovaného do liposomu (Lipo Man-1-P), nyní ve fázi I/II klinického výzkumu, který by mohl být slibný pro terapii alespoň některých symptomů (Brasil et al. 2018).

Slibné výsledky zatím ukazuje také výzkum epalrestatu, inhibitoru aldóza reduktázy používaného v některých zemích k léčbě diabetické neuropatie. V rámci hledání nových terapeutických možností metodou „drug repurposing“ se ukázalo, že krom efektu na neuropatii

(snížením oxidačního stresu, zvýšením hladiny glutathionu a snížením intracelulární akumulace sorbitolu) je epalrestat schopen ovlivňovat aktivitu fosfomanomutázy 2 a mohl by tak být kauzální terapií nejčastějšího subtypu PMM2-CDG (Iyer et al. 2019). Hodnocení účinnosti u prvního PMM2-CDG pacienta prokázalo zlepšení glykosylačního profilu i některých klinických obtíží – obzvláště ataxie a růstu (Ligezka et al. 2021). V tuto chvíli probíhá na Mayo Clinic v USA III. fáze klinické studie tohoto léku u 40 PMM2-CDG pacientů (NCT04925960, ClinicalTrials.gov), jejíž výsledky a možnosti rozšíření o další pacienty pečlivě sledujeme.

Další léčebnou modalitou je podávání acetazolamidu (běžně používaný k terapii glaukomu, nitrolební hypertenze a epilepsie), který prokázal určitý efekt na mozečkové příznaky, kognitivní a sociální dovednosti, koagulopatii a v prevenci stroke-like epizod (Martinez-Monseny et al. 2019).

1.2.10.2. MPI-CDG

Deficit manózofosfátizomerázy (MPI-CDG, CDG-Ib, MIM # 602579) je méně častý ale v mnohém jedinečný subtyp poruch N-glykosylace. Na rozdíl od většiny jiných CDG jsou neurologické projevy této poruchy minimální a intelekt pacientů normální. Jedná se také o jeden z mála dobře léčitelných subtypů s prokázaným efektem perorální manózy. Prevalence v populaci není známá.

Onemocnění je autosomálně recesivně dědičné a je způsobeno mutacemi v genu kódujícím cytosolický enzym manózofosfátizomerázu. Ten je zodpovědný za interkonverzi fruktóza-6-fosfátu na manóza-6-fosfát, krok glykosylace předcházející reakci katalyzované PMM2 a nezbytné pro využití manózových molekul k syntéze LLO. Přestože je tělo schopné produkt reakce, Man-1-P, získávat i z manózy obsažené ve stravě, není za normálních podmínek tento přísun dostatečný a glykosylační profil je neodlišitelný od PMM2-CDG (Niehues et al. 1998). Terapeuticky je ale velmi dobře možné této exogenní dráhy využít k suplementaci (Niehues et al. 1998; Rush et al. 2000).

MPI-CDG se dominantně projevuje v časném dětství triádou hepatálních (hepatální fibróza s hepatopatií), gastrointestinálních (exudativní enteropatie, hypoalbuminémie) a endokrinních projevů (hypoglykémie, porucha růstu) (Jaeken et al. 1998). Velmi časté jsou také koagulační poruchy s možnými trombotickými i krvácivými komplikacemi. Byli zachyceni také dva sourozenci manifestující se nezvykle v dospívání pod obrazem

idiopatického střevního zánětu (de la Morena-Barrio et al. 2019) a dva asymptomatictí dospělí zachycení v rámci pracovnělékařského screeningu alkoholismu (Helander et al. 2014).

Diagnostika se stejně jako u PMM2-CDG skládá z kombinace izoelektrické fokusace transferinu vykazujícího obraz CDG I. typu (Niehues et al. 1998) a confirmace pomocí enzymologických a/nebo molekulárně-genetických metod. Screening onemocnění není zaveden.

Terapie onemocnění spočívá v perorální substituci manózy v 4–5 denních dávkách a byl prokázán efekt na všechny klinické symptomy i biochemické parametry krom jaterního postižení (de Lonlay and Seta 2009; Sharma et al. 2014). V případě těžkého jaterního postižení a přidružených komplikací může být zvažována jaterní transplantace (Janssen et al. 2014). Z nežádoucích účinků byly popsány zažívací obtíže s ústupem po úpravě dávky (Niehues et al. 1998).

1.2.10.3. PGM1-CDG

Deficit fosfoglukomutázy 1 (PGM1-CDG, CDG-It, MIM # 614921) je dalším subtypem poruch N-glykosylace, který byl vzhledem ke svým klinickým projevům dlouho řazen mezi svalové glykogenózy (jako GSD XIV). Je to také jeden z mála subtypů, pro které je známá účinná terapie perorální galaktózou (Tegtmeyer et al. 2014). Prevalence v populaci není známá.

Příčinou onemocnění jsou autosomálně recesivně děděné mutace v genu pro fosfoglukomutázu 1. Jedná se o enzym, který katalyzuje interkonverzi glukóza-1-fosfátu na glukóza-6-fosfát a je zapojený do několika metabolických drah (N-glykosylace, glykolýza, glykogeneze a glykogenolýza) (Quick et al. 1974; Tegtmeyer et al. 2014). Vyskytuje se ve většině buněk a tkání kromě erytrocytů, které využívají izoenzym PGM2 (Tegtmeyer et al. 2014).

Klinicky se PGM1-CDG obvykle projevuje jako multisystémové onemocnění s kongenitálními malformacemi (Pierre-Robinova sekvence, rozštěp patra či uvuly), muskulárními symptomy (svalová slabost, chronická elevace CK, ataky rhabdomyolýz), dilatační kardiomyopatií, nekonstantní psychomotorickou retardací, atakami hypoglykemií, hepatopatií a koagulopatií. Hlavní příčinou mortality je u pacientů s PGM1-CDG srdeční zástava, která ve starším školním věku nastala u téměř 15 % publikovaných pacientů (Fernlund et al. 2019; Loewenthal et al. 2015; Tegtmeyer et al. 2014; Timal et al. 2012; Zeevaert et al. 2016). Nejčastěji nastala v

souvislosti s těžkou dilatační kardiomyopatií, ale byly popsány i případy bez dříve zachycené kardiální patologie (Fernlund et al. 2019; Tegtmeier et al. 2014).

Základem diagnostiky je izoelektrická fokusace transferrinu, která vykazuje neobvyklý smíšený obraz CDG I/II pozorovaný dosud pouze u PGM1-CDG. Je nejspíše způsoben kombinací deplece UDP-glukózy a UDP-galaktózy, důležitých glykosylačních prekurzorů různých kroků glykosylace (Radenkovic et al. 2019). Konfirmace opět spočívá v enzymologické a molekulárně-genetické diagnostice. Ani u PGM1-CDG dosud nebyla prokázána korelace fenotypu s reziduální enzymatickou aktivitou či nalezenými mutacemi. Vzhledem k léčitelnosti této choroby probíhají výzkumy ohledně presymptomatického screeningového testu PGM1-CDG; testovaná je modifikovaná verze Beutlerova enzymatického testu používaného v některých zemích k diagnostice galaktosémie ze suché kapky (Tegtmeier et al. 2014).

Perorální substituce galaktózou prokázala u více než 20 pacientů efekt na podstatnou část klinických obtíží (muskulární symptomy, hypoglykémie a opožděná puberta), glykosylační profil i ostatní biochemické abnormality (Nolting et al. 2017; Radenkovic et al. 2019; Schrapers et al. 2016; Tegtmeier et al. 2014; Wong et al. 2017). Galaktóza nemá efekt na kardiální postižení, a proto je u pacientů se srdečním selháváním indikovaná transplantace srdce (Tegtmeier et al. 2014). Nežádoucí účinky jsou vzácné a reagují na snížené terapeutické dávky (Zeevaert et al. 2016).

1.2.10.4. SRD5A3-CDG

Deficit steroid 5α -reduktázy 3 (SRD5A3-CDG, CDG-Iq, MIM # 612379) je autosomálně recesivně dědičné onemocnění, které navzdory jménu není způsobeno defektem v metabolismu steroidních hormonů, ale postihuje vícečetné glykosylační dráhy (N-glykosylace, O- a C-manosylace). Prevalence není známá; dosud bylo publikováno 38 geneticky potvrzených případů (Jaeken et al. 2020), z toho jeden český pacient (Kousal et al. 2019).

Biochemickou podstatou je deficit enzymu lokalizovaného na membráně endoplasmatického retikula, který katalyzuje přeměnu polyprenolu v dolichol (Cantagrel et al. 2010). Ten tvoří lipidovou kotvu pro syntetizovaný glykanový řetězec, LLO.

Klinicky se onemocnění nejčastěji projevuje kombinací psychomotorické retardace a dalších neurologických (ataxie, mozkové malformace), očních (nystagmus, slabozrakost, kolobomy,

dystrofie retiny) a kožních symptomů (hyperpigmentace, hypertrichóza, ichthyóza). Méně časté jsou kardiální defekty, obtížné krmení, hepatosplenomegalie s hepatopatií, deformity hrudníku, hypothyreóza a koagulopatie. (Jaeken et al. 2020; Kousal et al. 2019)

Diagnostika je založena na izoelektrické fokusaci transferrinu s obrazem CDG I. typu (Cantagrel et al. 2010). Na molekulárně-genetické úrovni prokazujeme přítomnost mutací obou alel genu *SRD5A3*. Enzymologická diagnostika ani účinná terapie není dostupná.

1.2.10.5. ALG3-CDG

Deficit alfa-1,3-manosyltransferázy (ALG3-CDG, CDG-Id, MIM # 601110) je vzácným podtypem poruch N-glykosylace s 30 dosud publikovanými pacienty (Barba et al. 2016; Paketci et al. 2020; Stibler et al. 1995).

Příčinou onemocnění jsou autosomálně recesivně dědičné onemocnění způsobené deficitem enzymu alfa-1,3-manosyltransferázy, který katalyzuje jeden z kroků syntézy LLO (Korner et al. 1999). Důsledkem je glykosylace defektními oligosacharidovými řetězci s neúplným obsazením glykosylačních míst, která se při izoelektrické fokusaci transferrinu zobrazuje jako zvýšené množství disialovaných (ale ne asialovaných) forem (Korner et al. 1999; Stibler et al. 1995).

Fenotyp onemocnění je u všech publikovaných pacientů velmi těžký. Často se projevuje již před narozením mnohočetnými vývojovými vrozenými vadami (VVV srdce, CNS, urogenitální, deformity končetin, kostní dysplázie, výrazná dysmorfie) a velká část pacientů umírá již v novorozeneckém věku (Bian et al. 2020). Ostatní se manifestují v novorozeneckém či kojeneckém věku obtížně kompenzovatelnou epilepsií, opožděním až zástavou psychomotorického vývoje, poruchou zraku a sluchu, poruchou růstu a obtížemi s krmením s neprospíváním (Himmelreich et al. 2019); nejstaršímu žijícímu pacientovi je 21 let (Riess et al. 2013).

Diagnostika je založena na izoelektrické fokusaci transferrinu s obrazem CDG I. typu (Korner et al. 1999; Stibler et al. 1995) a na chromatografické analýze LLO (Korner et al. 1999). Vhodné je doplnění průkazu mutací v genu *ALG3* u pacientů i rodičů. Kauzální terapie není známá, ke kompenzaci epilepsie může pomoci ketogenní dieta (Paketci et al. 2020).

2. Cíle práce

Dědičné poruchy glykosylace jsou v posledních letech rychle se rozvíjející skupinou onemocnění. Každoročně je identifikováno několik nových subtypů CDG, často bez specifického klinického obrazu a s celosvětově jen několika málo známými pacienty. Přirozený průběh většiny onemocnění (obzvláště v dospělém věku) stejně jako řada patomechanismů nejsou dosud plně objasněny a účinná terapie existuje jen pro několik málo subtypů. U řady podtypů se očekává množství dosud nediodagnostikovaných pacientů, např. v České republice bylo dosud diagnostikováno přes 124 pacientů s 28 různými subtypy CDG, ale některé častější subtypy (např. ALG6-CDG, ALG1-CDG, MPI-CDG) nebyly dosud zachyceny.

V této situaci je pro urychlení diagnostiky, prevenci komplikací, racionální specializovanou dispenzarizaci, rozšiřování terapeutických možností a genetické poradenství v rodinách klíčová centralizace péče do specializovaných pracovišť s odpovídajícími možnostmi klinické, biochemické a genetické diagnostiky, mezinárodní spolupráce metabolických center s důrazem na sdílení dat a zkušeností v oblasti diagnostiky a terapie a v neposlední řadě osvěta základních symptomů těchto vzácných onemocnění mezi lékaři první linie.

V souladu s těmito potřebami se tato práce zaměřuje na rozšíření znalostí přirozeného průběhu onemocnění jak v naší kohortě pacientů s CDG, tak na základě analýzy literatury a dat mezinárodní sítě metabolických center. U nejčastějšího podtypu PMM2-CDG je důležitým cílem zpracování klinických informací pro potřeby probíhající klinické studie, která v blízké budoucnosti vyvrcholí intervenční studií s využitím nové terapeutické molekuly Lipo Man-1-P a epalrestatu. Dalším úkolem je zefektivnění klinických postupů, a tak omezení nadbytečných vyšetření a výskytu preventabilních komplikací. Dílčím cílem je publikování jedinečných kazuistik našich pacientů rozšiřující znalosti vzácných metabolických chorob i známé genotypické spektrum.

Očekávaným celkovým přínosem projektu je lepší záchyt pacientů s dědičnými poruchami glykosylace, jejich rychlejší a efektivnější diagnostika a v případě léčitelných subtypů i jejich včasná léčba. Vzhledem k nedostupnosti plošného screeningu, charakteru dědičnosti a průběhu CDG lze nicméně očekávat především zlepšení sekundární prevence u pacientů a nabídnutí prenatální diagnostiky v postižených rodinách.

Na základě těchto skutečností jsme si stanovili následující cíle práce:

2.1. A) Přispět k lepšímu popisu klinického průběhu onemocnění a zefektivnění klinických postupů u vybraných subtypů CDG a pomoci tak k omezení výskytu preventabilních komplikací a nadbytečných vyšetření.

2.1.1. A1) Shrnout nové poznatky týkající se biochemických, klinických, diagnostických i terapeutických aspektů CDG a umožnit tak snadnější orientaci v tomto rychle se rozvíjícím tématu.

CDG je rychle se rozvíjející skupinou onemocnění s rychle rostoucím počtem subtypů, známých patomechanismů, diagnostických a terapeutických možností a fenotypickým a genotypickým spektrem subtypů již známých. I pro odborníka je tak těžké udržet si přehled o všech novinkách, a proto jsou u tohoto tématu důležité pravidelné review. V rámci této práce jsme zpracovali nově publikované poznatky v období 2017-2020.

2.1.2. A2) Charakterizovat klinický průběh nejčastějšího subtypu PMM2-CDG, zpracovat soubor našich pacientů pro potřeby mezinárodní klinické studie a navrhnout efektivní postupy diagnostiky a klinického managementu tohoto onemocnění.

PMM2-CDG je s více než 900 popsányými pacienty poměrně dobře známým onemocněním. Přesto dosud chybí dostatek informací o průběhu onemocnění v dospělosti, souhrnné údaje o výskytu méně typických příznaků i jasná doporučení pro diagnostiku a management onemocnění a jeho komplikací.

V rámci práce také plánujeme zpracování dat našich pacientů s PMM2-CDG pro potřeby mezinárodní multicentrické prospektivní studie dvanácti evropských a amerických center. V plánu je zapojení velké části pacientů sledovaných s tímto onemocněním na naší klinice (17/24 žijících). Vzhledem k tomu, že v rámci studie je v budoucnu plánováno testování léčby molekulou lipo-manóza-1-fosfát (Lipo Man-1-P) a epalrestatu, je znalost přirozeného průběhu onemocnění nezbytná i do budoucna pro hodnocení efektu vyvíjené léčby.

2.1.3. A3) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu MPI-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.

MPI-CDG je vzácným subtypem CDG, ale také jeden z mála subtypů, u kterých je známá efektivní terapie. Z tohoto důvodu je klíčové detailně toto onemocnění popsat a připravit

doporučený postup klinické péče, který by umožnil co nejrychlejší diagnostiku a zahájení terapie u dotčených pacientů.

2.1.4. A4) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu PGM1-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.

Stejně tak PGM1-CDG je vzácným ale léčitelným subtypem CDG s dominantně neuromuskulární symptomatologií. Při popisu tohoto onemocnění a přípravě doporučeného postupu klinické péče můžeme vycházet také ze zkušenosti, které s tímto onemocněním máme.

2.2. B) Přispět k objasnění etiologie nemoci a analyzovat klinický průběh u pacientů s podezřením na CDG s cílem umožnit včasné genetické poradenství v postižených rodinách.

2.2.1. B1) Rozšířit spektrum znalostí a genotypické spektrum u onemocnění SRD5A3-CDG.

2.2.2. B2) Rozšířit spektrum znalostí a genotypické spektrum u onemocnění ALG3-CDG.

Dílním cílem je publikování jedinečných kazuistik našich pacientů rozšiřující znalosti vzácných metabolických chorob i známé genotypické spektrum. Jedná se konkrétně o první českou pacientku se SRD5A3-CDG, u které je přítomná časná retinální dystrofie jako možný patognomický příznak tohoto onemocnění, a o první českou pacientku s ALG3-CDG, s potenciálně diagnostickým profilem IEF transferrinu.

3. Materiál a metodika

Detailní popis materiálů a metodiky je uveden v příložených originálních článcích (sekce Přílohy).

3.1. Týkající se cíle A1) Shrnout nové poznatky týkající se biochemických, klinických, diagnostických i terapeutických aspektů CDG a umožnit tak snadnější orientaci v tomto rychle se rozvíjejícím tématu.

3.1.1. CDG 2017-2020 review

Provedli jsme systematickou review literatury (celkem 157 článků) se zaměřením na nové poznatky týkající se CDG, obzvláště nově publikované subtypy (81 článků), patomechanismy (18 článků), diagnostické markery (5 článků), nové fenotypy (15 článků), terapeutické možnosti (35 článků) a souhrn závěrů recentně publikovaných guidelines (3 články). K review literatury byla využita především databáze PubMed s danými klíčovými slovy („CDG“, „congenital disorder of glycosylation“, „new subtype“, „novel mechanism“, „novel phenotype“, „treatment“, „guidelines“) a časovým ohraničením publikací 1/2016-1/2020.

3.2. Týkající se cíle A2) Charakterizovat klinický průběh nejčastějšího subtypu PMM2-CDG, zpracovat soubor našich pacientů pro potřeby mezinárodní klinické studie a navrhnout efektivní postupy diagnostiky a klinického managementu tohoto onemocnění.

3.2.1. PMM2-CDG guidelines

V rámci přípravy guidelines pro diagnostiku a management PMM2-CDG jsme nejprve provedli systematickou review relevantní literatury (celkem 177 článků) publikované od prvního popisu do prosince 2017. K vyhledávání byla využita především databáze PubMed s předem specifikovanými hledanými pojmy („carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome“, „congenital disorder of glycosylation, type Ia“, „PMM2“, „PMM2-CDG“, „phosphomannomutase 2 deficiency“, „Jaeken syndrome“). Literatura byla následně klasifikována dle metodologie Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) od 1++ (vysoce kvalitní metaanalýzy s nízkým rizikem bias) do 4 (názor expertů). Vzhledem k charakteru onemocnění se z většiny jednalo o neanalytické práce s nižší úrovní důkazů – o kazuistiky (56), série kazuistik (51) a v menší míře o větší retrospektivní studie (44) a review

(5). Na základě literárně podložených důkazů a klinických zkušeností mezinárodní skupiny 54 expertů byla následně formulována jasná doporučení, která byla také klasifikována dle míry spolehlivosti (GRADE) od A (tvrzení založená na literatuře hodnocené 1+ či 1++) do D (tvrzení založená na neanalytických studiích a názorech expertů). Vzhledem k výše uvedenému se v našem případě jednalo výhradně o tvrzení se stupněm spolehlivosti C a D.

3.2.2. Soubor pacientů zahrnutých do mezinárodní studie

Jedná se o soubor pacientů zapojených do probíhající mezinárodní multicentrické studie Přírozeného průběhu onemocnění PMM2-CDG (Natural History Study, NCT03173300), které se účastní 11 metabolických center (8 v Evropě, 3 v USA). Celkem je v rámci této studie sledováno 139 pacientů, z toho 17 pacientů na naší klinice, dosud po dobu 4 let. Vstupními kritérii studie jsou biochemicky, enzymologicky a/nebo molekulárně-geneticky potvrzené onemocnění PMM2-CDG a ochota podstoupit požadovaná vyšetření a kontroly dle schématu studie. Studie v tuto dobu probíhá 4 roky a pacienti jsou sledováni každých 6 měsíců včetně kompletního klinického vyšetření, růstových parametrů, hodnocení vývoje klinického skóre (The Nijmegen Paediatric CDG Rating Scale, NPCRS), sledování jaterních a kardiálních funkcí, kostní denzity a očního vyšetření.

3.2.2.1. Studie rizika adrenální insuficience

Do studie zaměřené na riziko adrenální insuficience (AI) u PMM2-CDG pacientů byla zařazena subkohorta 43 pacientů z NHS studie (23 mužů, věk 0,1-48,6 let s mediánem 13,2 let) s dostupnými výsledky hladin dopoledního ACTH a kortizolu, z toho 17 pacientů z našeho sledování. Vybraní pacienti se zvýšeným rizikem AI podstoupili nízkodávkovaný ACTH stimulační test.

3.2.3. Soubor českých pacientů s PMM2-CDG

V letech 2002-2018 bylo na naší klinice diagnostikováno 22 pacientů s PMM2-CDG (13 dívek, 9 chlapců). Věkový rozptyl žijících pacientů v době studie byl 9 měsíců až 29 let s mediánem 14 let, 2 pacienti zemřeli v kojeneckém věku. V kohortě se vyskytly 3 sourozenecké dvojice, všichni pacienti jsou kavkazského etnika a příbuzenské svazky se v žádné rodině nevyskytly.

V rámci studie jsme u pacientů retrospektivně hodnotili klinický obraz (včetně věku a projevů při nástupu onemocnění a rozvoje následných komplikací), laboratorní parametry (jaterní testy, koagulační parametry včetně hladin AT, PC, f. VIII a f. XI, thyroideální a pohlavní hormony, svalové markery), zobrazení CNS (17 pacientů MR CNS, 2 pacienti CT CNS), hodnocení kostní

denzity (9 pacientů denzitometrie, 3 RTG známky osteoporózy), kardiologické vyšetření (21/22 pacientů) a EMG (12/22 pacientů).

3.2.3.1. Odběr materiálu

Od pacientů byly odebrány vzorky periferní krve a u vybraných pacientů (8/22) bioptické kožní vzorky k biochemické, metabolické, enzymologické a molekulárně-genetické analýze.

3.2.3.2. Izoelektrická fokusace transferinu

Jako screeningová metoda byla použita izoelektrická fokusace transferinu (TIEF) dle standardní metodiky (van Eijk and van Noort 1992).

3.2.3.3. Stanovení enzymatické aktivity

Enzymatická aktivita fosfomanomutázy (PMM) a manózofosfátizomerázy (MPI) byla vyšetřována dle modifikované standardní metodiky v izolovaných lymfocytech a fibroblastech (Hansíková et al. 2016). Lymfocyty byly použity u 17 pacientů a fibroblasty u 8 pacientů – z toho u 6 pacientů je k dispozici kombinace obou metod.

3.2.3.4. Molekulárně-genetické vyšetření

K potvrzení diagnózy byla provedena u všech pacientů provedena molekulárně-genetická analýza všech exonů a přilehlých intronů genu *PMM2* (ENSG00000140650, ENST00000268261) metodou přímého sekvenování. Nalezené mutace byly následně potvrzeny i analýzou DNA obou rodičů.

3.3. Týkající se cíle A3) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu MPI-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.

3.3.1. MPI-CDG guidelines

Nejprve jsme především s pomocí databáze PubMed s předem specifikovanými hledanými pojmy („MPI-CDG”, „CDG-Ib”, „phosphomannose isomerase deficiency”, „congenital disorders of glycosylation”, „phosphomannose isomerase”, „MPI”; „congenital disorders of glycosylation“, „failure to thrive”, „coagulopathy”, „PLE”, „hypoglycaemia“) provedli systematickou review relevantní literatury publikované do listopadu 2018. Identifikovali jsme 58 relevantních článků, které byly následně klasifikovány dle metodologie SIGN (detailněji v kapitole 3.2.3.) – vzhledem k raritě onemocnění se z většiny jednalo o zdroje s nízkou evidencí (kazuistiky a série případů). Následně subtýmy 21 klinicky i laboratorně zaměřených

expertů formulovaly resumé a doporučení pro diagnostiku, management i terapii tohoto onemocnění. Doporučení byla opět klasifikována dle míry evidence (téměř výhradně C, D).

3.4. Týkající se cíle A4) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu PGM1-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.

3.4.1. PGM1-CDG guidelines

Nejprve jsme pomocí databáze PubMed s předem specifikovanými hledanými pojmy („carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome“, „congenital disorder of glycosylation type It“, „PGM1-CDG“, „phosphoglucomutase 1 deficiency“) provedli systematickou review relevantní literatury publikované do prosince 2019. Identifikovali jsme 35 relevantních článků (především kazuistiky a série případů), které byly následně klasifikována dle metodologie SIGN (detailněji v kapitole 3.2.3.). Následně subtýmy 36 expertů formulovaly resumé a doporučení pro diagnostiku, management i terapii tohoto onemocnění. Doporučení byla opět klasifikována dle míry evidence.

3.5. Týkající se cíle B1) Rozšířit spektrum znalostí a genotypické spektrum u onemocnění SRD5A3-CDG.

3.5.1. Pacient

12letá pacientka byla od narození vyšetřovaná pro susp. dědičnou poruchu metabolismu (opoždění psychomotorického vývoje, ataxie, oční patologie, dysmorfie).

3.5.2. Oční vyšetření

Oční vyšetření zahrnovalo vyšetření zrakové ostrosti, očního pozadí s autofluorescenčním zobrazením (BluePeak blue laser fundus imaging, Spectralis, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany) a „spectral-domain“ optickou koherenční tomografií (SD-OCT).

3.5.3. Izoelektrická fokusace transferinu

Izoelektrická fokusace transferinu byla provedena dle dříve popsané metodiky (Guillard et al. 2011).

3.5.4. Molekulárně-genetická analýza

DNA bylo izolováno z izolovaných leukocytů pacientky a rodičů. Nejprve byla u pacientky provedena cílená sekvenace 79 CDG genů. Přítomnost identifikovaných suspektně patogenních variant u pacientky i rodičů byla ověřena konvenčním Sangerovým sekvenováním. Následně

byly suspektní varianty analyzovány *in silico* pomocí 6 různých nástrojů (SIFT, PolyPhen2, MutPred2, MutationTaster, SNPs&GO, PROVEAN) a porovnány s populační četností dle gnomAD a databáze Národního centra lékařské genomiky.

3.6. Týkající se cíle B2) Rozšířit spektrum znalostí a genotypické spektrum u onemocnění ALG3-CDG.

3.6.1. Pacient

23měsíční dívka byla vyšetřovaná od narození pro suspektní dědičnou poruchu metabolismu s těžkým opožděním psychomotorického vývoje, epilepsií, artrogrypózou, očním postižením a faciální dysmorfii.

3.6.2. Oční vyšetření

Oční vyšetření zahrnovalo vyšetření očního pozadí a SD-OCT, zrakovou ostrost nebylo možné vyšetřit pro omezenou spolupráci.

3.6.3. Izoelektrická fokusace transferinu

Izoelektrická fokusace transferinu byla provedena dle dříve popsané metodiky (Guillard et al. 2011).

3.6.4. Molekulárně-genetická analýza

DNA k molekulárně-genetické analýze byla extrahováno z izolovaných leukocytů pacientky a jejích rodičů. Nejprve byla u pacientky provedena cílená sekvenace panelu 260 genů spojených s neuromuskulárními onemocněními a artrogrypózou. Přítomnost suspektně patogenních variant u pacientky i rodičů jsme následně ověřovali konvenčním Sangerovým sekvenováním. Poté byla hodnocena patogenita vytipovaných kauzálních mutací *in silico* pomocí 5 různých nástrojů (SIFT, PolyPhen2, MutationTaster2, M-CAP a CADD).

4. Výsledky a diskuze

4.1. Týkající se cíle A1) Příspěvek k lepšímu popisu klinického průběhu onemocnění a zefektivnění klinických postupů u vybraných subtypů CDG a pomoci tak k omezení výskytu preventabilních komplikací a nadbytečných vyšetření.

Související publikace:

[1.] Ondruskova N*, Cechova A*, Hansikova H, Honzik T, Jaeken J. *Congenital disorders of glycosylation: still "hot" in 2020*. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2021 Jan;1865(1):129751. doi: 10.1016/j.bbagen.2020.129751. Epub 2020 Sep 28. PMID: 32991969. * rovnoměrný podíl na publikaci, **IF 3,770; Rank by journal IF – Q3 (biochemistry and molecular biology), Q2 (biophysics)**

Cílem této review, ke které jsme byli přizváni objevitelem CDG prof. Jaekenem, bylo shrnout nové poznatky týkající se CDG publikované od roku 2017. Výstupem je přehled 23 nově popsaných CDG subtypů (tj. +17 %), 6 nově popsaných fenotypů známých subtypů, několika nových patomechanismů a diagnostických markerů, souhrn dosud známé terapie CDG a souhrn publikovaných guidelines.

Mezi nově popsanými subtypy jsou zastoupeny defekty N-glykosylace (4), O-glykosylace (4), defekty syntézy GPI kotvy (7) a mnohočetných glykosylačních drah (7). Z většiny se jedná o AR dědičné onemocnění (18), ale několik subtypů je děděno i XL (5). Pouze u 9 subtypů bylo popsáno více než 10 pacientů, u ostatních se jedná o kazuistické případy. Klinická manifestace je většinou multisystémová kombinující neurologické a jiné orgánové postižení, pouze TRIP11-CDG a CSGALNACT1-CDG se projevují izolovaně skeletálně, VMA21-CDG hepatálně a GORAB-CDG izolovaně dermatologicky. Účinná terapie je známá pouze u 3 nově popsaných subtypů (transplantace kostní dřeně u MAN2B2-CDG, transplantace jater u ATP6AP2-CDG a pyridoxin na epileptické projevy u PIGS-CDG).

Šest nových fenotypů rozšiřuje známe spektrum klinického průběhu nemoci o mírnější i závažnější formy. V několika případech byly nově popsané fenotypy způsobené heterozygotními gain-of-function mutacemi. V práci dále diskutujeme např. patomechanismy sekundární dyslipidémie nebo sekundární mitochondriální dysfunkce způsobené hypoglykosylací regulačních proteinů a nové diagnostické markery např. IEF haptoglobinu u kombinovaných glykosylačních poruch a apoCIII u obtížně diagnostikovatelných GSD.

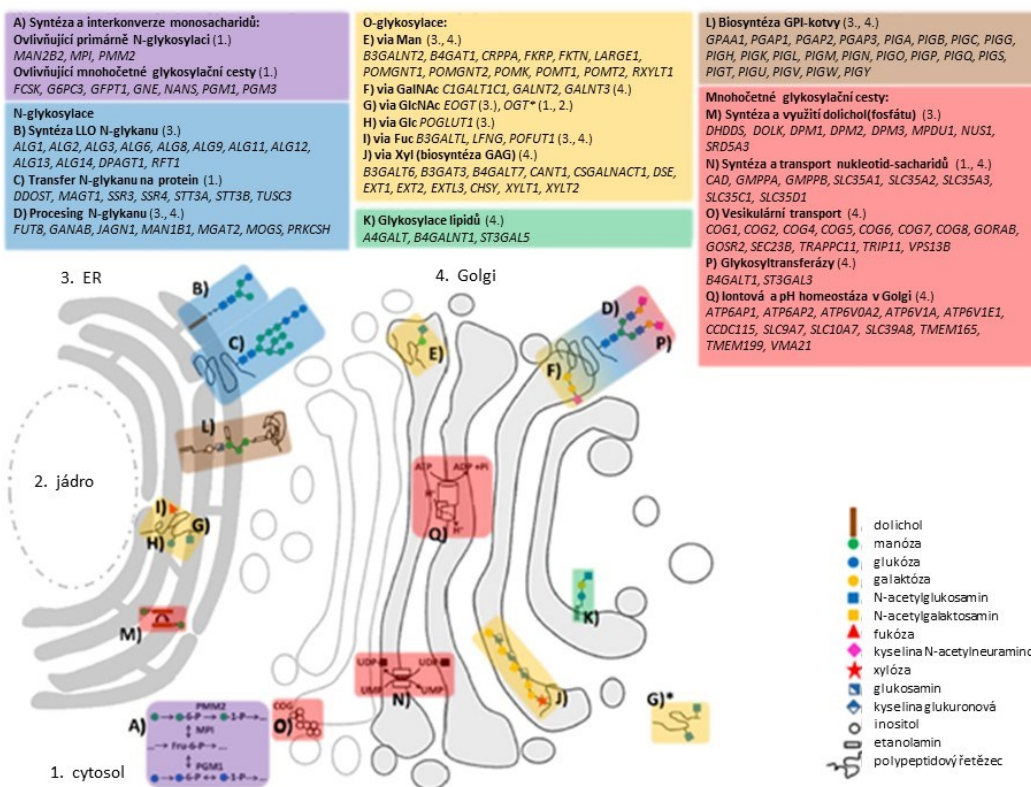
Klinicky důležitá je také aktualizace přehledu dostupné terapie (Tab. 2) a souhrn poznatků publikovaných guidelines. Součástí práce je také schéma buněčné lokalizace všech dosud popsaných defektů (Obr. 6).

Tab. 2: Souhrn existující efektivní terapie CDG. V tabulce jsou shrnuta současná doporučení ohledně terapie, dávkování, počtu léčených pacientů, klinického efektu a nežádoucích účinků terapie. Upraveno dle (Ondruskova et al. 2021).

Subtyp	Léčba	Doporučená dávka	Počet léčených /všech pacientů	Léčebný efekt	Nežádoucí účinky
MPI-CDG	manóza	600-1200 mg/kg/den ve 4-5 dávkách p.o.	20/35	zlepšení GIT symptomů (13/14), koagulopatie (12/12) a hypoglykemií (9/9); žádný dlouhodobý efekt na jaterní symptomy	bolest břicha a průjem (5/10; reagující na úpravu dávky)
PGM1-CDG	galaktóza	500-2500 mg/kg/den ve 3-6 dávkách p.o.	23/57	zlepšení hepatopatie (15/18), muskulárních symptomů (14/14), koagulopatie (10/12), hypoglycemií (10/13) a opoždění puberty (2/2); minimální efekt na růst (1/8), ID (0/2) a kardiální symptomy (0/2)	NR
SLC35A2-CDG	galaktóza	500-1500 mg/kg/den v 5 dávkách p.o.	11/62	zlepšení psychomotorického vývoje (5/10), růstu (NR), GIT symptomů (NR) a křečí (3/5)	NR
SLC35C1-CDG	fukóza	500-1000 mg/kg/den ve 4-5 dávkách p.o.	5/13	normalizace počtu neutrofilů (5/5), snížení incidence závažných infekcí (3/3), zlepšení PMV (1/5); žádný efekt na průběh nemoci v dospělosti (ID, ataxie, epilepsie, autismus)	autoimunitní neutropenie a hemolýza (reagující na úpravu dávky)
CAD-CDG	uridin	100 mg/kg/den ve 4 dávkách p.o.	2/6	kompensace farmakorezistentní epilepsie (3/3), významné zlepšení PMV (3/3), odeznění anémie (2/2) a anizopoikilocytózy (3/3)	NR
SLC39A8-CDG	mangan	15-20 mg MSO ₄ *H ₂ O/kg/den v 5 dávkách p.o.	3/12	zlepšení glykosylace (2/2), motorických dovedností (2/2), epilepsie (1/1), ataxie (1/1) a sluchu (1/1)	NR, riziko intoxikace manganem
	galaktóza	500-3750 mg/kg/den ve 5 dávkách p.o.	2/12	zlepšení glykosylace (2/2), bez zachyceného klinického zlepšení	NR
TMEM165-CDG	galaktóza	1000 mg/kg/den p.o. (počet dávek NR)	2/10	zlepšení glykosylace (2/2), hepatopatie (2/2), koagulopatie (2/2) a hladin IGF1 (2/2); klinické zlepšení NR	NR
GFPT1-CDG	pyridostigmin (inhibitory cholinesterázy)	2,5-15 mg/kg/den ve 3 dávkách p.o.	56/62	zlepšení svalové slabosti (52/56)	svalové křeče, deprese, úzkosti (2/56)
ALG2-CDG	pyridostigmin (inhibitory cholinesterázy)	p.o., dávka NR	1/11	zlepšení svalové slabosti (1/1)	NR
ALG14-CDG	pyridostigmin (inhibitory cholinesterázy)	5-8 mg/kg/den ve 2-6 dávkách p.o.	4/7	zlepšení svalové slabosti (4/4, u 1 pacienta pouze dočasný efekt)	NR
PIGM-CDG	butyrát sodný	60-90 mg/kg/den ve 3 dávkách p.o.	4/7	zlepšení kompenzace epilepsie (3/3), PMV (2/2) a zvýšení exprese GPI-vázaných povrchových markerů (2/4)	NR
PMM2-CDG	acetazolamid	7-17 mg/kg/den ve 2 dávkách p.o.	24/>900	zlepšení mozečkových příznaků (20/23), mluvy (20/23), úzkostí (20/23), některých koagulačních parametrů (20/23), stereotypních pohybů (5/5) a stroke-like epizod (1/1); bez efektu na ID a extraneurologické příznaky	acidóza se signifikantním snížením sérového bikarbonátu (9/23), astenie (4/23) a parestézie (2/23) reagující na úpravu dávky; riziko urolitiázy a osteopenie

Zkratky: GIT – gastrointestinální, GPI – glykosylfosfatidylinositol, ID – intelektuální disabilita, IGF1 – insulinu podobný růstový faktor 1, NR - nereportováno, PMV – psychomotorický vývoj, p.o. – per os

Přínosem této studie je možnost rychle se zorientovat v dynamicky se rozvíjícím tématu CDG (+ 17 % nových subtypů za 4 roky) a moci tak pacientům poskytovat včasnou diagnostiku s omezením invazivních a zbytečných vyšetření, adekvátní management, ve vybraných případech účinnou terapii a v neposlední řadě genetické poradenství a prenatální testování v rodinách.



Obr. 6: Přehled 137 známých subtypů CDG. Obrázek schématicky zobrazuje všechny subtypy CDG známe v době publikace kategorizované dle biochemické podstaty a buněčné lokalizace defektu způsobujícího dané onemocnění. Glykosylační reakce probíhají v různých buněčných kompartmentech, a to především v cytosolu (1.), endoplazmatickém retikulu (3.) a Golgiho aparátu (4.). Dle biochemické podstaty rozlišujeme glykosylační defekty na poruchy syntézy a vzájemné interkonverze jednotlivých monosacharidů (A), poruchy glykosylace proteinů (B-J), poruchy glykosylace lipidů (K) a poruchy syntézy GPI kotvy (L). U některých CDG byly popsány mnohonásobné glykosylační defekty (M-Q). Upraveno dle (Ondruskova et al. 2021).

Zkratky: ADP – adenosindifosfát, ATP - adenosintrifosfát; COG – konzervovaný oligomerní Golgi komplex (Conserved Oligomeric Golgi complex); ER - endoplasmické retikulum; Fru-6-P - fruktóza-6-fosfát; Fuc - fukóza; GalNAc - N-acetylgalaktosamin; Glc - glukóza; GlcNAc - N-acetylglukosamin; GPI - glykosylfosfatidylinositol; H⁺ - proton; LLO – oligosacharid vázaný na lipid (lipid-linked oligosaccharide); Man - manóza; MPI - manózfosfátizomeráza; PGM1 - fosfoglukomutáza 1; PMM2 - fosfomanomutáza 2; UDP - uridin difosfát; UMP – uridin monofosfát; Xyl - xylóza.

4.2. Týkající se cíle A2) Charakterizovat klinický průběh nejčastějšího subtypu PMM2-CDG, zpracovat soubor našich pacientů pro potřeby mezinárodní klinické studie a navrhnout efektivní postupy diagnostiky a klinického managementu tohoto onemocnění.

Související publikace:

- [1.] Altassan R, Péanne R, Jaeken J, Barone R, Bidet M, Borgel D, Brasil S, Cassiman D, Cechova A, Coman D, Corral J, Correia J, de la Morena-Barrio ME, de Lonlay P, Dos Reis V, Ferreira C, Fiumara A, Francisco R, Freeze H, Funke S, Gardeitchik T, Gert M, Girard M, Giros M, Grunewald S, Hernández-Caselles T, Honzik T, Hutter M, Krasnewich D, Lam C, Lee J, Lefebvre D, Marques-da-Silva D, Martinez AF, Moravej H, Öunap K, Pascoal C, Pascreau T, Patterson M, Quelhas D, Raymond K, Sarkhail P, Schiff M, Seroczynska M, Serrano M, Seta N, Sykut-Cegielska J, Thiel C, Tort F, Vals MA, Videira P, Witters P, Zeevaert R, Morava E. *International clinical guidelines for the management of phosphomannomutase 2 - congenital disorders of glycosylation: Diagnosis, treatment and follow up* [published correction appears in *J Inher Metab Dis*. 2019 Jan; 42 (1):5-28. doi:10.1002/jimd.12024, **IF 4,036, Rank by journal IF – Q2 (endocrinology and metabolism; genetics and heredity)**
- [2.] Čechová A, Honzík T, Edmondson AC, Ficicioglu C, Serrano M, Barone R, De Lonlay P, Schiff M, Witters P, Lam C, Patterson M, Janssen MCH, Correia J, Quelhas D, Sykut-Cegielska J, Plotkin H, Morava E, Sarafoglou K. *Should patients with Phosphomannomutase 2-CDG (PMM2-CDG) be screened for adrenal insufficiency?* *Mol Genet Metab*. 2021 Aug;133(4):397-399. **IF = 4,204, Rank by journal IF – Q2 (endocrinology and metabolism; genetics and heredity)**
- [3.] Čechová A, Ondrušková N, Tesařová M, Hansíková H, Zeman J, Honzík T. Deficit fosfomanomutázy 2: klinická, biochemická a molekulárně-genetická charakteristika 22 pacientů diagnostikovaných v České republice. *Čes-Slov Pediatr* 2018 73(6): 365-374.

V rámci těchto prací jsme se v první řadě snažili přispět k lepšímu popisu přirozeného průběhu nejčastějšího subtypu CDG, což vnímáme jako důležité, jak pro správnou péči o pacienty a jejich informovanost, tak pro možnost hodnocení účinnosti plánované experimentální terapie. Komplexní přehled informací o přirozeném průběhu PMM2-CDG jsme přinesli v guidelines (Altassan et al. 2019) systematicky shrnujících běžné i méně časté příznaky tohoto onemocnění

od prenatalních projevů po jednotlivé systémové projevy včetně četnosti v souboru všech dosud publikovaných pacientů (Tab. 3).

Tab. 3: Frekvence reportovaných příznaků u PMM2-CDG. Tabulka shrnuje vybrané příznaky onemocnění PMM2-CDG, počet pacientů, u kterých byly popsány, a frekvenci jednotlivých příznaků. Upraveno dle (Altassan et al. 2019).

Kategorie / příznak	Počet pacientů s příznakem / celkem ¹	Frekvence [%]
Prenatální		
Hydrops fetalis	12 / N	- ³
Polyhydramnion	3 / N	- ³
Vrozené malformace		
Invertované bradavky	183 / 343 (5/20 až 23/23) ²	53 % (25-100 %) ²
Atypická distribuce tuku	168 / 357 (5/20 až 21/23) ²	47 % (25-91 %) ²
Neurologické		
Psychomotorická retardace	497 / 518	96 %
Atrofie mozečku	418 / 437	95,4 %
Hypotonie	392 / 427	92 %
Periferní neuropatie	61 / 114	53 %
Kardiologické		
Perikardiální výpotek	102 / 141	72 %
Kardiomyopatie	35 / 141	25 %
Srdeční selhání a/nebo srdeční tamponáda	27 / 141	19 %
Hepatogastrointestinální		
Neprospívání	141 / 212	66,5 %
Hypoalbuminémie	33 / 57	58 %
Obtížné krmení	96 / 212	45 %
Průjem	57 / 212	27 %
Hepatomegalie	39 / N (2/11 to 23/23) ²	- (18 – 100 %) ²
Elevace transamináz	184 / N (2/16 to 23/23) ²	- (12,5 - 100 %) ²
Renální		
Proteinurie	21 / 56	37,5 %
Multicystické ledviny	19 / 56	33,9 %
Nefrotický syndrom	6 / 56	10,7 %
Hematologické		
Deficit antitrombinu	160 / 334	47,5 %
Deficit faktoru XI	128 / 334	38 %
Trombotické příhody	42 / 334	12,5 %

Endokrinní		
Porucha růstu	26 / 53	49 %
Abnormální funkce štítné žlázy	65 / 255	25 %
Hypoglykémie	24 / N	³
Předčasné ovariální selhání	29 / N	³
Kryptorchismus	7 / N	³
Imunologické		
Rekurentní infekce	35 / 88	39 %
Leukopenie	9 / N	³
Skeletální		
Deformity hrudníku	31 / 37	84 %
Kyfoskolióza	57 / 107	53 %
Patologické zlomeniny	6 / 23	26 %

Poznámky: ¹ Poměr pacientů s popsáním příznakem ku celkovému počtu publikovaných pacientů s dostatečným klinickým popisem v daném ohledu. ² Rozsah frekvencí u jednotlivých studií, pokud je přítomný výrazný rozdíl. ³ Chybějící frekvence z důvodu chybějících dat. N = neudáno.

Mým úkolem v rámci tvorby guidelines bylo připravit sumarizaci neurologických dat a doporučení pro jejich diagnostiku a management. Potvrdili jsme, že se jedná o dominantní příznaky tohoto onemocnění vyskytující se v nějaké míře u naprosté většiny pacientů. Konkrétně se jedná o psychomotorickou retardaci, atrofii mozečku s mozečkovými příznaky, hypotonii, postupně se rozvíjející periferní neuropatii a méně často epilepsii a stroke-like epizody.

Psychomotorická retardace vyskytující se u 96 % PMM2-CDG pacientů bývá stabilní bez přítomného regresu. Tíže intelektuální disability (ID, pokud uvedena) je u zhruba 30 % pacientů lehká, u 30 % mírná, u 30 % hluboká a zbývajících 10 % popsanych pacientů má normální intelekt (Altassan et al. 2019). Podobné rozložení tíže ID vidíme i u pacientů v ČR s tím rozdílem, že 10 % pacientů má místo normálního intelektu hlubokou ID a dosud u nás byl diagnostikován pouze jeden dosud nepublikovaný pacient s normálním PMV (Cechova et al. 2018). Skupina pacientů s normálním intelektem a minimálními klinickými obtížemi naznačuje celkovou poddiagnostikovanost PMM2-CDG (Altassan et al. 2019). Na druhou stranu jsou data týkající se intelektuální disability zkreslena tím, že pacienti s těžkým fenotypem nejsou schopni podstoupit psychologické vyšetření či umírají kojeneckém věku (Altassan et al. 2019).

Atrofie mozečku (95,4 % pacientů) má progresivní charakter v průběhu prvních let života – u některých pacientů byl dokonce popsán normální obraz CNS neonatálně s následným rozvojem atrofizace (de Diego et al. 2017) – a tento nález potvrzujeme i u našich pacientů (Cechova et

al. 2018). Patogeneze mozečkových příznaků není plně objasněna, ale zdá se, že by svou roli mohla hrát například hypoglykosylace napětově řízených kalciových kanálů (CaV2.1) v mozku a mozečku vedoucí k jejich zvýšené aktivitě podobně jako u familiární hemiplegické migrény (FHM) (Martinez-Monseny et al. 2019). Této podobnosti bylo využito při testování terapeutického efektu acetazolamidu, inhibitoru karboanhydrázy ovlivňující neuronální homeostázu a využívané u terapie FHM, a to se slibnými výsledky (Martinez-Monseny et al. 2019). Tuto terapii jsme testovali u 4 našich pediatrických pacientek. U tří jsme museli terapii krátce po zahájení ukončit pro výskyt nežádoucích účinků (zvracení, průjemy, horečky), u jedné dívky jsme terapii ukončili po 12 měsících při neprokázaném efektu. Vzhledem k progresivnímu charakteru mozečkového postižení by mohlo být s výhodou zahájení terapie v časném dětském věku, přestože zmiňovaná studie u starších pacientů korelaci mezi věkem a efektivitou neprokázala (Martinez-Monseny et al. 2019).

Podobná patologie jako u mozečkových příznaků se předpokládá i u stroke-like epizod (SLE) (Martinez-Monseny et al. 2019), které jsou méně častou (popsané u 36 pacientů) ale zato závažnou komplikací PMM2-CDG. V naší práci jsme prokázali, že se SLE v naprosté většině vyskytují v dětském věku (89,3 % první epizoda pod 10 let, žádná popsána epizoda v dospělosti) a projevují se poruchou vědomí (n = 13), parézou (n = 10), křečemi (n = 8) či jinými fokálními neurologickými příznaky (n = 3). Diagnosticky je také vzhledem k současnému výskytu koagulopatie a protrombotických stavů důležité provedení zobrazení CNS k vyloučení cévní mozkové příhody. V akutní terapii křečí a fokálních deficitů doporučujeme benzodiazepiny a antiepileptika (nejčastěji fenytoin, midazolam a lorazepam v kontinuální infuzi), ke zvážení je také antikoagulační a antiagregační terapie. Dlouhodobá a profylaktická terapie není bohužel známá – v případě opakovaných SLE lze zvážit antiagregaci kyselinou acetylsalicylovou a slibně se v posledních letech jeví terapie acetazolamidem (Martinez-Monseny et al. 2019).

Neméně podstatným výstupem této publikace je soubor doporučení pro rychlou diagnostiku a efektivní management těchto pacientů, aby každý ošetřující lékař byl schopen poskytnout odpovídající péči a eliminovat nadbytečná vyšetření. Výstupem je krom souhrnů doporučení pro jednotlivé orgánové systémy (např. Tab. 4) také přehled doporučené surveillance PMM2-CDG pacientů (Tab. 5).

Tab. 4: Doporučení pro diagnostiku, akutní management a prevenci stroke-like epizod u PMM2-CDG pacientů. Upraveno dle (Altassan et al. 2019).

Stroke-like epizody			
1 Klinický obraz (Tvrzení #1: stupeň doporučení C)			
Stroke-like epizody patří mezi akutní neurologické komplikace u PMM2-CDG pacientů. Mohou být poddiagnostikovány, protože pro stanovení diagnózy vyžadují vysoký stupeň klinického podezření. Hlavními příznaky SLE jsou podrážděnost, stupor, mono- nebo hemiparéza, epileptické záchvaty a někdy zvracení a další ložiskové deficity.			
2 Diferenciální diagnostika (Tvrzení #2: stupeň doporučení D)			
Cévní příhody, jako jsou cévní mozkové příhody či migréna, mohou klinicky napodobovat SLE a v důsledku koagulačních abnormalit jsou také u pacientů s PMM2-CDG častější. K vyloučení poruch malých molekul a poruch energetického metabolismu je nutný široký metabolický screening.			
3 Diagnóza (Tvrzení #3: stupeň doporučení C)			
K vyloučení jiných akutních příhod vyžadující zvláštní management je doporučeno provedení elektroencefalogramu (EEG), zobrazení CNS (MRI) a koagulačních parametrů.			
4 Akutní léčba (Tvrzení #4: stupeň doporučení D)			
Specifická léčba SLE u pacientů s PMM2-CDG neexistuje. V akutní péči jsou nejpoužívanější antiepileptika, jejichž použití vede ke zlepšení záchvatů a fokálních neurologických deficitů. Doporučují se především benzodiazepiny (midazolam, lorazepam). Použití antiagregancií nebo antikoagulancií během akutní fáze SLE by mělo být zváženo individuálně.			
5 Dlouhodobá léčba, prevence (Tvrzení #5: stupeň doporučení D)			
Neexistují žádné důkazy pro bezpečné kontinuální používání antiagregancií k prevenci SLE s výjimkou recidivujícího SLE (nepublikovaná pozorování o kyselině acetylsalicylové). Review literatury nepotvrzuje ani nevyvrací vaskulární původ SLE. V dlouhodobé léčbě jsou nejčastěji používána antiepileptika, jako je levetiracetam, kyselina valproová, karbamazepin a oxkarbazepin, avšak neexistují žádné důkazy o jejich účinnosti v prevenci dalších stroke-like epizod.			

Tab. 5: Doporučená surveillance PMM2-CDG pacientů. V tabulce je přehled klinických, paraklinických a laboratorních vyšetření a doporučení ohledně jejich frekvence. Upraveno dle (Altassan et al. 2019).

Systém / vyšetření	V době diagnózy (pokud nebylo vyšetřeno dříve)	Pravidelně 1x za 1-2 roky	Dle potřeby v závislosti na příznacích
Neurologie			
Zhodnocení PMV a kognice	✓	✓	✓
Elektroencefalogram (EEG)			✓
MRI mozku	✓		✓
Audiologie	✓		✓
Endokrinologie			
Výška	✓	✓	
Hladina Ca, Mg, P	✓	✓	

Gonadotropiny	✓	✓	✓
Glukóza	✓		
Insulin a další lab. parametry při hypoglykémii *	✓		✓
Thyroidní hormony	✓	✓	✓
Kardiologie			
Echokardiogram	✓		✓
Elektrokardiogram	✓		✓
Holter			✓
Kardiální MRI			✓
Gastroenterologie			
Antropometrické parametry	✓	✓	
Zhodnocení polykání			✓
Transaminázy	✓	✓	✓
Hematologie			
Krevní obraz + diferenciální rozpočet	✓	✓	✓
Koagulační parametry	✓	✓	✓
Nefrologie			
Kreatinin	✓	✓	✓
Protein	✓		✓
Imunologie			
Laboratorní vyšetření			✓
Oftalmologie			
Vyšetření oftalmologem	✓	✓	✓
Elektroretinogram			✓
Skeletální			
Skeletální vyšetření	✓		✓
Psychiatrie			
Psychiatrické vyšetření			✓

* Detailní doporučení v článku.

Dalším důležitým výstupem mé práce je popis vývoje PMM2-CDG v adolescentním a dospělém věku. Jak jsme publikovali v článku (Cechova et al. 2018) shrnujícím poznatky o kohortě 22 českých pacientů (z toho 8 dospělých a 3 adolescentů), klinicky v dospělosti dochází k celkové stabilizaci stavu s ustálením tíže PMR bez regresu, ke stabilizaci hepatopatie a koagulopatie a ke snížení četnosti akutních dekompenzací (stroke-like epizody, trombotické příhody). Dominantními příznaky u těchto pacientů se stává progredující periferní neuropatie (přítomná u 17 % pacientů pod 10 let, ale až u 85 % nad 10 let), progredující skeletální postižení

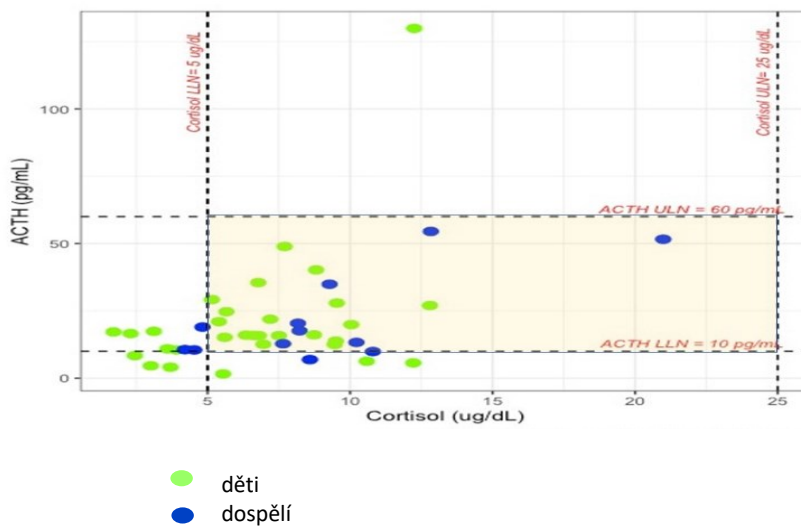
s deformitami a osteoporózou (Z-skóre až -6,8), progredující porucha růstu a u dívek předčasně ovariální selhání. Frekvence těchto příznaků u pacientů ze souboru guidelines v porovnání s naší kohortou je shrnuta v tabulce 6. Hlavní rozdíly pozorujeme ve frekvenci ID, periferní neuropatie, osteoporózy a endokrinních poruch, které mohou plynout z celkově těžšího fenotypu našich pacientů. Frekvence periferní neuropatie může být ovlivněna věkem v době vyšetření i používanými diagnostickými kritérii (přítomnost hyporeflexie či EMG neuropatický nález). Frekvence hypogonadismu je jistě zkreslena vyšším zastoupením žen v naší kohortě.

Tab. 6: Frekvence reportovaných příznaků u dospělých PMM2-CDG pacientů. Tabulka shrnuje četnost a frekvenci vybraných příznaků u 93 dospělých pacientů ze souboru guidelines (M=52, F=41) a 11 adolescentů a dospělých v kohortě českých pacientů (M=4, F=7). Červeně jsou vyznačeny příznaky, u nichž rozdíl frekvencí převyšuje 10 %. Upraveno dle (Altassan et al. 2019) a (Cechova et al. 2018).

Kategorie / příznak	Guidelines: pozitivní / celkem ¹	Guidelines: frekvence [%]	ČR: pozitivní / celkem ¹	ČR: frekvence [%]
Neurologické				
Ataxie	88 / 93	95 %	6 / 6	100 %
Intelektuální disabilita	81 / 93	87 %	8 / 8	100 %
Periferní neuropatie	47 / 93	50 %	6 / 7	86 %
Endokrinologické				
Předč. ovariální selhání	29 / 41	71 %	6 / 7	86 %
Hypogonadismus	35 / 93	41 %	6 / 10	60 %
Porucha růstu	26 / 53	49 %	7 / 11	64 %
Hematologické				
Deficit prokoag. faktorů: FIX, FXI, FXII	15 / 17	88 %	10 / 11	91 %
Deficit antikoag. faktorů: AT, PC, PS	32 / N	- ²	10 / 11	91 %
Trombotické epizody	14 / N	- ²	2 / 11	18 %
Krvácivé stavy	2 / N	- ²	2 / 11	18 %
Skeletální				
Kostní deformity	69 / 93	74 %	9 / 11	82 %
Osteoporóza	17 / 69	24 %	9 / 10	90 %
Osteopenie	9 / 69	13 %	1 / 11	9%
Oftalmologické				
Retinitis pigmentosa	37 / 55	67 %	7 / 11	64 %

Poznámky: ¹ Poměr pacientů s popsáním příznakem ku celkovému počtu publikovaných pacientů s dostatečným/relevantním klinickým popisem v daném ohledu. ² Chybějící frekvence z důvodu chybějících dat. N = neudáno.

Důležitým cílem zaměřeným na pacienty s PMM2-CDG bylo identifikovat možné komplikace a navrhnout klinické postupy pro jejich prevenci. Krom výše zmiňovaných výstupů guidelines jsem se na toto téma zaměřila v práci zkoumající riziko adrenální insuficience (AI) u PMM2-CDG (Cechova et al. 2021). Adrenální insuficience u PMM2-CDG byla dosud velmi málo studována, a to přesto, že řada hormonů, receptorů a přenašečů adreno-kortikální osy je glykosylována (např. receptor 1 pro kortikoliberin (CRHR1), prohormon konvertáza 3 (PC1/3), receptor pro adrenokortikotropní hormon (ACTHR) nebo transkortin (CBG)). Ve studii jsme prokázali zvýšené riziko AI u více než ¼ pacientů (11/43 pacientů s výsledky dopoledního kortizolu a ACTH) (Obr. 7) a indikovali u nich ACTH stimulační test. Ten prokázal centrální adrenální insuficienci u 2 pacientů, u kterých byla zahájena substituční terapie, u 1 pacienta byl se subnormálním výsledkem a pacient je zatím observován bez chronické terapie s doporučením pro horečnaté stavy, u 3 pacientů byl s normálním výsledkem a u 5 pacientů je jeho provedení v plánu v blízké budoucnosti. Tyto poznatky mohou mít velký klinický význam, neboť nerozpoznaná adrenální insuficience může vést až k úmrtí pacienta. Proto u všech PMM2-CDG pacientů doporučujeme pravidelně 1x ročně hodnotit ranní kortizol a ACTH a v případě patologických výsledků doplnit ACTH stimulační test.



Obr. 7: Hodnocení rizika adrenální insuficience u PMM2-CDG pacientů. Graf zobrazuje data 43 pacientů (21 dětí, 12 dospělých) z mezinárodní endokrinologické studie – na ose x jsou znázorněny hladiny dopoledního kortizolu a na ose y dopolední ACTH, přerušovaně jsou vyznačeny horní a dolní referenční meze, červeně pole normálních hodnot. Zvýšené riziko AI

bylo identifikováno u 11 pacientů (8 dětí a 3 dospělí) se sníženou hladinou ranního kortizolu, všichni mají pod/při dolní hranici normy i hodnoty ACTH. Upraveno dle (Cechova et al. 2021).

Poznámky: ULN = horní referenční mez, LLN = dolní referenční mez.

4.3. Týkající se cíle A3) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu MPI-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.

Související publikace:

[1.] Čechová A, Altassan R, Borgel D, Bruneel A, Correia J, Girard M, Harroche A, Kiec-Wilk B, Mohnike K, Pascreau T, Pawlinski L, Radenkovic S, Vuillaumier-Barrot S, Aldamiz-Echevarria L, Couce ML, Martins EG, Quelhas D, Morava E, de Lonlay P, Witters P, Honzík T. *Consensus guideline for the diagnosis and management of mannose phosphate isomerase-congenital disorder of glycosylation*. J Inherit Metab Dis. 2020;43(4):671-693. **IF 4,982, Rank by journal IF – Q2 (endocrinology and metabolism), Q1 (genetics and heredity)**

Významnou součástí dizertační práce je článek shrnující poznatky o přirozeném průběhu onemocnění MPI-CDG s doporučeními pro jeho terapii a management. Přestože se jedná o výrazně méně častou formu CDG (v ČR dosud nebyl diagnostikován žádný pacient), detailní popis onemocnění a srozumitelná klinická doporučení jsou vzhledem k dobré léčitelnosti zásadní pro včasný záchyt pacientů i zahájení léčby.

Mou rolí bylo u této studie krom přípravy jedné z kapitol klinických doporučení koordinovat celkovou práci expertního týmu, připravit podklady pro review, diskutovat a finalizovat veškeré texty a připravit přílohy.

Práce potvrzuje, že onemocnění se nejčastěji projevuje triádou hepatálních, gastrointestinálních a endokrinních projevů s normálním psychomotorickým vývojem a neurologickým nálezem; velmi častá je také smíšená koagulopatie (Obr. 8).

JATERNÍ POSTIŽENÍ

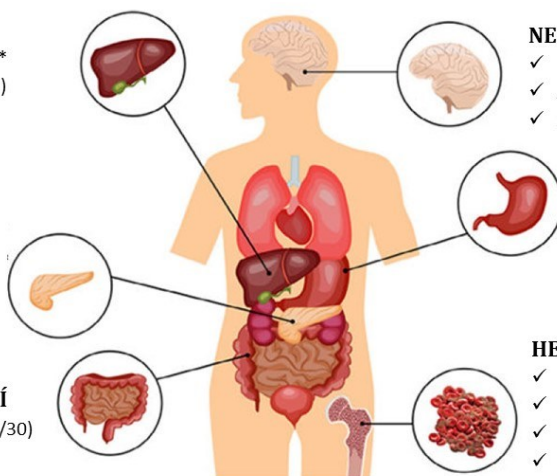
- ✓ Jaterní fibróza: 95 % (20/21)*
- ✓ Hepatomegalie: 89 % (24/27)
- ✓ Hepatopatie: 60 % (18/30)
- ✓ Portální hypertenze: 4/8

ENDOKRINNÍ POSTIŽENÍ

- ✓ Hypoglykémie: 75 % (20/27)**
- ✓ Růstová retardace: 4/6
- ✓ Hypothyroidismus: 1/6

INTESTINÁLNÍ POSTIŽENÍ

- ✓ Hypoalbuminémie: 90 % (27/30)
- ✓ Průjem: 88 % (28/32)
- ✓ Neprospívání: 75 % (18/24)
- ✓ Exsudativní enteropatie: 74 % (20/27)
- ✓ Otoky: 67 % (18/27)



NEUROLOGICKÉ POSTIŽENÍ

- ✓ Normální intelekt: 100 % (19/19)
- ✓ Absence epilepsie: 100 % (15/15)
- ✓ Sekundární křeče: 6/15

ŽALUDEČNÍ POSTIŽENÍ

- ✓ Zvracení: 67 % (18/27)

HEMATOLOGICKÉ POSTIŽENÍ

- ✓ Koagulopatie: 85 % (22/26)
- ✓ Deficit antitrombinu: 84 % (21/25)
- ✓ Deficit proteinu C: 72 % (18/25)
- ✓ Deficit faktoru XI: 58 % (11/19)
- ✓ Deficit proteinu S: 9/19
- ✓ Trombotické příhody: 8/13
- ✓ Gastrointestinální krvácení: 3/8

Obr. 8: Frekvence reportovaných příznaků u MPI-CDG. Grafika shrnuje vybrané příznaky onemocnění MPI-CDG a jejich frekvenci (poměr pacientů s popsáním příznakem ku celkovému počtu publikovaných pacientů s dostatečným klinickým popisem v daném ohledu). * Biopticky potvrzené případy jaterní fibrózy. ** Z toho hyperinsulinemické hypoglykémie u 10/13 pacientů. Upraveno dle (Cechova et al. 2020).

Zkratky: CDG - dědičné poruchy glykosylace (congenital disorder of glycosylation); MPI - manóza-fosfát izomeráza (mannose phosphate isomerase).

Hepatální projevy zahrnují hepatomegalii (89 %), elevaci jaterních transamináz (60 %) a biopticky patrnou fibrózu (95 % z provedených biopsií). Etiopatogeneze není přesvědčivě vysvětlena, tyto změny se nicméně vyvíjejí již prenatálně a nejsou ovlivnitelné terapií manózou. Při těžké formě onemocnění s portální hypertenzí a jícnovými varixy či hepatopulmonálním syndromem může být v krajních případech nutná transplantace jater.

Gastrointestinálně se MPI-CDG nejčastěji projevuje průjmem (88 %) se zvracením (67 %), a to nejčastěji na podkladě exsudativní enteropatie (protein-losing enteropathy – PLE, 74 %). Ta velmi často vede k hypoalbuminémii (90 %) různého stupně a neřídka vyžaduje pravidelné infuze inzulinu pro otoky (67 %). U velké části pacientů je také přítomno neprospívání (75 %). Etiopatogeneticky se u PLE předpokládá kombinace zhoršené soudružnosti enterocytů z důvodů chybění glykoproteinů (Liem et al. 2008) a lymfangiektázií (de Lonlay et al. 2001; Zentilin Boyer et al. 2003). Gastrointestinální projevy velmi dobře reagují na terapii manózou.

Hlavním endokrinním projevem jsou hypoglykémie (75 %), které se vyskytují především časném dětství a u asi 1/3 pacientů jsou symptomatické. U 2/3 pacientů byl prokázán hyperinzulinismus, a ačkoliv patogeneze není zcela objasněná, svou roli by mohla hrát např. hypoglykosylace receptoru SUR1 (Conti et al. 2002) nebo pankreatických beta buněk (Cabezas et al. 2017). Hypoglykosylovaná je také řada dalších hormonů a jejich přenašečů (např. IGFBP3, ALS, TBG), nicméně klinické projevy byly pozorovány jen u jednotlivých případů. Endokrinní projevy zpravidla na terapii manózou vymizí.

U většiny pacientů klasickou triádu příznaků doplňuje smíšená koagulopatie (85 %; dominantně deficit AT, PC a FXI), která se může v době akutní infekce či dehydratace projevit trombózou (hluboká žilní trombóza či trombóza sinu) či méně často krvácivou atakou (obzvl. život ohrožující krvácení z jícnových varixů). Etiopatogeneticky je nejvýznamnější hypoglykosylace vybraných koagulačních faktorů (stejně jako u jiných subtypů CDG), svůj podíl ale může mít i PLE a jaterní dysfunkce.

Kromě sumarizace klinických projevů onemocnění přispěla práce k formulování expertního doporučení pro terapii. Kauzální terapie spočívá v perorální substituci manózy v dávce 150-170 mg/kg 4–5 x denně a vede k ústupu GIT symptomů, hypoglykemií i úpravě koagulopatie. Terapie je obvykle dobře tolerována, případný GIT diskomfort lze řešit úpravou dávky. Další možnosti symptomatické terapie jsou shrnuty v tabulce 7.

Tab. 7: Doporučení pro terapii MPI-CDG pacientů. Upraveno dle (Cechova et al. 2020).

Orgánové postižení	Terapie	Komentáře	
Kauzální léčba	Manóza p.o. (600-850 mg/kg/den ve 4-5 dávkách)		
	Manóza i.v. (kontinuálně až 1 g/kg/den)	v život ohrožujících situacích v kombinaci s glukózou i.v.	
Jaterní	Jaterní transplantace	ve vybraných případech (jaterní selhání, portální hypertenze s hepatopulmonárním syndromem)	
Gastrointestinální	Manóza p.o. (dtto)		
	Parenterální výživa	u podvyživených pacientů s chronickým průjmem či rekurentním zvracením	
	Infuze albuminu (20% roztok)	u pacientů se sérovým albuminem <2 g/dL a otoky	
	Imunoglobuliny i.v. či s.c.	u pacientů s hypogamaglobulinémií	
Endokrinní	Manóza p.o. (dtto)		
	Frekventní strava	u pacientů s hyperinzulinismem dieta obohacená o škroby	
	Glukóza i.v. (k udržování glykémie >4 mmol/L)	při riziku hypoglykémie s nedostatečným p.o. příjmem (akutní gastroenteritida, těžká hypoglykémie, intolerance p.o. příjmu, perioperativní zajištění*)	
	Diazoxid p.o. (4-15 mg/kg/den ve 3-4 dávkách)	při potvrzené hyperinsulinémii	
Hematologické	Manóza p.o. (dtto)	obvykle vede k úpravě koagulopatie	
	Při trombóze	UFH	
		LMWH	
		VKA	kontraindikováno při vředech GIT a/nebo jícnových varixech
Při krvácení	Lokální stavění krvácení		
	Čerstvá mražená plasma	kontraindikované koncentráty FXI a/nebo rFVIIa	
Při chirurgických zákrocích	Koncentrát antitrombinu		
	Čerstvá mražená plasma	kontraindikované koncentráty FXI a/nebo rFVIIa tromboprofylaxe dle guidelines	

* ukončení infuze až když pacient toleruje stravu p.o.

Zkratky: FXI - faktor XI; LMWH - nízkomolekulární heparin (low-molecular-weight heparin); rFVIIa - rekombinantní faktor VIIa; UFH - nefrakcionovaný heparin (unfractionated heparin); VKA - antagonisté vitamínu K (vitamin K antagonist)

Neméně podstatným výstupem této publikace je soubor doporučení pro rychlou diagnostiku a efektivní management těchto pacientů umožňující včasné zahájení léčby i omezení nadbytečných vyšetření (Tab. 8).

Tab. 8: Ukázka doporučení pro diagnostiku a surveillance MPI-CDG pacientů. V tabulce je přehled klinických, paraklinických a laboratorních vyšetření a doporučení ohledně jejich frekvence. Upraveno dle (Cechova et al. 2020).

Systém / vyšetření	Při diagnóze	Každé 3 měsíce	Každých 6 měsíců	Každých 12 měsíců	Dle výsledků	Komentáře
Hepatální						
Jaterní testy (ALT, AST, GGT, bilirubin, alfa-fetoprotein, protrombinový čas)	✓	(✓)	✓			v případě těžké patologie i častěji
USG jater	✓		✓	(✓)		četnost dle závažnosti postižení; se zaměřením na přítomnost nodulární hyperplázie a projevy portální hypertenze
Jicnová endoskopie				✓		u pacientů s portální hypertenzí; zpočátku 1x ročně, později dle závažnosti 1x za 1-3 roky
Kontrola dětským hepatologem			✓			
Gastrointestinální						
Antropometrie	✓		✓			Při každé návštěvě (děti 1x za 6 měsíců, dospělí 1x ročně)
Nutriční parametry (prealbumin, krevní lipidy, urea, kreatinin, elektrolyty, minerály, stopové prvky, vitamíny, ...)	✓			✓		
Fekální alfa-1-antitripsin	✓				✓	V případě hypoalbuminémie
Albumin	✓	✓	(✓)		✓	Častěji v případě těžké exsudativní enteropatie, každých 6 měsíců v případě absence enteropatie
Endokrinní						
Růstové parametry	✓			✓		
Glykémie	✓	✓	(✓)		✓	Pravidelná / kontinuální monitorace v případě těžkých hypoglykemií
Insulin, C-peptid, kortizol, laktát, mastné kyseliny, močové ketony	✓	(✓)	(✓)		✓	U hypoglykemických pacientů každých 3-6 měsíců, kritický vzorek při hypoglykémii pro průkaz hyperinsulinismu
Hormony štítné žlázy, IGF1, IGFBP3, ALS	✓			✓		
Vápník, hořčík, fosfor, ALP, PTH	✓			✓		
Gonadotropiny, estradiol, testosteron				✓		Od puberty

Hlavní přínos této práce vidím především ve zvýšení povědomí a přehledné sumarizaci informací o jednom z mála dobře léčitelných subtypů CDG. Data z ní lze v budoucnu dobře použít pro propagaci tohoto tématu v širší pediatrické, gastroenterologické a endokrinologické lékařské veřejnosti.

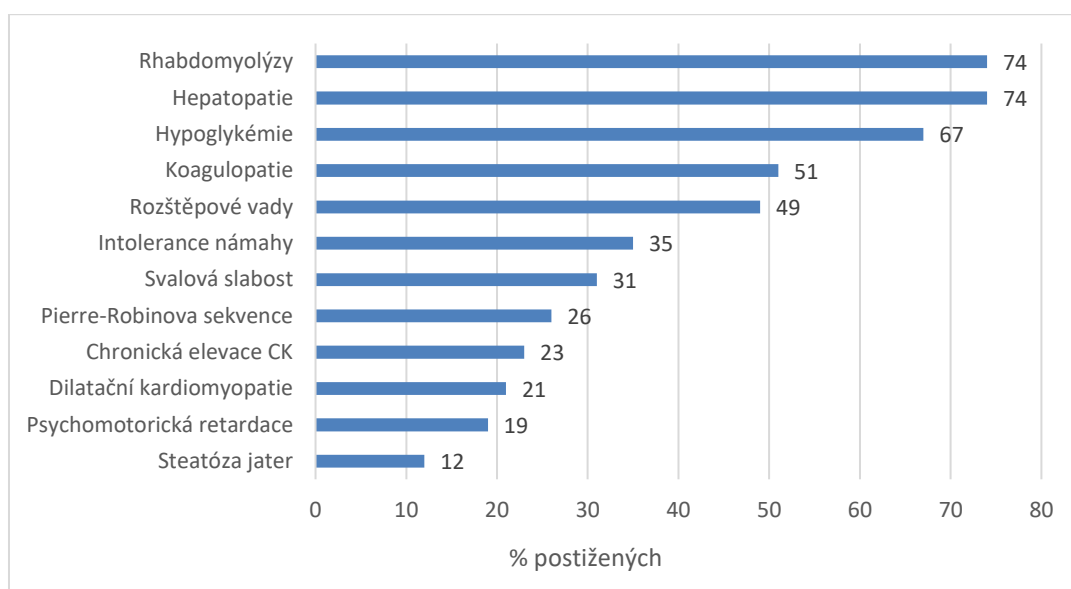
4.4. Týkající se cíle A4) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu PGM1-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.

Související publikace:

[1.] Altassan R, Radenkovic S, Edmondson AC, Barone R, Brasil S, Cechova A, Coman D, Donoghue S, Falkenstein K, Ferreira V, Ferreira C, Fiumara A, Francisco R, Freeze H, Grunewald S, Honzik T, Jaeken J, Krasnewich D, Lam C, Lee J, Lefeber D, Marques-da-Silva D, Pascoal C, Quelhas D, Raymond KM, Rymen D, Seroczynska M, Serrano M, Sykut-Cegielska J, Thiel C, Tort F, Vals MA, Videira P, Voermans N, Witters P, Morava E. *International consensus guidelines for phosphoglucomutase 1 deficiency (PGM1-CDG): diagnosis, follow-up and management*. J Inher Metab Dis. 2021 Jan;44(1):148-163. doi: 10.1002/jimd.12286. Epub 2020 Sep 15. PMID: 32681750; PMCID: PMC7855268. **IF 4,982, Rank by journal IF – Q2 (endocrinology and metabolism), Q1 (genetics and heredity)**

Cílem této práce bylo shrnout informace o vzácném ale léčitelném subtypu PGM1-CDG a poskytnout expertní doporučení pro terapii a management. Studie shrnovala data 57 dosud publikovaných pacientů a výhodou byla naše zkušenost s tímto onemocněním u jednoho českého pacienta.

Mým úkolem v rámci studie bylo podílet se na části zaměřené na muskulární postižení u tohoto onemocnění. Vedle hypoglykemií, hepatopatie a rozštěpových vad se jedná o jeden z hlavních příznaků (Obr. 9) a v ojedinělých případech bylo dokonce muskulární postižení v dospělosti popsáno jako jediný příznak.



Obr. 9: Nejčastější klinické a laboratorní nálezy PGM1-CDG. Upraveno dle (Altassan et al. 2021).

Podobně jako u glykogenóz (PGM1-CDG bylo dříve označováno jako glykogenóza XIV) se vyskytují ataky rhabdomyolýz, intolerance námahy, svalová slabost. Stupeň muskulárního postižení je dle Tulane PGM1-CDG skórovacího systému (Wong et al. 2016) mírný či středně závažný a všichni pacienti jsou schopni samostatné chůze. U asi 50 % pacientů se svalovým postižením dochází k progresi do významné generalizované myopatie. EMG (3/5) a svalová biopsie (10/12), pokud byly provedeny, ukazovaly u většiny pacientů myopatické změny (zvýšení výskytu jader myocytů intracelulárně, variace velikosti vláken a/nebo akumulace tuku či glykogenu).

Součástí studie je také doporučení pro surveillance na úrovni jednotlivých orgánových soustav (Tab. 9) a doporučení ohledně terapie. Specifickou terapií je perorální substituce galaktózou v dávce 0,5-3 g/kg/den, která je částečně schopná nahradit glykosylační poruchu způsobenou deficitem enzymu PGM1. Terapie vede k poklesu frekvence hypoglykemií, atak rhabdomyolýz, zlepšení svalové slabosti a únavnosti i zlepšení řady laboratorních parametrů (např. ALT, AST, CK, AT, FSH, TIEF).

Tab. 9: Souhrn klinických projevů a doporučená surveillance PGM1-CDG. Upraveno dle (Altassan et al. 2021).

Fenotyp	Podrobné projevy	Doporučená surveillance a frekvence	
Vrozené vývojové vady	rozštěp patra, rozštěp uvuly, mikrognácie, Pierre Robinova sekvence, malformace páteře, anální atrezie	v době diagnózy	podrobné fyzikální vyšetření a následná odpovídající péče
Neurologické projevy	opoždění vývoje, křeče	v době diagnózy + 1x ročně	podrobné fyzikální vyšetření, zhodnocení PMV (obzvl. u pacientů s hypoglykemickými epizodami)
		v případě potřeby	EEG, MRI mozku
Oftalmologické projevy	strabismus, patologické oční pohyby, neprůchodnost slzných kanálků	v době diagnózy + v případě potřeby	oční vyšetření
Endokrinní projevy	hypothyroidismus, hypogonadotropní hypogonadismus, opoždění puberty, hyperinsulinémie	v době diagnózy + pravidelně	antropometrické parametry, sérová hladina IGF1, IGFBP3, TGB, TSH
		v době diagnózy + v případě potřeby	sérový kortizol, ACTH
Kardiální projevy	kardiomyopatie (dilatační), strukturální a kondukční vady srdce	v době diagnózy + 1x ročně (častěji v případě potřeby)	EKG, echokardiografie
Svalové projevy	intolerance námahy, myopatie, rhabdomyolýzy	v době diagnózy + v případě potřeby	hladina CK
		v případě potřeby	EMG
Jaterní projevy	hepatopatie, steatóza, cholestáza, fibróza, akutní jaterní selhání	v době diagnózy + 1x ročně (častěji v případě potřeby)	transaminázy, jaterní funkce
Hematologické projevy	deficit vybraných koagulačních faktorů (AT, f. VII, IX, X, XI, PC, PS), zvýšená hladina protrombinu, prodloužený aPTT	v době diagnózy + 1x ročně (častěji v případě potřeby)	hladiny koagulačních faktorů, aPTT, INR
Metabolické projevy	hypoketotické a ketotické hypoglykémie	v době diagnózy + při akutní nemoci	glykémie, insulin, ketony v moči
Další	maligní hypertermie	v případě anestezie	monitorace klinických projevů

4.5. Týkající se cíle B1) Rozšířit spektrum znalostí a genotypické spektrum u onemocnění SRD5A3-CDG.

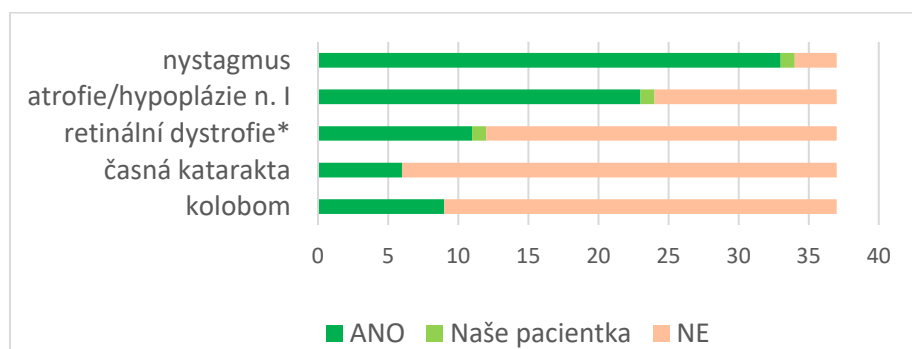
Související publikace:

[1.] 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 0,691, Rank by journal IF – Q4 (biology)**

Tato práce představuje kazuistiku první české pacientky se vzácným subtypem SRD5A3-CDG se specifickým očním fenotypem a nově popsanou kauzální mutací. Jejím cílem je rozšířit znalosti klinického průběhu onemocnění s důrazem na oční symptomatologii i genotypické spektrum.

Jedná se o pacientku s typickou multisystémovou formou onemocnění projevující se psychomotorickou retardací, hypotonií, mozečkovou ataxií, koagulopatií s akutními dekompenzacemi v době infektu a kostní deformitami. Oční symptomy byly přítomné od časného věku a zahrnují vrozený nystagmus a od batolecího věku pozorovanou bledost optických disků se strabismem a amblyopií. Diagnóza CDG byla stanovena ve 2 letech věku a subtyp upřesněn pomocí sekvenování nové generace (next-generation sequencing, NGS) v 7,5 letech, které odhalilo 2 kauzální mutace, z toho 1 dosud nepublikovanou. Ve 12 letech dívka podstoupila detailní oční vyšetření, které odhalilo retinální atrofii s degenerací fotoreceptorů a drúzy optického disku (dosud u tohoto onemocnění nepopsané).

Součástí práce je také review očních nálezů (Obr. 10) a genotypického spektra tohoto onemocnění (Tab. 10). Vedle méně specifických očních nálezů se u SRD5A3-CDG jako poměrně častý nález ukazuje časně nastupující těžká retinální dystrofie, která je jinak u CDG vzácným nálezem (např. retinitis pigmentosa v dětství byla popsána jen u 3/535 PMM2-CDG pacientů (Altassan et al. 2019), a jako taková může pomoci nasměrovat a urychlit diagnostiku CDG. Naše práce zdůrazňuje tento nález a roli detailního oftalmologického vyšetření u CDG pacientů.



Obr. 10: Souhrn očních nálezů u SRD5A3-CDG. Graf shrnuje nejčastější dosud popsané oční příznaky onemocnění (příznaky přítomné u naší pacientky jsou odlišené barevným odstínem). * U 9 pacientů se jednalo o časně nastupující těžkou retinální dystrofii (EOSRD), u 3 pacientů byla dystrofie popsána v dospělosti.

Tab. 10: Souhrn genotypického spektra SRD5A3-CDG. Tabulka shrnuje všechny dosud publikované patogenní varianty v *SRD5A3* včetně informace o původu, zygozitě a konsangvinitě pacientů. Upraveno dle (Kousal et al. 2019).

mutace (úroveň DNA)	mutace (proteinová úroveň)	počet postižených pacientů	počet postižených rodin	původ pacientů	zygozita	konsangvinita
c.29C>A	p.(Ser10*)	1	1	turecký	HOM	A
c.57G>A	p.(Trp19*)	14	10	turecký, pákistánský, indický	HOM	A/7 N/3
c.204dup	p.(Phe69Leufs*2)	3	1	iránský	HOM	A
c.286_288delinsTGAGTAAGGC	p.(Gln96*)	5	3	iránský (baluči)	HOM	A/2 N/1
c.292_293del	p.(Leu98Valfs*121)	2	1	polský	HOM	A
c.320G>A	p.(Trp107*)	2	2	turecký	HOM	A
c.424C>T	p.(Arg142*)	1	1	polský	cHET	N
c.489C>A	p.(Tyr163*)					
c.436G>A	p.(Glu146Lys)	1	1	český	HOM	A
c.530_531del	p.(Val177Alafs*42)	1	1	turecký	HOM	A
c.562+3del	?	2	1	západoevropský	sHET	N
c.920C>G	p.(Pro307Arg)					
c.603G>A	p.(Trp201*)	2	1	portorický	HOM	N
c.744T>G	p.(Phe248Leu)	2	1	katarský	HOM	A
komplexní změny v exonu 5	?	1	1	turecký	HOM	A

Zkratky: HOM - homozygozita, sHET – smíšená heterozygozita, A - ano, N – ne

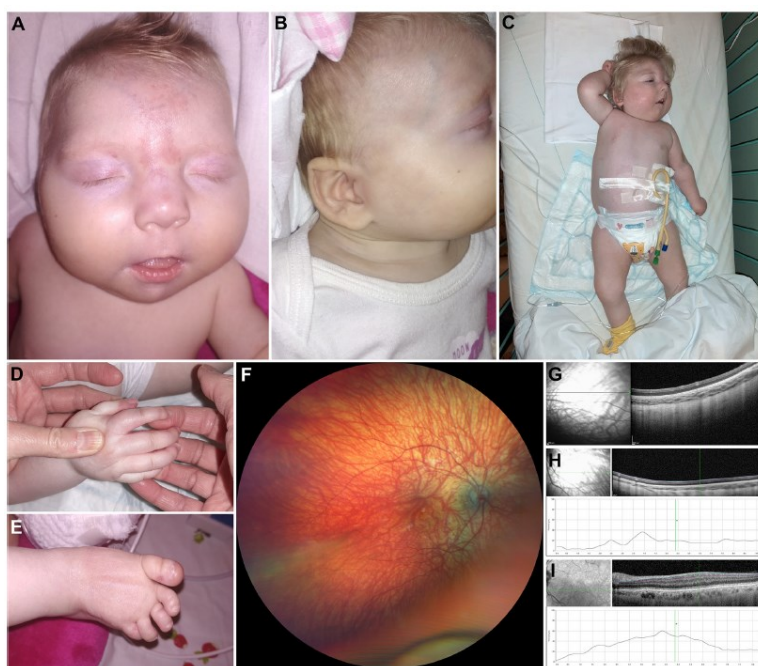
4.6. Týkající se cíle B2) Rozšířit spektrum znalostí a genotypické spektrum u onemocnění ALG3-CDG.

Související publikace:

[1.]Farolfi M, Cechova A, Ondruskova N, Zidkova J, Kousal B, Hansikova H, Honzik T, Liskova P. *ALG3-CDG: a patient with novel variants and review of the genetic and ophthalmic findings*. BMC Ophthalmol. 2021 Jun 5;21(1):249. **IF = 2,086, Rank by journal IF – Q3 (ophthalmology)**

Tato práce představuje kazuistiku první české pacientky s ALG3-CDG. Jedná se o pacientku s typickým závažným multisystémovým fenotypem zahrnující těžkou PMR, obtížně kompenzovanou epilepsii, mnohočetné kloubní kontraktury, dysmorfii a oční postižení (Obr. 11). Oční vyšetření včetně SD-OCT a MRI CNS prokázalo hypoplázii očních nervů s výrazným

úbytkem retinálních gangliových buněk. Definitivní diagnóza byla stanovena na základě genetického vyšetření muskuloskeletálního panelu genů s nálezem dvou dosud nepopsaných patogenních variant ve genu *ALG3*. Kazuistika doplňuje mozaiku klinických a genetických nálezů u pacientů s vzácným onemocněním ALG3-CDG a jako první detailně popisuje patologii očního nervu a sítnice u těchto pacientů. Součástí práce je review očních nálezů vyzdvihující nález atrofie/hypoplazie očního nervu jako příčiny těžké poruchy zraku u naprosté většiny pacientů s dostupnými daty (12/14).



Obr. 11: Klinický obraz české pacientky s ALG3-CDG. A) kraniofaciální dysmorfie ve věku 4 měsíců (A, B), kraniofaciální dysmorfie, kloubní kontraktury, gastrostomie a deformity nohy ve věku 23 měsíců (C, D, E). Snímek očního pozadí pravého oka ve věku 23 měsíců – hypoplazie n. II, hypopigmentace (F). SD-OCT horizontální perimakulární sken levého oka – zeslabení vnitřní retinální vrstvy (G) a významné oslabení vrstvy gangliových buněk (H) ve srovnání se stejně starým zdravým dítětem (I). Upraveno dle (Farolfi et al. 2021).

5. Závěry a dopady práce

Dědičné poruchy glykosylace jsou poměrně novou a velmi rychle se rozvíjející skupinou dědičných poruch metabolismu zahrnující více než 160 klinických jednotek často jen s několika málo popsányými pacienty. Jako takové mohou být pro lékaře často diagnostickým oříškem a pro pacienty a jejich rodiny může být hledání diagnózy i správně nastavené péče zdlouhavé a zatěžující.

Tato práce si klade za cíl přispět k lepšímu popisu klinického průběhu a zefektivnění klinických postupů u vybraných subtypů CDG v mezinárodní spolupráci a pomoci tak k urychlení diagnostiky, omezení výskytu preventabilních komplikací a nadbytečných vyšetření. Zároveň se snažila u několika pacientů s podezřením na CDG přispět k objasnění etiologie nemoci s cílem umožnit vhodnou péči a včasné genetické poradenství v postižených rodinách.

5.1. Konkrétní přínosy práce

- Zlepšení znalosti přirozeného průběhu nejčastějšího subtypu poruch glykosylace PMM2-CDG a to jak u české, tak u mezinárodní kohorty pacientů. Srovnání obou skupin nám dalo představu o poddiagnostikovanosti tohoto onemocnění u nás a o nutnosti rozšíření diagnostiky na skupiny pacientů s mírnějšími projevy. Zároveň jsou data o přirozeném průběhu důležitá pro hledání vhodných biomarkerů pro sledování vyvíjené terapie.
- Zlepšení znalosti možných komplikací u onemocnění PMM2-CDG, a to zejména rizika adrenální insuficience. S mezinárodní skupinou odborníků jsme sestavili doporučený postup pro prevenci této potenciálně život ohrožující komplikace.
- Zefektivnění diagnostických a klinických postupů u nejčastějšího PMM2-CDG s cílem eliminovat nadbytečná zatěžující vyšetření i preventabilní komplikace.
- Zefektivnění diagnostických, klinických a terapeutických postupů u léčitelných subtypů MPI-CDG a PGM1-CDG s cílem včasného zahájení adekvátní terapie.
- Rozšíření znalosti fenotypů a genotypů dvou vzácných podtypů CDG (SRD5A3 a ALG3-CDG) s důrazem na specifické oční nálezy u těchto onemocnění.

5.2. Preventivní aspekty práce

Preventivní péče o pacienty s CDG zahrnuje především snahu o včasný záchyt a prevenci akutních i chronických komplikací a genetické poradenství v postižených rodinách. K včasnému záchytu onemocnění práce přispívá díky zpracování několika mezinárodních doporučení (guidelines – PMM2-CDG, MPI-CDG a PGM1-CDG) shrnující současné znalosti ohledně klinických projevů onemocnění i doporučení expertních skupin pro diagnostiku. Stejně tak se tyto články věnují problematice akutních i chronických komplikací a jejich možné prevenci. Významně toto téma také rozpracováváme v článku zaměřeném na prevenci adrenální insuficience u pacientů s PMM2-CDG.

Důležitým preventivním aspektem péče o pacienty s CDG a jejich rodiny je nabídnutí prenatalní diagnostiky. V rámci guidelines diskutujeme i toto téma včetně doporučení vhodných metod a postupů.

6. Originální články autorky

Tato práce vznikla na základě následujících publikací (celkový impact factor 24,751):

- [1.] Čechová A, Altassan R, Borgel D, Bruneel A, Correia J, Girard M, Harroche A, Kiec-Wilk B, Mohnike K, Pascreau T, Pawlinski L, Radenkovic S, Vuillaumier-Barrot S, Aldamiz-Echevarria L, Couce ML, Martins EG, Quelhas D, Morava E, de Lonlay P, Witters P, Honzík T. *Consensus guideline for the diagnosis and management of mannose phosphate isomerase-congenital disorder of glycosylation*. J Inherit Metab Dis. 2020;43(4):671-693. **IF 4,982; Rank by journal IF – Q2 (endocrinology and metabolism), Q1 (genetics and heredity)**
- [2.] Čechová A, Honzík T, Edmondson AC, Ficicioglu C, Serrano M, Barone R, De Lonlay P, Schiff M, Witters P, Lam C, Patterson M, Janssen MCH, Correia J, Quelhas D, Sykut-Cegielska J, Plotkin H, Morava E, Sarafoglou K. *Should patients with Phosphomannomutase 2-CDG (PMM2-CDG) be screened for adrenal insufficiency?* Mol Genet Metab. 2021 Aug;133(4):397-399. **IF = 4,204; Rank by journal IF – Q2 (endocrinology and metabolism; genetics and heredity)**
- [3.] Ondruskova N*, Cechova A*, Hansikova H, Honzik T, Jaeken J. *Congenital disorders of glycosylation: still "hot" in 2020*. Biochim Biophys Acta Gen Subj. 2021 Jan;1865(1):129751. doi: 10.1016/j.bbagen.2020.129751. Epub 2020 Sep 28. PMID: 32991969. * rovnoměrný podíl na publikaci, **IF 3,770; Rank by journal IF – Q3 (biochemistry and molecular biology), Q2 (biophysics)**
- [4.] Altassan R, Radenkovic S, Edmondson AC, Barone R, Brasil S, Cechova A, Coman D, Donoghue S, Falkenstein K, Ferreira V, Ferreira C, Fiumara A, Francisco R, Freeze H, Grunewald S, Honzik T, Jaeken J, Krasnewich D, Lam C, Lee J, Lefeber D, Marques-da-Silva D, Pascoal C, Quelhas D, Raymond KM, Rymen D, Seroczynska M, Serrano M, Sykut-Cegielska J, Thiel C, Tort F, Vals MA, Videira P, Voermans N, Witters P, Morava E. *International consensus guidelines for phosphoglucomutase 1 deficiency (PGM1-CDG): diagnosis, follow-up and management*. J Inherit Metab Dis. 2021 Jan;44(1):148-163. doi: 10.1002/jimd.12286. Epub 2020 Sep 15. PMID: 32681750; PMCID: PMC7855268. **IF 4,982; Rank by journal IF – Q2 (endocrinology and metabolism), Q1 (genetics and heredity)**
- [5.] Altassan R, Péanne R, Jaeken J, Barone R, Bidet M, Borgel D, Brasil S, Cassiman D, Cechova A, Coman D, Corral J, Correia J, de la Morena-Barrio ME, de Lonlay P, Dos Reis V, Ferreira C, Fiumara A, Francisco R, Freeze H, Funke S, Gardeitchik T, Gert M, Girard M, Giros M, Grunewald S, Hernández-Caselles T, Honzik T, Hutter M, Krasnewich D, Lam

C, Lee J, Lefeber D, Marques-da-Silva D, Martinez AF, Moravej H, Őunap K, Pascoal C, Pascreau T, Patterson M, Quelhas D, Raymond K, Sarkhail P, Schiff M, Seroczynska M, Serrano M, Seta N, Sykut-Cegielska J, Thiel C, Tort F, Vals MA, Videira P, Witters P, Zeevaert R, Morava E. *International clinical guidelines for the management of phosphomannomutase 2 - congenital disorders of glycosylation: Diagnosis, treatment and follow up* [published correction appears in J Inher Metab Dis. 2019 Jan; 42 (1):5-28. doi:10.1002/jimd.12024, **IF 4,036; Rank by journal IF – Q2 (endocrinology and metabolism; genetics and heredity)**

[6.]Farolfi M, Cechova A, Ondruskova N, Zidkova J, Kousal B, Hansikova H, Honzik T, Liskova P. *ALG3-CDG: a patient with novel variants and review of the genetic and ophthalmic findings*. BMC Ophthalmol. 2021 Jun 5;21(1):249. **IF = 2,086; Rank by journal IF – Q3 (ophthalmology)**

[7.]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 0,691; Rank by journal IF – Q4 (biology)**

[8.]Čechová A, Ondrušková N, Tesařová M, Hansíková H, Zeman J, Honzík T. Deficit fosfomanomutázy 2: klinická, biochemická a molekulárně-genetická charakteristika 22 pacientů diagnostikovaných v České republice. Čes-Slov Pediatr 2018 73(6): 365-374.

7. Použitá literatura

- ALMEIDA, A.;LAYTON, M.andKARADIMITRIS, A. (2009). Inherited glycosylphosphatidyl inositol deficiency: a treatable CDG. *Biochim Biophys Acta*, 1792(9), 874-880. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.12.010>
- ALMEIDA, A. M.;MURAKAMI, Y.;BAKER, A.;MAEDA, Y.;ROBERTS, I. A., et al. (2007). Targeted therapy for inherited GPI deficiency. *N Engl J Med*, 356(16), 1641-1647. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa063369>
- ALTASSAN, R.;PEANNE, R.;JAEKEN, J.;BARONE, R.;BIDET, M., et al. (2019). International clinical guidelines for the management of phosphomannomutase 2-congenital disorders of glycosylation: Diagnosis, treatment and follow up. *J Inherit Metab Dis*, 42(1), 5-28. <https://doi.org/10.1002/jimd.12024>
- ALTASSAN, R.;RADENKOVIC, S.;EDMONDSON, A. C.;BARONE, R.;BRASIL, S., et al. (2021). International consensus guidelines for phosphoglucomutase 1 deficiency (PGM1-CDG): Diagnosis, follow-up, and management. *J Inherit Metab Dis*, 44(1), 148-163. <https://doi.org/10.1002/jimd.12286>
- ARONSON, J. K. (2006). Rare diseases and orphan drugs. *Br J Clin Pharmacol*, 61(3), 243-245. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2006.02617.x>
- BARBA, C.;DARRA, F.;CUSMAI, R.;PROCOPIO, E.;DIONISI VICI, C., et al. (2016). Congenital disorders of glycosylation presenting as epileptic encephalopathy with migrating partial seizures in infancy. *Dev Med Child Neurol*, 58(10), 1085-1091. <https://doi.org/10.1111/dmcn.13141>
- BARONE, R.;CARCHON, H.;JANSEN, E.;PAVONE, L.;FIUMARA, A., et al. (1998). Lysosomal enzyme activities in serum and leukocytes from patients with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type IA (phosphomannomutase deficiency). *J Inherit Metab Dis*, 21(2), 167-172. <https://doi.org/10.1023/a:1005351927573>
- BIAN, Y.;QIAO, C.;ZHENG, S.;QIU, H.;LI, H., et al. (2020). ALG3-CDG: lethal phenotype and novel variants in Chinese siblings. *J Hum Genet*. <https://doi.org/10.1038/s10038-020-0798-7>
- BLEHOVA, B.;PAZOUTOVA, M.;BLOUDKOVA, D.andKROUTILOVA, O. (1976). [Evaluation of screening for phenylketonuria after 6 years of existence of the laboratory]. *Cesk Pediatr*, 31(7), 399-401. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/963826> (Zhodnoceni screeningu fenylketonurie za sest let trvani laboratore.)
- BOYER, S. W.;JOHNSEN, C.andMORAVA, E. (2022). Nutrition interventions in congenital disorders of glycosylation. *Trends Mol Med*, 28(6), 463-481. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.04.003>
- BRASIL, S.;PASCOAL, C.;FRANCISCO, R.;MARQUES-DA-SILVA, D.;ANDREOTTI, G., et al. (2018). CDG Therapies: From Bench to Bedside. *Int J Mol Sci*, 19(5). <https://doi.org/10.3390/ijms19051304>
- BRUNHAM, L. R.andHEGELE, R. A. (2021). What Is the Prevalence of Familial Hypercholesterolemia? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 41(10), 2629-2631. <https://doi.org/doi:10.1161/ATVBAHA.121.316862>
- CABEZAS, O. R.;FLANAGAN, S. E.;STANESCU, H.;GARCIA-MARTINEZ, E.;CASWELL, R., et al. (2017). Polycystic Kidney Disease with Hyperinsulinemic Hypoglycemia Caused by a Promoter Mutation in Phosphomannomutase 2. *J Am Soc Nephrol*, 28(8), 2529-2539. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016121312>
- CANTAGREL, V.;LEFEBER, D. J.;NG, B. G.;GUAN, Z.;SILHAVY, J. L., et al. (2010). SRD5A3 is required for converting polyprenol to dolichol and is mutated in a congenital glycosylation disorder. *Cell*, 142(2), 203-217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.06.001>
- CECHOVA, A.;ALTASSAN, R.;BORGEL, D.;BRUNEEL, A.;CORREIA, J., et al. (2020). Consensus guideline for the diagnosis and management of mannose phosphate isomerase-congenital disorder of glycosylation. *J Inherit Metab Dis*, 43(4), 671-693. <https://doi.org/10.1002/jimd.12241>
- CECHOVA, A.;HONZIK, T.;EDMONDSON, A. C.;FICICIOGLU, C.;SERRANO, M., et al. (2021). Should patients with Phosphomannomutase 2-CDG (PMM2-CDG) be screened for adrenal insufficiency? *Mol Genet Metab*, 133(4), 397-399. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2021.06.003>

- CECHOVA, A.;ONDRUŠKOVÁ, N.;TESAŘOVÁ, M.;HANSÍKOVÁ, H.;ZEMAN, J., et al. (2018). Deficit fosfomanomutázy 2: klinická, biochemická a molekulárně-genetická charakteristika 22 pacientů diagnostikovaných v České republice [Phosphomannomutase 2 deficiency: clinical, biochemical and molecular analyses in 22 Czech patients]. *Čes-slov Pediat*, 73(6), 365-374.
- ČECHOVÁ, A.;ONDRUŠKOVÁ, N.;TESAŘOVÁ, M.;HANSÍKOVÁ, H.;ZEMAN, J., et al. (2018). Deficit fosfomanomutázy 2: klinická, biochemická a molekulárně-genetická charakteristika 22 pacientů diagnostikovaných v České republice. *Czecho-Slovak Pediatrics/Cesko-Slovenska Pediatrie*, 73(6).
- CHANG, I. J.;HE, M.andLAM, C. T. (2018). Congenital disorders of glycosylation. *Ann Transl Med*, 6(24), 477. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.10.45>
- CHRASTINA, P.;KOSTALOVA, E.;PAULOVA, M.;VARHOLAKOVA, L.;ŠŤASTNÁ, S., et al. (2008). LCHAD deficiency - The most frequent fatty acid oxidation disorder in newborn screening in the Czech Republic. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 31, 29-29.
- CITRO, V.;CIMMARUTA, C.;MONTICELLI, M.;RICCIO, G.;HAY MELE, B., et al. (2018). The Analysis of Variants in the General Population Reveals That PMM2 Is Extremely Tolerant to Missense Mutations and That Diagnosis of PMM2-CDG Can Benefit from the Identification of Modifiers. *Int J Mol Sci*, 19(8). <https://doi.org/10.3390/ijms19082218>
- CLAYTON, P.;WINCHESTER, B.;DI TOMASO, E.;YOUNG, E.;KEIR, G., et al. (1993). Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome: normal glycosylation in the fetus. *Lancet*, 341(8850), 956. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)91244-g](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)91244-g)
- CONTI, L. R.;RADEKE, C. M.andVANDENBERG, C. A. (2002). Membrane targeting of ATP-sensitive potassium channel. Effects of glycosylation on surface expression. *J Biol Chem*, 277(28), 25416-25422. <https://doi.org/10.1074/jbc.M203109200>
- COSSINS, J.;BELAYA, K.;HICKS, D.;SALIH, M. A.;FINLAYSON, S., et al. (2013). Congenital myasthenic syndromes due to mutations in ALG2 and ALG14. *Brain*, 136(Pt 3), 944-956. <https://doi.org/10.1093/brain/awt010>
- DAVID, J.;CHRASTINA, P.;PESKOVA, K.;KOZICH, V.;FRIEDECKY, D., et al. (2019). Epidemiology of rare diseases detected by newborn screening in the Czech Republic. *Cent Eur J Public Health*, 27(2), 153-159. <https://doi.org/10.21101/cejph.a5441>
- DE DIEGO, V.;MARTINEZ-MONSENY, A. F.;MUCHART, J.;CUADRAS, D.;MONTERO, R., et al. (2017). Longitudinal volumetric and 2D assessment of cerebellar atrophy in a large cohort of children with phosphomannomutase deficiency (PMM2-CDG). *J Inherit Metab Dis*, 40(5), 709-713. <https://doi.org/10.1007/s10545-017-0028-4>
- DE KONING, T. J.;DORLAND, L.;VAN DIGGELEN, O. P.;BOONMAN, A. M.;DE JONG, G. J., et al. (1998). A novel disorder of N-glycosylation due to phosphomannose isomerase deficiency. *Biochem Biophys Res Commun*, 245(1), 38-42. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.8385>
- DE KONING, T. J.;TOET, M.;DORLAND, L.;DE VRIES, L. S.;VAN DEN BERG, I. E., et al. (1998). Recurrent nonimmune hydrops fetalis associated with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *J Inherit Metab Dis*, 21(6), 681-682. <https://doi.org/10.1023/a:1005496920435>
- DE LA MORENA-BARRIO, M. E.;WYPASEK, E.;OWCZAREK, D.;MINANO, A.;VICENTE, V., et al. (2019). MPI-CDG with transient hypoglycosylation and antithrombin deficiency. *Haematologica*, 104(2), e79-e82. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.211326>
- DE LONLAY, P.andSETA, N. (2009). The clinical spectrum of phosphomannose isomerase deficiency, with an evaluation of mannose treatment for CDG-Ib. *Biochim Biophys Acta*, 1792(9), 841-843. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.11.012>
- DE LONLAY, P.;SETA, N.;BARROT, S.;CHABROL, B.;DROUIN, V., et al. (2001). A broad spectrum of clinical presentations in congenital disorders of glycosylation I: a series of 26 cases. *J Med Genet*, 38(1), 14-19. <https://doi.org/10.1136/jmg.38.1.14>
- DEFAUS, S.;GUPTA, P.;ANDREU, D.andGUTIERREZ-GALLEGO, R. (2014). Mammalian protein glycosylation--structure versus function. *Analyst*, 139(12), 2944-2967. <https://doi.org/10.1039/c3an02245e>

- DINOPOULOS, A.;MOHAMED, I.;JONES, B.;RAO, S.;FRANZ, D., et al. (2007). Radiologic and neurophysiologic aspects of stroke-like episodes in children with congenital disorder of glycosylation type Ia. *Pediatrics*, 119(3), e768-772. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-0763>
- DORRE, K.;OLCZAK, M.;WADA, Y.;SOSICKA, P.;GRUNEBERG, M., et al. (2015). A new case of UDP-galactose transporter deficiency (SLC35A2-CDG): molecular basis, clinical phenotype, and therapeutic approach. *J Inherit Metab Dis*, 38(5), 931-940. <https://doi.org/10.1007/s10545-015-9828-6>
- ETZIONI, A.andTONETTI, M. (2000). Fucose supplementation in leukocyte adhesion deficiency type II. *Blood*, 95(11), 3641-3643. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10877554>
- FAROLFI, M.;CECHOVA, A.;ONDRUSKOVA, N.;ZIDKOVA, J.;KOUSAL, B., et al. (2021). ALG3-CDG: a patient with novel variants and review of the genetic and ophthalmic findings. *BMC Ophthalmol*, 21(1), 249. <https://doi.org/10.1186/s12886-021-02013-2>
- FERNLUND, E.;ANDERSSON, O.;ELLEGARD, R.;ARSTRAND, H. K.;GREEN, H., et al. (2019). The congenital disorder of glycosylation in PGM1 (PGM1-CDG) can cause severe cardiomyopathy and unexpected sudden cardiac death in childhood. *Forensic Sci Int Genet*, 43, 102111. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2019.06.012>
- FERREIRA, C. R.;ALTASSAN, R.;MARQUES-DA-SILVA, D.;FRANCISCO, R.;JAEKEN, J., et al. (2018). Recognizable phenotypes in CDG. *J Inherit Metab Dis*, 41(3), 541-553. <https://doi.org/10.1007/s10545-018-0156-5>
- FERREIRA, C. R.;RAHMAN, S.;KELLER, M.;ZSCHOCKE, J.andGROUP, I. A. (2021). An international classification of inherited metabolic disorders (ICIMD). *J Inherit Metab Dis*, 44(1), 164-177. <https://doi.org/10.1002/jimd.12348>
- FREEZE, H. H.;JAEKEN, J.andMATTHIJS, G. (2022). CDG or not CDG. *J Inherit Metab Dis*, 45(3), 383-385. <https://doi.org/10.1002/jimd.12498>
- GIURGEA, I.;MICHEL, A.;LE MERRER, M.;SETA, N.andDE LONLAY, P. (2005). Underdiagnosis of mild congenital disorders of glycosylation type Ia. *Pediatr Neurol*, 32(2), 121-123. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2004.06.021>
- GRUNERT, S. C.;MARQUARDT, T.;LAUSCH, E.;FUCHS, H.;THIEL, C., et al. (2019). Unsuccessful intravenous D-mannose treatment in PMM2-CDG. *Orphanet J Rare Dis*, 14(1), 231. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1213-3>
- GUILLARD, M.;WADA, Y.;HANSIKOVA, H.;YUASA, I.;VESELA, K., et al. (2011). Transferrin mutations at the glycosylation site complicate diagnosis of congenital disorders of glycosylation type I. *J Inherit Metab Dis*, 34(4), 901-906. <https://doi.org/10.1007/s10545-011-9311-y>
- HANSÍKOVÁ, H.;ONDRUŠKOVÁ, N.;HONZÍK, T.;VESELÁ, K.;HOROVA, E., et al. (2016). Aktivita fosfomanomutázy 2 u pacientů s podezřením na dědičnou poruchu glykosylace [Activity of phosphomannomutase 2 in patients with suspected congenital disorder of glycosylation]. *Klin. Biochem. Metab.*, 24(45), 67-74.
- HELANDER, A.;BERGSTROM, J.andFREEZE, H. H. (2004). Testing for congenital disorders of glycosylation by HPLC measurement of serum transferrin glycoforms. *Clin Chem*, 50(5), 954-958. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.029629>
- HELANDER, A.;JAEKEN, J.;MATTHIJS, G.andEGGERTSEN, G. (2014). Asymptomatic phosphomannose isomerase deficiency (MPI-CDG) initially mistaken for excessive alcohol consumption. *Clin Chim Acta*, 431, 15-18. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.018>
- HELANDER, A.;WIELDERS, J.;ANTON, R.;ARNDT, T.;BIANCHI, V., et al. (2016). Standardisation and use of the alcohol biomarker carbohydrate-deficient transferrin (CDT). *Clin Chim Acta*, 459, 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.05.016>
- HENDRIKSZ, C. J.;MCCLEAN, P.;HENDERSON, M. J.;KEIR, D. G.;WORTHINGTON, V. C., et al. (2001). Successful treatment of carbohydrate deficient glycoprotein syndrome type 1b with oral mannose. *Arch Dis Child*, 85(4), 339-340. <https://doi.org/10.1136/ad.85.4.339>
- HIMMELREICH, N.;DIMITROV, B.;GEIGER, V.;ZIELONKA, M.;HUTTER, A. M., et al. (2019). Novel variants and clinical symptoms in four new ALG3-CDG patients, review of the literature, and

- identification of AAGRP-ALG3 as a novel ALG3 variant with alanine and glycine-rich N-terminus. *Hum Mutat*, 40(7), 938-951. <https://doi.org/10.1002/humu.23764>
- HNIKOVA, O.;KRACMAR, P.;ZELENKA, Z.;PHILIPPOVA, O.;FABIANOVA, J., et al. (1989). Screening of congenital hypothyroidism in newborns in Bohemia and Moravia. *Endocrinol Exp*, 23(2), 117-123. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2506000>
- IJIMA, K.;MURAKAMI, F.;NAKAMURA, K.;IKAWA, S.;YUASA, I., et al. (1994). Hemostatic studies in patients with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *Thromb Res*, 76(2), 193-198. [https://doi.org/10.1016/0049-3848\(94\)90189-9](https://doi.org/10.1016/0049-3848(94)90189-9)
- IYER, S.;SAM, F. S.;DIPRIMIO, N.;PRESTON, G.;VERHEIJEN, J., et al. (2019). Repurposing the aldose reductase inhibitor and diabetic neuropathy drug epalrestat for the congenital disorder of glycosylation PMM2-CDG. *Dis Model Mech*, 12(11). <https://doi.org/10.1242/dmm.040584>
- JAEKEN, J.;ARTIGAS, J.;BARONE, R.;FIUMARA, A.;DE KONING, T. J., et al. (1997). Phosphomannomutase deficiency is the main cause of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome with type I isoelectrofocusing pattern of serum sialotransferrins. *J Inherit Metab Dis*, 20(3), 447-449. <https://doi.org/10.1023/a:1005331523477>
- JAEKEN, J.;LEFEBER, D. J.andMATTHIJS, G. (2020). SRD5A3 defective congenital disorder of glycosylation: clinical utility gene card. *Eur J Hum Genet*, 28(9), 1297-1300. <https://doi.org/10.1038/s41431-020-0647-3>
- JAEKEN, J.;MATTHIJS, G.;SAUDUBRAY, J. M.;DIONISI-VICI, C.;BERTINI, E., et al. (1998). Phosphomannose isomerase deficiency: a carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome with hepatic-intestinal presentation. *Am J Hum Genet*, 62(6), 1535-1539. <https://doi.org/10.1086/301873>
- JAEKEN, J.andPEANNE, R. (2017). What is new in CDG? *J Inherit Metab Dis*, 40(4), 569-586. <https://doi.org/10.1007/s10545-017-0050-6>
- JAEKEN, J.;VAN EIJK, H. G.;VAN DER HEUL, C.;CORBEEL, L.;ECKELS, R., et al. (1984). Sialic acid-deficient serum and cerebrospinal fluid transferrin in a newly recognized genetic syndrome. *Clin Chim Acta*, 144(2-3), 245-247. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(84\)90059-7](https://doi.org/10.1016/0009-8981(84)90059-7)
- JAEKEN, J.;VANDERSCHUEREN-LODEWEYCKX, M.;CASAER, P.;SNOECK, L.;CORBEEL, L., et al. (1980). Familial psychomotor retardation with markedly fluctuating serum prolactin, FSH and GH levels, partial TBG-deficiency, increased serum arylsulphatase A and increased CSF protein: a new syndrome?: 90. *Pediatric Research*, 14(2), 179-179. <https://doi.org/10.1203/00006450-198002000-00117>
- JANSEN, J. C.;CIRAK, S.;VAN SCHERPENZEEL, M.;TIMAL, S.;REUNERT, J., et al. (2016). CCDC115 Deficiency Causes a Disorder of Golgi Homeostasis with Abnormal Protein Glycosylation. *Am J Hum Genet*, 98(2), 310-321. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.12.010>
- JANSSEN, M. C.;DE KLEINE, R. H.;VAN DEN BERG, A. P.;HEIJDRRA, Y.;VAN SCHERPENZEEL, M., et al. (2014). Successful liver transplantation and long-term follow-up in a patient with MPI-CDG. *Pediatrics*, 134(1), e279-283. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-2732>
- KAPUSTA, L.;ZUCKER, N.;FRENCKEL, G.;MEDALION, B.;BEN GAL, T., et al. (2013). From discrete dilated cardiomyopathy to successful cardiac transplantation in congenital disorders of glycosylation due to dolichol kinase deficiency (DK1-CDG). *Heart Fail Rev*, 18(2), 187-196. <https://doi.org/10.1007/s10741-012-9302-6>
- KJAERGAARD, S.;KRISTIANSSON, B.;STIBLER, H.;FREEZE, H. H.;SCHWARTZ, M., et al. (1998). Failure of short-term mannose therapy of patients with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type 1A. *Acta Paediatr*, 87(8), 884-888. <https://doi.org/10.1080/080352598750013680>
- KNAUS, A.;PANTEL, J. T.;PENDZIWIAT, M.;HAJJIR, N.;ZHAO, M., et al. (2018). Characterization of glycosylphosphatidylinositol biosynthesis defects by clinical features, flow cytometry, and automated image analysis. *Genome Med*, 10(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0510-5>
- KORNER, C.;KNAUER, R.;STEPHANI, U.;MARQUARDT, T.;LEHLE, L., et al. (1999). Carbohydrate deficient glycoprotein syndrome type IV: deficiency of dolichyl-P-Man:Man(5)GlcNAc(2)-PP-dolichyl mannosyltransferase. *EMBO J*, 18(23), 6816-6822. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.23.6816>

- KOUSAL, B.;HONZIK, T.;HANSIKOVA, H.;ONDRUSKOVA, N.;CECHOVA, A., et al. (2019). Review of SRD5A3 Disease-Causing Sequence Variants and Ocular Findings in Steroid 5alpha-Reductase Type 3 Congenital Disorder of Glycosylation, and a Detailed New Case. *Folia Biol (Praha)*, 65(3), 134-141. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31638560>
- LIEM, Y. S.;BODE, L.;FREEZE, H. H.;LEE BEEK, F. W.;ZANDBERGEN, A. A., et al. (2008). Using heparin therapy to reverse protein-losing enteropathy in a patient with CDG-Ib. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 5(4), 220-224. <https://doi.org/10.1038/ncpgasthep1061>
- LIGEZKA, A. N.;RADENKOVIC, S.;SARASWAT, M.;GARAPATI, K.;RANATUNGA, W., et al. (2021). Sorbitol Is a Severity Biomarker for PMM2-CDG with Therapeutic Implications. *Ann Neurol*, 90(6), 887-900. <https://doi.org/10.1002/ana.26245>
- LOEWENTHAL, N.;HAIM, A.;PARVARI, R.andHERSHKOVITZ, E. (2015). Phosphoglucomutase-1 deficiency: Intrafamilial clinical variability and common secondary adrenal insufficiency. *Am J Med Genet A*, 167A(12), 3139-3143. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37294>
- MARTINEZ-MONSENY, A. F.;BOLASELL, M.;CALLEJON-POO, L.;CUADRAS, D.;FRENICHE, V., et al. (2019). AZATAx: Acetazolamide safety and efficacy in cerebellar syndrome in PMM2 congenital disorder of glycosylation (PMM2-CDG). *Ann Neurol*, 85(5), 740-751. <https://doi.org/10.1002/ana.25457>
- MATTHIJS, G.;SCHOLLEN, E.;BJURSELL, C.;ERLANDSON, A.;FREEZE, H., et al. (2000). Mutations in PMM2 that cause congenital disorders of glycosylation, type Ia (CDG-Ia). *Hum Mutat*, 16(5), 386-394. [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(200011\)16:5<386::AID-HUMU2>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/1098-1004(200011)16:5<386::AID-HUMU2>3.0.CO;2-Y)
- MATTHIJS, G.;SCHOLLEN, E.andVAN SCHAFTINGEN, E. (2004). The prenatal diagnosis of congenital disorders of glycosylation (CDG). *Prenat Diagn*, 24(2), 114-116. <https://doi.org/10.1002/pd.815>
- MATTHIJS, G.;SCHOLLEN, E.;VAN SCHAFTINGEN, E.;CASSIMAN, J. J.andJAEKEN, J. (1998). Lack of homozygotes for the most frequent disease allele in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type 1A. *Am J Hum Genet*, 62(3), 542-550. <https://doi.org/10.1086/301763>
- MAYATEPEK, E.andKOHLMULLER, D. (1998). Mannose supplementation in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I and phosphomannomutase deficiency. *Eur J Pediatr*, 157(7), 605-606. <https://doi.org/10.1007/s004310050889>
- MEDEK, K.;ZEMAN, J.;HONZIK, T.;HANSIKOVA, H.;SVECOVA, S., et al. (2017). Hereditary Multiple Exostoses: Clinical, Molecular and Radiologic Survey in 9 Families. *Prague Med Rep*, 118(2-3), 87-94. <https://doi.org/10.14712/23362936.2017.8>
- MORELLE, W.;POTELLE, S.;WITTERS, P.;WONG, S.;CLIMER, L., et al. (2017). Galactose Supplementation in Patients With TMEM165-CDG Rescues the Glycosylation Defects. *J Clin Endocrinol Metab*, 102(4), 1375-1386. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-3443>
- NG, B. G.;WOLFE, L. A.;ICHIKAWA, M.;MARKELLO, T.;HE, M., et al. (2015). Biallelic mutations in CAD, impair de novo pyrimidine biosynthesis and decrease glycosylation precursors. *Hum Mol Genet*, 24(11), 3050-3057. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv057>
- NIEHUES, R.;HASILIK, M.;ALTON, G.;KORNER, C.;SCHIEBE-SUKUMAR, M., et al. (1998). Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type Ib. Phosphomannose isomerase deficiency and mannose therapy. *J Clin Invest*, 101(7), 1414-1420. <https://doi.org/10.1172/JCI2350>
- NOLTING, K.;PARK, J. H.;TEGTMAYER, L. C.;ZUHLSDORF, A.;GRUNEBERG, M., et al. (2017). Limitations of galactose therapy in phosphoglucomutase 1 deficiency. *Mol Genet Metab Rep*, 13, 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2017.07.010>
- NOREAU, A.;BEAUCHEMIN, P.;DIONNE-LAPORTE, A.;CANADA, F.;DION, P. A., et al. (2014). Exome sequencing revealed PMM2 gene mutations in a French-Canadian family with congenital atrophy of the cerebellum. *Cerebellum Ataxias*, 1, 8. <https://doi.org/10.1186/2053-8871-1-8>
- ONDRUSKOVA, N.;CECHOVA, A.;HANSIKOVA, H.;HONZIK, T.andJAEKEN, J. (2021). Congenital disorders of glycosylation: Still "hot" in 2020. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 1865(1), 129751. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2020.129751>

- PAKETCI, C.;EDEM, P.;HIZ, S.;SONMEZLER, E.;SOYDEMIR, D., et al. (2020). Successful treatment of intractable epilepsy with ketogenic diet therapy in twins with ALG3-CDG. *Brain Dev*, 42(7), 539-545. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2020.04.008>
- PAPROCKA, J.;JEZELA-STANEK, A.;TYLKI-SZYMANSKA, A.andGRUNEWALD, S. (2021). Congenital Disorders of Glycosylation from a Neurological Perspective. *Brain Sci*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/brainsci11010088>
- PARK, J. H.;HOGREBE, M.;FOBKER, M.;BRACKMANN, R.;FIEDLER, B., et al. (2018). SLC39A8 deficiency: biochemical correction and major clinical improvement by manganese therapy. *Genet Med*, 20(2), 259-268. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.106>
- PARK, J. H.;HOGREBE, M.;GRUNEBERG, M.;DUCHESNE, I.;VON DER HEIDEN, A. L., et al. (2015). SLC39A8 Deficiency: A Disorder of Manganese Transport and Glycosylation. *Am J Hum Genet*, 97(6), 894-903. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.11.003>
- PARLIAMENT, E.andUNION, t. C. o. t. E. (2000). Regulation (EC) No 141/2000 of the European Parliament and of the Council of 16 December 1999 on orphan medicinal products. *Official J Eur Communities*, 18, 1-5.
- PEANNE, R.;DE LONLAY, P.;FOULQUIER, F.;KORNAK, U.;LEFEBER, D. J., et al. (2018). Congenital disorders of glycosylation (CDG): Quo vadis? *Eur J Med Genet*, 61(11), 643-663. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.10.012>
- PEARL, P. L.andKRASNEWICH, D. (2001). Neurologic course of congenital disorders of glycosylation. *J Child Neurol*, 16(6), 409-413. <https://doi.org/10.1177/088307380101600604>
- PEŠKOVÁ, K.;CHRASTINA, P.;BÁRTL, J.;ADAM, T.;VOTAVA, F., et al. (2018). Novorozenecký screening dědičných metabolických poruch v České republice. *Czecho-Slovak Pediatrics/Cesko-Slovenska Pediatrie*, 73(6).
- QUICK, C. B.;FISHER, R. A.andHARRIS, H. (1974). A kinetic study of the isozymes determined by the three human phosphoglucomutase loci PGM1, PGM2, and PGM3. *Eur J Biochem*, 42(2), 511-517. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03366.x>
- RADENKOVIC, S.;BIRD, M. J.;EMMERZAAL, T. L.;WONG, S. Y.;FELGUEIRA, C., et al. (2019). The Metabolic Map into the Pathomechanism and Treatment of PGM1-CDG. *Am J Hum Genet*, 104(5), 835-846. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.03.003>
- RESENDE, C.;CARVALHO, C.;ALEGRIA, A.;OLIVEIRA, D.;QUELHAS, D., et al. (2014). Congenital disorders of glycosylation with neonatal presentation. *BMJ Case Rep*, 2014. <https://doi.org/10.1136/bcr-2013-010037>
- RIESS, S.;REDDIHOUGH, D. S.;HOWELL, K. B.;DAGIA, C.;JAEKEN, J., et al. (2013). ALG3-CDG (CDG-Id): clinical, biochemical and molecular findings in two siblings. *Mol Genet Metab*, 110(1-2), 170-175. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.05.020>
- RUSH, J. S.;PANNEERSELVAM, K.;WAECHTER, C. J.andFREEZE, H. H. (2000). Mannose supplementation corrects GDP-mannose deficiency in cultured fibroblasts from some patients with Congenital Disorders of Glycosylation (CDG). *Glycobiology*, 10(8), 829-835. <https://doi.org/10.1093/glycob/10.8.829>
- SCHOLLEN, E.;KELDERMANS, L.;FOULQUIER, F.;BRIONES, P.;CHABAS, A., et al. (2007). Characterization of two unusual truncating PMM2 mutations in two CDG-Ia patients. *Mol Genet Metab*, 90(4), 408-413. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2007.01.003>
- SCHOLLEN, E.;KJAERGAARD, S.;LEGIUS, E.;SCHWARTZ, M.andMATTHIJS, G. (2000). Lack of Hardy-Weinberg equilibrium for the most prevalent PMM2 mutation in CDG-Ia (congenital disorders of glycosylation type Ia). *Eur J Hum Genet*, 8(5), 367-371. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200470>
- SCHRAPERS, E.;TEGMEYER, L. C.;SIMIC-SCHLEICHER, G.;DEBUS, V.;REUNERT, J., et al. (2016). News on Clinical Details and Treatment in PGM1-CDG. *JIMD Rep*, 26, 77-84. https://doi.org/10.1007/8904_2015_471
- SENDEREK, J.;MULLER, J. S.;DUSL, M.;STROM, T. M.;GUERGUELTCHEVA, V., et al. (2011). Hexosamine biosynthetic pathway mutations cause neuromuscular transmission defect. *Am J Hum Genet*, 88(2), 162-172. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.01.008>

- SHARMA, V.; ICHIKAWA, M. and FREEZE, H. H. (2014). Mannose metabolism: more than meets the eye. *Biochem Biophys Res Commun*, 453(2), 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.06.021>
- SIMARD, M.; UNDERHILL, C. and HAMMOND, G. L. (2018). Functional implications of corticosteroid-binding globulin N-glycosylation. *J Mol Endocrinol*, 60(2), 71-84. <https://doi.org/10.1530/JME-17-0234>
- SOMMERBURG, O.; KRULISOVA, V.; HAMMERMANN, J.; LINDNER, M.; STAHL, M., et al. (2014). Comparison of different IRT-PAP protocols to screen newborns for cystic fibrosis in three central European populations. *J Cyst Fibros*, 13(1), 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2013.06.003>
- SOSICKA, P.; NG, B. G. and FREEZE, H. H. (2022). Chemical Therapies for Congenital Disorders of Glycosylation. *ACS Chem Biol*, 17(11), 2962-2971. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.1c00601>
- STEHLIKOVA, K.; SKALOVA, D.; ZIDKOVA, J.; HABERLOVA, J.; VOHANKA, S., et al. (2017). Muscular dystrophies and myopathies: the spectrum of mutated genes in the Czech Republic. *Clin Genet*, 91(3), 463-469. <https://doi.org/10.1111/cge.12839>
- STIBLER, H. and SKOVBY, F. (1994). Failure to diagnose carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome prenatally. *Pediatr Neurol*, 11(1), 71. [https://doi.org/10.1016/0887-8994\(94\)90097-3](https://doi.org/10.1016/0887-8994(94)90097-3)
- STIBLER, H.; STEPHANI, U. and KUTSCH, U. (1995). Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome--a fourth subtype. *Neuropediatrics*, 26(5), 235-237. <https://doi.org/10.1055/s-2007-979762>
- STRAY-PEDERSEN, A.; BACKE, P. H.; SORTE, H. S.; MORKRID, L.; CHOKSHI, N. Y., et al. (2014). PGM3 mutations cause a congenital disorder of glycosylation with severe immunodeficiency and skeletal dysplasia. *Am J Hum Genet*, 95(1), 96-107. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.05.007>
- TEGTMEYER, L. C.; RUST, S.; VAN SCHERPENZEEL, M.; NG, B. G.; LOSFELD, M. E., et al. (2014). Multiple phenotypes in phosphoglucomutase 1 deficiency. *N Engl J Med*, 370(6), 533-542. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1206605>
- TIMAL, S.; HOISCHEN, A.; LEHLE, L.; ADAMOWICZ, M.; HUIJBEN, K., et al. (2012). Gene identification in the congenital disorders of glycosylation type I by whole-exome sequencing. *Hum Mol Genet*, 21(19), 4151-4161. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds123>
- VALS, M. A.; PAJUSALU, S.; KALS, M.; MAGI, R. and OUNAP, K. (2018). The Prevalence of PMM2-CDG in Estonia Based on Population Carrier Frequencies and Diagnosed Patients. *JIMD Rep*, 39, 13-17. https://doi.org/10.1007/8904_2017_41
- VAN EIJK, H. G. and VAN NOORT, W. L. (1992). The analysis of human serum transferrins with the PhastSystem: quantitation of microheterogeneity. *Electrophoresis*, 13(6), 354-358. <https://doi.org/10.1002/elps.1150130173>
- VAN SCHAFTINGEN, E. and JAEKEN, J. (1995). Phosphomannomutase deficiency is a cause of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *FEBS Lett*, 377(3), 318-320. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01357-1](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01357-1)
- VOTAVA, F.; NOVOTNA, D.; KRACMAR, P.; VINOHRADSKA, H.; STAHLLOVA-HRABINCOVA, E., et al. (2012). Lessons learned from 5 years of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in the Czech Republic: 17-hydroxyprogesterone, genotypes, and screening performance. *Eur J Pediatr*, 171(6), 935-940. <https://doi.org/10.1007/s00431-011-1656-6>
- VUILLAUMIER-BARROT, S.; ISIDOR, B.; DUPRE, T.; LE BIZEC, C.; DAVID, A., et al. (2012). Expanding the Spectrum of PMM2-CDG Phenotype. *JIMD Rep*, 5, 123-125. https://doi.org/10.1007/8904_2011_114
- WATERS, D.; ADELOYE, D.; WOOLHAM, D.; WASTNEDGE, E.; PATEL, S., et al. (2018). Global birth prevalence and mortality from inborn errors of metabolism: a systematic analysis of the evidence. *J Glob Health*, 8(2), 021102. <https://doi.org/10.7189/jogh.08.021102>
- WONG, S. Y.; BEAMER, L. J.; GADOMSKI, T.; HONZIK, T.; MOHAMED, M., et al. (2016). Defining the Phenotype and Assessing Severity in Phosphoglucomutase-1 Deficiency. *J Pediatr*, 175, 130-136 e138. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.04.021>

- WONG, S. Y.;GADOMSKI, T.;VAN SCHERPENZEEL, M.;HONZIK, T.;HANSIKOVA, H., et al. (2017). Oral D-galactose supplementation in PGM1-CDG. *Genet Med*, 19(11), 1226-1235. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.41>
- WURM, D.;HANSGEN, A.;KIM, Y. J.;LINDINGER, A.;BAGHAI, A., et al. (2007). Early fatal course in siblings with CDG-la (caused by two novel mutations in the PMM2 gene): clinical, molecular and autopsy findings. *Eur J Pediatr*, 166(4), 377-378. <https://doi.org/10.1007/s00431-006-0240-y>
- ZDRAZILOVA, L.;KUCCHAR, L.;ONDRUSKOVA, N.;HONZIK, T.andHANSIKOVA, H. (2020). A new role for dolichol isoform profile in the diagnostics of CDG disorders. *Clin Chim Acta*, 507, 88-93. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.04.012>
- ZEEVAERT, R.;SCALAIS, E.;MUINO MOSQUERA, L.;DE MEIRLEIR, L.;DE BEAUFORT, C., et al. (2016). PGM1 deficiency diagnosed during an endocrine work-up of low IGF-1 mediated growth failure. *Acta Clin Belg*, 71(6), 435-437. <https://doi.org/10.1080/17843286.2016.1142043>
- ZENTILIN BOYER, M.;DE LONLAY, P.;SETA, N.;BESNARD, M.;PELATAN, C., et al. (2003). [Failure to thrive and intestinal diseases in congenital disorders of glycosylation]. *Arch Pediatr*, 10(7), 590-595. [https://doi.org/10.1016/s0929-693x\(03\)00278-1](https://doi.org/10.1016/s0929-693x(03)00278-1) (Hypotrophie et manifestations digestives des desordres congenitaux de la glycosylation.)
- ZUHLSDORF, A.;PARK, J. H.;WADA, Y.;RUST, S.;REUNERT, J., et al. (2015). Transferrin variants: pitfalls in the diagnostics of Congenital disorders of glycosylation. *Clin Biochem*, 48(1-2), 11-13. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.09.022>

8. Přílohy

Příloha č. 1: Consensus guideline for the diagnosis and management of mannose phosphate isomerase-congenital disorder of glycosylation.

Příloha č. 2: Should patients with Phosphomannomutase 2-CDG (PMM2-CDG) be screened for adrenal insufficiency?

Příloha č. 3: Congenital disorders of glycosylation: still "hot" in 2020.

Příloha č. 4: International consensus guidelines for phosphoglucomutase 1 deficiency (PGM1-CDG): diagnosis, follow-up and management.

Příloha č. 5: International clinical guidelines for the management of phosphomannomutase 2 - congenital disorders of glycosylation: Diagnosis, treatment and follow up.

Příloha č. 6: ALG3-CDG: a patient with novel variants and review of the genetic and ophthalmic findings.

Příloha č. 7: 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.

Příloha č. 8: Deficit fosfomanomutázy 2: klinická, biochemická a molekulárně-genetická charakteristika 22 pacientů diagnostikovaných v České republice.