Autoreferát disertační práce

UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

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

Dědičné poruchy glykosylace

MUDr. Anna Čechová

2023

Doktorské studijní programy v biomedicíně

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Preventivní medicína a epidemiologie

Předseda oborové rady: doc. MUDr. Jan Polák, Ph.D., MBA

Školicí pracoviště: Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Honzík, PhD.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněná k nahlížení veřejnosti v tištené podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Obsah

1. Úvod 6
   1.1. Dědičné poruchy glykosylace 6
   1.2. Glykosylace 7
   1.3. Klinické projevy CDG 8
   1.4. Diagnostika CDG 9
   1.5. Terapie CDG 10
2. Cíle práce 11
3. Materiál a metodika 12
4. Výsledky a diskuse 16
5. Závěry 27
   5.1. Konkrétní přínosy práce 27
   5.2. Preventivní aspekty práce 27
6. Originální články autorky 29
7. Použitá literatura 31

Abstrakt

Dědičné poruchy glykosylace (congenital disorders of glycosylation, CDG) jsou novou rychle rostoucí a různorodou skupinou dědičných poruch metabolismu zahrnující v současnosti vice než 160 klinických jednotek, často jen s několika málo popsanými 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 přispívá 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 vyhledávání pacientů s lehkými formami onemocnění.

Abstract

Congenital disorders of glycosylation (CDG) are a new, rapidly growing, and diverse group of inherited metabolic disorders comprising now 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.

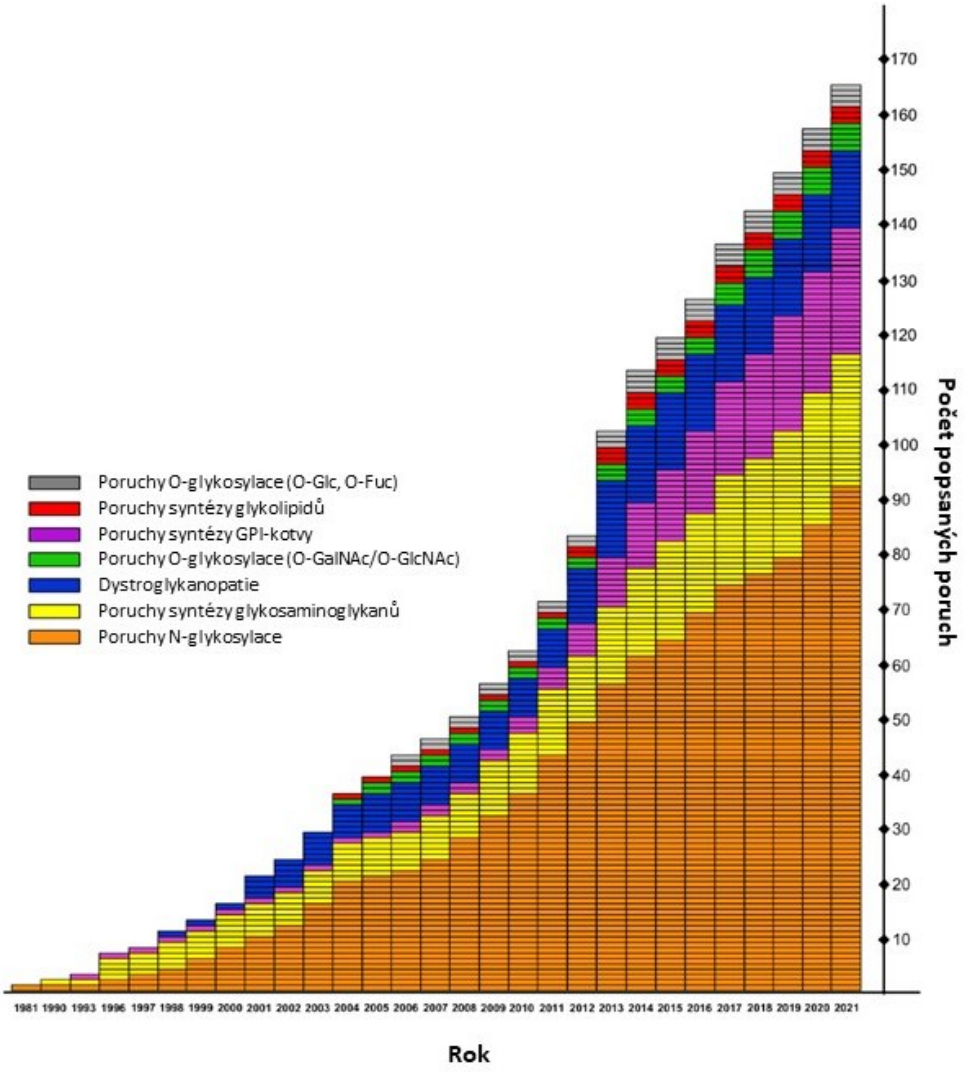
The work has resulted in eight articles, seven of them in impacted journals. These are three guidelines, including recommendations of an international expert group on the diagnosis and management of the most common/treatable CDG subtypes (PMM2-CDG, MPI-CDG and PGM1-CDG). These allow each treating physician 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.

1. Úvod

1.1. Dědičné poruchy glykosylace

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

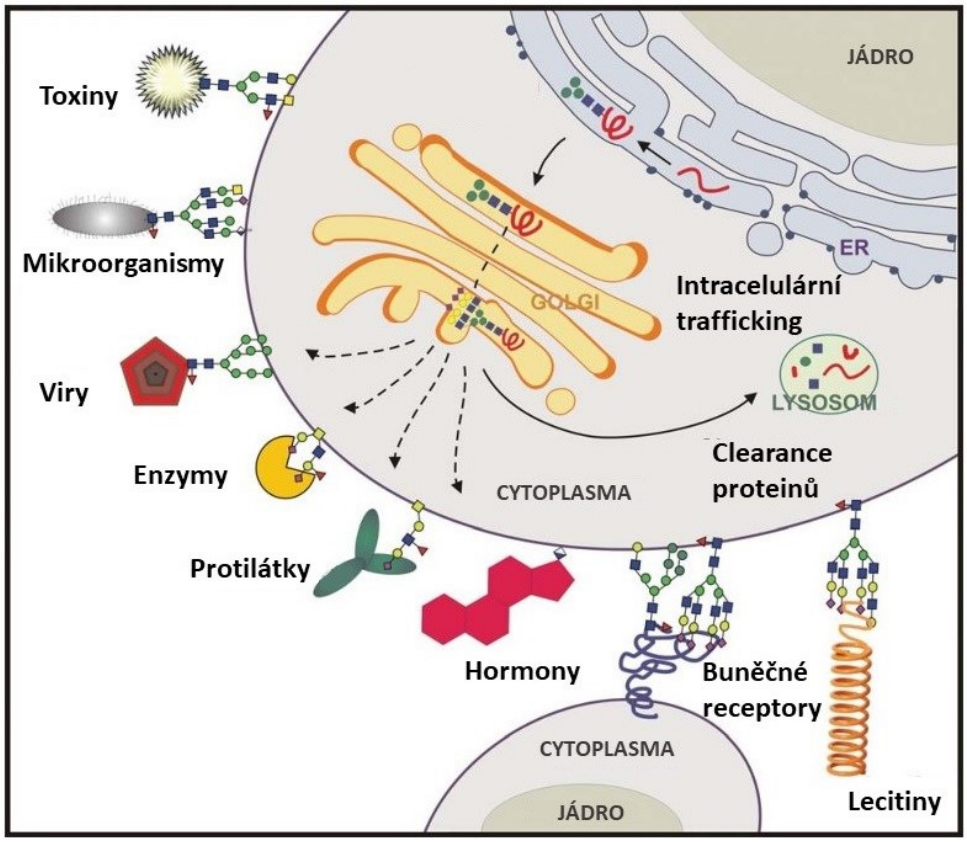


Obr. 1: Počet známých subtypů CDG. Graf ukazuje rychlý nárůst známých subtypů CDG od jejich prvního popsání v roce 1980 do současnosti. Barevně jsou odlišeny jednotlivé kategorie CDG. Upraveno dle (Sosicka et al. 2022).

1.2. Glykosylace

Glykosylace je častým typem kotranslační a posttranslační úpravy proteinů a lipidů. 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.

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



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

1.3. 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 s izolovaným orgánovým postižením (Ferreira et al. 2018).

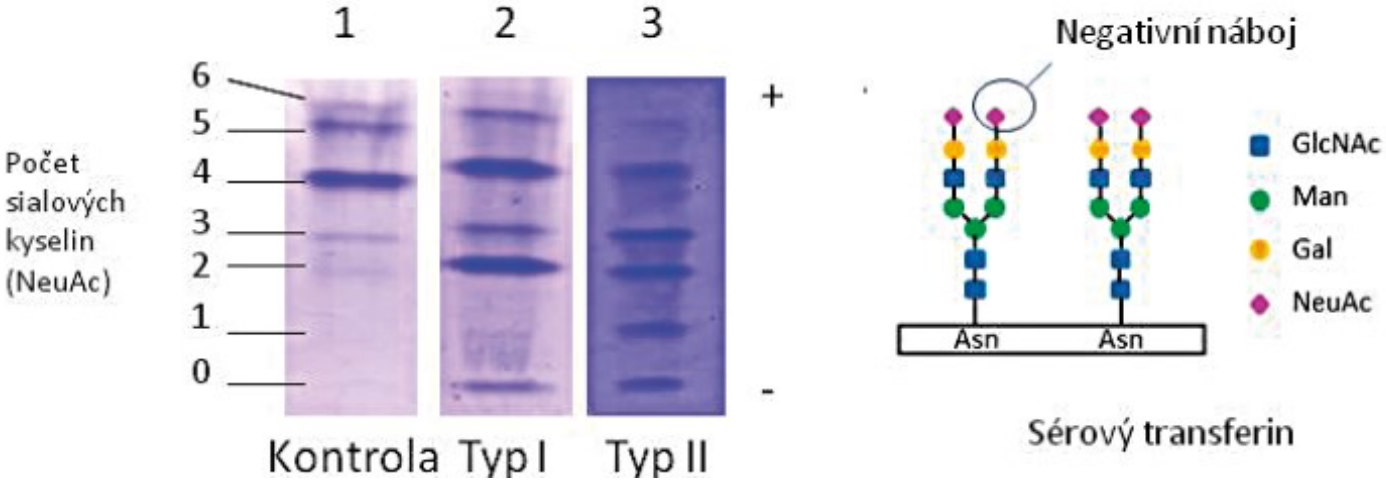
U multisystémových forem se téměř konstantně vyskytuje neurologické postižení (Obr. 3A, B), postižení jater (Obr. 3C), GIT, endokrinologické, kostní, koagulační, kardiovaskulární, oční, renální a imunologické. U řady podtypů CDG je také přítomná typická dysmorfie s atypickým rozložením tuku, vpáčenými bradavkami a nespecifickou kraniofaciální dysmorfií (Obr. 3D, E).

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).

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.

1.4. Diagnostika CDG

Diagnostika CDG probíhá na několika úrovních. Screeningovou metodou je isoelektrická fokusace vybraných glykosylovaných sérových proteinů – transferrinu (N-glykosylační poruchy) a ApoCIII (O-glykosylační poruchy) (de Koning 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 transferinu (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 transferinu. Převzato z (Čechová et al. 2018).

Vzhledem k nízké specificitě 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.

1.5. Terapie CDG

Přestože počet známých typů CDG rychle roste, efektivní terapie je známá jen u malé části z nich. U některých 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 používaná terapie inhibitory acetylcholinesterázy (Cossins et al. 2013; Senderek et al. 2011). U PIGM-CDG je využívaná 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 modality 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)).

2. 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 rozvíjejícím tématu.

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.

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

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

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**.

3. Materiál a metodika

Detailní popis materiálů a metodiky je uveden v dizertační práci a v originálních článcích.

3.1. Týkající se cíle A1)

3.1.1. CDG 2017-2020 review

Provedli jsme systematickou review literatury (celkem 157 článků) se zaměřením na nové poznatky týkající se CDG. K review literatury byla využita především databáze PubMed s danými klíčovými slovy a s časovým ohraničením publikací 1/2016–1/2020.

3.2. Týkající se cíle A2)

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. 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 formulovaná 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. 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 mužského a 20 ženského pohlaví, 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; věk 9 měsíců – 29 let s mediánem 14 let), 2 pacienti zemřeli v kojeneckém věku. V rámci studie jsme u pacientů retrospektivně hodnotili klinický obraz (včetně věku a projevů při nástupu onemocnění a rozvoje následných komplikací), laboratorní parametry, zobrazení CNS, hodnocení kostní denzity, kardiologické vyšetření a EMG.

3.2.3.1. Izoelektrická fokusace transferinu

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

3.2.3.2. 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.

3.2.3.3. 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)

3.3.1. MPI-CDG guidelines

Nejprve jsme provedli systematickou review relevantní literatury publikované do listopadu 2018. Identifikovali jsme 58 relevantních článků, které byly následně klasifikovány dle metodologie SIGN (detailněji v kapitole 3.2.2.) – 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)

3.4.1. PGM1-CDG guidelines

Podobnou metodikou jako v 3.2.1 a 3.3.1 jsme provedli systematickou review relevantní literatury publikované do prosince 2019 a identifikovali 35 relevantních článků (především kazuistiky a série případů). Ty byly následně klasifikována dle metodologie SIGN a poté subtýmy 36 expertů formulovaly resumé a doporučení pro diagnostiku, management i terapii tohoto onemocnění (klasifikováno dle míry evidence).

3.5. Týkající se cíle B1)

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 tomografii (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)

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 dysmorfií.

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 diskuse

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

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, přehled několika nových patomechanismů a diagnostických markerů, souhrn dosud známé terapie CDG a souhrn publikovaných guidelines. Přínosem této studie je možnost rychle se zorientovat v dynamicky se rozvíjejícím tématu CDG (+ 17 % nových subtypů za 4 roky) a moci tak pacientům poskytovat včasnou diagnostiku s omezením invazivních a zbytných vyšetření, adekvátní management, ve vybraných případech účinnou terapii a v neposlední řadě genetické poradenství a prenatální testování v rodinách.

4.2. Cíl 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.

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 prenatálních projevů po jednotlivé systémové projevy. 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 (Tab. 1).

Tab. 1: 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 používaná antiepileptika, jako je levetiracetam, kyselina valproová, karbamazepin a oxkarbazapin, avšak neexistují žádné důkazy o jejich účinnosti v prevenci dalších stroke-like epizod.

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, progredující skeletální postižení s deformitami a osteoporózou, progredující porucha růstu a u dívek předčasné ovariální selhání. Frekvence těchto příznaků u pacientů ze souboru guidelines v porovnání s naší kohortou je shrnuta v tabulce 2. 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.

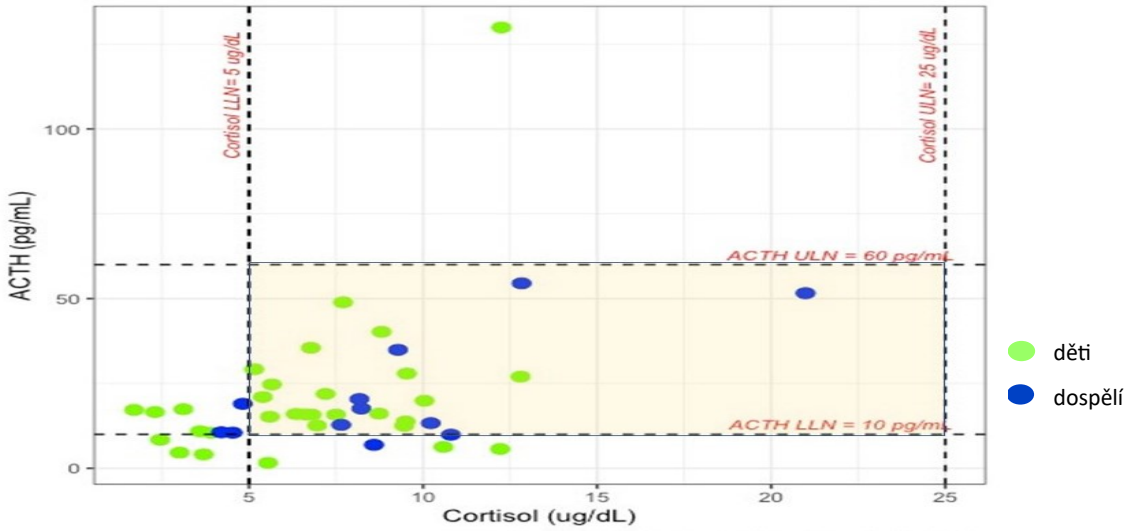
Frekvence hypogonadismu je jistě zkreslena vyšším zastoupením žen v naší kohortě.

Tab. 2: 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 %

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 glykosylovaná. Ve studii jsme prokázali zvýšené riziko AI u více než ¼ pacientů (11/43 pacientů s výsledky dopoledního kortizolu a ACTH) (Obr. 5) 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 test 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. 5: 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.

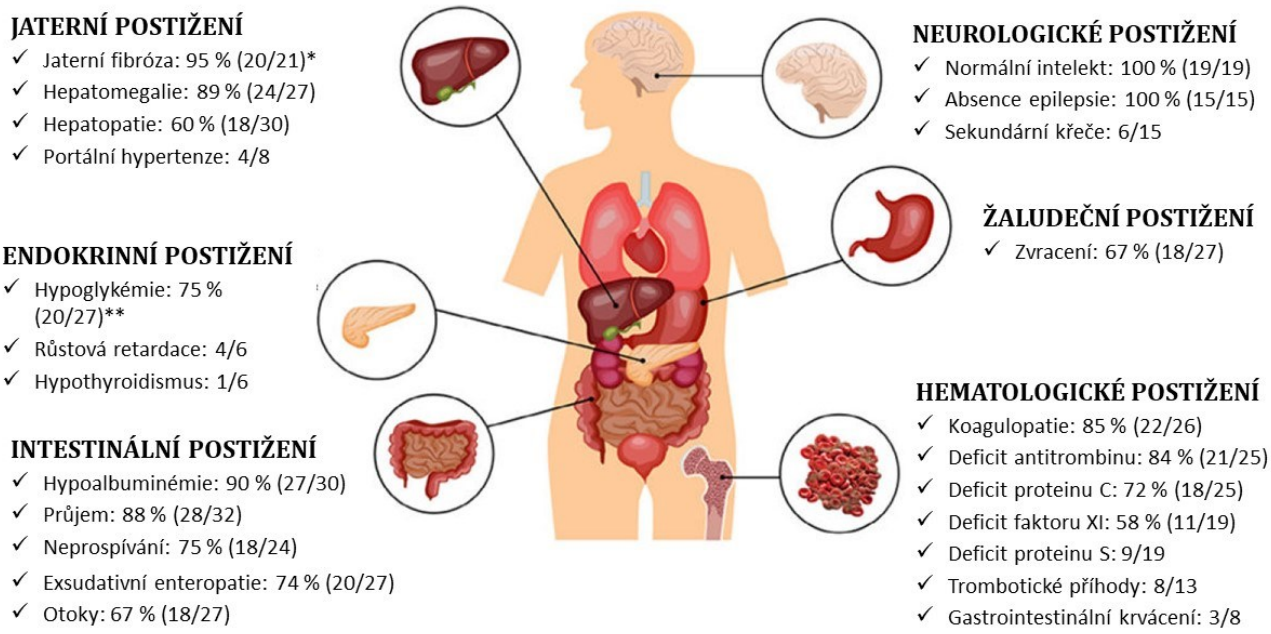
4.3. Cíl A3) Charakterizovat klinický průběh léčitelného subtypu MPI-CDG a navrhnout efektivní postupy diagnostiky, klinického managementu a terapie tohoto onemocnění.

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. 6).



Obr. 6: Frekvence reportovaných příznaků u MPI-CDG. Grafika shrnuje vybrané příznaky onemocnění MPI-CDG a jejich frekvenci (poměr pacientů s popsaným 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).

Krom 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, hypoglykémií i úpravě koagulopatie. Terapie je obvykle dobře tolerována, případný GIT diskomfort lze řešit úpravou dávky. Další možnosti symptomatické terapie jsou shrnuty v tabulce 3.

Tab. 3: 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 - antagonsisté vitaminu 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. 4).

Tab. 4: 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
Jícnová 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 hypoglykémií
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

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

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.

Součástí studie je doporučení pro surveillance na úrovni jednotlivých orgánových soustav (Tab. 5) 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 hypoglykémií, atak rhabdomyolýz, zlepšení svalové slabosti a únavnosti i zlepšení řady laboratorních parametrů.

Tab. 5: Souhrn klinických projevů a doporučená surveillance PGM1-CDG. Upraveno dle (Altassan et al. 2021).

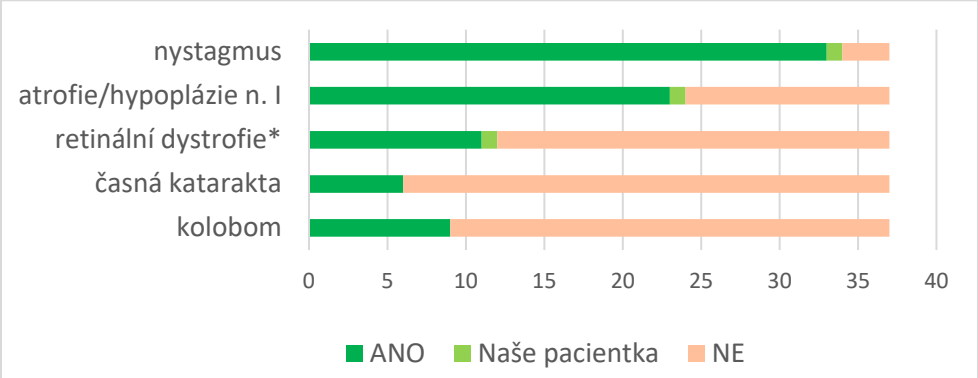
Fenotyp	Podrobné projevy	Doporučená surveillance a frekvence	
Vrozené vývojové vady	rozštěp patra, rozštěp uvuly, mikrognácie, Pierre Robinova sekvence, malformace páteře, anální atrézie	v době diagnózy	podrobné fyzikální vyšetření a následná odpovídající péče
Neurologické projevy	opoždění vývoje, křeče	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 koagulační 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.

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

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.

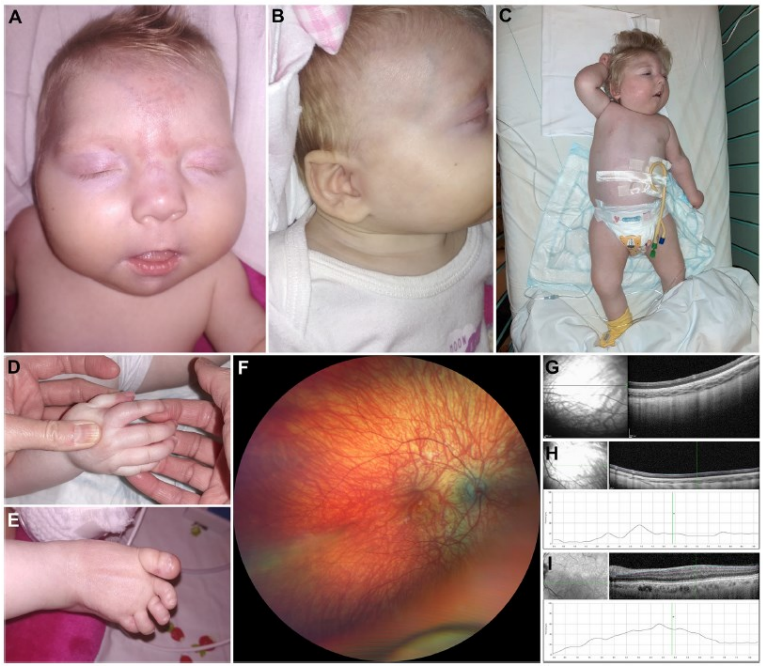
Součástí práce je review očních nálezů (Obr. 7) a genotypického spektra tohoto onemocnění. Vedle méně specifických očních nálezů se u SRD5A3-CDG jako poměrně častý nález ukazuje časně nastupující těžká retinální dystrofie, která je jinak u CDG vzácným nálezem (např. retinitis pigmentosa v dětství byla popsaná 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. 7: 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 popsaná v dospělosti.

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

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. 8). 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. 8: 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

Dědičné poruchy glykosylace jsou poměrně novou a velmi rychle se rozvíjející skupinou dědičných poruch metabolismu zahrnující vice než 160 klinických jednotek často jen s několika málo popsanými 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 prenatální 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, Õunap 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 Inherit 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 5α-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. et al.: (2009). Inherited glycosylphosphatidyl inositol deficiency: a treatable CDG. *Biochim Biophys Acta*, *1792*(9), 874-880.

ALMEIDA, A. et al. (2007). Targeted therapy for inherited GPI deficiency. *N Engl J Med*, *356*(16), 1641-1647.

COSSINS, J. et al. (2013). Congenital myasthenic syndromes due to mutations in ALG2 and ALG14. *Brain*, *136*(Pt 3), 944-956.

DE KONING, T. J. et al. (1998). A novel disorder of N-glycosylation due to phosphomannose isomerase deficiency. *Biochem Biophys Res Commun*, *245*(1), 38-42.

DEFAUS, S. et al. (2014). Mammalian protein glycosylation--structure versus function. *Analyst*, *139*(12), 2944-2967.

DORRE, K. 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.

ETZIONI, A. et al. (2000). Fucose supplementation in leukocyte adhesion deficiency type II. *Blood*, *95*(11), 3641-3643.

FERREIRA, C. R. et al. (2018). Recognizable phenotypes in CDG. *J Inherit Metab Dis*, *41*(3), 541-553.

FREEZE, H. H. et al. (2022). CDG or not CDG. *J Inherit Metab Dis*, *45*(3), 383-385.

GUILLARD, M. 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.

HANSÍKOVÁ, H. et al. (2016). Aktivita fosfomanomutázy 2 u pacientů s podezřením na dědičnou poruchu glykosylace. *Klin. Biochem. Metab.*, *24*(45), 67-74.

HELANDER, A. et al. (2014). Asymptomatic phosphomannose isomerase deficiency (MPI-CDG) initially mistaken for excessive alcohol consumption. *Clin Chim Acta*, *431*, 15-18.

JAEKEN, J. 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.

JAEKEN, J. 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.

JANSEN, J. C. et al. (2016). CCDC115 Deficiency Causes a Disorder of Golgi Homeostasis with Abnormal Protein Glycosylation. *Am J Hum Genet*, *98*(2), 310-321.

JANSSEN, M. C. et al. (2014). Successful liver transplantation and long-term follow-up in a patient with MPI-CDG. *Pediatrics*, *134*(1), e279-283.

KAPUSTA, L. 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.

MARTINEZ-MONSENY, A. F. 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.

MORELLE, W. et al. (2017). Galactose Supplementation in Patients With TMEM165-CDG Rescues the Glycosylation Defects. *J Clin Endocrinol Metab*, *102*(4), 1375-1386.

NG, B. G. et al. (2015). Biallelic mutations in CAD, impair de novo pyrimidine biosynthesis and decrease glycosylation precursors. *Hum Mol Genet*, *24*(11), 3050-3057.

NIEHUES, R. et al. (1998). Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type Ib. Phosphomannose isomerase deficiency and mannose therapy. *J Clin Invest*, *101*(7), 1414-1420.

PARK, J. H. et al. (2018). SLC39A8 deficiency: biochemical correction and major clinical improvement by manganese therapy. *Genet Med*, *20*(2), 259-268.

PARK, J. H. et al. (2015). SLC39A8 Deficiency: A Disorder of Manganese Transport and Glycosylation. *Am J Hum Genet*, *97*(6), 894-903.

RESENDE, C. et al. (2014). Congenital disorders of glycosylation with neonatal presentation. *BMJ Case Rep*, *2014*.

SENDEREK, J. et al. (2011). Hexosamine biosynthetic pathway mutations cause neuromuscular transmission defect. *Am J Hum Genet*, *88*(2), 162-172.

SOSICKA, P. et al. (2022). Chemical Therapies for Congenital Disorders of Glycosylation. *ACS Chem Biol*, *17*(11), 2962-2971.

STRAY-PEDERSEN, A. 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.

TEGTMEYER, L. C. et al. (2014). Multiple phenotypes in phosphoglucomutase 1 deficiency. *N Engl J Med*, *370*(6), 533-542.

VAN EIJK, H. G. et al. (1992). The analysis of human serum transferrins with the PhastSystem: quantitation of microheterogeneity. *Electrophoresis*, *13*(6), 354-358.

VUILLAUMIER-BARROT, S. et al. (2012). Expanding the Spectrum of PMM2-CDG Phenotype. *JIMD Rep*, *5*, 123-125.

WURM, D. et al. (2007). Early fatal course in siblings with CDG-Ia (caused by two novel mutations in the PMM2 gene): clinical, molecular and autopsy findings. *Eur J Pediatr*, *166*(4), 377-378.