

# PROGRAM



## **33. PRACOVNÉ DNI - DEDIČNÉ METABOLICKÉ PORUCHY**

23. - 25. mája 2018  
DoubleTree by Hilton, Košice

### 33. PRACOVNÉ DNI - DEDIČNÉ METABOLICKÉ PORUCHY

**Záštita:** Klinika detí a dorastu LF UPJŠ a DFN v Košiciach  
Detská fakultná nemocnica v Košiciach  
Lekárska fakulta UPJŠ v Košiciach  
Slovenská lekárska komora

**Usporiadateľ:** MH Consulting SK s.r.o.

**Akreditácia:** Odborné podujatie bude ohodnotené kreditmi CME

**Organizačný výbor:** Ľudmlia Potočňáková  
Jana Šaligová

**Programový výbor:** T. Adam (Olomouc)  
D. Behúlová (Bratislava)  
K. Brennerová (Bratislava)  
V. Bzduch (Bratislava)  
L. Fajkusová (Brno)  
E. Gregová (Banská Bystrica)  
K. Hálová (Banská Bystrica)  
A. Hlavatá (Bratislava)  
T. Honzík (Praha)  
J. Hyánek (Praha)  
P. Ješina (Praha)  
S. Kmoč (Praha)  
V. Kožich (Praha)  
R. Pazdírková (Praha)  
K. Pešková (Praha)  
L. Potočňáková (Košice)  
D. Procházková (Brno)  
I. Schusterová (Košice)  
J. Šaligová (Košice)  
O. Ťrge (Bratislava)  
J. Zeman (Praha)



MH Consulting SK s.r.o.  
Kamenárska 17A  
821 04 Bratislava  
[martin.horna@mhconsulting.cz](mailto:martin.horna@mhconsulting.cz)

## PROGRAM


### STREDA 23. 5. 2018

16:00 - 19:00  **Registrácia účastníkov a firiem**

19:30 - 23:00  Večera v sále Symphony, 1 poschodie hotela Hilton

### ŠTVRTOK 24. 5. 2018

08:00 - 11:00  **Registrácia účastníkov a firiem**

08:30 - 08:45  **Slávnostné otvorenie**  
Organizátori podujatia

08:45 - 10:30  **Genomická medicína a jej prepojenie s klinickou praxou I**

*Předsedající: Kmoch S., Bzdúch V.*

08:45 **GENOMICKÁ MEDICÍNA ZALOŽENÁ NA DŮKAZOCH**

Celec P.

09:20 **KOMBINACE NEROVNOVAHY EXPRESE MUTOVANE ALELY PEX6 A BIALELICKÝCH MUTACI CC2D1A U PACIENTA S PORUCHOU PEROXISOMÁLNÍ  $\beta$ -OXIDACE VLCFA.**

Nosková L., Stránecký V., Přistoupilová A., Bártil V., Ferdinandusse S., Wanders R. J. A., Zeman J., Kmoch S.

09:45 **METABOLISM OF HYDROGEN SULFIDE IN PATIENTS WITH TWO TYPES OF HOMOCYSTINURIAS**

Kožich V., Ditrói T., Sokolová J., Křížková M., Krijt J., Ješina P., Nagy P.

10:10 **VÝZNAM CÍLENÉHO SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE PRO DIAGNOSTIKU PACIENTŮ S PODEZŘENÍM NA DĚDIČNÁ METABOLICKÁ ONEMOCNĚNÍ**

Dvořáková L., Řeboun M., Nováková M., Chrastina P., Kožich V., Magner M., Ješina P., Honzík T., Pešková K.

10:30 - 11:00  Coffee Break

11:00 - 13:00  **Genomická medicína a jej prepojenie s klinickou praxou II**

*Předsedající: Hlavatá A., Kožich V.*

11:00 **KARDIOMYOPATIE U DĚTÍ - GENOMICKÝ DIAGNOSTICKÝ PŘÍSTUP**

Piherová L., Kulhánek J., Vyleťal P., Mušálková D., Stránecký V., Dobrovolný R., Honzík T., Kmoch S.

11:20 **PRVÉ DIEŤA S PEARSONOVÝM SYNDRÓMOM DIAGNOSTIKOVANÉ NA SLOVENSKU**

Galóová N., Fábry O., Vodičková E., Tesařová M.

11:35 **ROZŠIRUJÚCI SA FENOTYP U PACIENTOV S DEFICITOM GLUT-1**

Bzdúch V., Škorvánek M., Kolníková M., Brennerová K., Martinkovičová T., Šebová C.

11:55 **EXTREMELY HIGH FREQUENCY OF SLC22A12 DYSFUNCTION VARIANTS CAUSING RENAL HYPOURICEMIA 1 IN THE CZECH, SLOVAK AND SPANISH ROMA POPULATION**

Stibůrková B.

12:15 **ČO PRINIESLI SKRÍNINGOVÉ PROJEKTY NA POLI LYZOZÓMOVÝCH PORÚCH NA SLOVENSKU**

Juríčková, Hlavatá, Salingová, Jungová, Mattošová, Chandoga

12:30 **DEFICIT DEHYDROGENÁZY MK S KRÁTKYM REŤAZCOM - NEOBVYKLÝ VÝSKYT OCHORENIA NA SLOVENSKU**

Knapková M., Dluholucký S., Machková M., Lisyová J., Šaligová J., Potočnáková L., Friedecký D.

12:45 **CÍLENÁ METABOLOMICKÁ ANALÝZA KREVNÍCH SKVRN PACIENTŮ S DEFICITEM ACYL-COA DEHYDROGENASY MASTNÝCH KYSELIN S KRÁTKÝM ŘETĚZCEM (SCADD)**

Karlíková R., Friedecký D., Knapková M., Mičová K., Zuzanáková K., Machková M., Kouřil Š., Janečková H., Hlídková E., Semeniuk T., Dluholucký S., Adam T.

13:00 - 14:00 ☒ Obed v sále Symphony, 1. poschodie hotela Hilton

**14:00 - 15:30** ☞ **Postery 1-9**

*Předsedající: Zeman J.*

14:00 1 **DEFICIT FOSFOMANOMUTÁZY 2: KLINICKÁ, BIOCHEMICKÁ A MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ CHARAKTERISTIKA 22 PACIENTŮ DIAGNOSTIKOVANÝCH V ČESKÉ REPUBLICE**

Čechová A., Ondrušková N., Tesařová M., Hansíková H., Zeman J., Honzík T.

14:10 2 **COMPLEX I DEFICIENCY IN 12 PATIENTS BASED ON MUTATIONS IN MT-ND1, MT-ND3 AND MT-ND5 GENES: CLINICAL PRESENTATION AND BIOCHEMICAL STUDY**

Daňhelovská T., Kolářová H., Hansíková H., Honzík T., Zeman J., Tesařová M.

14:20 3 **AUTOZOMÁLNĚ DOMINANTNÍ HYPERCHOLESTEROLÉMIE**

Hrubá Z., Pouchlá S., Tichý L., Zapletalová P., Pavloušková J., Freiburger T., Fajkusová L.

14:30 4 **NEWBORN SCREENING AND VITAMIN DISORDERS**

Chrastina P., Bártl J., Koubíková H., Chodorová I., Bártová P., Hodík J., Ježová R., Paulová M., Pinkasová R., Petránková V., Jahnová H., Hrubá E., Košťálová E., Ješina P., Kožich V., Pešková K., Honzík T.

14:40 5 **POLR3B-ASSOCIATED LEUKODYSTROPHY: CLINICAL, NEUROIMAGING AND MOLECULAR-GENETIC ANALYSES IN 4 PATIENTS: CLINICAL HETEROGENEITY AND NOVEL MUTATIONS IN POLR3B GENE**

Kulháněk J., Brožová K., Hansíková H., Vondráčková A., Stránecký V., Šenkyřík J., Kmoch S., Zeman J., Honzík T., Tesařová M.

14:50 6 **CLINICAL MANIFESTATIONS AND MOLECULAR ASPECTS OF PHOSPHORIBOSYLPYROPHOSPHATE SYNTHETASE SUPERACTIVITY IN FEMALES**



Mušálková D., Zikánová M., Wahezi D., Hay A., Stibůrková B., Pitts III C., Škopová V., Barešová V., Součková O., Hodaňová K., Živná M., Stránecký V., Hartmannová H., Votruba M., Hnízda A., Bleyer A. J., Kmoč S.

15:00 7 **NOVORODENECKÝ SKRÍNING – PÔRODY MIMO ZDRAVOTNÍCKYCH ZARIADENÍ A MIMO SLOVENSKEJ REPUBLIKY**

Revťáková A., Mydlová Z., Knapková M., Machková M., Dluholucký S.

15:10 8 **KOMBINACE METODICKÝCH PŘÍSTUPŮ K VYŠETŘENÍ X-INKTIVACE U HETEROZYGOTEK PRO FABRYHO CHOROBU**

Řeboun M., Stolnaja L., Wiederlecnerová H., Černá A., Magner M., Goláň L., Mušálková D., Mrázová L., Dvořáková L.

15:20 9 **HOW DOES THE DNM1L MUTATION AFFECT THE MITOCHONDRIAL NETWORK AND UTRASTRUCTURE?**

Volfová N., Alán L., Daňhelovská T., Rodinová M., Sládková J., Křížová J., Hansíková H., Zeman J., Tesařová M.

15:30 - 16:00 ☕ Coffee Break

**16:00 - 17:10** 📄 **Postery 10 - 16**

*Předsedající: Hálová K.*

16:00 10 **RÔZNA PRÍČINA IZOLOVANEJ METYLMALONOVEJ ACIDÚRIE S NEONATÁLNOU MANIFESTÁCIOU U NAŠICH PACIENTOV**

Brennerová K., Letenayová I., Skokňová M., Šaligová J., Potočnáková L., Šebová C., Schich- Behúlová D., Tárnoková S., Škopková M., Bzdúch V.

16:10 11 **SPECIFIKA DIAGNOSTIKY POZDŇÍCH FOREM GM1 GANGLIOSIDÓZY**

Hrubá E., Poupětová H., Martincová O., Dobiášová J., Fialová M., Berná L., Jahnová H., Košťálová E., Příhodová I., Adamovičová M., Klímová E., Pešková K.

16:20 12 **PACIENTKA S GLYKOGENÓZOU TYPU V: OD „HEPATOPATIE“ K METABOLICKE MYOPATII**

Košťálová E., Vlášková H.

16:30 13 **ICHTIOSIFORMNÍ ZMĚNY KŮŽE A NEKOMPLETNÍ FANCONIHO SYNDROM U ROMSKÝCH DĚTÍ JAKO NOVÝ FENOTYP MUTACE V EGFR GENU**

Mazurová S., Stránecký V., Tesařová M., Vondráčková A., Hansíková H., Honzík T., Magner M.

16:40 14 **VARIÁCIE MEVALÓNOVEJ ACIDÚRIE – NAŠE SKÚSENOSTI**

Šebová C., Hlavatá A., Brucknerová I., Ostrožlíková M., Schich Behúlová D., Mičev F., Petrovič R., Šťastná S.

16:50 15 **MNOHOČETNÁ SYMETRICKÁ LIPOMATÓZA JAKO PROJEV SYNDROMU MERRF PŘI HETEROPLAZMICKÉ MUTACI 8344A>G V MITOCHONDRIÁLNÍ DNA**

Jahnová H., Tesařová M., Zámečník J., Honzík T.

17:00 16 **PRVÝ PACIENT S BARTHOVÝM SYNDRÓMOM NA SLOVENSKU**

Tárnoková S., Šebová C., Perečková J., Brennerová K., Riedel R., Kunovský P., Ďuranová M.

**19:00 - 23:00** 🍷 Kongresová večera v kaviarni Slavia, Hlavná 63, Košice

**08:30 - 10:00**  **NOVÉ MOŽNOSTI V LIEČBE DMP**

*Předsedající: Brennerová K., Honzík T.*

08:30 **NEMOC ZE STRÁDÁNÍ ESTERŮ CHOLESTEROLU – KLINICKÁ MANIFESTACE A AKTUÁLNÍ LÉČBA**

Smolka V., Tkachyk O.

08:55 **ACID SPHINGOMYELINASE DEFICIENCY CAUSES VARIABLE CEREBELLAR PATHOLOGY THAT CAN BE AMELIORATED BY N-BUTYL-DEOXYNOJIRIMYCIN IN THE MOUSE MODEL**

Sikora J., Davidson C., Kuchar L., Ledvinova J., Gulinello M., Walkley S. U.

09:20 **CEREBROTENDINÓZNA XANTOMATÓZA (KAZUISTIKA)**

Hálová K., Repiský M., Juhosová M., Ďurina P., Chandoga J., Gregová E.

09:40 **SKÚSENOSTI S BIOCHEMICKOU A GENETICKOU DIAGNOSTIKOU HYPOFOSFATÁZIE**

Petrovič R., Repiský M., Jungová P., Pastoráková A., Chandoga J.

**10:00 - 10:30**  Coffee Break

**10:30 - 12:20**  **Postery 17 - 27**

*Předsedající: Ješina P.*

10:30 17 **NÁSLEDNÉ TESTOVANIE POZITÍVNE IDENTIFIKOVANÝCH PRÍPADOV IZOVALÉROVEJ ACIDÚRIE V ROZŠÍRENOM NOVORODENECKOM SKRÍNINGU**

Ferenczy V., Ostrožlíková M., Šebová C., Górová R., Brennerová K., Bzdúch V., Dolníková D., Knapková M.

10:40 18 **MASS SPECTROMETRIC ANALYSIS OF PURINE DE NOVO BIOSYNTHESIS**

Mádrová L., Hlídková E., Krijt M., Barešová V., Václavík J., Friedecký D., Dobešová D., Součková O., Škopová V., Adam T., Zikánová M.

10:50 19 **ACYLCARNITINE PROFILE OF 3-HYDROXY-3-METHYLGLUTARYL COA LYASE DEFICIENCY PATIENTS**

Václavík J., Janečková H., Mádrová L., Karlíková K., Friedecký D., Kluijtmans L. A. J., Adam T., Wevers R. A.

11:00 20 **STANOVENÍ 2-KETOBUTYRÁTU V BIOLOGICKÉ MATRICI: NAŠE ZKUŠENOSTI PŘI ZAVÁDĚNÍ GC A LC/MS METOD**

Krouská L., Krijt J., Kožich V., Jandušová M.

11:10 21 **LIEČEBNÁ VÝŽIVA U DIEŤAŤA S DMP - TYROZINÉMIOU I. TYPU, ZACHYTENOU NOVORODENECKÝM SKRÍNINGOM**

Martinkovičová T., Brennerová K., Bzdúch V., Hlavatá A., Šalingová A., Ostrožlíková M.

11:20 22 **ZMENY V SPEKTRE AMINOKYSELÍN PLAZMY U PACIENTOV S ŤAŽKOU NOVORODENECKOU FORMOU DEFICITU TMEM70**

Prídavok M., Ostrožlíková M., Šebová C., Schich Behúlová D., Perečková J., Skokňová M., Brennerová K., Bzdúch V.

11:30 23 **METABOLIC NEPHROPATHIES IN GENETIC PRACTICE (J. B., Franco Laccone)**

Behunova J.

11:40 24 **KONGENITÁLNA PORUCHA GLYKOZYLÁCIE ALG12-CDG (CDG IG) U NOVORODENCA – KAZUISTIKA**

Šalingová A., Nemčovič M., Ziburová J., Skokňová M., Dolníková D., Šebová C., Mucha J., Baráth P.

11:50 25 **SCAD DEFICIT – VZÁCNÁ PORUCHA OXIDACE MASTNÝCH KYSELIN**

Tkachyk O., Godava M., Friedecký D., Bekárek V., Janečková H., Hlídková E., Semeniuk T., Smolka V.

12:00 26 **LYZOMÁLNE CHOROBY V METABOLICKEJ AMBULANCI DFN V KOŠICIACH**

Šaligová J., Potočňáková L., Andrejková M., Hlavatá A., Šalingová A., Behúlová D., Mattošová S., Trebuňová K., Verebová J., Kolníková M., Poupětová H., Šaliga J., Chandoga J., Jenčíková A., Behúnová J., Giertlová M., Škorvánek M.

12:10 27 **GAUCHEROVA CHOROBA – SKÚSENOSTI METABOLICKEJ AMBULANCIE DFN V KOŠICIACH**

Šaligová J., Potočňáková L., Trebuňová K., Hlavatá A., Veselíny E., Poupětová H., Chandoga J.

**12:20** 🛎 Záver kongresu

**12:20 - 13:30** 🍴 Obed v sále Symphony, 1. poschodie hotela Hilton

ŠTVRTOK 24. 5. 2018

## GENOMICKÁ MEDICÍNA A JEJ PREPOJENIE S KLINICKOU PRAXOU I

### KOMBINACE NEROVNOVÁHY EXPRESE MUTOVANÉ ALELY PEX6 A BIALELICKÝCH MUTACÍ CC2D1A U PACIENTA S PORUCHOU PEROXISOMÁLNÍ $\beta$ -OXIDACE VLCFA

Nosková L.<sup>1</sup>, Stránecký V.<sup>1</sup>, Přistoupilová A.<sup>1</sup>, Bártl V.<sup>1</sup>, Ferdinandusse S.<sup>2</sup>, Wanders R. J. A.<sup>2</sup>, Zeman J.<sup>1</sup>, Kmoch S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoř pro studium vzácných nemocí, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN,

<sup>2</sup>Laboratory Genetic Metabolic Diseases, Academic Medical Center, University of Amsterdam

Peroxisomální poruchy jsou autozomálně nebo gonozomálně recesivní onemocnění způsobené poruchou biogeneze peroxizomů či funkce jednotlivých peroxizomálních proteinů.

Zde prezentujeme výsledky genetického vyšetření nyní 35-ti letého pacienta s psychomotorickou retardací, který je 25 let sledován pro poruchu  $\beta$ -oxidace velmi dlouhých mastných kyselin. Ostatní peroxizomální metabolity (žlučové kyseliny, pristanová, phytanová a pipekolová kyselina), enzymové aktivity a proteiny jsou trvale v normě. Immunofluorescenční detekce katalázy ve fibroblastech prokázala poruchu proteinového transportu do většiny peroxisomů. Negativní výsledky genetických komplementačních testů fibroblastů naznačily, že se jedná o novou formu poruchy peroxisomální biogeneze.

U pacienta a jeho rodičů bylo provedeno celoxomové sekvenování. Mezi geny spojovanými s peroxizomálními funkcemi byla u pacienta a jeho otce nalezena heterozygotní mutace c.2578 C>T, (p.Arg860Trp) PEX6, faktoru peroxisomální biogeneze. Tento stav byl paralelně popsán u sedmi pacientů s Zellweger-like syndromem. Patogenicitu heterozygotní mutace je výsledkem zvýšené exprese/stability mutované alely PEX6. Ta je způsobena přítomností populačně běžné varianty c.442\_445delTAAA v 3'UTR oblasti genu, (rs144286892; frekvence 0,64), v

pozici cis a v heterozygotním stavu. U asymptomatických jedinců je rovnováha exprese alely c.2578 C>T spojena s homozygocí pro c.442\_445delTAAA nebo homozygocí či cis-heterozygocí pro minoritní 3'UTR variantu bez delece. Cílené genotypování v rodině potvrdilo tento model. Pacient je cis-heterozygotní pro c.2578 C>T i pro c.442\_445delTAAA v 3'UTR oblasti genu PEX6, zatímco jeho otec je heterozygotní pro c.2578 C>T a homozygotní pro c.442\_445delTAAA. Sekvenování cDNAaRNA prokázalo, že u pacienta dochází díky tomuto genotypu k výrazné převaze v množství mutované mRNA PEX6 (v poměru 16:1 ve prospěch mutované alely).

Pacient je současně složeným heterozygotem pro mutace c.1038 A>G (M247V) a c.850 C>A (P483H) v CC2D1A. Bialelické mutace CC2D1A jsou spojeny s autosomálně recesivní formou mentální retardace (MIM 608443). CC2D1A je nedávno popsán faktorem peroxisomální biogeneze a jeho případný kauzální spolu-efekt je zatím nejasný.

Mechanismus nerovnovážné alelické exprese by měl být vždy zvažován u případů recesivních onemocnění, kdy je ve funkčně relevantním genu přítomna pouze jedna heterozygotní mutace. Naše výsledky též poukazují na problematiku oligogenních fenotypů odhalovaných metodami celogenomového sekvenování a ukazují slabiny diagnostiky založené na sekvenování panelu genů.

---

### METABOLISM OF HYDROGEN SULFIDE IN PATIENTS WITH TWO TYPES OF HOMOCYSTINURIAS

Kožich V.<sup>1</sup>, Ditrói T.<sup>2</sup>, Sokolová J.<sup>1</sup>, Křížková M.<sup>1</sup>, Krijt J.<sup>1</sup>, Ješina P.<sup>1</sup>, Nagy P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Charles University, First Faculty of Medicine and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic;

<sup>2</sup>Department of Molecular Immunology and Toxicology, National Institute of Oncology, Budapest, Hungary

**Background.** Hydrogen sulfide is an important signalling molecule which is synthesized endogenously from cysteine and homocysteine by several enzymes including cystathionine beta-synthase (CBS) and gamma-cystathionase. We explored whether the severely perturbed sulfur amino acid (SAA) metabolism in patients with homocystinurias affects hydrogen sulfide homeostasis.



**Patients and methods.** We studied 10 treated patients with CBS deficiency (CBSD), and 6 treated patients with remethylation defects (RMD). Control groups for CBSD and RMD patients consisted of 22 patients with phenylketonuria on low protein diet and of 12 healthy controls, respectively. Plasma and urine concentrations of selected sulfur compounds were analysed by HPLC and LC-MS/MS.

**Results.** Patients with CBSD exhibited plasma concentrations of monobromobimane-detected sulfide similar to appropriate controls (median 0.67 vs 0.54, and 0.15 vs 0.19  $\mu\text{mol/L}$  by two methods, respectively). Urinary homolanthionine and thiosulfate in CBSD were increased significantly 1.9 and 3-times indicating possibly higher hydrogen sulfide synthesis and detoxification, respectively. Surprisingly, patients with RMD had significantly lower plasma sulfide levels (53% and 64% of controls) with lower sulfite concentrations and higher taurine and thiosulfate levels indicating possibly enhanced cysteine oxidation and hydrogen sulfide catabolism, respectively.

**Conclusions.** This study suggests that grossly deranged flux of SAA may be accompanied by only moderately perturbed hydrogen sulfide metabolism and indirectly suggests that enzymes in the transsulfuration pathway may not be the major direct contributors to the endogenous hydrogen sulfide pool.

**Acknowledgement.** This work was supported by the grant Nr. 16-30384A from the Czech Health Research Council, and grants No. KH17\_126766 and K 109843 from the National Research, Development and Innovation Office. Institutional support was provided by the projects RVO-VFN 64165 and Progres Q26.

---

## VÝZNAM CÍLENÉHO SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE PRO DIAGNOSTIKU PACIENTŮ S PODEZŘENÍM NA DĚDIČNÁ METABOLICKÁ ONEMOCNĚNÍ

Dvořáková L., Řeboun M., Nováková M., Chrástina P., Kožich V., Magner M., Ješina P., Honzík T., Pešková K.

*Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. lékařská fakulta UK a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha*

Úvod: Metodu cíleného sekvenování nové generace jsme zavedli pro skupiny metabolických onemocnění, u kterých je v rámci jedné analýzy výhodné vyšetřit celou skupinu genů.

Metody: Knihovnu 200 vyšetřovaných genů připravujeme pomocí hybridizačních sond navržených na zakázku (Roche NimbleGen), sekvenování provádíme na platformě MiSeq (Illumina).

Výsledky: Celkem jsme vyšetřili 77 probandů a 71 rodinných příslušníků. V panelu glykogenóz jsme vyšetřili 28 pacientů a stanovili diagnózu u 9 pacientů s GSD IX (PHKA2), 3 pacientů s GSD VI a 1 pacienta s GSD III (záchyt 43%). Naproti tomu v panelu genů pro leucinózu byl záchyt 100% (1x BCKDHA, 6x BCKDHB). V panelu peroxisomálních onemocnění jsme diagnózu určili u 3 z 5 pacientů (PEX1, PEX12 a HSD17B4).

V panelu pro hyperhomocysteinemie byl záchyt 33%. U tří pacientů byly nalezeny pravděpodobné kauzální varianty v genu MTHFR, u 10 pacientů nebyla příčina hyperhomocysteinemie objasněna. V rámci tohoto panelu byl identifikován jeden pacient s homozygotní mutací ve FTCD a jedna pacientka s deficitem CblD (MMADHC).

V rámci panelu pro poruchy močovinového cyklu jsme diagnostikovali jednoho pacienta s deficitem CPS I a jednoho s argininjantarovou acidurií. U 10 pacientů s mírnou formou orotové acidurie (5 – 50 mmol/mol kr.) byly identifikovány v genu UMPS mutace v heterozygotním stavu. Další pacient byl složeným heterozygotem pro mutace v genu DHODH. U 9 pacientů nebyla příčina orotové acidurie zjištěna.

Souhrn: Metoda NGS umožňuje zjistit molekulární podstatu klinického a/nebo biochemického fenotypu pacienta. Pro správnou interpretaci výsledků NGS je však velmi důležitá jejich korelace s biochemickým nálezem a klinickými daty.

Podpořeno MZ ČR – RVO VFN64165 a GAUK 580716

## GENOMICKÁ MEDICÍNA A JEJ PREPOJENIE S KLINICKOU PRAXOU II

### KARDIOMYOPATIE U DĚTÍ - GENOMICKÝ DIAGNOSTICKÝ PŘÍSTUP

Piherová L.<sup>1</sup> Kulhánek J.<sup>2</sup>, Vyleťal P.<sup>1</sup>, Mušálková D.<sup>1</sup>, Stránecký V.<sup>1</sup>, Dobrovolný R.<sup>1</sup>, Honzík T.<sup>2</sup>, Kmoch S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoř pro studium vzácných nemocí, KDDL, 1. LF UK, Praha, Česká republika

<sup>2</sup>Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. LF UK a VFN, Praha, Česká republika

Kardiomyopatie jsou onemocnění srdečního svalu spojená s poruchou jeho funkce. Jedná se o heterogenní skupinu onemocnění s různými klinickými příznaky, které v

konečném stadiu mohou vést k srdečnímu selhání. Jednu z příčin vzniku kardiomyopatií tvoří geneticky podmíněná onemocnění. Do této skupiny lze zahrnout vrozené srdeční vady, svalové dystrofie a kongenitální myopatie, dědičné poruchy metabolismu (např. onemocnění ze skupiny lysosomálních a mitochondriálních nemocí, poruch  $\beta$ -oxidace mastných kyselin, glykogenóz atd.) a genetické syndromy, např. onemocnění z okruhu Rasopathií.

Kardiomyopatie s manifestací v dětském věku jsou známy vysokou fenotypovou a genetickou variabilitou a kauzální mutace jsou v populaci velmi vzácné a jsou privátní pro danou rodinu. Při hledání příčiny vzniku onemocnění je proto nutné zaměřit se na celé geny. Využití metody sekvenování nové generace (NGS) je v současnosti jeden z nejúčinnějších nástrojů pro objasnění genotypu jednotlivých pacientů.

Uvedenou metodu jsme s úspěchem použili při studiu genetického pokladu dilatačních forem kardiomyopatií u dospělých, kde se podařilo objasnit okolo 80 % případů z vyšetřených 400 pacientů. V současné době se zaměřujeme i na dětské formy onemocnění, jejichž studium je daleko složitější a objasněnost se pohybuje pod 50 %.

Úspěšné molekulárně-biologické vyšetření upřesňuje diagnózu a v některých případech i prognózu, pomáhá určit riziko výskytu onemocnění v rodině a zajistit prenatalní diagnostiku. U vybraných případů je možné daný fenotyp studovat i na buněčných modelech, což přispívá k pochopení molekulárního mechanismu onemocnění a umožňuje přesnější interpretaci hraničních klinických či laboratorních nálezů.

Podpora: LM201509 NCLG, AZV 15-27682A, AZV 15-28208A, SVV 260367.

---

## **PRVÉ DIEŤA S PEARSONOVÝM SYNDRÓMOM DIAGNOSTIKOVANÉ NA SLOVENSKU**

Galóová, N.<sup>1</sup>, Fábry O.<sup>2</sup>, Vodičková E.<sup>3</sup>, Tesařová M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Odd.detskej onkológie a hematológie DFN Košice*

<sup>2</sup>*HaT OLM,DFNsP, Bratislava*

<sup>3</sup>*OKH FNM Praha,*

<sup>4</sup>*Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch 1. LF UK a VFN Praha*

Úvod: Pearsonov syndróm je ochorenie, príčinou ktorého je delécia mitochondriálnej DNA, čo má závažný vplyv na vývoj krvných buniek, funkcie pankreasu a iných orgánov. Toto ochorenie je zvyčajne fatálne v dojčenskom veku. Prejavuje sa nízkou pôrodnou hmotnosťou, malým vzrastom a neprospievaním. Základným prejavom je neutropénia, sideroblastická anémia a zároveň trombocytopenia, následkom čoho, sa môže vyvinúť aplastická anémia. Pankreas nefunguje správne, čo vedie k vysokej hladine tukov v pečeni, postupne dochádza k diabetu a pankreatickej fibróze. Tento syndróm prvýkrát opísal pediatričný hematológ a onkológ Howard Pearson v roku 1979. Pearsonov syndróm je veľmi zriedkavé ochorenie, v lekárskej literatúre bolo hlásených menej ako sto prípadov v celom svete. Kazuistika: Autori prezentujú 8 mesačné dievčatko, odoslané na hematologickú ambulanciu, pre pancytopeniu. Pacientka kompletne hematologicky vyšetrená, v krvnom obraze zistená makrocytová hyperchrómna anémia, neutropénia, trombocytopenia a retikulocytopenia. 5.6.2015 realizovaná punkcia kostnej drene. V cytomorfologickom obraze prítomná veku primeraná erytropoéza, s výraznými dysplastickými zmenami, výrazná vakuolizácia a laločnatosť jadra, prítomných 76% sideroblastov, z toho 24% venčekovitých. Granulopoéza znížená pre daný vek, výrazná vakuolizácia v mladých prekurzoroch, mierna hypogranulácia v zrelejších formách. Pre susp. Pearsonov syndróm nález z kostnej drene konzultovaný s Oddelením klinickej hematológie v Motole, kde potvrdili suponanú diagnózu. Následne odoslaná periférna krv na vyšetrenie do Laboratória pre štúdium mitochondriálnych porúch v Prahe, kde záver molekulárno - genetického vyšetrenia potvrdil prítomnosť rozsiahlej delécie v mtDNA o veľkosti cca 6 kb vo vyšetrovanom tkanive.Výsledok vyšetrenia potvrdzuje diagnózu Pearsonovho syndrómu. Záver: Dôsledné cytomorfologické vyšetrenie kostnej drene môže byť významným prínosom ku stanoveniu diagnózy niektorých vzácných ochorení.

---

## **ROZŠIRUJÚCI SA FENOTYP U PACIENTOV S DEFICITOM GLUT-1 EXPANDING PHENOTYPE OF GLUT-1 DEFICIENCY**

Bzdúch V.<sup>1</sup>, Škorvánek M.<sup>2</sup>, Kolníková M.<sup>2</sup>, Brennerová K.<sup>1</sup>, Martinkovičová T., Šebová C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Detská klinika LFUK a NÚDCH Bratislava, Neurologická klinika LFUPJŠ a UNLP, Košice,*

<sup>2</sup>Klinika detskej neurológie LFUK a NÚDCH,

<sup>3</sup>Oddelenie laboratórnej medicíny NÚDCH, Bratislava

Deficit glukózového transportéra I.typu (GLUT-1) je už viac ako 25 rokov známym neurometabolickým ochorením, spôsobeným poruchou transportu glukózy do mozgu. Včasná diagnostika deficitu GLUT-1 je mimoriadne dôležitá, pretože je dostupná účinná liečba ketogénnou diétou. Diagnostika bola spočiatku založená na klasickej klinickej symptomatológii s včasným začiatkom epileptických záchvatov, mentálnou retardáciou, mikrocefaliou a hypoglykorachiou. Neskôr sa fenotyp týchto pacientov rozšíril o rôzne pohybové poruchy, myoklonicko atonické záchvaty, dokonca aj s chýbaním Epi záchvatov. Pacienti a metodika: U 5 pacientov s deficitom GLUT-1, ktorí boli dokázaní vo veku ½, 5,5, 8 a 19 rokov základe hypoglykorachie s potvrdenými mutáciami v SLC2A1 géne sme analyzovali spektrum klinických príznakov. Výsledky: Fenotypové spektrum príznakov sa líšilo v závislosti od veku. Kým u najmladšieho pacienta dominovali epileptické záchvaty (video), u väčších detí to boli ataky slabosti, pády a z pohybových porúch hlavne ataxia. 8 ročný chlapec s poruchou reči, dyslaliou a výraznou instabilitou s pocitmi výraznej únavy bol pre agresivitu a poruchy správania spočiatku vedený ako ADHD. Neskôr sa pridružili paroxyzmálne hyperkinézy bez poruchy vedomia (video). U najstaršej 19 ročnej pacientky bol z anamnestických údajov zaznamenaný oneskorený psychomotorický vývoj s hypotóniou, od 1,5 roka s generalizovanými Epi záchvatmi charakteru pádov a zahľadania. Neskôr sa objavili tiky a zajakávanie a vo vyššom veku sa začali objavovať po námahe abnormálne postúry, ktoré výrazne obmedzovali jej chôdzu. Stavby boli hodnotené ako paroxyzmálna námahou indukovaná dystónia (video). Záver: Stále sa zvyšujúci počet opísaných pacientov s deficitom GLUT-1 odhalil nové klinické príznaky v závislosti od veku. Ako sme pozorovali aj u našich pacientov, klasický fenotyp s epilepsiou bol dominantným príznakom hlavne v mladšom detskom veku a vo vyššom veku sa výrazne menil. Poznanie týchto nových menej známych neurologických príznakov u pacientov s deficitom GLUT-1 je veľmi dôležité pre včasnú diagnostiku a skoré začatie liečby.

---

## **EXTREMELY HIGH FREQUENCY OF SLC22A12 DYSFUNCTION VARIANTS CAUSING RENAL HYPOURICEMIA 1 IN THE CZECH, SLOVAK AND SPANISH ROMA POPULATION**

*Stiburkova B.*

*Institute of Rheumatology*

*Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic*

Renal hypouricemia (RHUC) is a rare heterogeneous inherited disorder typified by impaired tubular uric acid transport, reabsorption insufficiency, and/or acceleration of secretion with severe complications, e.g. acute kidney injury, renal failure, urolithiasis and nephrolithiasis. The diagnosis is determined based on hypouricemia with elevated fractional excretion of uric acid. RHUC is confirmed by molecular genetic analysis of the SLC22A12 (RHUC type 1, OMIM 220150) and SLC2A9 genes (RHUC type 2, OMIM 612076). Dys-functional variants in the SLC22A12 gene, encoding the renal tubular uric acid transporter URAT1, are the major cause of RHUC (> 90%). No treatment is available; however, allopurinol has been recently used to prevent recurrence of acute kidney injury episodes.

RHUC patients have been described in different ethnic groups and in geographically noncontiguous countries. To date, 39 SLC22A12 variants, mainly missense, and more than 150 patients with loss-of-function variants in the URAT1 have been reported, most of whom are Asian. The predominant dysfunctional variant p.W258X has been associated with RHUC1 in Japanese and Korean patients with high frequencies 2.30–2.37%. Two other SLC22A12 dysfunction variants, c.1245\_1253del (p.L415\_G417del) and c.1400C>T (p.T467M), also associated with RHUC1, are commonly found in the Roma populations of Czech Republic, Slovakia and Spain with frequencies of 1.92% and 5.56%, respectively. The functional expression studies showed significantly decreased urate transport ability for p.L415\_G417del and p.T467M in comparison with the native protein (\*P < 0.05 and \*\*P < 0.01, respectively) and mis-localized URAT1 signal on the plasma membrane.

Renal hypouricemia is a rare disorder, and while very often associated with patients from Japan or Asia, it should also be considered in other ethnic group. The high frequency of dysfunctional variants of the URAT1 transporter among the Roma (the largest and the most widespread ethnic minority of Europe) should be kept in mind during differential diagnostic procedures on patients with low serum uric acid concentrations exhibiting clinical signs such as urolithiasis, nephrolithiasis, and acute kidney injury.

Stiburkova B et al. Novel allelic variants and evidence for a prevalent mutation in URAT1 causing renal hypouricemia: biochemical, genetics and functional analysis. *Eur J Hum Genet.* 2013 Oct;21(10):1067-73.

Gabrikova D et al. High frequency of SLC22A12 variants causing renal hypouricemia 1 in the Czech and Slovak Roma population; simple and rapid detection method by allele-specific polymerase chain reaction. *Urolithiasis*. 2015 Oct;43(5):441-5.

Stiburkova B et al. Prevalence of URAT1 allelic variants in the Roma population. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2016 Dec;35(10-12):529-535

Claverie-Martin F et al. URAT1 and GLUT9 mutations in Spanish patients with renal hypouricemia. *Clin Chim Acta*. 2018 Jun;481:83-89.

Supported by the Czech Ministry of Health: AZV 15-26693 A and RVO VFN64165

---

## ČO PRINIESLI SKRÍNINGOVÉ PROJEKTY NA POLI LYZOZÓMOVÝCH PORÚCH NA SLOVENSKU

Juríčková K.<sup>1</sup>, Hlavatá A.<sup>1</sup>, Šalingová A.<sup>2</sup>, Jungová P.<sup>3</sup>, Mattošová S.<sup>3</sup>, Chandoga J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Detská klinika LF UK a NÚDCH, Centrum dedičných metabolických porúch Bratislava*

<sup>2</sup>*Oddelenie laboratórnej medicíny NÚDCH, Centrum dedičných metabolických porúch Bratislava*

<sup>3</sup>*Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LFUK a UNB*

Lyozómové ochorenia (LSD) sú geneticky podmienené poruchy degradácie makromolekúl väčšinou na podklade nedostatočnej aktivity lyozómových enzýmov. Príčinou však môže byť aj nesprávna funkcia lyozómového transportného proteínu. Tvoria heterogénnu skupinu v rámci dedičných metabolických ochorení. V dnešnej dobe je popísaných viac ako 50 rozličných nozologických jednotiek. Nedegradovaný endogénny aj exogénny materiál vedie k multisystémovému postihnutiu a tým k rozličným klinickým symptómom ako je organomegália, neurologické postihnutie, porucha spojivového a pohybového aparátu, kardiologickým či oftalmologickým ťažkostiam.

Dedičné metabolické ochorenia sa vo všeobecnosti spájajú najmä s pediatrickými pacientmi a ich ťažkým priebehom. Postupom času, nadobúdaním nových vedomostí, vylepšovaním diagnostických metód dochádza častejšie k odhaľovaniu miernejších foriem ochorení a to najmä u dospelých pacientov. Zlepšovanie a vyvíjanie nových terapeutických možností prispieva k zvýšenému zachytu týchto pacientov. Prvou z možností terapie niektorých LSD bola transplantácia kostnej drene. Dnes je aktuálna aj enzýmová substitučná liečba (ERT), substrát redukujúca terapia (SRT) a použitie farmakologických chaperonov. Na Slovensku je

starostlivosť o pacientov s lyozómovými chorobami sústredená do Centra dedičných metabolických porúch NÚDCH v Bratislave (CDMP). Laboratórna diagnostika je realizovaná v spolupráci s Ústavom lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB v Bratislave a Ústavom dedičných metabolických porúch v Prahe. Pre úspešnú liečbu je podstatné včasné stanovenie diagnózy. Preto sme od roku 2008 začali projekty vyhľadávania pacientov s liečiteľnými lyozómovými chorobami formou skríninového vyšetrenia zo suchej kvapky krvi (SKK). Pri týchto projektoch zväčša spolupracujeme s metabolickými laboratóriami v zahraničí, okrem skríningu Pompeho choroby, ktorý sa od roku 2013 robí na domácom pracovisku. V prípade diagnostikovania liečiteľnej formy LSD je pacientovi liečba indikovaná, podávaná a monitorovaná v CDMP.

Prvá pacientka na Slovensku s lyozómovým ochorením Gaucherovou chorobou bola opísaná hematológom už v roku 1958. Do roku 1995 bolo u nás registrovaných 8 pacientov s LSD. Dnes je ich viac ako 150. Najvýraznejší nárast za posledné obdobie sledujeme u Fabryho choroby, kde po doplnení rodinného skríningu u identifikovaných pacientov bolo doteraz diagnostikovaných 33 pacientov. Najväčšiu skupinu pacientov s LSD tvoria dlhodobo mukopolysacharidózy so 41 pacientmi. Pomocnú ruku skríninových programov sledujeme aj pri diagnostikovaní tých LSD ochorení, ktoré priamo nepatria do konkrétnych projektov aktívneho vyhľadávania ako je alfa-manozidóza, beta-manozidóza, Niemann-Pickova choroba typ B či Danonova choroba.

---

## DEFICIT DEHYDROGENÁZY MK S KRÁTKYM REŤAZCOM - NEOBVYKLÝ VÝSKYT OCHORENIA NA SLOVENSKU

### SHORT CO A DEHYDROGENASE DEFICIENCY UNUSUAL INCIDENCE OF THE DISEASE IN SLOVAKIA

Knapková M.<sup>1</sup>, Dluholucký S.<sup>1,2</sup>, Machková M.<sup>1</sup>, Lisyová J.<sup>3</sup>, Šaligová J.<sup>4</sup>, Potočnáková Ľ.<sup>4</sup>, Friedecký D.<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup>*SCN SR pri DFNSP Banská Bystrica*

<sup>2</sup>*SZU – Fakulta zdravotníctva Banská Bystrica,*

<sup>3</sup>*Ústav lekárskej biológie, Molekulová a biochemická genetika, UK Bratislava,*

<sup>4</sup>*DFNSP Košice,*

<sup>5</sup>*Laboratoř Metabolomiky Lékařská fakulta, Universita Palackého v Olomouci*

<sup>6</sup> *Laboratoř dědičných metabolických poruch, Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc*

SCN SR od roku 2013 rozšířilo počet skrínovaných ochorení zo 4 na 13. Metóda tandemovej hmotnostnej spektrometrie dovolí merať profil aminokyselín a acylkarnitínov pre viac ochorení, ako bolo predpokladané. Rozšírený skrining DMP poukázal na možný vysoký výskyt ochorenia deficitu Co – A dehydrogenázy MK s krátkym reťazcom (SCADD). Aminokyseliny a acylkarnitíny zo suchej kvapky krvi sú stanovené pomocou derivatizovaného kitu RECIPE ClinSpot LC-MS/MS na technológii Agilent 6420 Triple Quad LC/MS. Špeciálny softvér umožňuje z aminokyselín a acylkarnitínov vyhodnotiť 72 parametrov. Pri hodnotení profilu acylkarnitínov je stanovený cut off butyryl karnitínu (C4) s hodnotou 0,95 umol/L a pomerov C4:C2 na 0,004, C4:C3 na 0,5 a pomeru C4:C8 na 15. Od roku 2013 do konca roku 2017 sme vyšetrili v NS metódou MS/MS 281 394 novorodencov. Od roku 2015 v rámci pilotnej štúdie vyšetrujeme aj parameter C4 – butyryl karnitín. Biochemický nález C4 nad cut off u 4 –dňových novorodencov bol zachytený u 282 pacientov, z nich 275 je rómskeho etnika. Genetická analýza pacientov slovenských pacientov poukázala na iné zastúpenie mutácií, ako je popisované vo všeobecne platných genetických algoritmoch pre SCADD. Metabolická analýza pacientov s vysokou C4 na pracovisku v Olomouci odhaľuje ďalšie odchýlky metabolizmu pomerne veľkého súboru pacientov. Zaradenie ochorenia SCADD do NS je stále v odbornej verejnosti diskutované. Ku rozhodovaniu o zaradení ochorenia do plošného skrínungu prispeje okrem známych biochemických markerov ochorenia aj nové poznanie genetických mutácií ochorenia na Slovensku s presne cieleňou genetickou analýzou a vplyv iných metabolitov na závažnosť alebo bezpríznakový priebeh ochorenia.

---

**CÍLENÁ METABOLOMICKÁ ANALÝZA KREVNÍCH SKVRN PACIENTŮ S DEFICITEM ACYL-COA DEHYDROGENASY MASTNÝCH KYSELIN S KRÁTKÝM ŘETĚZCEM (SCADD)**

**TARGETED METABOLOMIC ANALYSIS OF DRY BLOOD SPOTS FROM PATIENTS SUFFERING FROM ACYL-COA DEHYDROGENASE OF FATTY ACID WITH SHORT CHAIN (SCADD)**

Karlíková R.<sup>1,2</sup>, Friedecký D.<sup>1,2</sup>, Knapková M.<sup>3</sup>, Mičová K.<sup>1,2</sup>, Zuzaňáková K.<sup>3</sup>, Machková M.<sup>3</sup>, Kouřil Š.<sup>1,2</sup>, Janečková H.<sup>1,2</sup>, Hlídková E.<sup>1,2</sup>, Semeniuk T.<sup>1,2</sup>, Dluholucký S.<sup>3,4</sup>, Adam T.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Laboratoř Metabolomiky, Lékařská fakulta, Universita Palackého v Olomouci*

<sup>2</sup>*Laboratoř dědičných metabolických poruch, Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc*

<sup>3</sup>*Skriningové centrum novorodencov SR pri Detskej fakultnej nemocnici Banská Bystrica*

<sup>4</sup>*Fakulta zdravotníctva SZU, Banská Bystrica*

ÚVOD: SCADD je autosomálně recesivní porucha mitochondriální  $\beta$ -oxidace mastných kyselin (MK). Je způsobená mutacemi v genu *ACADS* vedoucí k deficitu FAD-dependentní acyl-CoA dehydrogenasy MK s krátkým řetězcem (EC 1.3.8.1). Klinické příznaky jsou velmi heterogenní zahrnující asymptomatické projevy i těžké metabolické dekompenzace. Provádění NS pro SCADD je stále předmětem diskuze s rozdílnými názory. Rozšíření známých biomarkerů (butyrylkarnitin v krvi a kys. ethylmalonová v moči) může vést ke zvýšení selektivity pro možný záchyt tohoto onemocnění.

METODIKA: Cílem studie bylo porovnat metabolické profily vzorků krevních skvrn 165 pacientů a 122 kontrol. Vzorky byly získány v rámci novorozeneckého screeningu slovenské populace na základě informovaného souhlasu. Postup odběru a zpracování vzorků byl shodný s klasickou přípravou pro NS. Vzorky byly analyzovány pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s hmotnostním spektrometrem TipleQuad 6500 (SCIEX, Framingham, MA, USA) v MRM módu. Statistické vyhodnocení bylo provedeno v R programu.

VÝSLEDKY: Celkem bylo cílenou metabolickou metodou v krevní skvrně detekováno 127 metabolitů. Nesupervizovaná vícerozměrná statistická analýza hlavních komponent (PCA) ukázala separaci pacientů od kontrolních vzorků. Mezi nejvíce diskriminujícími metabolity, podle ortogonální diskriminační analýzy nejmenších čtverců (OPLSDA), byly butyrylkarnitin, oxalacetát/glutarát/ethylmalonát, inosin, hypoxantin, inosinmonofosfát a acylkarnitiny se středně dlouhým řetězcem.

ZÁVĚR: U pacientů SCADD výsledky cílené metabolické analýzy naznačují nejen změny v hladině butyrylkarnitinu, ale také ovlivnění purinového metabolismu a acylkarnitínů se střední délkou řetězce. Následovat bude porovnání dat z pohledu mutací v *ACAD* genu a necílená lipidomická analýza.

GRANTOVÁ PODPORA: GAČR 18-12204S a NPU I (LO1304)



## POSTERY 1 - 9

### **DEFICIT FOSFOMANOMUTÁZY 2: KLINICKÁ, BIOCHEMICKÁ A MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ CHARAKTERISTIKA 22 PACIENTŮ DIAGNOSTIKOVANÝCH V ČESKÉ REPUBLICĚ**

#### **PHOSPHOMANNOMUTASE DEFICIENCY: CLINICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR ANALYSIS IN 22 CZECH PATIENTS**

Čechová A., Ondrušková N., Tesařová M., Hansíková H., Zeman J., Honzík T.

*Klinika dětského a dorostového lékařství 1.LF UK a VFN, Praha*

Úvod: Deficit fosfomanomutázy 2 (PMM2-CDG) je nejčastějším typem poruch N-glykosylace s popsányi >900 pacienty. Onemocnění je autosomálně recesivně dědičné a biochemickou podstatou je porucha přeměny manóza-6-fosfátu na manóza-1-fosfát. Onemocnění se projevuje encefalopatií, neuropatií, typickou dysmorfii, atrofií mozečku a koagulopatií. Práce prezentuje výsledky klinických, biochemických a molekulárních vyšetření pacientů diagnostikovaných v naší laboratoři.

Metodika: v naší laboratoři bylo od roku 2002 s PMM2-CDG diagnostikováno 22 pacientů z 18 rodin, dvě děti zemřely v kojeneckém věku. Jako screeningovou metodu jsme používali isoelektrickou fokuzaci tranferinu (TIEF), diagnóza byla potvrzena enzymologicky průkazem snížené aktivity PMM2 enzymu v lymfocytech a molekulárně-geneticky vyšetřením mutací v genu PMM2.

Výsledky: Naše data popisují přirozený průběh nemoci u 22 pacientů. U 13 z nich fenotyp hodnotíme jako těžký a u 9 z nich jako středně závažný. U všech našich pacientů je přítomná těžká či středně těžká psychomotorická retardace, hypotonie, mozečkový syndrom, strabismus a koagulopatie. U 15 z 16 pacientů, u kterých byla provedena MRI CNS, jsme prokázali atrofiu mozečku. U 9 pacientů se projevila epilepsie a u 4 pacientů iktu podobné příhody. U všech pacientů byl prokázán typický vzorec TIEF, snížená aktivita PMM2 a u 21 pacientů byla diagnóza potvrzena na genetické úrovni. 80 % mutovaných alel mělo jednu ze 4 nejčastějších mutací.

Závěr: Tato práce přispívá k lepšímu popisu přirozeného průběhu PMM2-CDG. Většina našich pacientů má těžší průběh onemocnění, než je popisováno v literatuře, proto se můžeme domnívat, že je toto onemocnění v ČR zatím

poddiagnostikované. V plánu je zařazení pacientů do prospektivní multicentrické mezinárodní studie hodnotící přirozený průběh onemocnění a eventuálně zařazení do klinické studie s novou léčebnou molekulou LipoM1P.

Práce byla podpořena projekty AZV 16-31932A, RVO-VFN 64165, SVV 260367.

### **COMPLEX I DEFICIENCY IN 12 PATIENTS BASED ON MUTATIONS IN MT-ND1, MT-ND3 AND MT-ND5 GENES: CLINICAL PRESENTATION AND BIOCHEMICAL STUDY**

Daňhelovská T., Kolářová H., Hansíková H., Honzík T., Zeman J., Tesařová M.

*Department of Pediatric and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic*

Introduction: Isolated Complex I deficiency is the most frequent mitochondrial disorder presenting in childhood. In some of the cases, spectrophotometric analysis of Complex I activity is not sensitive enough to reveal disturbance in its function. Herein, we present clinical and biochemical characterization of 12 patients with isolated Complex I deficiency caused by mutation in mtDNA-encoded subunits ND1 (n=3), ND3 (n=1) and ND5 (n=8).

Methods: In addition to spectrophotometric activity measurements of individual oxidative phosphorylation enzymes, BN-PAGE protein analyses and the analysis of Mitochondrial Energy Generating Capacity (MEGS), was performed, in order to evaluate its efficiency in diagnosing Complex I deficiency.

Results and discussion: There was a considerable heterogeneity in clinical presentation within our group. The age of onset varied from neonatal period up to 18 years. Most of the patients manifested with overlapping phenotype of two or more mitochondrial disorders (LHON, MELAS and MERRF); in five patients, Leigh syndrome was present. Three of our patients died of disease-related complications at the age of 21 months; 3 years and 7 years. In 31-year-old female patient presenting as fully expressed MELAS and secondary epilepsy a novel m.13091T>C in MT-ND5 (heteroplasmy 4 and 61 % in blood and muscle, respectively) is described. Only one patient with LHON/MELAS overlap syndrome (Kolarova et al. 2016) had both altered spectrophotometry and MEGS in either muscle or fibroblasts. A total of 4/4 and 8/9 patients with performed MEGS showed decreased mitochondrial activity in muscle and fibroblasts, respectively. Contrarily, in 8/10

skeletal muscle and 2/10 fibroblast samples the Complex I activities measured by spectrophotometry were significantly reduced.

Conclusion: We describe a novel m.13091T>C in MT-ND5. MEGS might be more efficient in Complex I deficiency evaluation in fibroblasts, which is especially important as the indication for the invasive muscle biopsies are on the decline.

Supported by research projects: RVO VFN64165/2012, UNCE 20401, SVV 260367, GAČR 14-36804G, AZV 16-32341A

---

## **AUTOZOMÁLNĚ DOMINANTNÍ HYPERCHOLESTEROLÉMIE AUTOSOMAL DOMINANT HYPERCHOLESTEROLEMIA**

Hrubá Z.<sup>1</sup>, Pouchlá S.<sup>1</sup>, Tichý L.<sup>1</sup>, Zapletalová P.<sup>1</sup>, Pavloušková J.<sup>2</sup>, Freiburger T.<sup>3</sup>, Fajkusová L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární biologie a genové terapie, Fakultní nemocnice Brno, Brno

<sup>2</sup>Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno

<sup>3</sup>Molekulárně genetická laboratoř, Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie, Brno

Familiární hypercholesterolémie (FH) je autozomálně dominantní dědičné onemocnění metabolismu lipidů charakterizované zvýšením hladiny low density lipoprotein (LDL) cholesterolu v krvi pacientů. Dlouhodobě zvýšená hladina LDL cholesterolu v krvi je hlavní příčinou časného rozvoje aterosklerózy u pacientů, která se následně projeví jako závažné kardiovaskulární komplikace v relativně nízkém věku. FH je onemocnění, které lze léčit, proto je důležité aktivní vyhledávání postižených jedinců a včasné zahájení jejich léčby.

Jednou z nejčastějších příčin FH jsou patogenní sekvenční změny v genech kódujících LDL receptor (LDLR) a apolipoprotein B (APOB). V současné době je DNA analýza prováděna pomocí technik NGS a umožňuje tak zahrnutí dalších genů (apolipoprotein E – APOE, protein konvertáza subtilisin/kexin typ 9 – PCSK9).

DNA analýza byla dosud provedena u více než 4000 probandů s podezřením na autozomálně dominantní hypercholesterolémii, diagnóza byla potvrzena u 33% pacientů. V LDLR genu bylo nalezeno 182 unikátních alelických variant, z nichž 71 dosud nebylo popsáno. U většiny sekvenčních variant typu missense není známo, jak ovlivňují funkci proteinu. Z toho důvodu jsme zavedli funkční analýzu LDLR

mutací pomocí laserové skenovací konfokální mikroskopie, kdy po expresi mutantního proteinu analyzujeme jeho lokalizaci a schopnost vázat LDL částice.

Pomocí metod NGS byla rozšířena standardně analyzovaná oblast u pacientů s podezřením na onemocnění FH. Funkční analýza LDLR proteinu umožňuje potvrdit kauzalitu nalezených sekvenčních variant a objasnit jejich vliv na funkci výsledného proteinu.

Práce byla podpořena projektem IGA MH CR 16-29084A.

---

## **NEWBORN SCREENING AND VITAMIN DISORDERS**

Chrastina P., Bártl J., Koubíková H., Chodorová I., Bártová P., Hodík J., Ježová R., Paulová M., Pinkasová R., Petránková V., Jahnová H., Hrubá E., Košťálová E., Ješina P., Kožich V., Pešková K., Honzík T.

*Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, General University Hospital in Prague and 1st Faculty of Medicine, Charles University, Czech Republic*

Background: In June 2016 the Czech national newborn screening program was expanded to include 15 inherited metabolic disorders (IMD). The program allows to detect directly biotinidase deficiency, and indirectly also some treatable B-vitamin deficiencies due to dietary restriction, malabsorption or an IMD in the child or the mother. Screening for MTHFR deficiency may detect patients with folate and vitamin B12 deficiency, while screening for MCAD deficiency may detect riboflavin and coenzyme Q deficiencies.

Methods: The newborn blood spots were collected between 48 to 72 hours after birth. Profile of butylated amino acids and acylcarnitines was analyzed by tandem mass spectrometry. Second-tier total homocysteine was measured after its reduction by LC-MS/MS method. Biotinidase activity was measured by a fluorometric enzyme assay.

Results: Between July 2016 and December 2017, we analyzed samples from 128,531 newborns. We detected 48 patients with IMDs. Disturbed metabolism of vitamins was detected in 9 patients with partial biotinidase deficiency (prevalence (P) 1:14,500) and in 3 patients with maternal vitamin B12 deficiency (P 1: 44,000). We did not detect any newborn with riboflavin or coenzyme Q deficiency. The treatment with biotin or vitamin B12 prevented development of clinical symptoms in all patients.

Conclusion: Addition of biotinidase activity and of low methionine with second-tier total homocysteine measurement led to increase of the detection rate from 1: 3,600 to 1: 2,700 and enabled an early and an efficient treatment of affected patients.

Supported by MH CZ – DRO VFN64165.

---

### **POLR3B-ASSOCIATED LEUKODYSTROPHY: CLINICAL, NEUROIMAGING AND MOLECULAR-GENETIC ANALYSES IN 4 PATIENTS: CLINICAL HETEROGENEITY AND NOVEL MUTATIONS IN POLR3B GENE**

Kulhánek J.<sup>1</sup>, Brožová K.<sup>2</sup>, Hansíková H.<sup>1</sup>, Vondráčková A.<sup>1</sup>, Stránecký V.<sup>1</sup>, Šenkyřík J.<sup>3</sup>, Kmoch S.<sup>1</sup>, Zeman J.<sup>1</sup>, Honzík T.<sup>1</sup>, Tesařová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Paediatric and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General Faculty Hospital, Prague, Czech Republic,*

<sup>2</sup>*Department of Pediatric Neurology, Thomayer Hospital, Prague, Czech Republic,*

<sup>3</sup>*Department of Pediatric Radiology, University Hospital Brno, Czech Republic*

Introduction: Heritable white matter disorders represent a broad spectrum of neurologic diseases often associated with an unfavorable prognosis and a diagnostic delay. We present thorough clinical, neuroimaging and molecular-genetic characterisation of 4 patients from 3 unrelated families suffering from a rare genetic leukoencephalopathy.

Subjects: 2 severely affected siblings, P1 and P2, now 11 and 7 years of age, manifested a profound developmental delay, neo- and paleocerebellar symptomatology, microcephaly, failure to thrive, short stature and delayed abnormal teeth eruption with hypodontia. The other 2 patients (P3, P4), 28 and 19 years old, respectively, suffer from a substantially less serious impairment dominated by a moderate developmental delay and neo- and paleocerebellar symptomatology, with fewer and less pronounced other somatic symptoms such as delayed eruption of abnormal dentition or well-manageable epilepsy, in either of the patients. Magnetic resonance imaging revealed congruent findings of cerebellar atrophy and supratentorial hypomyelination in all 4 patients.

Results: Using whole-exome sequencing performed on a research basis in P1, P2, P3, and targeted sequencing in P4, pathogenic variants in POLR3B, a gene encoding 1 of the 17 subunits of DNA-dependent RNA polymerase III, were

disclosed – all patients were compound heterozygotes for point mutations. 3 novel mutations were found - c.727A>G (p.Met243Val) and c.2669G>A (p.Arg890His) (P1, P2); and c.1495G>A (p.Met499Val) (P3). MRI confirmed a typical radiologic pattern of POLR3-leukodystrophies in all 4 patients.

Conclusion: The diagnosis of POLR3-leukodystrophies can be significantly forwarder using the combined clinical and neuroradiological recognition pattern, which offers a considerable sensitivity and specificity. Various molecular-genetic analyses are then indispensable for both swift diagnosis confirmation in cases of clear clinical suspicion and for diagnostic search in patients with a less pronounced symptomatology. They pose an irreplaceable tool for unraveling of the complex genetic background in the field of heritable white matter disorders.

Acknowledgements/Funding: This work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic (AZV 15-28208A, RVO-VFN 64165) and institutional research projects of Charles University (Progres Q26/LF1, UNCE204064, SVV 260367).

---

### **CLINICAL MANIFESTATIONS AND MOLECULAR ASPECTS OF PHOSPHORIBOSYLPYROPHOSPHATE SYNTHETASE SUPERACTIVITY IN FEMALES**

Mušálková D.<sup>1</sup>, Zikánová M.<sup>1</sup>, Wahezi D.<sup>2</sup>, Hay A.<sup>3</sup>, Stiburkova B.<sup>1</sup>, Pitts III C.<sup>4</sup>, Škopová V.<sup>1</sup>, Barešová V.<sup>1</sup>, Součková O.<sup>1</sup>, Hodaňová K.<sup>1</sup>, Živná M.<sup>1</sup>, Stránecký V.<sup>1</sup>, Hartmannová H.<sup>1</sup>, Votruba M.<sup>1</sup>, Hnízda A.<sup>5</sup>, Bleyer A. J.<sup>1,4</sup>, Kmoch S.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University Prague, Czech Republic*

<sup>2</sup>*Pediatric Rheumatology, Children's Hospital at Montefiore, Bronx, NY*

<sup>3</sup>*Pediatric Rheumatology, Nicklaus Children's Hospital, Miami, FL*

<sup>4</sup>*Section on Nephrology, Wake Forest School of Medicine, Medical Center Blvd., Winston-Salem, NC*

<sup>5</sup>*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic*

Objectives: Phosphoribosylpyrophosphate synthetase (PRPS1) superactivity (OMIM 300661) is an X-linked disorder characterized by urate overproduction. This condition is thought to rarely and only mildly affect women. We describe a 16 year old African-American female who developed progressive tophi, nephrolithiasis, and

acute kidney failure due to urate overproduction. Family history included a mother with tophaceous gout who developed end-stage kidney disease due to nephrolithiasis and an affected sister with polyarticular gout.

Methods: Whole exome sequencing was performed in affected females and their fathers.

Results: Mutational analysis revealed a new c.520G>A (p.G174R) mutation in the PRPS1 gene. The mutation resulted in decreased PRPS1 inhibition by ADP.

Conclusions: Clinical findings in previously reported females with PRPS1 superactivity showed a high clinical penetrance of this disorder with a mean serum urate level of  $8.5 \pm 4.1$  mg/dl ( $506 \pm 247$   $\mu$ mol/L) and a high prevalence of gout. These findings indicate that all women in families with PRPS1 superactivity should be genetically screened for a mutation. In addition, women with tophaceous gout, gout presenting in childhood, or a strong family history of severe gout should be considered for PRPS1 mutational analysis.

---

## **NOVORODENECKÝ SKRÍNING – PÔRODY MIMO ZDRAVOTNÍCKYCH ZARIADENÍ A MIMO SLOVENSKEJ REPUBLIK**

Revťáková A.<sup>1</sup>, Mydlová Z.<sup>1</sup>, Knapková M.<sup>1</sup>, Machková M.<sup>1</sup>, Dluholucký S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Skríningové centrum novorodencov SR, DFNSP Banská Bystrica

<sup>2</sup>Fakulta zdravotníctva, SZU Banská Bystrica

Novorodenecký skríning na Slovensku je povinný a právne podložený Odborným usmernením MZ SR z roku 2012. Na Slovensku sa každoročne narodí viac ako 55000 novorodencov. Skríningové centrum novorodencov SR (SCN SR) má zvládnutý systém pre skríning novorodencov, svojou vysokou efektivitou, organizáciou a štruktúrou zabezpečuje záchyt všetkých novorodencov. Cieľom skríningu je zachytiť diagnózu a včasne nasadiť liečbu. Metodiky sú založené na princípe „suchej kvapky krvi“. Častokrát sa stretávame s nesprávnym odberom suchej kvapky krvi, z dôvodu kontaminácie a nedostatočného množstva krvi.

Novým trendom sa stávajú pôrody mimo zdravotníckych zariadení (ZZ) a mimo Slovenskej republiky (SR). Matky, ktoré zvažujú tento spôsob pôrodu, kontaktujú SCN SR a je im následne zaslaný odberový papierik spolu so sprievodnou dokumentáciou a postupom k odberu. Odber suchej kvapky krvi by mal realizovať pediater alebo pôrodná asistentka. Je veľmi dôležité, aby bolo odobraté dostatočné

množstvo krvi na odberový papierik Whatman 903™, aby sa predišlo opakovanému odberu z dôvodu nesprávneho odberu suchej kvapky krvi.

SCN SR disponuje rôznymi štatistikami a aj štatistikou novorodencov narodených mimo SR alebo mimo ZZ. Od roku 2011 sme začali detailnejšie sledovať tento trend pôrodov. Ukázalo sa, že má stúpajúci charakter, nakoľko v roku 2011 bolo zaznamenaných 12 pôrodov mimo ZZ alebo SR a v roku 2017 je to 138 pôrodov. Je veľmi dôležité upozorniť verejnosť na tento aspekt a zdôrazniť dodržanie časového limitu pri odbere suchej kvapky krvi, nakoľko pri včasnej diagnostike poskytneme každému novorodencovi plnohodnotný zdravý život.

---

## **KOMBINACE METODICKÝCH PŘÍSTUPŮ K VYŠETŘENÍ X-INKTIVACE U HETEROZYGOTEK PRO FABRYHO CHOROBU**

Řeboun M.<sup>1</sup>, Stolnaja L.<sup>1</sup>, Wiederlecnerová H.<sup>1</sup>, Černá A.<sup>1</sup>, Magner M.<sup>1</sup>, Golář L.<sup>2</sup>, Mušálková D.<sup>1</sup>, Mrázová L.<sup>1</sup>, Dvořáková L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. lékařská fakulta UK a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

<sup>2</sup>II. interní klinika – kardiologie a angiologie, 1. lékařská fakulta UK a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

Fabryho choroba (FD) je X vázané onemocnění způsobené nedostatečnou aktivitou  $\alpha$ -galaktosidázy A ( $\alpha$ -galA) v lyzozomech. Jedná se o vzácné multisystémové onemocnění s dominantním postižením srdce a ledvin. Příznaky onemocnění manifestuje i řada žen – heterozygotek, v literatuře však nepanuje jednotný názor na vliv inaktivace chromosomu X (XCI) na tíži klinických příznaků.

V naší studii byla vyšetřena kohorta 32 žen z 22 rodin, u nichž byla XCI sledována v leukocytech a bukálních stěrech (BS). Ke stanovení byla využita kombinace nepřímých metylačních (AR, RP2, CNKSR2) a transkripčních (SNP v genech LAMP2 a IDS) sond. V leukocytech bylo stanoveno poměrné zastoupení alel v transkriptu příčinného genu GLA. Získaná data byla následně porovnána s enzymovou aktivitou měřenou v leukocytech.

U 6 pacientek byl zjištěn výrazný posun XCI v leukocytech (>80%), v BS však byla XCI náhodná. V případě SNV jsou výsledky poměrného zastoupení alel v GLA srovnatelné s mírou zešíkmení stanovenou pomocí nepřímých sond a korelují s enzymovou aktivitou  $\alpha$ -galA. Korelace selhává u variant ovlivňujících stabilitu

transkriptu, např. u sestřihové mutace. Vyšetření transkriptu v kombinaci s nepřímými sondami vedlo u 6 pacientek k identifikaci crossing – over.

Použití metylačních a nepřímých transkripčních sond může vést z důvodu crossing – over k chybným výsledkům. Pro správnou interpretaci dat XCI je potřeba korelace s analýzou transkriptu GLA a/nebo s enzymovou aktivitou  $\alpha$ -galA.

Podpořeno MZ ČR – RVO VFN64165 a GAUK 580716.

---

### HOW DOES THE DNM1L MUTATION AFFECT THE MITOCHONDRIAL NETWORK AND UTRASTRUCTURE?

Volfová N.<sup>1</sup>, Alán L.<sup>2</sup>, Daňhelovská T.<sup>1</sup>, Rodinová M.<sup>1</sup>, Sládková J.<sup>1</sup>, Křížová J.<sup>1</sup>, Hansíková H.<sup>1</sup>, Zeman J.<sup>1</sup>, Tesařová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory for Study of Mitochondrial Disorders, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic

<sup>2</sup>Institute of Physiology, The Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

DNM1L gene encodes the dynamin 1-like protein (Drp1), which is crucial in the mitochondrial and peroxisomes fission process. Several mutations in DNM1L gene were described. Drp1 has four domains: GTP-binding, middle, insert B, and GTPase effector domain. Some of mutations were de novo missense mutations in middle domain, which is important for the self-assembly of the protein and its oligomerization, but most cases were in GTPase domain (Spiczak et al 2017). We identified novel de novo mutation c.176C>T (p.Thr59Ile) in DNM1L gene, that affects highly conserved Thr59 in the GTPase domain of the protein. Thr59 has been previously shown to be indispensable for GTPase reaction, since it is involved in the positioning of the catalytic water molecule and Mg<sup>2+</sup> coordination (Wenger et al 2013). In patient cells, regular occurrence of “mega-mitochondria” along elongated mitochondrial network was found in cultured myoblasts and fibroblasts confirming impaired mitochondrial dynamic. Moreover, immunocytochemistry staining with catalase antibody revealed disturbances of peroxisomal fission. The dominant-negative effect of the mutation on Drp1 function was confirmed in cultured skin fibroblasts, where protein analysis revealed decreased amount of some complex IV subunits, Mitofilin protein and different distribution of OPA1 isoforms. Furthermore, we compared impact of DNM1L mutations localized in

GTPase domain and middle domain on mitochondrial network, ultrastructure as well as elongated peroxisomes.

Supported by research projects GAČR 14-36804G, AZV 17-30965A, RVO-VFN64165/2012, SVV 260367.

### POSTERY 10 - 16

### RÔZNA PRÍČINA IZOLOVANEJ METYLMALONOVEJ ACIDÚRIE S NEONATÁLNOU MANIFESTÁCIOU U NAŠICH PACIENTOV.

### DIFFERENT CAUSES OF ISOLATED METHYLMALONIC ACIDURIA, MANIFESTED IN THE NEWBORN PERIOD - CASE REPORTS.

Brennerová K.<sup>1</sup>, Letenayová I.<sup>2</sup>, Skokňová M.<sup>2</sup>, Šaligová J.<sup>3</sup>, Potočnáková Ľ.<sup>3</sup>, Šebová C.<sup>4</sup>, Schich- Behúlová D.<sup>4</sup>, Tárnoková S.<sup>4</sup>, Škopková M.<sup>5</sup>, Bzdúch V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Detská klinika NÚDCH a LFUK, Bratislava

<sup>2</sup>Neonatologická klinika intenzívnej medicíny NÚDCH a LFUK, Bratislava

<sup>3</sup>Metabolická ambulancia Kliniky detí a dorastu LF UPJŠ a DFN, Košice

<sup>4</sup>Oddelenie laboratórnej medicíny NÚDCH, Bratislava

<sup>5</sup>Diabgene, Ústav experimentálnej endokrinológie Biomedicínskeho centra SAV a NEDÚ, Bratislava

Úvod: izolovaná metylmalonová acidúria (iMMA) sa v novorodeneckom veku manifestuje nešpecifickými klinickými príznakmi: letargiou, vracaním, dehydratáciou, kómou. Štandardným laboratórnym nálezom je metabolická acidóza, ketonúria, hyperamonémia a hyperlaktatémia. Príčinou tohto ochorenia môže byť deficit metylmalonyl-CoA mutázy, deficit metylmalonyl-CoA epimerázy alebo defekty v intracelulárnom metabolizme kobalamínu (CblA, B, D) s rôznou senzitivitou na liečbu kobalamínom (Cbl). Cbl non rezponzívni pacienti s neonatálnou formou iMMA majú vyšší výskyt orgánových komplikácií, s vyššou frekvenciou úmrtia do 10. roku života.

Pacienti: v práci autori prezentujú klinické a laboratórne nálezy u troch pacientov s neonatálnou formou iMMA rôznej etiológie v čase manifestácie a ďalší priebeh ich ochorenia.

1/v súčasnosti 16 ročný pacient, pôvodne eutrofický donosený novorodenec, manifestovaný akútne na 3.deň života ťažkou metabolickou acidózou a



hyperamonémiou, je mentálne retardovaný, so závažným ADHD syndrómom, poruchou rastu, chronickou obličkovou chorobou. Dokázaná je mutácia v géne MMAB, Cbl non rezpozivita.

2/ t.č.13 ročný pacient, letargický od prvého dňa života, s postupným rozvojom metabolickej acidózy a hyperamonémie, bol preložený do NÚDCH na dif. dg . hyperglycinémie vo veku 22 dní. Napriek štandardnej liečbe sa v ďalšom priebehu rozvinula kvadruspasticita s nálezom Dandy Walker malformácie CNS, ťažká mentálna retardácia, sekundárna epilepsia. Z ďalších komplikácií je prítomná chronická obličková choroba a pankreatopatia. Nepotvrdili sme senzitivitu na Cbl. Mutačná analýza odhalila homozygotnú mutáciu v géne MUT, spájanú s fenotypom Mut<sup>0</sup>.

3/ dnes 6 ročná pacientka na 4. dňa života letargická, s rýchlym rozvojom metabolickej acidózy a hyperamonémie, výborne reagujúca na liečbu. Metabolické dekompenzácie sa počas 6 rokov objavovali sporadicky. Dieťa je bez neurologických a renálnych komplikácií, s potvrdenou mutáciou v MMAA géne, Cbl rezpozívna.

Záver: novorodenecká manifestácia iMMA môže mať zhodný klinický obraz napriek rôznej etiológii. Potrebne je včas oddiferencovať typy senzitivne na Cbl, ktoré pri správnej liečbe majú lepšiu prognózu a menej sekundárnych orgánových komplikácií.

---

### **SPECIFIKA DIAGNOSTIKY POZDŇÍCH FOREM GM1 GANGLIOSIDÓZY**

Hrubá E.<sup>1</sup>, Poupětová H.<sup>1</sup>, Martincová O.<sup>1</sup>, Dobiášová J.<sup>1</sup>, Fialová M.<sup>1</sup>, Berná L.<sup>1</sup>, Jahnová H.<sup>1</sup>, Košťálová E.<sup>1</sup>, Příhodová I.<sup>2</sup>, Adamovičová M.<sup>3</sup>, Klímová E.<sup>1</sup>, Pešková K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Metabolické centrum a Diagnostické laboratoře DMP KDDL VFN a 1. LF UK, Praha

<sup>2</sup>Neurologická klinika VFN a 1. LF UK, Praha

<sup>3</sup>Oddělení dětské neurologie Thomayerova nemocnice, Praha

Úvod: GM1 gangliosidóza je autozomálně recesivní neuroviscerální lyzosomální onemocnění z deficitu beta-galaktosidázy se stěradáním GM1 gangliosidu v centrálním nervovém systému a keratansulfátu i některých dalších oligosacharidů a glykoproteinů v periferních tkáních. Nejčastější infantilní forma má rychlý a velmi nepříznivý klinický průběh; u mírnější juvenilní a adultní formy onemocnění se pomalu rozvíjí kognitivní deteriorace a extrapyramidová symptomatologie. Specifická klinická forma, mukopolysacharidóza typ IVB, probíhá jako

spondyloepimetafyzeální dysplázie. Různý klinický průběh onemocnění je podmíněn konkrétní kombinací alel v genu pro beta-galaktosidázu (GLB1 gen). Diagnostika je založena na průkazu abnormálního profilu oligosacharidů a/nebo mukopolysacharidů v moči, potvrzení deficitu enzymu beta-galaktosidázy v leukocytech/kultivovaných fibroblastech a detekci patogenních mutací v GLB1 genu.

Soubor: V našem sdělení předkládáme výsledky metabolického a screeningového enzymologického vyšetření spolu s vybranými klinickými údaji od 5 pacientů s pozdní formou GM1 gangliosidózy.

Výsledky: Žádný z prezentovaných pacientů neměl charakteristický abnormální profil oligosacharidů v moči; naopak u všech byla zvýšená aktivita chitotriosidázy v plazmě v rozsahu 118 - 1687 nmol/h/ml (N 4,4 – 89). Diagnóza byla stanovena v rozmezí 6 až 28 let od prvních příznaků onemocnění na základě prokázaného deficitu beta-galaktosidázy v suchých krevních kapkách (screening) a v leukocytech.

Závěr: Diagnostika pozdních forem GM1 gangliosidózy se nemůže opírat o nález abnormálního profilu oligosacharidů v moči. To se může podílet na tom, že pacienti unikají diagnóze. K nasměrování diagnostiky k lyzosomálním poruchám naopak může pomoci zvýšená aktivita chitotriosidázy v plazmě.

Podpořeno projektem MZ ČR - RVO VFN 64165

---

### **PACIENTKA S GLYKOGENÓZOU TYPU V: OD „HEPATOPATIE“ K METABOLICKÉ MYOPATII**

#### **A PATIENT WITH GLYCOGENOSIS TYPE V: FROM „HEPATOPATHY“ TO METABOLIC MYOPATHY**

Košťálová E., Vlášková H.

*Klinika dětského a dorostového lékařství, Metabolické centrum, VFN a 1. LF UK, Praha*

Úvod: Glykogenóza typu V (GSD V) je autozomálně recesivně dědičná porucha způsobená deficitem enzymu svalové glykogenfosforylázy na podkladě mutací v PYGM genu. GSD V patří mezi metabolické myopatie a je spojena se stěradáním glykogenu ve svalech. Onemocnění se nejčastěji manifestuje intolerancí cvičení s únavou, bolestí svalů a křečemi ve svalech. Mohou být přítomny ataky myoglobinurie a/nebo trvalá svalová slabost.

Kazuistika: Dívka s náhodně zjištěnou trvalou elevací ALT a AST byla od 2 let vyšetřována pro „hepatopatii“ nejasné etiologie. Ve 3 letech po zjištění elevace CK a myoglobinu byla diagnóza přehodnocena na myopatii nejasné etiologie. Pacientka udávala bolesti dolních končetin po delší fyzické námaze. Při podrobnější anamnéze byla zjištěna přítomnost tzv. fenoménu druhého dechu („second wind phenomenon“). V objektivním nálezu byl přítomen frustrní kolísající myopatický syndrom. Elektromyografický nálezu byl v normě. Protože byl přítomen fenomén druhého dechu a po námaze nedocházelo ke zvýšení laktátu v krvi, zvažovali jsme svalovou glykogenózu. Svalová biopsie byla provedena s cíleným požadavkem na vyjádření ke svalové glykogenóze – z technických důvodů se však nebylo možné při elektronmikroskopickém vyšetření spolehlivě vyjádřit k případnému střádání. V roce 2014 bylo v Ústavu dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK zavedeno molekulárně genetické vyšetření genu PYGM. Analýza tohoto genu u pacientky a jejích rodičů prokázala u pacientky složenou heterozygocii pro dvě patogenní mutace a potvrdila diagnózu GSD typu V. Objektivní neurologický nálezu i biochemické parametry zůstávají dlouhodobě stabilní. Ve 20 letech pacientka prodělala první ataku myoglobinurie s výrazným zvýšením svalových enzymů.

Závěr: U pacientů s nejasným zvýšením transamináz je třeba vyšetřit svalové enzymy i v případě, že nejsou přítomny klinické známky myopatie. U pacientů s trvalými biochemickými symptomy myogenního postižení je vhodné v diferenciální diagnostice zvažovat také glykogenózu typu V.

Podpořeno projektem MZ ČR - RVO VFN64165

---

## ICHTIOSIFORMNÍ ZMĚNY KŮŽE A NEKOMPLETNÍ FANCONIHO SYNDROM U ROMSKÝCH DĚTÍ JAKO NOVÝ FENOTYP MUTACE V EGFR GENU.

Mazurová S., Stránecký V., Tesařová M., Vondráčková A., Hansíková H., Honzík T., Magner M.

*Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. LF UK a VFN v Praze, Česká republika*

Úvod: Membránový buněčný receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR) spojený s tyrozin-kinázovou aktivitou hraje důležitou roli v procesech buněčného růstu a diferenciace. Získané (stimulační) mutace v tomto genu bývají spojeny s maligní transformací některých tumorů (adenokarcinomů plic či karcinomu prsu). Přinášíme kazuistiku romského chlapce, u kterého ztrátové mutace v tomto genu

vedly k těžkému postižení kůže a ledvin. Klinický obraz: Chlapec se narodil ve 32. gestačním týdnu s váhou 1060g (IUGR), přítomen byl polydramnion. Po porodu bylo patrné těžké, ichtyosiformní postižení kůže, progerický vzhled. Průběh byl komplikován opakovanými septickými stavy, rozvinul se nekompletní Fanconioho syndrom (s hyperkalurií a fosfaturií, vymizela hyperaminoacidurie i glykosurie) a sekundární hyperaldosteronismus. Nyní je chlapec 12 let, má těžkou poruchu růstu (116cm, -4,84 SDS), hmotnost je 25kg (pod 1.percentilem, -2,67 SDS), vzhledem k výšce však proporcionální, mírnou mentální retardací. Trvá progerický vzhled, nálezu na kůži je charakterizován jako chronická ichtyosiformní dermatitída s poruchou rohování a folikulitidou zejména v nekrytých oblastech, se známkami trichothiodystrofie a erythrodermie. Přetrvává polydipsie (až 140ml/kg/den), s vysokými ztrátami kůží. Přítomné je tubulární, rozvíjí se však i glomerulární postižení ledvin s proteinurií až v nefrotických hodnotách ( $\approx 1,2\text{g/m}^2/\text{den}$ ).

Výsledky: V rámci celoexomového sekvenování byla nalezena dříve popsaná, kongenitální, autosomálně recesivní mutace c.1283G>A (p.Gly428Asp) v EGFR v homozygotní konstituci. Diskuze: Jedná se teprve o čtvrtou kazuistiku tohoto vzácného onemocnění. Ve všech případech se jednalo o romské chlapce s prenatálně zjištěným polydramnionem, předčasným porodem, opakovanými infekčními komplikacemi a těžkým postižením kůže, u našeho chlapce s nejdelším přežitím (ostatní zemřely v rozmezí od 1. měsíce do 2,5 let), komplikováno dosud nepopsaným postižením ledvin. Práce byla podpořena projekty: AZV16-31932A, RVO-VFN 64165/2012, SVV 260367, UNCE 204064 a PRVOUKP24/LF1/3.

---

## VARIÁCIE MEVALÓNOVEJ ACIDÚRIE – NAŠE SKÚSENOSTI VARIANTS OF MEVALONIC ACIDURIA – OUR EXPERIENCE

Šebová C.<sup>1</sup>, Hlavatá A.<sup>2</sup>, Brucknerová I.<sup>3</sup>, Ostrožlíková M.<sup>1</sup>, Schich Behúlová D.<sup>1</sup>, Mičev F.<sup>1</sup>, Petrovič R.<sup>4</sup>, Štátná S.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Oddelenie laboratórnej medicíny,

<sup>2</sup>Detská klinika,

<sup>3</sup>Neonatologická klinika intenzívnej medicíny, Národný ústav detských chorôb, Bratislava,

<sup>4</sup>Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky Lekárskej fakulty a Univerzitnej nemocnice, Bratislava,

<sup>5</sup>Ústav dědičných metabolických poruch VFN, Praha

Mevalónová acidúria (OMIM#610377) predstavuje ťažký koniec klinického spektra ochorenia spôsobených deficitom mevalonátkinázy. Najzávažnejšie formy ochorenia sa prejavujú značne heterogénnou, progresívnou a multisystémovou symptomatológiou. Biochemická diagnostika spočíva v detekcii vysokej exkrécie mevalonátu/mevalonolaktónu močom (GC-MS). Prezентujeme rozdielny klinický obraz a kľúčové laboratórne nálezy dvoch pacientov s mevalónovou acidúriou zo vzdialeného príbuzenského vzťahu a identickou kauzálnou mutáciou v MVK géne. Dievčatko od 2. týždňa života opakovane hospitalizované pre neprospievanie, dyspeptické stolice, recidivujúce ataky horúčok s vysokými hodnotami zápalových markerov, sprevádzané zároveň lymfadenopatiou, hepatosplenomegáliou, artralgiou, niekedy exantémom. V 3. mesiaci života sa zaznamenala hypotrofia -2,7 SD. Diagnostický proces postupne nepotvrdil celkovú infekciu, vrodený imunodeficit ani malígny proces, cielene indikovaná analýza OA v moči preukázala vysokú exkréciu mevalonolaktónu 1990  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  krea. Pacientka exitovala vo veku 2,5 roka.

19-dňový eutrofický chlapček, hospitalizovaný za účelom diagnostického doriešenia konjugovanej hyperbilirubinémie. Pri prijatí bol prítomný verdínový ikterus, mierna lymfadenopatia, v laboratórnom obraze ľahká elevácia hepatálnych enzýmov a zápalových markerov. Sérologické a bakteriologické vyšetrenia nepotvrdili hepatotropnú infekciu. Suponovala sa atrézia /hypoplázia žlčových ciest, plánovala sa biopsia pečene. Vzhľadom na postupné zvyšovanie markerov zápalu sa predpokladala cholangitída. Vyšetrenia „klasických DMP“ (galaktozémia, tyrozinémia, deficit  $\alpha_1$ -AT) boli negatívne. V rámci ďalších metabolických vyšetrení sa indikovala analýza OA v moči, ktorá dokázala vysokú exkréciu mevalonátu 40,5 a mevalonolaktónu 393  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  krea. Pacient exitoval vo veku 4 mesiacov.

Naši pacienti demonštrujú klinickú rôznorodosť mevalónovej acidúrie aj pri rovnakom genotype. Klinická manifestácia 2. pacienta bola doteraz opísaná len u niekoľkých novorodencov. Príčinou „nie zriedkavej“ novorodeneckej cholestázy je pestrá paleta ochorení. V diferenciálnej diagnostike je potrebné zvažovať širšie spektrum DMP.

---

## **MNOHOČETNÁ SYMETRICKÁ LIPOMATÓZA JAKO PROJEV SYNDROMU MERRF PŘI HETEROPLAZMICKÉ MUTACI 8344A>G V MITOCHONDRIÁLNÍ DNA**

Jahnová H.<sup>1</sup>, Tesařová M.<sup>2</sup>, Zámečník J.<sup>3</sup>, Honzík T.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Metabolické centrum, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN v Praze*

<sup>2</sup> *Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN v Praze*

<sup>3</sup> *Ústav patologie a molekulární medicíny 2.LF UK a FN Motol*

Úvod: Myoklonická epilepsie s myopatií s tzv. ragged-red vlákny (RRF) jsou typickými projevy syndromu MERRF, poruchy respiračního řetězce způsobené heteroplazmickými mutacemi mitochondriální DNA (mtDNA), nejčastěji mutací m.8344A>G v genu MT-TK. Do variabilního fenotypu poruchy však může patřit kromě kognitivní deteriorace, poruchy sluchu, atrofie optiku, periferní neuropatie také mnohočetná symetrická lipomatóza (Madelungova nemoc). U postižených mužů se projeví extrémní akumulací tuku v oblasti krku a horní části hrudníku, u postižených žen je nahromadění tukové tkáně difuznější a méně nápadné.

Metodika: Prezентujeme klinické a laboratorní nálezy prvního českého pacienta, u kterého byla potvrzena Madelungova nemoc jako součást syndromu MERRF.

Výsledky: U 59-letého pacienta se od 40 let enormně hromadí tuková tkáň na krku, šíjí, v horní části hrudníku. Posledních 5 let se také rozvíjí oslabení stehien s problémy při chůzi. Podobné potíže měla i matka pacienta. Mimo hyperurikémii nebyly na úrovni metabolitů přítomny žádné specifické nálezy. Ve svalu byla histologicky prokázána v 5% RRF, 2% vláken byla COX-negativních. DNA analýzou mtDNA byla detekována heteroplazmická mutace m.8344A>G v krvi (42 %), bukalním stěru (60 %), močovém sedimentu (60 %) a svalu (57 %), vyšetření u tukové tkáni z krku probíhá.

Závěr: Mnohočetná symetrická lipomatóza je součástí komplexního fenotypu syndromu MERRF podmíněného mutací m.8344A>G v mtDNA. Řada pacientů pravděpodobně uniká správné diagnóze. KDDL 1. LF UK a VFN může nabídnout došetření těchto pacientů na klinicko-genetické, biochemické i molekulárně genetické úrovni.

Grant MZ ČR – RVO VFN64165.

---

## **PRVÝ PACIENT S BARTHOVÝM SYNDRÓMOM NA SLOVENSKU THE FIRST CASE OF BARTH SYNDROME IN SLOVAKIA**

Tárnoková S.<sup>1</sup>, Šebová C.<sup>1</sup>, Perečková J.<sup>1</sup>, Brennerová K.<sup>2</sup>, Riedel R.<sup>3</sup>, Kunovský P.<sup>4</sup>,  
Đuranová M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Oddelenie laboratórnej medicíny,

<sup>2</sup>Detská klinika,

<sup>3</sup>Detská klinika anesteziológie a intenzívnej medicíny, Národný ústav detských chorôb,

<sup>4</sup>Oddelenie JIS pre kardiológiu DKC, Národný ústav srdcových a cievnych chorôb,

<sup>5</sup>Laboratórium lekárskej genetiky, Alpha medical s.r.o., Bratislava

Barthov syndróm (BTHS) (OMIM#302060) je na X chromozóm viazané ochorenie charakterizované kardiomyopatiou, hypotóniou, rastovou retardáciou, neutropéniou a 3-metylglutakónovou acidúriou. BTHS je spôsobený mutáciami v TAZ géne, ktorý kóduje transacylázu nevyhnutnú pre remodeláciu kardiolipínu. Kardiolipín sa nachádza v mitochondriovej membráne. Je potrebný pre stabilizáciu superkomplexov respiračného reťazca a zohráva tiež kľúčovú úlohu v apoptóze. Prezентujeme prvého pacienta s Barthovým syndrómom na Slovensku, ktorý sa manifestoval v 3. týždni života náhlym rozvojom multiorgánovej dysfunkcie, v laboratórnych parametroch bola hypoglykémia, hyperamonémia, hyperlaktatémia, koagulopatia. Echokardiografickým vyšetrením sa zistila kardiomyopatia typu left ventricular non-compaction so zlyhávajúcou ľavou komorou. V rodinnej anamnéze bol údaj o úmrtí matkinho strýka a matkinho bratranca v detskom veku na „ochorenie srdca“. V rámci diferenciálnej diagnostiky bol realizovaný aj selektívny skrining DMP, v ktorom dominoval nález signifikantnej 3-metylglutakónovej acidúrie 56,7  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  krea. Na 22. deň života sa zaznamenal pokles absolútneho počtu neutrofilov. Na základe uvedených nálezov a tiež pozitívnej rodinnej anamnézy sme vyslovili podozrenie na Barthov syndróm. Molekulovo genetické vyšetrenie TAZ génu potvrdilo supponovanú diagnózu. Zriedkavé ochorenie sa u pacienta podarilo diagnostikovať vo veku 7 týždňov vďaka tímovej spolupráci viacerých špecialistov rôznych medicínskych odborov. Včasnú rozpoznávanie diagnózy a zahájenie liečby môže zlepšiť prognózu u pacientov s Barthovým syndrómom.

**PIATOK 25. 5. 2018**

**NOVÉ MOŽNOSTI V LIEČBE DMP**

## **NEMOC ZE STŘÁDÁNÍ ESTERŮ CHOLESTEROLU – KLINICKÁ MANIFESTACE A AKTUÁLNÍ LÉČBA**

### **CHOLESTEROL ESTER STORAGE DISEASE – A CLINICAL MANIFESTATION AND A CURRENT TREATMENT**

Smolka V., Tkachyk O.

*Dětská klinika, Fakultní nemocnice, Olomouc*

Nemoc ze střídání esterů cholesterolu (CESD) a Wolmanova nemoc (WN) vznikají a klinicky se manifestují v důsledku deficitu lysozomálního enzymu kyselá lipázy (KP). Dědičnost obou nemocí je autosomálně recesivní a je způsobena mutacemi v LIPA genu. KP je zodpovědná za intralysozomální degradaci esterů cholesterolu. U WN dochází k úplné ztrátě aktivity KP a klinicky se onemocnění manifestuje v průběhu prvního roku života neprospíváním, hepatosplenomegalií, enteropatií se steatorheou a rychle progredujícím jaterním selháním s fatálním koncem. U CESD zůstává určitá reziduální enzymová aktivita, která má vliv na klinické projevy nemoci, které jsou mnohem variabilnější než u WN. Těžší formy se mohou manifestovat v batolecím věku neprospíváním a hepatomegalií, lehčí formy jenom hepatopatií a hyperlipidemií nebo v dospělosti aterosklerózou. Odhadnutá incidence u WN je 1:100 000 a u CESD 1:40 000, ale v České republice je odhadnutá incidence 1:320 000. Diagnóza CESD může být stanovena aktivitou enzymu nebo genetickou analýzou na základě klinického nálezu, biochemických výsledků a histologického obrazu jater. Současná léčba WN a CESD spočívá v intravenózní aplikaci rekombinantního enzymu (sebelipáza alfa). Předchozí léčba CESD hepatoprotektivy a hypolipidemiky vedla ke snížení hladin proaterogenních lipidů, ale neovlivnila progresi jaterního postižení s postupující fibrotickou přestavbou jaterní tkáně. V léčbě rekombinantním enzymem na našem pracovišti jsou od roku 2013 tři pacienti. U všech došlo při léčbě k úpravě lipidogramu a hladin transamináz. U pacientky s nejzávažnějším klinickým obrazem podle sledovaných parametrů i k zastavení progresu jaterního postižení.

Závěr: Pacienti s CESD určitě unikají diagnóze a podle aktuálních výsledků by léčba rekombinantním enzymem mohla příznivě ovlivnit progresi nemoci.

## **ACID SPHINGOMYELINASE DEFICIENCY CAUSES VARIABLE CEREBELLAR PATHOLOGY THAT CAN BE AMELIORATED BY N-BUTYL-DEOXYNOJIRIMYCIN IN THE MOUSE MODEL.**

Sikora J.<sup>1,2,3</sup>, Davidson C.<sup>3</sup>, Kuchar L.<sup>1</sup>, Ledvinova J.<sup>1</sup>, Gulinello M.<sup>3</sup>, Walkley S. U.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Research Unit for Rare Diseases, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine,

<sup>2</sup>Institute of Pathology, Charles University, 1<sup>st</sup> Faculty of Medicine and General University Hospital, Prague, Czech Republic

<sup>3</sup>Dominick P. Purpura Department of Neuroscience, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York USA

Acid sphingomyelinase deficiency (ASMdef, Niemann-Pick disease type A/B, OMIM 257200 and 607616) is a rare autosomal recessive lysosomal storage disease. The historical classification recognizes the rapid progressive infantile neurovisceral (type A) and the chronic visceral-only (type B) variants of the disease. However, recent phenotypic studies identified a large fraction of ASMdef patients, who present with chronic neurovisceral disease. Therapeutic options for ASMdef are limited. While the currently tested recombinant ASM offers improvement(s) of the visceral pathologies, positive impact(s) on the neurological disease is/are likely to be limited.

Cerebellar neurological impairment is reported in ASMdef patients. Interestingly, information about the structural features of the ASMdef cerebellar neuropathology is scarce. Herein, we explored tissues from the Czech and Slovak ASMdef patients and found that Purkinje cell (PC) degeneration (and related micro- and astrogliosis) can be detected not only in the patients with the infantile neurovisceral variant but also with the chronic neurovisceral disease.

The murine ASM-KO model replicates the cerebellar human disease by showing impaired motor coordination and expressing patterned PC degeneration. Known for its positive PC-specific impacts, we tested the effects of *N*-butyl-deoxyojirimycin (NB-DNJ), also known as miglustat, in the ASM-KO mice. In comparison to untreated ASM-KO mice, daily intraperitoneal injections of NB-DNJ (300 mg/kg) started at postnatal day 10 resulted in significantly improved motor coordination (tested by balance beam assay) and improved cerebellar PC degenerative pathology in treated mice at 10 weeks of age. Interestingly, NB-DNJ also improved the (glyco)sphingolipid profiles by reducing the abnormal sphingomyelin and ceramide cerebellar contents in the treated ASM-KO mice.

In conclusion, we demonstrate that cerebellar PC degenerative neuropathology is expressed not only in ASMdef patients with the infantile neurovisceral variant but also in those with the chronic neurovisceral disease. When tested in the ASM-KO murine model, NB-DNJ improves the motor coordination phenotype, changes the cerebellar (glyco)sphingolipid profiles and ameliorates PC death. As such, *N*-butyl-deoxyojirimycin can be considered a potentially beneficial modulator of the neurological disease in ASMdef patients.

---

## **CEREBROTENDINÓZNA XANTOMATÓZA ( KAZUISTIKA ) CEREBROTENDINOUS XANTHOMATOSIS ( CASE REPORT )**

Hálová K.<sup>1</sup>, Repiský M.<sup>2</sup>, Juhosová M.<sup>2</sup>, Ďurina P.<sup>2</sup>, Chandoga J.<sup>2</sup>, Gregová E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>2.DK SZÚ DFNSP Banská Bystrica,

<sup>2</sup>ÚLBGKG LFUK a UNB Bratislava

Cerebrotendinózna xantomatóza (CTX) (OMIM 213700) je autozómovo recesívne dedičné ochorenie spôsobené deficitom mitochondriálneho enzýmu sterol-27-hydroxyláza, jedného z enzýmov syntézy žlčových kyselín. V dôsledku deficitu žlčových kyselín dochádza k akumulácii cholestanolu a jeho ukladaniu v mnohých tkanivách. Odhadovaná incidencia je 1:134 000 – 1:461 360. Diagnózu stanovíme na základe vysokej hladiny cholestanolu v plazme, a molekulovogenetickým vyšetrením- mutáciou v géne *CYP27A1*.

Ochorenie je pomaly progredujúce a postupne postihuje mnohé orgány. Prvé príznaky môžu byť už v kojeneckom veku- cholestatický icterus a diarea nereagujúca na bežnú liečbu. V detskom veku sa vyvíja katarakta, v detstve až puberte pokles mentálnych funkcií, v adolescencii xantomy (ktoré ale nemusia byť zjavné) a po 2. dekáde neurologická a neuropsychiatrická symptomatológia. V ďalšom priebehu postihuje kardiovaskulárny systém, pľúca, kosti, môže postihnúť aj endokrinný systém- hypotyreoidizmus.

Náš 15-ročný pacient k nám bol poukázaný na vyšetrenie pre kataraktu. Chlapec bol výrazne astenický, mal kyfoskoliózu a asymetrický pectus carinatum.

V biochemických parametroch ani v selektívnom skríningu DMP neboli žiadne patologické parametre. Cielenu anamnézou sme zistili proťahovanú diareu v kojeneckom veku. Vyšetrením séra v ÚLBGKG LFUK a UNB Bratislava bola odhalená



vysoká hladina cholestanolu a následne stanovená aj patognomická mutácia v géne *CYP27A1*.

Liekom voľby ochorenia je exogénna kyselina chenodeoxycholová (náhrada deficitnej endogénnej kyseliny chenodeoxycholovej), ktorá negatívnou spätnou väzbou inhibuje zvýšenú tvorbu cholestanolu. V liečbe sa používajú aj inhibítory HMG CoA reductázy (v kombinácii so základnou liečbou), zriedka kyselina cholová, ktorá je ale menej účinná. Včas zahájená liečba zastaví ďalšiu progresiu ochorenia a čiastočný alebo aj úplný ústup niektorých už prítomných klinických prejavov. Väčšinou je však ochorenie diagnostikované až vo veku okolo 35 rokov a zahájenie liečby je oneskorené.

V súčasnosti zahajujeme liečbu pacienta a plánujeme vyšetrenie jeho 12-ročnej sestry a rodičov.

---

## SKÚŠENOSTI S BIOCHEMICKOU A GENETICKOU DIAGNOSTIKOU HYPOFOSFATÁZIE

Petrovič R., Repiský M., Jungová P., Pastoráková A., Chandoga J.

*Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava*

Hypofosfatázia patrí medzi zriedkavé dedičné metabolické ochorenia s defektnou mineralizáciou skeletu a zubov pri ktorej sú zistené nízke aktivity sérovej tkanivovo-nešpecifickej alkalické fosfatázy (TNSALP). V európskej populácii sa odhaduje frekvencia ochorenia približne na 1:100.000. Hypofosfatázia sa podľa klinickej závažnosti rozdeľuje na 3 subtypy: infantilná forma zahŕňajúca aj letálnu perinatálnu formu (OMIM #241500), je spôsobená defektnou skeletálnou mineralizáciou s intrauterinným poškodením plodu. Pri detskej forme (OMIM #241510) je charakteristická porucha mineralizácie spôsobujúca rachitídu, prítomné je predčasné vypadávanie mliečnych zubov a znížená tvorba dentálneho cementu. Pri dospeljej forme zahŕňajúcej aj odontohypofosfatáziu (OMIM #146300) je hlavným prejavom osteomalácia, fraktúry metatarzov a artritída. U ťažkých foriem je dedičnosť autozómovo-recesívneho typu, u ľahších foriem môže byť dedičnosť dominantného i recesívneho charakteru. V indikovaných prípadoch je liečba možná pomocou enzýmovej terapie.

Alkalická fosfatáza (ALP-ortofosfor-monoester fosfohydroláza, EC 3.1.3.1) je enzým kódovaný štyrmi génmi (*ALPI*, *ALPPL2*, *ALPP*, **ALPL**). Tri izoenzyémy sú tkanivovo-

špecifické – intestinálny, placentálny a enzým zárodočných buniek, zatiaľ čo štvrtý enzým je tkanivovo nešpecifický (TNSALP) najviac zastúpený v pečeni, kostnom tkanive a v obličkách. Enzým je metaloproteín a jeho prirodzenými substrátmi sú fosfoetanolamín, pyridoxál-5-fosfát a pyrofosfát.

Gén *ALPL* kódujúci TNSALP je lokalizovaný na prvom chromozóme v oblasti 1p36.1-34. Je dlhý 60 kb, pozostáva z 12.exónov a kóduje proteín s dĺžkou 507 aminokyselín. Doposiaľ bolo popísaných 355 rôznych mutácií tohto génu.

Na našom pracovisku je biochemické stanovenie diagnózy založené na výrazne zníženej aktivite alkalické fosfatázy v sére, zvýšených hladinách pyridoxál-5'-fosfátu (PLP) v sére a zvýšených koncentráciách fosfoetanolamínu (PEA) v sére aj moči. Molekulárna diagnostika génu *ALPL* je vykonávaná pomocou sekvenčnej analýzy všetkých kódujúcich exónov. Doposiaľ sme na úrovni DNA diagnostikovali hypofosfatáziu u pätnástich pacientov (4 zo SR).

## POSTERY 17 - 29

### NÁSLEDNÉ TESTOVANIE POZITÍVNE IDENTIFIKOVANÝCH PRÍPADOV IZOVALÉROVEJ ACIDÚRIE V ROZŠÍRENOM NOVORODENECKOM SKRÍNINGU

Ferenczy V.<sup>1</sup>, Ostrožlíková M.<sup>1</sup>, Šebová C.<sup>1</sup>, Górová R.<sup>4</sup>, Brennerová K.<sup>2</sup>, Bzdúch V.<sup>2</sup>, Dolníková D.<sup>3</sup>, Knapková M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*Oddelenie laboratórnej medicíny,*

<sup>2</sup>*Detská klinika,*

<sup>3</sup>*Novorodenecké oddelenie intenzívnej medicíny, Národný ústav detských chorôb, Bratislava,*

<sup>4</sup>*Experimentálne laboratórium metabolických analýz, Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Bratislava,*

<sup>5</sup>*Skríningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Banská Bystrica*

Úvod: Izovalérová acidúria (IVA) je autozómovo recesívna porucha metabolizmu leucínu. Od zavedenia programu rozšíreného novorodeneckého skríningsu (RNS) dedičných metabolických porúch (DMP) tandemovou hmotnostnou spektrometriou (MS/MS) v suchej kvapke krvi (SKK) 01.01.2013 na Slovensku je jeho

súčasťou aj vyhľadávanie pacientov s IVA. V literatúre bola popísaná častá falošná pozitivita skriningového markera C5-acylkarnitínu. V práci prinášame výsledky následného testovania po pozitívnej identifikácii pre IVA za obdobie 5 a ½ roka u novorodencov zo západoslovenského regiónu. Pacienti a metódy: V následnom testovaní sme vyšetrili vzorky 5 detí (3 chlapci a 2 dievčatá vo veku 10-30 dní) na prítomnosť diagnostických metabolitov v organických kyselinách v moči pre IVA a 2-metylbutyrylglycinúriu (2MBG) pomocou plynovej chromatografie - hmotnostnej spektrometrie (GC-MS). Analýzy MS/MS profilu aminokyselín a acylkarnitínov v SKK poskytlo Experimentálne laboratórium metabolomických analýz. Výsledky: Z 5 testovaných prípadov sme ani v jednom neidentifikovali v organických kyselinách v moči špecifické metabolity IVA/2MBG. U 4 detí nebol C5-acylkarnitín v SKK zvýšený a v prípade 1 testovaného dievčatka (matka cudzinka) bol na hornej hranici 0,639  $\mu\text{mol/L}$  (upper cut off 0,640), kedy až detailnou anamnézou bola zistená príčina falošnej pozitivity- používanie balzamu na prsníky s obsahom neopentanoátu. Záver: Falošná pozitivita RNS pre DMP predstavuje nežiaduci stres pre rodinu pozitívne identifikovaného jedinca. Navrhovaným riešením pre redukciu falošnej pozitivity IVA je zavedenie tzv. second-tier testu. Kým nie je u nás dostupný, zvyrazňuje sa v následnom testovaní dôslednosť anamnestických údajov o testovanom jedincovi a tiež medikácii, príp. aj použitie kozmetických prípravkov u dojčiacich matiek. Poďakovanie: Práca bola finančne podporená v rámci OP Výskum a vývoj ITMS 26240220007, v rámci OP Výskum a inovácie ITMS 2014 + 313021D075 a Agentúrou pre vedu a výskum z projektu APVV-0840-11.

---

### MASS SPECTROMETRIC ANALYSIS OF PURINE DE NOVO BIOSYNTHESIS

Mádrová L.<sup>1,2</sup>, Hlídková E.<sup>2,3</sup>, Krijt M.<sup>4</sup>, Barešová V.<sup>4</sup>, Václavík J.<sup>1,2</sup>, Friedecký D.<sup>1,2,3</sup>, Dobešová D.<sup>1</sup>, Součková O.<sup>4</sup>, Škopová V.<sup>4</sup>, Adam T.<sup>1,2,3</sup>, Zikánová M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital in Olomouc, Czech Republic*

<sup>2</sup>*Department of Clinical Biochemistry, University Hospital in Olomouc, Czech Republic*

<sup>3</sup>*Laboratory of Inherited Metabolic Disorders, Department of Clinical Biochemistry, University Hospital Olomouc, Czech Republic*

<sup>4</sup>*Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic*

Purine nucleotides have vital functions in nucleic acid synthesis, energetic homeostasis, cell signalling and others in both prokaryotes and eukaryotes. Supply of purines is provided by two pathways – salvage pathway and *de novo* synthesis (PDNS). Although PDNS activity varies during cell cycle, it becomes an important source of purines especially for rapidly dividing cells. Method for detail studying of PDNS is missing due to analytical reasons (sensitivity) and commercial unavailability of the compounds.

The aim was to fully describe mass spectrometric fragmentation behaviour of newly synthesized PDNS related metabolites and build up analytical method. With the exception of four initial ribotide PDNS intermediates that preferred losing water, phosphate or cleave forming base of purine ring, all the other metabolites studied cleaved the glycosidic bond in the first fragmentation stage. Fragmentation was possible to 3<sup>th</sup>-6<sup>th</sup> stages. Liquid-chromatography-high resolution mass spectrometric method was developed and applied in the analysis of CRISPR-Cas9 genome-edited HeLa cells deficient in individual steps of PDNS and salvage pathway. Identity of newly synthesized intermediates forming under pathological conditions of known and theoretically possible defects of PDNS was confirmed by comparing fragmentation patterns of synthesized metabolites of PDNS with those produced by cells. Use of stable isotope incorporation allowed confirmation of fragmentation mechanisms and provide data for future fluxomic experiments. The method may find its use in diagnosing of PDNS disorders, investigation of purinosome formation, cancer research, enzyme inhibition studies and other applications.

Supported by the MEYSCR LO1304, the MHCR (AZV 15-28979A), programmes PRIMUS/17/MED/6 and by IGA\_LF\_2018\_010.

---

### ACYLCARNITINE PROFILE OF 3-HYDROXY-3-METHYLGLUTARYL COA LYASE DEFICIENCY PATIENTS

Václavík J.<sup>1,2</sup>, Janečková H.<sup>1,2</sup>, Mádrová L.<sup>1,2</sup>, Karlíková K.<sup>1,2</sup>, Friedecký D.<sup>1,2</sup>, Kluijtmans L. A. J.<sup>3</sup>, Adam T.<sup>1,2</sup>, Wevers R. A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital in Olomouc, Czech Republic*

<sup>2</sup>*Laboratory of Inherited metabolic Disorders, Department of Clinical Chemistry, University Hospital in Olomouc, Olomouc, Czech Republic*

<sup>3</sup>*Translational Metabolic Laboratory, Department of Laboratory Medicine, Radboud University Medical Centre, Nijmegen, the Netherlands*

3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A lyase deficiency (HMGCLD, OMIM 246450) is a rare autosomal recessively inherited metabolic disorder caused by mutations in HMGCL gene. The mitochondrial enzyme is responsible for catalysing the cleavage of HMG-CoA to acetyl-CoA and acetoacetic acid. This conversion is a common last step in leucine catabolism and ketogenesis from fatty acids. Diagnosis is established by tandem mass spectrometry based newborn screening that usually contains SRM transition for non-butylated C5-OH carnitine (262→85) which represents four different compounds (methylmalonylcarnitine, 3-hydroxyisovalerylcarnitine, succinylcarnitine and 2-methyl-3-hydroxybutyrylcarnitine), pointing to different inborn errors of metabolism.

We analysed plasma samples of two HMGCLD patients with a liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry. Apart from 3-hydroxyisovalerylcarnitine and 3-methylglutarylcarnitine, other acylcarnitine species derived from intermediates in the leucine degradation pathway were observed. These acylcarnitines were annotated based on accurate mass of precursor ions and its fragments, and predicted fragmentation behavior.

All newly found elevated acylcarnitines could hypothetically be also expected in one other condition, 3-methylglutaconyl-CoA hydratase deficiency (MGCA) of which defective enzyme is located one step upstream of the leucine degradation pathway. HMGCLD could be distinguished from MGCA by measuring of 3-hydroxy-3-methylglutarylcarnitine.

The result suggests that 3-hydroxy-3-methylglutarylcarnitine could be specific marker in dried blood spots by FIA-MS screening (based on SRM transition 306→85) and thus speed up differential diagnoses among all the diseases characterized/screened by C5-OH transition (262→85). That would allow for earlier introducing dietary intervention directly from first screening sample without necessity of re-sampling.

*This work was supported by NPUI (LO1304) and IGA\_LF\_2018\_010.*

## **STANOVENÍ 2-KETOBUTYRÁTU V BIOLOGICKÉ MATRICI: NAŠE ZKUŠENOSTI PŘI ZAVÁDĚNÍ GC A LC/MS METOD.**

Krouská L., Krijt J., Kožich V., Jandušová M.

*1. LF UK a VFN v Praze, KDDL, Laboratoř cílené metaboliky, Ke Karlovu 2, Praha 2*

Úvod: Cílem studie je zavedení robustní a citlivé metody stanovení 2-ketobutyátu v biologických maticích (tkáňové extrakty, buněčné modely, moč, plasma). 2-KBA je společně s amoniakem a cysteinem produktem štěpení cystathioninu, enzymové reakce katalyzované cystathionasou (CSE). Stanovení 2-KBA plánujeme využít při stanovení aktivity CSE a při monitorování koncentrací 2-KBA u pacientů s poruchami metabolismu sirných aminokyselin.

Metodika: V současné době validujeme 2 alternativní metody stanovení 2-KBA:

1) derivatizaci 2-KBA s ethylchloroformiátem a následným stanovením pomocí GC/MS

2) extrakci 2-KBA na kolonkách plněných iontoměničem (SPE na anexu DEAE-Sephadex) a následným stanovením extraktu pomocí LC-MS/MS v negativním modu.

Výsledky: Obě metody jsou zatím ve fázi validace. Cílem těchto experimentů je vypracovat metodu schopnou kvantifikace 2-KBA v biologických maticích v koncentracích < 1 μmol/L. Nejslibnějších výsledků jsme dosáhli metodou SPE spojenou s LC-MS/MS, je však třeba optimalizovat extrakci (SPE), na které závisí citlivost zaváděné metody.

Závěr: Je zaváděna citlivá metoda stanovení 2-KBA za účelem studia aktivity enzymu cystathionasy a stanovení koncentrací 2-KBA u pacientů s poruchami metabolismu sirných aminokyselin.

Poděkování: Práce vznikla za podpory grantu AZV č. 16-30384A MZ ČR a projektu RVO-VFN 64165

---

## **LIEČEBNÁ VÝŽIVA U DIEŤAŤA S DMP - TYROZINÉMIOU I.TYPU, ZACHYTENOU NOVORODENECKÝM SKRÍNINGOM**

Martinkovičová T., Brennerová K., Bzdúch V., Hlavatá A., Šalingová A., Ostrožlíková M.

*Detská klinika NÚDCH a LFUK Bratislava*

*OLM NÚDCH*

Úvod: V minulosti bola jedinou možnou, ale málo efektívnou liečbou tyrozinémie I. typu nízkoproteínová diéta. Od roku 1991 je pre liečbu tohto ochorenia dostupný nitisinón, ktorý zabraňuje produkcii sukcinylacetónu a výrazne zlepšuje prognózu chorých detí. Nízkoproteínová diéta u detí s klasickou tyrozinémiou liečených nitisinónom je potrebná naďalej na udržanie vhodnej koncentrácie tyrozínu v plazme tak, aby sa zabránilo sekundárnemu poškodeniu oka a neurologickému poškodeniu.

Kazuistika: V práci autori prezentujú diétnu liečbu Tyrozinémie I. typu diagnostikovanej u novorodenca periférnym rozšíreným novorodeneckým skríningom. Normálna koncentrácia tyrozínu u novorodencov je do 180  $\mu\text{mol/l}$  v plazme. Odporúčenia liečby u detí s klasickou tyrozinémiou udávajú vhodnú koncentráciu tyrozínu pod 400(až 500)  $\mu\text{mol/l}$  (Recommendations for the management of tyrosinaemia type 1, 2013).

U nášho pacienta, nastaveného na liečbu v prvom mesiaci života, sme v diéte do 6. mesiaca života kombinovali materské mlieko, bezbielkovinový preparát obsahujúci sacharidy a tuky a proteínový preparát bez tyrozínu a fenylalanínu.

Správnou dávkou materského mlieka nám spolu s plazmatickou koncentráciou tyrozínu pomáhala určiť aj opakovaná analýza materského mlieka so stanovením bielkovín, sacharidov a tukov. Od 6. mesiaca života postupne materské mlieko a bezbielkovinový preparát nahradzujeme nízkoproteínovou stravou.

Záver: Diétna liečba u nášho pacienta bola aktuálne prispôsobovaná podľa laboratórnych výsledkoch, zo začiatku monitorovaných každé dva týždne, neskôr raz mesačne MM a včasným úpravám liečby medikamentózne ako aj diétnej, je dieťa stabilizované, vyvíja sa primerane veku. Ako pri všetkých DMP s NB diétou, nesmieme zabúdať aj na možný sekundárny deficit vitamínov, mikro a makroelementov a v prípade potreby ich suplementovať.

---

**ZMENY V SPEKTRE AMINOKYSELÍN PLAZMY U PACIENTOV S ŤAŽKOU NOVORODENECKOU FORMOU DEFICITU TMEM70**  
**PLASMA AMINO ACIDS CHANGES IN PATIENTS WITH A SEVERE NEONATAL ONSET OF TMEM70 DEFICIENCY**

Prídavok M.<sup>1</sup>, Ostrožlíková M.<sup>1</sup>, Šebová C.<sup>1</sup>, Schich Behúlová D.<sup>1</sup>, Perečková J.<sup>1</sup>, Skokňová M.<sup>2</sup>, Brennerová K.<sup>3</sup>, Bzdúch V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Oddelenie laboratórnej medicíny,

<sup>2</sup>Neonatologická klinika intenzívnej medicíny,

<sup>3</sup>Detská klinika, Národný ústav detských chorôb, Bratislava

Úvod a cieľ práce: Deficit TMEM70 je dedičná porucha energetického metabolizmu s charakteristickými klinickými nálezmi a atakmi metabolických kríz s typickým laboratórnym fenotypom: hyperlaktatémia, hyperamonémia, 3-metylglutakonová acidúria. Popis choroby a odhalenie jej molekulovej podstaty je vynikajúcim výsledkom práce pražských lekárov a genetikov. V rokoch 2012 - 2017 sme u pacientov s ťažkou novorodeneckou formou poruchy pozorovali v plazme zmeny aminokyselín a v práci prinášame ich retrospektívne vyhodnotenie.

Pacienti a metódy: V súbore je 10 pacientov (4 chlapci a 6 dievčat) z rómskeho etnika s potvrdeným homozygotným stavom pre mutáciu c.317-2A>G v géne *TMEM70*. Vo veku 2 hodiny až 6 dní boli prijatí v kritickom stave na Neonatologickú kliniku intenzívnej medicíny. Vzorky plazmy na stanovenie aminokyselín boli súčasťou odberov selektívneho skríningu dedičnej metabolickej poruchy krátko po prijatí. Plazmu sme analyzovali v statimovom režime metódou ionomeničovej chromatografie na automatickom analyzátore aminokyselín AAA 400. Vypočítali sme stredné hodnoty pre každú aminokyselinu (aritmetický priemer, SD) a z-skóre pre ich porovnanie s referenčnými intervalmi aminokyselín v plazme u novorodenca.

Výsledky: Koncentrácie početných aminokyselín v plazme dosahovali z-skóre mimo referenčného rozsahu -2 až +2 (95 % interval spoľahlivosti). Zvýšené koncentrácie podľa z-skóre mali Ala (+12,06), Tyr (+8,91), Pro (+8,65), Lys (+8,40), Ile (+4,47), Gly (+3,93), Leu (+3,88), His (+3,30), Gln (+2,87) a Ser (+2,05). Znížené koncentrácie aminokyselín (z-skóre pod hodnotou -2) sme nezistili. Aminokyseliny Trp, Orn, Cys, Tau, Arg, Cit, Phe, Met, Val boli v referenčnom intervale.

Záver: Charakteristické zmeny v spektre aminokyselín plazmy pri ťažkej novorodeneckej forme deficitu TMEM70 patria k laboratórnemu fenotypu poruchy. Ich identifikácia pomáha pri skorom odhalení príčiny metabolickej krízy novorodenca.

Podakovanie: Ďakujeme pracovníkom Ústavu lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava za DNA analýzu.

---

## **METABOLIC NEPHROPATHIES IN GENETIC PRACTICE (J. B., Franco Laccone)**

Behunova J., Laccone F.

*Institute of Medical Genetics, Medical University of Vienna*

The authors report on the families with diagnoses of Gitelman syndrome and ADTKD (FJHN1). Gitelman syndrome is an autosomal recessive nephropathy, caused by mutations in *SLC12A3* gene that codes a thiazide sensitive Na-Cl-cotransporter. The main laboratory pathologies are hypokalaemia, hypomagnesemia, metabolic alkalosis and hypocalciuria. The clinical symptoms manifest usually in late childhood / adolescence, the penetrance is lower than 100% and the disease course is usually benign, without progression into chronic renal failure. The first proband with suspicion of Gitelman syndrome was a 22 y old man with an accidental finding of significant hypokalaemia. Further evaluations detected hypomagnesemia with metabolic alkalosis, hypocalciuria and increased Na, Cl in urine. Detailed anamnesis revealed excessive water drinking (4-5 l per day), salt craving and transient finger cramps. Molecular analysis confirmed two known mutations in *SLC12A3* gene (c.1567G>A; p.Ala523Thr and c.2221G>A;p.Gly741Arg). The patient's sister did not carry any of the two mutations. A sister of the proband from the second family came for a genetic counseling and mutations evaluation (she did not carry any). Her brother's DNA had been analysed in our lab previously, with the result of two known mutations in *SLC12A3* gene (c.2221G>A; p.Gly471Arg and c.2576T>C;p.Leu859Pro). His anamnesis included low potassium diagnosed firstly in his age of 18 y, tiredness, and mild muscle symptoms; the molecular diagnosis was confirmed in his age of 19 y. In the third family with Gitelman syndrome we examined only the delivered probes. In the male proband (15 y) there had been a compound heterozygote in *SLC12A3* gene confirmed (c.741+1G>A and c.2981G>A;p.Cys994Tyr). His sister was heterozygous for c.741+1G>A. The ADTKD- *UMOD* based (earlier FJHN1) is a rare dominant nephropathy caused by a mutation in gene for Uromodulin and manifesting with hypertension, hyperuricemia, gout and progression to the end-stage renal failure ca. between ca. 40-60 y. Our family with FJHN1 included anamnestic 7 symptomatic persons (4 females, 3 males). Two affected family members - sisters 45 y and 42 y old - had been tested, with the finding of a heterozygote mutation of *UMOD* gene c.230G>T (p.Cys77Phe -unknown, but a path. mutation in the same AA position p.Cys77Tyr had been published). Their father and father's brother had hypertension since adolescence, recurrent gout attacks and end-stage renal failure in their ages

of 66 y and 53 y resp. They had been transplanted and they both died in 73 y probably of a secondary cancer complication (melanoma / tongue carcinoma). Both sisters could not conceive a child; the younger sister has hypertonia since 26 y, had 2 gout attacks and is almost in an end-stage renal failure. The older sister has hypertonia since 31 y, had no gout attacks and her renal functions are just moderate low.

---

## **KONGENITÁLNA PORUCHA GLYKOZYLÁCIE ALG12-CDG (CDG IG) U NOVORODENCA – KAZUISTIKA CONGENITAL DISORDER OF GLYCOSYLATION ALG12-CDG (CDG IG) IN NEONATE – CASE REPORT**

*Šalingová A.<sup>1</sup>, Nemčovič M.<sup>3</sup>, Ziburová J.<sup>3</sup>, Skokňová M.<sup>2</sup>, Dolníková D.<sup>2</sup>, Šebová C.<sup>1</sup>, Mucha J.<sup>3</sup>, Baráth P.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Oddelenie laboratórnej medicíny,

<sup>2</sup> Neonatologická klinika intenzívnej medicíny, Národný ústav detských chorôb,

<sup>3</sup> Chemický ústav SAV, Centrum pre glykomiku, Bratislava

ALG12-CDG (CDG Ig; OMIM#607143) je jedna z porúch N-glykozylácie zapríčinená zmenenou funkčnosťou proteínu  $\alpha$ -manozytransferázy 8 (dolichyl-P-manóza:Man7GlcNAc2-PP-dolichyl- $\alpha$ -1,6-manozytransferázy) kódovaného génom ALG12 (22q13.33). Tento enzým prenáša ôsmy zvyšok manózy z dolichyl-P-manózy na oligosacharid viazaný na lipid. Presentujeme polystigmatizovaného novorodenca-chlapca, pochádzajúceho z dvojčiat, zdravých, pravdepodobne nepríbuzných rodičov, narodeného v 34. gestačnom týždni, s nutnou UPV po narodení, dvojča-sestra, asymptomatická. Klinicky bola prítomná hypotonia, faciálny dysmorfizmus, vpáčený hrudník, deformity končatín, mikropenis, retencia testis a retinopatia. Zobrazovacie metódy poukázali na dilatáciu aorty, zvýšenú echogenitu pečene a dilatáciu dutého systému obličiek. Novorodenecký skrining na cystickú fibrózu bol opakovane pozitívny, výsledky rutinných laboratórnych vyšetrení preukázali hypoglykémiu, konjugovanú hyperbilirubinémiu, koagulopatiu a znížené koncentrácie imunoglobulínov IgG a IgA. Vzhľadom na klinické a laboratórne nálezy bola u pacienta cielene indikovaná izoelektrická fokusácia transferínu s následnou imunofixáciou, ktorá preukázala hypoglykozyláciu s patologickým obrazom zodpovedajúcim poruche N-

glykozylácie I. typu. Štruktúrna analýza N-glykánov tandemovou hmotnostnou spektrometriou MALDI TOF/TOF odhalila abnormálne zloženie neutrálnych sérových N-glykánov vo forme akumulácie GlcNAc2Man5-7 a poruchy tvorby GlcNAc2Man8-9. Na základe výsledkov N-glykoprotílu bola u pacienta, rodičov a sestry indikovaná molekulovo-genetická analýza génu ALG12, vyšetrenie je v štádiu realizácie.

ALG12-CDG je zriedkavý typ CDG, doteraz bolo popísaných iba 8 pacientov. Prítomnosť psychomotorickej retardácie, nevyvinutého chlapčenského genitálu v kombinácii so zníženou koncentráciou sérových imunoglobulínov, koagulopatiou a pozitívnym skriningovým testom na CDG I. typu môžu slúžiť ako indikátor pacientov s deficitom  $\alpha$ -manglyltransferázy 8.

Táto práca bola podporená grantom č. 2/0130/18 Slovenskej grantovej agentúry pre vedu VEGA a projektom: „Technická infraštruktúra pre biomedicínsky výskum“, ITMS 26230120008, podporeného Výskumným & Vývojovým operačným programom ERDF.

---

### **SCAD DEFICIT – VZÁCNÁ PORUCHA OXIDACE MASTNÝCH KYSELIN SCAD DEFICIENCY – A RARE DISORDER OF FATTY ACID OXIDATION**

Tkachyk O.<sup>1</sup>, Godava M.<sup>2</sup>, Friedecký D.<sup>3</sup>, Bekárek V.<sup>3</sup>, Janečková H.<sup>3</sup>, Hlídková E.<sup>3</sup>, Semeniuk T.<sup>3</sup>, Smolka V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dětská klinika, Fakultní nemocnice, Olomouc

<sup>2</sup>Spadia Lab a.s., N. Jičín

<sup>3</sup>Laboratoř DMP, OKB, Fakultní nemocnice, Olomouc

Deficit Acyl-CoA dehydrogenázy s krátkým řetězcem (SCAD) je vzácná dědičně podmíněná porucha mitochondriální oxidace mastných kyselin. Klinický nálezn pacientů s prokázaným deficitem SCAD je velmi variabilní, může být od normálního až po velmi závažný. U pacientů s nejtěžším postižením je často zjištěna faciální dysmorfie, neprospívání, psychomotorická retardace (PMR), hypotonie a křeče. Ovšem ve světě je většina diagnostikovaných dětí v rámci novorozeneckého screeningu asymptomatická. Diagnóza je postavena na přítomnosti butyrylkarnitinu (C4) v krvi nebo v krevní skvrně, zvýšenou ethylmalonovou kyselinou (EMA) v moči a je potvrzena nálezem při molekulárně genetickém vyšetření genu ACADS. Prezntujeme dva rómské sourozence, u kterých byla

sekvenací genu ACADS nalezena homozygotně patogenní mutace c. 301\_312delGAG/p.Glu104del, která potvrdila diagnózu deficitu SCAD. Tato diagnóza byla zvažovaná na základě zvýšeného acylovaného karnitinu (C4) v krevní skvrně a EMA v moči. Oba sourozenci se liší klinickým nálezem. K vyšetření na dědičné metabolické poruchy byla neurologem odeslána probandka ve věku 2 let, která byla sledovaná a vyšetřovaná pro neprospívání a PMR nejasného původu. Magnetická rezonance mozku neprokázala žádnou patologii. Na základě stanovení diagnózy byla vyšetřeno i jejich 6 sourozenců. Jen u jednoho sourozence byla nalezena stejná mutace v ACADS v homozygotní formě jako u probandky. Jeho klinický nálezn byl však normální.

Závěr: Existuje velká klinická variace dětí s deficitem SCAD a není žádný vztah mezi genotypem a fenotypem nemoci.

---

### **LYZOSOMÁLNE CHOROBY V METABOLICKEJ AMBULANCI DFN V KOŠICIACH**

Šaligová J.<sup>1</sup>, Potočnáková Ľ.<sup>1</sup>, Andrejková M.<sup>1</sup>, Hlavatá A.<sup>2</sup>, Šaligová A.<sup>2</sup>, Behúlová D.<sup>2</sup>, Mattošová S.<sup>3</sup>, Trebuňová K., Verebová J.<sup>6</sup>, Kolníková M.<sup>2</sup>, Poupětová H.<sup>8</sup>, Šaliga J.<sup>5</sup>, Chandoga J.<sup>3</sup>, Jenčíková A.<sup>4</sup>, Behúnová J.<sup>7</sup>, Giertlová M.<sup>9</sup>, Škorvánek M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dětská fakultní nemocnice, Košice

<sup>2</sup>Národní ústav dětských chorôb, Bratislava

<sup>3</sup>Ústav lékařské biologie, genetiky a klinické genetiky LF UK a UNB, Odd. molekul. a biochem. genetiky, Bratislava

<sup>4</sup>UNLP, Košice

<sup>5</sup>FEI TU, Košice

<sup>6</sup>Alpha Medical, Košice

<sup>7</sup>Institut für Medizinische Genetik, Medizinische Universität Wien

<sup>8</sup>Diagnostické a výskumné laboratoře DMP 1 LF UK a VFN Praha

<sup>9</sup>Medirex, Košice

CIEĽ: Autori prezentujú výskyt jednotlivých lyzozomálnych ochorení podľa etnickej príslušnosti u pacientov metabolickej ambulancie DFN v Košiciach za obdobie 20 rokov.

ÚVOD: Najvýznamnejšou etnickou skupinou na Slovensku sú Rómovia. Slovensko patrí medzi krajiny s vysokým výskytom obyvateľstva rómskeho etnika. Z počtu cca

9 miliónov Rómov v Európe ich 500 000 žije na Slovensku, hlavne vo východoslovenskom regióne.

Prvé písomné nálezy o rómskom obyvateľstve pochádzajú zo 14 storočia. Slovenská rómska populácia je na našom území cca 7 storočí relatívne stabilná, bez väčšej migrácie či miešania s dominantnou populáciou. To viedlo k vzniku genetickej odlišnosti ako voči majoritnej populácii, tak aj voči rómskemu etniku okolitých štátov. Genetická originalita sa prejavuje aj zvýšeným výskytom niektorých zriedkavých ochorení v tomto etniku.

ANALÝZA VÝSKYTU: Počas obdobia 20 rokov bolo v metabolickej ambulancii sledovaných 38 pacientov s rôznymi lyzozomálnymi ochoreniami. 18 pacientov(47,3%) pochádzalo z rómskeho etnika, 1 pacientka s MPS VI typu bola Kurdka afgánskeho pôvodu, 1 pacientka s dg MPS III bola Ukrajinka, 17 pacientov bolo z majoritnej slovenskej populácie. V skupine 7 pacientov s Gaucherovou chorobou a 6 pacientov s MPS ani jeden pacient nepochádzal z rómskeho etnika. Pacient s deficitom lyzozomálnej kyslej lipázy je z majoritnej populácie. Všetci pacienti s  $\beta$  manozidózou (2), Krabbeho chorobou (2) a GM1 gangliozidózou (2) boli Rómovia. V skupine 4 pacientov s M. Pompe 1 dieťa bolo rómskeho pôvodu. V skupine 13 pacientov s neuronálnou ceroidnou lipofuscínózou 11 bolo rómskeho pôvodu, jednalo sa výlučne o NCL 7 na podklade mutácie c.881>A v MFSD8 géne.

ZÁVER: Rómovia tvoria genetický izolát. Zvýšený výskyt niektorých ochorení v tejto populácii, často spojený so zvýšeným výskytom typickej konkrétnej mutácie, ako je to napr. u NCL 7 môže uľahčiť diagnostiku a meniť zaužívaný diferenciálny - diagnostický algoritmus.

Za účelom spresnenia výskytu jednotlivých ochorení v tomto etniku sú potrebné ďalšie štúdie s cieľom správnej diagnostiky, liečby a v neposlednom rade aj genetického poradenstva vrátane testovania nosičstva, hlavne u neliečiteľných ochorení.

---

## **GAUCHEROVA CHOROBA – SKÚSENOSTI METABOLICKEJ AMBULANCIE DFN V KOŠICIACH**

Šaligová J.<sup>1</sup>, Potočnáková L.<sup>1</sup>, Trebuňová K.<sup>1</sup>, Hlavatá A.<sup>2</sup>, Veselíny E.<sup>4</sup>, Poupětová H.<sup>5</sup>, Chandoga J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Detská fakultná nemocnica, Košice

<sup>2</sup>Národný ústav detských chorôb, Bratislava

<sup>3</sup>Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Odd. molekul. a biochem. genetiky, Bratislava

<sup>4</sup>UNLP, Košice

<sup>5</sup>Diagnostické a výskumné laboratóre DMP 1 LF UK a VFN Praha

Gaucherova choroba (GCH) je multisystémové zriedkavé ochorenie, ktoré, keď sa nelieči, vedie k závažným ireverzibilným zmenám. Vzniká ako dôsledok geneticky podmieneného deficitu enzýmu glukocerebrozidázy, ktorý vedie k hromadeniu nedegradovaného sfingolipidu v lyzozómoch makrofágov. Postupne nahrádzajú a vytlačujú fyziologickú populáciu buniek v kostiach a viscerálnych orgánoch, spôsobujú postupne ich zväčšenie a negatívne ovplyvňujú ich funkciu.

Klinický obraz je veľmi variabilný a ochorenie sa môže manifestovať už v útlom detskom veku závažnou hepatomegáliou a hlavne splenomegáliou, anémiou až pancytopeniou, hemoragickou diatézou, neprospievaním, poruchou rastu alebo len náhodne zachytenou orgánomegáliou s chudobným klinickým obrazom. V dospelosti, zriedkavejšie v detskom veku môže byť prítomné rôzne postihnutie kostí. Prítomnosť neurologickej symptomatológie je spojená s najzriedkavejším infaustným 2. typom a 3. subakútnym/chronickým neuropatickým typom.

V súčasnosti diagnostický proces obohatila možnosť stanoviť enzým v suchej kvapke krvi. Definitívnym potvrdením diagnózy je DNA analýza. V diagnostike ako aj v následnom monitoringu pacienta sa v klinickej praxi využíva sledovanie biologického markera chitotriozidázy, často extrémne zvýšenej u GCH.

GCH je od poslednej dekády 20 storočia liečiteľným ochorením. Enzymová substitučná terapia bola prvýkrát použitá u GCH a predstavuje revolučnú zmenu v liečbe dedičných metabolických ochorení. Substrát redukčná terapia inhibuje tvorbu substrátu, ktorý môže byť degradovaný zbytkovým enzýmom. V súčasnosti je na Slovensku liečba viazaná na súhlas poisťovne a indikáciu liečby realizuje centrum NÚDCH v Bratislave.

Autorky prezentujú súbor 7 pacientov metabolickej ambulancie DFN s GCH z obdobia 20 rokov.



# Poznámky

A series of 20 horizontal dotted lines for writing notes.

# Poznámky

A series of 20 horizontal dotted lines for taking notes.

# Poznámky

A series of 20 horizontal dotted lines for writing notes.

Děkujeme všem zúčastněným firmám za podporu této akce!

### Zlatí partneri:



### Stříborný partneri:



### Partneri a vystavovatelia:



Innovation in Nutrition

