

31.

PRACOVNÉ DNI

DEDIČNÉ METABOLICKÉ PORUCHY

PROGRAM A ZBORNÍK ABSTRAKTOV



25. – 27. 5. 2016

Hotel Barónka



(Mudrochova 2, 835 27 Bratislava)

Usporiadateľ: Sekcia dedičných metabolických porúch SSKB

Záštitu nad podujatím prevzala: Detská fakultná nemocnica s poliklinikou
v Bratislave a Slovenská pediatrická spoločnosť SLS

Organizačné zabezpečenie na základe poverenia: Meritis s.r.o.

PARTNERY KONFERENCIE:

Generálny partner:



Ostatní partneri:



Obsah

ČASOVÝ HARMONOGRAM.....	2
ORGANIZAČNÝ VÝBOR.....	3
VEDECKÝ VÝBOR	3
ORGANIZAČNÉ ZABEZPEČENIE KONFERENCIE	4
VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE.....	5
INFORMÁCIE K ODBORNÉMU PROGRAMU	6
DETAILNÝ PROGRAM	7
POSTEROVÁ SEKCIA I.	11
POSTEROVÁ SEKCIA II.....	13
ABSTRAKTA – PREDNÁŠKY	20
ABSTRAKTA – POSTERY.....	42
ABECEDNÝ ZOZNAM AUTOROV	79

ČASOVÝ HARMONOGRAM

Streda 25.5.2016

14.00–18.30 Príchod a registrácia

19.00 Uvítacia recepcia

Štvrtok 26.5.2016

8.00–16.00 Registrácia

8.40 Otvorenie 31. PD DMP

9.00–10.10 Hyperamonémie

10.10–10.40 Kávová prestávka **AMEDIS**

10.40–11.30 DMP v dospelosti

11.30–12.40 Orálna prezentácia posterov k hlavným témam (POSTERY 1–6)

12.40–14.00 Obed

14.00–15.20 Lyzozómové ochorenia

15.20–15.50 Kávová prestávka

15.50–18.00 Postery (POSTERY 7–30)

19.30 Spoločenský večer

Piatok 27.5.2016

8.30–13.30 Registrácia

9.00–10.30 Metabolomika

10.20–10.50 Kávová prestávka

10.50–12.10 Varia

12.10–12.30 Záver metabolických dní

12.30–13.30 Obed a odchod

ORGANIZAČNÝ VÝBOR

- D. Behúlová
- K. Brennerová
- V. Bzdúch
- A. Hlavatá
- M. Skokňová

VEDECKÝ VÝBOR

- T. Adam (Olomouc)
- D. Behúlová (Bratislava)
- K. Brennerová (Bratislava)
- V. Bzdúch (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. Kmocho (Praha)
- V. Kožich (Praha)
- E. Marklová (Hradec Králové)
- R. Pazdírková (Praha)
- K. Pešková (Praha)
- Ľ. Potočňáková (Košice)
- D. Procházková (Brno)
- J. Šaligová (Košice)
- O. Üрге (Bratislava)
- J. Zeman (Praha)

ORGANIZAČNÉ ZABEZPEČENIE KONFERENCIE

Meritis s. r. o.

Obrovského 644
141 00 Praha 4

IČ: 26716305
DIČ: CZ26716305

e-mail: pddmp2016@meritis.cz
tel.: +420 272 774 065
fax: +420 272 767 597
<http://www.meritis.cz/akce/pddmp2016/>

Tereza Hoffmannová

organizácia konferencie
tel.: +420 737 287 518

Tereza Donátová

registrácia, ubytovanie
tel.: +420 737 282 842

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Miesto konanie konferencie

Konferencia sa koná v hoteli Barónka (Mudrochova 2, Bratislava).

Miesto konanie spoločenských večerov

25. 5. 2016 Uvítací večer

(Reštaurácia v hoteli Barónka, Mudrochova 2, Bratislava)

26. 5. 2016 Spoločenský večer

(Reštaurácia Vinum Galeria Bozen, Holubyho 85, Pezinok)

Odchod autobusov od hotela Barónka v 19.00 hod.

Registračný poplatok

Registračný poplatok s ubytovaním 3 000 Kč/112 EUR

Registračný poplatok bez ubytovania 1 650 Kč/58 EUR

Čiastky sú uvedené vrátane DPH.

Registračný s poplatok s ubytovaním obsahuje

- ubytovanie v termíne 25.– 27. 2016 (2 noci)
- účasť na odbornom programe
- konferenčné materiály
- kávové prestávky a obedy
- uvítací a spoločenský večer

Registračný poplatok bez ubytovania obsahuje

- účasť na odbornom programe (1 deň)
- konferenčné materiály
- kávové prestávky a obed (1 deň)
- uvítací a spoločenský večer (1 deň)

Stravovanie

Raňajky sú zaistené v mieste ubytovania. Obedy a coffee breaky počas odborného programu budú zaistené v mieste konania konferencie.

Kredity

Konferencia je ohodnotená kreditmi SLK. Potvrdenie o účasti dostanú účastníci po skončení konferencie u registrácie.

INFORMÁCIE K ODBORNÉMU PROGRAMU

Jazyk konferencie

Rokovacie jazyky konferencie: slovenský, český, anglický (bez simultánneho prekladu).

Informácie pre prednášajúcich

Prednášky prezentované cez PC (dataprojektor) je nevyhnutné odovzdať na CD, DVD alebo USB flash.

Prednášky na médiách môžete odovzdávať technikovi v Kongresovom sále vždy 60 minút pred zahájením programu prednáškového bloku Vašej sekcie. Inak nemôžeme garantovať bezproblémový priebeh Vašej prezentácie.

Požadovaný formát prezentácie je Microsoft Powerpoint 2010 (prípadne staršie verzie 2007 - a 2003) alebo PDF. Pomer strán prezentácie by mal byť 4: 3.

Postery

Postery budú umiestnené na paneloch o rozmeroch 2 m (výška) x1 m (šírka).

Všetky prijaté posterové prezentácie boli rozdelené do dvoch posterových sekcií - I. - II. Detailný rozpis nájdete v tomto zborníku v oddiele „Zoznam posterov“.

Vlastný poster je potrebné sprevádzať ústnou prezentáciou v dobe trvania 5 min., vrátane diskusie. Jednotlivé prezentácie budú prebiehať v rámci času sekcie, do ktorej bol poster zaradený.

Tlačené postery je možné nechať vystavené po celú dobu konferencie.

Inštalácia posterov je možná v stredu 25. 5. 2016 od 15.00 - 17.30 hod. A vo štvrtok 26. 5. 2016 od 8.00 - 8.30 hod. a 12.40 - 14.00 hod. Materiál na pripevnenie posterov na panely bude na mieste k dispozícii.

DETAILNÝ PROGRAM

Streda 25. 5. 2016

14.00 – 18.30 Príchod a registrácia

19.00 Uvítacia recepcia

Štvrtok 26. 5. 2016

8.40	Otvorenie 31. PD DMP
9.00 – 10.10	Prednášky: Hyperamonémie Predsedníctvo: Behúlová D., Bzdúch V.
9.00 – 9.45	Update on urea cycle disorders: diagnostics, management of patients and outlook <i>Häberle J., University Children's Hospital Zurich, Division of Metabolism, Zurich, Switzerland</i>
9.45 – 10.10	Tehotenstvo a popôrodné obdobie u pacientok s deficitom OTC <i>Brennerová K., I. DK DFNSP a LFUK, Slovenská republika</i>
10.10 – 10.40	Kávová prestávka
10.40 – 11.30	Prednášky: DMP v dospelosti Predsedníctvo: Pešková K., Hálová K.
10.40 – 10.50	Pozdní formy lysosomálných enzymopatií. Zústávajú nerozpoznaný v dusledku atypických klinických prejavů ? <i>Poupětová H., Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha, Česká republika</i>
10.50. – 1.10	Život s pohľadu dospelého pacienta s lyzozómovým ochorením <i>Juríčková K., 2.detská klinika LF UK a DFNSP, Centrum dedičných metabolických porúch, Bratislava, Slovenská republika</i>
11.10 – 11.30	Hypofosfatázia – biochemická a molekulárno-genetická diagnostika <i>Petrovič R., Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava, Slovenská republika</i>
11.30 – 12.40	Orálna prezentácia posterov k hlavným témam (5+3 min.), POSTERY I. (č. 1 - 6) Predsedníctvo: Honzík T.
	Dedičné poruchy cyklu močoviny u pacientov v našom súbore <i>Hálová K., DFNSP Banská Bystrica, Slovenská republika</i>

Progression of skeletal disease in a boy with hypophosphatasia after therapy with bisphosphonates

Kolárová H., Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic

Monitoring renálnych funkcií našich pacientů s fenylketonurií

Pazdírková R., Klinika dětí a dorostu 3.LF UK, FN Královské Vinohrady, Praha, Česká republika

Klasická fenylketonurie – pozdní záchyť u dospělého pacienta

Košťálová E., Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha, Česká republika

Pozdní záchyť klasické fenylketonurie u kojence

Procházková D., Pediatrická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

První záchyť deficitu dihydropyrimidindehydrogenázy

Martincová O., Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha, Česká republika

12.40 – 14.00 Obed

14.00 – 15.20 Prednášky: Lysozómové ochorenia

Predsedníctvo: Procházková D., Hlavatá A.

14.00 – 14.40 New developments in treatments of LSDs – Chaperon therapy

Karabul N., Zentrum für seltene Erkrankungen (CESER), Klinik für Kinder-und Jugendmedizin der Ruhr-Universität Bochum im St. Josef-Hospital, Bochum

14.40 – 15.00 Ataxia a Niemann-Pickova choroba typ C

Kolníková M., Klinika detskej neurológie DFNSP LFUK, Bratislava, Slovenská republika

15.00 -15.20 Co-measurement of lysosphingomyelin and its 509 analogue –

differential screening of Niemann-Pick type A/B and type C diseases
Kuchař L. , Institute of Inherited Metabolic Disorders, Charles University in Prague, First Faculty of Medicine and General University Hospital, Czech Republic

15.20 – 15.50 Kávová prestávka

15.50 – 18.00 Postery II. (č. 7 - 30)

Predsedníctvo: Adam T.

19.30 Spoločenský večer

9.00 – 10.20 Prednášky : Metabolomika	
Predsedníctvo: Fajkusová L., Gregorová E.	
9.00 – 9.20	Metabolizmus pred Garrodom <i>Bzdúch V., I.detská klinika LFUK a DFNSP a Centrum dedičných metabolických porúch Oddeleni laboratórnej medicíny, Detská fakultná nemocnica, Bratislava</i>
9.20 – 9.40	Význam metabolomiky založené na hmotnostní spektrometrii v DMP <i>Friedecký D., Lékařská a Přírodovědecká Fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, Česká republika</i>
9.40 – 10.00	Ureáza imobilizovaná na magnetických mikročasticích pro metabolomiku lidské moči <i>Jáčová J. Laboratoř metabolomiky, Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta UP, Olomouc, Česká republika</i>
10.00 – 10.20	Určování struktur biomarkeru dedičných metabolických poruch na základě fragmentačních hmotnostních spekter s použitím přesné hmoty <i>Václavík J., Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, Česká republika.</i>
10.20– 10.50 Kávová prestávka	
10.50 – 12.10 Prednášky:Varia	
Predsedníctvo: Ješina P., Brennerová K.	
10.50 – 11.10	Heterozygous loss-of-function mutations in SEC61A1 cause autosomal dominant tubulointerstitial and glomerulocystic kidney disease associated with congenital anemia <i>Živná M., Institute for Inherited Metabolic Disorders, Prague, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 120 00 Prague, Czech Republic</i>
11.10 –11.30	Vývoj CRISPR-Cas9 editovaných HeLa buněk, modelového systému pro studium nových geneticky podmíněných vad de novo purinové syntézy <i>Barešová V., Ústav dědičných metabolických poruch, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Všeobecná univerzitní nemocnice v Praze. Praha, Česká republika.</i>
11.30 – 11.50	Rare inborn error of cobalamin metabolism (cobalamin J) deficiency presenting as deficiency of vitamin B12 <i>Ješina P., Institute of Inherited Metabolic Disorders, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic</i>

11.50 – 12.10 Sekvenovanie novej generácie – nová éra v diagnostike dedičných metabolických porúch

Skalická K., Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky 2. detskej kliniky LFUK a DFNSP, Bratislava, Slovenská republika

12.10 – 12.30 Záver metabolických dní

12.30 – 13.30 Obed a odchod

Posterová sekcia I.

1. Dedičné poruchy cyklu močoviny u pacientov v našom súbore

Hálová K¹, Gregová E², Dénešiová Z², Kohút V²,

¹DFNsP Banská Bystrica, ²CLK-PKB FNsP F.D.Roosevelta Banská Bystrica

2. Progression of skeletal disease in a boy with hypofosfatasia after therapy with bisphosphonates

Kolarova H., Tesarova M., Zeman J. and Honzik T.

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

3. Monitoring renálných funkcií našich pacientů s fenylketonurií

Pazdírková R.¹, Kolský A.¹, Hedelová M.², Krotká J.², Žikmund J.¹, Komárková J.¹, Špička J.²

¹Klinika dětí a dorostu 3.LF UK, FN Královské Vinohrady, Praha

²Ústav laboratorní diagnostiky 3. LF UK, FN Královské Vinohrady, Praha

4. Klasická fenylketonurie – pozdní záchyt u dospělého pacienta

Košťálová E., Hrubá E., Martincová O., Řepík T.¹, Hrubá Z.²

Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha

¹Neurologická klinika FN Plzeň

²Centrum molekulární biologie a genové terapie, IHOK, LF Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno

5. Pozdní záchyt klasické fenylketonurie u kojence

Procházková D.¹, Bašovský M.², Konečná P.¹, Košťálová E.³, Hrubá Z.⁴, Slavičková L.⁵

¹Pediatrická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

²Klinika dětské neurologie, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

³Ústav dědičných metabolických poruch 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a VFN v Praze, Česká Republika

⁴Centrum molekulární biologie a genové terapie, IHOK, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

⁵Oddělení léčebné výživy, Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

6. První záchyt deficitu dihydropyrimidindehydrogenasy v ÚDMP

Martincová O., Kovačiková T., Krijt J., Bárta J., Jahnová H., Pešková K.

Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha

Posterová sekcia II.

7. Analýza polyolů v moči plynovou chromatografií – Diagnostika defektů v reversibilní části pentóza-fosfátového cyklu

Bártová P., Chodorová I., Dobiášová J. Koubíková H., Klímová E., Hodík J., Pinkasová R., Petránková V., Přibyllová M., Horník P., Pešková K.

Ústav dědičných metabolických poruch, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze
a 1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

8. Prví pacienti postihnutí súčasne dvomi rôznymi primárnymi poruchami mitochondriového metabolismu energie

Behúlová D.¹, Ostrožlíková M.¹, Holešová D.¹, Šebová C.¹, Tárnoková S.¹, Šaligová J.², Potočnáková L.², Bzdúch V.³, Brennerová K.³, Skokňová M.⁴, Škodová J.¹, Perečková J.¹, Dluholucký S.⁵, Knapková M.⁵, Górová R.⁶, Ostrovský I.⁶, Lisyová J.⁷, Chandoga J.⁷

¹ Centrum dedičných metabolických porúch, DFNSP Bratislava

² DFN Košice

³ 1. detská klinika LF UK a DFNSP Bratislava

⁴ Neonatologická klinika intenzívnej medicíny LF UK a DFNSP Bratislava

⁵ Skriningové centrum novorodencov SR, DFNSP Banská Bystrica

⁶ Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava

⁷ Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava

9. Výsledky rozšíreného skríningu na Slovensku - etnické rozdiely

Dluholucký S.^{1,2}, Knapková M.¹

¹ Skriningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica Banská Bystrica

² Fakulta zdravotníctva v B. Bystrici, Slovenská zdravotnícká univerzita v Bratislave

10. Chitotriosidasa jako diagnostický, prognostický a terapeutický marker u pacientů s Gaucherovou chorobou

Dvořáková L.¹, Řeboun M.¹, Poupětová H.¹, Stolnaja L.¹, Vlášková H.¹, Štorkánová G.¹, Pešková K.¹, Ledvinová J.¹, Malinová V.²

¹ Ústav dědičných metabolických poruch, VFN a 1.LF UK, Praha

² KDDL, VFN a 1.LF UK, Praha

11. Results of DNA diagnostics of neuromuscular and skin disorders using targeted NGS

Fajkusová L., Stehlíková K., Kopečková L., Borská R.

Centre of molecular biology and gene therapy, University hospital Brno

12. Rychlá LC/MS analýza pro screening a stanovení širokého spektra diagnosticky významných metabolitů v moči

Friedecký D., Hlídková E., Janečková H., Jáčová J., Mičová K., Adam T.
Laboratoř DMP, OKB, FN Olomouc a Lékařská Fakulta, UP v Olomouci

13. Stanovenie voľného karnitínu v moči tandemovou hmotnostnou spektrometriou

*Górová R.¹, Addová G.¹, Behúlová D.², Šalingová A.², Jurdáková H.¹, Ostrovský I.¹,
Ostrožlíková M.², Holešová D.², Šebová C.², Hlavatá A.³, Šaligová J.⁴*

¹Chemický ústav, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Komenského Bratislava

²Centrum dědičných metabolických porúch, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava

³II. detská klinika, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava

⁴Detská fakultná nemocnica Košice

14. Neurologická manifestace hlubokého deficitu biotinidázy u novorozence

*Hrubá E.¹, Zlatohlávková P.², Vacuška M.², Chrastina P.¹, Vlášková H.¹, Kukačková K.¹,
Hnízdová Boučková M.¹ a Kožich V.¹*

¹Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1.LF UK, Praha

²Klinika dětské neurologie Fakultní nemocnice Brno

15. Necholesterolové steroly v graviditě

*Hyánek J., Pehal F., Dubská L., Miková J., Gombíková L., Kubů S., Haláčková H.,
Feyreizel J., Tábořský L.*

1)Metabolická ambulance Nemocnice na Homolce Praha

2) Ústav pro matku a dítě Podolí v Praze

16. Defects in mitochondrial translation as the cause of combined deficiency of OXPHOS complexes

*Kratochvílová H.¹, Rodinová M.¹, Bradová R.¹, Knopová S.¹, Přistoupilová A.², Stránecký V.²,
Kmoč S.², Honzík T.¹, Hansíková H.¹, Zeman J.¹, Tesařová M.¹*

¹Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic, ²Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic.

17. Mitochondrial Metabolism in Spermatozoa of Transgenic Minipig Model Expressing Nterminal Part of Human Mutated Huntingtin: Methods and Potential Biomarkers of Huntington's Disease

Krizova J.¹, Kratochvilova H.¹, Macakova M.², Bohuslavova B.², Pavlok A.², Ellederova Z.², Motlik J.², Zeman J.¹ and Hansikova H.¹

¹Laboratory for Study of Mitochondrial Disorders, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic

²Laboratory of Cell Regeneration and Plasticity, Institute of Animal Genetics, v.v.i., CAS, Libechov, Czech Republic

18. Efekt enzymové substituční terapie u pětiletého chlapce s mukopolysacharidózou IV A

Kulhánek J.¹, Mařík I.³, Švecová Š.¹, Tesařová M.¹, Asfaw B.², Poupětová H.², Bárta J.², Zeman J.^{1,2}, Magner M.¹

¹Klinika dětského a dorostového lékařství a ²Ústav dědičných metabolických poruch, 1.lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

²Ambulantní centrum pro vady pohybového aparátu, Praha

19. Increase of serum levels of matrix metalloproteinase-2 in four paediatric MPS II patients

Kulhánek J.¹, Asfaw B.², Poupětová H.², Fialová M.², Zeman J.¹, Magner M.¹

¹Department of Paediatrics and Adolescent Medicine and ²Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague

20. Clinical manifestation of mucopolysaccharidosis type II in 42 Czech, Slovak, Serbian and Croatian patients

Magner M.¹, Dvořáková L.², Vlášková H.², Sarajlija A.³, Ramadža D. P.⁴, Poupětová H.², Hrubá E.², Hlavatá A.⁵, Bzdúch V.⁶, Pešková K.², Kecman B.³, Djordjevic M.³, Barić I.⁴, Fumić K.⁷, Barišić I.⁸, Řeboun M.², Kulhánek J.¹, Zeman J.^{1,2}

¹Department of Paediatrics and Adolescent Medicine and ²Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic

³Department of Metabolism and Clinical Genetics, Mother and Child Health Care Institute of Serbia „Dr Vukan Cupic“, Belgrade, Serbia, University of Belgrade, School of Medicine, Serbia

⁴Department of Paediatrics. University Hospital Center and School of Medicine. Zagreb, Croatia

⁵Ist Department and ⁶IInd Department of Paediatrics Comenius University Children's Hospital, Bratislava, Slovakia

⁷Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Croatia

⁸Department of Paediatrics, Children's Hospital Zagreb, Zagreb, Croatia

21. Vyhodnocovanie vybraných DMP pomocou LC-MS/MS v novorodeneckom skríningu na Slovensku

Machková M.¹, Revťáková A.¹, Mydlová Z.¹, Knapková M.¹, Vývleková B.¹

¹Skríningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Banská Bystrica, Slovenská republika

22. Multi-exon deletion in the *LAMP2* gene – a potential pitfall of identifying heterozygous female Danon disease patients.

Majer F.¹, Stara V.², Kalina T.³, Piherova L.¹, Stranecky V.¹, Kubanek M.⁴, Krebsova A.⁴, Vlaskova H.¹, Dvorakova L.¹, Kousal B.⁵, Liskova P.^{1,5,6}, Knoch S.¹, Sikora J.¹

¹Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic

²Pediatric Clinic of the 2nd Faculty of Medicine of Charles University and the University Hospital Motol - Charles University in Prague, Czech Republic

³Department of Paediatric Haematology and Oncology, Childhood Leukaemia Investigation Prague, Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague and University Hospital Motol in Prague, Czech Republic

⁴Department of Cardiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

⁵Department of Ophthalmology, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic

⁶Laboratory of the Biology and Pathology of the Eye, Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic

23. Analýza struktury hyposialovaného sérového apolipoproteinu C-III pomocí hmotnostní spektrometrie u pacientů s dědičnými poruchami metabolismu glykogenu.

Ondrušková N.¹, Pakanová Z.², Honzík T.¹, Mucha J.², Zeman J.¹, Hansíková H.¹

¹Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, ČR

²Chemický ústav, Slovenská Akadémia Vied, Bratislava, SR

24. Následné testovanie prípadov DMP pozitívne identifikovaných v povinnom a periférnom rozšírenom skríningu novorodencov

Ostrožlíková M.¹, Behúlová D.¹, Holešová D.¹, Šebová C.¹, Brennerová K.², Bzdúch V.², Dolníková D.³, Letenayová I.³, Skokňová M.³, Šaligová J.⁴, Potočnáková Ľ.⁴, Perečková J.¹, Šalíngová A.¹, Škodová J.¹, Górová R.⁵, Ostrovský I.⁵, Knapková M.⁶

¹Centrum dedičných metabolických porúch Oddelenia laboratórnej medicíny, ²I. detská klinika, ³Neonatologická klinika intenzívnej medicíny, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Bratislava

⁴Detská fakultná nemocnica, Košice

⁵Experimentálne laboratórium metabolomických analýz Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava

⁶Skríningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Banská Bystrica

25. Novorodenecký skríning cystickej fibrózy na Slovensku

Revťáková A.¹, Knapková M.¹, Sorkovská A.¹, Dluholucký S.²,

¹Skríningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Banská Bystrica, Slovenská republika

²Slovenská zdravotnícka univerzita, Banská Bystrica, Slovenská republika

26. Secondary mitochondrial dysfunction in two related patients with mutation in NGBR gene

Rodinová M.¹, Ondrušková N.¹, Křížová J.¹, Honzík T.¹, Tesařová M.¹, Stránecký V.², Barešová V.², Hůlková H.², Kmoch S.², Zeman J.¹, Hansíková H.¹

¹Laboratory for study of mitochondrial disorders, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine,

²Institute of Inherited Metabolic Disorders First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague

27. Tandem mass spectrometry profiling of sulfatide isoforms in dry urinary spots (DUS): optimization and selective screening of metachromatic leukodystrophy among psychiatric patients

Růžička P.^{1,3}, Kuchař L.¹, Asfaw B.¹, Ledvinová J.¹, Kopeček M.²

¹Institute of Inherited Metabolic Diseases, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Charles University, Prague

²National Institute of Mental Health, Klecany

³Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague

28. Metodické přístupy ke stanovení zešíkmení X-inaktivace

Řeboun M. ¹, Mušálková D. ¹, Veselková T. ¹, Trešlová H. ¹, Hřebíček M. ¹, Dvořáková L. ¹

¹ Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN, Praha, Česká republika

29. Intermitentní forma MSUD – klinické a biochemické nálezy a chybná diagnóza

Smolka V.¹, Tkachyk O.¹, Hlídková E.², .Bekárek V.², Fridecký D.², Janečková H.², Godava M.³, Adam T.²

¹Dětská klinika, Fakultní nemocnice, Olomouc

² Laboratoř dědičných metabolických poruch, Fakultní nemocnice, Olomouc

³ FETMED - centrum fetální medicíny a genetiky, Olomouc

30. „Čo sa skrýva za autizmom...“

Szokeová A. , Čiljaková M., Vojtková J., Bánovčin P.

Klinika detí a dorastu JLF UK Martin

**31. pracovné dni
dedičné metabolické poruchy
Bratislava, 25.–27. 5. 2016**

Abstrakta – prednášky

UPDATE ON UREA CYCLE DISORDERS: DIAGNOSTICS, MANAGEMENT OF PATIENTS AND OUTLOOK

Häberle J.

University Children's Hospital Zurich, Division of Metabolism, Zurich

Urea cycle disorders (UCDs) are inborn errors of ammonia detoxification and of arginine biosynthesis due to defects in any of the five urea cycle core enzymes (CPS1, OTC, ASS, ASL, ARG1), in the activating enzyme (NAGS), in the mitochondrial ornithine/citrulline antiporter (ORNT1) or the citrin transporter, or in the enzyme carbonic anhydrase Va (CAVA). Patients present in about 50% of cases with hyperammonemia in the first few days after birth, which may lead to death or to severe neurological handicap. The clinical situation in an affected newborn is almost identical to a newborn with neonatal bacterial sepsis. This nonspecific clinical presentation is likely one cause for the often missed or delayed diagnosis. Importantly, another half of the patients manifest at any age outside the neonatal period but may also be affected by death or neurological sequelae. However, even if neonatal or late-onset patients are identified and treated early, outcome remains often poor. The talk will first give a brief overview on the biochemical background of UCDs and will then focus on the following three main aspects: 1) the basic diagnostic steps and investigations to confirm the diagnosis; 2) the basic principles of treatment and recent new therapeutic developments; 3) on outlook into the future management of patients with UCDs.

TEHOTENSTVO A POPÔRODNÉ OBDOBIE U PACIENTOK S DEFICITOM OTC

Brennerová K. ¹, Bzdúch V. ¹, Hruškovič Š. ², Borovský M. ³, Hatalová ⁴, Mistrík M. ⁵, Behúlová D. ⁶, Ostrožlíková M. ⁶, Škodová J. ⁶

¹ I. DK DFNSP a LFUK

² I. Interná klinika SZU a Univerzitnej Nemocnice Bratislava (UNB)

³ I. gynekologicko-pôrodná klinika LF UK a UNB s Centrom reprodukčnej medicíny

⁴ Klinika hematológie a transfúziológie LFUK, SZU a UNB

⁵ Detské oddelenie NsP Spišská Nová Ves, a.s.

⁶ OLM DFNSP Bratislava

Najčastejšou opísanou komplikáciou v popôrodnom období u pacientok s deficitom OTC je hyperamonémia a s ňou súvisiace neurologické komplikácie.

V práci opisujeme našu skúsenosť s priebehom tehotenstva a popôrodného obdobia u dvoch pacientok s deficitom OTC.

U prvej pacientky bola mutácia v OTC géne diagnostikovaná na podklade rodinnej anamnézy vo veku 13 rokov. Pre miernu orotovú acidúriu bola nastavená na p.os liečbu arginínom. Odporučené kontroly v metabolickej ambulancii neabsolvovala. Na našu kliniku bola preložená až vo veku 15,5 roka pre poruchy vedomia a zachytenú hyperamonémiu prvý týždeň po pôrode. V priebehu 10 dní sa po infúznej a upravenej medikamentóznej liečbe s mierne obmedzenými proteínmi v strave zlepšil jej klinický stav aj laboratórne parametre. Po druhom tehotenstve sa pre nedisciplinovanosť pacientky popôrodné komplikácie opakovali napriek presným liečebným odporučeniam.

Druhá pacientka bola symptomatická od 4. mesiaca života. Diagnóza deficitu OTC bola potvrdená v 8. mesiaci života. Od tohto veku bola liečená diétou, Na- benzoátom, arginínom, od 14. roku života aj Na- butyrátom.

Vo veku 21 rokov pacientka otehotnela, preto sa prerušila liečba Na- butyrátom. V prvom trimestri bola pacientka hospitalizovaná pre ranné vracanie a nechutenstvo s potrebou infúznej liečby. Medzi 3.- 5. mesiacom bolo tehotenstvo bezproblémové z pohľadu gynekológa aj podľa výsledkov metabolických parametrov. Pri kontrole v 19. gestačnom týždni sme zachytili pokles albumínu a cholinesterázy. Od tohto obdobia sa progresívne zhoršovala syntetická funkcia pečene spolu s metabolickou kompenzáciou.

Na komplexnej liečbe sa podarilo udržať tehotenstvo do konca 28. gestačného týždňa. Po konzíliu špecialistov (gynekológ, hepatológ, neonatológ, hematológ, metabológ) a so súhlasom pacientky sme po cielenej príprave ukončili tehotenstvo sekciou. V popôrodnom období, napriek kavalovej a klostrídiovej infekcii sa u našej pacientky funkcia pečene v priebehu 4 týždňov upravila tak, že ju bolo možné prepustiť do ambulantného

sledovania. 2 mesiace po pôrode na liečbe, ktorú pacientka užívala do tehotenstva, bola syntetická funkcie pečene v norme.

Z: U prvej pacientky s deficitom OTC sme zaznamenali najčastejšie opísané komplikácie v popôrobnom období, ktoré sa vyskytujú najmä u asymptomatických heterozygotiek alebo pri podcenení rizika vzniku komplikácií v tomto období. V prípade druhej pacientky sa domnievame, že na vzniku poruchy funkcie pečene v druhom trimestri sa podieľala záťaž pečene tehotenstvom, podľa nás potencovaná aj prerušenou liečbou Na- fenylbutyrátom.

POZDNÍ FORMY LYSOSOMÁLNÍCH ENZYMOPATIÍ. ZŮSTÁVAJÍ NEROZPOZNÁNY V DŮSLEDKU ATYPICKÝCH KLINICKÝCH PROJEVŮ ?

Poupětová H., Honzíková J., Berná L., Kuchař L., Fialová M., Pešková K., Dvořáková L., Jahnová H., Košťálová E., Hrubá E., Ješina P., Malinová V., Zeman J., Ledvinová J.

Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha, Česká republika
hpoup@lf1.cuni.cz

Lysosomální enzymopatie (LSD) tvoří poměrně heterogenní skupinu dědičných metabolických poruch. Důsledkem deficitu aktivity lysosomálního enzymu dochází k hromadění nedegradovaného substrátu v buňkách různých tkání.

Mezi typické LSD „dospělého věku“ patří Fabryho choroba (FD), Gaucherova choroba (GD, typ I) a nemoc ze strádání esterů cholesterolu (CESD).

Na druhou stranu řada nemocí, které jsou spojovány pouze s dětským věkem, byla diagnostikována také u starších pacientů. Vzhledem k tomu, že klinické projevy nemoci se u dětí a dospělých mohou výrazně lišit, může se u pacientů s pozdními formami LSD dospět k definitivní diagnóze někdy až za několik dekád.

Příkladem je Tay-Sachsova choroba (TSD), kterou jsme diagnostikovali u 12 dospělých z celkového počtu 20 pacientů, přičemž nejstaršímu pacientovi bylo v době potvrzení diagnózy 51 let.

Deficit β -galaktosidasy je příčinou těžkého neurodegenerativního onemocnění dětí s GM-1gangliosidosou, ale také mukopolysaccharidosou IV B (MPS IVB, Morquio B). Tento defekt byl zjištěn u 5 dospívajících a dospělých z celkového počtu 21 pacientů. Nejstarší pacientce s MPS IVB bylo v době enzymatického potvrzení diagnózy 60 let.

Pompeho nemoc (GSD II) byla diagnostikována u 14 dospělých pacientů z celkem 31 pacientů. Adultní forma GSD II začala být zachycována až po zavedení screeningu v suché krevní kapce.

Metachromatická leukodystrofie (MLD) byla potvrzena u 12 dospělých pacientů s psychiatrickou symptomatologií z celkového počtu 37 pacientů s MLD. Krabbeho nemoc byla zjištěna pouze u jednoho dospělého pacienta z celkem diagnostikovaných 21 pacientů.

Ve skupině mukopolysaccharidos je výskyt pozdních forem poměrně vzácný díky typickým klinickým projevům nemoci.

Závěr:

- LSD se mohou projevit v každém věku od prenatálního období do věku několika dekád
- klinické symptomy jednotlivých LSD jsou u adultních forem odlišné a většinou mírnější než u infantilních forem, z tohoto důvodu jsou pozdní formy LSD velmi pravděpodobně poddiagnostikovány

- screening vybraných LSD v DBS je důležitým krokem v diagnostickém procesu
pozdních forem LSD

*Podpořeno projektem RVO-VFN64165/2012, PRVOUK -P24/LF1/3, OPPK
CZ.2.16/3.1.00/24012*

ŽIVOT Z POHLADU DOSPELÉHO PACIENTA S LYZOZÓMOVÝM OCHORENÍM

Juríčková K¹, Hlavatá A.¹, Špalek J.², Jungová P.³, Kolníková M.⁴

¹ 2.detská klinika LF UK a DFNSP, Centrum dedičných metabolických porúch, Bratislava

²Centrum pre neuromuskulárne ochorenia, Neurologická klinika SZU, FN Bratislava-Ružinov

³Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Oddelenie molekulevej a biochemickej genetiky, Bratislava

⁴Klinika detskej neurológie LF UK a DFNSP, Bratislava

Dedičné metabolické ochorenia sa vo všeobecnosti spájajú najmä s pediatrickými pacientmi a ich ťažkým priebehom. Postupom času, nadobúdaním nových vedomostí, zlepšovaním diagnostických metód dochádza častejšie k odhaľovaniu miernejších foriem ochorení a to najmä u dospelých pacientov. Vďaka stále zlepšujúcej sa starostlivosti a pri niektorých ochoreniach možnému terapeutickému ovplyvneniu za posledné roky stúpa práve počet pacientov s niektorým z lyzozómových ochorení.

Lyzozómové ochorenia sú geneticky podmienené poruchy degradácie makromolekúl väčšinou na podklade nedostatočnej aktivity lyzozómových enzýmov. Príčinou však môže byť aj nesprávna funkcia lyzozómového transportného proteínu. Tvoria heterogénnu skupinu vrámci dedičných metabolických ochorení. V dnešnej dobe je popísaných viac ako 50 rozličných nozeologických 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.

Cieľom príspevku je poukázať na stúpajúcu prevalenciu dospelých pacientov s lyzozómovými ochoreniami a zhodnotenie ich života s chronickým ochorením z vlastného pohľadu. V Centre dedičných metabolických porúch DFNSP Bratislava je v dnešnej dobe monitorovaných 37 dospelých pacientov, z čoho je 21 žien a 16 mužov. Vekové rozpätie je od 18 do 75 rokov pričom priemerný vek je 40,5 roka. Najväčšiu skupinu tvoria pacienti s Gaucherovou chorobou -11, čo potvrdzujú aj údaje z literatúry ako celosvetovo najčastejšie sa vyskytujúcom lyzozómovom ochorení. Ďalej sú sledovaní dospelí pacienti s Fabryho chorobou-8, Niemann-Pickovou chorobou typ C-7, Pompeho chorobou-6, Mukopolysacharidóuou-4 a Tay-Sachsovou chorobou-1. V prípade diagnostikovania liečiteľnej formy lyzozómového ochorenia je pacientovi indikovaná a monitorovaná liečba v Centre dedičných metabolických porúch DFNSP Bratislava. Dostupné sú enzýmová substitučná terapia ako aj substrát redukujúca terapia. Pre pacientov s enzýmovou substitučnou liečbou, ktorá je podávaná parenterálne je centrom zabezpečené aplikačné pracovisko v mieste bydliska pacienta.

V priebehu posledných rokov sa kladie dôraz na hodnotenie faktorov, ktoré ovplyvňujú pacientovo vnímanie kvality života. Tendencia hodnotiť kvalitu života je výsledkom záujmu o poskytovanie kvalitnej zdravotnej starostlivosti a je obvykle definovaná ako „subjektívne posúdenie vlastnej životnej situácie“. Dotazníkovou metódou sme hodnotili ako dospelí pacienti zvládajú svoju úlohu a ako kvalitne prežívajú život s chronicky progredujúcim raritným ochorením.

HYPOFOSFATÁZIA – BIOCHEMICKÁ A MOLEKULÁRNO-GENETICKÁ DIAGNOSTIKA

Petrovič R.¹, Repiský M.¹, Jungová P.¹, Chandoga I.², Chandoga J.¹,

¹ Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava

² II. ortopedicko-traumatologická klinika LFUK a UNB, Bratislava

Hypofosfatázia (hypofosfatazémia) je zriedkavá dedičná metabolická porucha 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 315 rôznych mutácií tohto génu.

Na našom pracovisku je biochemické stanovenie diagnózy založené na výrazne zníženej aktivite alkalickej 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 siedmich pacientov (4 zo SR), pričom u každého z nich boli identifikované 2 kauzálne mutácie.

New developments in treatments of LSDs – Chaperone therapy

NEW DEVELOPMENTS IN TREATMENTS OF LSDS – CHAPERONE THERAPY

Karabul N.

Zentrum für seltene Erkrankungen (CESER), Klinik für Kinder-und Jugendmedizin der Ruhr-Universität Bochum im St. Josef-Hospital, Bochum

Protein repair therapy such as chaperone therapy is a new mutation dependent therapeutic approach under development for use in inherited diseases. Pharmacological chaperones are compounds that are designed to selectively bind and stabilize mutant and wild-type proteins, to facilitate folding, increase stability, improve trafficking and help restore function. They have a potential for oral delivery and therefore represent new therapeutic possibilities for genetic diseases. A wide range of human genetic diseases may be treatable with pharmacological chaperone therapies. Migalastat is in development for the treatment of Fabry disease. Fabry disease-causing GLA mutations with a retained enzyme activity and α -Gal A protein show primary molecular defects that may involve aberrant folding, lower physical stability, altered specific activity, and/or decreased lysosomal trafficking. These are predominantly missense mutations. The proposed mode of action and phase 3 clinical trial data will be discussed. Also for Pompe disease research with chaperones as well as improved enzyme targeting is ongoing to address current challenges related to treatment.

ATAXIA A NIEMANN-PICKOVA CHOROBA TYP C

Kolníková M., Ramos Rivera G., Sýkora P., Payerová J.

Klinika detskej neurológie DFNSP LFUK, Bratislava

Ataxia ako nešpecifický neurologický symptóm je charakterizovaná nekoordinovanými pohybmi trupu a končatín. Súvisí s patologickými zmenami mozog a súvisiacich dráh alebo poruchou propioceptívnych senzorických dráh. S ataxiou sú spojené mnohé získané alebo geneticky podmienené ochorenia. Získané príčiny zahŕňajú cievne, demyelinizačné, nádorové ochorenia, autoimunitné, toxicky podmienené a poruchy infekčnej etiológie. Dedičné ataxie predstavujú širokú skupinu genetických porúch charakterizovaných pomaly progredujúcou poruchou chôdze, často spojenou s diskoordináciou rúk, poruchou reči a poruchou očných pohybov. Pri klasifikácii podľa spôsobu dedičnosti rozoznávame autozomálne dominantné spinocerebelárne ataxie, heterogénnu skupinu recesívnych ataxií, X- viazané ataxie a skupinu metabolických ataxií (zvyčajne s recesívnym typom dedičnosti). V diagnostickom algoritme cerebelárnej ataxie je významný údaj o veku nástupu (vznik v detstve, v skorej dospelosti - do 30 r. alebo neskôr) a spojitosť s inými klinickými príznakmi (napr. prítomnosť neuropatie, lézia pyramídovej dráhy, dystónia, kŕče, strata zraku, regres alebo demencia). V našej práci navrhujeme diagnostický postup pre cerebelárne ataxie so včasným začiatkom a popisujeme niektoré recesívne a metabolicky podmienené ataxie. Zameriavame sa na lyzozómové ochorenie Niemann-Pickovu chorobu typ C, kde sú nové skríningové metódy - stanovenie oxysterolov a lyzofingolipidov (SL509) zo séra, ktoré diagnostiku významne urýchľujú.

CO-MEASUREMENT OF LYSOPHINGOMYELIN AND ITS 509 ANALOGUE – DIFFERENTIAL SCREENING OF NIEMANN-PICK TYPE A/B AND TYPE C DISEASES

Kuchař L., Poupětová H., Sikora J. and Ledvinová J.

Institute of Inherited Metabolic Disorders, Charles University in Prague, First Faculty of Medicine and General University Hospital, Czech Republic

Acid sphingomyelinase deficiency (ASM-d or NPA/B) and Niemann-Pick type C disease (NPC) share the core (hepato-splenomegaly, cerebellar dysfunction and/or specific types of dementia) clinical symptoms. As a result, diagnostic discrimination of these two rare lysosomal storage conditions is difficult.

Lysosomal acid sphingomyelinase (ASM) is encoded by the *SMPD1* gene. When mutated, ASM activity is deficient and a generalized lysosomal storage of sphingomyelin evolves. NPC, on the contrary, is caused by mutations in either *NPC1* (95% of patients) or *NPC2* (5% of patients) genes. NPC1 and NPC2 coordinately regulate egress of unesterified cholesterol from late endosomes/lysosomes. When either of the two genes is mutated, intralysosomal accumulation of unesterified cholesterol develops. While different at the molecular level from ASM-d, sphingomyelin also accumulates in cells/tissues of NPC patients.

ASM-d can be relatively easily biochemically confirmed by assessing the ASM activity levels in peripheral white blood cells, however, similarly simple screening/diagnostic method is missing for NPC. Here, the staining of cholesterol by filipin in cultured skin fibroblasts and/or histochemical examination of bone marrow aspirate remain the only available methods. Critical though, both these techniques require invasive sampling and expert interpretation.

As both ASM-d and NPC are characterized by intralysosomal storage of sphingomyelin and thus deacylated derivative lyso-sphingomyelin (SPC) was suggested as a biomarker for both diseases. An SPC analog with molecular weight 509 (SPC509) was, however, recently reported as a specific biomarker for NPC.

Here we present results when SPC and SPC509 levels were co-measured by LC-ESI-MS/MS in plasma samples and dried blood spots from ASM-d and NPC1 patients. In this pilot cohort, we found SPC509 elevated in both patient groups whereas SPC was significantly increased only in ASM-d patients. Overall, these results suggest that differential screening of ASM-d and NPC is allowed by co-measuring SPC and SPC509.

METABOLIZMUS PRED GARRODOM

Bzdúch V., Brennerová K., Behúlová D.

I.detská klinika LFUK a DFNSP a Centrum dedičných metabolických porúch Oddelenia laboratórnej medicíny, Detská fakultná nemocnica, Bratislava

Archibald E. Garrod (1857-1936) na základe koncepcie individuálnej biochemickej variability a Mendelových zákonov dedičnosti odhalil ako prvý dedičné metabolické poruchy. Podarilo sa mu spojiť genetiku s dovtedy statickými poznatkami biochémie a metabolizmu. Ako sa vyvíjali poznatky o metabolizme pred Garrodom a ktoré historické osobnosti ich najviac ovplyvnili? **Alkmaion z Krotónu (570 – 500 pr.n.l.)**, filozof a lekár vychádzal z Pytagorovej myšlienky harmónie sveta a vesmíru ako rovnováhy protikladov, ktorú aplikoval na človeka. Zdravie podľa neho predstavovalo a rovnováhu síl vlhka a sucha, chladu a tepla a choroba predstavovala dynamický proces narušenia tejto rovnováhy. Bol to základ humorálnej teórie fungovania ľudského organizmu. K obnoveniu zdravia sa používali rôzne metódy, upravujúce humorálnu rovnováhu. Polyhistor staroveku Aristoteles prebral túto chybnú koncepciu, ktorá pretrvávala 2000 rokov až do obdobia renesancie. **Paracelsus (1493-1551)** definoval zdravie ako rovnováhu chemických reakcií a procesov. V centre jeho záujmu bolo vyšetrovanie rozmanitých vlastností chemických zlúčenín. Zavrhol teóriu štyroch telesných tekutín. Sústredil sa na chemické vyšetrovanie moču. Život bol podľa neho súhrnom zložitých chemických reakcií a ak došlo v organizme k ich poruche, adekvátne chemické liečivá mohli tieto procesy zvrátiť a nasmerovať do pôvodného stavu. **Antoine Laurent Lavoisier (1743-1784)** kládol vo svojej práci dôraz na kvantitatívny prístup, založený na chemickej rovnováhe. Jeho východiskom bol zákon o zachovaní hmotnosti. Ako prvý definoval kyslík a jeho vzťah k procesu horenia a oxidácie, čím vyriešil dovtedy najväčšiu záhadu chémie. Lavoisier stanovil chémiu ako súhrn vedeckých znalostí o skutočnom svete, čím začala éra kvantitatívnej a organickej chémie. **Claude Bernard (1813-1878)** bol predstaviteľom vedeckého prístupu k medicíne. Zaoberal sa metabolizmom cukrov a z jeho myšlienok čerpal Garrod pri tvorbe teórie individuálnej chemickej variability.

VÝZNAM METABOLOMIKY ZALOŽENÉ NA HMO TNOSTNÍ SPEKTROMETRII V DMP

Friedecký D., Karlíková R., Šíroká J., Faber E., Mičová K., Gardlo A., Janečková H., Vrobel I., Najdekr L., Jáčová J., Hron K., Adam T.

Lékařská a Přírodovědecká Fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci

Již několik dekád hraje hmotnostní spektrometrie zásadní roli v klinické diagnostice. Úspěšně se tato technika aplikuje na oblast terapeutického monitorování léčby, stanovení vybraných biomarkerů, toxikologický screening anebo diagnostiku dědičných metabolických poruch. Metabolomika je logickým vývojovým krokem vpřed v komplexní analýze biologického materiálu. Zahrnuje široké spektrum metabolitů dle specifík zvolených separačních technik (LC, GC). Jsou aplikovány dva rozdílné přístupy – první, cílená metabolomika, je založena na relativní kvantifikaci vybraných metabolitů (řádově stovky) za pomoci hmotnostních analyzátorů s jednotkovým rozlišením (kvadрупól, iontová past, trojitý kvadрупól). Druhý přístup, necílená metabolomika, využívá vysoce rozlišující hmotnostní spektrometry (TOF, Orbitrap) pro komplexní screening tisíců komponent představující potenciální metabolity. Metabolomický workflow se skládá ze specifické přípravy vzorku, měření, zpracování a statistického vyhodnocení dat. Každý krok obsahuje kritická místa, která často bývají zdrojem chyb a negativně ovlivňují výsledky či interpretace metabolomických dat. V příspěvku budou prezentovány klinické aplikace cílené a necílené metabolomiky zaměřené na hledání nových biomarkerů dědičných metabolických poruch. Grantová podpora: NPU I (LO1304), GAČR I 1910-N26, IGA_LF_2016_014

UREÁZA IMOBILIZOVANÁ NA MAGNETICKÝCH MIKROČÁSTICÍCH PRO METABOLOMIKU LIDSKÉ MOČI

Jáčová J.^{1,2}, Jořenek M.⁴, Friedecký D.^{1,2}, Najdekr L.^{1,3}, Čavar S. Z.⁵, Tarkowski P.⁵, Zajoncová L.⁴, Adam T.^{1,3,}*

¹ Laboratoř metaboliky, Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta UP, Hněvotínská 5, 779 00 Olomouc

² Laboratoř dědičných metabolických poruch, FN Olomouc, I.P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc

³ Oddělení klinické biochemie, I.P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc

⁴ Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UP, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc

⁵ Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc, Czech Republic

Močovina (urea) je jednou z hlavních komponent matrice moči. Díky vysoké koncentraci a polárnímu charakteru komplikuje analýzy močového metabolomu, zejména při použití GC/MS techniky. Proto je nezbytné ureu před analýzou z moči odstranit. Od 70. let se používá extrakce či ureáza. Zatímco extrakce výrazně mění močový metabolom (selektuje pouze určitou skupinu látek), ureáza vnáší do vzorku řadu artefaktů. Cílem práce bylo vyvinout metodu přípravy vzorku pomocí ureázy imobilizované na magnetických mikročasticích a srovnat ji s rutinně používanými metodami přípravy vzorku (kyselou extrakcí do ethylacetátu, ošetření volnou ureázou a vzorky bez úpravy). Byla připravena ureáza imobilizovaná na mikročasticích MG100, vykazující specifickou aktivitu 141 % (oproti volné ureáze), operační stabilitu 69 %, stabilitu po opakovaném rozmrazování 83 % a skladovací stabilitu 100 % (1 měsíc při -80 °C). Vliv různých postupů přípravy vzorku by studován metodami cílené GC/MS analýzy (vybrané organické kyseliny s deklarovanou koncentrací), necílené GC/MS analýzy (celý metabolom analyzovatelný pomocí GC/MS) a cílené LC/MS analýzy (ostatní non-GC/MS metabolity). Pomocí analýzy standardního materiálu na bázi lidské moči bylo zjištěno, že imobilizace ureázy na mikročastice výrazně snižuje množství artefaktů i variabilitu metabolitů (průměrný CV extrakce 27 %, nativní 11 %, volné ureázy 8 %, imobilizované ureázy 4 %). Analýza hlavních komponent a Wilcoxonův test prokázaly, že moč ošetřená imobilizovanou ureázou poskytuje srovnatelné výsledky s dříve publikovaným přístupem založeným na volné ureáze. Vysoká koncentrace urey v nativních vzorcích znemožnila použití metody necílené metabolické analýzy. Nově vyvinutý přístup přípravy vzorku byl aplikován na moči pacientů s metabolickými poruchami.

Grantová podpora: IGA_LF_2016_014, NPU I (LO1304), GAČR I 1910-N26

Určování struktur biomarkerů dědičných metabolických poruch na základě fragmentačních hmotnostních spekter s použitím přesné hmoty

Václavík J.¹, Friedecký D.^{1,2}, Adam T.^{1,2}, Kluijtmans L. A. J.³, Wevers R.⁴

¹Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc, Hněvotínská 5, Olomouc, 775 15, Česká republika

²Odělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 6, 775 20, Olomouc, Česká republika

³Laboratory of Genetic, Endocrine and Metabolic diseases, Radboud University Medical Centre, P.O. Box 9101, 6500 HB Nijmegen, The Netherlands

⁴Translational Metabolic Laboratory - 830 TML, Department Laboratory Medicine, Radboud University Medical Centre, Geert Grooteplein 10, 6525 GA, Nijmegen, The Netherlands

V současné době je známá celá řada analytických metod k určení neznáme struktury - rentgenová krystalografie, infračervená spektroskopie, ramanova spektroskopie a nukleární magnetická rezonance. Tyto metody však mají své limitace při určování struktur neznámé molekuly ve vzorcích s komplikovanou maticí o velmi nízké koncentraci.

Slibnou metodou pro určení struktury neznámých molekul se jeví použití vysoko rozlišující hmotnostní spektrometrie v kombinaci s HPLC, která umožňuje měření fragmentačních hmotnostních spekter s vysokou přesností. Technika hmotnostní spektrometrie (MS) nabízí různé druhy fragmentačních mechanismů, které poskytují vzájemně doplňující informace. Informace ve hmotnostních spektrech lze následně použít pro identifikaci jednotlivých fragmentů a ve výsledku celé struktury neznámé molekuly. Pro určení struktury lze využít také sofistikovaný software predikující fragmentace, databáze spektrálních stromů, databáze MS/MS spekter či kvantově-chemickými výpočty.

Cílem práce bylo navrhnout struktury látek, které byly nalezeny při MS analýze vzorků pacientů s dědičnými metabolickými poruchami. Fragmentační metodou kolizně indukované disociace (CID) a vysoko-energetickou kolizní disociací (HCD) ve spojení s identifikací izotopických paternů byly určeny struktury dvou neznámých potenciálních biomarkerů Fenylyketonurie (PKU), jedna struktura neznámého potenciálního biomarkeru 3-hydroxymetylglutaryl CoA deficiencie a anotována struktura jednoho potenciálního biomarkeru Alkaptonurie.

Tato práce byla financována Grantovou agenturou České republiky 15-34613L a infrastrukturní část (Ústav molekulární a translační medicíny) byla financován NPU I (LO1304).

HETEROZYGOUS LOSS-OF-FUNCTION MUTATIONS IN *SEC61A1* CAUSE AUTOSOMAL DOMINANT TUBULO-INTERSTITIAL AND GLOMERULOCYSTIC KIDNEY DISEASE ASSOCIATED WITH CONGENITAL ANEMIA.

Živná M.¹, Jedličková I.¹, Barešová V.¹, Bolar N.A.², Golzio Ch.³, Hůlková H.¹,
Přistoupilová A.¹, Hodaňová K.¹, Stránecký V.¹, Sovová J.¹, Hnízda A.⁴, Vyleťal P.¹,
Hartmannová H.¹, Votruba M.¹, Bleyer A.J.⁵, Loeys B. L.², Kmoč S.¹

¹Institute for Inherited Metabolic Disorders, Prague, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague, 120 00 Prague, Czech Republic

²Center of Medical Genetics, Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Antwerp and Antwerp University Hospital, Antwerp, 2650, Belgium

³Center for Human Disease Modeling and Departments of Cell Biology and Psychiatry, Duke University, Durham, North Carolina, 27710, USA

⁴Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, 166 10 Prague, Czech Republic

⁵Section on Nephrology, Wake Forest School of Medicine, Medical Center Blvd., Winston-Salem, NC, USA

Autosomal dominant tubulo-interstitial kidney disease (ADTKD) encompasses a group of disorders characterized by renal tubular and interstitial abnormalities, leading to slow progressive loss of kidney function requiring dialysis and kidney transplantation. Mutations in *UMOD*, *MUC1*, and *REN* are responsible for many, but not all, cases of ADTKD. We report on two families with ADTKD and congenital anemia accompanied with either intrauterine growth retardation or neutropenia. Ultrasound and kidney biopsy revealed small dysplastic kidneys with cysts and tubular atrophy with secondary glomerular sclerosis, respectively. After the exclusion of known ADTKD genes, linkage analysis combined with whole exome sequencing and targeted re-sequencing identified heterozygous missense variants in *SEC61A1*: a c.553A>G and a c.200T>G causing (p.Thr185Ala) and (p.Val67Gly) amino acid change, respectively, both affecting functionally important and conserved residues in the SEC61 constriction ring or translocon plug. Both transiently expressed SEC61A1 variants are delocalized to the Golgi, a finding confirmed in a renal biopsy from an affected individual. Suppression of CRISPR-mediated deletions of *sec61a/2* in zebrafish embryos induced convolution defects of the pronephric tubules but not the pronephric ducts, consistent with the tubular atrophy observed in the affected individuals. Human mRNA encoding either of the two pathogenic alleles failed to rescue this phenotype as opposed to a complete rescue by human wild-type mRNA. Taken together, these findings put forth *SEC61A1* as a causal gene for an autosomal dominant syndromic form of progressive chronic

kidney disease. We highlight protein translocation defects across the endoplasmic reticulum membrane, the principal role of the SEC61 complex, as a contributory pathogenic mechanism for ADTKD.

VÝVOJ CRISPR-CAS9 EDITOVANÝCH HELA BUNĚK, MODELOVÉHO SYSTÉMU PRO STUDIUM NOVÝCH GENETICKY PODMÍNĚNÝCH VAD *DE NOVO* PURINOVÉ SYNTÉZY

Barešová V., Škopová V., Krijt M., Součková O., Kmoč S. Zikánová M.

Ústav dědičných metabolických poruch, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Všeobecná univerzitní nemocnice v Praze. Praha, Česká republika.

Úvod: V ÚDMP je každoročně vyšetřováno mnoho pacientů s nespecifickým neurologickým postižením. S použitím stávajícího spektra metod se podaří stanovit diagnózu u cca 2% z nich. Část případů může být způsobena genetickým defektem enzymů *de novo syntézy purinů* (DNPS). V současné době jsou popsány dva geneticky podmíněné defekty DNPS: deficit adenylosukcinát lyázy (dADSL) a AICA-ribosidurie (deficit ATIC). Geneticky podmíněné defekty dalších enzymů DNPS nebyly identifikovány. Jejich existence se závažnými neurologickými projevy je vysoce pravděpodobná, ale diagnostická metoda pro jejich stanovení neexistuje.

Metody: V rámci projektu jsme připravili modelový systém pro studium známých i neidentifikovaných poruch DNPS. Jedná se o HeLa buněčné linie deficitní pro jednotlivé enzymy DNPS (GART, PFAS, PAICS, ATIC a ADSL) připravené metodou CRISPR/Cas9. gDNA a cDNA modifikovaných buněk jsme sekvenovali pro zjištění mutací, metodou Western blot jsme testovali buněčné lyzáty na přítomnost jednotlivých proteinů a pomocí LC-MS/MS jsme analyzovali přítomnost akumulovaných substrátů v růstových médiích. Dále jsme imunofluorescenční metodou zjišťovali schopnost editovaných buněk tvořit purinosom.

Výsledky: Pro diagnostiku a vyhledávání defektů v DNPS jsme vyvinuli analytické metody založené na LC-MS/MS analýze akumulovaných substrátů jednotlivých enzymů. Standardy substrátů jsme připravili enzymatickou cestou. V modelových buňkách nebyla pozorována přítomnost mutovaného proteinu a schopnost tvořit purinosom byla snížena. Ve všech liniích kromě GART editovaných buněk byly akumulovány substráty deficitních enzymů.

Závěr: Podobně jako u deficitu ADSL a AICA-ribosidurie lze na základě našich výsledků předpokládat, že deficit enzymů PFAS a PAICS v metabolické dráze DNPS bude způsobovat akumulaci jejich substrátů v tělních tekutinách pacientů. Modelová simulace nových neidentifikovaných onemocnění DNPS umožní studium prevalence onemocnění v populaci pacientů s těžkým neurologickým postižením, u kterých nebyla stanovena diagnóza.

Granty: AZV 15-28979A Ministerstva zdravotnictví, ČR, UNCE 204011, PRVOUK-P24/LF1/3 a SVV UK 260148/2015 programy UK v Praze, LQ1604 NPU II, MŠMT, ČR a CZ.1.05/1.1.00/02.0109 BIOCEV Evropský fond pro regionální rozvoj a MŠMT, ČR.

Číslo grantu: GAUK 818416

TITLE: RARE INBORN ERROR OF COBALAMIN METABOLISM (COBALAMIN J DEFICIENCY) PRESENTING AS DEFICIENCY OF VITAMIN B₁₂

Category: Clinical management - treatment

Authors: Ješina P.¹, Chrástina P.¹, Krijt J.¹, Bártl J.¹, Dvořáková L.¹, Vlášková H.¹, Honzík T.¹, Baumgartner M.², Fowler B.², Burda P.², Hřebíček M.¹, Kožich V.¹

¹ Institute of Inherited Metabolic Disorders, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

² Division for Metabolic Diseases, University Children's Hospital Zürich, Switzerland

A 20 months old boy was born from the 1st uncomplicated pregnancy after physiological postnatal adaptation feeding problems started in 6th week of age. He suffered from conjunctivitis, repeated respiratory infections with stridor and mouth sore with ragades. At age of 10 weeks, hypotonia and poor social contact were observed. Hematologic investigation showed severe anemia (Hb 59 g/l; MCV 89.8) necessitating transfusion. Bone marrow investigation revealed megaloid mature normoblasts. Severely decreased holotranscobalamin (holoTCII) <5 pmol/l (normal 19-119) and total vitamin B₁₂ 121 ng/l (normal 191-663) together with elevated plasma total homocysteine (P-tHcy) 127 µmol/l (normal 3.5-10.0), methylmalonic acid in urine (U-MMA) 1543 mg/g creat (normal <15) and borderline low level of methionine 14 µmol/l (normal 12-55) suggested nutritional deficiency and/or absorption defect of vitamin B₁₂.

After i.m. application of cyanocobalamin (300 µg), P-tHcy decreased to 56 µmol/l and U-MMA to 73 mg/g creat. Oral cyanocobalamin supplementation in daily doses of 50 µg led to holoTCII normalization (range 30-57 pmol/l) and anemia disappearance, however P-tHcy and U-MMA remained elevated (41-50 µmol/l and 145-427 mg/g creat, respectively), suggesting an intracellular defect in cobalamin metabolism. The ¹⁴C-propionate incorporation in cultured skin fibroblasts was decreased and the methionine and serine formation from ¹⁴C formate was deficient (14%, and 16% of control, respectively). Synthesis of adenosylcobalamin and methylcobalamin was clearly reduced while that of cyanocobalamin was highly elevated, suggesting the cblF or cblJ deficiency. Complementation analysis confirmed cblJ complementation group. Molecular genetic analysis revealed compound heterozygosity of two splicing mutations in the *ABCD4* gene: c.[425+1G>A](r.[380_425del]) and c.[1506+4A>G](r.[1506_1507ins56; 1506+4a>g]).

Since the 7th month of age he has been thriving very well and had no neurological or hematological complications. With oral hydroxycobalamin treatment (1000-3000 µg weekly) P-tHcy was in the range 7 to 20 µmol/l, U-MMA <15 to 51 mg/g creat and holoTCII 96 to >256 pmol/l.

In contrast to other combined defects of intracellular cbl metabolism, this case of cblJ deficiency presented with low serum vitamin B₁₂ concentration. Similar decrease of cblJ levels was reported in another cblJ patient (Takeichi, 2014). These cases of cblJ defect emphasize the need to monitor tHcy and MMA metabolism in patients with apparent normalization of cobalamin levels upon vitamin B₁₂ treatment, to distinguish nutritional and genetic origin.

Supported by RVO-VFN64165

Takeichi et al., *Brit J Dermatol* 2014

SEKVENOVANIE NOVEJ GENERÁCIE – NOVÁ ÉRA V DIAGNOSTIKE DEDIČNÝCH METABOLICKÝCH PORÚCH.

Skalická K.¹, Nagyová G.², Ilenčíková D.², Kovács, L.³.

¹. Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky 2. detskej kliniky LFUK a DFNSP

². Genetická ambulancia 2. detskej kliniky LFUK a DFNSP

³. 2. detská klinika LFUK a DFNSP

Stanovenie jednoznačnej diagnózy dedičných metabolických porúch je dlhodobou medicínskou výzvou. Dôvodom je genetická heterogenita spojená s klinickou diagnózou, ako aj netypická prezentácia známych a klinicky rozpoznateľných ochorení. Genetická diagnostika týchto ochorení je použitím tradičných vyšetrovacích metód úspešná v menej ako 50% prípadov. Vstupom sekvenovania novej generácie do klinickej praxe sa otvorila nová éra ich diagnostiky, ktorá umožní nielen výrazne skrátiť čas stanovenia diagnózy, ale môže aj prispieť k objaveniu nových génov asociovaných s ochorením. V súčasnosti existuje niekoľko možností využitia sekvenovania novej generácie, od vyšetrenia vybraného panelu génov, všetkých kódujúcich oblastí, až po sekvenovanie celého genómu. Výber vhodnej stratégie vo väčšine prípadov závisí od klinickej prezentácie ochorenia a môže výrazne ovplyvniť mieru diagnostickej úspešnosti. Schopnosť pokročilých metód sekvenovania novej generácie stanoviť jednoznačnú diagnózu zriedkavých genetických ochorení vo výskumnej oblasti je predpokladom ich skorého začlenenia do klinickej praxe. Avšak k dosiahnutiu tohto cieľa je potrebné prekonať technické a analytické limity za účelom získania čo najvyššej diagnostickej výťažnosti genetického vyšetrenia. Cieľom prezentácie bude poukázať na súčasné možnosti ako aj limity využitia jednotlivých typov sekvenovania novej generácie vo výskumnej oblasti a v rutinne diagnostike týchto ochorení.

**31. pracovné dni
dedičné metabolické poruchy
Bratislava, 25.–27. 5. 2016**

Abstrakta – postery

DEDIČNÉ PORUCHY CYKLU MOČOVINY U PACIENTOV V NAŠOM SÚBORE

Hálová K¹., Gregová E²., Dénešiová Z²., Kohút V².,

¹DFNsP Banská Bystrica, ²CLK-PKB FNsP F.D.Roosevelta Banská Bystrica

Dedičné poruchy cyklu močoviny (DPCM) patria medzi pomerne časté poruchy metabolizmu a ich prevalencia sa udáva okolo 1 : 30 000. Charakterizuje ich hyperamoniémia a porušený metabolizmus aminokyselín. Zvýšená koncentrácia amoniaku pôsobí neurotoxicity.

Cykľus syntézy močoviny prebieha v pečeni, časť v mitochondriách a časť v cytoplazme, za účasti 5 enzýmov cyklu (CPS I, OTC, ASS, ASL, ARG) a NAGS (tvorba NAG ako alosterického aktivátora). Pri dedičných poruchách cyklu močoviny môže dôjsť k deficitnej syntéze ktoréhokoľvek enzýmu a pri každej poruche je charakteristický biochemický nález v aminograme.

Dedičnosť je autozómovo recesívna okrem OTCD viazaného na X-chromozóm, ale asi 15 % dievčat heterozygotiek je tiež symptomatických pri náhodnej inaktivácii chromozómu X v pečeni. U všetkých DPCM (okrem NAGS) je známa chromozómová porucha a boli popísané početné mutácie.

DPCM sa môžu manifestovať v každom veku, ale najčastejšie v novorodeneckom, detskom a adolescentnom období. Novorodenecké manifestácie majú vysokú úmrtnosť.

K dekompenzácií poruchy dochádza následkom metabolického stresu, zvýšením endogénneho katabolizmu bielkovín pri infekcii, horúčke, operácii, zmene materského mlieka za kravské atď.

V rokoch 1994 – 2016 sme diagnostikovali na našom pracovisku 9 pacientov, z toho 4 citrulinémie, 2 x OTCD chlapcov, 1x OTCD heterozygotku, 1x argininantárovú acidúriu, 1x argininémiu. 4 deti s neonatálnou formou exitovali v novorodeneckom veku, 1 dieťa ťažko neurologicky postihnuté zomrelo vo veku 3 rokov.

V súčasnosti sú u nás sledované 3 deti : 12-ročná pacientka s citrulinémiou, 9-ročný chlapec s argininantárovou acidúriou a 12-ročný chlapec s argininémiou. Pacientka s diagnostikovanou OTCD vo veku 6,5 r. je v súčasnosti 19-ročná a je sledovaná na inom pracovisku.

V našej práci prezentujeme stručné kazuistiky týchto sledovaných detí.

PROGRESSION OF SKELETAL DISEASE IN A BOY WITH HYPOFOSFATASIA AFTER THERAPY WITH BISPHOSPHONATES

Kolarova H., Tesarova M., Zeman J. and Honzik T.

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

Introduction: Hypophosphatasia (HPP) is a rare heritable metabolic disorder characterized by defective bone and/or teeth mineralization in the presence of reduced activity of tissue-nonspecific serum alkaline phosphatase (ALP).

Results: A second-born child of healthy unrelated parents was born after uneventful pregnancy and delivery. Family history revealed loss of permanent dentition in both parents and delayed ankle fracture healing in patient's grandmother. The disease manifested at the age of 14 months with craniosynostosis and sudden loss of four deciduous teeth with intact roots. The X-ray showed overall skeletal hypomineralization and characteristic tongue-like lucencies of the tibial metaphysis. Based on the low serum ALP levels (0.8 $\mu\text{kat/l}$; controls >1.2), suspicion of HPP was raised. Between the ages 10 and 14, three low-impact fractures occurred. The disease severely progressed at age 25 after inducious discontinuation of 4-year bisphosphonates therapy. Development of the L5 vertebral compressive fracture with recurrent low-impact bilateral femoral and tibial fractures led to wheelchair confinement. Unusually, the pyridoxine-dependent epilepsy manifested only at the age of 26 years. Genetic analyses confirmed the presence of a HPP-causing compound heterozygous mutation c.422C>A/c.551G>A in *ALPL* gene. Biochemical workup depicted persisting low serum ALP levels (0.1 $\mu\text{kat/l}$; controls >0.66) with hyperphosphatemia (2.12 mmol/l, controls <1.65), high plasma pyridoxal-5'-phosphate and urine phosphatidyletanolamine levels (143 mmol/mol kreatininu; controls <20). The patient's father, mother, her sister and mother are heterozygotes with milder HPP forms.

Discussion: We present an atypical case of HPP childhood form. Currently, there are 16 patients diagnosed in the Czech Republic: perinatal form (2 cases), infantile (1), childhood (6), adult (1), odontohypofosfatasia (3) and asymptomatic (3). Bisphosphonates - important bone mineralization inhibitors - are contraindicated in this condition. Causal treatment with enzyme replacement therapy (asfosfatase alfa, StrensiqTM, AlexionPharmaceuticals) was recently approved, especially for patients with severe HPP forms. Supported by SVV 260256/2016 and VFN RVO 64165/2012.

MONITORING RENÁLNÍCH FUNKCÍ NAŠICH PACIENTŮ S FENYLKETONURIÍ

Pazdírková R.¹, Kolský A.¹, Hedelová M.², Krotká J.², Zikmund J.¹, Komárková J.¹, Špička J.²

Klinika dětí a dorostu 3.LF UK, FN Královské Vinohrady, Praha¹

Ústav laboratorní diagnostiky 3. LF UK, FN Královské Vinohrady, Praha²

Terapie fenylketonurie (PKU) je založena na dosažení optimálních hladin fenylalaninu (Phe) v plazmě, které neohrožují neurokognitivní funkce lidí trpících touto metabolickou poruchou. V poslední době jsou diskutovány možné negativní vlivy PKU diety na organismus. Byl prokázán vyšší výskyt obezity, osteopenie, sarkopenie, deplece vitamínů, změny střevní mikrobioty, poškození ledvin apod. Snížení glomerulární filtrace (GF) je vztažováno k vyššímu příjmu aminokyselinových směsí bez fenylalaninu, které tvoří až 95% PKU diety.

Naše pracoviště v roce 2015 začalo monitorovat renální funkce PKU pacientů měřením kreatininu a cystatinu C v séru a celkové bílkoviny a albuminu v moči. Z naměřených hodnot se vypočítávají odhady glomerulární filtrace (eGF) dle rovnic CKD EPI a indexy protein/kreatinin (PCR) a albumin/kreatinin (ACR).

Podrobně bylo vyšetřeno 23 dospělých osob, 15 mužů a 8 žen, medián 26 roku (19-44 let). Všichni mají klasickou PKU, dodržují dietu a užívají léčebný přípravek.

Všichni pacienti měli fyziologickou hodnotu eGF vypočtenou z hodnot S-kreatininu. Při použití výpočtu eGF z hodnot S-Cystatinu C byly zjištěny u čtyř pacientů (17%) hodnoty eGF v pásmu mírného snížení (1-1,49 ml/s/1,73m²). Odpad proteinu v moči ve 12 h nočním sběru byl zvýšen u 9 pacientů, 2 z nich měli pozitivní mikroalbuminurii.

Zda PKU dieta má vliv na renální funkce fenylketonuriků nebylo možné v pilotní studii jednoznačně potvrdit. Nálezy je nutné ověřit na větším souboru pacientů.

KLASICKÁ FENYLKETONURIE – POZDNÍ ZÁCHYT U DOSPĚLÉHO PACIENTA

Košťálová E., Hrubá E., Martincová O., Řepík T. , Hrubá Z. "

Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha

^{*}Neurologická klinika FN Plzeň

^{**}Centrum molekulární biologie a genové terapie, IHOK, LF Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno

Úvod: Fenylketonurie/hyperfenylalaninémie (PKU/HPA) je autozomálně recesivně dědičná porucha metabolismu aminokyseliny fenylalaninu způsobená patogenními mutacemi v *PAH* genu, které vedou k deficitu aktivity fenylalaninhydroxylázy. Onemocnění má dobrou prognózu, pokud je včas zachyceno a adekvátně léčeno. U neléčených pacientů se rozvíjí závažné postižení nervového systému. Prezентujeme případ dospělého pacienta s neuropsychiatrickou symptomatikou, u kterého byla diagnóza klasické fenylketonurie stanovena ve věku 47 let při selektivním screeningu dědičných metabolických poruch. Pacient neprošel celoplošným novorozeneckým laboratorním screeninem PKU/HPA, který byl v naší republice zaveden v roce 1975.

Kazuistika: Psychomotorický vývoj pacienta narozeného v roce 1968 byl opožděný od kojeneckého věku. Chlapec samostatně chodil od 2 let. Dominovalo těžké postižení mentálního vývoje, pro které byl pacient zbaven povinné školní docházky. Stav byl dlouhodobě stacionární. Ve věku 42 let se objevily poruchy chůze, bolesti zad, břicha. Byl zjištěn retroperitoneální tumor charakteru seminomu. Pacient v rámci léčby prodělal i chemoterapii. Pro další zhoršování chůze, jemné motoriky a poruchy chování byl pacient dále vyšetřován. MRI mozku ukázalo parietální atrofii bilaterálně a subkortikální leukoencefalopatii difúzně. V rámci diferenciální diagnostiky se zvažovala i možnost dědičné metabolické poruchy (DMP).

Výsledky: Při selektivním screeningu DMP byla v krvi zjištěna hyperfenylalaninémie 1471 $\mu\text{mol/l}$ (norma < 120 $\mu\text{mol/l}$), poměr fenylalanin/tyrosin 23,2 (norma < 2,0). Nález kompatibilní s PKU/HPA potvrdilo vyšetření aminokyselin v plazmě a profil organických kyselin v moči. Analýza genu *PAH* pacienta a jeho rodičů prokázala u pacienta složenou heterozygocii pro dvě patogenní mutace.

Závěry: U pacientů s nejasnou psychiatrickou a/nebo neurologickou symptomatikou je vhodné v diferenciální diagnostice zvažovat také dědičnou metabolickou poruchu. V rámci selektivního screeningu na úrovni metabolitů mohou být zachyceni pacienti s PKU/HPA, kteří neprošli novorozeneckým screeninem.

Podpořeno projektem MZ ČR - RVO VFN64165

POZDNÍ ZÁCHYT KLASICKÉ FENYLKETONURIE U KOJENCE

Procházková D.¹, Bašovský M.², Konečná P.¹, Košťálová E.³, Hrubá Z.⁴, Slavičková L.⁵

¹Pediatrická klinika, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

²Klinika dětské neurologie, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

³Ústav dědičných metabolických poruch 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a VFN v Praze, Česká Republika

⁴Centrum molekulární biologie a genové terapie, IHOK, Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity a Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

⁵Oddělení léčebné výživy, Fakultní nemocnice Brno, Česká Republika

Autoři prezentují případ 9,5- měsíčního kojence, který byl vyšetřován pro blíže neobjasněnou psychomotorickou retardaci na úrovni 2. trimenonu. V rámci diferenciální diagnostiky byl proveden metabolický screening k vyloučení dědičné poruchy metabolismu. Bylo zjištěno, že hodnota fenylalaninu (Phe) v krvi je signifikantně zvýšena a dosahuje hodnoty 1768 μmol/l (norma 30-120 μmol/l), která je typická pro klasickou fenylketonurii (PKU). Onemocnění bylo následně potvrzeno molekulárně-genetickým vyšetřením. PKU (OMIM 261600) je dědičná porucha metabolismu aminokyseliny Phe, způsobená deficitem enzymu fenylalaninhydroxylázy (12q24.1, EC 1.14.16.1) v játrech. K léčbě se nejčastěji používá nízkobílkovinná dieta s nízkým obsahem Phe s cílem zabránit mentálnímu postižení pacienta. Jedná se o vysoce restriktivní terapeutickou dietu s použitím směsí aminokyselin bez Phe v kombinaci s nízkobílkovinnými výrobky a malým množstvím přirozených bílkovin.

Dítě neprošlo novorozeneckým screeningem v České republice. Novorozenecký screening PKU na zahraničním pracovišti byl označen rodiči jako negativní, avšak písemný doklad chyběl. Vzhledem k narůstajícímu počtu obyvatel, kteří pracují v zahraničí a možné migrační vlně v naší populaci, doporučujeme u dětí, narozených mimo Českou republiku, věnovat pozornost provedení novorozeneckého screeningu, zvláště pak, pokud se dítě narodilo v rozvojové zemi.

PRVNÍ ZÁCHYT DEFICITU DIHYDROPYRIMIDINDEHYDROGENASY V ÚDMP

Martincová O., Kovačiková T., Krijt J., Bártl J., Jahnová H., Pešková K.

Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK, Praha

Úvod: Deficit dihydropyrimidindehydrogenasy (DPD) je dědičné autosomálně recesivní onemocnění v katabolismu pyrimidinových bází. Deficit DPD vede k hromadění substrátů uracilu a thyminu, jejichž zvýšené koncentrace lze prokázat vyšetřením profilu pyrimidinů v moči, plasmě/séru nebo likvoru. Diagnóza je potvrzena stanovením aktivity DPD v leukocytech či fibroblastech a/nebo molekulárně genetickým vyšetřením *DPYD* genu. Závažnost onemocnění je vysoce variabilní od pacientů s neurologickým postižením po asymptomatické případy. DPD působí také při degradaci chemoterapeutik na bázi 5-fluorouracilu. U nediagnostikovaných pacientů s deficitem DPD může podávání běžných dávek těchto léků vyvolat velmi toxické až letální reakce.

Kazuistika: Devatenáctiletá dívka s nerovnoměrným rozvojem intelektu od raného dětství byla komplexně vyšetřována. Psychologické vyšetření prokázalo podprůměrný intelekt s největším deficitem v exekutivní složce. Endokrinologem byla diagnostikována autoimunitní tyreoidita. Neurologické vyšetření prokázalo demyelinizační léze v pravém mozečkovém pedunklu, zvětšení adenohypofýzy a v likvoru oligoklonální syntézu IgG imunoglobulinů. Tyto nálezy byly neurologem hodnoceny jako suspektní roztroušená skleróza. Bylo doplněno i vyšetření na dědičné metabolické poruchy.

Laboratorní nálezy: Vyšetřením profilu pyrimidinů bylo opakovaně prokázáno zvýšené vylučování uracilu 120-156 mmol/mol kreat. (norma < 25) a thyminu 53-256 mmol/mol kreat. (norma < 10) v moči a zvýšená koncentrace uracilu 18 μ mol/l (norma <5) a thyminu 16 μ mol/l (norma n. d.) v plasmě. Enzymatické a molekulárně genetické vyšetření bylo provedeno v laboratoři Akademického medicínského centra University v Amsterdamu. V kultivovaných fibroblastech byla prokázána snížená aktivita DPD a následně byly sekvenační analýzou nalezeny dvě již dříve popsání patogenní mutace [c.1905+1G>A] [c.1057C>T]. Složená heterozygocie pro uvedené mutace byla potvrzena vyšetřením DNA obou rodičů.

Závěr: Pacientka je prvním diagnostikovaným případem deficitu DPD na našem pracovišti. Diagnostika poruchy je dostupná a spolehlivá i na úrovni metabolitů a má význam i pro případnou onkologickou léčbu dalších členů rodiny.

Podpořeno projektem MZ ČR - RVO VFN64165 a OPVK CZ.2.16/3.1.00/24012

ANALÝZA POLYOLŮ V MOČI PLYNOVOU CHROMATOGRAPHIÍ – DIAGNOSTIKA DEFEKTŮ V REVERSIBILNÍ ČÁSTI PENTÓZA-FOSFÁTOVÉHO CYKLU

Bártová P., Chodorová I., Dobiášová J. Koubíková H., Klímová E., Hodík J., Pinkasová R., Petránková V., Přibyllová M., Horník P., Pešková K.

Ústav dědičných metabolických poruch, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze
a 1. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze.

Cíl

Dosud byly popsány dvě vrozené metabolické poruchy v reversibilní části pentóza-fosfátového cyklu (rPFC): Deficit ribósa-5-fosfát isomerázy (RPI) a deficit transaldolázy (TALDO). Zde prezentovaná metoda plynové chromatografie (GC) pro diagnostiku enzymových defektů v rPFC je založena na analýze moči a stanovení některých polyolů typických pro tato onemocnění.

Metody

Půl mililitru moči s vnitřním standardem se odpaří do sucha, derivatizuje (trimethylsilylace) a extrahuje do hexanu. Organická vrstva se opět odpaří do sucha, rozpustí v silylačním činidle (bistrimethylsilyltrifluoroacetamid) a 1,0 µl finálního roztoku se dává do plynového chromatografu s plameno-ionizační detekcí (GC/FID) vybaveného kolonou ZB-5.

Výsledky

Výše popsanou metodiku rutinně používáme pro kvantifikaci erythritolu, arabitolu a ribitolu v moči. Analyty jsou detekovatelné již při koncentracích 1,5, 1,3 a 2,0 µmol/l. Linearita byla testována až do 2,5 mmol/l ($r > 0,998$), opakovatelnost a reprodukovatelnost byla menší než 5,2 %, resp. 6,3 %. Jelikož vzorky močí od pacientů s deficitem RPI a/nebo TALDO nejsou běžně dostupné vzhledem k velmi vzácnému výskytu těchto chorob, byla použitelnost metodiky demonstrována na běžných vzorcích moče od zdravých dobrovolníků s přidavkem cílových látek.

Závěr

GC/FID je užitečným a efektivním nástrojem v detekci a kvantifikaci polyolů v moči, jež umožňuje relativně snadno diagnostikovat případné vrozené defekty v rPFC.

PRVÍ PACIENTI POSTIHNUTÍ SÚČASNE DVOMI RÔZNYMI PRIMÁRNymi PORUCHAMI MITOCHONDRIOVÉHO METABOLIZMU ENERGIE

Behúlová D.¹, Ostrožlíková M.¹, Holešová D.¹, Šebová C.¹, Tárnoková S.¹, Šaligová J.², Potočnáková L.², Bzdúch V.³, Brennerová K.³, Skokřová M.⁴, Škodová J.¹, Perečková J.¹, Dluholucký S.⁵, Knapková M.⁵, Górová R.⁶, Ostrovský I.⁶, Lisyová J.⁷, Chandoga J.⁷

¹ Centrum dedičných metabolických porúch, DFNSP Bratislava

² DFN Košice

³ 1. detská klinika LF UK a DFNSP Bratislava

⁴ Neonatologická klinika intenzívnej medicíny LF UK a DFNSP Bratislava

⁵ Skriningové centrum novorodencov SR, DFNSP Banská Bystrica

⁶ Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava

⁷ Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UNB, Bratislava

Úvod: V ľudskom organizme sa 95% kľúčového zdroja energie ATP generuje prostredníctvom troch hlavných metabolických ciest v mitochondriách: cyklus trikarboxylových kyselín, oxidatívna fosforylácia (OXPHOS) a beta-oxidácia mastných kyselín (FAO). Už jeden defekt v ktorejkoľvek ceste vedie obvykle k závažnému postihnutiu pacienta. Cieľom práce bolo prezentovať prvých 5 detí trpiacich súčasne dvomi geneticky podmienenými poruchami.

Kazuistiky: Pacienti rómskeho pôvodu pochádzali z východoslovenského regiónu. U troch detí sa v novorodeneckom veku dokázal izolovaný deficit ATP-syntázy spôsobený deficitom TMEM70 (homozygoti pre mutáciu c.317-2A>G) a neskôr aj SCADD. U dvoch pacientov odhalil novorodenecký skrining a následné vyšetrenia MCADD (homozygoti pre mutáciu c.985A>G) a zároveň aj SCADD.

U jediného dievčaťa v súbore s deficitom TMEM70 a SCADD (zložená heterozygotka pre mutácie c.310_312delGAG /c.1138C>T) sa pri predčasnom pôrode zaznamenal anhydramnion, hypotrofia, hypotónia, kraniofaciálna dyzmorfia, hypoplázia pľúc, pneumotorax, hyperlaktatémia a hyperamonémia, exitovala v prvý deň života.

Podobné klinické a biochemické nálezy sa zachytili u chlapca s deficitom TMEM70 a SCADD (homozygot pre predispozičný variant c.625G>A), kritické novorodenecké obdobie prežil, t.č. má 8 mesiacov.

Donosený eutrofický novorodenec s deficitom TMEM70 a SCADD (homozygot pre mutáciu c.310_312delGAG) bol liečený pre koncentrickú hypertrofiu ľavej komory, PPHN, hypotóniu, výraznú laktátovú acidózu a hyperamonémiu. V súčasnosti 4-ročný chlapec trpí neprospievaním, hypotóniou, mentálnou retardáciou.

Vyšetrením profilov acylkarnitínov pri novorodeneckom skriningu a analýzou organických kyselín v moči sa v dvoch prípadoch odhalil biochemický obraz patognomický pre

MCADD a výrazná etylmalónová acidúria. U prematúrneho, t.č.10-mesačného chlapca s pozitívnou RA a u t.č. 3-ročného pacienta sa potvrdil aj SCADD (zložený heterozygot pre mutácie c.310_312delGAG/c.1138C>T a mutácia c.310_312delGAG/variant c.625G>A). Záver: Nález dvoch rôznych defektov v OXPHOS a/alebo FAO u našich pacientov je prekvapujúci. Pre posúdenie interakcií vznikajúcich pri koincidencii porúch metabolizmu energie sú potrebné ciele štúdie.

Práca podporená OP Výskum a vývoj, projekt ITMS 26240220007, a dopytovo-orientovaným projektom Univerzitný vedecký park UK v Bratislave, ITMS 26240220086.

VÝSLEDKY ROZŠÍRENÉHO SKRÍNINGU NA SLOVENSKU – ETNICKÉ ROZDIELY

Dluholucký S.^{1,2}, Knapková M.¹

¹ Skrínigové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica Banská Bystrica

² Fakulta zdravotníctva v B. Bystrici, Slovenská zdravotnícká univerzita v Bratislave

Autori predkladajú prvé výsledky rozšíreného novorodeneckého skríningu (NS) na Slovensku analyzované v majoritnej a rómskej populácii. Monitorovacie rómskeho etnika bolo zavedené pre rozdielne hodnoty v IRT skrínigovom teste cystickej fibrózy. NS bol od začiatku roka 2013 rozšírený o 20 DMP s vo vyšetrení ms/ms.

Výsledky: V rokoch 2013-2015 bolo v NS vyšetrených 165648 novorodencov (100% narodenej populácie). Z nich bolo 25321 (15,3%) detí rómskeho etnika (R). Celkovo bolo zachytených 313 pozitívnych prípadov v širikom spektre DMP (celková prevalencia= 1:539, M=1:758, R=1:198, OR:3,83). V spektre zachytených DMP boli zistené výrazné rozdiely medzi etnikami. V rómskom etniku bol mierne zvýšený výskyt kong. hypotyreózy (M=1:2063, R=1:1332, OR:1,35), nebol zistený ani jeden prípad CAH a bol zachytený jeden prípad CF. Naproti tomu celková skrínigová prevalencia DMP bola významne vyššia v R etniku (M=1:1670, R=1:234, OR:7,13). Významné boli aj rozdiely v prevalencii jednotlivých typov DMP. Zatiaľ čo v majoritnom etniku dominoval výskyt FKU a celého spektra aminoacidúrií a organických acidúrií, v rómskom etniku dominovali poruchy beta-oxidácie mastných kyselín (MCAD,SCAD) a deficit karnitínu (CUDD).

Záver: Napriek tomu, že výsledky sú len predbežné, môžeme skonštatovať, že sledovanie etnicity dovolilo zistiť výrazné rozdiely vo výskyte jednotlivých DMP, ktoré by sa bolo stratilo pri unitárnom postupe. Detekcia vysokého výskytu hlavne MCAD a SCAD v rómskom etniku môže prispieť k zníženiu ohrozenia týchto detí v zlých sociálnych podmienkach. Okrem toho tento prístup prináša nové pohľady na slovenskú populáciu.

Počet znakov: 1891

CHITOTRIOSIDASA JAKO DIAGNOSTICKÝ, PROGNOSTICKÝ A TERAPEUTICKÝ MARKER U PACIENTŮ S GAUCHEROVOU CHOROBOU

Dvořáková L.¹, Řeboun M.¹, Poupětová H.¹, Stolnaja L.¹, Vlášková H.¹, Štorkánová G.¹, Pešková K.¹, Ledvinová J.¹, Malinová V.²

¹Ústav dědičných metabolických poruch, VFN a 1.LF UK, Praha

²KDDL, VFN a 1.LF UK, Praha

e-mail: lenka.dvorakova@lf1.cuni.cz

Chitotriosidasa (CHT) je enzym secernovaný aktivovanými makrofágy. Měření aktivity CHT v krevní plasmě se běžně používá jako diagnostický a terapeutický biomarker u pacientů s Gaucherovou chorobou. Využití tohoto markeru je však limitováno přítomností genetických variant v genu *CHIT1*, které mohou vést ke snížení nebo úplné absenci enzymové aktivity chitotriosidasu.

Aktivita CHT byla sledována v souboru 35 pacientů. U pacientů léčených enzymovou substituční terapií klesla aktivita CHT z hodnot řádově tisíců až desetitisíců nmol.ml⁻¹.hod⁻¹ na stovky až desítky nmol.ml⁻¹.hod⁻¹ (kontrolní rozmezí 4,4 – 89 nmol.ml⁻¹.hod⁻¹). Při přerušení léčby nebo při přechodu na substrátovou redukční terapii docházelo k opětovnému zvýšení aktivity CHT.

Vysvětlením velkého rozptýlu hodnot v aktivitě CHT před zahájením léčby mohou být rozdíly v závažnosti klinických projevů u jednotlivých pacientů nebo genetické varianty v genu *CHIT1*, které snižují aktivitu enzymu. Zaměřili jsme se na nejčastější známou mutaci (c.1049_1072dup24), která, je-li přítomna v homozygotním stavu, vede k úplné ztrátě aktivity enzymu. Identifikovali jsme 13 heterozygotů pro tuto 24 bp duplikaci, v homozygotním stavu nebyla duplikace zjištěna. Porovnání mediánů aktivit CHT u dvou skupin (9804 nmol.ml⁻¹.hod⁻¹ u pacientů bez duplikace a 5344 nmol.ml⁻¹.hod⁻¹ u pacientů s heterozygotní duplikací) je v souladu s předpokladem, že přítomnost duplikace v heterozygotním stavu vede ke snížení aktivity CHT zhruba na polovinu. V obou skupinách přetrvával velký rozptyl hodnot aktivity CHT, proto jsme u pěti vybraných pacientů přistoupili k analýze všech kódujících oblastí *CHIT1*. Nalezli jsme pět dalších variant, mezi nimi i běžnou variantu p.Gly102Ser, která podle publikovaných dat snižuje katalytickou účinnost CHT na 23%.

Získané výsledky ukazují, že sledování dynamiky chitotriosidasové aktivity v průběhu léčby je spolehlivým indikátorem její účinnosti bez ohledu na přítomnost či absenci variant v genu *CHIT1*. Před zahájením léčby nelze na základě aktivity CHT predikovat průběh onemocnění, charakterizace genetických variant v genu *CHIT1* může tuto predikci upřesnit.

Podpora: RVO-VFN64165/2012

RESULTS OF DNA DIAGNOSTICS OF NEUROMUSCULAR AND SKIN DISORDERS USING TARGETED NGS

Fajkusová L., Stehlíková K., Kopečková L., Borská R.

Centre of molecular biology and gene therapy, University hospital Brno, Černopolní 9,
613 00 Brno, lfajkusova@fnbrno.cz

Background: Inherited neuromuscular disorders (NMD) and skin disorders (SD) are characterised by clinic and genetic heterogeneity, unspecific clinical features, and the implication of large genes which are the main drawbacks in a routine gene-by-gene diagnostics. The application of next-generation sequencing (NGS) as a diagnostic strategy leads to a rapid screening and fast identification of mutations in rare genetic disorders through sequencing of either a subset of genes or all genes on the level of their exons or whole genomic sequences. High throughput screening at low cost and low complexity is addressed by targeted exon sequencing rather than complete sequencing of exomes or genomes. We present percentage of Czech NMD and SD patients with identified genetic cause using targeted NGS and spectrum of these causes.

Methods: Targeted NGS of 42 (at the present time 227) NMD-related genes and targeted NGS of 99 SD-related genes.

Results: 167 unrelated patients presenting NMD falling into categories of muscular dystrophies, congenital muscular dystrophies, congenital myopathies, distal myopathies, or other myopathies were tested by targeted NGS of 42 NMD-related genes. Pathogenic or likely pathogenic sequence changes were identified in 79 patients (47.3%). Additionally, variants of uncertain significance were suspected in 7 cases (4.2%); and in 81 cases (48.5%), sequence changes with a NMD association were not found. In case of SD, 149 unrelated patients presenting epidermolysis bullosa, ichthyosiform dermatoses, incontinentia pigmenti, Ehlers Danlos syndrome, ectodermal dysplasia, palmoplantar keratoderma, xeroderma pigmentosum, oculocutaneous albinism, or Marfan syndrome were analysed. Pathogenic or likely pathogenic sequence changes were detected in 84 patients (56.4%), 65 patients (43.6%) remain without genetic diagnosis.

Conclusions: Our results strongly indicate that for molecular diagnostics of heterogeneous disorders such as NMD and SD, targeted panel testing has the high clinical yield and should therefore be the preferred first-tier approach.

The work was supported by the project TAČR TE02000058.

RYCHLÁ LC/MS ANALÝZA PRO SCREENING A STANOVENÍ ŠIROKÉHO SPEKTRA DIAGNOSTICKY VÝZNAMNÝCH METABOLITŮ V MOČI

Friedecký D., Hlídková E., Janečková H., Jáčová J., Mičová K, Adam T.

Laboratoř DMP, OKB, FN Olomouc a Lékařská Fakulta, UP v Olomouci

Kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií je známá pro své univerzální použití při analýze biologických materiálů. Před 5 lety byla v naší laboratoři vyvinuta metoda pro analýzu purinových a pyrimidinových diagnosticky významných metabolitů v moči. Vzhledem k potenciálu zvoleného přístupu byla metoda postupně rozšířena o další metabolity a v současné době jsme schopni měřit více než 40 metabolitů při použití 12ti deuterovaných interních standardů. Mimo 26ti purinových a pyrimidinových bazí, ribosidů a deoxyribosidů metoda umožňuje screenovat či kvantifikovat kreatinin, kreatin, guanidinoacetát, kys. sialovou, sukcinylaceton, argininosukcinát, galaktitol a 9 acylglycinů. V analýze galaktitolu a acylglycinů je metoda komplementární k rutinně používané GC/MS. U galaktitolu díky koeluci s manitolem a sorbitolem slouží pouze ke screeningu galaktosemie.

Metoda využívá principu AQN (aqueous normal phase) separace na aminopropylové stacionární fázi v alkalické mobilní fázi. Pro detekci je použit „scheduled“ MRM mód na tandemovém hmotnostním spektrometru API 4000 (Sciex). Metoda je v naší laboratoři rutinně aplikována na moči dětí s podezřením na DMP. V příspěvku jsou prezentovány výsledky analýz pacientů s vybranými DMP, EQC a zdravých kontrol. Ve srovnání s běžně používanými technikami (např. GC/MS pro acylglyciny) se metoda vyznačuje rychlou a snadnou přípravou vzorku, dobou analýzy 9 min a vysokou specifitou MRM záznamů. Grantová podpora: NPU I (LO1304), GAČR I 1910-N26, IGA_LF_2016_014

STANOVENIE VOĽNÉHO KARNITÍNU V MOČI TANDEMOVOU HMOTNOSTNOU SPEKTROMETRIOU

Górová R.¹, Addová G.¹, Behúlová D.², Šalingová A.², Jurdáková H.¹, Ostrovský I.¹,
Ostrožlíková M.², Holešová D.², Šebová C.², Hlavatá A.³, Šaligová J.⁴

¹Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského Bratislava

²Centrum dedičných metabolických porúch, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava

³II. detská klinika, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava

⁴Detská fakultná nemocnica Košice

Primárny deficit karnitínu (PCD) je autozomálne recesívna porucha transportu karnitínu, spôsobená mutáciou v géne *SLC22A5*, ktorý kóduje Na⁺/karnitín membránový transportér OCTN2. Výsledkom nesprávnej funkcie transportéra je zvýšené vylučovanie voľného karnitínu v moči a tým nízke hodnoty voľného sérového karnitínu a znížená intracelulárna akumulácia karnitínu. V rámci diferenciálnej diagnostiky je dôležité odlíšiť PCD od sekundárnych príčin deficitu karnitínu, vznikajúcich napr. pri poruchách oxidácie mastných kyselín, organických acidémiách, pri podávaní niektorých liečiv, pri diétach s nízkym príjmom karnitínu.

Skríning primárneho deficitu karnitínu nie je súčasťou regulérneho rozšíreného novorodeneckého skríningu na Slovensku, avšak v rámci tzv. periférneho vyhodnocovania bolo zachytených viacero novorodencov so zníženou koncentráciou voľného karnitínu v suchej kvapke krvi. Keďže v súčasnosti nie je vyšetrenie voľného karnitínu v moči v SR dostupné, našim cieľom bolo vypracovanie analytickej metódy umožňujúcej jeho stanovenie v moči s využitím tandemovej hmotnostnej spektrometrie s priamym nástrekom vzorky. Ako interný štandard sa použil D9-karnitín a analyty boli detekované monitorovaním vybraných reakcií. Variabilita výsledkov sa testovala na vybraných reálnych vzorkách moču s rôznou koncentráciou voľného karnitínu, s opakovateľnosťou 1,2-11,5 % a medziľahlou presnosťou merania 5,5-16 %. Vyšetřili sme 165 vzoriek moču zdravých jedincov vo veku 2 dni až 64 rokov a metóda sa overuje na vzorkách moču pacientov suspektných pre deficit karnitínu a ich rodinných príslušníkov (vyšetřených 64 vzoriek), pacientov s inými potvrdenými vrodenými metabolickými poruchami a ďalšími ochoreniami.

Práca bola finančne podporená v rámci OP Výskum „Výskum a vývoj nových technológií chemickej analýzy pre metaboliku/metabonomiku“, ITMS 26240220007 a Agentúrou pre vedu a výskum z projektu APVV-0840-11.

NEUROLOGICKÁ MANIFESTACE HLUBOKÉHO DEFICITU BIOTINIDÁZY U NOVOROZENCE

Hrubá E.¹, Zlatohlávková P.², Vacuška M.², Chrastina P.¹, Vlášková H.¹, Kukačková K.¹, Hnízdová Boučková M.¹ a Kožich V.¹

¹ Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1.LF UK, Praha

² Klinika dětské neurologie Fakultní nemocnice Brno

Úvod: *Deficit biotinidázy* (deficit BTB, MIM 253260) je autosomálně recesivně dědičné onemocnění postihující endogenní regeneraci volného biotinu (vitamín H), který je ko-faktorem čtyř karboxyláz (pyruvátkarboxylázy, propionyl-CoA karboxylázy, 3-methylkrotonyl-CoA karboxylázy a acetyl-CoA karboxylázy) uplatňujících se při tvorbě mastných kyselin, v glukoneogenezi a katabolismu aminokyselin. Incidence onemocnění se udává mezi 1:50 000- 1:73 000 živě narozených dětí. Klinický obraz onemocnění je pestrý (neurologické, kožní, oční, respirační, gastrointestinální a imunologické příznaky) a může se manifestovat v jakémkoliv věku. Diagnóza onemocnění je založena na průkazu deficitu BTB v séru. Podle úrovně deficitu se rozlišuje hluboký a částečný deficit BTB. Léčba onemocnění spočívá v podávání volného biotinu a prognóza je závislá na včasnosti zahájení terapie. V našem sdělení prezentujeme případ chlapce, u něhož se onemocnění manifestovalo závažnými neurologickými příznaky v novorozeneckém věku.

Kazuistika: Donošený chlapec s mírnými perinatálními riziky (porod sekci ze zdravotní indikace matky, rozvoj syndromu respirační tísně I. stupně a příznaků časně neonatální sepsy) a výrazným centrálním hypotonickým syndromem s nutností reflexní rehabilitace od narození byl pro ultrazvukový nález chudší gyrifikace mozku a rozvoj makrocefalie přijat v 5 týdnech života k provedení MRI mozku na Kliniku dětské neurologie FN v Brně. MRI CNS prokázalo závažnou kortikální dysplázi a difusní expanzivní změny v bílé hmotě. V metabolickém vyšetření byl nález suspektní z hlubokého deficitu BTB, který byl opakovaným enzymatickým vyšetřením potvrzen (sérová aktivita BTB 0,1..0,2 nmol/min/ml při normě 5,4-15,0), mutační analýza v *BTB* genu probíhá. Vyšetření vnitřního prostředí ukázalo mírnou kompenzovanou metabolickou acidózu a hyperlaktacidémií. Po zahájení terapie biotinem v 8 týdnech věku dochází u chlapce postupně k ústupu hypotonie a normalizaci psychomotorického vývoje, parametrů vnitřního prostředí a gyrifikace mozku při ultrazvukovém vyšetření.

Závěr: Diagnóza deficitu BTB u chlapce s podezřením na vrozenou vývojovou vadu CNS a difusní ischemické poškození bílé hmoty mozku při rizikové perinatální anamnéze umožnila zahájit kauzální terapii v 8 týdnech věku. Při pozdní diagnóze tohoto léčitelného onemocnění je účinek terapie pouze částečný. To je důvodem, proč byl deficit BTB zařazen do návrhu rozšířeného novorozeneckého screeningu dědičných metabolických poruch v ČR.

Podpořeno projektem MZ ČR - RVO VFN64165

NECHOLESTEROLOVÉ STEROLY V GRAVIDITĚ

Hyánek J., Pehal F., Dubská L., Miková J., Gombíková L., Kubů S., Haláčková H., Feyreisel J., Tábořský L.

1) Metabolická ambulance Nemocnice na Homolce Praha

2) Ústav pro matku a dítě Podolí v Praze

Úvod: V těhotenství dosahuje hladina celkového cholesterolu (CCH) maximálních hodnot u člověka. Zvýšení u zdravých těhotných činí v průměru 30 až 40 % proti normě s maximem v 5. měs. Nejvíce se týká LDL-Ch, méně HDL-Ch nebo VLDL-Ch. Zvýšení je zřejmě neškodné nebo dokonce výhodné pro matku i plod, zajišťuje zvýšenou spotřebu sonického hedgehog proteinu při zajišťování správné organogenezy. U familiární hypercholesterolemie (FH) je zvýšení procentuálně stejné jako u zdravých, dosahuje proto vysokých hodnot cholesterolémie a ve vybraných případech nebo u homozygotních forem FH vyžaduje i léčebné zajištění možných kardiovaskulárních komplikací. Jinak léčebné snižování hladiny CCH v graviditě je považováno za nebezpečné a škodlivé.

Soubor pacientů a metody: 21.000 laboratorních výsledků zdravých těhotných pacientek s různou délkou gravidity vyhodnoceno retrogradně při zavádění akreditačního osvědčení. Nalezen medián zvýšených hodnot CCH 6,8 mmol/l s horní hranicí až 17 mmol/l. Incidence nálezů CCH >9,0 mmol/l činila 1:130. Medián LDL-Ch činil 4,6 mmol/l; medián HDL-Ch 2,2 mmol/l. Medián TAG činil 4,2 mmol/l. Ze souboru vybráno 100 pacientek s CCH >7,0 mmol k podrobné analýze necholesterolových sterolů (NCHS). Lathosterol (Lat) a desmosterol (Des) jako markery syntézy cholesterolu a sitosterol (Sit) a kampesterol (Cam) jako markery absorpce fytosterolů.

Klasické lipoproteinové frakce cholesterolu stanoveny na autom. analyzátoru Beckman Coulter a Cobas. NCHS stanoveny metodou GC/MS na Finnigan Mat 120b, jako int. standard epicholesterol. Etická komise NNH doporučila studii se souhlasem jednotlivých pacientek.

Výsledky: Studovali jsme jak se mění spektrum vybraných necholesterolových sterolů pro určení cholesterolové syntézy (Lat, Des) a střevní absorpce fytosterolů (Sit, Cam) v průběhu gravidity a jak korelují se zvýšenými klasickými lipoproteinovými frakcemi cholesterolu. Byla nalezena mírná korelace mezi Lat a LDL-ch a NonHDLch ($r=0,524$ a $0,565$) a slabší korelace pro Des ($r=0,352$). Fytosteroly se zvýšenou syntézou cholesterolu nekorelovaly (Sit $r=0,162$ a Cam $r=0,153$). HDLch a TAG nekorelovaly s NCHS vůbec.

Diskuse: Zvýšení cholesterolu v graviditě se odehrává převážně v jeho LDLch nebo non-HDLch frakci a je podle našich nálezů způsobeno zvýšenou endogenní syntézou, jak tomu odpovídá zvýšená hodnota Lat. Ačkoliv se očekává kompenzační mechanismus zvýšeného vstřebání fytosterolů, hodnoty hlavních fytosterolů Sit a Cam nebyly u našeho

souboru těhotných zvýšeny. Studie vyžaduje další sledování protože žádné ověřující literární údaje o metabolismu NCHS v graviditě jsme zatím nenalezli.

Závěry: V souvislosti se zvyšováním hladiny CCH a jeho LDLch frakce v graviditě dochází ke zvýšení endogenní syntézy cholesterolu(Lat),snad pro zajištění vyšší nabídky cholesterolu plodu.

Josef.hyanek@homolka.cz

DEFECTS IN MITOCHONDRIAL TRANSLATION AS THE CAUSE OF COMBINED DEFICIENCY OF OXPHOS COMPLEXES

Kratochvílová H.¹, Rodinová M.¹, Bradová R.¹, Knopová S.¹, Přistoupilová A.²,
Stránecký V.², Kmoch S.², Honzík T.¹, Hansíková H.¹, Zeman J.¹, Tesařová M.¹

¹Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic, ²Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic.

Mitochondria contain their own translation machinery for synthesis of the 13 mtDNA encoded structural subunits of OXPHOS complexes. Moreover the mtDNA itself encodes 2 rRNAs and 22 tRNAs, all of the other components of the process are encoded in the nuclear DNA. Mutation in genes contributing in this process are common cause of mitochondrial disorders. Translation defects often cause combined deficiency of OXPHOS complexes. In addition many translation factors remains yet unknown.

Targeted sequencing of mitochondrial exome revealed mutations in *RMND1* and *TSMF* genes in two families. Two brothers were compound heterozygotes c.[446G>A];[856C>T] for mutation in *TSMF* gene and two sisters were compound heterozygotes c.[713A>G];[1250G>A] for mutation in *RMND1* gene.

RMND1 gene encodes integral mitochondrial membrane protein which forms a high molecular weight homopolymeric complex (approx. 240 kDa). *RMND1* acts to anchor or stabilize the mitochondrial ribosome near the sites where the mRNAs are matured, spatially coupling post-transcriptional handling mRNAs with their translation.

TSMF gene encodes mitochondrial EFTs which together with EFTu is essential for mitochondrial translation. EFTu is a G-protein, assisting in binding of charged aminoacyl-tRNA to the A-site of the mitochondrial ribosome in a guanosine triphosphate-dependent manner, and the EFTs functions as a nucleotide exchange factor.

³⁵S metabolic labelling in cultured skin fibroblasts confirmed that identified mutations in both genes disturb mitochondrial translation. Furthermore we used fibroblasts for analysis of mitochondrial energy metabolism, mitochondrial network and ultrastructure. Results from our study revealed damaged mitochondrial network in all patients. Electron microscopy showed abnormal mitochondrial ultrastructure. SDS-PAGE revealed decreased level of OXPHOS complex subunits. The ratio of COX/CS activities were slightly decreased or normal. Based on our results the identified mutations in *TSMF* and *RMND1* genes disturb mitochondrial proteosynthesis and result in combined OXPHOS deficiency.

This project was supported by MITOCENTRUM GAČR 14-36804G, RVO-VFN64165/2012, UNCE 204011 and SVV 260256/2016.

MITOCHONDRIAL METABOLISM IN SPERMATOZOA OF TRANSGENIC MINIPIG MODEL EXPRESSING NTERMINAL PART OF HUMAN MUTATED HUNTINGTIN: METHODS AND POTENTIAL BIOMARKERS OF HUNTINGTON'S DISEASE

Krizova J.¹, Kratochvilova H.¹, Macakova M.², Bohuslavova B.², Pavlok A.², Ellederova Z.², Motlik J.², Zeman J.¹ and Hansikova H.¹

¹Laboratory for Study of Mitochondrial Disorders, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, First Faculty of Medicine, Prague, Czech Republic

²Laboratory of Cell Regeneration and Plasticity, Institute of Animal Genetics, v.v.i., CAS, Libechev, Czech Republic

Huntington's disease (HD) is fatal neurodegenerative disorder leading to reduced muscle coordination, mental and behavioral changes. Despite of ongoing discussion, whether the mitochondrial or glycolytic metabolism is crucial for sperm ATP production; we decided to use spermatozoa as a promising biological material to assess mitochondrial metabolism (MM) parameters in HD minipig model transgenic for human mutated huntingtin. The aims of this study were: in minipig spermatozoa, to optimize methods for MM measurements, to assess its MM and to establish possible biomarkers of HD.

Semen samples, from 12 boars (aged 1265 months) in two generations, were obtained repeatedly during the study.

We analyzed activity of citrate synthase (CS) spectrophotometrically, pyruvate dehydrogenase complex activity and the capacity of TCA cycle by detection of radiolabeled-substrates oxidation (MEGS), respiration with Clarke-type electrode and the OXPHOS subunit content by Western blot. Three possibly interfering factors were statistically analyzed: the effects of HD; generation and aging.

Eight analyzed parameters were incident to distinct generation. These parameters were influenced also by the effect of aging. MEGS incubation with [¹⁴C]pyruvate+carnitine+ADP (I₁) was affected significantly by all analyzed effects. Five MM parameters were significantly diminished in HD spermatozoa: except I₁, four parameters ([U¹⁴C] malate+pyruvate+malonate+ADP (I₂) and [¹⁴C]pyruvate+ADP incubations; I₂/CS ratio; complex I dependent respiration) might be considered as biomarkers of HD. Furthermore, lower succinate dehydrogenase subunit content was detected in 47-month-old animals.

Used methods are suitable for MM analysis in minipig spermatozoa. The fate of pyruvate in spermatozoa, which can preferentially utilize pyruvate by sperm-specific isoform of lactate dehydrogenase, perhaps depends on the species. Our results in pyruvate-containing MEGS-incubations might indicate also glycolytic defect in porcine HD spermatozoa, but further analyses are needed.

Supported by the Norwegian Financial Mechanism 2009-2014 and the Ministry of Education, Youth and Sports under Project Contract No. MSMT-28477/2014 "HUNTINGTON" 7F14308, NPU 1609 (MSMT), RVO-VFN64165, SVV 260265/2016.

EFEKT ENZYMOVÉ SUBSTITUČNÍ TERAPIE U PĚTILETÉHO CHLAPCE S MUKOPOLYSACHARIDÓZOU IV A

Kulhánek J.¹, Mařík I.³, Švecová Š.¹, Tesařová M.¹, Asfaw B.², Poupětová H.², Bártl J.², Zeman J.^{1,2}, Magner M.¹

¹Klinika dětského a dorostového lékařství a ²Ústav dědičných metabolických poruch, 1.lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

²Ambulantní centrum pro vady pohybového aparátu, Praha

Mukopolysacharidóza IV A (MPS IV A, Morquio syndrome A, OMIM 253000) je autosomálně recesivně dědičné metabolické onemocnění s incidencí 1:140 000 - 1:300 000 způsobené deficitem N-acetylglaktosamin-6-sulfatázy. Klinickému postižení dominuje těžká skeletální dysplázie s disproporcionální poruchou růstu. V roce 2014 byla FDA pro léčbu MPS IV A schválena enzymová substituční terapie (ERT) preparátem elosulfase alfa (Vimizim, BioMarin Pharmaceutical Inc.). Dosud byla publikována pouze jediná studie sledující efekt terapie u 15 dětí mladších 5 let (Jones et al. 2015). Zde prezentujeme kazuistiku pětiletého chlapce s diagnózou MPS IV A, u kterého byla léčba ERT zahájena ve věku 48 měsíců.

Výsledky: Diagnóza byla u chlapce stanovena ve věku 43 měsíců na základě podezření na kostní dysplázii při dorzolumbální kyfoskolióze páteře. Tou dobou byla již u chlapce přítomna porucha růstu s poklesem z 86. percentilu v roce věku na 3. percentil. V klinickém obrazu byla dále makrocefalie, mírná obličejová dysmorfie, zvonovitý hrudník, protruze sternu, kloubní hypermobilita a hepatomegalie (+2 cm). Chlapec si stěžoval na bolesti kolen a nechtěl běhat. Diagnóza byla potvrzena na enzymatické i molekulárně-genetické úrovni, chlapec je složeným heterozygotem pro mutace c.151G→A (p.Glu51Lys) a c.1219A→C (p.Asn407His). Terapie byla nasazena ve věku 48 měsíců, byla dobře snášena, komplikace se nevyskytly. Na léčbě se zlepšilo růstové tempo z -3,5 SDS přechodně až na +0,4 SDS s následným poklesem na -1,5 SDS. Deformity hrudníku a páteře jsou méně výrazné, hepatomegalie zcela ustoupila. Bolesti dolních končetin vymizely a chlapec začal běhat i chodit do schodů. Vylučování glykosaminoglykanů v moči zůstalo zvýšené (před terapií 29,5 g/mol Kr, po 12 měsících terapie 24,0 g/mol Kr, norma <15,5 g/mol Kr).

Závěr: Na ERT došlo u chlapce k zlepšení růstového tempa a ústupu hepatomegalie. Bolesti dolních končetin vymizely a chlapec začal běhat. Časné zahájení terapie je pro její úspěšnost zcela zásadní.

Práce byla podpořena granty PRVOUKP24/LF1/3, UNCE 204011 a RVO-VFN 64165/2012.

INCREASE OF SERUM LEVELS OF MATRIX METALLOPROTEINASE-2 IN FOUR PAEDIATRIC MPS II PATIENTS

Kulhánek J.¹, Asfaw B.², Poupětová H.², Fialová M.², Zeman J.¹, Magner M.¹

¹Department of Paediatrics and Adolescent Medicine and

²Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague

Mucopolysaccharidosis type II (MPS II, Hunter syndrome) is an X-linked recessive metabolic disorder caused by a deficiency of lysosomal enzyme iduronate-2-sulfatase required for the degradation of mucopolysaccharides or glycosaminoglycans (GAGs). Subsequent primary accumulation of different GAGs results in a wide spectrum of clinical features affecting multiple biochemical and physiological processes of the patient, including altered immune response. Matrix metalloproteinases (MMPs) are key enzymes involved in the degradation of extracellular matrix and are involved in various processes related to inflammation and cell apoptosis. The aim of this study was to describe protein levels of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) in the serum of paediatric patients with MPS II.

Methods. Four patients (1 female, 3 males, none under the enzyme replacement therapy) formed the study group, compared to four healthy age- and sex-matched participants. Whole blood samples were collected by single venipuncture and serum samples were prepared by centrifugation. Serum samples were diluted 1:100, proteins were fractionated by 10% SDS-PAGE (25 ug of protein/well) and MMP-2 levels were measured by Western blot using rabbit polyclonal IgG MMP-2 antibody (H-76, sc-10736, Santa-Cruz Biotechnology, Inc.).

Results. Two MMP-2 bands migrated as proMMP-2 (92 kDa) and MMP-2 (68 kDa) with MMP-2 with the lower molecular mass being the most prominent. We evaluated level of the activated MMP-2 at 68 kDa. Quantitation of the intensity of bands revealed that the level of MMP-2 was significantly increased in the female patient ($P=0.002$) and one male patient ($P=0.025$) as compared to controls. In the two other male patients we also observed increase of the serum MMP-2 level as compared to healthy controls, but it reached no statistical significance ($P=0.888$ and 0.200 , respectively).

Conclusion. This study presents a baseline for our further studies of metalloproteinases role and differential expression in the pathophysiology of MPS II. We showed increase of MMP-2 level in serum of four paediatric MPS II patients.

Supported by PRVOUKP24/LF1/3, UNCE 204011 and RVO-VFN 64165/2012.

CLINICAL MANIFESTATION OF MUCOPOLYSACCHARIDOSIS TYPE II IN 42 CZECH, SLOVAK, SERBIAN AND CROATIAN PATIENTS

Martin Magner¹, Lenka Dvořáková², Hana Vlášková², Adrijan Sarajlija³, Danijela Petković Ramadža⁴, Helena Poupětová², Eva Hrubá², Anna Hlavatá⁵, Vladimír Bzdúch⁶, Karolína Pešková², Bozica Kecman³, Maja Djordjevic³, Ivo Barić⁴, Ksenija Fumić⁷, Ingeborg Barišić⁸, Martin Řeboun², Jan Kulhánek¹, Jiří Zeman^{1,2}

¹Department of Paediatrics and Adolescent Medicine and ²Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic

³Department of Metabolism and Clinical Genetics, Mother and Child Health Care Institute of Serbia „Dr Vukan Cupic“, Belgrade, Serbia, University of Belgrade, School of Medicine, Serbia

⁴Department of Paediatrics. University Hospital Center and School of Medicine. Zagreb, Croatia

⁵1st Department and ⁶11nd Department of Paediatrics Comenius University Children's Hospital, Bratislava, Slovakia

⁷Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Croatia

⁸Department of Paediatrics, Children's Hospital Zagreb, Zagreb, Croatia

Mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome, MPS II) is an X-linked lysosomal storage disorder caused by deficiency of iduronate-2-sulphatase. The aim of our study was to analyse the clinical and laboratory data from 42 patients with this disease.

Results: 21 Czech, 6 Slovak, 7 Serbian and 8 Croatian patients (41 males and 1 female) were involved in the study (average age was 13.2 years, range 1,2-43 years). The symptoms consistent with MPS II occurred typically already in infancy (28 patients, 72%), the diagnostic delay was 2,4 years in average. The most common symptoms at onset included inguinal hernias (12x) and developmental delay (10x). The disease severity could be specified as follows: mild form in 7, intermediate in 2 and severe form in 30 patients, respectively. Cognitive functions were normal or borderline in nine patients, five patients had mild, five moderate and 21 severe developmental delay, typically after developmental regression (in 60% patients). The most common clinical signs were hepatomegaly (98%), splenomegaly (74%), hearing disorder (80%), macrocephaly (73%) and short growth (71%). The joint contractures (98%) and signs of dysostosis multiplex (100%) were the constant signs. Cardiomyopathy (38%) occurred in patients with developed valve disorders (82%), except one boy when present at onset. The excretion of glycosaminoglycans over 70 g/mol creatine at the onset of the disease predicted the severe form. In 37 patients the diagnosis of MPS II was proved on molecular-genetic level. Enzyme replacement therapy (ERT) was introduced in 21 patients, HSCT was carried out in one boy with poor outcome.

Conclusion: The early diagnosis of MPS II is decisive for the success of ERT. The combination of inguinal hernias and developmental delay in infancy is a red flag for the diagnosis of MPS II.

Supported by PRVOUKP24/LF1/3, UNCE 204011 and RVO-VFN 64165/2012.

VYHODNOCOVANIE VYBRANÝCH DMP POMOCOU LC-MS/MS V NOVORODENECKOM SKRÍNINGU NA SLOVENSKU

M. Machková¹, A.Revťáková¹, Z. Mydlová¹, M. Knapková¹, B. Vývleková¹

¹Skríningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Banská Bystrica, Slovenská republika

Tandemová hmotnostná spektrometria bola aplikovaná do praxe pre novorodenec-ký skríning (NS) v apríli roku 1999 v Severnej Karolíne. V rámci DMP existuje viac ako 6000 ochorení. Na Slovensku sa do roku 2012 skríningom zachytávali 4 ochorenia. Práve zavedením tandemovej hmotnostnej spektrometrie do novorodeneckého skríningu sa rozšírilo spektrum ochorení dedičných metabolických porúch (DMP). Ako vzorka sa využíva suchá kvapka krvi (DBS), na ktorú sa aplikuje certifikovaná derivatizačná metóda (Chromsystems MassChrom®) prípravy vzoriek vhodných pre MS/MS analýzu. Technické usporiadanie LC-MS/MS pre NS sa skladá z HPLC časti, v ktorej sa okrem iných komponentov, využíva najmä čerpadlo zabezpečujúce kontinuálny prietok mobilnej fázy systémom a autosampler pre injekciu vzoriek do MS/MS systému (Agilent 6420 Triple Quadrupole). V rámci NS nie je potrebné používať separáciu na chromatografickej kolóne. Analyty sú prevažne molekuly malých rozmerov, čo umožňuje ich simultánne stanovenie v širokej škále rozličných analytov. Metóda je rýchla (< 2 min jedna vzorka), s nízkymi nákladmi na reagenty pričom je zároveň špecifická a citlivá pre skríning analytov pre vybrané dedičné metabolické poruchy. Výsledkom skríningovej analýzy LC-MS/MS je 50 parametrov (aminokyselín a acylkarnitínov), ktoré predikujú ochorenia novorodencov. V niektorých prípadoch sa zachytí aj ochorenie matky cez novorodenca, pričom dieťa má len prechodne zvýšené/znížené dané analyty. V súčasnosti je zachytávaných 10 DMP (FKU, MSUD, IVA, GAI, MCADD, VLCADD, LCHADD, CPT I., CPT II., CACT), pričom ďalších 10-15 výskytom zriedkavejších DMP je detegovateľných pomocou MS/MS a zaradených do nasledujúcej časti rozširovania NS. Od roku 2013-2015 bolo vyšetrených pomocou LC-MS/MS 165 648 novorodencov z ktorých bolo zachytených 59 prípadov vybraných DMP v regulérnom skríningu a 133 prípadov DMP v periférnom skríningu.

MULTI-EXON DELETION IN THE *LAMP2* GENE – A POTENTIAL PITFALL OF IDENTIFYING HETEROZYGOUS FEMALE DANON DISEASE PATIENTS.

Majer F.¹, Stara V.², Kalina T.³, Piherova L.¹, Stranecky V.¹, Kubanek M.⁴, Krebsova A.⁴, Vlaskova H.¹, Dvorakova L.¹, Kousal B.⁵, Liskova P.^{1,5,6}, Kmoch S.¹, Sikora J.¹

¹ Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic

² Pediatric Clinic of the 2nd Faculty of Medicine of Charles University and the University Hospital Motol - Charles University in Prague, Czech Republic

³ Department of Paediatric Haematology and Oncology, Childhood Leukaemia Investigation Prague, Second Faculty of Medicine, Charles University in Prague and University Hospital Motol in Prague, Czech Republic

⁴ Department of Cardiology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

⁵ Department of Ophthalmology, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, Czech Republic

⁶ Laboratory of the Biology and Pathology of the Eye, Institute of Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czech Republic

Danon disease (DD) is an X-linked disorder that is characterized by cognitive deficit, myopathy and cardiomyopathy in male patients. DD is caused by mutations in the lysosomal-associated membrane protein 2 (*LAMP2*) gene. In female patients, DD is variable and mitigated as a likely consequence of tissue-specific ratios/patterns of X-chromosome inactivation (XCI).

While timely identification of *de-novo* *LAMP2* mutated family members many of whom are females is important for efficient family counseling, a number of these individuals are diagnosed late or retrospectively.

DD laboratory testing builds on the identification of the absence of the *LAMP2* protein in cells/tissues of the clinically suspect patients. *LAMP2* flow cytometry in peripheral white blood cells seems to be an optimal method as it requires least invasive sampling and provides a quantitative readout.

Given the spectrum of known mutations, *LAMP2* molecular genetic testing substantially benefits from comparative analyses of full-length isoform *LAMP2* mRNAs and gDNA sequences.

This comprehensive approach is particularly helpful when testing suspect female heterozygotes. In their tissues, the expression from the unaffected allele may hamper the

detection of the *LAMP2* mutation even if it results in the complete abolition of mRNA transcription and/or protein translation.

To specifically point out the pitfalls of detection of the *LAMP2* exon copy number variations in female heterozygotes and demonstrate the practical utility of the outlined laboratory protocol, we present a case study of a juvenile/young adult DD proband/patient who developed a *de-novo* multi-exon (4-9C) deletion (g.19925_45401del25477) on her paternal *LAMP2* allele. Critical for genetic counselling, this case further highlights the need to search for the occurrences of paternal germinal mosaicism in similarly affected DD families.

This project was supported by AZV ČR 15-33297A, AZV ČR 15-27682A, VZ IKEM 00023001 and MZ ČR - RVO VFN64165

ANALÝZA STRUKTURY HYPOSIALOVANÉHO SÉROVÉHO APOLIPOPROTEINU C-III POMOCÍ HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE U PACIENTŮ S DĚDIČNÝMI PORUCHAMI METABOLIZMU GLYKOGENU.

¹Nina Ondrušková, ²Zuzana Pakanová, ¹Tomáš Honzík, ²Ján Mucha, ¹Jiří Zeman,
¹Hana Hansíková

¹Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch, Klinika dětského a dorostového lékařství, 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, ČR

²Chemický ústav, Slovenská Akadémia Vied, Bratislava, SR

Úvod: V naší pilotní studii jsme u pacientů s různými typy glykogenóz (glycogen storage diseases, GSD) našli pomocí isoelektrické fokusace zvýšený podíl hyposialovaného sérového apolipoproteinu C-III (ApoC-III), který se používá jako marker pro detekci vrozených poruch O-glykosylace. Cílem práce bylo analyzovat strukturu glykanů jednotlivých sialovaných forem ApoC-III v daném souboru pacientů s GSD pomocí hmotnostní spektrometrie.

Materiál a metody: Soubor tvořilo 47 vzorků séra od 30 pacientů s diagnózou glykogenózy (2x GSD typ 0, 7x Ia, 3x Ib, 6x II, 7x III, 1x VI a 4x IX) a od 2 pacientů s hypertriacylglycerolémii zapříčiněné deficitem lipoproteinové lipázy (LPL). Analýza glykosylace ApoC-III byla provedena pomocí dvou metod: A) isoelektrické fokusace (IEF; na přístroji PhastSystem, GE Healthcare) s následným Western blotem a B) hmotnostní spektrometrie (MS) MALDI TOF/TOF (UltrafleXtreme, Bruker Daltonics).

Výsledky: Pomocí IEF byl nalezen patologický profil ApoC-III, definovaný relativně sníženým disialo- a relativně zvýšeným monosialo- a/nebo asialoApoC-III, u pacientů s GSD typy Ia (4/7), Ib (3/4), VI (1/1), IX (4/5) a u všech jedinců s GSD III (7/7). Pozorovaná hypoglykosylace u daných vzorků byla potvrzena analýzou MS, která navíc umožnila stanovit složení asialo- frakce obsahující a) ApoC-III s glykanem o složení GalNAc-Gal (tj. bez obou terminálních zbytků kyseliny sialové) a b) ApoC-III bez glykanu. Nejvýznamnější hypoglykosylaci jsme pomocí IEF detekovali u skupiny pacientů s GSD III, s průměrnými hodnotami relativního zastoupení asialoApoC-III: 11.3 %, monosialoApoC-III: 68.7 % a disialoApoC-III: 20.1 % (vs. kontroly: 3.3 %, 53.3 % and 43.4 %). V těchto vzorcích MS analýza prokázala výrazně zvýšený podíl formy ApoC-III bez glykanu.

Závěr: Hyposializace sérového ApoC-III u pacientů s GSD typy III, VI a IX je spojena se sníženou obsazeností jeho glykosylačního místa. MS analýza potvrdila nálezy u ApoC-III pomocí IEF.

Podporováno: AZV16-31932A, RVO-VFN64165

NÁSLEDNÉ TESTOVANIE PRÍPADOV DMP POZITÍVNE IDENTIFIKOVANÝCH V POVINNOM A PERIFÉRNOM ROZŠÍRENOM SKRÍNINGU NOVORODENCŮ

Ostrožlíková M.¹, Behúlová D.¹, Holešová D.¹, Šebová C.¹, Brennerová K.², Bzdúch V.², Dolníková D.³, Letenayová I.³, Skokňová M.³, Šaligová J.⁴, Potočňáková L.⁴, Perečková J.¹, Šaligová A.¹, Škodová J.¹, Górová R.⁵, Ostrovský I.⁵, Knapková M.⁶

¹Centrum dedičných metabolických porúch Oddelenia laboratórnej medicíny, ²I. detská klinika, ³Neonatologická klinika intenzívnej medicíny, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Bratislava

⁴Detská fakultná nemocnica, Košice

⁵Experimentálne laboratórium metabolických analýz Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského, Bratislava

⁶Skríningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou, Banská Bystrica

Úvod a cieľ práce: Na Slovensku prebieha od 1.1.2013 rozšírený novorodenecký skríning (RNS) dedičných metabolických porúch (DMP) identifikovaných tandemovou hmotnostnou spektrometriou (MS/MS) v suchej kvapke krvi. Skríningové centrum novorodencov zachytáva 10 ochorení podľa odborného usmernenia MZ SR a ďalšie poruchy tzv. periférneho panelu. V Centre DMP v Bratislave sme uskutočňovali biochemicko-genetické následné testovanie časti pozitívne identifikovaných detí z oboch panelov porúch (s výnimkou fenyketonúrie). Cieľom práce bola retrospektívna analýza výsledkov z rokov 2013-2015.

Pacienti a metódy: Vyhodnotili sme všetky prípady (súbor 145 detí, 76 chlapcov a 69 dievčat, vo veku 7 dní až 2 mesiace), následne testovaných po pozitívnej identifikácii v RNS. V súvislosti so suponovanou diagnózou dieťaťa bolo v indikovaných prípadoch nutné vyšetriť aj rodičov, celkom 32 dospelých. Testovanie si vyžiadalo rozšírenie spektra laboratórnych vyšetrení o stanovenie karnitínu v moči technológiou MS/MS.

Výsledky: V paneli povinne skríňovaných sme overili 17 a v periférnom paneli 68 prípadov DMP (spolu 85 zo všetkých 145 testovaných). Vyskytli sa rôzne poruchy: 72 FAO (z toho 2 pacienti s koincidenciou 2 rôznych FAO), 11 OA, 2 AA. V 3 prípadoch nebola doteraz z rôznych príčin stanovená diagnóza. Primárny deficit karnitínu u dieťaťa sme z 27 suponovaných nepotvrdili, dominovali maternálne deficity karnitínu (častý bol výskyt spolu s deficitom vitamínu B12). Dokázali sme 2 novozistené DMP matiek.

Záver: V následne testovaných prípadoch je vysoké zastúpenie SCADD (pomer ku MCA-DD 4,5 : 1). Podľa regionálnej distribúcie sa vyskytli poruchy FAO aj mimo východoslovenského regiónu. Následné testovanie zachytilo 2 prípady DMP u matiek a upriamilo tiež pozornosť na nutričný status matiek testovaných detí. Vyšetrovanie po pozitívnej iden-

tifikácii v RNS bolo výzvou aj pre laboratórium: zavedenie novej vyšetrovacej metódy, algoritmov a interpretácia nálezov.

Práca podporená v rámci OP Výskum a vývoj, projekt ITMS 26240220007 a dopyto-vo-orientovaného projektu: Univerzitný vedecký park Univerzity Komenského v Bratislave, ITMS 26240220086.

NOVORODENECKÝ SKRÍNING CYSTICKEJ FIBRÓZY NA SLOVENSKU

Revťáková A¹., Knapková M¹., Sorkovská A¹., Dluholucký S².,

¹Skríningové centrum novorodencov SR, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Banská Bystrica, Slovenská republika

²Slovenská zdravotnícka univerzita, Banská Bystrica, Slovenská republika

Novorodenecký skríning pre cystickú fibrózu (CF) odhalí ochorenie už v novorodenekom veku, ešte pred nástupom klinických príznakov, čo predstavuje významný prínos vzhľadom na poskytnutie včasnej liečby. Celoplošné testovanie novorodencov zo suchej kvapky krvi na Slovensku sa vyšetruje od 1.2.2009. CF je autozómovo recesívna dedičná choroba, ktorá je podmienená mutáciou v géne kódujúcom CFTR na oboch alelách 7. chromozómu. Doposiaľ je známych viac ako 1000 mutácií. Princípom metódy je imunoluminometrické stanovenie imunoreaktívneho trypsínu (IRT) typu „sandwich“. Pri skríningu CF sa používa algoritmus IRT1/IRT2. Pre skríning CF je veľmi dôležité aj určenie etnika, nakoľko rómske etnikum má fyziologicky zvýšenú koncentráciu IRT. Cut off pre prvý odber (IRT/1), ktorý je realizovaný v neonatologických pracoviskách medzi 72. – 96. hodinou života novorodenca je 75 ng/mL, u rómskeho etnika je 85 ng/mL. Cut off pre druhý odber (IRT/2), ktorý je realizovaný pediatrom na 14. - 21. deň života novorodenca je 60 ng/mL a u rómskeho etnika je 65 ng/mL. Koncentrácia IRT so stúpajúcim vekom dieťaťa klesá. Pri opakovane zvýšenej koncentrácii IRT/2, hlási Skríningové centrum novorodencov SR dieťa pediatrovi a príslušnému recall centru cystickej fibrózy ako pozitívny novorodenecký skríning pre CF. Konečnú diagnózu potvrdí recall centrum cystickej fibrózy stanovením chloridov v pote a genetikou. Od 1.2.2009 do 31.12.2015 bolo vyšetrených 385 432 novorodencov a máme potvrdených 53 detí s cystickou fibrózou, incidencia ochorenia 1 : 7272 živorodených. U rómskeho etnika nebol zatiaľ potvrdený prípad cystickej fibrózy.

SECONDARY MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION IN TWO RELATED PATIENTS WITH MUTATION IN NGBR GENE

¹Rodinová M., ¹Ondrušková N., ¹Křížová J., ¹Honzík T., ¹Tesařová M., ²Stránecký V.,

²Barešová V., ²Hůlková H., ²Kmoch S., ¹Zeman J., ¹Hansíková H.

¹Laboratory for study of mitochondrial disorders, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine,

²Institute of Inherited Metabolic Disorders First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague

Nogo-B receptor (NgBR) is evolutionary conserved protein localised in the membrane of endoplasmic reticulum.

Together with prenyltransferase, NgBR creates I complex for dolichol synthesis, which is essential for N-glycosylation of proteins. Dysfunction of NgBR causes decreased manno-se incorporation during N-glycosylation, cholesterol cummulation and higher ER stress. Dolichol intermediates are localized also in membranes of Golgi apparatus, lysosomes or mitochondria where they for example help against reactive reactive oxygen species or lipid damage.

In our study we studied skin fibroblasts (P1, P2), muscle (P1), heart and brain (P2) from 2 brothers (unrelated parents - heterozygotes) with mutation R290H in C-terminal domain of NgBR protein. They suffered from congenital glycosylation disorder, scoliosis, retinitis pigmentosa and neuronal defects.

Protein amount of selected subunits of respiratory chain complexes (RCC) was detected by immunoelectrophoretic methods and by dipstick immunocapture analysis (Mitosciences), mitochondrial network was visualized using fluorescent microscopy, mitochondrial ultrastructure and tissue organisation were detected by transmission electron microscopy.

Decreased cristae number, swollen mitochondria and unequally distributed network were detected in fibroblasts. Decreased level of RCC subunits CoxII and NDUFA9 were detected and lowered amount of CIV in fibroblasts from P1.

Our results show, secondary mitochondrial dysfunction caused by mutation R290H in C-terminal domain NgBR gene can considerably participate on pathological effects of non-mitochondrial glycosylation defect.

Supprted by: AZV16-31932A, GAČR MITOCENTRUM 14-36809b, RVO-VFN64165

TANDEM MASS SPECTROMETRY PROFILING OF SULFATIDE ISOFORMS IN DRY URINARY SPOTS (DUS): OPTIMIZATION AND SELECTIVE SCREENING OF METACHROMATIC LEUKODYSTROPHY AMONG PSYCHIATRIC PATIENTS

Růžička P.^{1,3}, Kuchař L.¹, Asfaw B.¹, Ledvinová J.¹, Kopeček M.²

¹ Institute of Inherited Metabolic Diseases, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Charles University, Prague

² National Institute of Mental Health, Klecany

³ Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague

Metachromatic leukodystrophy (MLD) is an autosomal recessive disorder caused by a deficiency of lysosomal arylsulfatase A (ASA) resulting in accumulation of sulfatides and demyelination of the nervous system.

The clinical onset and severity of MLD show great variation. In the adult form, behavioral disturbances and dementia are the major presenting signs, often inducing misdiagnosis of a psychosis.

Diagnosis of MLD is based on clinical symptoms, determination of ASA activity and DNA assay.

Since there is no specific treatment for MLD, prevention of the disease and carrier identification play a key role.

A method of sulfatide analysis in urine was developed by Kuchař (2013). This non-invasive method is based on selected sulfatide isoforms profiling relative to the indigenous C18:0 variant.

We are in the process of further optimizing the method in terms of use of DEAE papers (cost reduction) and semi-quantification analysis and in parallel we started MLD screening among adult psychiatric patients.

Conclusions:

MS/MS profiling of sulfatides from dry urine samples is a simple method with robust results and is suitable for screening.

DEAE paper provides similar results as DEAE membranes and using of DAEA-cellulose paper is an economic alternative to DAEA-cellulose membranes.

Screening of MLD among selected psychiatric patients started and it will be a subject of future report.

References

- von Figura K. Scriver's OMMBID Chapter 148: Metachromatic Leukodystrophy. The McGraw-Hill 2011
- L Kuchař et al.: Clinica Chimica Acta 425 (2013) 153–159

METODICKÉ PŘÍSTUPY KE STANOVENÍ ZEŠIKMENÍ X-INAKTIVACE

Řeboun M.¹, Mušálková D.¹, Veselková T.¹, Trešlová H.¹, Hřebíček M.¹, Dvořáková L.¹

¹ Ústav dědičných metabolických poruch 1. LF UK a VFN, Praha, Česká republika

Stupeň zešikmení X-inaktivace (XCI) je jednou ze základních charakteristik uváděných u žen, které jsou heterozygotkami pro X-vázaná onemocnění. Pro vyšetření XCI používáme metody založené na vyšetření stavu methylace ve čtyřech lokusech (*HUMARA*, *CNKSR2*, *TMEM185A*, *HMGB3*). Dále jsme zavedli metodu analýzy transkriptu založenou na hlubokém sekvenování RT-PCR produktů obsahujících tři běžně se vyskytující polymorfismy v genech *IDS*, *LAMP2* a *ABCD1*. Analýza transkriptu je založena na stanovení poměru alel v heterozygotních SNP s využitím přístroje MiSeq (Illumina).

V této práci jsme se zaměřili na možná úskalí interpretace získaných výsledků.

U tří žen byly porovnávány výsledky vyšetření transkriptu s metodou *HUMARA*. U dvou žen oba typy metod ukázaly shodné výsledky (rozptyl 5%), u třetí ženy se vyšetření transkriptu shodovalo (*ABCD1* 67:33, *LAMP2* 73:27), ale *HUMARA* ukázala odlišný výsledek (83:17).

U pacientky s deficitem OTC jsme porovnávali výsledky ze tří methylsensitivních lokusů (*CNKSR2*, *TMEM185A*, *HMGB3*) s mírou transkripce mutované alely (c.583G>C) v genu *OTC*. Vyšetřili jsme 25 vzorků jater a 1 vzorek periferní krve, u jaterních vzorků byla XCI stanovená methylačními metodami v rozmezí 45:55 až 82:18 s průměrnou hodnotou 70:30 ve prospěch mutované alely. Průměrná hodnota se shodovala s výsledkem vyšetření transkripce (73:27), jednotlivé vzorky vykazovaly rozptyl 41-96 %. Protože k expresi *OTC* v krvi nedochází, byla provedena pouze methylační analýza (XCI: 57:43).

V rodině s mutací v genu *AIFM1* nebyla pozorovatelná korelace fenotypu s výsledky XCI. Pomocí kitu Elucigene jsme analyzovali možnou přítomnost crossing-over, u jednotlivých členů rodiny. Tento jev jsme potvrdili v různých oblastech X chromosomu u dvou ze tří dcer a u obou synů.

Z porovnání jednotlivých analýz vyplývá, že používané metody obvykle dávají shodné výsledky. Rozložení XCI v solidní tkáni je heterogenní, biopsie nemusí dát reprezentativní výsledky. Vyšetření několika lokusů je užitečné z hlediska získání přesnějšího výsledku i z hlediska snížení rizika chybné interpretace výsledků z důvodu přítomnosti crossing-over.

Podpora: RVO-VFN64165/2012, GA UK 42314, GA UK 580716

INTERMITENTNÍ FORMA MSUD – KLINICKÉ A BIOCHEMICKÉ NÁLEZY A CHYBNÁ DIAGNÓZA

*Smolka V.¹, Tkachyk O.¹, Hlídková E.², .Bekárek V.², Fridecký D.², Janečková H.²,
Godava M.³, Adam T.²*

¹Dětská klinika, Fakultní nemocnice, Olomouc

² Laboratoř dědičných metabolických poruch, Fakultní nemocnice, Olomouc

³ FETMED - centrum fetální medicíny a genetiky, Olomouc

Nemoc javorového sirupu (MSUD) je autosomálně recesivně dědičné metabolické onemocnění, jehož příčinou je porucha metabolismu rozvětvených aminokyselin (AMK) v důsledku deficitu enzymatického komplexu dehydrogenázy rozvětvených alfa ketokyselin (BCKD). Komplex BCKD je tvořen 3 katalytickými komponentami E1 (E1 α a E1 β podjednotka), E2, E3 a 2 regulačními enzymy (kináza a fosforyláza). MSUD je podmíněna mutacemi genů BCKDHA (E1 α), BCKDHB (E1 β) a DBT (E2). U klasické MSUD je aktivita enzymu <2%, u pacientů s intermitentní formou nemoci je od 5 do 20%. Na rozdíl od klasické novorozenecké formy MSUD se intermitentní forma manifestuje při banální infekci dýchacích cest nebo gastrointestinálního traktu poruchou vědomí, ataxií a metabolickou acidózou. Při vyšetření v době krize jsou přítomny vyšší hladiny rozvětvených AMK (leucin, izoleucin, valin) a alloizoleucinu, které jsou v období mimo akutní epizody normální a psychomotorický vývoj pacientů je příznivý.

V rámci novorozeneckého skríninku jsme diagnostikovali 4 děti s podezřením na MSUD. 2 pacienti měli prokázanou klasickou novorozeneckou formu, u jednoho pacienta průběhu nemoci odpovídal intermitentní formě nemoci a u jednoho šlo s velkou pravděpodobností o falešně pozitivní nález. Prezентujeme pacienta s intermitentní formou potvrzenou genetickou analýzou a pacienta s falešně pozitivní diagnózou z novorozeneckého skríninku. Kromě těchto dvou pacientů ještě popisujeme kazuistiku 3 dětí, které v době banální infekce byly přijaty pro poruchu vědomí a metabolickou acidózu. Metabolické vyšetření ukázalo zvýšené hladiny sledovaných rozvětvených AMK, ale bez přítomnosti alloizoleucinu. Genetická analýza nepotvrdila úplně jednoznačně diagnózu MSUD.

Závěr: Diagnóza intermitentní MSUD by měla být zvážena u pacientů s poruchou vědomí a acidózou při interkurentní infekci. Vyšší hladiny rozvětvených AMK však mohou být sekundárně přítomny i u některých jiných klinických stavů. Přítomnost alloizoleucinu při vyšetření AMK se jeví jako nejsenzitivnější a nejspecifičtější diagnostický marker pro MSUD.

„ Čo sa skrýva za autizmom...

Szokeová A. , Čiljaková M., Vojtková J., Bánovčin P.

Klinika detí a dorastu JLF UK Martin

V našej kazuistike sa venujeme 4,5 ročnému chlapčekomu s oneskoreným vývojom reči . U dieťaťa po proťahovanom infekte vo veku 2 roky došlo k regresu psychomotorického vývoja.

Anamnestické údaje o gravidite , pôrode a popôrodnom období sú bez záťaže , ranné vývojové obdobie dieťaťa je bez patológie. Rodinná anamnéza je negatívna.

Od 2 roku života zhoršený spánok ,anxiozita až panické prejavy, v kolektíve detí sa nevie zaradiť. Prítomné stereotypy, autistické črty v správaní .

V rámci diferenciálnej diagnostiky, pátrame po možnej dedičnej metabolickej poruche, kde prítomné zmeny v metabolizme mastných kyselín, výsledky laboratórnych vyšetrení vyslovujú podozrenie na poruchu mastných kyselín s krátkym reťazcom. T.č. pokračujeme v diagnostike na úrovni genetiky...

Abecedný zoznam autorov

Adam T.	14, 19, 33, 34, 35, 55, 77
Addová G.	14, 56
Asaw B.	15, 18, 63, 64, 75
Bánovčin P.	19, 78
Barešová V.	9, 18, 36, 38, 74
Barić I.	16, 65
Barišić I.	16, 65
Bártl J.	12, 15, 39, 48, 63
Bártlová P.	13, 49
Bašovský M.	11, 47
Baumgartner M.	39
Behúlová D.	13, 14, 18, 22, 32, 50, 56, 71
Bekárek V.	19, 77
Berná L.	24
Bleyer A. J.	36
Bohuslavová B.	15, 61
Bolar N. A.	36
Borovský M.	22
Borská R.	13, 54
Bradová R.	14, 60
Brennerová K.	7, 13, 18, 22, 32, 50, 71
Burda P.	39
Bzdúch V.	9, 13, 16, 18, 22, 32, 50, 65, 71
Čavar S. Z.	34
Čiljaková M.	19, 78
Dénešiová Z.	11, 43
Djordjevic M.	16, 65
Dluholucký S.	13, 18, 50, 52, 73
Dobiášová J.	13, 49
Dolníková D.	71
Dubská I.	14, 58
Dvořáková L.	13, 16, 17, 19, 24, 39, 53, 65, 68, 76
Ellederová Z.	15, 61
Faber E.	33
Fajkusová L.	13, 54
Feyreisel J.	14, 58
Fialová M.	15, 24, 64
Fowler B.	39
Friedecký D.	9, 14, 19, 33, 34, 35, 55, 77
Fumič K.	16, 65
Gardio A.	33
Godava M.	19, 77
Golzio Ch.	36
Gombíková L.	14, 58
Górová R.	13, 14, 18, 50, 50, 56, 71
Gregorová E.	11, 43
Häberle J.	7, 21
Haláčková H.	14, 58
Hálová K.	7, 11, 43
Hansíková H.	14, 15, 17, 18, 60, 61, 74
Hartmanová H.	36
Hatalová	22
Hedelová M.	11, 45
Hlavatá A.	14, 16, 25, 56, 65
Hlídková E.	14, 19, 55, 77
Hnízda A.	36
Hnízdová Boučková M.	14, 57
Hodaňová K.	36
Hodík J.	13, 49
Holešová D.	13, 14, 18, 50, 56, 71
Honzík T.	11, 14, 17, 18, 39, 44, 60, 74
Honzíková J.	24
Horník P.	13, 49
Hron K.	33
Hrubá E.	11, 14, 16, 24, 46, 57, 65
Hrubá Z.	11, 46, 47
Hrušková Š.	22
Hřebíček M.	19, 39, 76
Hůlková H.	18, 36, 74
Hyánek J.	14, 58
Chandoga I.	28
Chandoga J.	13, 28, 50
Chodorová I.	13, 49
Chrastina P.	14, 39, 57
Ilenčíková D.	41

Jáčová J.	9, 14, 33, 34, 55
Jahnová H.	12, 24, 48
Janečková H.	14, 19, 33, 55, 77
Jedličková I.	36
Ješina P.	9, 24, 39
Jořenek M.	34
Jungová P.	26, 28
Jurdáková H.	14, 56
Juríčková K.	7, 26
Kalina T.	17, 68
Karabul N.	8, 29
Karlíková R.	33
Kecman B.	16, 65
Klímová E.	13, 49
Kluijtmans I. A. J.	35
Kmoch S.	14, 17, 18, 36, 38, 60, 68, 74
Knapková M.	13, 16, 18, 50, 52, 67, 71, 73
Knopová S.	14, 60
Kohút V.	11, 43
Kolárová H.	8, 11, 44
Kolníková M.	8, 25, 30,
Kolský A.	11, 45
Komárková J.	11, 45
Konečná P.	11, 47
Kopeček M.	18, 75
Kopečková I.	13, 54
Košťálová E.	8, 11, 24, 46, 47
Koubíková H.	13, 49
Kousal B.	17, 68
Kovács L.	41
Kovačiková T.	12, 48
Kožich V.	14, 39, 57
Kratochvílová H.	14, 15, 60, 61
Krebsová A.	17, 68
Krijt J.	12, 39, 48
Krijt M.	38
Krotká J.	11, 45
Křížová J.	15, 18, 61, 74
Kubánek M.	17, 68
Kubů S.	14, 58
Kuchař L.	8, 18, 24, 31, 75

Kukačková K.	14, 57
Kulhánek J.	15, 16, 63, 64, 65
Ledvinová J.	13, 18, 24, 31, 53, 75
Letenayová I.	18, 71
Liskova P.	17, 68
Lisyová J.	13, 50
Loeys B. L.	36
Macáková M.	15, 61
Magner M.	15, 16, 63, 64, 65
Machková M.	16, 67
Majer F.	17, 68
Malinová V.	13, 24, 53
Martincová O.	8, 11, 12, 46, 48
Mařík I.	15, 63
Mičová J.	14, 55
Mičová K.	33
Miková J.	14, 58
Mistrik M.	22
Motlík J.	15, 61
Mucha J.	17
Mušálková D.	19, 76
Mydlová Z.	16, 67
Nagyová G.	41
Najdekr L.	33, 34
Ondrušková N.	17, 18, 74
Ostrovský I.	13, 14, 18, 56, 71
Ostrožliková M.	13, 14, 18, 22, 50
Pakanová Z.	17
Pavlok A.	15, 61
Payerová J.	30
Pazdírková R.	8, 11, 45
Pehal F.	14, 58
Perečková J.	13, 50, 71
Perečková J.	18
Pešková K.	12, 13, 16, 24, 48, 49, 53, 65
Petránková V.	13, 49
Petrovič R.	7, 28,
Piherová L.	17, 68
Pinkasová R.	13, 49
Potočnáková L.	13, 18, 50, 71
Poupětová H.	7, 13, 15, 16, 24, 31, 53, 63, 64, 65

Procházková D.	8, 11, 47
Příbylová M.	13, 49
Přistoupilová A.	14, 36, 60
Ramadža D.	16, 65
Ramos Rivera G.	30
Repiský M.	28
Revťáková A.	16, 18, 67, 73
Rodinová M.	14, 18, 60, 74
Růžička P.	18, 75
Řeboun M.	13, 16, 19, 53, 65, 76
Řepík T.	11, 46
Sarajlija A.	16, 65
Sikora J.	17, 31, 68
Skalická K.	10, 41
Skokňková M.	13, 18, 50, 71
Slavičková L.	11, 47
Smolka V.	19, 77
Sorkovská A.	18, 73
Součková O.	38
Sovová J.	36
Stará V.	17, 68
Stehlíková K.	13, 54
Stolnaja L.	13, 53
Stránecký V.	14, 17, 18, 36, 60, 68, 74
Sýkora P.	30
Szokeová A.	19, 78
Šaligová J.	13, 14, 18, 50, 56, 71
Šalingová A.	14, 18, 56, 71
Šebová C.	13, 14, 18, 50, 56, 71
Šíroká J.	33
Škodová J.	13, 18, 22, 50, 71

Škopová V.	38
Špalek J.	26
Špička J.	11, 45
Štorkánová G.	13, 53
Švecová Š.	15, 63
Táborský L.	14, 58
Tarkowski P.	34
Tárnoková S.	13
Tesařová M.	11, 14, 15, 18, 43, 60, 63, 74
Tkachyk O.	19, 77
Trešlová H.	19, 76
Václavík J.	9, 35
Vacuška M.	14, 57
Veselková T.	19, 76
Vlášková H.	13, 16, 17, 39, 53, 65, 68
Vlášková H.	14, 57
Vojtková J.	19, 78
Vorbel I.	33
Votruba M.	36
Vylefal P.	36
Vývleková B.	16, 67
Wevers R.	35
Zajoncová L.	34
Zeman J.	11, 15, 16, 17, 18, 24, 44, 60, 61, 63, 64, 65, 74
Zikánová M.	38
Zikmund J.	11, 45
Zlatohlávková P.	14, 57
Živná M.	9, 36



Jeff

LIVING WITH POMPE DISEASE



Alyssa

LIVING WITH EPIDERMOLYSIS BULLOSA



Michael

LIVING WITH FABRY DISEASE

Our passion for making a difference unites us.

Amicus is committed to
improving the lives of
patients and families
affected by rare and
orphan diseases.



A Clinical-stage Biotechnology Company

At the Forefront of Therapies for Rare
and Orphan Diseases®

NOVÝ

Index klinické suspekce Niemann-Pickovy choroby typu C

Správně rozpoznaná kombinace
projevů a symptomů zlepší diagnostiku
Niemann-Pickovy choroby typu C (NP-C)



Navštivte **www.npc-si.cz**,
kde zjistíte více o projevech
NP-C a můžete vyhodnotit
Index klinické suspekce NP-C.



ZKRÁCENÁ INFORMACE O LÉČIVÉM PŘÍPRAVKU ZAVESCA

Název přípravku: Zavesca 100 mg tvrdé tobolky. **Složení:** 1 tobolka obsahuje miglustatum 100 mg. Pomocné látky.

Terapeutické indikace: Perorální léčba dospělých pacientů s mírnou až střední formou Gaucherovy choroby typu 1, pro které není vhodná enzymatická substituční terapie. Léčba progredujících neurologických projevů u dospělých a dětských pacientů s Niemannovou-Pickovou chorobou typu C. **Dávkování a způsob podání:** Lékař musí mít zkušenosti s léčbou Gaucherovy, resp. Niemannovy-Pickovy choroby typu C. Gaucherova choroba typu 1: Doporučená úvodní dávka u dospělých pacientů je 100 mg 3x denně. Kvůli průměrnému může být nutné dočasné snížení dávky na 100 mg 1x nebo 2x denně. U dětí a dospívajících ve věku 0-17 let nejsou k dispozici žádné údaje. Niemann-Pickova choroba typu C: Doporučená dávka pro dospělé a mladistvé pacienty (ve věku 12 let a starší) je 200 mg 3x denně. Dávkování u pacientů mladších 12 let by se mělo upravit vzhledem k povrchu těla v m² následovně: plocha povrchu těla >1,25 m² 200 mg 3x denně, >0,88–1,25 m² 200 mg 2x denně, >0,73–0,88 m² 100 mg 3x denně, >0,47–0,73 m² 100 mg 2x denně a ≤0,47 m² 100 mg 1x denně. U některých pacientů je nutné dočasné snížení dávky vzhledem k průměru. Prospěch léčby je třeba pravidelně vyhodnocovat. U pacientů s Niemann-Pickovou chorobou typu C mladších 4 let jsou jen omezené zkušenosti. Zvláštní populace: Neexistuje žádná zkušenost s použitím přípravku u pacientů starších 70 let. U pacientů s poškozením ledvin a upravenou clearance kreatininu 50–70 ml/min/1,73 m² musí být podávání zahájeno dávkou 100 mg 2x denně u Gaucherovy choroby typu 1 a dávkou 200 mg 2x denně (upravenou vzhledem k tělesnému povrchu u pacientů mladších 12 let) u Niemann-Pickovy choroby typu C; s upravenou clearance kreatininu 30–50 ml/min/1,73 m² dávkou jednou 100 mg 1x denně u Gaucherovy choroby typu 1 a dávkou 100 mg 2x denně (upravenou vzhledem k tělesnému povrchu u pacientů mladších 12 let) u Niemann-Pickovy choroby typu C. Užití u pacientů s vážným poškozením ledvin (clearance kreatininu <30 ml/min/1,73 m²) se nedoporučuje. U pacientů s poškozením jater nebyl přípravek hodnocen. Zavesca se může užívat s jídlem i bez jídla. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění a opatření pro použití:** Třes obvykle začal během prvního měsíce a ustoupil v průběhu léčby mezi prvním až třetím měsícem. Snížení dávky může třes zlepšit, ale někdy může být nezbytné přerušit léčbu. Miglustatem navozené gastrointestinální příhody, zejm. průjemy, reagují na individualizovanou úpravu diety, na užívání přípravku Zavesca mezi jídly a/nebo protiprůjmové léky jako loperamid. U některých pacientů může být nutné dočasné snížení dávky. Miglustat u potkanů nepříznivě ovlivňuje spermatogenezi, parametry spermatu a snižuje plodnost. Muži musí před plánovaným početím přestat užívat přípravek Zavesca a používat spolehlivou antikoncepci ještě další 3 měsíce po jeho vysazení. U Gaucherovy choroby typu 1 neexistuje důkaz o tom, že je Zavesca v účinnosti a bezpečnosti prospěšnější než ERT (Enzyme Replacement Therapy). Byly hlášeny případy periferní neuropatie s nebo bez souběžných stavů, jako jsou nedostatek vitamínu B12 a monoklonální gamapatie. Všichni pacienti musí podstoupit neurologické vyšetření před zahájením a dále opakovaně v průběhu léčby. Doporučuje se sledování počtu krevních destiček. Přínos léčby přípravkem Zavesca u Niemann-Pickovy choroby typu C by se měl pravidelně vyhodnocovat, např. každých 6 měsíců. Byla pozorována mírná snížení počtu krevních destiček bez souvislosti s krvácením, doporučuje se sledování počtu destiček. U některých pediatrických pacientů s Niemann-Pickovou chorobou typu C byl v časně fázi léčby miglustatem hlášen zpomalený růst, u nich a dospívajících by se měl růst monitorovat. **Interakce s jinými léčivými přípravky:** Současné podávání přípravku Zavesca a enzymatické substituce imiglucerázou u Gaucherovy choroby typu 1 může mít za následek snížené působení miglustatu. Zavesca pravděpodobně nemá žádný nebo pouze omezený vliv na farmakokinetiku imiglucerázy. **Fertilita, těhotenství a kojení:** Miglustat prostupuje placentou. Přípravek Zavesca nesmí být užíván v těhotenství a během kojení. Ženy v reprodukčním věku i mužští pacienti musí používat spolehlivý způsob antikoncepce. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Zavesca má zanedbatelný vliv na schopnost řídit nebo obsluhovat stroje. Pacienti trpící závratí, nesmí řídit vozidla nebo obsluhovat stroje. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté: úbytek tělesné hmotnosti, pokles chuti k jídlu, třes, průjem, flatulence, bolest břicha. Časté: trombocytopenie, deprese, insomnie, pokles libida, periferní neuropatie, ataxie, amnézie, parestézie, hypoestézie, bolest hlavy, závrať, nauzea, zvracení, břišní distenze/diskomfort, zácpa, dyspepsie, svalové křeče a slabost, únava, astenie, zimnice a malátnost, abnormální výsledky studií nervového vedení. **Předávkování:** V případě předávkování se doporučuje obecná lékařská péče. **Zvláštní opatření pro uchování:** Uchovávejte při teplotě do 30°C. **Balení:** Krabička obsahuje 4 blistry po 21 tobolkách, celkem 84 tobolek. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Actelion Registration Ltd, Chiswick Tower, London W4 4AL, Velká Británie. **Reg. č.:** EU/1/02/238/001. **Způsob výdeje a úhrady:** Přípravek je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. **Datum revize textu:** Říjen 2015. Před předepsáním léku se prosím seznámte s úplnou informací o přípravku.



NUTRICIA
Metabolics

**PARTNER PŘI LÉČBĚ
DĚDIČNÝCH
METABOLICKÝCH
PORUCH**



Tento materiál je určen pro odbornou veřejnost. MET16PHAPAT59CZ

Nutricia a.s.
Na Hřebenech II 1718/10,
140 00 Praha 4
www.nutriciaomedical.cz

Infolinka: 800 110 001
Web: www.svet-pku.cz
E-mail: svet-pku@nutricia.com
www.facebook.com/svet.pku

NUTRICIA
Metabolics