

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Leona Marinčinová

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Galaktosémie

Leona Marinčinová

Bakalářská práce

2021

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

Galactosemia

Leona Marinčinová

Bachelor work

2021

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2020/2021

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Leona Marinčinová**  
Osobní číslo: **C18398**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Galaktosémie**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

### Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se galaktosémie.
2. V úvodu uvést charakteristiku tohoto onemocnění.
3. V dalších kapitolách popsat genetickou podstatu, klinické příznaky a diagnostiku.
4. V závěru uvést možnosti léčby a incidenci onemocnění v populaci.

Rozsah pracovní zprávy: 25 s.  
Rozsah grafických prací: dle potřeby  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.**  
děkan

---

**prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 28. 6. 2021

Leona Marinčinová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Chtěla bych poděkovat vedoucí své bakalářské práce Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a velkou ochotu, kterou mi v průběhu psaní této práce věnovala. Dále bych ráda poděkovala doc. RNDr. MUDr. Pavlu Ješinovi, Ph.D. a MUDr. Pavlu Srnskému za zprostředkování kontaktu s Ing. Janou Hrstkovou, matkou malé pacientky s galaktosémií. Tímto patří dík i jí za poskytnutí informací, jichž jsem využila v kazuistice.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce se zabývá dědičným metabolickým onemocněním – galaktosémií. Jedná se o poruchu zpracování galaktózy, která je způsobená mutacemi v genech enzymů Leloirovy dráhy. Teoretická část práce je zaměřena na příčinu onemocnění, genetickou podstatu, klinické projevy, diagnostiku a léčbu. Druhá část práce se věnuje kazuistice a popisuje zdravotní komplikace mladé pacientky.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Galaktosémie, galaktóza, Leloirova dráha, metabolická porucha

## **ANNOTATION**

This bachelor work deals with an inherited metabolic disease – galactosemia. This is a galactose processing disorder caused by mutations in the genes of the enzymes of the Leloir pathway. The theoretical part of the work focuses on the cause of the disease, genetic features, symptoms, diagnosis and treatment. The second part of the thesis deals with the case study and describes the health complications of a young patient.

## **KEYWORDS**

Galactosemia, galactose, Leloir pathway, metabolic disorder



## SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1 Haworthův vzorec glukózy a galaktózy .....	14
Obrázek 2 Leloirova dráha .....	16
Obrázek 3 Model galaktózové mutarotázy bakterie <i>L. lactis</i> .....	18
Obrázek 4 Model galaktokinázy bakterie <i>L. lactis</i> .....	19
Obrázek 5 Model galaktóza-1-fostáfuridyltransferázy <i>E. coli</i> .....	20
Obrázek 6 Model lidské uridyldifosfátgalaktóza-4-epimerázy .....	21
Tabulka 1 Jídelníček pacientky 14. 10. 2015.....	38
Tabulka 2 Jídelníček pacientky 27. 1. 2017.....	39

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CRP	C-reaktivní protein
D1	Duarte galaktosémie typu 1
D2	Duarte galaktosémie typu 2
GALE	uridyldifosfátgalaktóza-4-epimeráza
GALK	galaktokináza
GALM	galaktózová mutarotáza
GALT	galaktóza-1-fosfáturidyltransferáza
GLUT	glukózový transportér (glucose transporter)
IQ	intelligenční kvocient
NADPH	redukovaný nikotinamidadeninukleotidfosfát
POI	předčasná ovariální insuficience
SGLT	sodíko-glukózový transportér (sodium-glucose linked transporter)
UDP	uridindifosfát
UMP	uridinmonofosfát
VFN	všeobecná fakultní nemocnice

# OBSAH

ÚVOD .....	13
1 SACHARIDY .....	14
1.1 Galaktóza .....	14
1.1.1 Metabolismus galaktózy .....	15
1.2 Glukóza .....	16
2 ENZYMY LELOIROVY DRÁHY .....	17
2.1 Galaktózová mutarotáza .....	17
2.2 Galaktokináza .....	18
2.3 Galaktóza-1-fosfáturydyltransferáza .....	19
2.4 Uridyldifosfátgalaktóza-4-epimeráza .....	20
3 GALAKTOSÉMIE .....	22
3.1 Galaktosémie I. typu .....	22
3.1.1 Příčina galaktosémie I. typu.....	22
3.1.2 Genetická podstata .....	23
3.1.3 Klinické projevy .....	24
3.1.4 Diagnostika .....	25
3.1.5 Léčba.....	26
3.1.6 Prevalence a prognóza .....	27
3.2 Galaktosémie II. typu.....	27
3.2.1 Příčina galaktosémie II. typu .....	28
3.2.2 Genetická podstata .....	28
3.2.3 Klinické projevy .....	28
3.2.4 Diagnostika .....	29
3.2.5 Léčba.....	29
3.2.6 Prevalence a prognóza .....	29
3.3 Galaktosémie III. typu .....	29
3.3.1 Příčina galaktosémie III. typu.....	29
3.3.2 Genetická podstata .....	30
3.3.3 Klinické projevy .....	30
3.3.4 Diagnostika .....	30
3.3.5 Léčba.....	31
3.3.6 Prevalence a prognóza .....	31
3.4 Galaktosémie IV. typu .....	31
3.4.1 Příčina galaktosémie IV. typu.....	31

3.4.2 Genetická podstata .....	32
3.4.3 Klinické projevy .....	32
3.4.4 Diagnostika .....	32
3.4.5 Léčba.....	32
3.4.6 Prevalence .....	33
4 NOVOROZENECKÝ SCREENING .....	34
4.1 Novorozenecký screening při galaktosémii .....	34
4.1.1 Metody novorozeneckého screeningu galaktosémie .....	34
5 KAZUISTIKA .....	36
5.1 Osobní anamnéza .....	36
5.2 Rodinná anamnéza .....	36
5.3 Hospitalizace.....	36
5.4 Průběh onemocnění a diagnostika .....	37
5.5 Léčba.....	37
5.6 Dlouhodobé komplikace .....	39
5.6.1 Neurologie .....	39
5.6.2 Gynekologie.....	40
5.6.3 Oftalmologie .....	40
5.6.4 Logopedie .....	40
5.6.5 Psychologie.....	40
ZÁVĚR .....	41
POUŽITÁ LITERATURA .....	42
PŘÍLOHA 1 .....	50

## ÚVOD

Galaktosémie je vrozená metabolická porucha, která ovlivňuje zpracování galaktózy v organismu. Galaktóza je jednoduchý cukr, který je spolu s glukózou součástí disacharidu laktózy. Laktóza je tzv. mléčný cukr, nachází se v mléčných výrobcích a kojeneckých výživách. [1]

Galaktosémie byla poprvé popsána v roce 1908 v publikaci Von Ruessa, která se týkala neprospívajícího kojeného dítěte. Do roku 1917 byla nemoc uznávána jako dědičná porucha a byla léčena vynecháním mléčných výrobků ze stravy. Onemocnění bylo poprvé podrobně popsáno v roce 1935 Masonem a Turnerem. Defektní gen, který galaktosémii způsobuje, byl nalezen až v roce 1956. Významným průlomem ve zkoumání bylo v roce 1963 zjištění, že je onemocnění detekovatelné skrz novorozeneckou screeningovou metodu. Později bylo zjištěno, že galaktosémii může způsobit defekt i jiných genů. Tím byly objeveny i další dva typy galaktosémie, které dnes běžně rozeznáváme. [2, 3]

V současné době rozeznáváme čtyři typy galaktosémie. Jejich rozdělení probíhá podle toho, zda dojde k mutaci v genu galaktóza-1-fosfáturidylyltransferázy (GALT), galaktokinázy (GALK) nebo uridyldifosfátgalaktóza-4-epimerázy (GALE) nebo v genu galaktózové mutarotázy (GALM). Tyto geny dávají pokyny k tvorbě enzymů, které jsou nezbytné pro správné zpracování galaktózy v těle. [1, 4]

Klasická galaktosémie je označována jako typ I. Je způsobena mutací v genu GALT a deficitem enzymu galaktóza-1-fosfáturidylyltransferázy. Je to nejčastější a nejtěžší forma tohoto onemocnění. Pokud nejsou novorozenci s tímto typem ihned léčeni, může dojít k život ohrožujícím komplikacím. Výsledkem mutací genu GALK1 je další typ galaktosémie – typ II. Při tomto typu je v těle nedostatek enzymu galaktokinázy, který napomáhá přeměně galaktózy na galaktóza-1-fosfát. Dalším typem je typ III. Vzniká důsledkem mutace genu GALE. V těle je nedostatek uridyldifosfátgalaktóza-4-epimerázy, enzymu, který u zdravého jedince též napomáhá při metabolismu galaktózy. Posledním ne příliš probádaným typem je typ IV. Jde o mutace genu GALM. Galaktosémie typu II a IV nezpůsobují tak velké zdravotní problémy jako klasický typ. U galaktosémie typu III mohou být příznaky mírné, ale i závažné. [1, 4]

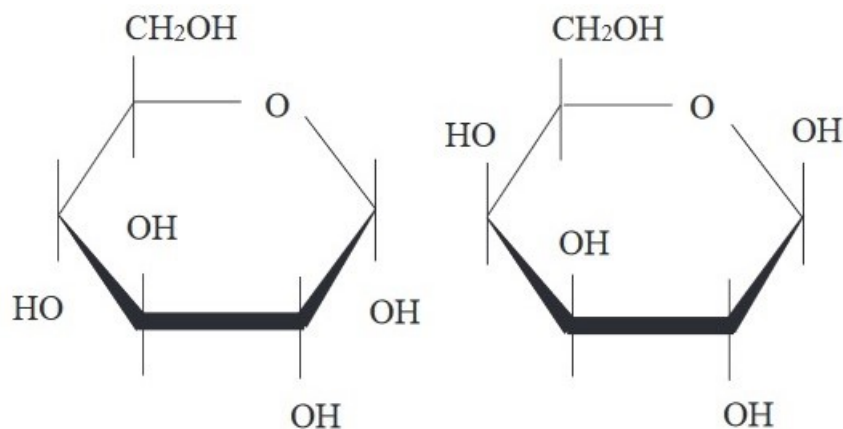
# 1 SACHARIDY

Sacharidy jsou organické látky, které se skládají z uhlíku, vodíku a kyslíku. Patří do skupiny karbonylových sloučenin. Člověk je získává zejména z potravin rostlinného původu. Rostliny sacharidy syntetizují z oxidu uhličitého a vody pomocí fotosyntézy. Pro lidské tělo jsou hlavním zdrojem získávání energie. [5]

Jednou z možností klasifikace sacharidů je počet cukerných jednotek. Nejjednodušší sacharidy jsou monosacharidy. Obsahují právě jednu cukernou jednotku. Příkladem může být glukóza, fruktóza nebo galaktóza. Další formou jsou oligosacharidy. Nejvýznamnější skupinou z oligosacharidů jsou disacharidy, které jsou tvořeny dvěma cukernými jednotkami. Příkladem je sacharóza, laktóza nebo maltóza. Oligosacharidy nejsou v zažívacím traktu člověka plně stravitelné. Lidskému tělu chybí enzym, který by je dokázal strávit. Procházejí tak až do tlustého střeva, kde jsou rozloženy bakteriemi. Sacharidy s větším počtem jednotek se nazývají polysacharidy. Dle nutričního hlediska se polysacharidy dělí na škroby a neškrobové polysacharidy. Základní stavební jednotkou škrobů je glukóza. Jsou složeny buď do přímého řetězce (amylózy), nebo do větveného řetězce (amylopektinu). Neškrobové polysacharidy jsou sloučeniny, které lidské tělo neumí strávit. [5]

## 1.1 Galaktóza

Galaktóza se řadí do skupiny monosacharidů, konkrétněji do aldehydů a hexóz. To znamená, že na prvním atomu uhlíku obsahuje aldehydovou skupinu (-CHO) a že má šest atomů uhlíku. Je to izomer glukózy. Přesněji řečeno epimer uhlíku čtyři, liší se tedy konfigurací na čtvrtém uhlíku. [6] Strukturální vzorce glukózy a galaktózy jsou znázorněny na obr. 1.



Obrázek 1 Haworthův vzorec glukózy a galaktózy [6]

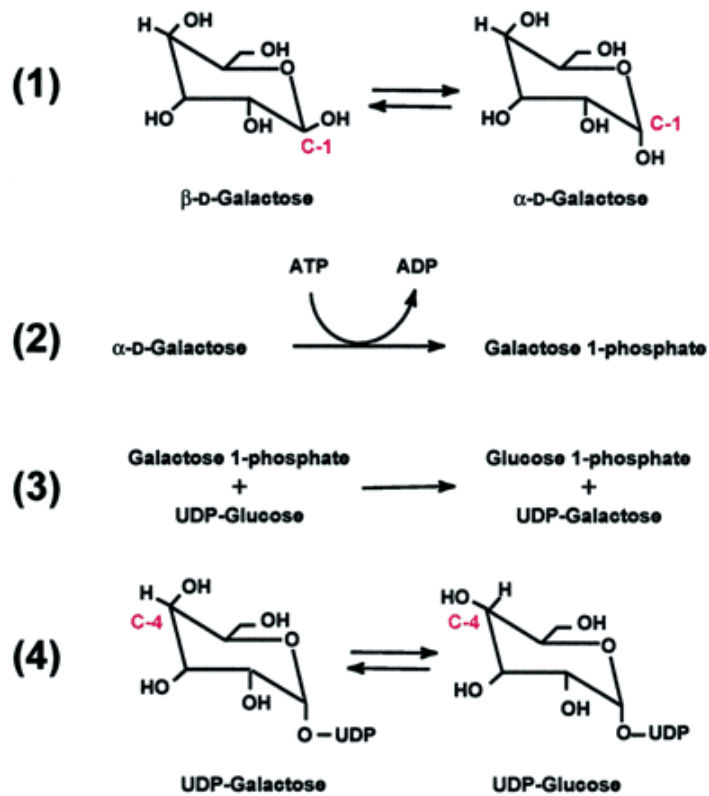
Galaktóza je přítomna v buněčné membráně jako důležitá složka lipidů. V přírodě se vyskytuje v D-formě. Najít ji můžeme v zelenině, ovoci, mléčných výrobcích, luštěninách, ořechách a v některých nápojích. Vyskytuje se také v mnoha oligosacharidech a polysacharidech. Je součástí mateřského mléka ve formě laktózy, ale také jako samostatný monosacharid. Pro kojenice je galaktóza důležitým zdrojem energie. [6, 7]

### 1.1.1 Metabolismus galaktózy

Galaktóza je součástí laktózy jako  $\beta$ -D-galaktóza. Laktóza se po požití přeměňuje v trávicím traktu pomocí enzymu laktázy na galaktózu a glukózu. Tyto monosacharidy (ať už přijaté samostatně nebo v disacharidu) se vstřebávají v tenkém střevě člověka pasivně nebo aktivně pomocí transportérů. Transportéry neboli transportní proteiny napomáhají absorpci cukru do enterocytů. Pro galaktózu (stejně tak i glukózu) je aktivní transport zajišťován sodíko-glukózovým transportérem typu 1 (SGLT1). V membránách buněk existují glukózové transportéry (GLUT). Transport pomocí těchto proteinů se nazývá usnadněná difúze. U galaktózy je transportérem konkrétně GLUT2. [6, 7]

Za hlavní metabolickou cestu galaktózy je považována přeměna  $\beta$ -D-galaktózy na glukóza-1-fosfát. Přeměna u většiny organismů probíhá pomocí čtyř enzymů. Tyto enzymy tvoří tzv. Leloirovu dráhu. Prvním krokem přeměny je epimerace  $\beta$ -D-galaktózy na  $\alpha$ -D-galaktózu pomocí galaktózové mutarotázy. Dalším procesem je ATP-dependenční fosforylace  $\alpha$ -D-galaktózy enzymem galaktokinázou na galaktóza-1-fosfát. Třetím enzymem je galaktóza-1-fosfáturidylyltransferáza, který zajišťuje přesun uridinmonofosfátové (UMP) skupiny z UDP-glukózy na galaktóza-1-fosfát, a tím se vytváří glukóza-1-fosfát a UDP-galaktóza. Tento proces probíhá prostřednictvím dvoustupňového ping pongového mechanismu, kdy se uvolňuje glukóza-1-fosfát a vytváří UDP-galaktóza. Dokončením Leloirovy dráhy je přeměna UDP-galaktózy na UDP-glukózu, a to za katalýzy uridyldifosfátgalaktóza-4-epimerázy. Uridyldifosfátgalaktóza-4-epimeráza je  $\text{NAD}^+$ -dependenční. [7, 8]

Pokud dojde k poškození enzymů Leloirovy dráhy, dochází u člověka k metabolickým poruchám. [9] Obrázek 2 ukazuje schéma Leloirovy dráhy.



Obrázek 2 Leloirova dráha [8]

## 1.2 Glukóza

Glukóza je monosacharid řadící se do skupiny aldehydů a hexóz, stejně jako galaktóza. Jinak ji můžeme nazvat také jako hroznový cukr. [6]

V přírodě se stejně jako galaktóza vyskytuje v D-formě. Je součástí zeleniny, ovoce, medu a mléčných výrobků. Vzniká jako jeden z produktů fotosyntézy. Tvoří podjednotku několika oligosacharidů a polysacharidů. Příkladem je škrob, glykogen, maltóza nebo již výše zmíněná laktóza. V lidském těle slouží jako transportní molekula energie. Je nezbytná pro fungování organismu. [6]



## 2 ENZYMY LELOIROVY DRÁHY

Enzymy jsou přírodní makromolekulární proteiny, které katalyzují konkrétní chemické reakce. Pomocí enzymů se v přírodě extrahují chemikálie a energie z prostředí a přeměňují se na složitější molekuly nezbytné pro život. Na enzymech jsou tzv. aktivní místa, na která se vážou substráty (výchozí látky reakce). Když se substrát naváže na aktivní místo enzymu, přemění se na produkt. Některé enzymy mají své aktivní místo hluboko v jádře proteinu, a tak substráty prochází tunelem v těle proteinu, aby se k němu dostaly. [10, 11]

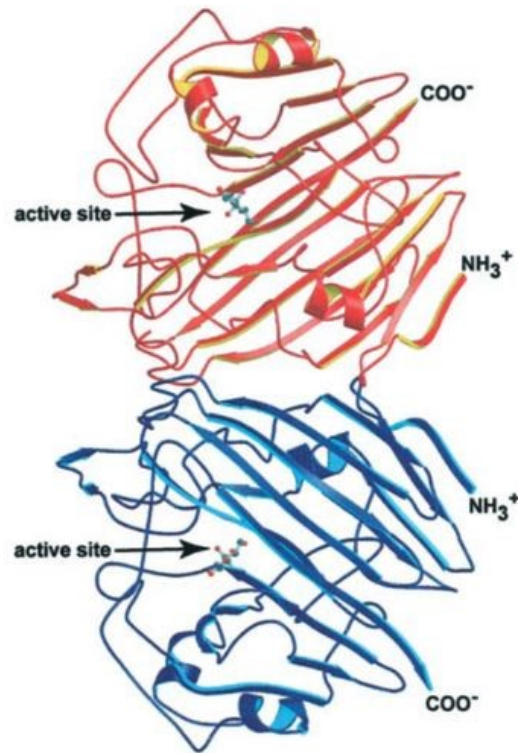
Jak je již v první kapitole psáno, galaktosémie vzniká poruchou jednoho nebo více enzymů při trávení galaktózy, která se v těle přeměňuje na glukózu prostřednictvím tzv. Leloirovy dráhy. Jednotlivé reakce dráhy probíhají v játrech. Leloirova dráha zahrnuje čtyři kroky, a tudíž čtyři enzymy-proteiny, které katalyzují průběh jednotlivých reakcí. [8, 12]

### 2.1 Galaktózová mutarotáza

Enzym galaktózová mutarotáza je prvním enzymem v Leloirově dráze. Je přítomen v cytoplazmě většiny buněk. Jde o dimer, kdy každá podjednotka obsahuje 339 zbytků aminokyselin. Je tvořen převážně  $\beta$ -skládaným listem a jen velmi malou šroubovicí. Aktivní místo tohoto enzymu je umístěno v otevřené rozsedlině s hydroxylovými skupinami galaktózy. Obsahuje několik zbytků k ukotvení monosacharidu. [4, 8, 13]

Lidská forma galaktózové mutarotázy upřednostňuje jako substrát galaktózu před glukózou. Katalýza GALM enzymu je vedena zbytky His-176 a Glu-307, které fungují na mechanismu kyselina/báze. Enzymatický mechanismus kombinuje vlastnosti kyselých a zásaditých mechanismů. [4, 8]

Na obrázku 3 jsou znázorněny obě podjednotky galaktózové mutarotázy z bakterie *L. lactis*.



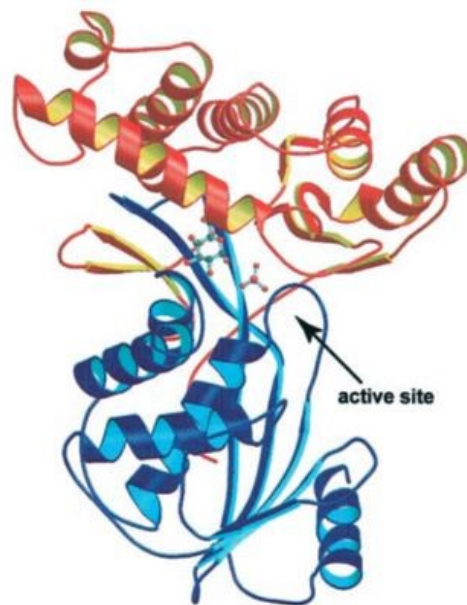
Obrázek 3 Model galaktózové mutarotázy bakterie *L. lactis* [8]

## 2.2 Galaktokináza

Galaktokináza patří do jedinečné skupiny enzymů GHMP super rodiny. Zkratka GHMP odkazuje na původní členy této skupiny: galaktokinázu, homoserinokinázu, mevalonátkinázu a fosfomevalonátkinázu. Tato skupina enzymů je závislá na ATP. Proteiny, které do této skupiny patří, obsahují tři společné funkční vzory (I, II a III). Druhý z těchto vzorů je typický sekvencí Pro-X-X-X-Gly-Leu-X-Ser-Ser-Ala. [8, 14]

Všechny tyto enzymy mají dvě domény: N-koncovou a C-koncovou. Co se týče prostorového uspořádání, N-koncová část je složena z pěti vláken  $\beta$ -skládaného listu a pěti  $\alpha$ -helixů. Je ohraničena od Thr-9 do Gly-190. C-koncová část se skládá ze čtyř vláken antiparalelního  $\beta$ -listu a šesti  $\alpha$ -helixů a je formována od Glu-191 do Gly-390. Poslední rezidua aminokyselin v C-koncové části se stáčí zpět na N-koncovou doménu. Aktivní místo enzymu se nachází mezi těmito dvěma doménami. K postranním řetězcům, které jsou zodpovědné za ukotvení ligandu cukru na protein (enzym), patří Arg-36, Glu-42, Asp-45, Asp-183 a Tyr-233. [8, 14, 15]

Obrázek 4 znázorňuje N-koncovou a C-koncovou doménu monomerního enzymu. N-koncová část je zobrazena modře, C-koncová část je zobrazena červeně. Mezi nimi je vázaná galaktóza a fosfátové částice, které jsou zobrazeny ve formě kuliček a tyčinek.



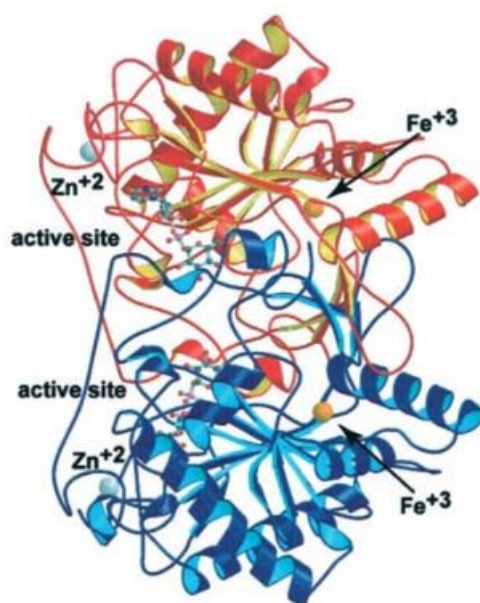
Obrázek 4 Model galaktokinázy bakterie *L. lactis* [8]

### 2.3 Galaktóza-1-fosfáturidyltransferáza

Galaktóza-1-fosfáturidyltransferáza se řadí do super rodiny histidinových triád. Členy této skupiny působí buď jako nukleotidové hydrolázy, nebo jako transferázy, které působí na fosfor nukleotidů. GALT vykazuje specifickou nukleosidovou aktivitu monofosfát transferázy. Tento enzym katalyzuje reakci pomocí tzv. ping pongové kinetiky a dvojitého mechanismu posunu. Jak již bylo v kapitole o metabolismu galaktózy popsáno – uridinmonofosfát (UMP) je přenášen z uridindifosfátu (UDP) glukózy na galaktóza-1-fosfát. Výsledkem procesu je uvolňování glukóza-1-fosfátu a produkce UDP-galaktózy. [8, 16]

Pomocí srovnávací modelovací strategie enzymu z *E. coli* byla zjištěna struktura homologního lidského enzymu. Jedná se o homodimer – obsahuje dvě stejné podjednotky (monomery). Každá podjednotka obsahuje 348 aminokyselinových zbytků, a navíc jeden zinek a jedno železo. Monomery jsou formovány šesti  $\alpha$ -helixy a  $\beta$ -listy. Ty se skládají ze třinácti antiparalelních vláken a jednoho paralelního vlákna. Železo ve struktuře slouží k přemostění dvou  $\beta$ -vláken a  $\alpha$ -helixu na rozhraní podjednotek. Zinek je pak umístěn v aktivním místě a je tetrahedrálně vázán Cys-52, Cys-55, His-115 a His-164. Tento dimer obsahuje dvě aktivní místa. Každé z nich je tvořeno zbytky, které patří k oběma podjednotkám. [8, 16]

Obrázek 5 ukazuje strukturu enzymu z *E. coli*, aktivní místa a znázorněné kovové ionty.



Obrázek 5 Model galaktóza-1-fostáfuridyltransferázy *E. coli* [8]

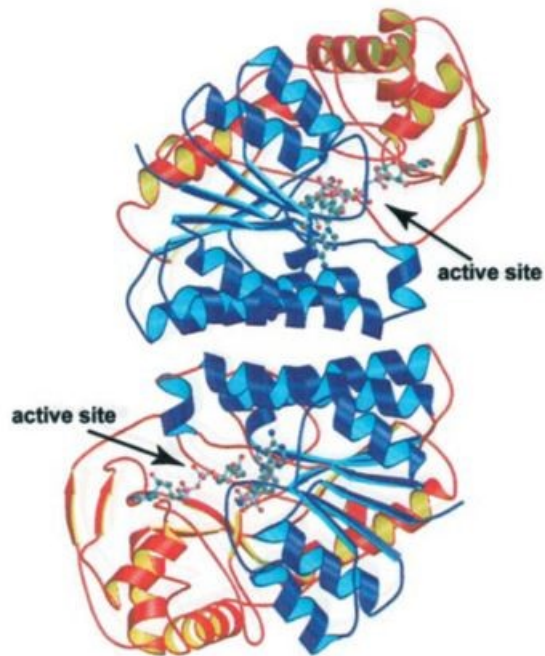
## 2.4 Uridyldifosfátgalaktóza-4-epimeráza

Poslední enzym Leloirovy dráhy patří do super rodiny dehydrogenáz/reduktáz s krátkým řetězcem. Tato skupina enzymů je v přírodě velmi rozšířená. Katalyzují širokou škálu biochemických reakcí. Všechny enzymy této rodiny obsahují konzervovaný motiv Tyr-X-X-X-Lys, který se podílí na katalýze. U lidského enzymu GALE je to konkrétně Tyr-157-Gly-Lys-Ser-Lys-161. Klíčovou roli v katalytickém mechanismu enzymu hrají aminokyselinové zbytky Tyr-149 a Ser-124. [8, 17, 18]

Uridyldifosfátgalaktóza-4-epimeráza je  $\text{NAD}^+$ -dependentní enzym. Molekula  $\text{NAD}^+$  je v enzymu dobře vázaná a zůstává v něm připojena i po dobu reakce. Během celého reakčního cyklu prochází různými změnami redoxního stavu. V lidském těle dokáže tento enzym mimo jiné také interkonvertovat UDP-N-acetylglukosamin a UDP-N-acetylgalaktosamin. [17, 18]

Stejně jako předchozí enzym je GALE homodimer. Každá podjednotka obsahuje 348 zbytků aminokyselin. Jeden monomer enzymu obsahuje navázaný NADH. Polypeptidový řetězec monomeru se skládá ze dvou odlišných oblastí. První z nich je N-terminální doména, která je odpovědná především za polohování  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ . Druhá oblast je C-terminální doména, která poskytuje vazebné místo pro UDP, který je oddělen z UDP-cukru. N-terminální oblast je charakterizována modifikovanými Rossmannovými záhyby. Obsahuje sedm vláken paralelního  $\beta$ -listu, která jsou lemována po obou stranách  $\alpha$ -helixy. Druhá z oblastí je složena z šesti  $\beta$ -listů a pěti  $\alpha$ -helixů. [8, 17]

Obrázek 5 znázorňuje model lidského enzymu GALE. Na obrázku jsou dvě podjednotky, kdy každá je rozdělena na C-terminální (červenou) a N-terminální (modrou) doménu. Znázorněna jsou také aktivní místa.



*Obrázek 6 Model lidské uridyldifosfátgalaktóza-4-epimerázy [8]*

## **3 GALAKTOSÉMIE**

Jak již bylo v úvodu zmíněno, galaktosémie je vrozená porucha metabolismu galaktózy. Za poruchou stojí nesprávná funkce některého z enzymů, které tento cukr metabolizují. Konkrétně se jedná o galaktokinázu, galaktóza-1-fosfáturidytransferázu a uridyldifosfátgalaktóza-4-epimerázu. Nedávno se k této trojici přidal také čtvrtý z těchto enzymů – galaktózová mutarotáza. [19]

Všechny typy galaktosémie jsou způsobeny mutací určitého genu. Celkem bylo detekováno přes 230 různých mutací, kdy každá je spojená s různým stupněm poškození genu. Mutace způsobují strukturální změny daného enzymu. Tyto změny poté vedou k dysfunkci enzymu. Nekatalyzují reakce, které by měly, anebo mají sníženou stabilitu proteinů. Všechny tři formy galaktosémie se dědí jako autozomálně recesivní onemocnění. Vzhledem k tomuto faktu existuje 25% riziko, že se rodičům postiženého jedince narodí další dítě s touto poruchou. [20-22]

Kromě galaktosémie vzniklé defekty enzymů Leloirovy dráhy může dojít také k tzv. sekundární galaktosémii. Jde v podstatě o jakoukoliv významnou jaterní dysfunkci, která vede k tomu, že se snižuje schopnost jater řídit metabolismus galaktózy. Příčinou takové dysfunkce může být například infekce, strukturální abnormalita, vrozená porucha a další. [23]

Galaktosémie se dělí na čtyři typy podle toho, který enzym je nefunkční. Nejvýznamnější z těchto druhů je galaktosémie I. typu (jinak také klasická galaktosémie). Ta je spojena s dysfunkcí enzymu GALT. [19, 24]

### **3.1 Galaktosémie I. typu**

Galaktosémie I. typu se typicky vyskytuje u novorozenců. Doprovází ji obtížné kojení, slabý růst, žloutenka, zvětšení jater, dysfunkce jater, letargie, hypotonie, šedý zákal a další problémy. Kojenci nejsou v raném věku k rozeznání od svých zdravých vrstevníků. I když se podaří tuto nemoc včas diagnostikovat a nasadí se dieta v podobě omezení galaktózy, u pacientů se vyvíjejí jiné dlouhodobé komplikace, které zahrnují zejména poškození mozku a pohlavních žláz. [19]

#### **3.1.1 Příčina galaktosémie I. typu**

Enzym GALT za fyziologických podmínek katalyzuje reakci mezi UDP-glukózou a galaktóza-1-fosfátem. Produktem této reakce je UDP-galaktóza a glukóza-1-fosfát. Jedná se o druhý krok Leloirovy dráhy. Tím, že enzym GALT neplní svou funkci, hromadí se v těle toxické látky jako

galaktóza-1-fosfát a další metabolity galaktózy. Galaktóza-1-fosfát je pak přeměňován alternativními cestami. První z nich je katabolická přeměna pomocí aldózové reduktázy na galaktitol. Druhá spočívá v oxidaci galaktózy na galaktonát. Galaktitol u pacientů s galaktosémií nemůže být dále metabolizován. Špatně prostupuje přes membránu, a proto se akumuluje v buňkách. Velké množství galaktitolu pak v buňkách způsobuje oxidační stres. Protože již dále není metabolizován, jeho většina je vyloučena z těla močí. Naopak toxicita u galaktonátu není zcela jistá. Předpokládá se, že galaktózová dehydrogenáza přeměňuje galaktózu na galaktonolakton, který je pak buď spontánně, nebo enzymaticky, přeměněn na galaktonát. Ten se může dále metabolizovat na kyselinu  $\beta$ -keto-D-galaktonovou a následně na D-xyulózu. Pokud není metabolizován, je stejně jako galaktitol přímo vylučován močí. [19, 25-27]

### **3.1.2 Genetická podstata**

Klasická galaktosémie je způsobena mutacemi genu GALT. Ten je umístěn na krátkém raménku chromozomu 9 (9p13). Je uspořádán do 11 exonů. Nejčastější mutací galaktosémie tohoto typu je u kavkazské populace Q188R. Konkrétně řečeno jde o nahrazení glutaminu v kodonu 188 argininem – Gln188Arg. Vykytuje se u asi 64 % všech pacientů s galaktosémií I. typu. Jedinci, kteří jsou homozygoti a mají mutaci genu Q188R, mívají závažný fenotyp. Tato skutečnost je způsobena prakticky úplnou ztrátou enzymatické aktivity. Druhou nejčastější mutací evropského původu je K285N – náhrada lyzinu asparaginem v kodonu 285 (Lys285Asn). Tato mutace je rovněž spojována se závažným fenotypem. Běžnou mutací pro afroamerické pacienty je Ser135Leu – nahrazení serinu v kodonu 135 leucinem. Jde o mutaci značenou také jako S135L. Větší část mutací GALT genu (až 69 %) tvoří missense. To znamená, že dochází k záměně jedné aminokyseliny vlivem změny jednoho páru bází ve výsledném proteinu. Protein potom nemusí fungovat tak, jak by měl. Zbýlých 31 % je složeno z delecí, inzercí, tichých mutací, sestřihů a nonsense mutací. Homozygotní forma tohoto typu je značena jako GG. Tento typ klasické galaktosémie však není typem nejčastějším. Častější je v heterozygotní formě spolu s alelou D – Duarte typu. [19, 28-33]

#### **3.1.2.1 Duarte galaktosémie**

U galaktosémie I. typu můžeme rozlišit dva podtypy. Kromě klasické galaktosémie sem patří také Duarte galaktosémie. Rozdíl mezi nimi je takový, že u klasické galaktosémie je gen GALT plně dysfunkční, zatímco u druhého podtypu je gen dysfunkční pouze z 50 %. Tato méně závažná forma klasické galaktosémie je spojována s mutací N314D. To znamená nahrazení

asparaginu aspartátem v proteinu GALT, konkrétně v kodonu 314 (Asn314Asp). Duarte můžeme odlišit od klasické varianty pomocí rychlé elektroforetické migrace. [21, 31]

Pacient s Duarte galaktosémií se rozlišuje také podle toho, zda se jedná o homozygota nebo heterozygota. Homozygot má obě alely Duarte – DD. Heterozygot má jednu alelu Duarte a jednu alelu klasické galaktosémie – DG. Takový pacient má potom aktivitu enzymu sniženou na 25 %. Udává se, že Duarte forma galaktosémie je nejčastější mutace GALT. [29, 34]

Kromě typické Duarte galaktosémie, označované někdy také jako Duarte 2 (D2), zde řadíme i variantu Duarte 1 (D1) neboli Los Angeles. Mutace u obou variant je stejná. Dochází k substituci stejných aminokyselin. Rozdíl mezi těmito variantami je takový, že D1 je spojena se zvýšenou aktivitou enzymu GALT v erytrocytech, zatímco D2 varianta je spojena se sníženou aktivitou. [33]

### **3.1.3 Klinické projevy**

Prvními příznaky, které vedou ke zjištění, že je něco v nepořádku, je zvracení a průjem novorozence. Pokud není pacient ihned léčen, rozvíjejí se další typické projevy klasické galaktosémie. Patří mezi ně letargie, žloutenka a hepatomegalie. Tyto příznaky se projevují několik dnů poté, co začne být dítě krmeno mlékem. Postupným rozvojem nemoci může dojít k septikémii, která je vyvolána bakterií *E. coli*. K septikémii dochází ve druhém týdnu života novorozence. Následně také dochází ke koagulopatii, hyperchloremické metabolické acidóze a šedému zákalu. V konečném důsledku může neléčená nemoc vést až ke smrti. Výše popsané projevy jsou typické pro homozygotní jedince. Heterozygotní jedinci mají příznaky mírnější. Důvodem je, že gen GALT není zcela nefunkční. Tito jedinci jsou při narození asymptomatictí. Jsou však více náchylní ke vzniku šedého zákalu než osoby s normálním genotypem. [3, 35, 36]

Klasická galaktosémie je často detekována již presymptomaticky a poté je léčena omezením laktózy. I přesto u lidí s tímto onemocněním přetrvávají určité komplikace. Mezi ně patří například poruchy učení, ataxie a verbální dyspraxie, což se poruch nervové soustavy týče. Dále potom primární selhání ovariální činnosti u žen. [3]

#### **3.1.3.1 Předčasná ovariální insuficience**

Předčasná ovariální insuficience (POI) je stav, kdy ženě předčasně přestanou fungovat vaječníky. Nejprve se zhorší jejich funkce, která následně vede k předčasnému ukončení menstruace. Je charakterizována amenoreou, která trvá tři měsíce nebo také déle. Tyto



problémy jsou zřejmé již u žen mladších čtyřiceti let. POI doprovází také zvýšená hladina hormonu folitropinu, která je typická pro menopauzální hodnoty, dále pak také nízké hladiny estradiolu. U žen trpících galaktosémií I. typu je POI běžnou komplikací, která vede k neplodnosti i k potížím spojeným s hypoestrogenismem. Takovými potížemi mohou být například již zmíněné menopauzální syndromy anebo také snížená hustota kostní hmoty. Z důvodu nedostatku estrogenů je též ovlivněn kardiovaskulární systém. Důsledkem toho je snížena průměrná délka života pacienta, a tím i zvýšené riziko úmrtí na problémy s kardiovaskulárním systémem. Všechny tyto obtíže omezují určitým způsobem běžný život jedince. U většiny pacientek s galaktosémií I. typu se POI vyvine, i když dodržují dietu spojenou s omezením obsahu galaktózy. U žen s Duarte galaktosémií (s 25% aktivitou enzymu GALT) nebyly hlášeny žádné ovariální dysfunkce. [37-39]

POI je způsobena širokou škálou faktorů, kam spadají například chromozomální a genetické defekty, autoimunitní procesy a infekce. Přesná příčina vzniku však není zcela objasněna. Stejně tak i vztah mezi galaktosémií a POI. Je však možné, že toxické účinky galaktózy a jejich metabolitů způsobují předčasný úbytek ovariálních folikulů. Dysfunkce vaječníků byla dle studií pozorována i u novorozenců, kojenců a malých dětí. Jedná se však o nejčastější dlouhodobou komplikaci hlášenou u dívek a žen s vysokým nedostatkem GALT genu. [37-39]

### **3.1.3.2 Poruchy mozku**

Novorozencům může být diagnostikován také mozkový edém. Důvodem je, že se zvýší hladina galaktitolu v mozku, zároveň také hladina glukózy, ATP a fosfokreatinu, což způsobí zvýšení osmolality, a to vyvolá již zmíněný edém. Ten dobře reaguje na galaktózovou dietu. [35]

Mezi neurologické potíže patří poruchy paměti, pomalejší zpracování informací a apraxie řeči. Apraxie řeči je u této metabolické poruchy celkem častá. Mezi problémy řeči patří opožděná slovní zásoba, problémy s gramatikou, verbální dyspraxie nebo třeba porucha motorického programování řečového svalstva, které je účelné pro svévolnou tvorbu zvuku. Některé studie uvádějí, že pacienti s galaktosémií mají snížené skóre inteligenčního kvocientu (IQ). Pacienti s řečovými potížemi mají nižší skóre IQ než pacienti bez řečových obtíží. [35, 40]

### **3.1.4 Diagnostika**

Pacienti s galaktosémií mají ve svých tkáních, plazmě a moči obsažen galaktitol. Jak už je výše psáno, galaktitol není dále metabolizován a je vylučován jako metabolit galaktózy z těla ven močí. Vzhledem k tomu, že pacienti s galaktosémií vylučují velké množství galaktitolu, měří

se tento metabolit za účelem monitorování léčby. Jakmile pacienti nasadí dietní léčbu, množství galaktitolu v moči klesá. [41]

K diagnostice galaktosémie se využívá hemolyzát červených krvinek. Červené krvinky totiž obsahují enzymy, které se účastní metabolismu galaktózy. Aktivita daného enzymu se vyjadřuje v U/g hemoglobinu. Měření obsahu hemoglobinu v hemolyzátu se provádí pomocí standardních spektrofotometrických protokolů. [21, 42]

Při testování nefunkčnosti genu GALT se používají dvě metody. Jedna z nich je založena na spotřebě UDP-glukózy. Ta druhá pak na produkci UDP-galaktózy. První metoda spočívá v tom, že se hemolyzát pacienta inkubuje s UDP-glukózou a galaktóza-1-fosfátem. Po proběhlé reakci se měří nespotřebovaný zbytek UDP-glukózy. Změří se přidáním  $\text{NAD}^+$  a uridin-5-difosfoglukózadehydrogenázy za vzniku NADH. NADH absorbuje světlo při 340 nm. Zvýšená absorbance je přímo úměrná zbytkové koncentraci UDP-glukózy. Zároveň je nepřímo úměrná aktivitě GALT. Pro každý použitý vzorek se připravuje blank, který neobsahuje galaktóza-1-fosfát. Druhá metoda je založena na radioenzymatické analýze, která přímo měří tvorbu UDP-galaktózy z radioaktivně značeného substrátu galaktóza-1-fosfátu. Hemolyzát se inkubuje s UDP-glukózou a galaktóza-1-fosfátem při teplotě 37 °C cca 10–30 minut. Přebytek galaktóza-1-fosfátu se pak od produktu UDP-galaktózy oddělí iontově výměnnou chromatografií. Aktivita GALT je přímo úměrná množství vzniklé UDP-galaktózy. Tato metoda se však moc nepoužívá, jelikož je náročná na práci a zahrnuje radioaktivní materiál. [42]

### **3.1.5 Léčba**

Současnou léčbou galaktosémie všech typů je dietní omezení galaktózy a současně i laktózy v jídelníčku. Jde tedy o odstranění všech mléčných výrobků ze stravy. Galaktóza se samozřejmě vyskytuje i u nemléčných potravin, nicméně její obsah v takových výrobcích je podstatně menší. Není tedy většinou potřeba takové potraviny z jídelníčku vyřazovat. Takováto dieta je schopna zvrátit akutní problémy, nezabrání však vzniku dlouhodobých komplikací. Z tohoto důvodu se u pacientů s galaktosémií I. typu sleduje výskyt dalších komplikací, které se v případě potřeby řeší. Mimo dietní léčby zahrnuje klasická galaktosémie také psychologickou léčbu. Ta se zaměřuje na psycho-sociální rozměry života. [19, 43]

Existují přesvědčivé důkazy o prospěšnosti diety s omezeným příjmem galaktózy během kojeneckého věku. Díky diagnostice novorozeneckým screeningem se u kojenců snížila závažnost onemocnění a úmrtnost. Strava u kojenců se nejčastěji nahrazuje sójovou výživou. Problém nastává u nedonošených dětí. U nich se sójová výživa nedoporučuje z důvodu nižší

sérové hladiny fosforu a vyšší koncentrace alkalické fosfatázy, což vede ke zvýšené incidenci osteopenie ve srovnání s kojenci, kteří jsou krmeni výživou z kravského mléka. [44]

Co se týče ovoce a zeleniny, názory mohou být odlišné. Někteří doporučují ovoce a zeleninu s obsahem galaktózy omezit pro všechny věkové kategorie, jiní pouze během kojeneckého věku a raného dětství. Někteří naopak povolují veškeré ovoce a zeleninu pro všechny věkové kategorie. [44, 45]

Podle různých teorií se tolerance exogenní galaktózy v dospělosti zvyšuje. Může to být způsobeno poklesem endogenní produkce galaktózy. V tomto případě by se dalo uvažovat o uvolnění stravy omezené na galaktózu. Mluvíme však o mírném uvolnění, dieta s omezeným příjmem laktózy zůstává, avšak povolená je zelenina a ovoce. Nedá se uvažovat o zařazení mléčných výrobků, jako třeba jogurtů, protože by pak denní dávka galaktózy převyšovala její endogenní produkci v těle. [45]

### **3.1.6 Prevalence a prognóza**

U klasické galaktosémie je frekvence onemocnění celosvětově 1:40 000 až 1:60 000. Pokud mluvíme konkrétně o Duarte galaktosémii, incidence tohoto onemocnění je vyšší – 1:4 000. Znamená to tedy, že je tento typ galaktosémie častější. U specifických populací se může frekvence onemocnění lišit. Vyšší výskyt metabolické poruchy je hlášen u irské populace, tj. 1:24 000. Dále můžeme zmínit například Dánsko s frekvencí 1:48 000 nebo Španělsko s frekvencí 1:43 000. Naopak nejnižší výskyt je u japonské a švédské populace – 1:788 000 a 1:100 000. [46-48]

I přes včasné zahájení dietního režimu se u pacienta objevují dlouhodobé komplikace v dospělosti. Jde zejména o postižení mozku a pohlavních žláz. Konkrétně popsány jsou v kapitole 3.1.3. Kojenci léčení omezením galaktózy v raném věku se během 18–36 měsíců neliší od svých zdravých vrstevníků. [19]

## **3.2 Galaktosémie II. typu**

Stejně jako klasická galaktosémie je galaktosémie II. typu autozomálně recesivní onemocnění. Tento typ galaktosémie se často vyskytuje v romské populaci. Opět se nemoc projeví již u novorozenců z důvodu požití mateřského mléka (popřípadě kojenecké výživy). Souvisí s tvorbou šedého zákalu. Pokud se šedý zákal neléčí, může v konečném důsledku dojít až k tomu, že pacient oslepne. [49]

### 3.2.1 Příčina galaktosémie II. typu

Galaktosémie II. typu souvisí s dysfunkcí enzymu GALK. Tento enzym fyziologicky katalyzuje fosforylaci galaktózy na galaktóza-1-fosfát. Z důvodu, že enzym neplní svou funkci, se v těle hromadí galaktóza a galaktóza-1-fosfát se netvoří. Stejně jako u I. typu se galaktóza přeměňuje alternativní cestou na galaktitol, který se hromadí v buňkách, zejména potom v oční čočce. Kromě toho způsobuje akumulace galaktitolu vyčerpávání hladin NADPH v organismu. Ve výsledku se v těle hromadí volné radikály, které poté způsobují oxidační stres stejně jako při klasické galaktosémii. Oxidační stres může v konečném důsledku vést až k buněčné smrti. [49-51]

### 3.2.2 Genetická podstata

Galaktosémie II. typu je důsledkem mutací genu GALK1. Tento gen, který kóduje galaktokinázu, se nachází na dlouhém raménku 17. chromozomu (17q25.1). Gen GALK1 obsahuje dvě vazebná místa pro ATP. Konkrétně na 3. a 7. exonu. Mezi mutace, které snižují hladinu galaktokinázy v krvi, patří například delece či bodové mutace. Při molekulární analýze lidského genu GALK1 byly odhaleny dvě bodové mutace, které způsobují šedý zákal. Jsou to missense mutace a nonsense mutace. Missense mutace je lokalizována na kodonu 32, kde je valin nahrazen methioninem (Val32Met). Tato mutace se značí V32M. Nonsense mutace je potom na kodonu 80. Mezi další mutace GALK1 genu patří P28T, A198V, G36R, R68C, R68C, R239Q, T288M, G346S, G349S a A384P. Všechny tyto mutace mají u pacientů s galaktosémií II. typu klinický význam. U romské populace je nejčastější mutace P28T – missense mutace prolinu na threonin. Mutace A198V je jinak nazývána též jako Ósaka varianta. Jde o mutaci, která se ve významné frekvenci vyskytuje v japonské a korejské populaci. [32, 51-54]

### 3.2.3 Klinické projevy

Galaktosémie II. typu nemá tak závažné symptomy jako klasická galaktosémie. Tím, že se galaktitol hromadí v čočce, vzniká u pacientů katarakta. Vysoké hladiny galaktitolu v buňkách čočkových vláken způsobuje vychytávání vody pomocí osmotických jevů. Tím pádem dojde k otoku buněk, lýze buněk, a nakonec ke kataraktě. Katarakta je hlavní klinický projev tohoto typu galaktosémie u neléčených pacientů. Šedý zákal je vždy oboustranný. Rozvíjí se během prvních měsíců života pacienta. Dalším častým klinickým projevem bývá pseudotumor cerebri. Způsoben může být zvýšeným osmotickým tlakem v mozkomíšním moku, který je způsoben zvýšenou koncentrací galaktitolu. Dlouhodobým sledování pacientů bylo zjištěno, že pacienti s galaktosémií II. typu jsou vystaveni riziku mentální retardace, ale také dyspraxie či

motorického zpoždění. Častým projevem tohoto typu galaktosémie je také nevysvětlitelná hyperbilirubinémie u novorozenců. [53-58]

### **3.2.4 Diagnostika**

Diagnostika galaktosémie II. typu probíhá stejně jako u typu prvního pomocí červených krvinek. Aktivita GALK je v červených krvinkách velmi nízká. Z tohoto důvodu je vhodnější k diagnostice použít radioaktivní test. [21]

### **3.2.5 Léčba**

Léčba galaktosémie II. typu se stejně jako u ostatních typů skládá z galaktózové a laktózové diety. Pokud je dieta nasazena včas, může úplně zabránit vzniku šedého zákalu. Pokud se již šedý zákal objevil, může ho naopak vyléčit. Včasná léčba zahrnuje zahájení diety během prvních dvou měsíců života. [19, 54]

### **3.2.6 Prevalence a prognóza**

Galaktosémie II. typu se ve světě vyskytuje s frekvencí 1:1 000 000. Ve Švýcarsku je frekvence poněkud nižší. Udává se cca 1:2 200 000. Naopak například v Bulharsku je výskyt mnohem častější – 1:52 000. Obecně se udává, že tento typ galaktosémie je nejčastější v populaci Romů. [19, 59]

Pokud je včas zahájena léčba, může to zabránit vzniku šedého zákalu, popřípadě vyřešit problém se vzniklým šedým zákalem. [19]

## **3.3 Galaktosémie III. typu**

Třetí možný typ galaktosémie je u některých populací relativně častým jevem. Konkrétně se dá mluvit o Afroameričanech a Japoncích. Spojená je s typickými klinickými příznaky galaktosémie, jako je zvracení a průjem. Stejně tak jako předchozí dva typy je zjišťována již u novorozenců. [60]

### **3.3.1 Příčina galaktosémie III. typu**

Třetí enzym, jehož dysfunkce je schopna způsobit galaktosémii, je GALE. V Leloirově metabolické dráze galaktózy katalyzuje přeměnu UDP-glukózy na UDP-galaktózu. Onemocnění může být charakterizováno jako obecná nebo periferní forma. V obecné formě je nedostatek enzymu ve všech typech tkání. V té druhé – periferní formě, jsou postiženy pouze červené a bílé krvinky, zatímco jiné buňky jsou v pořádku. Postižení krvinek spočívá v přítomnosti snížené funkce GALE. [19, 50, 60]

### 3.3.2 Genetická podstata

Za poslední typ galaktosémie jsou odpovědné mutace genu GALE, který je umístěn na krátkém raménku chromozomu 1 (1p36.11). Možnou příčinou mohou být bodové mutace umístěné v celém tomto genu. Mutace, které způsobují závažnější příznaky, vedou k nerozpustnému proteinu. Předpokládá se, že je to v důsledku nesprávného složení onoho proteinu. Ty mutace, které způsobují mírnější příznaky, vedou k poruše katalytické funkce enzymu. Ze všech možných mutací GALE genu je pouze jedna spojena se závažnější obecnou formou onemocnění – V94M. Mezi známé mutace, které jsou běžně detekovatelné, patří například V180A. Je charakteristická substitucí jedné aminokyseliny. Nezdá se však, že by nějakým způsobem byla spojována s chorobou. Může vzniknout například chybou v původní sekvenci. Mutací, které jsou spojeny s galaktosémií III. typu, je několik. Některé jsou spojené s heterozygotním genotypem, jiné s homozygotním. [51, 61]

### 3.3.3 Klinické projevy

Symptomy galaktosémie III. typu jsou velice různorodé. Původně byla deficiencie enzymu GALE popsána jako benigní stav, při kterém se dysfunkce enzymu omezovala pouze na červené krvinky a bílé krvinky (periferní forma). Nedlouho poté však vědci objevili i druhou známou formu – obecnou (nebo také generalizovanou). Závažnost klinických projevů je poté závislá na tom, zda se jedná o periferní či obecnou formu. Nejmírnější projev onemocnění je u periferní formy. Jedná se o chemické změny krve. Pacienti s periferní formou jsou většinou asymptomatictí. Naopak projevy nejzávažnější jsou u formy obecné. Pacienti mají sníženou nebo nulovou aktivitu GALE ve všech tkáních. To má za následek projevy podobné klasické galaktosémii. Konkrétně se jedná o poškození klíčových orgánů těla – ledvin, jater a mozku. Nejnovější studie tvrdí, že existuje mnoho středně závažných forem galaktosémie III. typu se středními úrovněmi aktivity GALE v neperiferních tkáních. Příznaky se v tomto případě pohybují od velmi mírných až po závažné. [3, 36, 62]

### 3.3.4 Diagnostika

GALE lze stanovit v červených krvinkách stejně jako předchozí dva enzymy. Stanovuje se dvoufázovým postupem. Nejdříve se vzorek hemolyzátu inkubuje s UDP-galaktózou a  $\text{NAD}^+$ , který je nezbytný jako kofaktor. Daná reakce se pak zastaví a změří se vytvořená UDP-glukóza za pomoci UDP-glukózadehydrogenázy. Pokud je k dispozici dobrá přístrojová technika, je možné enzym měřit průběžným sledováním tvorby NADPH. [21]

### **3.3.5 Léčba**

Co se týče formy periferní, tzn. té, která napadá červené a bílé krvinky v krevním oběhu, není potřeba ji nijak řešit. Pacienti s touto formou jsou většinou asymptomatictí, i když jsou vystaveni velkému množství laktózy. Naopak u formy generalizované je potřeba omezení laktózy dodržovat. Stejně jako u klasické galaktosémie však vysazením galaktózy ze stravy nelze zabránit dlouhodobým komplikacím. [19]

U kojenců s generalizovanou formou se přechází z mateřského mléka nebo mléčné výživy na kojeneckou výživu se stopovým množstvím galaktózy a laktózy. Příkladem může být sójová výživa. U starších dětí se pokračuje s dietním omezením. Nedoporučuje se však dieta, která omezuje nemléčné výrobky, které obsahují galaktózu. Takovými výrobky jsou luštěniny, některé druhy ovoce a zeleniny a vnitřnosti. [63]

### **3.3.6 Prevalence a prognóza**

Periferní forma galaktosémie III. typu je udávána s frekvencí 1:6 700 až 1:60 000. Stejně jako předchozí typy je závislá na etnickém původu. Těžší forma – generalizovaná, je extrémně vzácná. [64]

Deficit enzymu GALE není u většiny pacientů nikdy diagnostikován. Pokud však diagnostikován je, je následné sledování pacienta ukončeno. Z tohoto důvodu nejsou stanoveny dlouhodobé výsledky zkoumání tohoto onemocnění. Pokud už jsou, udává se vývojové zpoždění, poruchy učení a smyslová hluchota. Na rozdíl od galaktosémie I. typu mají pacientky normální pubertální vývoj. [65]

## **3.4 Galaktosémie IV. typu**

Tento typ galaktosémie byl objeven poněkud nedávno. Lidský GALM, který s tímto typem souvisí, je znám již více než deset let. Dříve však nebyl s galaktosémií nijak spojován. Nyní se však přesvědčivě prokázalo, že existuje nejméně pět mutací, které jsou symptomy podobné galaktosémii. Tyto symptomy jsou nejvíce podobné těm u pacientů s galaktosémií II. typu. [24]

### **3.4.1 Příčina galaktosémie IV. typu**

Čtvrtý typ galaktosémie je způsoben mutací v genu GALM. Tato mutace vede k dysfunkci enzymu galaktózové mutarotázy. Tento enzym je zodpovědný v metabolismu galaktózy za přeměnu  $\beta$ -D-galaktózy na  $\alpha$ -D-galaktózu. V Leloirově dráze jde o první krok. Vzhledem

k tomu, že tento enzym nepracuje tak, jak má, dochází k nahromadění  $\beta$ -D-galaktózy v těle. [4, 24]

### **3.4.2 Genetická podstata**

Galaktosémie IV. typu je způsobena mutacemi genu GALM, který je umístěn na 2. chromozomu. Výsledkem genetických změn na tomto genu jsou bodové mutace. Tyto mutace do genu zavádějí stop kodony nebo způsobují změny aminokyselin či posuny aminokyselin. Všechny jmenované možnosti zajistí předčasné ukončení řetězce. Dosud nebyly nalezeny mutace genu GALM, které by přímo ovlivňovaly aktivní místo. Znamená to, že kvůli nim dochází k pouze malým změnám celkové struktury proteinu, popřípadě jen k jeho destabilizaci. [4, 24, 66, 67]

Jsou známy dvě missense mutace, které jsou s onemocněním spojené. Jde o Gly142Arg a Arg267Gly. [4]

### **3.4.3 Klinické projevy**

Klinické projevy u tohoto typu onemocnění se podobají těm u galaktosémie II. typu. Hlavním projevem je tedy časný nástup katarakty. Fenotyp však není zcela definován, jelikož se jedná o poměrně nově objevený typ galaktosémie. To stejné se týká i dlouhodobých komplikací. Vzhledem k tomu, že jsou známí pacienti ještě v dětském věku, nelze určit, zda tito pacienti budou mít nějaké dlouhodobé problémy. [4, 24]

### **3.4.4 Diagnostika**

U tohoto typu galaktosémie je nezbytná genetická diagnóza. Jen díky ní se dá deficit GALM identifikovat. Zatím totiž nebyla stanovena biochemická diagnostická metoda, která by nedostatečnost genu GALM zjišťovala. Pokud mají pacienti v dětství zjištěné příznaky podobající se galaktosémii II. typu, ale u GALK1 genu se nevyskytují žádné mutace, je třeba zvážit testování na nedostatek GALM. [66]

### **3.4.5 Léčba**

Léčba galaktosémie IV. typu je stejná jako u všech ostatních typů – dietní omezení ve formě vynechání galaktózy ze stravy. Dieta by měla být nasazena co nejdříve, aby se zabránilo případným nežádoucím účinkům v dětství i pozdějším životě. [4]



### **3.4.6 Prevalence**

Vzhledem k poměrně novému typu onemocnění se jeho incidence může pouze odhadovat. Dle databází ExAC (Exome Aggregation Consortium) a ToMMo (Tohoku Medical Megabank Organization of Tohoku University) se odhaduje incidence deficitu GALM na 1:228 411 v celé populaci. Konkrétně pak 1:80 747 u japonské populace, 1:1 716 145 u evropské populace (kromě Finů), u finské populace 1:47 228 a nejvíce u populace africké – 1:10 388. [66]

## 4 NOVOROZENECKÝ SCREENING

Novorozenecký screening je metoda, která slouží k diagnostikování vzácných onemocnění u asymptomatických jedinců. To znamená před projevením jakýchkoliv příznaků daného onemocnění. Biologickým materiálem při testování je odebraná a poté zaschlá kapka krve novorozence na filtračním papíru. Odebírá se několik dní (nebo i několik hodin) po narození. Jedná se o velice důležitou metodu, jelikož díky ní se výrazně snížila úmrtnost a nemocnost u novorozenců. I tak však novorozenecký screening detekuje pouze část všech existujících vzácných onemocnění. [68-70]

### 4.1 Novorozenecký screening při galaktosémii

Jako diagnostiku tohoto onemocnění lze kromě metod, které jsou již zmíněny v kapitole tři, využít také novorozenecký screening. Využívá se již od roku 1964. Tímto screeningem se dají prokázat všechny čtyři typy galaktosémie včetně Duarte galaktosémie. V zemích, kde není novorozenecký screening běžnou praxí, se případy onemocnění zjistí až s klinickými příznaky jedince. Tato metoda je vhodná k provedení v prvních dnech života dítěte. Poskytuje tak příležitost diagnostikovat galaktosémii před klinickými projevy pacienta. Včasnou diagnózou se umožňuje nasazení vhodné léčby. Snižuje se tím riziko selhání jater a dalších komplikací spojenými s neléčenou galaktosémií. Mezi tyto komplikace patří například již zmiňovaná sepsa organismu způsobená bakterií *E. coli*. [69, 71]

#### 4.1.1 Metody novorozeneckého screeningu galaktosémie

Mezi známé metody screeningu galaktosémie patří v první řadě Beutlerův enzymatický test. Beutlerův test je založen na monitorování enzymu GALT pomocí fosfoglukomutázy a glukóza-6-fosfátdehydrogenázy. Odebraný vzorek novorozence se na malém disku inkubuje vhodnými činidly. Pokud je přítomna aktivita enzymu GALT, vytvoří se redukovaný nukleotid. Vizualizace produktu probíhá pomocí fluorescence, kdy se hodnotí redukovaný NADP<sup>+</sup> pod UV světlem. Beutlerův test je bohužel spojen s problémem falešně pozitivních výsledků. [72, 73]

Vzhledem k tomu, že Beutlerův test měl mnoho falešně pozitivních výsledků, přišlo se s novým testem, který se nazývá Paigenův test. Jedná se o substrátový screeningový test, pomocí něhož se detekuje galaktóza a galaktóza-1-fosfát. Jde o bakteriální test, kdy se využívá kmen *E. coli* s nedostatkem epimerázy. Tento kmen za přítomnosti galaktózy odolává zničení bakteriofágem C21. Kapka krve zaschlá na filtračním papíru obsahující galaktózu je obklopená bakteriálním

růstem, který je přímo úměrný koncentraci galaktózy. Paigenův test je schopen identifikovat jak klasickou galaktosémií, tak galaktosémií II. a III. typu. Tím se liší od Beutlerova testu. Jde o citlivější test, což znamená, že může být použit také na krev odebranou z pupečníku. [22, 74]

Pacienti s galaktosémií IV. typu mají negativní Beutlerův test. To vylučuje nedostatek genu GALT. Zároveň mají normální aktivity enzymů GALK a GALE. Na rozdíl od nedostatku GALE byl u GALM galaktosémie hlášen normální poměr mezi galaktóza-1-fosfátem a galaktózou. [63]

V důsledku screeningového vyšetření novorozenců se dle studií během deseti let snížila mortalita u dětí s galaktosémií více než desetinásobně. Přesto však screeningové vyšetření a následné nasazení léčby nedokáže zabránit dlouhodobým komplikacím spojeným s tímto onemocněním, jelikož tyto problémy souvisí s endogenní produkcí galaktózy. Význam screeningu tak spočívá především v prevenci počátečního selhání jater a sepse. [69]

## **5 KAZUISTIKA**

### **5.1 Osobní anamnéza**

Pacientka se narodila v únoru v roce 2015. Je to druhorozené dítě rodičů. Má staršího bratra, který je narozen v roce 2012. Porod pacientky byl v 39. týdnu z čistě preventivních důvodů vyvolán. Proběhl bez komplikací. Pacientka po porodu vážila 3300 g a měřila 50 cm.

### **5.2 Rodinná anamnéza**

Matka pacientky trpí hypotyreózou. Pro otcův karcinom tlustého střeva je sledována na gastroenterologii. Jinak je zdravá.

Otec je alergik a astmatik.

Sestřenice z otcovy strany má dceru s galaktosémií.

### **5.3 Hospitalizace**

První hospitalizace proběhla v nemocnici ve Valašském Meziříčí pro špatnou poporodní adaptaci a novorozeneckou žloutenku v únoru v roce 2015. Odtud byla po pár dnech převezena do Fakultní nemocnice v Olomouci kvůli selhávání jater. Zde byla zjištěna metabolická porucha galaktosémie.

V dubnu v roce 2015 měla dívka vysoké horečky, otoky kloubů na prstech horních končetin a červené fleky na rukou, které se postupně šířily po celém těle. Proto následovala hospitalizace opět v nemocnici ve Valašském Meziříčí. Po týdnu byla propuštěna do domácího léčení.

V říjnu 2015 proběhla hospitalizace ve Všeobecné fakultní nemocnici (VFN) v Praze na klinice dětského lékařství. Proběhlo zde metabolické vyšetření spolu s pozorováním pro vysoký obsah galaktitolu v moči.

V květnu 2016 následovala hospitalizace pro akutní tubulo-intersticiální nefritidu a nespecifickou anémii. Pacientka měla vysoké horečky spolu s vysokým C-reaktivním proteinem (CRP). měla nález v moči. Byla nasazena antibiotická léčba. Po propuštění z nemocnice docházela do nefrologické poradny k ambulantní léčbě po dobu dvou let.

V roce 2016 v červenci byla opět hospitalizována ve VFN Praha, kde proběhlo metabolické vyšetření. Zůstala zde také kvůli pozorování pro vysoký obsah galaktitolu v moči.

## 5.4 Průběh onemocnění a diagnostika

Po porodu byla dívka bez jakýchkoliv komplikací. Byla plně kojena. Příbytky na váze nebyly nijak výrazné, nicméně byly v normě. Pátý den byla s matkou propuštěna domů. Následující den po propuštění začala být plačtivá, zvracela a výrazně ji zežloutla kůže. Následovala hospitalizace ve Valašském Meziříčí pro nekonjugovanou hyperbilirubinémii. Zde byla zahájena fototerapie v režimu šestkrát tři hodiny za den, tzn. tři hodiny fototerapie a jedna hodina bez svícení. Ultrazvuk břicha i mozku byl s negativním nálezem. Postupně se zvýšil konjugovaný bilirubin nad 10 %. Pokus o snížení bilirubinu byl neúspěšný. Bylo vysazeno kojení a pacientka začala být krmena umělým mlékem. Dívence byla po celou dobu kvůli opakovanému zvracení aplikována infuze.

V deseti dnech života byla pro selhávání jater převezena do Fakultní nemocnice v Olomouci na Hematologické oddělení dětské kliniky. Zde bylo provedeno genetické vyšetření, které odhalilo mutaci p.(Glu340Lys) v homozygotním stavu v kombinaci s Duarteho alelou (D2): c.-119\_-116delGTCA + p.(Asn314Asp) také v homozygotním stavu. U pacientky byla molekulárně geneticky potvrzena diagnostika klasické, a i Duarteho galaktosémie. Po potvrzení výsledků začala být postupně upravována strava a dívka přešla na dietní stravu – Nestle AL 110 lactose free. Opakovaně u ní byla zachycena hypoglykémie, která byla korigována glukózou. Po měsíci hospitalizace, kdy si pacientka na bezlaktózové mléko zvykla a uměla si udržet dané dávky, byla propuštěna z nemocnice. Po propuštění dojížděla pacientka každé dva týdny do metabolické ambulance v Olomouci, postupně se interval kontrol prodlužoval na jednu za měsíc, poté jednou za dva měsíce, a nakonec jednou za tři měsíce. Tyto prohlídky trvaly do čtyř let věku.

Vzhledem k přetrvávajícímu obsahu vysokých hladin galaktitolu v moči byla dívka poprvé poslána v šesti měsících života z metabolické ambulance v Olomouci do Metabolické ambulance VFN v Praze, na Klinikou dětského a dorostového lékařství. Zde dostala pacientka svou nutriční terapeutku, která byla nápomocná při postupném zavádění další stravy. Veškeré novinky v jídelníčku musí rodiče dodnes s nutriční terapeutkou konzultovat. Zpočátku musela matka každý den terapeutce zasílat ke kontrole dívčin jídelníček.

## 5.5 Léčba

Po potvrzení galaktosémie bylo pacientce podáváno již zmíněné bezlaktózové mléko Nestlé BEBA AL 110 s přídatkem Protifaru, Faltomaltu a Glukopuru. Takto se stravovala první čtyři měsíce života. Musela mít přísně dodržovanou pravidelnou stravu každé tři hodiny přes den

i v noci. Před každým jídlem jí byla změřena hladina cukru, aby si mohla matka spočítat dávku Fantomaltu a Glukopuru. Jakmile měla pacientka ustálené hodnoty hladiny cukru v krvi, začaly se intervaly prodlužovat.

Dívinka může jíst potraviny, které mají celkový obsah galaktózy pod 12 mg/100 g hmoty. Ty, které mají 12–20 mg/100 g hmoty, může 1–2× za měsíc. Potraviny, které mají nad 20–25 mg/100 g hmoty, nemůže jíst vůbec. Seznam potravin i s jejich obsahem galaktózy mají rodiče pacientky k dispozici od nutriční terapeutky.

V tabulce 1 a 2 uvádím jídelníček dítěte sestavený matkou a zkontrolovaný nutriční terapeutkou. V tabulce 1 je jídelníček z 14. 10. 2015 (věk osm měsíců), v tabulce 2 je potom jídelníček z 27. 1. 2017 (věk dva roky). V jídelníčku není zahrnutý pitný režim.

*Tabulka 1 Jídelníček pacientky 14. 10. 2015*

<b>Doba a hodina jídla</b>	<b>Název pokrmu, množství potravin, množství komerčně upravené stravy</b>	<b>Receptura sněžené porce</b>
<i>Snídaně – 8:15 h</i>	33 g BEBA AL 110 200 ml kojenecké vody	Převařená kojenecká voda Aquila, po zchladnutí přidáno bezlaktózové mléko BEBA AL 110, promícháno
<i>Dopolední svačina – 10:45 h</i>	50 g jablka 30 g BEBA AL 110 180 ml kojenecké vody	Jablko nakrájené, očištěné od slupky a jádřince, následně rozmixováno  Příprava mléka viz výše
<i>Oběd – 13:30 h</i>	38 g telecího masa 30 g rýže dlouhozrné	Telecí maso uvařeno ve vodě, rozmixováno, následně zmrazeno. Po rozmražení ohřáto ve vodní páře. Rýže uvařená ve vodě do měkka, smíchána s ohřátým masem.
<i>Odpolední svačina – 16:00 h</i>	33 g BEBA AL 110 200 ml kojenecké vody	Příprava viz výše
<i>Večeře – 19:00 h</i>	20 g banánu 200 ml kojenecké vody 33 g BEBA AL 110	Banán zbaven slupky a středové části s jádřem, rozmixován  Příprava viz výše

Tabulka 2 Jídelníček pacientky 27. 1. 2017

<b>Doba a hodina jídla</b>	<b>Název pokrmu, množství potraviny, množství komerčně upravené stravy</b>	<b>Receptura sněžené porce</b>
<i>Ráno, snídaně – 7:30 h</i>	60 g domácího chleba Margarín STELLA  210 ml Galaktominu	Chléb: 500 g hladké mouky pšeničné, 3 dcl vody, 5 g sušeného droždí, špetka soli a mletého cukru, 1 lžička slunečnicového oleje
<i>Dopolední svačina – 10:00 h</i>	<u>Jablko-mrkvový salát</u> 118 g jablka 50 g mrkve 5 kapek citronu	Nastrouhané očištěné jablko a mrkev, přidat kapky citronu
<i>Oběd – 12:30 h</i>	Brambory s vepřovým masem 75 g vepřové kotlety 85 g bramboru 20 g cibule 1 stroužek česneku	Brambory uvařené ve vodě se solí, cibule a česnek orestovány na oleji, přidány kostky vepřového masa, směs podlita vodou a dušeno do měkka.
<i>Odpolední svačina – 16:00 h</i>	74 g banánu	Banán oloupaný od slupky, odstraněná středová semínka
<i>Večeře – 18:30 h</i>	65 g domácího chleba Vaječný bílek	Příprava chleba viz výše. Vejce uvařeno ve vodě, poté z něj odstraněn žloutek.

## 5.6 Dlouhodobé komplikace

### 5.6.1 Neurologie

Pacientka do desátého měsíce věku docházela na neurologii, kde cvičila Vojtovu metodu. Z počátku to vypadalo, že bude mít zasažené pohybové centrum v mozku, nicméně Vojtova metoda byla úspěšná. Dívka nyní normálně chodí, běhá a v rukách vše bez problému udrží. Má své úlevové polohy, kdy má ruce zvednuté v loktu a svěšené dolů v zápěstí. Jediný problém, který pacientka má, je s jemnou motorikou. Problém má například při navlékání korálků. Jiné neurologické obtíže nemá.

### **5.6.2 Gynekologie**

Pacientka má z krevních odběrů potvrzený hypergonadotropní hypogonadismus. Po konzultaci s gynekologem bylo rodičům sděleno, že se však tento problém stále vyvíjí a závěr se může ještě změnit. V deseti letech je zatím plánovaná hormonální léčba. Rozhodující pro tyto problémy bude až období puberty.

### **5.6.3 Oftalmologie**

Dívka dochází jednou ročně na kontroly do oční ordinace. Žádné problémy u ní zatím nebyly zjištěny.

### **5.6.4 Logopedie**

Pacientka má potvrzené poškození řečového centra v mozku. Diagnózou je vývojová dysfázie. Od tří let je vedena u klinické logopedky, kam dochází jednou za tři týdny. Od čtyř let navštěvuje logopedickou mateřskou školu, kde se logopedii věnují každý den. Kromě toho matka dívenky zařídila i soukromou logopedku, která dochází jednou týdně za pacientkou domů.

### **5.6.5 Psychologie**

Jednou ročně dojíždějí rodiče s dcerou do Prahy k psychologce, která se specializuje na děti s metabolickými vadami. Hodnotí pacientčin vývoj po psychické stránce, určuje její zralost a logické myšlení.



## ZÁVĚR

Galaktosémie je metabolická porucha zpracování galaktózy. Řadí se mezi dědičná onemocnění. Galaktóza je za fyziologických podmínek v těle zpracována pomocí čtyř enzymů. Galaktosémie se pak dělí na čtyři typy podle toho, který z těchto enzymů je nefunkční. Galaktosémie I. typu (klasická galaktosémie) je způsobena dysfunkcí enzymu GALT, II. typ je způsoben dysfunkcí enzymu GALK, III. typ dysfunkcí enzymu GALE a poslední, IV. typ, dysfunkcí enzymu GALM. Galaktóza, která nemůže být v těle zpracována, se přeměňuje alternativními cestami na galaktitol a galaktonát.

Galaktosémie I. typu je nejčastější a nejzávažnější. Mimo klasické klinické příznaky jako zvracení, průjem, žloutenka a letargie se sem řadí i dlouhodobé zdravotní komplikace. Galaktitol se akumuluje v buňkách, kde způsobuje oxidační stres. Mezi možné dlouhodobé problémy patří POI, poruchy řeči, poruchy paměti a také poruchy pohybu. Pokud není onemocnění léčeno, dochází k sepsi organismu, která může končit až smrtí. K tomuto typu galaktosémie se řadí také tzv. Duarte galaktosémie. Ta má dvě varianty – D1 (Los Angeles) a D2.

Galaktosémie II. typu se nejčastěji vyskytuje u romské populace. Galaktitol se kumuluje v oční čočce, kde způsobuje kataraktu. Dalším klinickým projevem může být pseudotumor cerebri. Lidé s tímto typem jsou vystaveni většímu riziku mentální retardace nebo dyspraxii.

III. typ onemocnění se dělí na dvě formy – periferní a generalizovanou. Periferní forma postihuje pouze červené a bílé krvinky. Pacienti jsou většinou asymptomatictí. Generalizovaná forma je závažnější. Její příznaky jsou podobné klasické galaktosémii.

Poslední IV. typ byl objeven poněkud nedávno. Svými příznaky má nejbliže k II. typu galaktosémie. U tohoto typu je nutná genetická diagnostika, jelikož biochemická diagnostická metoda zatím není známa.

Galaktosémie může být také diagnostikována novorozeneckým screeningem. Díky této metodě se může onemocnění zachytit před projevem klinických příznaků pacienta, což umožňuje včasné zahájení léčby.

Léčba u všech typů onemocnění je stejná. Zakládá se na dietě, která ze stravy vynechává galaktózu a laktózu. Je to zatím jediná dostupná terapie pro tuto metabolickou poruchu. Díky včasné léčbě došlo k výraznému snížení úmrtnosti novorozenců.

## POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Galactosemia: MedlinePlus Genetics. *MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine* [online]. [cit. 2020-11-12]. Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/galactosemia/#frequency>.
- [2] History of Galactosemia — Galactosemia Foundation. *Galactosemia Foundation* [online]. Albany (New York) [cit. 2020-11-12]. Dostupné z: <http://www.galactosemia.org/history-of-galactosemia>.
- [3] OPENO, K., J. SCHULZ, C. VARGAS et al. Epimerase-Deficiency Galactosemia Is Not a Binary Condition. *The American Journal of Human Genetics* [online]. 2006, **78**(1), 89-102 [cit. 2021-02-11]. ISSN 00029297. Dostupné z: doi:10.1086/498985.
- [4] BANFORD, S. a D. J. TIMSON. The structural and molecular biology of type IV galactosemia. *Biochimie* [online]. 2021, **183**, 13-17 [cit. 2021-04-26]. ISSN 03009084. Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2020.11.001.
- [5] LUNN, J. a J. BUTTRISS. Carbohydrates and dietary fibre. *Nutrition Bulletin* [online]. 2007, **32**(1), 21-64 [cit. 2020-11-18]. ISSN 1471-9827. Dostupné z: doi:10.1111/j.1467-3010.2007.00616.x.
- [6] QI, X. a R. TESTER. Fructose, galactose and glucose – In health and disease. *Clinical Nutrition ESPEN* [online]. 2019, **33**, 18-28 [cit. 2020-11-19]. ISSN 24054577. Dostupné z: doi:10.1016/j.clnesp.2019.07.004.
- [7] LIU, G. Galactose metabolism and ovarian toxicity. *Reproductive Toxicology* [online]. **14**(5), 377-384 [cit. 2020-11-19]. ISSN 08906238. Dostupné z: doi:10.1016/S0890-6238(00)00096-4.
- [8] HOLDEN, H., I. RAYMENT a J. THODEN. Structure and Function of Enzymes of the Leloir Pathway for Galactose Metabolism. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2003, **278**(45), 43885-43888 [cit. 2020-11-19]. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.R300025200.
- [9] ROSS, K., C. DAVIS a J. FRIDOVICH-KEIL. Differential roles of the Leloir pathway enzymes and metabolites in defining galactose sensitivity in yeast. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2004, **83**(1-2), 103-116 [cit. 2020-11-19]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2004.07.005.
- [10] CAO, Y., X. LI a J. GE. Enzyme Catalyst Engineering toward the Integration of Biocatalysis and Chemocatalysis. *Trends in Biotechnology* [online]. 2021 [cit. 2021-03-02]. ISSN 01677799. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibtech.2021.01.002.
- [11] KINGSLEY, L. J. a M. A. LILL. Substrate tunnels in enzymes: Structure-function relationships and computational methodology. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* [online]. 2015, **83**(4), 599-611 [cit. 2021-03-02]. ISSN 08873585. Dostupné z: doi:10.1002/prot.24772.

- [12] SCHAAFSMA, G. Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *International Dairy Journal* [online]. 2008, **18**(5), 458-465 [cit. 2021-03-01]. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2007.11.013.
- [13] THODEN, J. B., D. J. TIMSON, R. J. REECE a H. M. HOLDEN. Molecular Structure of Human Galactose Mutarotase. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2004, **279**(22), 23431-23437 [cit. 2021-04-26]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M402347200.
- [14] HOLDEN, H. M., J. B. THODEN, D. J. TIMSON a R. J. REECE. Galactokinase: structure, function and role in type II galactosemia. *Cellular and Molecular Life Sciences* [online]. 2004, **61**(19-20), 2471-2484 [cit. 2021-03-01]. ISSN 1420-682X. Dostupné z: doi:10.1007/s00018-004-4160-6.
- [15] THODEN, J. B. a H. M. HOLDEN. Molecular Structure of Galactokinase. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2003, **278**(35), 33305-33311 [cit. 2021-03-01]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M304789200.
- [16] D'ACIERNO, A., A. FACCHIANO a A. MARABOTTI. GALT Protein Database: Querying Structural and Functional Features of GALT Enzyme. *Human Mutation* [online]. 2014, **35**(9), 1060-1067 [cit. 2021-03-02]. ISSN 10597794. Dostupné z: doi:10.1002/humu.22613.
- [17] THODEN, J. B., T. M. WOHLERS, J. L. FRIDOVICH-KEIL a H. M. HOLDEN. Human UDP-galactose 4-Epimerase. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2001, **276**(18), 15131-15136 [cit. 2021-03-03]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M100220200.
- [18] KAVANAGH, K. L., H. JÖRNVALL, B. PERSSON a U. OPPERMANN. Medium- and short-chain dehydrogenase/reductase gene and protein families. *Cellular and Molecular Life Sciences* [online]. 2008, **65**(24), 3895-3906 [cit. 2021-03-03]. ISSN 1420-682X. Dostupné z: doi:10.1007/s00018-008-8588-y.
- [19] DEMIRBAS, D., A. COELHO, M. RUBIO-GOZALBO a G. BERRY. Hereditary galactosemia. *Metabolism* [online]. 2018, **83**, 188-196 [cit. 2021-02-10]. ISSN 00260495. Dostupné z: doi:10.1016/j.metabol.2018.01.025.
- [20] MCCORVIE, T., Y. LIU, A. FRAZER, T. GLEASON, J. FRIDOVICH-KEIL a D. TIMSON. Altered cofactor binding affects stability and activity of human UDP-galactose 4'-epimerase: Implications for type III galactosemia. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* [online]. 2012, **1822**(10), 1516-1526 [cit. 2021-02-11]. ISSN 09254439. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbadis.2012.05.007.
- [21] BEUTLER, E. Galactosemia: screening and diagnosis. *Clinical Biochemistry* [online]. 1991, **24**(4), 293-300 [cit. 2021-02-12]. ISSN 00099120. Dostupné z: doi:10.1016/0009-9120(91)80003-L.

- [22] LEVY, H. L. a G. HAMMERSEN. Newborn screening for galactosemia and other galactose metabolic defects. *The Journal of Pediatrics* [online]. 1978, **92**(6), 871-877 [cit. 2021-03-23]. ISSN 00223476. Dostupné z: doi:10.1016/S0022-3476(78)80351-5.
- [23] BROOMFIELD, A., C. BRAIN a S. GRUNEWALD. Galactosaemia: diagnosis, management and long-term outcome. *Paediatrics and Child Health* [online]. 2015, **25**(3), 113-118 [cit. 2021-03-18]. ISSN 17517222. Dostupné z: doi:10.1016/j.paed.2014.12.007.
- [24] TIMSON, D. J. Type IV galactosemia. *Genetics in Medicine* [online]. 2019, **21**(6), 1283-1285 [cit. 2021-05-18]. ISSN 1098-3600. Dostupné z: doi:10.1038/s41436-018-0359-z.
- [25] YUZYUK, T., B. BALAKRISHNAN, E. SCHWARZ et al. Effect of genotype on galactose-1-phosphate in classic galactosemia patients. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2018, **125**(3), 258-265 [cit. 2021-02-10]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2018.08.012.
- [26] LAI, K., M. TANG, X. YIN, H. KLAPPER, K. WIERENGA a L.J. ELSAS. ARHI: A new target of galactose toxicity in Classic Galactosemia. *Bioscience Hypotheses* [online]. 2008, **1**(5), 263-271 [cit. 2021-02-10]. ISSN 17562392. Dostupné z: doi:10.1016/j.bihy.2008.06.011.
- [27] BOSCH, A. M. Classical galactosaemia revisited. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2006, **29**(4), 516-525 [cit. 2021-03-05]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-006-0382-0.
- [28] COCANOUGH, B., U. AYPAR, A. MCDONALD, L. HASADSRI, M. J. BENNETT, W. EDWARD HIGHSMITH a K. D'ACO. Compound heterozygosity with a novel S222N GALT mutation leads to atypical galactosemia with loss of GALT activity in erythrocytes but little evidence of clinical disease. *Molecular Genetics and Metabolism Reports* [online]. 2015, **2**, 61-64 [cit. 2021-02-12]. ISSN 22144269. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgmr.2014.12.004.
- [29] SERAFINCEANU, N., I CUCU a C SERAFINCEANU. Galactosemia: diagnosis and treatment. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases* [online]. 2012, **19**(2), 215-218 [cit. 2021-02-12]. ISSN 2284-6417. Dostupné z: doi:10.2478/v10255-012-0026-0.
- [30] AUSTIN, C. P. Missense Mutation. *National Human Genome Research Institute Home | NHGRI* [online]. Bethesda (Maryland), 2014 [cit. 2021-02-18]. Dostupné z: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Missense-Mutation>.
- [31] LUKAC BAJALO, J., S. MENCEJ, N. KARAS, B. MLINAR, I. PRODAN ZITNIK a K. GERSAK. Q188R, K285N, and N314D mutation-associated alleles in the galactose-1-phosphate uridylyltransferase gene and female infertility. *Fertility and Sterility* [online]. 2005, **83**(3), 776-778 [cit. 2021-03-05]. ISSN 00150282. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2004.10.029.

- [32] PETRY, K. G a J. K.V REICHARDT. The fundamental importance of human galactose metabolism: lessons from genetics and biochemistry. *Trends in Genetics* [online]. 1998, **14**(3), 98-102 [cit. 2021-03-05]. ISSN 01689525. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-9525(97)01379-6.
- [33] TYFIELD, L., J. REICHARDT, J. FRIDOVICH-KEIL et al. Classical galactosemia and mutations at the galactose-1-phosphate uridyl transferase (GALT) gene. *Human Mutation* [online]. Wiley, 1999, **1999**(13), 417-430 [cit. 2021-03-05]. Dostupné z: doi:10.1002/(SICI)1098-1004(1999)13:6<417::AID-HUMU1>3.0.CO;2-0.
- [34] FICICIOGLU, C., N. THOMAS, C. YAGER, P. R. GALLAGHER, C. HUSSA, A. MATTIE, D. L. DAY-SALVATORE a B. J. FORBES. Duarte (DG) galactosemia: A pilot study of biochemical and neurodevelopmental assessment in children detected by newborn screening. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2008, **95**(4), 206-212 [cit. 2021-02-12]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2008.09.005.
- [35] RIDEL, K. R., N. D. LESLIE a D. L. GILBERT. An Updated Review of the Long-Term Neurological Effects of Galactosemia. *Pediatric Neurology* [online]. 2005, **33**(3), 153-161 [cit. 2021-02-23]. ISSN 08878994. Dostupné z: doi:10.1016/j.pediatrneurol.2005.02.015.
- [36] PRODAN-ZITNIK, I., N. KARAS-KUZELICKI a J. LUKAC-BAJALO. Positive correlation between galactose-1-phosphate uridyltransferase (GALT) and UDP-galactose-4'-epimerase (GALE) activities. *Clinical Biochemistry* [online]. 2009, **42**(15), 1561-1564 [cit. 2021-02-23]. ISSN 00099120. Dostupné z: doi:10.1016/j.clinbiochem.2009.07.008.
- [37] EL BAKLY, W., M. MEDHAT, M. SHAFEI, R. TASH, M. ELREFAI, Y. SHOUKRY a N. N. OMAR. Optimized platelet rich plasma releasate (O-rPRP) repairs galactosemia-induced ovarian follicular loss in rats by activating mTOR signaling and inhibiting apoptosis. *Heliyon* [online]. 2020, **6**(9) [cit. 2021-02-23]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05006.
- [38] FRIDOVICH-KEIL, J. L., C. S. GUBBELS, J. B. SPENCER, R. D. SANDERS, J. A. LAND a E. RUBIO-GOZALBO. Ovarian function in girls and women with GALT-deficiency galactosemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2011, **34**(2), 357-366 [cit. 2021-02-23]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-010-9221-4.
- [39] THAKUR, M., G. FELDMAN a E. E. PUSCHECK. Primary ovarian insufficiency in classic galactosemia: current understanding and future research opportunities. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. 2018, **35**(1), 3-16 [cit. 2021-03-05]. ISSN 1058-0468. Dostupné z: doi:10.1007/s10815-017-1039-7.
- [40] TIMMERS, I., J. VAN DEN HURK, P. AM HOFMAN, L. JI ZIMMERMANN, K. ULUDAĞ, B. M JANSMA a M E. RUBIO-GOZALBO. Affected functional networks associated with sentence production in classic galactosemia. *Brain Research* [online].

2015, **1616**, 166-176 [cit. 2021-02-23]. ISSN 00068993. Dostupné z:  
doi:10.1016/j.brainres.2015.05.007.

- [41] YAGER, C., S. WEHRLI a S. SEGAL. Urinary galactitol and galactonate quantified by isotope-dilution gas chromatography-mass spectrometry. *Clinica Chimica Acta* [online]. 2006, **366**(1-2), 216-224 [cit. 2021-03-18]. ISSN 00098981. Dostupné z:  
doi:10.1016/j.cca.2005.10.015.
- [42] PASQUALI, M., C. YU a B. COFFEE. Laboratory diagnosis of galactosemia: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine* [online]. 2018, **20**(1), 3-11 [cit. 2021-03-18]. ISSN 1098-3600. Dostupné z: doi:10.1038/gim.2017.172.
- [43] HOFFMANN, B., N. DRAGANO a S. SCHWEITZER-KRANTZ. Living situation, occupation and health-related quality of life in adult patients with classic galactosemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2012, **35**(6), 1051-1058 [cit. 2021-05-21]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-012-9469-y.
- [44] VAN CALCAR, S. C., L. E. BERNSTEIN, F. J. ROHR, C. H. SCAMAN, S. YANNICELLI a G. T. BERRY. A re-evaluation of life-long severe galactose restriction for the nutrition management of classic galactosemia. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2014, **112**(3), 191-197 [cit. 2021-05-21]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2014.04.004.
- [45] BOSCH, A. M. Classic galactosemia: dietary dilemmas. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2011, **34**(2), 257-260 [cit. 2021-05-21]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-010-9157-8.
- [46] BECH, L. F., M. L. DONNEBORG, A. M. LUND a F. EBBESEN. Extreme neonatal hyperbilirubinemia, acute bilirubin encephalopathy, and kernicterus spectrum disorder in children with galactosemia. *Pediatric Research* [online]. 2018, **84**(2), 228-232 [cit. 2021-04-19]. ISSN 0031-3998. Dostupné z: doi:10.1038/s41390-018-0066-0.
- [47] KOTB, M. A., L. MANSOUR a R. A SHAMMA. Screening for galactosemia: is there a place for it?. *International Journal of General Medicine* [online]. 2019, **12**, 193-205 [cit. 2021-04-19]. ISSN 1178-7074. Dostupné z: doi:10.2147/IJGM.S180706.
- [48] DEMIRBAS, D., X. HUANG, V. DAESETY et al. The ability of an LC-MS/MS-based erythrocyte GALT enzyme assay to predict the phenotype in subjects with GALT deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2019, **126**(4), 368-376 [cit. 2021-04-19]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2019.01.016.
- [49] STROEK, K., M. BOUVA, P. SCHIELEN, F. VAZ, A. HEIJBOER, R. DE JONGE, A. BOELEN a A. BOSCH. Recommendations for newborn screening for galactokinase deficiency: A systematic review and evaluation of Dutch newborn screening data. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2018, **124**(1), 50-56 [cit. 2021-02-11]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2018.03.008.

- [50] JANZEN, N., S. ILLSINGER, U. MEYER, Y. SHIN, J. SANDER, T. LÜCKE a A. DAS. Early Cataract Formation Due to Galactokinase Deficiency: Impact of Newborn Screening. *Archives of Medical Research* [online]. 2011, **42**(7), 608-612 [cit. 2021-02-11]. ISSN 01884409. Dostupné z: doi:10.1016/j.arcmed.2011.11.004.
- [51] HASKOVIC, M., A. I. COELHO, J. BIERAU et al. Pathophysiology and targets for treatment in hereditary galactosemia: A systematic review of animal and cellular models. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2020, **43**(3), 392-408 [cit. 2021-02-15]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1002/jimd.12202.
- [52] THODEN, J. B., D. J. TIMSON, R. J. REECE a H. M. HOLDEN. Molecular Structure of Human Galactokinase. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2005, **280**(10), 9662-9670 [cit. 2021-02-15]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M412916200.
- [53] P, S., E. A. EBRAHIMI, S. A. GHAZALA, T. K. D, S. R, G. PRIYA DOSS C a H. ZAYED. Structural analysis of missense mutations in galactokinase 1 (GALK1) leading to galactosemia type-2. *Journal of Cellular Biochemistry* [online]. 2018, **119**(9), 7585-7598 [cit. 2021-03-08]. ISSN 07302312. Dostupné z: doi:10.1002/jcb.27097.
- [54] HENNERMANN, J. B., P. SCHADEWALDT, B. VETTER, Y. S. SHIN, E. MÖNCH a J. KLEIN. Features and outcome of galactokinase deficiency in children diagnosed by newborn screening. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2011, **34**(2), 399-407 [cit. 2021-03-08]. ISSN 0141-8955. Dostupné z: doi:10.1007/s10545-010-9270-8.
- [55] CHIAPPORI, F., I. MERELLI, L. MILANESI a A. MARABOTTI. Static and dynamic interactions between GALK enzyme and known inhibitors: Guidelines to design new drugs for galactosemic patients. *European Journal of Medicinal Chemistry* [online]. 2013, **63**, 423-434 [cit. 2021-02-23]. ISSN 02235234. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejmech.2013.02.021.
- [56] SANGIUOLO, F., M. MAGNANI, D. STAMBOLIAN a G. NOVELLI. Biochemical characterization of two GALK1 mutations in patients with galactokinase deficiency. *Human Mutation* [online]. 2004, **23**(4), 396-396 [cit. 2021-02-23]. ISSN 1059-7794. Dostupné z: doi:10.1002/humu.9223.
- [57] LITMAN, N., A. I. KANTER a L. FINBERG. Galactokinase deficiency presenting as pseudotumor cerebri. *The Journal of Pediatrics* [online]. 1975, **86**(3), 410-412 [cit. 2021-04-20]. ISSN 00223476. Dostupné z: doi:10.1016/S0022-3476(75)80973-5.
- [58] COOK, J. G. H., N. A. DON a T. P. MANN. Hereditary galactokinase deficiency. *Archives of Disease in Childhood* [online]. 1971, **46**(248), 465-469 [cit. 2021-04-20]. ISSN 0003-9888. Dostupné z: doi:10.1136/adc.46.248.465.
- [59] KALAYDJIEVA, L., A. PEREZ-LEZAUN, D. ANGELICHEVA et al. A Founder Mutation in the GK1 Gene Is Responsible for Galactokinase Deficiency in Roma (Gypsies). *The American Journal of Human Genetics* [online]. 1999, **65**(5), 1299-1307 [cit. 2021-04-20]. ISSN 00029297. Dostupné z: doi:10.1086/302611.

- [60] MACERATESI, P., N. DAUDE, B. DALLAPICCOLA, G. NOVELLI, R. ALLEN, Y. OKANO a J. REICHARDT. Human UDP-Galactose 4' Epimerase (GALE) Gene and Identification of Five Missense Mutations in Patients with Epimerase-Deficiency Galactosemia. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 1998, **63**(1), 26-30 [cit. 2021-02-11]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1006/mgme.1997.2645.
- [61] TIMSON, D. The structural and molecular biology of type III galactosemia. *IUBMB Life (International Union of Biochemistry and Molecular Biology: Life)* [online]. 2006, **58**(2), 83-89 [cit. 2021-02-15]. ISSN 1521-6543. Dostupné z: doi:10.1080/15216540600644846.
- [62] PEY, A. L., E. PADÍN-GONZALEZ, N. MESA-TORRES a D. J. TIMSON. The metastability of human UDP-galactose 4'-epimerase (GALE) is increased by variants associated with type III galactosemia but decreased by substrate and cofactor binding. *Archives of Biochemistry and Biophysics* [online]. 2014, **562**, 103-114 [cit. 2021-02-23]. ISSN 00039861. Dostupné z: doi:10.1016/j.abb.2014.07.030.
- [63] FRIDOVICH-KEIL, J., L. BEAN, M. HE a R. SCHROER. *Epimerase Deficiency Galactosemia* [online]. GeneReviews®. Seattle: University of Washington, Seattle, Seattle (WA), 2011 [cit. 2021-05-18]. PMID: 21290786. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK51671/>.
- [64] DIAS COSTA, F., S. FERDINANDUSSE, C. PINTO et al. Galactose Epimerase Deficiency: Expanding the Phenotype. *JIMD Reports, Volume 37* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2017, , 19-25 [cit. 2021-04-20]. JIMD Reports. ISBN 978-3-662-56358-8. Dostupné z: doi:10.1007/8904\_2017\_10.
- [65] SARKAR, M., S. S. BOSE, G. MONDAL a S. CHATTERJEE. Generalized epimerase deficiency galactosemia. *The Indian Journal of Pediatrics* [online]. 2010, **77**(8), 909-910 [cit. 2021-04-20]. ISSN 0019-5456. Dostupné z: doi:10.1007/s12098-010-0135-9.
- [66] IWASAWA, S., A. KIKUCHI, Y. WADA, N. ARAI-ICHINOI, O. SAKAMOTO, G. TAMIYA a S. KURE. The prevalence of GALM mutations that cause galactosemia: A database of functionally evaluated variants. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2019, **126**(4), 362-367 [cit. 2021-05-18]. ISSN 10967192. Dostupné z: doi:10.1016/j.ymgme.2019.01.018.
- [67] CONTE, F., N. VAN BUURINGEN, N. C. VOERMANS a D. J. LEFEBER. Galactose in human metabolism, glycosylation and congenital metabolic diseases: Time for a closer look. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* [online]. 2021, **1865**(8) [cit. 2021-05-18]. ISSN 03044165. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbagen.2021.129898.
- [68] URV, T. K. a M. a A. PARISI. Newborn Screening: Beyond the Spot. *Rare Diseases Epidemiology: Update and Overview* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2017, , 323-346 [cit. 2021-03-23]. Advances in Experimental Medicine and Biology. ISBN 978-3-319-67142-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-67144-4\_19.



- [69] LAK, R., B. YAZDIZADEH, M. DAVARI, M. NOUHI a R. KELISHADI. Newborn screening for galactosaemia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. [cit. 2021-03-23]. ISSN 14651858. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD012272.pub2.
- [70] PORTA, F., S. PAGLIARDINI, V. PAGLIARDINI, A. PONZONE a M. SPADA. Newborn screening for galactosemia: a 30-year single center experience. *World Journal of Pediatrics* [online]. 2015, **11**(2), 160-164 [cit. 2021-03-23]. ISSN 1708-8569. Dostupné z: doi:10.1007/s12519-015-0017-3.
- [71] WADA, Y., A. KIKUCHI, N. ARAI-ICHINOI et al. Biallelic GALM pathogenic variants cause a novel type of galactosemia. *Genetics in Medicine* [online]. 2019, **21**(6), 1286-1294 [cit. 2021-05-23]. ISSN 1098-3600. Dostupné z: doi:10.1038/s41436-018-0340-x.
- [72] FUJIMOTO, A., Y. OKANO, T. MIYAGI, G. ISSHIKI a T. OURA. Quantitative Beutler Test for Newborn Mass Screening of Galactosemia Using a Fluorometric Microplate Reader. *Clinical Chemistry* [online]. 2000, **46**(6), 806-810 [cit. 2021-03-23]. ISSN 0009-9147. Dostupné z: doi:10.1093/clinchem/46.6.806.
- [73] LEVY, H. L. Screening for galactosaemia. *Inherited Disorders of Carbohydrate Metabolism* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1979, , 133-139 [cit. 2021-03-30]. ISBN 978-94-009-9217-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-94-009-9215-3\_8.
- [74] SCHWEITZER-KRANTZ, S.. Early diagnosis of inherited metabolic disorders towards improving outcome: the controversial issue of galactosaemia. *European Journal of Pediatrics* [online]. 2003, **162**(0), 50-53 [cit. 2021-03-30]. ISSN 0340-6199. Dostupné z: doi:10.1007/s00431-003-1352-2.

## **PŘÍLOHA 1**

Prohlašuji, že veškeré informace obsažené v kazuistice byly použity s vysloveným souhlasem Ing. Jany Hrstkové, matky mladé pacientky.

V Pardubicích dne 28. 6. 2021

Leona Marinčinová