

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

Název disertační práce: Molekulární příčiny a mechanismy dědičných cholestáz a statiny indukované myopatie

Autor: Ing. Magdaléna Neřoldová

Oponent: RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.

TEXT POSUDKU

Předložená disertační práce řeší na molekulárně genetické úrovni klinicky významnou problematiku příčin dědičných cholestáz a statiny indukované myopatie.

Práce má 58 stran volného textu obsahujícího teoretický úvod, cíle práce a výsledky s diskusí k pěti publikacím, které jsou uvedeny *in extenso* a představují podklad disertační práce. Čtyři z nich byly uveřejněny v impaktovaných časopisech (IF 1,776 – 3,752), pátá je kapitola v zahraniční monografii.

Teoretická část

Je členěna do dvou základních oddílů vztahujících se řešeným tématům. V první části autorka čtenáře uvádí do problematiky molekulárních mechanismů absorpce, transcelulárního transportu a sekrece jednotlivých složek žluče. V navazujících kapitolách se věnuje patofyziologickým procesům vedoucím k manifestaci dědičných cholestáz a shrnuje současný stav poznání zaměřený na molekulární příčiny těchto onemocnění.

Druhá část úvodu je přehledem biochemických a genetických aspektů metabolismu cholesterolu, mechanismu působení statinů a popisu molekulárních příčin a různých klinických projevů statinové myopatie.

Text úvodu je doprovázen četnými obrázky a tabulkami, což čtenáři usnadňuje představu o popisovaných biochemických drahách a procesech. Teoretická část vychází z vhodně vybraných a bohatě citovaných literárních zdrojů, od prvotních prací až po recentní.

Výsledky

Kapitola Výsledky a diskuse jsou napsány formou komentáře k pěti publikacím, které se vztahují k vytyčenému cíli, tj. k identifikaci nových kandidátních genů a nových patogenních variant asociovaných s dědičnou cholestázou a statinovou myopatií. V rozsáhlých kohortách pacientů jsou hodnoceny příspěvky vzácných variant malého rozsahu i rozsáhlých

duplikací/deleci (CNV) v nových i známých genech. Autorka v této části shrnuje své publikované výsledky a zasazuje je do kontextu s výsledky novějších publikací jiných autorů přinášejících k tématu nové informace. Text je opět doprovázen řadou obrázků a tabulek, tentokrát dokumentujících vlastní výsledky.

Za nejdůležitější výsledky lze považovat identifikaci nových kandidátních genů: *IFT172* pro cholestatické onemocnění jater a *CLCNI* pro statinovou myopatii.

Metodika zpracování

Práce je po formální i obsahové stránce dobře zpracována, rozsah spisu je přiměřený zvolenému tématu. Laboratorní metody jsou vhodně zvolené pro řešení vytyčených cílů. Celoxomové sekvenování umožňující detekci jak variant malého rozsahu, tak CNV, je v případě potřeby doplněno molekulárně cytogenetickou metodou SNP array, analýzou RNA a histologickými a imunohistochemickými metodami.

Význam práce, aktuálnost řešeného tématu

Práce se zabývá dvěma vysoce aktuálními tématy.

Znalost molekulární podstaty dědičných cholestáz je významná pro stanovení diagnózy neinvazivní cestou a stratifikace rizika na základě závažnosti genetického defektu je důležitou součástí v procesu rozhodování o terapeutickém postupu. V dnešní době je známa řada genů, které jsou s manifestací cholestázy asociovány, u velké skupiny pacientů však genetická podstata dosud nebyla určena. Nové příspěvky k poznání genetické podstaty cholestáz mají z hlediska pochopení patofyziologie onemocnění i z hlediska klinického velký význam. Důležitost molekulárně genetického přístupu je dále demonstrována v příložené publikaci, která ukazuje, že mutační analýza je jedinou spolehlivou metodou pro diferenciální diagnostiku progresivní familiární intrahepatální cholestázy typu 3 (PFIC3) a Wilsonovy choroby (WD).

Druhým tématem je sledování mechanismů podmiňujících statinovou myopatii. Statiny jsou vysoce účinné léky používané na snížení plazmatických hladin cholesterolu a představují jednu z nejpoužívanějších skupin léků. Nejčastějším nežádoucím účinkem statinové léčby je postižení svalové tkáně různé závažnosti, od pouhého zvýšení hladiny CK po rhabdomyolýzu. Řada studií ukazuje, že vnímavost ke statinové myopatii má silnou genetickou složku. Znalost genotypu je pak zohledňována při navrhování léčebných postupů. Stejně jako u cholestáz, ani v tomto případě není soubor genů zapojených do patofyziologie statinových myopatií uzavřen a identifikace kauzálních genů je pro řešení dané problematiky velmi přínosná.

Otázky:

- 1) U čtyřech pacientů se statinovou myopatií byla nalezena v literatuře dříve popsána trunkující varianta p.(Arg894Ter) v genu *CLCN1* (Neřoldová M et al, 2016). Patogenní varianty v *CLCN1* jsou příčinou Thomsenovy choroby (AD dědičnost). Měli pacienti příznaky tohoto onemocnění před začátkem léčby statiny?
- 2) Nejčastější popsanou patogenní variantou v genu *CLCN1* je ve Velké Británii p.(Gly230Glu) (Vivekanandam V. et al. *Neuromuscular Disorders* 33 (2023) 270–273). Identifikovali jste tuto variantu v kohortě pacientů nebo kontrolní skupiny? Existují informace o asociaci této varianty se statinovou myopatií?
- 3) V kapitole *Závěr* je věta: Zásadním nálezem jsou dosud nepopsané patogenní varianty v genu *IFT172* u nemocných s primárním cholestatickým onemocněním jater. V publikaci Neřoldová M et al, 2023 jsou tyto varianty hodnoceny jako varianty nejasného významu. Změnila se od doby vydání publikace klasifikace na základě nově získaných informací?

Doporučení k obhajobě

Předložená disertační práce jasně prokazuje předpoklady Ing. Magdalény Neřoldové k samostatné tvořivé vědecké práci. Na základě výše uvedeného doporučuji práci „Molekulární příčiny a mechanismy dědičných cholestáz a statiny indukované myopatie“ k obhajobě a na jejím základě k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Praze dne 18. 1. 2024


RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.

Diagnostické laboratoře dědičných poruch metabolismu
Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu
1.LF UK a VFN v Praze