

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Studijní program: Doktorský studijní program v biomedicíně

Studijní obor: Biochemie a patobiochemie



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Ing. Magdaléna Neřoldová

Molekulární příčiny a mechanismy dědičných cholestáz a statiny indukované myopatie

Molecular causes and mechanisms of hereditary cholestasis and statin-induced myopathy

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce: prof. MUDr. Mgr. Milan Jirsa, CSc.

Praha, 2023

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30.11.2023

Magdaléna Neřoldová

Identifikační záznam:

NEŘOLDOVÁ, Magdaléna. MOLEKULÁRNÍ PŘÍČINY A MECHANISMY DĚDIČNÝCH CHOLESTÁZ A STATINY INDUKOVANÉ MYOPATIE [MOLECULAR CAUSES AND MECHANISMS OF HEREDITARY CHOLESTASIS AND STATIN-INDUCED MYOPATHY]. Praha, 2023. Počet stran 59. Počet příloh 5. Disertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, 1. LF UK. Vedoucí práce Jirsa, Milan

Abstrakt

Objev molekulární podstaty Rotorova syndromu spočívající v současné bialelické inaktivaci obou genů *SLCO1B1* a *SLCO1B3* kódujících jaterní transportéry OATP1B1 a OATP1B3 a již dříve popsaná asociace varianty rs4149056 v OATP1B1 se statiny indukovanou myopatií (SM) nás přivedly k hypotéze, že privátní varianty v OATP1B1 a OATP1B3 mohou přispívat k dědičné predispozici k SM. Tato hypotéza se v naší studii 88 nemocných, u kterých jsme provedli exomové sekvenování, nepotvrdila. Zajímavý byl nálezn variant v několika genech pro recesivně dědičná svalová onemocnění, především *CLCN1*, jejichž nosičství může při vzniku SM sehrát významnou úlohu.

U cholestázy s dědičnou příčinou je známo několik desítek kauzálních genů. U 51 neobjasněných případů jsme provedli exomové sekvenování, kdy nálezem bylo několik neočekávaných diagnóz - autozomálně recesivní polycystóza, kožní porfyrie či nefronoftíza. Pozoruhodný byl nálezn dosud nepopsaného deficitu v genu *F11R* podmíněného homozygotní sestřihovou mutací v genu *F11R* u probandky s jaterní cirhózou a její zdravé sestry. Protein F11R se účastní vzniku těsných mezibuněčných spojení, deficit v genu *F11r* u myši predisponuje k postižení jater. Zásadním nálezem byly varianty v genu *IFT172* asociovaném s fenotypově variabilní ciliopatií, které jsme našli u dvou nemocných s izolovaným cholestatickým postižením jater.

Klíčová slova: celoexomové sekvenování, statinová myopatie, cholestáza, *CLCN1*, *IFT172*

Abstract

The discovery of the molecular basis of Rotor syndrome consisting in biallelic inactivating mutations in both *SLCO1B1* and *SLCO1B3* genes encoding hepatic transporters OATP1B1 and OATP1B3, together with the previously described association of the rs4149056 variant in OATP1B1 with statin-induced myopathy (SM), led us to hypothesis that private variants in OATP1B1 and OATP1B3 confer predisposition to SM. This hypothesis was not supported by our study of 88 patients in whom exome sequencing was performed. Interestingly, we detected candidate variants in several genes mutated in recessively inherited muscle disorders, namely *CLCN1*, whose carriage may predispose to SM.

Pathogenic variants in several dozens of causative genes underlie hereditary cholestasis. We performed exome sequencing in 51 unexplained cases and revealed several unexpected diagnoses such as autosomal recessive polycystic polyposis, cutaneous porphyria or nephronophthisis. The most remarkable finding was that of yet unreported *F11R* deficiency due to a homozygous splice mutation found simultaneously in an index patient suffering from liver cirrhosis and her healthy sister. The F11R protein is involved in formation of tight intercellular junctions and mutations in *F11r* predispose to liver failure in mice. The finding of biallelic variants in *IFT172* associated with phenotypically variable ciliopathy, which we detected in two patients with isolated cholestatic liver disease, was fundamental.

Key words: whole exom sequencing, statin myopathy, cholestasis, CLCN1, IFT172

PODĚKOVÁNÍ

Na prvním místě bych chtěla poděkovat svému školiteli prof. MUDr. Mgr. Milanu Jirsovi CSc. za jeho odborné vedení a podporu, cenné rady a připomínky a za možnost věnovat se problematice jaterních onemocnění.

Rovněž bych chtěla poděkovat MUDr. Evě Sticové Ph.D., Mgr. Markétě Šafaříkové Ph.D., Dr. Marii Lunové, Mgr. Lucii Pfeiferové, Mgr. Viktoru Stráneckému, Ph.D. za jejich odbornou pomoc a spolupráci při řešení dílčích projektů disertační práce.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat prof. MUDr. Luďkovi Červenkoví, CSc. MBA z Institutu klinické a experimentální medicíny v Praze, prof. Ing. Stanislavu Kmochovi, CSc. z Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF a VFN a prof. MUDr. Martě Kalousové, Ph.D. z Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF a VFN za možnost vypracovat disertační práci.

Na závěr bych chtěla poděkovat všem kolegům a kolegyním z Laboratoře experimentální hepatologie IKEM a z Laboratoře pro komplexní výzkum nových biomarkerů 1. LF UK a VFN v Praze za příjemnou atmosféru v milém kolektivu.

POUŽITÉ ZKRATKY

ABC	transportéry ATP-binding cassette
ACMG	Americká společnost lékařské genetiky a genomiky
AD	autozomálně dominantní
ALGS	Alagilleův syndrom
apo	apolipoprotein
AR	autozomálně recesivní
ARCS	artrogrypóza
BBS	Bardet-Biedlův syndrom
BRIC	benigní rekurentní intrahepatální cholestázy
BSEP	exportní pumpa žlučových kyselin
BLVR	biliverdinreduktáza
CAR	konstitutivní androstanový receptor
cDNA	komplementární deoxyribonukleová kyselina
CK	kreatinin kináza
CNV	odchylky v počtu kopií
FGF	fibroblastové růstové faktory
FHCA	familiární hypercholanémie
FIC1	flipáza translokující aminofosfolipidy
FXR	farnesoid vázaný X receptor
gDNA	genomová deoxyribonukleová kyselina
GGT	gama-glutamyl transferáza
HDL	vysokodenzitní lipoprotein
HMGCR	3-hydroxy-3-metyl-glutaryl-coenzym A reduktáza
HNF1 α	hepatocytární nukleární faktor 1 α
HPSG	heparinem sulfatované proteoglykany
IFT	intraflagelární transportní systém
ILVASC	ichtyóza, leukocytární vakuoly, alopecie a sklerózující cholangitida
LDL	nízkodenzitní lipoprotein
LDLR	LDL receptory
LRH	játerní homologní receptor
LRP	protein související s LDL receptory
MAF	frekvence minoritní alely, frekvence druhé nejčastější alely v populaci

MDR, MRP multidrug rezistentní proteiny
MKS Meckelův syndrom
mRNA mediátorová ribonukleová kyselina
MT mikrotubulární
NHR nukleární receptory
NPC1L1 Niemann-Pick C-1 like-1 protein
NPHP nefronoftíza
NTCP taurocholátový kotransportní polypeptid
OATP1B multi-specifické organické aniontové transportéry
OMIM databáze (Online Inheritance In Men)
PFIC progresivní familiární intrahepatální cholestázy
pHTN portální hypertenze
PKD polycystické onemocnění ledvin
PXR pregnanový X receptor
PZ přechodová zóna
ROS reaktivní formy kyslíku
RS Rotorův syndrom
SM statiny indukovaná myopatie
SHP malý heterodimerní protein
ULN horní limit normy (upper limit of normal)
WD Wilsonova choroba
WES celoexomové sekvenování
ŽK žlučové kyseliny

Obsah

1	ÚVOD	1
1.1	Cholestáza.....	1
1.1.1	Molekulární mechanismy sekrece žluče	1
1.1.2	Genetické poruchy sekrece žluče a lipidů	4
1.1.3	Familiární intrahepatální cholestázy	11
1.1.4	Ciliopatie	15
1.2	Statinové myopatie	20
1.2.1	Metabolismus cholesterolu.....	20
1.2.2	Statiny.....	25
1.2.3	Myopatie.....	27
2	CÍLE PRÁCE	30
2.1	Zjistit význam <i>SLCO1B7</i> v etiologii a patogenezi Rotorova syndromu	30
2.2	Zjistit příspěvek variant v panelu kandidátních genů asociovaných se SM a případně identifikovat nové kandidátní geny	30
2.3	Zjistit příspěvek patogenních variant v panelu kandidátních genů asociovaných s dědičnou cholestázou a případně identifikovat nové kandidátní geny	30
3	SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTAČNÍ PRÁCE	31
4	VÝSLEDKY A DISKUSE K JEDNOTLIVÝM PUBLIKACÍM.....	32
4.1	Funkční význam <i>SLCO1B7</i> v etiologii a patogenezi Rotorova syndromu - publikace č. 1	32
4.2.1	Vzácné varianty predisponující ke statiny indukovaným myopatiím – publikace č. 235	38
4.2.2	Odchytky v počtu kopií u pacientů se statinem asociovanými myopatiemi – publikace č. 3	38
4.3.1	Deficit <i>ABCB4</i> napodobující Wilsonovu chorobu publikace č. 4	39
4.3.2	Varianty v <i>IFT172</i> u pacientů s nesyndromickým cholestatickým jaterním onemocněním – publikace č. 5	41
5	ZÁVĚR.....	43

6	SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DISERTACE.....	44
7	LITERATURA.....	46
8	PUBLIKACE <i>IN EXTENSO</i> , KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTACE.....	59

1 ÚVOD

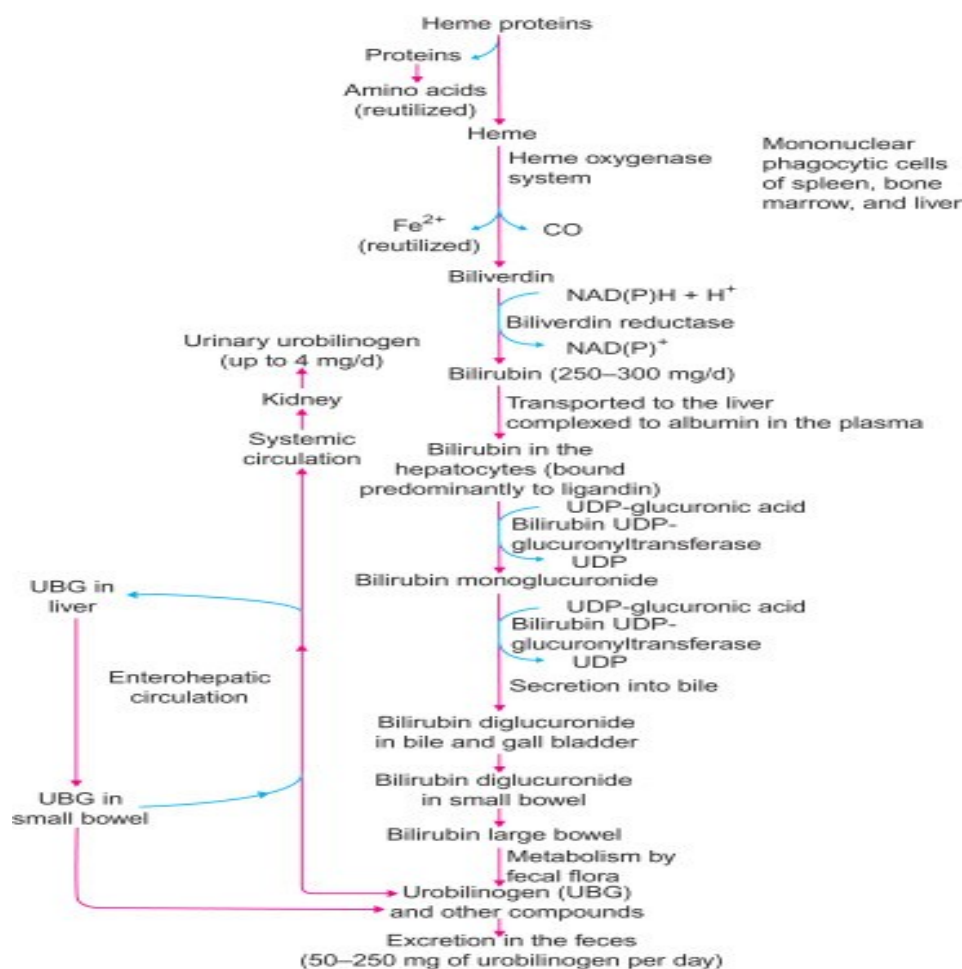
1.1 Cholestáza

1.1.1 Molekulární mechanismy sekrece žluče

Sekrece žluči hraje klíčovou roli ve fyziologii jater, protože žluč slouží jako důležitá vylučovací cesta pro mnoho endo- a xenobiotik a díky schopnosti žlučových kyselin (ŽK) emulgovat tuky se zásadním způsobem podílí na trávení lipidů v tenkém střevě. Sekrece žluči závisí na funkci řady membránových transportních systémů exprimovaných v hepatocytech a v epitelových buňkách žlučovodů a na strukturální a funkční integritě žlučového sekrečního aparátu. Tvorba žluči je výsledkem aktivní sekrece osmoticky aktivních sloučenin hepatocyty do kanikulárního prostoru, které následuje pasivní pohyb vody těsnými spoji. Žlučové kyseliny (přesněji soli ŽK konjugovaných s glycinem či taurinem) jsou hlavní organické látky rozpuštěné ve žluči. Soli ŽK představují hlavní osmotickou hnací sílu při vytváření toku žluči, i když k produkci žluči přispívá také na žlučových kyselinách nezávislá sekrece dalších organických aniontů. Transport jednotlivých složek žluče směrem z krve do žluče je proces (J. Y. L. Chiang & Ferrell, 2018), který zahrnuje absorpci ze sinusoidální krve, transcelulární transport přes hepatocyty (s metabolickými modifikacemi nebo bez nich) a kanikulární sekreci proti strmým koncentračním gradientům, které vyžadují aktivní transport. Ačkoli hlavním determinantem celkového toku žluči je objem vody vyloučené na úrovni hepatocytů, k dalším změnám složení žluči dochází při cestě žluči žlučovody a zejména ve žlučníku. ŽK procházejí enterohepatálním cyklem, jehož hnací silou je prostá difuze méně polárních žlučových kyselin a aktivní vychytávání polárních ŽK (zejména taurokonjugátů) v enterocytech v terminálním ileu. To umožňuje zachycení ŽK z lumen střeva, jejich transport do portálního oběhu a nakonec do jater.

Sinusoidální membrána hepatocytů obsahuje několik proteinů, které usnadňují vstup ŽK a dalších organických látek rozpustných v tucích do jater, včetně fyziologických substrátů jako je bilirubin, stejně jako léčiv a xenobiotik. Bilirubin (Creeden, Gordon, Stec, & Hinds, 2021) je produktem rozkladu hemu, který se uvolňuje při hemolýze červených krvinek. Hem se katabolizuje na biliverdin, železo a oxid uhelnatý prostřednictvím enzymatické reakce za

účasti molekulárního kyslíku, NADPH a hemoxygenázy (Obr. 1). Biliverdin je poté redukován na bilirubin enzymem biliverdinreduktázou (BLVR). Tento proces může být zvrácen reaktivními formami kyslíku (ROS), které bilirubin přeměňují na biliverdin. Nakonec uridindifosfát glukuronosyltransferáza 1A1 (*UGT1A1*) konjuguje bilirubin na jeho formu rozpustnou ve vodě, což umožňuje jeho vyloučení do žluče. Hemoglobin a další proteiny obsahující hem, jako jsou cytochromy, jsou závislé na hemu při přenosu elektronů, transportu kyslíku, vazbě ligandů a regulaci následných genů. Izozymy hem oxygenázy (HO-1 a HO-2) jsou nezbytné pro katalytické štěpení hemového kruhu a následnou tvorbu železa, CO a biliverdinu. Když jsou tyto komplexy železa a porfyrinu metabolizovány na biliverdin a následně na bilirubin, získávají tkáň důležité hormonální signalizační schopnosti. Bilirubin má také dobře prokázané antioxidační vlastnosti. V normálních sérových koncentracích slouží nekonjugovaný bilirubin jako účinný záchyt molekul singletového kyslíku, přerušuje řetězové reakce volných radikálů a působí jako účinný antioxidant.



Obr. 1 Metabolismus bilirubinu (Metabolism of Iron and Heme N.V. Bhagavan, Chung-Eun Ha, in *Essentials of Medical Biochemistry* (Second Edition), 2015)

Vychytávání ŽK v hepatocytech je zprostředkováno mechanismy závislými a nezávislými na sodíku. Na sodíku závislý taurocholátový kotransportní polypeptid NTCP (Appelman, Wettengel, Protzer, Oude Elferink, & van de Graaf, 2021) a rodina multi-specifických organických aniontových transportérů OATP1B (Boyer & Soroka, 2021) jsou hlavními proteiny zapojenými do tohoto kroku tvorby žluči. NTCP je exprimován výlučně v játrech, je striktně lokalizován na bazolaterální membráně hepatocytů a je převládajícím na sodíku závislým transportérem ŽK v hepatocytech. NTCP transportuje hlavně konjugované ŽK s využitím membránového do buňky směřovaného gradientu sodíku, který je udržován Na^+ / K^+ -ATPázou jaterních buněk. Sinusoidální na sodíku nezávislý transport žlučových solí a organických aniontů je zprostředkován polypeptidy transportujícími organické anionty OATP1B. OATP jsou rodinou polyspecifických transportérů s překrývající se afinitou k substrátu, které zprostředkovávají absorpci nekonjugovaných ŽK nezávislou na sodíku. Kromě toho OATP zprostředkovávají absorpci velkého množství dalších sloučenin s různým nábojem a strukturou, včetně konjugátů bilirubinu, hormonů štítné žlázy, neutrálních sterolů a mnoha léků a xenobiotik. Na rozdíl od NTCP jsou OATP1B exprimovány i v extrahepatálních tkáních, zejména ve střevech, ledvinách a mozku, což podtrhuje jejich roli v celkovém rozložení amfipatických sloučenin.

Po intracelulárním transportu, který zahrnuje vazbu na bílkoviny, sekvestraci, biotransformaci nebo konjugaci, se látky vylučují do žluče přes kanalikulární membránu hepatocytů. Tento proces poskytuje primární hnací sílu pro generování toku žluči a je zásadní pro vylučovací funkci jater tělem. Klíčovými proteiny v tomto kroku tvorby žluči jsou takzvané transportéry ATP-binding cassette (ABC), (Ben Saad et al., 2021) které fungují jako jednosměrné exportní pumpy závislé na ATP. Transportéry ABC přítomné v kanalikulární membráně zahrnují: exportní pumpu ŽK BSEP, která zprostředkovává sekreci žlučových kyselin; protein MRP2, který transportuje aniontové konjugáty bilirubinu mnoha dalších lipofilních látek včetně redukovaného glutathionu; protein MDR1, který působí jako transportér objemných kationtových sloučenin a steroidů a protein MDR3, který působí jako translokátor fosfatidylcholinu z vnitřního na vnější list kanalikulární membrány, kde může být selektivně extrahován intrakanalikulárními ŽK a následně vylučován do žluče ve formě vezikul a smíšených micel. V kanalikulární membráně jsou také exprimovány twin-sterolové poloviční transportéry *ABCG5* a *ABCG8* (Berge et al., 2000), které hrají důležitou roli v regulaci sekrece cholesterolu do žluči a *ABCG2*, který přednostně transportuje sulfátové konjugáty. Kromě těchto transportérů ABC obsahuje kanalikulární membrána ATPázu typu P, která

funguje jako flipáza přenášející aminofosfolipidy z vnějšího do vnitřního listu kanalikulární membrány, čímž zajišťuje její asymetrii. Asymetrie chrání hepatocyt před detergentním účinkem koncentrovaných ŽK v primární žluči a je klíčová pro zachování schopnosti vylučovat žluč.

Sinusoidální eflux ŽK může být zprostředkován OATP nebo ABC transportéry bazolaterální membrány. MRP3 a MRP4 transportují několik fyziologických substrátů včetně nesulfatovaných a sulfatovaných ŽK. Ačkoli je MRP3 minimálně exprimován v normálních játrech, jeho exprese je indukovatelná některými substráty. MRP4 je ve větší míře exprimován v játrech a funguje jako ATP-závislý kotransportér redukovaného glutathionu. Vzhledem k povaze hepatobiliárního transportu může export do portální krve sloučenin normálně vylučovaných do žluče sloužit jako alternativní cesta k eliminaci žlučových složek omezující hromadění toxických žlučových složek, když je narušena kanalikulární sekreční cesta.

1.1.2 Genetické poruchy sekrece žluče a lipidů

Cholestáza (Elferink, 2003) je definována jako narušení normálního toku žluči způsobené buď funkčním defektem na úrovni hepatocytů, nebo obstrukcí na úrovni žlučovodů. Cholestáza může být důsledkem infekcí, užívání určitých léků a autoimunitních, metabolických nebo genetických poruch. Změněná exprese a/nebo funkce membránových transportérů může být základem některých forem cholestázy (Zollner & Trauner, 2008).

Mechanismy podílející se na modulaci exprese transportérů během cholestázy jsou známy pouze částečně. Hraje zde roli řada faktorů, mezi které patří ŽK, prozánětlivé cytokiny, oxidační stres, retinoidy, léky a hormony. Regulace iniciace transkripce mRNA je považována za převládající mechanismus regulující expresi transportního genu. Je známa role ligandem aktivovaných transkripčních faktorů a členů superrodiny nukleárního receptoru NHR v regulaci exprese transportéru, zejména farnesoid vázaný X receptor (FXR), (Alvarez et al., 2004) který funguje jako intracelulární senzor ŽK, reguluje bazální expresi BSEP a podílí se na jeho upregulaci při zatížení žlučovými kyselinami. Kromě toho prostřednictvím aktivace jiného NHR nazývaného malý heterodimerní protein SHP se FXR (Choudhuri & Klaassen, 2021) účastní downregulace NTCP (Appelman et al., 2021) při cholestáze. SHP

může potlačit transkripci NTCP tím, že soutěží s koaktivátory o vazbu na ligandem aktivovaný retinoidový X receptor, hlavní partner NHR. FXR se také podílí na transkripční regulaci MRP2 a kontrole syntézy ŽK prostřednictvím regulace 7 α -hydroxylázy (*CYP7A1*). Zvýšené hladiny ŽK v hepatocytech vyvolávají reakci zprostředkovanou FXR, která snižuje import ŽK (snížením exprese NTCP) a jejich syntézu *de novo* (Heubi, Setchell, & Bove, 2018) (potlačením exprese *CYP7A1*) a naopak zvyšuje kanalikulární export ŽK aktivací exprese BSEP. Dva další členové nadrodiny NHR regulují hepatobiliární receptory: pregnanový X receptor (PXR) a konstitutivní androstanový receptor (CAR). Pregnanový X receptor stimuluje expresi OATP2, který se podílí na transportu žlučových kyselin a organických aniontů nebo kationů, a *CYP3A*, který se podílí na hydroxylaci a detoxikaci ŽK zatímco CAR se podílí na regulaci exprese MRP2 a MRP3 v játrech. Klíčovou roli ve zprostředkování suprese OATP2 ŽK hraje další transkripční faktor - hepatocytární nukleární faktor 1 α (*HNF1 α*). Změny v expresi transportérů během cholestázy jsou zprostředkovány žlučovými složkami (hlavně ŽK) a lze je vysvětlit změnami v souboru NHR (FXR, PXR a CAR) a *HNF1 α* . Kromě toho prozánětlivé cytokiny, které zprostředkovávají sníženou genovou transkripci hepatobiliárních transportérů při cholestáze, ovlivňují hladiny mRNA několika NHR a *HNF1 α* , což by mohlo vysvětlit snížení rychlosti transkripce odpovídajících genů. A konečně, kromě změn v transkripci mohou při změnách transportéru v cholestáze hrát roli také posttranskripční a/nebo posttranslační změny. Alternativní rodina receptorů známá jako G-protein-coupled receptorová rodina, z kterých je nejvýznamnější *GPBAR1* také známý jako *TGR5* (J. Y. L. Chiang & Ferrell, 2020), jsou rovněž schopny vázat ŽK (specificky sekundární). *TGR5* (McGlone & Bloom, 2019) má několik buněčných signálních a imunoregulačních účinků při onemocnění jater v důsledku jeho přítomnosti v Kupferových a NK buňkách. Navíc prostřednictvím své exprese na senzoričných nervech, může *TGR5* hrát roli při pruritu. Rodina fibroblastových růstových faktorů (FGF (Guthrie, Vonderohe, & Burrin, 2022)) se skládá z 22 příbuzných proteinů. Mnoho členů rodiny FGF se podílí na embryonálním vývoji a *FGF19* má jasně definovanou roli v buněčném růstu a vývoji tkání. V dospělých tkáních se však exprese *FGF19* omezuje na střevo, žlučník a játra. Na rozdíl od parakrinní nebo autokrinní funkce ostatních členů rodiny FGF funguje *FGF19* v dospělých tkáních jako endokrinní faktor, což znamená jedinečnou změnu funkční aktivity. *FGF19* byl identifikován jako metabolický regulátor a jako aktivátor hepatocelulární karcinogeneze. *FGF19* reguluje metabolismus ŽK a podporuje syntézu proteinů v játrech. Enterální hormon fibroblastový růstový faktor 19 (*FGF19*) se částečně podílí na syntéze ŽK mechanismem

negativní zpětné vazby. *FGF19* je produkován v reakci na absorpci ŽK a následně působí na játra tak, že inhibuje cholesterol 7 α -hydroxylázu (*CYP7A1*), enzym omezující rychlost v klasické cestě syntézy BA. Rozmanité spektrum funkcí *FGF19* se přisuzuje jeho jedinečné struktuře ve srovnání s ostatními FGF a jeho afinitě k vazbě na povrchové receptory jeho kognátního heterodimeru. Působení *FGF19* na tyto receptory a navazující dráhy, které jsou aktivovány tkáňově specifickým způsobem, jsou stále aktivní oblastí zkoumání.

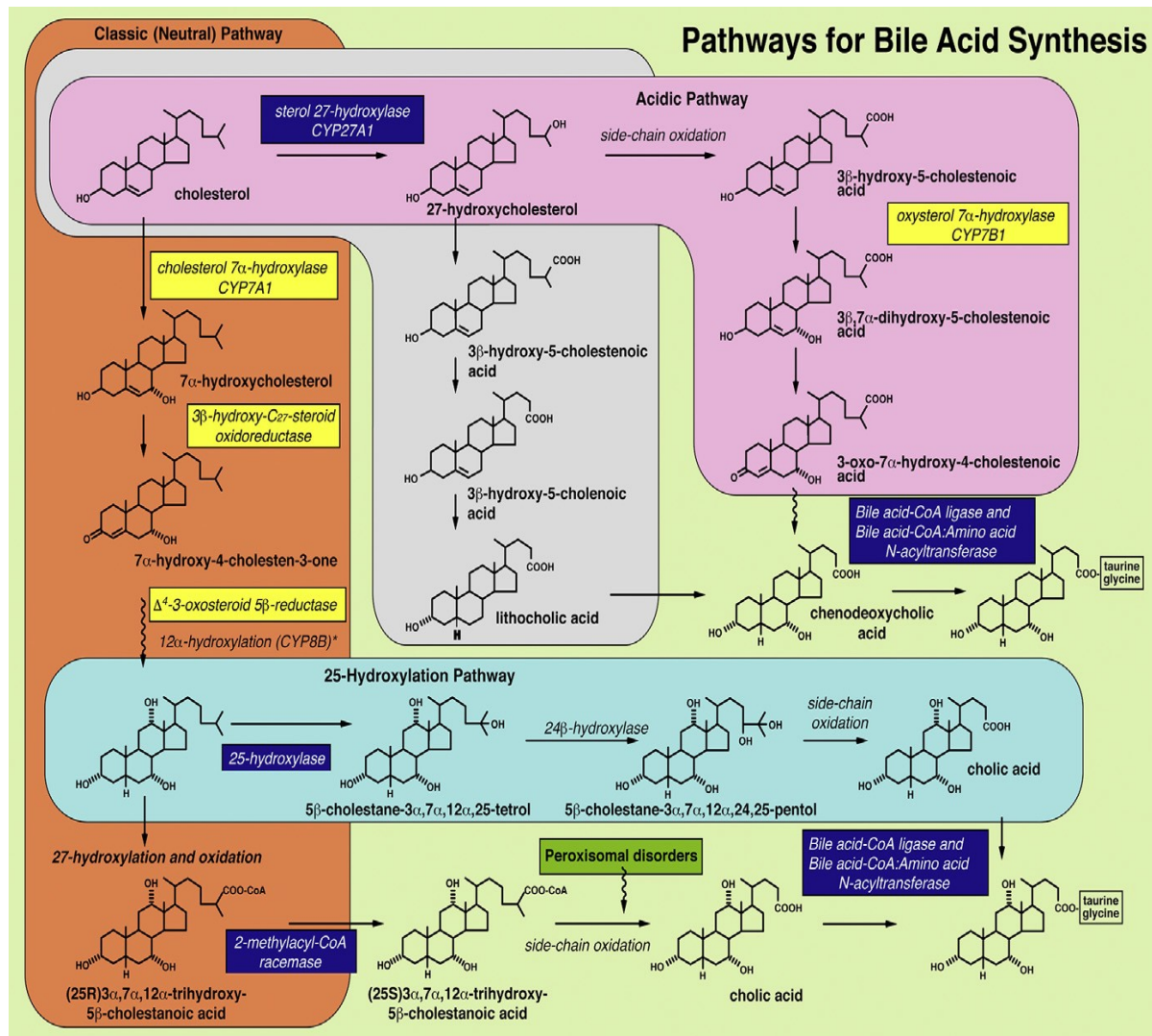
Hepatocelulární intrahepatální cholestáza

Poruchy biosyntézy žlučových kyselin

Vrozené poruchy syntézy ŽK způsobují život ohrožující jaterní selhání a progresivní neurologické poruchy v dětství a dospělosti. Některé typy a projevy onemocnění lze léčit suplementací ŽK a proto je důležitá včasná diagnostika. Cholestáza v dětském věku je charakterizována konjugovanou hyperbilirubinémií, zvýšenými jaterními transaminázami a normální hladinou GGT. V bioptickém nálezu je velkobuněčná hepatitida a častá je i malnutrice vitamínů rozpustných v tucích. Tato onemocnění jsou způsobena deficitem 3 β -hydroxysteroid-delta5-C27-steroid dehydrogenasy, delta-4-3-oxosteroid 5 β -reduktasy, sterol 27-hydroxylasy, oxysterol 7 α -hydroxylasy, bile acid-CoA-aminoacid N-acyltransferasy (*BAAT*) and bile acid-CoA ligasy.

Primární ŽK cholová a deoxycholová jsou syntetizovány sekvencí enzymových modifikací cholesterolu, která zahrnuje více než desítku enzymů a dvě komplementární chemické dráhy (Obr. 2). Klasická neutrální dráha je hlavní cestou syntézy ŽK a produkuje cholovou a deoxycholovou kyselinu ve vyrovnaných množstvích. V této dráze je limitním krokem enzymová modifikace probíhající v mikrozomech a která je katalyzována 7 α -hydroxylasou, produktem genu *CYP7A1*. Farnesoid X vázaný receptor (FXR) je klíčový pro regulaci *CYP7A1* žlučovými kyselinami. FXR je členem superrodiny ligandy aktivovaných transkripčních faktorů, které působí na cílové geny jako monomer a heterodimer s retinoid vázaným X receptorem (RXR (Li, Cai, & Boyer, 2021)). ŽK jsou fyziologickými ligandy FXR, jehož aktivace vede k upregulaci atypického jaderného receptoru malého heterodimerního proteinu (SHP), který interaguje s jaterním homologním receptorem 1 (LRH-1) a inhibuje schopnost LRH-1 aktivovat *CYP7A1*. LRH-1 je také důležitý pro expresi SHP

genů, protože tvorba komplexu SHP-LRH1 redukuje SHP expresi, čímž snižuje negativní zpětný signál.



Obr. 2 Syntéza žlučových kyselin (Inborn Errors of Bile Acid Metabolism James E. Heubi, MD, Kenneth D.R. Setchell, PhD, Kevin E. Bove, MD (Heubi et al., 2018))

Poruchy vezikulárního transportu, konjugace a vychytávání žlučových kyselin

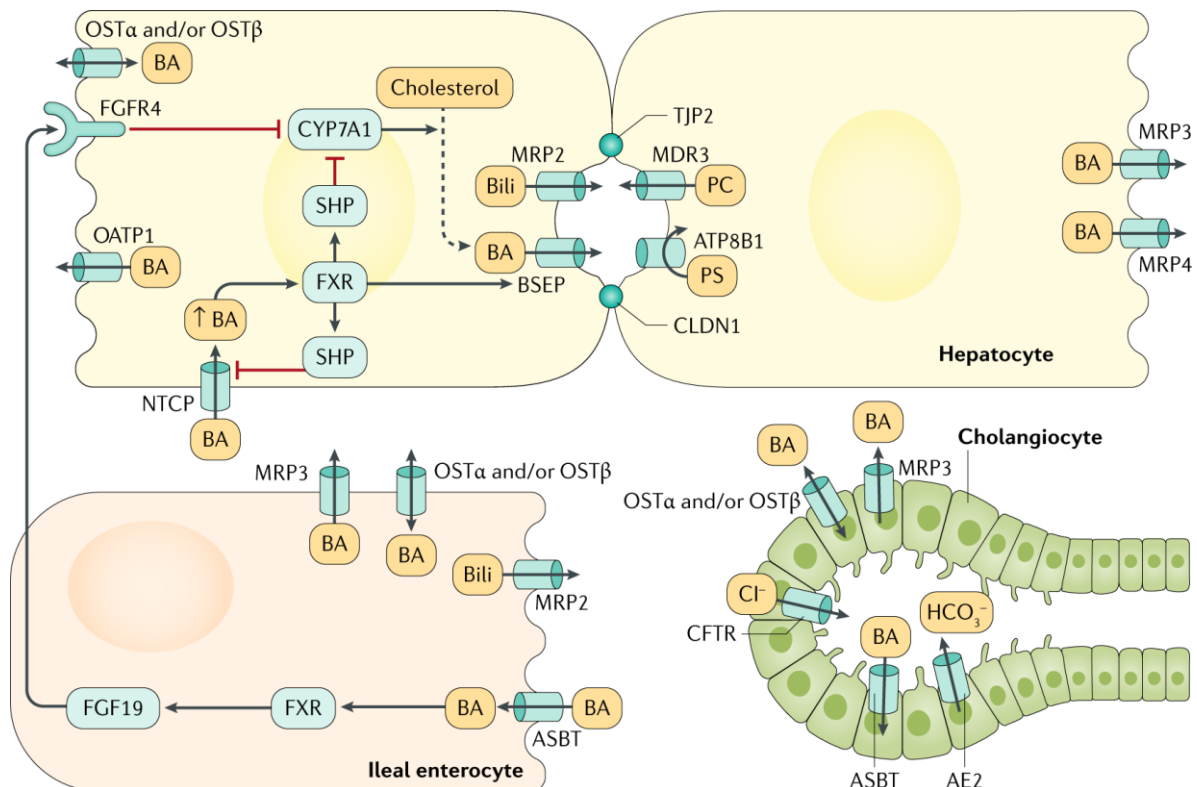
Mezi geny podílejícími se na poruchách vezikulárního transportu se řadí *VIPAR* (Cullinane et al., 2010; Qiu et al., 2019), který participuje na intracelulárním třídění a přenosu lysozomálních proteinů a mutace v tomto proteinu mají za následek artrogrypózu, renální dysfunkci a cholestázu-2 (*ARCS2*) (Cullinane et al., 2010; Qiu et al., 2019). Gen *VPS33B* (Gissen et al., 2004) kóduje homolog kvasinkového vakuolárního třídícího proteinu třídy C,

Vps33, který obsahuje doménu důležitou pro regulaci tvorby komplexu mezi vezikuly a cílem a následnou fúzi membrán a jeho absence má za následek artrogrypózu, renální dysfunkci a cholestázu-1 (ARCS1) (Gissen et al., 2004). Mezi poruchy konjugace a vychytávání ŽK se řadí tři ze čtyř forem familiární hypercholanémie (FHCA). Jedná se o vzácná onemocnění se zvýšenou koncentrací žlučových kyselin v séru, pruritem a malabsorbci tuků způsobená mutacemi v genu *BAAT* (Carlton et al., 2003), *SLC10A1* (Vaz et al., 2015), *EPHX1* (Peng, Zhu, Zhong, & Levy, 2015). Gen *BAAT* kóduje enzym, který katalyzuje konjugaci glycinu a taurinu se žlučovými kyselinami a zvyšuje tím jejich rozpustnost. Nekonjugované ŽK nemohou být secernovány do žluče prostřednictvím BSEP a dochází ke zvýšení jejich hladiny v krvi. Gen *SLC10A1* kóduje transportér konjugovaných žlučových kyselin z plazmy do hepatocytů, je lokalizován na basolaterální buněčné membráně a operuje jako kotransportér pro sodné ionty a molekuly žlučových kyselin. Reabsorpce žlučových kyselin pomocí tohoto transportéru se podílí na enterohepatálním cyklu žlučových kyselin. Deficit *SLC10A1* podmiňuje konjugovanou hypercholanemii. Gen *EPHX1* kóduje bifunkční protein exprimovaný ve dvou odlišných topologických orientacích, jedna má centrální roli v jaterním metabolismu xenobiotik, zatímco druhá je cílena do plazmatické membrány, kde zprostředkovává transport ŽK závislý na sodíku.

Poruchy sekrece žlučových lipidů a pigmentů

Sekrece žluče z hepatocytů je zprostředkována skupinou transportních proteinů, zejména těmi, které obsahují ATP-binding cassette (ABC) (Obr. 3). Pumpa ŽK (BSEP/*ABCB11*) (Strautnieks et al., 1998) je klíčový transportér zprostředkovávající transport žlučových kyselin do žlučových kanálek. BSEP je exprimován výhradně v kanalikulární membráně hepatocytů. Po sekreci do tenkého střeva jsou ŽK absorbovány do střevních buněk prostřednictvím apikálního sodík-dependentního transportéru ŽK (ASBT/*SLC10A2* (Oelkers, Kirby, Heubi, & Dawson, 1997)) a pak sekretovány do cirkulace systému pomocí basolaterálních heterodimerních transportérů OST α -OST β (*OSTA* (Gao et al., 2020) a *OSTB* (Sultan et al., 2018)). Basolaterální membrána hepatocytů obsahuje několik transportérů ŽK sloužících k jejich absorpci ze sinusoidální krve. Hlavním transportérem konjugovaných ŽK je Na⁺ - taurocholát ko-transportní polypeptid NTCP (*SLC10A1*), na resorpci nekonjugovaných ŽK se podílejí OATP1B1 a OATP1B3 (*SLCO1B1* (van de Steeg et al., 2012) a *SLCO1B3* (van de Steeg et al., 2012)).

Poslední dva transportéry také zprostředkovávají vychytávání bilirubinu a dalších organických aniontů.. Konjugovaný bilirubin a organické anionty jsou vylučovány do žluče pomocí kanalikulárního multidrug resistance-associated proteinu 2 MRP2 (*ABCC2* (Zimniak, 1993)) a v menší míře také *ABCB2*. Konjugovaný bilirubin je zčásti exkretován přes sinusoidální membránu do krve pomocí MRP3 (*ABCC3* (Uchiumi et al., 1998)) a následně reabsorbován díky OATP1B1 a OATP1B3. Fosfatidylcholin je přenášen MDR3 (*ABCB4* (Deleuze et al., 1996)) do zevního listu kanalikulární membrány a poté extrahován žlučovými solemi do žluče, kde tvoří micely. Kombinace cholesterolu a sfingomyelinu v zevním listu kanalikulární membrány činí membránu vysoce rezistentní proti detergentním účinkům ŽK. Flipáza FIC1 (*ATP8B1* (Bull et al., 1998; Klomp et al., 2004; Trauner, Meier, & Boyer, 1998)) funguje jako přenašeč fosfatidylserinu zpět z vnějšího do vnitřního listu kanalikulární membrány, čímž zajišťuje její integritu. Navíc je FIC1 nezbytný pro funkční expresi BSEP a MDR3. Hepatocyty a žlučový epitel jsou chráněny před detergentním účinkem ŽK prostřednictvím funkce MDR3 a FIC1. Heterodimerní transportér *ABCG5/8* (Berge et al., 2000) zprostředkovává transport cholesterolu přes kanalikulární membránu.



Obr. 3 Molekulární mechanismus jaterních transportních proteinů BA –žlučové kyseliny, Bili – konjugovaný bilirubin, PS - fosfatidylserin, PC - fosfatidylcholin, Cl⁻ – chlorid, HCO₃⁻ - hydrogenuhličitan (Amy G Feldman, Ronald J Sokol Neonatal cholestasis: emerging molecular diagnostics and potential novel therapeutics (Feldman & Sokol, 2019))

Vrozené poruchy sekrece žlučových lipidů zahrnují především poruchy sekrece primárních, sekundárních a terciárních ŽK, fosfatidylcholinu a neesterifikovaného cholesterolu. Do této skupiny řadíme především syndromy PFIC (progresivní familiární intrahepatální cholestáza). PFIC1 (Bull et al., 1998; Klomp et al., 2004; Trauner et al., 1998) je způsobený mutacemi v genu *ATP8B1* kódujícím ATPázu FIC1, PFIC2 (Strautnieks et al., 1998) zahrnující mutace v genu *ABCB11* kódujícím ATP-dependentní pumpu ŽK BSEP, PFIC3 (Deleuze et al., 1996) je defektní v genu *ABCB4* a kóduje fosfolipidový transportér MDR3. Patří sem rovněž syndrom BRIC - benigní rekurentní intrahepatální cholestáza způsobená mutacemi v genech *ABCB11* (van Mil et al., 2004) a *ATP8B1* (Bull et al., 1998).

Deficit *ABCC2* je příčinou konjugované žloutenky Dubin-Johnsonova typu, deficit OATP1B1 a OATP1B3 způsobuje digenně dědičný Rotorův syndrom (van de Steeg et al., 2012).

Duktální intrahepatální cholestáza

Malformace duktální ploténky

Duktální ploténka je dvouvrstvá cylindrická struktura žlučovodu přítomná v raném stádiu embryonálního vývoje. Žlučovody jsou za normálního stavu vytvořeny remodelací a částečnou involucí těchto duktálních plotének. Zastavení nebo narušení tohoto procesu způsobuje přetrvání nadbytečných embryonálních struktur žlučovodů, které jsou pozorovatelné mikroskopicky nebo makroskopicky. Duktální ploténka dává vznik žlučovému systému a její defekt způsobuje nadbytek embryonálních žlučovodů a abnormality větví portální žíly. Patologická charakteristika je do značné míry určena stádiem vývoje plodu a podílí se na ní dysfunkce řasinek cholangiocyty. Žlučovody vznikají z primitivních hepatoblastů obklopujících mezenchymální tkáň v místě větvení portální žíly. V 10. týdnu vývoje se tvoří buněčný provazec (ductal plate), jenž se následně remodeluje epiteliální proliferací a apoptózou. Defekt duktální ploténky na úrovni menších interlobulárních žlučovodů způsobuje kongenitální jaterní fibrózu, naproti tomu větší intrahepatální žlučovody jsou postiženy u pacientů s Caroliho chorobou - jedná se tedy o fibrocystická onemocnění jater. Řadí se sem také Meyenburgovy komplexy, což je benigní postižení jater v podobě

mnohočetných dilatovaných žlučových kanálků, které jsou obklopeny fibrózními hamartomy imitujícími metastatické nádorové bujení.

Vrozené poruchy těsných spojení

Gen *TJP2* kóduje tight junction protein 2, který se podílí na konfiguraci endoteliálních a epiteliálních spojení navázáním na transmembránové proteiny (např. Claudin 1) a jejich propojením s aktinovým cytoskeletem. Deficit TJP2 (Sambrotta et al., 2014) způsobí netěsnost výstelky žlučového stromu a umožní únik žluče do krve (tzv. biliary leak).

Další autosomálně recesivní syndrom (ILVASC) (Hadj-Rabia et al., 2004) způsobený poruchou těsných spojení zahrnuje ichtyózu, leukocytární vakuoly, alopecii a sklerózující cholangitidu a podmiňují ho mutace v genu *CLDN1*, který kóduje protein claudin 1.

1.1.3 Familiární intrahepatální cholestázy

Familiární intrahepatální cholestázy s normální aktivitou gamaglutamyltransferázy

Progresivní familiární intrahepatální cholestázy (PFIC) (Henkel et al., 2019) jsou monogenní recesivní onemocnění několika typů a genů, můžeme je rozdělit podle sérové aktivity gamaglutamyltransferázy (GGT, Tab. 1, 2). Cholestáza s nízkou aktivitou GGT je obecně podmíněna poruchami syntézy ŽK, jejich konjugace, sekrece do žluče nebo unikáním žluče do krve při netěsnosti výstelky žlučových cest. Většina cholestáz s nízkou aktivitou GGT má dědičnou příčinu. Mezi PFIC s normální aktivitou GGT patří především PFIC1 a PFIC2. PFIC1 je podmíněna mutacemi v genu *ATP8B1* na chromosomu 18, který kóduje protein FIC1. Jedná se o flipázu translokující aminofosfolipidy z vnější na vnitřní kanalikulární membránu hepatocytů. PFIC2 je způsobena mutacemi v genu *ABCB11* na chromosomu 2, který kóduje pumpu žlučových kyselin BSEP. Mutace v *ABCB11* mají za následek hromadění žlučových kyselin v hepatocytu a jeho následnou destrukci. PFIC2 je rychleji progredující onemocnění než PFIC1 a vede často k rozvoji hepatocelulárního karcinomu. Další cholestázou s normální GGT je PFIC4 podmíněná mutacemi v genu *TJP2* lokalizovaném na chromosomu 9, který se podílí na stabilizaci a těsnosti mezibuněčných spojení. Membrány hepatocytů k sobě přiléhají v připojeních se žlučovými kanálky a povrchy bazolaterálních membrán hepatocytů tvoří těsná spojení nezbytná k oddělení žluče od plasmy. Cholestázou

s normální aktivitou GGT je PFIC5 (Gomez-Ospina et al., 2016) způsobená mutacemi v genu *NR1H4* na chromosomu 12, kódujícím protein FXR (Farnesoid X-vázaný receptor). ŽK jsou přirozeným ligandem pro FXR. Po jejich navázání, podobně jako u jiných nukleárních receptorů, dojde k translokaci do buněčného jádra a tvorbě dimeru s RXR. Dimer se váže na hormon odpovídající element a indukuje expresi malého heterodimerního partnera (SHP), který funguje jako supresor exprese genu *CYP7A1*. Tato negativní zpětná vazba inhibuje syntézu žlučových kyselin, pokud je jejich koncentrace v buňce vysoká. PFIC6 (Gao et al., 2020) je podmíněna mutacemi v genu *SLC51A* na chromosomu 3, kódujícím protein OST-alfa, který je lokalizován na bazolaterální membráně cholangiocyty a podílí se také na sekreci ŽK z enterocytů. PFIC7 je podmíněna mutacemi v genu *USP53* (Maddirevula et al., 2019) (Obr. 4).

Familiární intrahepatální cholestázy se zvýšenou aktivitou GGT

Mezi cholestázy s vysokou sérovou aktivitou GGT patří především PFIC3. PFIC3 je podmíněna mutacemi v genu *ABCB4* lokalizovaném na chromosomu 7, který kóduje protein MDR3. Ten zprostředkovává přenos aminofosfolipidů v vnitřní na vnější kanikulární lipidovou dvojvrstvu. Pokud dojde k narušení transportu fosfolipidů, dochází k tvorbě nestabilních micel. Vysoká koncentrace volných žlučových kyselin ve žluči vede k poškození výstelky žlučových cest. PFIC8 (Unlusoy Aksu et al., 2019) je podmíněna mutacemi v genu *KIF12* na chromosomu 9, který kóduje protein kinesin12. Ten je členem kinesinové superrodiny motorických proteinů spojených s mikrotubuly, jež se podílejí na organizaci cytoskeletu a intracelulárním transportu. Předpokládá se, že cholestáza z deficitu *KIF12* je výsledkem narušené polarita hepatocytů, která ovlivní jaterní transportéry i proteiny zajišťující těsná spojení hepatocytů. Další cholestázou s vysokou sérovou hladinou GGT je variabilní multisystémový autosomálně dominantně dědičný Alagilleův (Kriegermeier & Green, 2020) syndrom 1. typu (ALGS1) (Oda et al., 1997) s inkompletní penetrancí, který je podmíněn mutacemi v genu *JAG1* na chromosomu 20, který kóduje protein jagged1. Tento protein je ligandem pro notch1 receptor, který se podílí na mezibuněčné signalizaci během embryonálního vývoje. Popsán je rovněž Alagilleův syndrom 2. typu (ALGS2) (McDaniell et al., 2006) podmíněný mutacemi v genu *NOTCH2* na chromosomu 1, který kóduje protein „NOTCH homolog 2“. Signalizační kaskáda jagged1-notch2 je důležitá pro rozpoznávání buněk, které zahrnuje mechanismy genové regulace, jež řídí četné procesy diferenciaci buněk během embryonálního a dospělého života. ALGS je definován nedostatkem intrahepatálních

žlučových cest ve spojení s pěti hlavními klinickými abnormalitami: cholestázou, srdečním onemocněním, abnormalitami skeletu, očními abnormalitami a charakteristickým fenotypem obličeje. Klinický projev ALGS1 a ALGS2 je stejný, mutace v genu *NOTCH2* jsou však mnohem vzácnější.

U cholestáz PFIC 9 (Luan et al., 2021) a PFIC 11 (Pan et al., 2021) způsobených mutacemi v genech *ZFYVE19* resp. *SEMA7A* zatím není plně objasněn mechanismus, kterým vzniká jaterní postižení.

Tab. 1 Historický přehled dědičných cholestatických syndromů

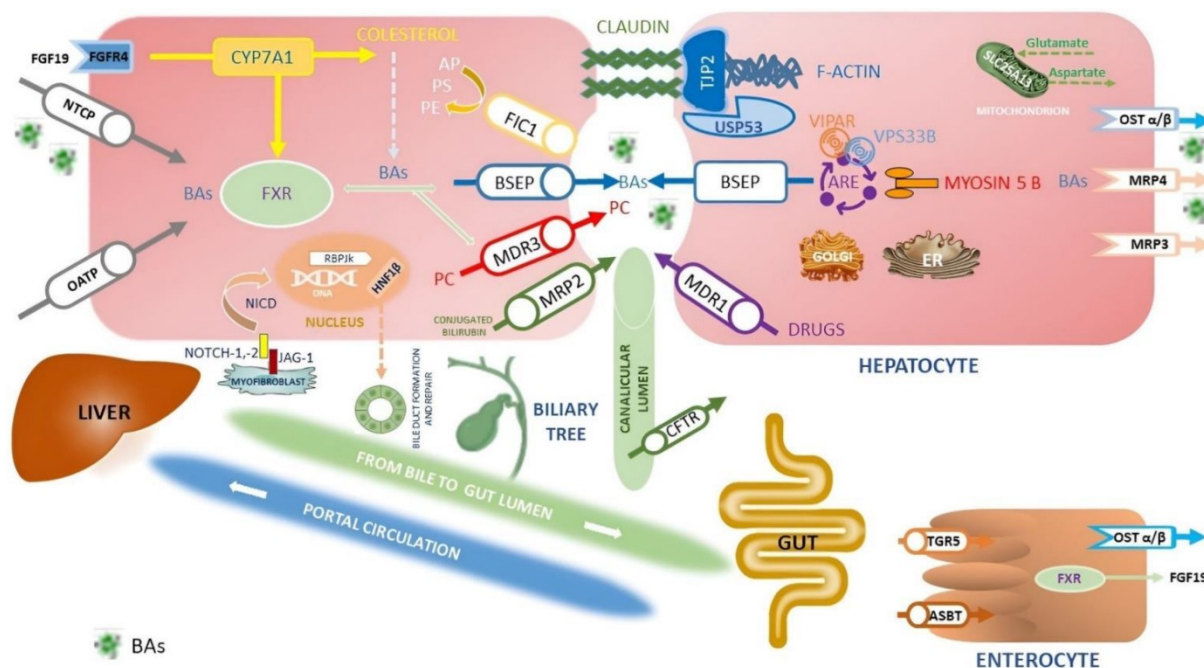
Rok	Gen	Protein	Fenotyp
1998	<i>ATP8B1</i>	FIC1	ICP BRIC PFIC 1 (Trauner et al., 1998)
1998	<i>ABCB11</i>	BSEP	ICP DIC LPAC BRIC PFIC 2 (Strautnieks et al., 1998)
1996	<i>ABCB4</i>	MDR3	ICP DIC LPAC PFIC 3 (Deleuze et al., 1996)
2014	<i>TJP2</i>	TJP2	ICP PFIC 4 (Sambrotta et al., 2014)
2016	<i>NR1H4</i>	FXR	ICP PFIC 5 (Gomez-Ospina et al., 2016)
2020	<i>SLC51A</i>	OST_-OST_	PFIC 6 (Gao et al., 2020)
2019	<i>USP53</i>	USP53 protein	BRIC PFIC 7 (Maddirevula et al., 2019)
2019	<i>KIF12</i>	KIF12	PFIC 8 (Unlusoy Aksu et al., 2019)
2021	<i>ZFYVE19</i>	ZFYVE19	PFIC 9 (Luan et al., 2021)
2017	<i>MYO5B</i>	MYO5B	BRIC MYO5B-PFIC PFIC 10 (Gonzales et al., 2017)
2021	<i>SEMA7A</i>	SEMA7A	PFIC 11 (Pan et al., 2021)
2019	<i>VPS33B</i>	VPS33B	PFIC 12 (Qiu et al., 2019)

ICP – intrahepatální cholestáza v těhotenství, DIC – léky vyvolaná cholestáza, LPAC – cholestáza s nízkými fosfolipidy, BRIC – benigni rekurentní intrahepatální cholestáza, PFIC – progresivní familiární intrahepatální cholestáza

Tab. 2 Rozdělení dědičných cholestáz dle OMIM, jejich dědičnost a kausativní geny

Syndrom	Dědičnost	Gen
PFIC1 (OMIM #211600) a BRIC1 (OMIM #243300)	AR, inkompletní penetrance	<i>ATP8B1</i> (P-type ATPase, class 4, type 8B, member 1)
PFIC2 (OMIM #601847) a BRIC2 (OMIM #605479)	AR	<i>ABCB11</i> (ATP Binding Cassette, sub-family B, member 11)
PFIC3 (OMIM #602347)	AR	<i>ABCB4</i> (ATP Binding Cassette, sub-family B, member 4)
GBD1 (onemocnění žlučníku 1 OMIM #600803, syn. Low Phospholipid-Associated Cholelithiasis)	AR a AD s inkompletní penetrancí	<i>ABCB4</i>
ICP1 (intrahepatální těhotenská cholestáza OMIM #147480) ICP3 (OMIM #614972)	AD AR nebo AD	<i>ATP8B1</i> <i>ABCB4</i>
FHCA (OMIM #607748)	komplexní komplexní AR s inkompletní penetrancí	<i>BAAT</i> (Bile Acid CoA:Amino acid N-acyltransferase) <i>TJP2</i> (Tight Junction Protein 2) <i>EPHX1</i> (microsomal Epoxide Hydrolase 1)
ILVASC (OMIM #607626)	AR	<i>CLDN1</i> (Claudin 1)
ARCS1 (OMIM #208085)	AR	<i>VPS33B</i> (Vacuolar Protein Sorting 33B)
ARCS2 (OMIM #613404)	AR	<i>VIPAS39</i> (VPS33B Interacting Protein, Apical-basolateral polarity regulator, SPE39 homolog)
ALGS1 (OMIM #118450)	AD	<i>JAG1</i> (Jagged 1)
ALGS2 (OMIM #610205)	AD	<i>NOTCH2</i>

AR-autosomálně recesivní, AD-autosomálně dominantní



Obr 4. Progressivní familiární intrahepatální cholestázy ARE apikální recyklační endozom, ASBT apikální sodík-dependentní transportér žlučových kyselin, AP aminofosfolipidy, BA žlučové kyseliny, BSEP pumpa žlučových kyselin, CFTR regulátor transmembránové vodivosti cystické fibrózy, CYP7A1 cholesterol 7 α -monooxygenáza, ER endoplasmatické retikulum, FGF19 fibroblastový růstový faktor 19, FGFR14 receptor fibroblastového růstového faktoru 4, FIC1 protein familiární intrahepatální cholestázy typu 1, FXR farnesoidní X receptor, HNF-1B hepatocytární nukleární faktor 1beta, JAG-2 Jagged canonical Notch ligand 2, KIF12 člen rodiny kinesinu 12, MDR protein multilékové resistance, MRP protein multidrogové resistance, NICD intracelulární doména Notch, NTCP polypeptid kotransportující taurocholát sodný, OATP polypeptid transportující organické anionty, OST α/β přenašeč organických složek, PC fosfatidylcholin, PS fosfatidylserin, PFIC progresivní familiární intrahepatální cholestáza, TGR5 receptor žlučových kyselin spřažený s G-proteinem, TJP2 gen proteinu těsného spojení 2, USP53 ubikvitin-specifická peptidáza 53, VIPAR VPS33B interagující protein, regulátor apikální-bazální polarity, VPS33B protein asociovaný s vakuolárním proteinem 33B (Vitale et al., 2022)

1.1.4. Ciliopatie

Cilie (Huang, Hirota, & Sawamoto, 2009) jsou specializované smyslové orgány, které vyčnívají z apikálního povrchu většiny typů buněk (Fliegauf, Benzing, & Omran, 2007) (Obr. 5). V posledních dvou desetiletích bylo zjištěno, že hrají důležitou roli ve vývoji tkání a přenosu signálů, přičemž mutace v proteinech spojených s ciliemi vedou ke skupině onemocnění souhrnně označovaných jako ciliopatie (Obr 6). Mnohé z těchto mutací se projevují jako renální ciliopatie (Horani & Ferkol, 2021), charakterizované dysfunkcí ledvin v důsledku aberantních cilií nebo ciliárních funkcí. Tato skupina překrývajících se a geneticky heterogenních onemocnění zahrnuje polycystickou chorobu ledvin, nefronoftízu (NPHP) a Bardet-Biedlův syndrom (BBS). Renální ciliopatie jsou charakterizovány přítomností

ledvinových cyst, které vznikají v důsledku nekontrolované proliferace, růstu a polarity epiteliálních buněk v návaznosti na dysregulovanou signalizaci závislou na ciliích. V důsledku poškození ledvin cystami a systémového zánětu dochází v těchto případech k selhání ledvin, které vyžaduje dialýzu a transplantaci. V současné době bylo objeveno více než 950 genů souvisejících s ciliemi a jejich příslušnými proteiny, jejichž mutace mohou být spojeny s lidskými onemocněními (van Dam et al., 2019). Dysfunkce cilií obvykle vede k pleiotropním klinickým projevům, které se projevují širokou distribucí a různou funkčností. Široké spektrum více než 35 lidských genetických onemocnění, známých jako "ciliopatie", bylo spojeno s více než 180 prokázanými proteiny asociovanými s ciliopatiemi (Fliegauf et al., 2007; Reiter & Leroux, 2017; Wheway et al., 2015).

Cilie jsou specializované mikrotubulární výběžky, které se podle své axonemální architektury dělí na pohyblivé (9+2) nebo nepohyblivé (9+0; Obr. 5) (Knodler et al., 2010). Ačkoli 75 % strukturních komponent je společných, pouze druhé jmenované, které se vyznačují absencí centrálního mikrotubulárního (MT) dubletu, jsou všudypřítomné v celém lidském těle (Ishikawa, Thompson, Yates, & Marshall, 2012). Tyto nemotorické neboli "primární cilie" jsou hlavně senzorké a signální transdukční orgány, často označované jako buněčné antény (Singla & Reiter, 2006). Receptory a signální molekuly jsou soustředěny uvnitř primárních řasinek a jsou odděleny od zbytku plazmatické membrány. Cilie mají úlohu komunikačního uzlu, který umožňuje převádět extracelulární informace do navazujících intracelulárních signálních drah a spouštět tak příslušné fyziologické reakce (Nachury, 2014). Vzhledem k neschopnosti cilií syntetizovat vlastní proteiny, využívají specifický intraflagelární transportní systém (IFT) k vezikulárnímu transportu těchto proteinů po ciliích. IFT-A a -B, se pohybují podél axonemu MT a provádějí anterográdní, respektive retrográdní transport ciliárních proteinů. Systém IFT reguluje vstup a výstup proteinů, mutace, které ovlivňují funkci IFT, vedou k defektům cilií a podílejí se na řadě ciliopatií. Přechodová zóna (PZ) odděluje cilie od zbytku plazmatické membrány a vyžaduje transport vezikul pro pohyb do této zóny a z ní. PZ která se nachází směrem k distálnímu konci bazálního tělíska a je vymezena přítomností Y-vazby a přechodových vláken, je difuzní bariérou, která kontroluje vstup a výstup více než 700 ciliárních proteinů do cilie, včetně axonemálních prekurzorů, přidružených signálních molekul a dalších. Inversinový kompartment, distálně od PZ, je samostatnou molekulární podsekcí primárních cilií charakterizovanou lokalizací proteinu inversinu (INV), který je kódován *NPHP2*, významným genem spojeným s NPHP. V rámci PZ zprostředkovává tvorbu, funkci a pohyb cilií celá řada velkých nadmolekulárních

proteinových komplexů. Tyto komplexy jsou pojmenovány podle onemocnění nebo ciliopatií spojených s mutacemi jejich specifických genů a patří mezi ně komplexy BBS, Meckelův syndrom (MKS) a NPHP. Ciliopatie se vyznačují postižením základního souboru tkání: sítnice, mozku a ledvin i jater.

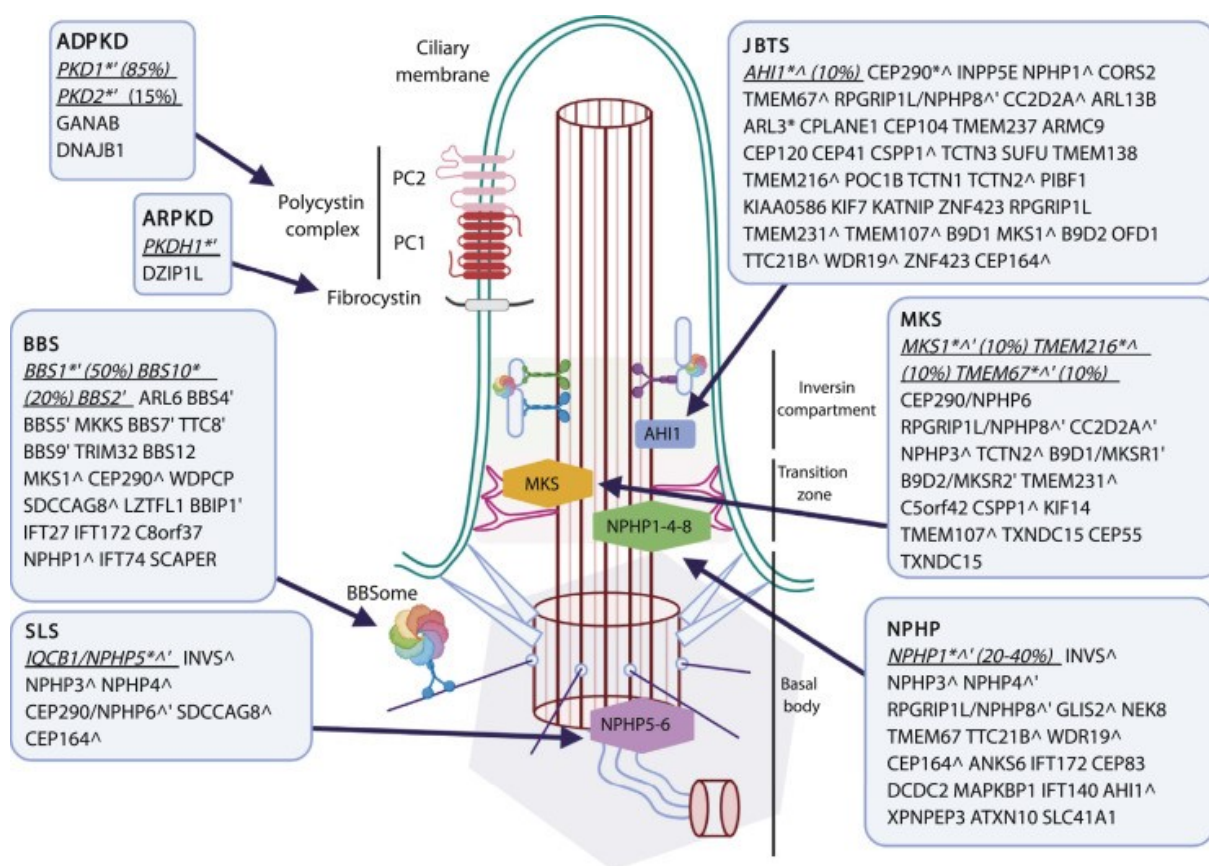
V játrech hrají primární cilie důležitou úlohu při tvorbě duktálních destiček. Jsou zodpovědné za signalizaci regrese a reorganizace duktální ploténky do žlučových cest. Narušení tohoto procesu může vést k proliferaci extracelulární matrix, což vede ke vzniku fibrózních portálních cest, nebo může vést k dilataci žlučových cest.

Fenotyp onemocnění je heterogenní a zahrnuje následující: (1) vrozená jaterní fibróza (VJF), která se týká pouze na fibrózní portální cesty; (Smith et al.) Caroliho nemoc (CD), která je definována jako dilatace cystických kanálků; a (Ishikawa et al.) Caroliho syndrom (CS), který se projevuje kombinací obou znaků, jaterní fibrózy a dilatovaných cystických kanálků. Existují i další ciliopatie s nealkoholickým ztučněním jater (NAFLD) jako součást fenotypu, například BBS (Muller et al., 2010) a Alstromův syndrom (Collin et al., 2002). Pacienti s jaterním onemocněním spojeným s primárními ciliopatiemi mají obvykle zachovanou syntetickou funkci jater, protože jaterní parenchym není z velké části postižen. Primárními důsledky jaterní fibrózy a dilatace jaterních cystických kanálků jsou portální hypertenze (pHTN) a cholestáza. Variceální gastrointestinální (GI) krvácení, splenomegalie, a trombocytopenie jsou běžnými následky pHTN, zatímco u podskupiny pacientů s cholestázou se může vyskytnout recidivující cholangitida i cholangiokarcinom. Cystické onemocnění ledvin je často prezentujícím onemocněním v dětském věku (Tab. 3), přičemž autozomálně recesivní (AR) polycystické onemocnění ledvin (ARPKD) (Ward et al., 2002) je nejčastější a postihuje 1 z 20 000 narozených. U těchto pacientů existuje široké spektrum onemocnění ledvin, přičemž u více než 50 % z nich dochází ke konečnému stadiu onemocnění ledvin před dosažením dospělosti. Autozomálně dominantní (AD) polycystická choroba ledvin (ADPKD) (Mochizuki et al., 1996; Peral et al., 1995) je nejčastější ciliopatií, která se však zřídka projevuje v dětství. Pro onemocnění PKD je charakteristická oboustranná přítomnost četných cyst naplněných tekutinou v ledvinovém parenchymu v důsledku abnormálně vysoké míry nesprávně orientované buněčné proliferace, exprese sekrečního fenotypu, snížené apoptózy, hromadění tekutiny a změněného třídění proteinů (Obr. 6).

Souhrnně lze říci, že jaterní ciliopatie jsou zvláštní skupinou poruch, které umožňují nahlédnout do vývoje hepatobiliárního systému.

Tab. 3 Ciliopatie s jaterním fenotypem

Onemocnění	Dědičnost	Klinické projevy	Gen	Prevalence
ARPKD*	AR	časné ledvinové cysty, jaterní fibróza	<i>PKHD1</i>	1:20,000
Meckel-Gruberův syndrom (Coppieters, Lefever, Leroy, & De Baere, 2010; Delous et al., 2007; Kyttala et al., 2006; Smith et al., 2006; Tallila, Jakkula, Peltonen, Salonen, & Kestila, 2008)	AR	ledvinové cysty, polydaktylie, opožděný vývoj, anomálie CNS, vrozené srdeční vady, rozštěp rtu, rozštěp patra, malformace duktální ploténky	<i>MKSI, TMEM67, CEP290, RPGRIP1L, CC2D2A</i>	1:140,000
Joubertův syndrom a příbuzná onemocnění včetně COACH syndromu* (Brancati et al., 2009; Cantagrel et al., 2008; Delous et al., 2007; Ferland et al., 2004; Noor et al., 2008; Parisi et al., 2004; Sayer et al., 2006)	AR	anomálie CNS, opoždění vývoje, ataxie, retinitis pigmentosa, polydaktylie, rozštěp rtu, rozštěp patra, cystické onemocnění ledvin a jaterní fibróza	<i>AHII, NPHP1, CEP290, TMEM67, RPGRIP1L, ARL13B, CC2D2A</i>	1:100,000
Bardet-Biedlův syndrom (Billingsley, Vincent, Deveault, & Heon, 2012; Bujakowska et al., 2015; A. P. Chiang et al., 2004; Leitch et al., 2008; Locke, Tinsley, Benson, & Blake, 2009; Nachury et al., 2007; Scheidecker et al., 2014; Slavotinek et al., 2000)	AR	obezita, polydaktylie, opožděný vývoj, retinitis pigmentosa, anomálie ledvin, anosmie, hypogonadismus, vrozené srdeční vady	<i>BBS1, BBS2, BBS4, BBS5, BBS7, BBS9, BBS10, BBS12, ARL6, MKKS, TTC8, TRIM32, MKSI, CEP290, IFT172, SDCCAG8</i>	1:100,000
Oral-facial-digital syndrom typ I (Ferrante et al., 2001)	X-vázaná	polydaktylie, rozštěp rtu, rozštěp patra, mozkové anomálie, opožděný vývoj, ledvinové cysty	<i>OFD1</i>	1:100,000
Jeuneův syndrom* (Beales et al., 2007)	AR	deformace hrudního koše, ledvinové cysty, retinitis pigmentosa, dysplazie skeletu, polydaktylie.	<i>IFT80</i>	vzácné
Kranioektodermální dysplazie (Arts et al., 2011; Bredrup et al., 2011; Gilissen et al., 2010; Walczak-Sztulpa et al., 2010)	AR	abnormality skeletu, brachydaktylie, retinis pigmentosa, ektodermální defekty, nefronoftíza se selháním ledvin, jaterní fibróza, srdeční vady	<i>IFT122, WDR19, WDR35, IFT43</i>	vzácné
Ellis-Van Creveldův syndrom (Galdzicka et al., 2002; Ruiz-Perez et al., 2007)	AR	chondrodystrofie, polydaktylie, ektodermální dysplazie, vrozené srdeční vady	<i>EVC, EVC2</i>	vzácné
Saldino-Mainzerův syndrom (Perrault et al., 2012)	AR	onemocnění ledvin, oční problémy a kosterní abnormality	<i>IFT140</i>	vzácné



Obr. 6 Ciliopatie a související genotypy. Zkratky: ADPKD, AD polycystické onemocnění ledvin; ARPKD, autozomálně recesivní polycystické onemocnění ledvin; BBS, Bardet-Biedlův syndrom; JBTS, Joubertův syndrom; MKS, Meckel-Gruberův syndrom; NPHP, nefronoftie; PC1(Smith et al.), polycystin 1(Smith et al.); SLS, Senior-Lokenův syndrom (Ciliopathies and the Kidney: A Review. Dominique J. McConnachie ¹, Jennifer L. Stow ², Andrew J. Mallett.(McConnachie et al., 2021)).

1.2 Statinové myopatie

1.2.1 Metabolismus cholesterolu

Cholesterol je mezi biologickými molekulami jedinečný tím, že u člověka plní nesčetné množství základních funkcí. Cholesterol je v živočišné říši všudypřítomný, od reprodukce přes transport živin až po aktivaci buněčných procesů. Vzhledem k jeho významu je jeho koncentrace pečlivě regulována několika zpětnovazebními mechanismy, jejichž ústředním místem jsou játra. Lidský organismus má omezenou schopnost katabolizovat cholesterol. Ke katabolismu může docházet při tvorbě žlučových kyselin, steroidogenezi a metabolických procesech v mozku.

Struktura cholesterolu má tři hlavní domény - proximální hydrofilní konec, distální hydrofobní konec a centrální strukturu čtyř kruhů, která dává molekule extrémní tuhost. Díky této struktuře se cholesterol podílí na mnoha různých funkcích, které mají zásadní význam pro fungování buněk. Většina cholesterolu je zabudována v buněčné membráně a zajišťuje tuhost buňky, čímž odpadá potřeba buněčné stěny. Cholesterol také určuje propustnost buňky pro ionty a plyny. Cholesterol rovněž zajišťuje uspořádání mnoha buněčných receptorů a přenašečů, které by za normálních okolností náhodně pluly po celé plazmatické buněčné membráně. V neposlední řadě může vytvářet "rafty", které rozdělují buněčné procesy v buněčné membráně, a tím organizují signální molekuly, transport membránovými proteiny a regulaci neurotransmise.

Cholesterol je strukturní molekulou všech živočišných buněčných membrán a ovlivňuje jejich fluiditu. Jeho patogenní role při ateroskleróze byla v posledních třech desetiletích pečlivě vymezena. Nedávné objevy dodaly významu této molekuly několik nových rozměrů. Identifikace specifického cholesterolového receptoru ve střevě a v hepatocytu vedla k širokému používání ezetimibu a jeho úloze při snižování výskytu kardiovaskulárních onemocnění s minimem vedlejších účinků. Byla definována úloha cholesterolu jako přenašeče dvou vitaminů rozpustných v tucích u jedinců s hypobetalipoproteinémií a nutná suplementace vitaminu E u těchto jedinců.

Cholesterol má specifický receptor pro vstřebávání ve střevech. Ačkoli je cholesterol klasifikován jako "tuk", jeho vstřebávání ve střevech je odlišné od vstřebávání jiných druhů tuků. Byl popsán jedinečný střevní receptor pro cholesterol a rychlost jeho vstřebávání přímo souvisí s aktivitou těchto receptorů. Tento receptor byl označen jako Niemann-Pick C-1 like-1 protein (NPC1L1 (Temel et al., 2007)) receptor, protože jeho aminokyselinová sekvence sdílí částečnou homologii s abnormálním receptorem NPC1 u Niemann - Pickovy choroby typu C (vzácné poruchy ukládání lipidů). Tento receptor není zcela specifický pro cholesterol, protože přenáší také rostlinné steroly. Po vstřebání do enterocytu jsou rostlinné steroly normálně transportovány zpět do střevního lumen pomocí heterodimerního transportéru ABCG5/ABCG8, ze kterého jsou odstraněny stolicí. Pokud tyto transportéry fungují nedostatečně, dochází k nadměrnému transportu sterolů do systémové cirkulace, což vede k sitosterolémii, onemocnění charakterizovanému xantomy a patologickými kardiovaskulárními příhodami. Receptor NPC1L1 je rovněž lokalizován na kanalikulární membráně hepatocytů a reguluje sekreci cholesterolu do žluče. Podobně jako ve střevě usnadňuje tento receptor

zpětné vychytávání cholesterolu vylučovaného do žluče prostřednictvím transportéru ABCG5/ABCG8. Ve střevě vylučují obligátní heterodimerní ABCG5/ABCG8 transportéry především rostlinné steroly zpět do střeva. Na kanalikulární membráně hepatocytů, kde je koncentrace rostlinných sterolů velmi nízká, však transportují především cholesterol. Játra (podobně jako střevo) tedy mají na rozhraní jater a žlučových cest schopnost obousměrného transportu cholesterolu.

Samotný cholesterol v plazmě necirkuluje ve významném množství, protože je v ní málo rozpustný. Hlavní formou cirkulujícího cholesterolu je komplex triglyceridů a cholesterolu ve formě remnantních částic lipoproteinů po hydrolýze triglyceridu lipoproteinovou lipázou. Tyto remnantní částice pocházejí buď z chylomikronů vylučovaných ze střeva, nebo z endogenních lipoproteinů s velmi nízkou hustotou vylučovaných z jater. S prvním typem částic nazývaných chylomikron remnants je asociovaný apolipoprotein apo-B48, s druhým typem nazývaným LDL je asociovaný apo-B100. Oba tyto apoproteiny jsou produktem stejného genu, ale enterocytární RNA kódující apo-B100 je editována, tak, že se z ní přepisuje apo-B48. Zbytky chylomikronů obsahující především estery cholesterolu, apo-E a apoB-48 jsou rychle vychytávány játry. Zbytky procházejí endotelovou výstelkou jaterního sinusoidu a v Disseho prostoru interagují se specifickými receptory a heparinem sulfatovanými proteoglykany (HSPG). Hepatocytární vychytávání zbytků je zahájeno sekvestrací částic na HSPG, po níž následuje receptorem zprostředkovaná endocytóza zbytků. Receptorem zprostředkovaný endocytický proces může být zprostředkován LDL receptory (LDLR) a/nebo proteinem souvisejícím s LDL receptory (LRP). Na interakci zbytků s HSPG se podílí apo-B48 a na interakci s LDLR nebo LRP se podílí apo-E (Obr. 7).

Remnantní částice jsou více aterogenní než lipoproteiny LDL, především proto, že jsou zánětlivé a nevyžadují oxidaci, aby byly vychytávány subendoteliálními makrofágy. Za normálních okolností jsou odstraňovány játry složitými mechanismy, na nichž se podílí především lipoprotein apo-E. Genetické onemocnění, nazývané familiární dysbetalipoproteinemie, je charakterizováno hromaděním remnantních částic, které vede k akceleraci aterosklerózy. Když tyto lipoproteiny překročí schopnost jaterních LDL receptorů odstranit je z cirkulace, dostanou se do arteriální stěny a stanou se součástí aterosklerotického plátu. Zde mohou molekuly cholesterolu krystalizovat a způsobit přímé poškození fibrózní čepičky. Ruptura této čepičky může vyústit v arteriální trombózu. Ateroskleróza je důsledkem

nadbytku remnantních částic cholesterolu, které přesahují schopnost jater rychle je odstranit z oběhu.

Pokud je cholesterol pod normální hladinou, tak nedávné randomizované kontrolované studie statinů prokázaly, že čím nižší je hladina LDL cholesterolu, tím nižší je výskyt kardiovaskulárních příhod. Zdá se, že neexistuje žádná hranice, pod kterou by tento vztah neplatil a nebyly zjištěny ani žádné klinické abnormality.

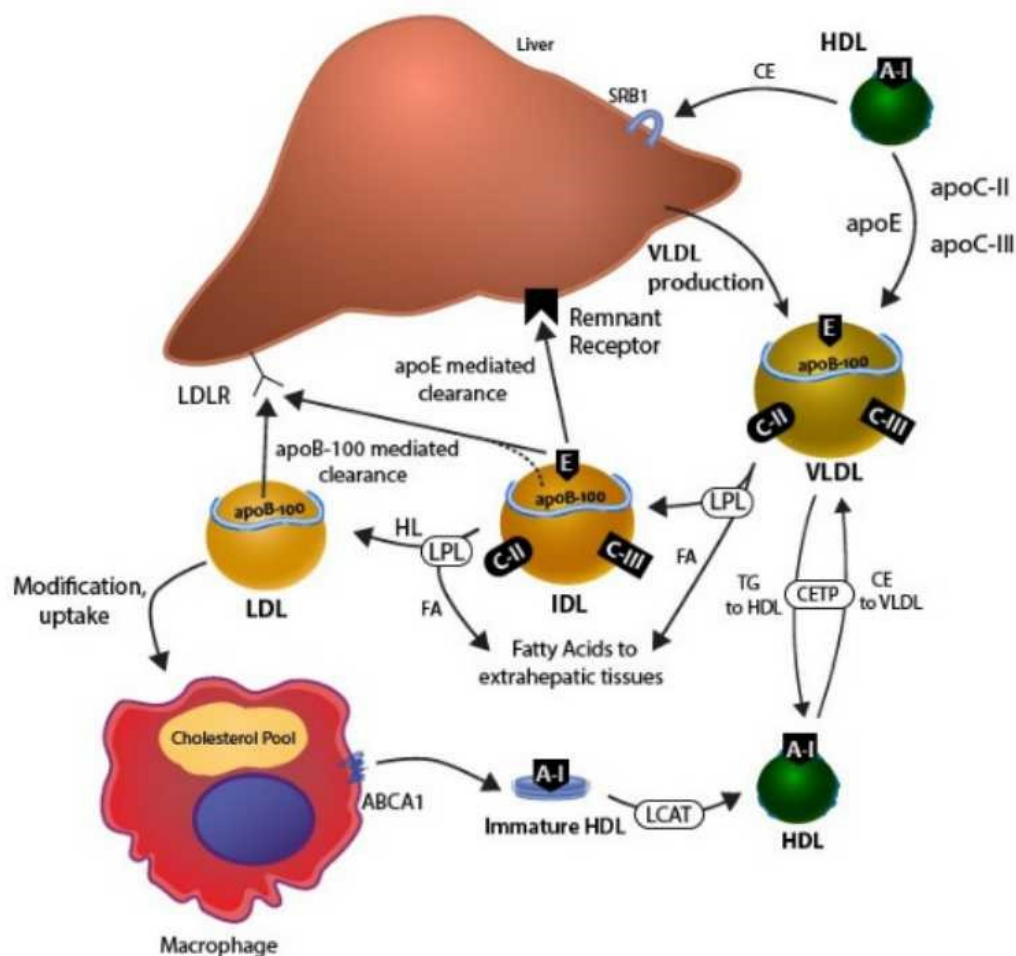
Cholesterol nemá funkci pouze stabilizovat buněčnou membránu, podílí se na mnoha dalších pro organismus nezbytných úkolech. Je například kostrou pro hormony vylučované nadledvinkami včetně kortizolu a aldosteronu a mnoha meziproduktů, které jsou pro syntézu těchto hormonů nezbytné. Kromě hormonů nadledvinek tvoří cholesterol kostru všech pohlavních hormonů, včetně estrogeneru, progesteronu a testosteronu. Tyto hormony mají zásadní vliv na růst a vývoj v průběhu celého života. V neposlední řadě je hlavní strukturou pro vitamin D a jeho metabolity, které jsou nezbytné pro zdraví kostí.

Cholesterol v aterosklerotickém plátu existuje ve více formách, nejen jako volný cholesterol, ale také jako esterifikovaný cholesterol. Dále může být rozpustný v matrici plátu, ale také může krystalizovat do různých trojrozměrných tvarů. Ze všech molekul cirkulujících v krvi je LDL cholesterol jedinou známou molekulou, která podléhá strukturní přeměně v blízkosti tělesné teploty. Pod touto teplotou jsou lipidy umístěné v jádře LDL částice aranžovány do uspořádané kapalně-krystalické fáze. Nad touto teplotou jsou neutrální lipidy uspořádány v tekutém, olejovitém, náhodně rozloženém stavu. Přechodová teplota, která se blíží tělesné teplotě, koreluje s poměrem esterů cholesterolu a triglyceridů, přičemž při vyšším obsahu triglyceridů je nižší. Tvorba krystalů může mít nežádoucí účinky na aterosklerotické pláty. Pro mnoho látek je charakteristické, že krystalizace vede k objemové expanzi, což může mít za následek zvýšení vnitřního tlaku plaku, a také vede k tvorbě ostrých krystalů, které mohou perforovat uzávěr plaku. To může vést k prasknutí plaku s následnou trombózou a arteriální obstrukcí. Změny strukturální formy cholesterolu v aterosklerotických placích mohou mít následky (ruptura), které vedou k infarktu myokardu.

Ačkoli každá tkáň může syntetizovat cholesterol, jsou to především játra, která určují koncentraci cholesterolu v oběhu. Játra monitorují koncentraci cholesterolu ve svých buňkách, a buď aktivují, nebo potlačují geny, které stimulují jeho produkci, jež v konečném

důsledku obnovuje obsah cholesterolu v játrech. Játra mají tři hlavní cesty, jak zvýšit (nebo snížit) zásobu cholesterolu. Mohou zvýšit jeho syntézu stimulací několika enzymů, zejména HMGCR. Mohou produkovat více (nebo méně) jaterních receptorů pro LDL cholesterol, jejichž aktivita určuje míru vychytávání cholesterolu (ve formě LDL) z krve. V neposlední řadě mohou vylučovat méně (nebo více) volného cholesterolu do žlučového systému a měnit tak obsah cholesterolu v játrech. Tyto zpětnovazební funkce se mění tak, aby byla hladina cholesterolu v játrech relativně konstantní.

Cholesterol se primárně odstraňuje jaterní sekrecí do žlučových cest. K tomu dochází dvěma způsoby - vylučováním volného cholesterolu a cholesterolu ve formě žlučových kyselin. Žlučové kyseliny jsou důležité pro rozpouštění cholesterolu ve žlučníku a pro stimulaci vstřebávání cholesterolu a vitaminů rozpustných v tucích. Podobně jako ve střevech se i v játrech člověka nachází vysoká koncentrace cholesterolového receptoru NPC1L1. Ten se nachází v kanalikulární membráně hepatocytů a usnadňuje zpětné vychytávání nově vylučovaného cholesterolu do žluče. HDL a LDL hrají důležitou roli v distribuci vitaminu K, vitaminu E a perorálního vitaminu D.

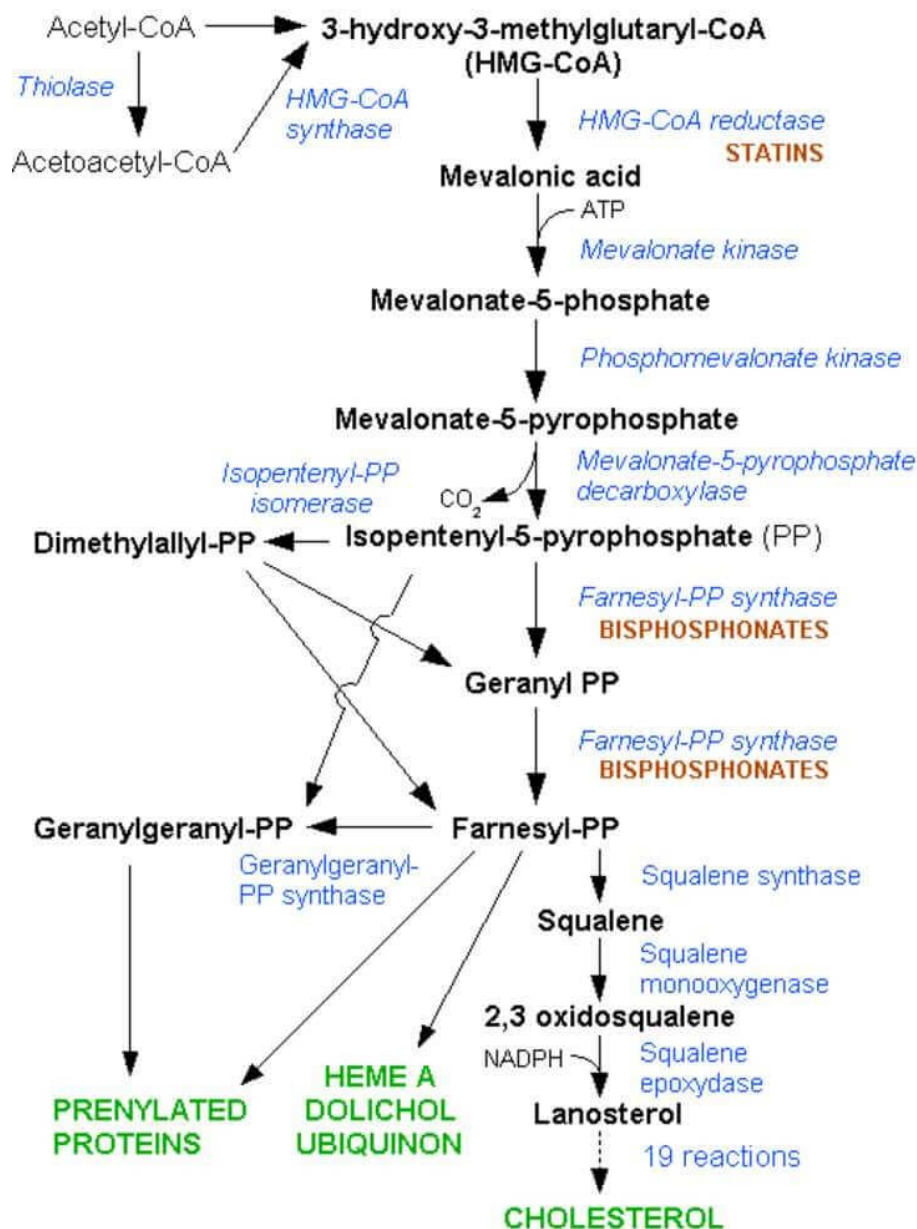


Obr. 7 Metabolismus cholesterolu LDLR receptor lipoproteinů o nízké hustotě, LDL lipoprotein o nízké hustotě, IDL lipoprotein o střední hustotě, VLDL lipoprotein o velmi nízké hustotě, LCAT lecitin:cholesterol-acyltransferáza, HDL lipoprotein o vysoké hustotě, LPL lipoproteinová lipáza, TG triglyceridy, CE estery cholesterolu, CETP cholesterol ester transfer protein, SRB1 scavenger receptor třídy B typ 1 (www.creative-diagnostics.com)

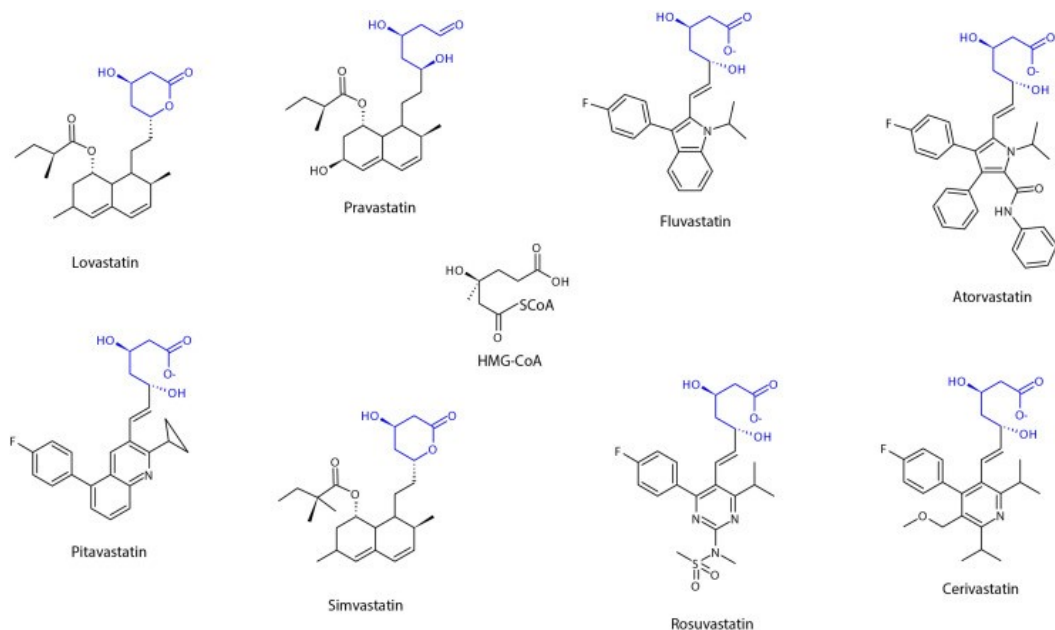
1.2.2. Statiny

Statiny (Sirtori, 2014) jsou inhibitory 3-hydroxy-3-metyl-glutaryl-coenzym A reductázy (HMG-coA, HMGCR), které snižují celkový a LDL cholesterol v séru (Obr. 8). Ačkoli jsou tyto léky obecně dobře snášeny, značný počet pacientů trpí vedlejšími efekty po zahájení léčby statiny (Obr. 9), která zahrnuje slabost a bolest svalů. Myalgie bez zvýšení sérové hladiny kreatinin kinázy (CK) a myopatie se zvýšením sérové CK representují nejčastější důvody statinové intolerance. Ačkoli je velmi vzácná, rabdomyolýza je nejzávažnější forma myopatie a končí rozpadem svalstva, myoglobinurií, poškozením ledvin a smrtí (Tab. 4). Frekvence svalové slabosti se zvyšuje se zvyšováním denní dávky statinů. Mechanismy

přispívající k statiny indukované myopatii (SM (Kee, Chin, Kennedy, & Maggo, 2020)) zahrnují snížení obsahu cholesterolu ve svalových buňkách, sníženou produkci ubiquinonu, sníženou prenylac proteinů, zvýšené vychytávání cholesterolu a rostlinných sterolů, zhoršený metabolismus vápníku a sníženou produkci selenoproteinů. Kromě toho může podávání statinů demaskovat již existující myopatii způsobenou heterozygotním nosičstvím mutací způsobujících svalové onemocnění.



Obr. 8 Syntéza cholesterolu a vstup statinů do syntézy. (epomedicine.com)



Obr. 9 Chemická struktura statinů, která ukazuje společný farmakofor HMG-CoA (Kee PS, Chin PKL, Kennedy MA, Maggo SDS. Pharmacogenetics of Statin-Induced Myotoxicity (Kee et al., 2020)).

1.2.3 Myopatie

SM je také způsobena genetickými variantami v enzymech, většinou z rodiny cytochromů P450, které metabolizují statiny. Podobně může být SM způsobena genetickými variantami v přenašečích statinů (jaterními a střevními proteiny OATP1B a jaterními a myocytárními ATP-vázajícími transportéry), které ovlivňují koncentraci statinů a jejich metabolitů v krevních buňkách a myocytech. Studie rodin naznačují významné zapojení genetické složky ve statiny indukovaných onemocněních. Genetické faktory přispívající k SM se dělí na několik skupin, faktorů, které ovlivňují

1) koncentraci statinů v krvi (variace v genech kódujících transportéry *SLCO1B1*, *SLCO1B3*, *SLCO2B1*, *ABCB1*, *ABCG2* a enzymy *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP2C8*, *CYP2D6*, *CYP2D9*, *CYP1A2*, *CYP2E1*, *CYP2A6* a *CYP2B6*) (Cooper-DeHoff et al., 2022);

2) vaskularizaci svalů (geny kódující angiotenzin 1 (*AGTR1*) a *NOS3*))

3) koncentraci statinů ve svalových buňkách (geny kódující transportéry OATP2B1, MRP1, MRP4 a MRP5).

Další četné faktory hrají roli v etiologii primárních svalových onemocněních, mezi něž se řadí 4) vzácné varianty, které jsou základem poruchy energetického metabolismu svalových buněk v genech kódujících myofosforylázu (*PYGM*), alfa-glukosidázu, karnitin palmitoyltransferázu 2 (*CPT2*) a myoadenylát deaminázy (*AMPD1*);

5) varianty odpovědné za mitochondriální myopatie;

6) varianty ovlivňující produkci koenzymu Q10 (geny *COQ10A* a *COQ10B*);

7) varianty asociované se svalovou dystrofií (geny kódující dystrofin (*DMD*), myotilin (*MYOT*), lamin A/C (*LMNA*) a caveolin-3 (*CAV3*)) a

8) faktory ovlivňující homeostázu vápníku (geny kódující ryanodinový receptor 1 (*RYR1*), Na⁺/K⁺-ATPázu (*ATP1A1*, *ATP1A2*, *ATP1B1*, *ATP1G1*) a Ca²⁺-ATPázu (*ATP2A1*)). Běžné genetické varianty se nezdají být důležitými ve svalové toxicitě vyvolané statiny, s jednou výjimkou: specifickou mutací v genu *SLCO1B1*.

Tab. 4 Klasifikace statinové myotoxicity

SM klasifikace	Fenotyp	Definice
SM 0	Zvýšení CK <4× ULN	Žádné svalové symptomy
SM 1	Myalgie, snesitelná	Svalové symptomy bez zvýšení CK
SM 2	Myalgie, nesnesitelná	Svalové příznaky, CK <4× ULN, úplné vymizení po vysazení
SM 3	Myopatie	Zvýšení CK >4× ULN <10× ULN ± svalové příznaky, úplné vymizení po vysazení
SM 4	Závažná myopatie	Zvýšení CK >10× ULN <50× ULN, svalové příznaky, úplné vymizení po vysazení
SM 5	Rabdomyolýza	Zvýšení CK > 10× ULN s průkazem poškození renálních funkcí + svalové příznaky nebo CK <50× ULN
SM 6	Autoimunitně zprostředkovaná nekrotizující myositida	HMGCR protilátky, exprese HMGCR ve svalové biopsii, neúplné řešení po vysazení

SM – statinová myotoxicita, CK – kreatinkináza, ULN-horní limit normy (upper limit of normal) (Kee PS, Chin PKL, Kennedy MA, Maggo SDS. Pharmacogenetics of Statin-Induced Myotoxicity (Kee et al., 2020))

Za nejvýznamnější genetický faktor predisponující ke statiny indukované myopatii jsou považovány varianty v genu *SLCO1B1* kódujícím protein OATP1B1 exprimovaný v sinusoidální membráně jaterních buněk. OATP1B1 funguje jako přenašeč odpovědný za jaterní vychytávání široké škály substrátů aniontové povahy od endogenních látek zahrnujících nekonjugovaný i konjugovaný bilirubin, nekonjugované ŽK, hormony štítné žlázy, konjugované steroidy a porfyriny přes xenobiotika (bromsulfoftalein a indocyanonová zeleň), radiofarmaka, běžně používané léky (např. peniciliny, statiny, sartany, rifampicin a metotrexat) po toxiny (faloidin). Vedle *SLCO1B1* je v játrech člověka exprimován i homologní gen *SLCO1B3* kódující protein OATP1B3, který má obdobnou substrátovou specifitu a který se rovněž uplatňuje v jaterním vychytávání některých statinů (např. fluvastatinu, rosuvastatinu a pitavastatinu) (Obr. 9).

Nejčastěji uváděnou variantou asociovanou se statinovou myopatií je alela c.521T>C (p.Val174Ala) dbSNP rs4149056 v exonu 5 genu *SLCO1B1*, jejíž frekvence v kavkazské populaci dosahuje 8 - 20%. Varianta c.521C snižuje transportní aktivitu proteinu OATP1B1 k řadě substrátů *in vitro* i *in vivo*. Po jednorázové dávce statinu dochází u homozygotů pro c.521C ve srovnání s homozygoty pro c.521T k největšímu nárůstu plochy pod křivkou u simva- a atorvastatinu, méně u prava- a rosuvastatinu a nejméně u fluvastatinu. Jev je vysvětlován skutečností, že zatímco v případě polárních statinů je OATP1B1 jejich hlavním transportérem, méně polární statiny jsou do jater transportovány i jinými cestami zahrnujícími i prostou difuzi přes buněčnou membránu.

Deficit OATP1B1 a OATP1B3 byl identifikován metodou genetického mapování jako příčina Rotorova syndromu (van de Steeg et al., 2012). V souvislosti se studiem nulových „Rotorovských“ mutací zasahujících některý z obou uvedených genů *SLCO1B1* a *SLCO1B3* bylo zjištěno, že vedle dvou rozsáhlých delecí pozorovaných ve studovaných rodinách se v populačním vzorku 1315 jedinců vyskytly další dvě námi nezachycené velké delece. V genech *SLCO1B1* a *SLCO1B3* byly detekovány dosud neznámé nulové mutace a mutace ovlivňující sestřih mRNA. Navíc bylo zjištěno, že v českých rodinách byla již dříve popsána nulová mutace c.1738C>T (p.Arg580*) v *SLCO1B1* vázána na alelu c.521C (p.Val174Ala) asociovanou se statinovou myopatií. Publikovaná frekvence alely p.Arg580* (dbSNP rs71581941) v japonské populaci dosahuje až 0,8% (5).

2 CÍLE PRÁCE

2.1 Zjistit význam *SLCO1B7* v etiologii a patogenezi Rotorova syndromu

2.2 Zjistit příspěvek variant v panelu kandidátních genů asociovaných se SM a případně identifikovat nové kandidátní geny

2.3 Zjistit příspěvek patogenních variant v panelu kandidátních genů asociovaných s dědičnou cholestázou a případně identifikovat nové kandidátní geny

3 SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTAČNÍ PRÁCE

Viktor Stranecky, Evita van de Steeg, **Magdalena Neroldova**, Ondrej Luksan, A.S. Knisely, Stanislav Kmoch, Alfred H. Schinkel, Milan Jirsa. Molecular Basis and Mechanism of Rotor Syndrome. In: Haussinger D, Beuers U, Trauner M (GronholdtKlein et al.): XXII International Bile Acid Meeting – Hepatic and Extrahepatic Targets of Bile Acid Signaling. Falk Symposium 184, Vienna 2012, pp. 10 – 18. Karger AG, Basel 2012. Kapitola v monografii.

Neroldova M, Stranecky V, Hodanova K, et al. Rare variants in known and novel candidate genes predisposing to statin-associated myopathy. *Pharmacogenomics* 2016;17:1405-14. IF 3,245

Stranecky V, **Neroldova M**, Hodanova K, et al. Large copy-number variations in patients with statin-associated myopathy affecting statin myopathy-related loci. *Physiol Res* 2016;65:1005-11. IF 2,139

Sticova E, **Neroldova M**, Kotalova R, Subhanova I, Jirsa M. ABCB4 disease mimicking morbus Wilson: A potential diagnostic pitfall. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2020;164:121-5. IF 1,776

Neroldova M, Ciara E, Slatinska J, et al. Exome sequencing reveals IFT172 variants in patients with non-syndromic cholestatic liver disease. *PLoS One* 2023;18:e0288907. IF 3,752

4 VÝSLEDKY A DISKUSE K JEDNOTLIVÝM PUBLIKACÍM

4.1 Funkční význam *SLCO1B7* v etiologii a patogenezi Rotorova syndromu - publikace č. 1

Rotorův syndrom (RS) je autozomálně recesivní genetické onemocnění charakterizované nedostatkem v jaterním vychytávání a ukládání bilirubinu (Kimura et al., 2021). Příčina vzniku RS (van de Steeg et al., 2012) byla objasněna nálezem rozsáhlých delecí a bíalelických sestříhových a nonsense variant přítomných současně v obou genech *SLCO1B1* a *SLCO1B3* (Kim et al., 2022) kódujících transportní proteiny OATP1B1 a OATP1B3 (Liu et al., 2021). Kompletní ztráta funkce či exprese proteinů OATP1B1 a OATP1B3 podílejících se na importu bilirubinu, toxinů a léčiv do jaterních buněk má za následek vznik konjugované hyperbilirubinémie (van de Steeg et al., 2012; Xie et al., 2023). Výsledky experimentů na geneticky modifikovaných myších kmenech s izolovanými či kombinovanými deficitem Mrp2, Mrp3 a celé rodiny transportérů Oatp1a/1b spolu s výsledky mapovací studie v rodinách s RS dále ukázaly, že v normálních játrech exprimujících OATP1B1, OATP1B3 a MRP3 (Mutanen & Pakarinen, 2023) tvoří tyto transportéry smyčku mezi játry a krví, díky které je podstatná část bilirubinu konjugovaného v hepatocytech vylučována zpět do krve pomocí MRP3 a následně reabsorbována v centrizonálních hepatocytech pomocí OATP1B1 a OATP1B3. U RS (Cheng et al., 2023) je toto zpětné vychytávání ztíženo, což způsobuje zvýšenou hladinu glukuronidu bilirubinu v plazmě a žloutenku.

Nezodpovězená zůstala otázka významu *SLCO1B7*. Předpokládalo se, že *SLCO1B7* je nefunkční pseudogen (van Groen et al., 2020), který postrádá první dva kódující exony, ale jinak je blízce homologní s *SLCO1B1* a *SLCO1B3* (sekvenční homologie exonů 1-13 *SLCO1B7* s exony 4 - 16 *SLCO1B3* a *SLCO1B1* je 87 %, resp. 83 %) (Ninomiya, Saito, Ikeda, Iwata, & Girardin, 2022). Myší sekvenční ortolog *SLCO1B7* s názvem *Slcolb2* však představuje jediného funkčního člena myší rodiny genů *Slcolb*. *In silico* analýzou navržené prodloužení o dva exony na 5'- konci ani alternativně sestříhaný fúzní produkt AY442325 čtecích rámců *SLCO1B3* a *SLCO1B7* se nám v lidské jaterní cDNA, nepodařilo metodou PCR amplifikovat. Metoda byla navržena tak, aby FW-primer překlenul spojení exonů 4 a 5

SLCO1B3 a R-primer spojení exonů 7 a 8 *SLCO1B7*, přičemž fúze čtecích rámců se předpokládala mezi exonem 5 *SLCO1B3* a exonem 5 *SLCO1B7*. Metodou PCR bylo možné detekovat pouze amplikony cDNA *SLCO1B7* (exony 2 – 4 a exony 10 – 11) (Obr. 10). Tyto údaje podpořily hypotézu, že *SLCO1B7* je nefunkční gen, jehož mRNA je rychle degradována. Mutace nebo úplná delece v tomto genu tak sotva mohou hrát nějakou roli při vzniku RS.

Studiem fúzního transportéru *SLCO1B3-SLCO1B7* (LST-3TM12) se následně zabývala Henriette E. Meyer zu Schwabedissen (Malagnino et al., 2018). Nejprve ukázala, že LST-3TM12, který je produktem sestřihu *SLCO1B3* a *SLCO1B7*, je jak na úrovni mRNA, tak proteinu exprimován v játrech. Přesné místo fúze se s ohledem na vysoký stupeň sekvenční homologie *SLCO1B3* a *SLCO1B7* se autorům sice nepodařilo identifikovat, jako nejpravděpodobnější scénář však navrhli aberantní sestřih v exonu 5 *SLCO1B3* v pozici c.334 podmíněný alelou G v polymorfním lokusu rs4149117 c.334T>G, jejíž frekvence v Evropské populaci činí 0,52 až 0,89. Nosičství alely T by možná vysvětlilo námi dříve pozorovanou nemožnost amplifikovat fúzní sekvenci. Ve stejné práci (Malagnino et al., 2018) pak Meyer zu Schwabedissen a spol. ukázali, že zatímco protein *SLCO1B3* je lokalizován v basolaterální membráně hepatocytů a enterocytů, protein LST-3TM12 je exprimován především v endoplazmatickém retikulu. V další práci Meyer zu Schwabedissen a spol. (Meyer Zu Schwabedissen et al., 2020) se autoři věnovali studiu lokalizace a funkce LST-3TM12 v transientně transfekovaných liniích HeLa, kde se ukázali, že LST-3TM12 je exprimován nejen v ER, ale také v plazmatické membráně a transportuje dehydroepiandrosteron-sulfát (DHEAS) (Meyer Zu Schwabedissen et al., 2020). Izolovaný deficit LST-3TM12 však dosud nebyl ani popsán u člověka ani studován na buněčných liniích. U nositelů RS podmíněného čtyřmi mutacemi malého rozsahu v lokusech *SLCO1B1* a *SLCO1B3* a rozsáhlou homozygotní delecí zasahující všechny tři lokusy *SLCO1B3*, *SLCO1B7* a *SLCO1B1* jsme nezaznamenali žádné rozdíly v jejich fenotypu (van de Steeg et al., 2012)

4.2.1 Vzácné varianty predisponující ke statiny indukovaným myopatiím – publikace č. 2

Cílem studie bylo hledání genetických variant ovlivňujících jaterní vychytávání statinů, jejich metabolismus nebo predispozici ke svalovému onemocnění, které mohou podmiňovat náchylnost k myopatii. V návaznosti na objasnění molekulární příčiny RS (van de Steeg et al., 2012) a prokázanou asociaci genotypu *SLCO1B1* rs4149056 (c.521T>C (p.Val174Ala)) (Group et al., 2008) se simvastatinem indukovanou myopatií (Cooper-DeHoff et al., 2022) jsme předpokládali, že významnou úlohu by mohly hrát vzácné varianty v „rotorovských“ genech *SLCO1B1* a *SLCO1B3* (Fernandes Silva, Ravi, Vangipurapu, Oravilahti, & Laakso, 2022) (Ciuta et al., 2023). Při plánování studie jsme se však rozhodli nesoustředit se pouze na lokus *SLCO1B* (Na Takuathung, Sakuludomkan, & Koonrunsesomboon, 2021) a s použitím tehdy nové techniky masivního paralelního sekvenování jsme provedli sekvenování celého exomu u 88 jedinců s klinicky a laboratorně dokumentovanou statinovou myopatií (Wankaew et al., 2022). Nejprve jsme analyzovali varianty ve (v době publikace č. 2) známých genech asociovaných se SM (Tab. 5). K nalezení nových kandidátních genů jsme použili metodu hodnocení zátěže vzácnými variantami a analýzu asociací v rámci celého exomu. Metodou hodnocení zátěže jsme identifikovali dosud nepopsaný kandidátní gen *CLCN1* (Brenes, Pusch, & Morales, 2023), ve kterém jsme našli heterozygotní nonsense mutaci p.R894* u čtyř pacientů. Kromě toho jsme detekovali častější výskyt potenciálně patogenních variant ve známých kandidátních genech *MYOT* (Guglielmi et al., 2023), *CYP3A5* (Elalem et al., 2022), *SH3TC2* (McMacken et al., 2021), *FBXO32* (GronholdtKlein et al., 2023) a *RBM20* (Kornienko et al., 2023). Zátěž genu *SLCO1B1* byla reprezentovaná především populačně častou variantou rs4149056 (c.521T>C (p.Val174Ala)), jejíž frekvence byla ve sledovaném souboru hraniční v porovnání s kontrolami. Původně uvažovaný příspěvek vzácných variant se nepotvrdil.

Chloridové kanály se podílejí na řadě fyziologických procesů a získaných onemocnění. Kanály *CLCN1* jsou zodpovědné za repolarizaci sarkolemy po akčním potenciálu v kosterním svalu a jsou spojovány s kongenitální myotonií, myotonickou dystrofií i s dalšími patologiemi svalů. (Altamura et al., 2018) Iontové kanály, zejména chloridový kanál *CLCN1*, se zdají být citlivým cílem pro působení statinů. Protože tyto kanály jsou důležité pro excitabilitu a kontrakci či relaxaci kosterního svalu, může jejich porucha přispět k myopatii. Zvýšené riziko myopatie v důsledku léčby statiny se může objevit během stárnutí a/nebo patologií

charakterizovaných základní alterací iontových kanálů kosterního svalu. Zásadní úloha kanálu *CLCN1* (Hu, Kim, Antoury, & Wheeler, 2023) byla prokázána u vrozených onemocnění, jako je kongenitální myotonie (MC), u níž ztráta funkce mutací v genu *CLCN1* podmiňuje hyperexcitabilitu sarkolemy a selhání relaxace po kontrakci. Podobně u pacientů podstupujících statinovou terapii může být pro vznik vedlejších účinků na svaly kritické snížení účinnosti kanálu CLCN1 související s vodivostí chloridů (gCl). Protein CLCN1 (Maggi, Bonanno, Altamura, & Desaphy, 2021) je výrazně snížen u pacientů s klinickými příznaky myopatie indukované statiny a ve většině případů se tento účinek vyskytuje souběžně s modifikací elektromyografických záznamů, ačkoli normální elektromyogramy nevylučují přítomnost statinem indukované myotoxicity (Kee et al., 2020). Na rozdíl od výsledků získaných u potkanů léčených statiny, u nichž byl transkript CLCN1 snížen v souladu se snížením proteinu CLCN1 a gCl, nebyla odpovídající hladina mRNA ve svalových biopsiích pacientů léčených statiny významně změněna.

Kromě toho změna oxidativního a glykolytického metabolismu a sarkopenie činí svalová vlákna citlivějšími na stresové podmínky i na myopatii. Všechny tyto poznatky podporují opatrnost při léčbě statiny u starších osob a u predisponovaných dospělých. Možnost posoudit klinicky významnou roli těchto biomarkerů při určování poškození kosterního svalu pomocí genetické analýzy nebo svalové biopsie může otevřít cestu k preventivní terapii - například léky schopné zvýšit aktivitu chloridových kanálů mohou snížit statiny indukované svalové poškození (Camerino et al., 2017).

V recentní studii (Al-Sabri et al., 2022) byla k odhalení možných základních mechanismů SM použita *Drosophila melanogaster*. Tato studie ukazuje, že statiny vyvolávají u drosophily zvýšenou lokomoci a svalové fenotypy, které připomínají lidskou myopatii, což naznačuje, že mechanismy stojící za důležitými vedlejšími účinky statinů mohou být vysoce evolučně konzervované. Statiny mohou vyvolávat fenotypové změny mitochondrií prostřednictvím přímé inhibice svalové Hmgcr a myofibrilárního poškození připomínajícího myopatii, která je spojena s inhibicí ClC-a kosterního svalu. Bylo pozorováno, že chronická léčba fluvastatinem způsobuje snížení celkové lokomoční aktivity a schopnosti šplhat, a léčba fluvastatinem byla spojena se sníženou expresí chloridového kanálu kosterního svalu ClC-a (drozofilní homolog CLCN1), což může naznačovat potenciální roli inhibice ClC-a ve svalových fenotypech spojených se statiny. Tato studie rovněž podtrhuje význam *D. melanogaster* jako výkonného modelového systému. Studie také zdůrazňuje roli chloridových kanálů kosterního svalu pro

statinové svalové fenotypy a jejich potenciál, možná i jako biomarkeru pro SM pro budoucí klinické studie.

Tab. 5 Geny asociované se statinovou myopatií

Statin transport, blood concentration: <i>ABCB1, ABCG2, CYP2C8, CYP2D9, CYP3A4, CYP3A5, SLC15A1, SLCO1B1, SLCO1B3, SLCO2B1</i>
Concentration of statins in muscle cells: <i>ABCC1, ABCC4, ABCC5</i>
Factors affecting calcium homeostasis: <i>ATP1A1, ATP1A2, ATP1B1, ATP1G1, ATP2A1, RYR1</i>
Cell energy metabolism: <i>AMPD1, CPT2, GAA, PYGM</i>
Variants affecting production of coenzyme Q10 : <i>COQ10A, COQ10B</i>
Muscle vascularization: <i>AGTR1, NOS3</i>
Metabolism of vitamin D: <i>CYP2R1, CYP27B1, CYP24A1, VDR</i>
Centronuclear/core myopathies: <i>BIN1, CCDC78, CNTN1, DNM2, MEGF10, MTM1, MTMR14, MYH2, MYF6, MYH7, STIM1, TNNT1</i>
Congenital muscular dystrophies: <i>LAMA2, BAG3, CAV3, CNBP, COL6A1, COL6A2, COL6A3, CRYAB, DMD, DPM2, DMPK, FKRP, FKTN, FLNC, GTDC2, HSPG2, CHKB, ISPD, ITGA7, LARGE, LDB3, LMNA, MYOT, POMT1, POMT2, SEPN1</i>
Congenital myopathies with prominent contractures: <i>EMD, FHL1, SEPN1, SYNE1, SYNE2, TMEM43</i>
Limb-girdle muscular dystrophies: <i>ANO5, CAPN3, DAG1, DES, DNAJB6, DPM3, DUX4, DYSF, PABPN1, PLEC, POMGNT1, PTRF, SGCA, SGCB, SGCD, SGCG, TCAP, TNPO3, TRAPPC11, TRIM3, TRIM32, TTN</i>
Nemaline myopathies: <i>ACTA1, CFL2, KBTBD13, KLHL40, KLHL41, LMOD3, NEB, TNNT, TPM2, TPM3</i>
Congenital myasthenic syndromes: <i>AGRN, CACNA15, COLQ, DOK7, DPAGT1, GFPT1, CHAT, CHRNA1, CHRNB1, CHRND, CHRNE, CHRNG, LAMB2, MUSK, RAPSN, SCN4A</i>
Metabolic myopathies: <i>ACADVL, ACAD9, AGL, C10orf2, CPT1B, ENO3, GBE1, GYG1, GYS1, HADHA, HADHB, LDHA, LPIN1, OPA1, PFKM, PGAM2, PGK1, PGM1, PHKA1, PNPLA2, POLG, POLG2, RRM2B, SLC22A5/OCTN2, SLC25A20, SUCLA2, TK2, TYMP</i>
Vacuolar myopathies: <i>EPG5, GNE, LAMP2, VCP, VMA21</i>

4.2.2 Odchytky v počtu kopií u pacientů se statinem asociovanými myopatiemi – publikace č. 3

Někteří pacienti jsou náchylní k myopatii spojené se statiny (SM), a to buď z důvodu genetických změn ovlivňujících vstřebávání statinů a jejich metabolismus, nebo proto, že jejich nositelé jsou predisponováni k výskytu svalových onemocnění. Mezi častými variantami zkoumanými metodou celogenomové asociační studie představuje *SLCO1B1* c.521T>C jediný ověřený prediktor SM u pacientů léčených vysokými dávkami simvastatinu. Naším cílem bylo zjistit celkový příspěvek změn v počtu kopií (CNV) na SM diagnostikované u 86 pacientů. CNV byly detekovány pomocí genotypizace celého genomu genomovou hybridizací. Exomové sekvenační údaje byly použity pro validaci CNV v lokusech souvisejících se SM. Kromě toho jsme provedli specifické hledání CNV v oblasti *SLCO1B*, která byla detekována u pacientů s RS. Ve vyšetřeném souboru nemocných jsme u dvou pacientů našli vzácné delece, které pravděpodobně přispívají ke genetické predispozici k SM: u jednoho z nich se jednalo o změnu v počtu kopií genu *EYS* (Garcia-Delgado et al., 2021) dříve spojovaného se SM, u druhého byla přítomna CNV genu *LARGE* (M. Wang, Tao, & Huang, 2021) (Katz & Diskin, 2022) spojeného s vrozenou svalovou dystrofií. Další dva pacienti nesli delece v *CYP2C19* (Dai et al., 2022), což může predisponovat k interakcím léčby klopidogrelem se statiny (Tab. 6). Nenalezli jsme však žádné velké CNV potenciálně spojené se SM, a to ani v lokusu *SLCO1B*. Naše zjištění tedy naznačují, že velké CNV nehrají v etiologii SM podstatnou roli.

Doposud nebyla publikována žádná studie, která by hypotézu, že CNV nehrají v predispozici ke SM podstatnou úlohu, potvrdila či naopak vyvrátila.

Tab. 6 Vzácné velké delece vedoucí k heterozygotnímu stavu v genech potenciálně zapojených v patogenezi SAM a v interakcích Clopidogrel-statiny.

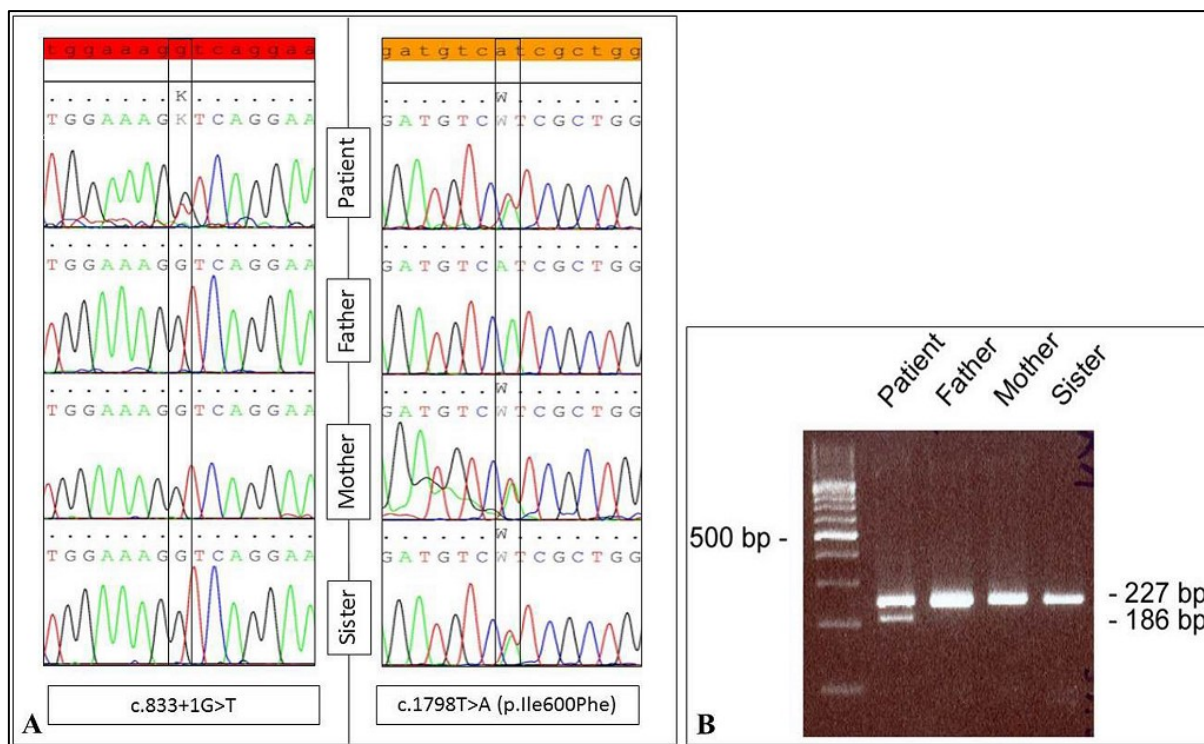
Patient no.	28	30	41	47
Chromosome no.	10	6	10	22
Begin (GRCh37/hg19)	96443782	65786994	96499710	34265402
End (GRCh37/hg19)	96620554	65815520	96557336	34271782
Size (bp)	176772	28526	57626	6380
Gene name	<i>CYP2C18, CYP2C19</i>	<i>EYS</i>	<i>CYP2C19</i>	<i>LARGE</i>
*DGV gold std var. frequency (%)	0.9	0.3	3.0	0.1
Potential functional implication	clopidogrel-statin interaction	SAM?	clopidogrel-statin interaction	SAM?

*DGV – katalog lidských genomických strukturních variant

4.3.1 Deficit ABCB4 napodobující Wilsonovu chorobu publikace č. 4

Progresivní familiární intrahepatální cholestáza typu 3 (PFIC3) je vzácné autozomálně recesivní cholestatické onemocnění jater způsobené genetickým deficitem ATP-binding cassette subfamily B member 4 (*ABCB4*), kanalikulární flopázy přenášející fosfolipidy z vnitřního do vnějšího listu kanalikulární membrány hepatocytů. PFIC3 (Martinez-Garcia, Molina, Gonzalez-Aseguinolaza, Weber, & Smerdou, 2022) se vyznačuje produkcí hydrofilní žluči s litogenními vlastnostmi, která je škodlivá pro hepatobiliární epitel. Chronická cholestáza může být u některých pacientů doprovázena nadměrnou akumulací mědi z důvodu poruchy sekrece mědi žlučí a sekundárně zvýšeným vylučováním mědi močí, což napodobuje Wilsonovu chorobu (WD) (Mazhar & Piper, 2023). V případě 11-letého pacienta s růstovou retardací, mírnými kraniofaciálními dysmorfickými rysy a chronickým onemocněním jater, se původně diagnostikovala a léčila WD. Zatímco genetické testování na WD bylo negativní, další molekulární a histopatologická analýza odhalila dvě nové mutace (c.833+1G>T a c.1798T>A) v *ABCB4* a úplnou absenci proteinu *ABCB4/MDR3* v játrech, což určilo jako správnou diagnózu PFIC3 (Obr. 11). PFIC3 a WD vykazují pleomorfní a někdy se překrývající klinické a laboratorní znaky, které mohou představovat diferenciatně diagnostický problém, který byl již několikrát publikován (Boga, Jain, & Schilsky, 2015; Ramraj, Finegold, & Karpen, 2012). Vzhledem k tomu, že se léčba pacientů u WD a PFIC3 významně liší, je třeba provést genetickou analýzu.

V recentním souhrnném článku se zmiňuje možnost záměny WD s PFIC3 i dalších diagnostických problémů s WD (Sanchez-Monteagudo, Ripolles, Berenguer, & Espinos, 2021).

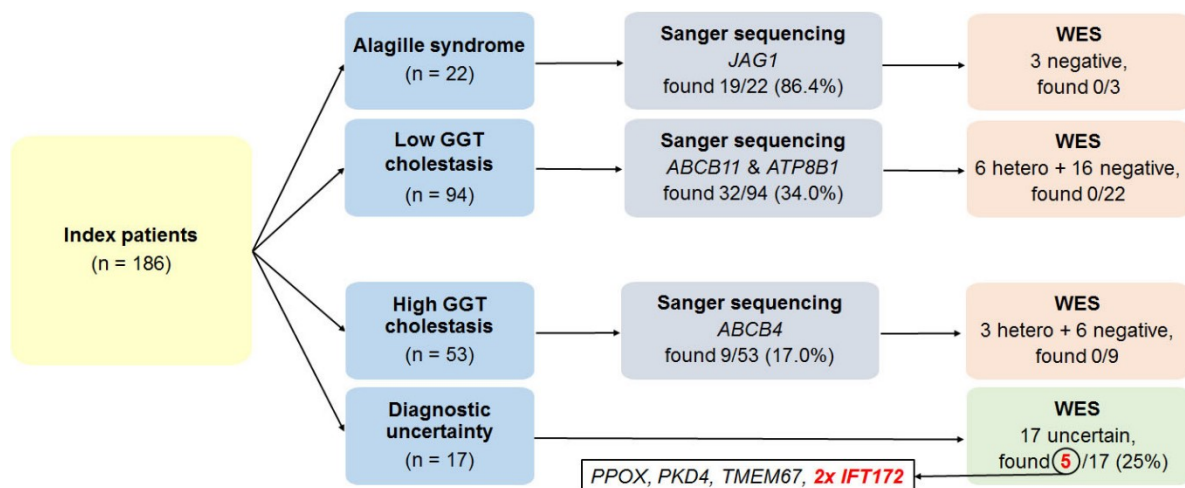


Obr. 11 Rodinná analýza. (A) Mutace nalezená u pacienta a jeho přímých příbuzných. (B) Detekce mutace c. 833+1G>T pomocí PCR-*Hpy*8I RFLP.

4.3.2 Varianty v *IFT172* u pacientů s nesyndromickým cholestatickým jaterním onemocněním – publikace č. 5

Genové defekty přispívají k etiologii intrahepatální cholestázy. Naším cílem bylo prozkoumat výsledky celoexomového sekvenování (WES) v souboru 51 pacientů s touto diagnózou (Obr. 12). Skupina zahrnovala 33 dětských a 18 dospělých nemocných s cholestatickým onemocněním jater neznámé etiologie. WES byla použita pro analýzu 34 pacientů (23 dětí) bez předchozího nálezu Sangerovým sekvenováním v asociovaných genech *ABCB11*, *ATP8B1*, *ABCB4* nebo *JAG1*, a pro primární posouzení dalších 17 pacientů (10 dětí). Analýza mRNA z výtěru z nosohltanu byla provedena za účelem řešení variantní patogenity u dvou rodin. WES odhalilo bíalelickou variantu ve 3 genech pro ciliopatii (*PKHD1*, *TMEM67* a *IFT172*) u 4 rodin, heterozygotní známou variantu v *PPOX* u jednoho dospělého pacienta a homozygotní dosud nepublikovanou variantu v místě sestřihu genu *FIIR* u jednoho dítěte. Zatímco fenotypy pacientů s mutacemi v *PKHD1* (Ward et al., 2002), *TMEM67* (Brancati et al., 2009) a *PPOX* (B. Wang, Bonkovsky, Lim, & Balwani, 2023) odpovídaly těm, které byly popsány jinde, nejasné zůstává, zda je i varianta ve *FIIR* (Czubak-Prowizor, Babinska, & Swiatkowska, 2022) příčinou jaterního onemocnění.

U dvou nepříbuzných pacientů se vyskytly nové bíalelické varianty v genu *IFT172*, který se podílí na vzniku dysplazie krátkých žebířků hrudníku 10 a Bardet - Biedlova syndromu 20. (Zheng et al., 2023). Jeden pacient, homozygot pro *IFT172* rs780205001 c.167A>C p.(Lys56Thr) narozený příbuzným rodičům z prvního kolena měl ve věku 4 let onemocnění jater, které bylo na základě biopsie interpretováno jako ukládání glykogenu, po níž následovala nefronoftíza v dospělosti ve 25 letech. Druhé dítě, složený heterozygot pro novou frameshift variantu *IFT172* NM_015662.3 c.2070del p.(Met690Ilefs*11) a 2 syntenní missense varianty *IFT172* rs776310391 c.157T>A p.(Phe53Ile) a rs746462745 c.164C>G p.(Thr55Ser), měl v raném kojeneckém věku závažnou 8měsíční cholestatickou epizodu s přetrvávající hyperbilirubinemií a fibrózou v 17 letech. Žádný pacient neměl malformace skeletu. Naše nálezy naznačují souvislost variant *IFT172* s nesyndromickým cholestatickým jaterním onemocněním. Na recentní publikaci č. 5 zatím není žádný ohlas.



Obr. 12 Schéma registrace pacientů a zpracování vzorků. S diagnózou založenou na vztahu genotypu a fenotypu bylo Sangerovým sekvenováním vyšetřeno 169 pacientů pro varianty v JAG1 (n=22), ABCB11 a ATP8B1 (n=94) a ABCB4 (n=53). Zbývajících 17 pacientů s nejistou diagnózou bylo přímo vyšetřeno WES. Devatenáct z 22 klinicky diagnostikovaných pacientů s Alagillovým syndromem neslo monoalelické P, LP nebo VUS varianty v JAG1. Čtyřicet jedna ze 147 pacientů s nesyndromovou cholestázou byli homozygoté nebo složení heterozygoté pro varianty P/LP/VUS buď v ABCB11 nebo ATP8B1 (32 pacientů s nízkou GGT) nebo ABCB4 (9 pacientů s vysokou GGT). 60 pacientů nesoucích monoalelické varianty v JAG1 nebo bialelické varianty v ABCB11, ATP8B1 nebo ABCB4 bylo vyloučeno.

5 ZÁVĚR

V předkládané disertační práci jsou shrnuty výsledky těchto studií.

1. Naše výsledky podpořily hypotézu, že *SLCO1B7* je nefunkční pseudogen, jehož mRNA je rychle degradována. Deficit v tomto lokusu evidentně nehraje žádnou roli v patogeneze RS.
2. Potvrdili jsme dříve popsanou úlohu proteinu OATP1B1, konkrétně jeho varianty c.521T>C (p.Val174Ala), v predispozici k SM. Dále byl identifikován nový kandidátní gen *CLCNI*, jehož deficit je příčinou dědičné myotonie. Příspěvek vzácných variant v genech *SLCO1B1* a *SLCO1B3* ani změn v počtu kopií však nebyl prokázán.
3. Potvrdili jsme, že diferenciálně diagnostický problém záměny PFIC3 s WD může vyřešit pouze molekulární vyšetření. Zachytili jsme rodinu s dosud nepopsaným deficitem F11R podmíněným homozygotní sestřihovou mutací, jehož klinický význam však zůstává nejasný. Zásadním nálezem jsou dosud nepopsané patogenní varianty v genu *IFT172* u nemocných s primárním cholestatickým onemocněním jater.

6 SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DISERTACE

1. Chmelova K, Frankova S, Jirsa M, Neroldova M, Sticova E, Merta D, Senkerikova R, Trunecka P, Spicak J, Sperl J. IL28B rs12979860 T allele protects against CMV disease in liver transplant recipients in the post-prophylaxis and late period. *Transpl Infect Dis* 2019;21:e13124.
2. Frankova S, Jirsa M, Merta D, Neroldova M, Urbanek P, Senkerikova R, Spicak J, Sperl J. USP18 downregulation in peripheral blood mononuclear cells predicts nonresponse to interferon-based triple therapy in patients with chronic hepatitis C, genotype 1: a pilot study. *Ther Clin Risk Manag* 2015;11:1853-61.
3. Frankova S, Lunova M, Gottfriedova H, Senkerikova R, Neroldova M, Kovac J, Kieslichova E, Lanska V, Urbanek P, Spicak J, Jirsa M, Sperl J. Liver stiffness measured by two-dimensional shear-wave elastography predicts hepatic vein pressure gradient at high values in liver transplant candidates with advanced liver cirrhosis. *PLoS One* 2021;16:e0244934.
4. Horackova K, Frankova S, Zemankova P, Nehasil P, Cerna M, Neroldova M, Otahalova B, Kral J, Hovhannisyann M, Stranecky V, Zima T, Safarikova M, Kalousova M, Consortium C, Novotny J, Sperl J, Borecka M, Jelinkova S, Vocka M, Janatova M, Kleiblova P, Kleibl Z, Jirsa M, Soukupova J. Low Frequency of Cancer-Predisposition Gene Mutations in Liver Transplant Candidates with Hepatocellular Carcinoma. *Cancers (Basel)* 2022;15.
5. Lunova M, Frankova S, Gottfriedova H, Senkerikova R, Neroldova M, Kovac J, Kieslichova E, Lanska V, Sticova E, Spicak J, Jirsa M, Sperl J. Portal hypertension is the main driver of liver stiffness in advanced liver cirrhosis. *Physiol Res* 2021;70:563-77.
6. Míková I, Neřoldová M, Hubáček JA, Dlouhá D, Jirsa M, Honsová E, Sticová E, Lánská V, Špičák J, Trunečka P. Donor PNPLA3 and TM6SF2 Variant Alleles Confer Additive Risks for Graft Steatosis After Liver Transplantation. *Transplantation* 2020;104:526-34.
7. Musalkova D, Sticova E, Reboun M, Sokolova J, Krijt J, Honzikova J, Gurka J, Neroldova M, Honzik T, Zeman J, Jirsa M, Dvorakova L, Hrebicek M. Variable X-chromosome inactivation and enlargement of pericentral glutamine synthetase zones in the liver of heterozygous females with OTC deficiency. *Virchows Arch* 2018;472:1029-39.
8. Neřoldová M, Fraňková S, Stránecký V, Honsová E, Lukšan O, Beneš M, Michalová K, Kmoch S, Jirsa M. Hereditary haemochromatosis caused by homozygous HJV mutation evolved through paternal disomy. *Clin Genet* 2015;87:96-8.
9. Rabekova Z, Frankova S, Jirsa M, Neroldova M, Lunova M, Fabian O, Kveton M, Varys D, Chmelova K, Adamkova V, Hubacek JA, Spicak J, Merta D, Sperl J. Alpha-1 Antitrypsin and Hepatocellular Carcinoma in Liver Cirrhosis: SERPINA1 MZ or MS Genotype Carriage Decreases the Risk. *Int J Mol Sci* 2021;22.

10. Senkerikova R, Frankova S, Jirsa M, Kreidlova M, Merta D, Neroldova M, Chmelova K, Spicak J, Sperl J. PNPLA3 rs738409 G allele carriers with genotype 1b HCV cirrhosis have lower viral load but develop liver failure at younger age. PLoS One 2019;14:e0222609.
11. Sperl J, Frankova S, Senkerikova R, Neroldova M, Hejda V, Volfova M, Merta D, Viklicky O, Spicak J, Jirsa M. Relevance of low viral load in haemodialysed patients with chronic hepatitis C virus infection. World J Gastroenterol 2015;21:5496-504.
12. Stancikova J, Krausova M, Kolar M, Fafilek B, Svec J, Sedlacek R, Neroldova M, Dobes J, Horazna M, Janeckova L, Vojtechova M, Oliverius M, Jirsa M, Korinek V. NKD1 marks intestinal and liver tumors linked to aberrant Wnt signaling. Cell Signal 2015;27:245-56.

7 LITERATURA

- Al-Sabri, M. H., Behare, N., Alsehli, A. M., Berkins, S., Arora, A., Antoniou, E., . . . Schioth, H. B. (2022). Statins Induce Locomotion and Muscular Phenotypes in *Drosophila melanogaster* That Are Reminiscent of Human Myopathy: Evidence for the Role of the Chloride Channel Inhibition in the Muscular Phenotypes. *Cells*, *11*(22). doi:10.3390/cells11223528
- Altamura, C., Mangiatordi, G. F., Nicolotti, O., Sahbani, D., Farinato, A., Leonetti, F., . . . Imbrici, P. (2018). Mapping ligand binding pockets in chloride ClC-1 channels through an integrated in silico and experimental approach using anthracene-9-carboxylic acid and niflumic acid. *Br J Pharmacol*, *175*(10), 1770-1780. doi:10.1111/bph.14192
- Alvarez, L., Jara, P., Sanchez-Sabate, E., Hierro, L., Larrauri, J., Diaz, M. C., . . . Lapunzina, P. (2004). Reduced hepatic expression of farnesoid X receptor in hereditary cholestasis associated to mutation in ATP8B1. *Hum Mol Genet*, *13*(20), 2451-2460. doi:10.1093/hmg/ddh261
- Appelman, M. D., Wettengel, J. M., Protzer, U., Oude Elferink, R. P. J., & van de Graaf, S. F. J. (2021). Molecular regulation of the hepatic bile acid uptake transporter and HBV entry receptor NTCP. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, *1866*(8), 158960. doi:10.1016/j.bbalip.2021.158960
- Arts, H. H., Bongers, E. M., Mans, D. A., van Beersum, S. E., Oud, M. M., Bolat, E., . . . Roepman, R. (2011). C14ORF179 encoding IFT43 is mutated in Sensenbrenner syndrome. *J Med Genet*, *48*(6), 390-395. doi:10.1136/jmg.2011.088864
- Beales, P. L., Bland, E., Tobin, J. L., Bacchelli, C., Tuysuz, B., Hill, J., . . . Scambler, P. J. (2007). IFT80, which encodes a conserved intraflagellar transport protein, is mutated in Jeune asphyxiating thoracic dystrophy. *Nat Genet*, *39*(6), 727-729. doi:10.1038/ng2038
- Ben Saad, A., Bruneau, A., Mareux, E., Lapalus, M., Delaunay, J. L., Gonzales, E., . . . Falguieres, T. (2021). Molecular Regulation of Canalicular ABC Transporters. *Int J Mol Sci*, *22*(4). doi:10.3390/ijms22042113
- Berge, K. E., Tian, H., Graf, G. A., Yu, L., Grishin, N. V., Schultz, J., . . . Hobbs, H. H. (2000). Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science*, *290*(5497), 1771-1775. doi:10.1126/science.290.5497.1771
- Billingsley, G., Vincent, A., Deveault, C., & Heon, E. (2012). Mutational analysis of SDCCAG8 in Bardet-Biedl syndrome patients with renal involvement and absent polydactyly. *Ophthalmic Genet*, *33*(3), 150-154. doi:10.3109/13816810.2012.689411
- Boga, S., Jain, D., & Schilsky, M. L. (2015). Presentation of Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis Type 3 Mimicking Wilson Disease: Molecular Genetic Diagnosis and Response to Treatment. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, *18*(3), 202-208. doi:10.5223/pghn.2015.18.3.202

- Boyer, J. L., & Soroka, C. J. (2021). Bile formation and secretion: An update. *J Hepatol*, 75(1), 190-201. doi:10.1016/j.jhep.2021.02.011
- Brancati, F., Iannicelli, M., Travaglini, L., Mazzotta, A., Bertini, E., Boltshauser, E., . . . International, J. S. G. (2009). MKS3/TMEM67 mutations are a major cause of COACH Syndrome, a Joubert Syndrome related disorder with liver involvement. *Hum Mutat*, 30(2), E432-442. doi:10.1002/humu.20924
- Bredrup, C., Saunier, S., Oud, M. M., Fiskerstrand, T., Hoischen, A., Brackman, D., . . . Arts, H. H. (2011). Ciliopathies with skeletal anomalies and renal insufficiency due to mutations in the IFT-A gene WDR19. *Am J Hum Genet*, 89(5), 634-643. doi:10.1016/j.ajhg.2011.10.001
- Brenes, O., Pusch, M., & Morales, F. (2023). ClC-1 Chloride Channel: Inputs on the Structure-Function Relationship of Myotonia Congenita-Causing Mutations. *Biomedicines*, 11(10). doi:10.3390/biomedicines11102622
- Bujakowska, K. M., Zhang, Q., Siemiatkowska, A. M., Liu, Q., Place, E., Falk, M. J., . . . Pierce, E. A. (2015). Mutations in IFT172 cause isolated retinal degeneration and Bardet-Biedl syndrome. *Hum Mol Genet*, 24(1), 230-242. doi:10.1093/hmg/ddu441
- Bull, L. N., van Eijk, M. J., Pawlikowska, L., DeYoung, J. A., Juijn, J. A., Liao, M., . . . Freimer, N. B. (1998). A gene encoding a P-type ATPase mutated in two forms of hereditary cholestasis. *Nat Genet*, 18(3), 219-224. doi:10.1038/ng0398-219
- Camerino, G. M., Musumeci, O., Conte, E., Musaraj, K., Fonzino, A., Barca, E., . . . Pierno, S. (2017). Risk of Myopathy in Patients in Therapy with Statins: Identification of Biological Markers in a Pilot Study. *Front Pharmacol*, 8, 500. doi:10.3389/fphar.2017.00500
- Cantagrel, V., Silhavy, J. L., Bielas, S. L., Swistun, D., Marsh, S. E., Bertrand, J. Y., . . . Gleeson, J. G. (2008). Mutations in the cilia gene ARL13B lead to the classical form of Joubert syndrome. *Am J Hum Genet*, 83(2), 170-179. doi:10.1016/j.ajhg.2008.06.023
- Carlton, V. E., Harris, B. Z., Puffenberger, E. G., Batta, A. K., Knisely, A. S., Robinson, D. L., . . . Bull, L. N. (2003). Complex inheritance of familial hypercholanemia with associated mutations in TJP2 and BAAT. *Nat Genet*, 34(1), 91-96. doi:10.1038/ng1147
- Ciuta, A. D., Nosol, K., Kowal, J., Mukherjee, S., Ramirez, A. S., Stieger, B., . . . Locher, K. P. (2023). Structure of human drug transporters OATP1B1 and OATP1B3. *Nat Commun*, 14(1), 5774. doi:10.1038/s41467-023-41552-8
- Collin, G. B., Marshall, J. D., Ikeda, A., So, W. V., Russell-Eggitt, I., Maffei, P., . . . Naggert, J. K. (2002). Mutations in ALMS1 cause obesity, type 2 diabetes and neurosensory degeneration in Alstrom syndrome. *Nat Genet*, 31(1), 74-78. doi:10.1038/ng867
- Cooper-DeHoff, R. M., Niemi, M., Ramsey, L. B., Luzum, J. A., Tarkiainen, E. K., Straka, R. J., . . . Voora, D. (2022). The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for SLCO1B1, ABCG2, and CYP2C9 genotypes and Statin-Associated

- Musculoskeletal Symptoms. *Clin Pharmacol Ther*, 111(5), 1007-1021. doi:10.1002/cpt.2557
- Coppieters, F., Lefever, S., Leroy, B. P., & De Baere, E. (2010). CEP290, a gene with many faces: mutation overview and presentation of CEP290base. *Hum Mutat*, 31(10), 1097-1108. doi:10.1002/humu.21337
- Creeden, J. F., Gordon, D. M., Stec, D. E., & Hinds, T. D., Jr. (2021). Bilirubin as a metabolic hormone: the physiological relevance of low levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 320(2), E191-E207. doi:10.1152/ajpendo.00405.2020
- Cullinane, A. R., Straatman-Iwanowska, A., Zaucker, A., Wakabayashi, Y., Bruce, C. K., Luo, G., . . . Gissen, P. (2010). Mutations in VIPAR cause an arthrogryposis, renal dysfunction and cholestasis syndrome phenotype with defects in epithelial polarization. *Nat Genet*, 42(4), 303-312. doi:10.1038/ng.538
- Czubak-Prowizor, K., Babinska, A., & Swiatkowska, M. (2022). The F11 Receptor (F11R)/Junctional Adhesion Molecule-A (JAM-A) (F11R/JAM-A) in cancer progression. *Mol Cell Biochem*, 477(1), 79-98. doi:10.1007/s11010-021-04259-2
- Dai, R., Zhao, X., Zhuo, H., Wang, W., Xu, Y., Hu, Z., . . . Zhao, J. (2022). CYP2C19 metabolizer phenotypes may affect the efficacy of statins on lowering small dense low-density lipoprotein cholesterol of patients with coronary artery disease. *Front Cardiovasc Med*, 9, 1016126. doi:10.3389/fcvm.2022.1016126
- Deleuze, J. F., Jacquemin, E., Dubuisson, C., Cresteil, D., Dumont, M., Erlinger, S., . . . Hadchouel, M. (1996). Defect of multidrug-resistance 3 gene expression in a subtype of progressive familial intrahepatic cholestasis. *Hepatology*, 23(4), 904-908. doi:10.1002/hep.510230435
- Delous, M., Baala, L., Salomon, R., Laclef, C., Vierkotten, J., Tory, K., . . . Saunier, S. (2007). The ciliary gene RPGRIP1L is mutated in cerebello-oculo-renal syndrome (Joubert syndrome type B) and Meckel syndrome. *Nat Genet*, 39(7), 875-881. doi:10.1038/ng2039
- Diamond, T., Nema, N., & Wen, J. (2021). Hepatic Ciliopathy Syndromes. *Clin Liver Dis (Hoboken)*, 18(4), 193-197. doi:10.1002/cld.1114
- Doherty, D., Parisi, M. A., Finn, L. S., Gunay-Aygun, M., Al-Mateen, M., Bates, D., . . . Glass, I. A. (2010). Mutations in 3 genes (MKS3, CC2D2A and RPGRIP1L) cause COACH syndrome (Joubert syndrome with congenital hepatic fibrosis). *J Med Genet*, 47(1), 8-21. doi:10.1136/jmg.2009.067249
- Elalem, E. G., Jelani, M., Khedr, A., Ahmad, A., Alaama, T. Y., Alaama, M. N., . . . Damanhoury, Z. A. (2022). Association of cytochromes P450 3A4*22 and 3A5*3 genotypes and polymorphism with response to simvastatin in hypercholesterolemia patients. *PLoS One*, 17(7), e0260824. doi:10.1371/journal.pone.0260824
- Elferink, R. O. (2003). Cholestasis. *Gut*, 52 Suppl 2, ii42-48. doi:10.1136/gut.52.suppl_2.ii42

- Feldman, A. G., & Sokol, R. J. (2019). Neonatal cholestasis: emerging molecular diagnostics and potential novel therapeutics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, *16*(6), 346-360. doi:10.1038/s41575-019-0132-z
- Ferland, R. J., Eyaid, W., Collura, R. V., Tully, L. D., Hill, R. S., Al-Nouri, D., . . . Walsh, C. A. (2004). Abnormal cerebellar development and axonal decussation due to mutations in AHI1 in Joubert syndrome. *Nat Genet*, *36*(9), 1008-1013. doi:10.1038/ng1419
- Fernandes Silva, L., Ravi, R., Vangipurapu, J., Oravilahti, A., & Laakso, M. (2022). Effects of SLCO1B1 Genetic Variant on Metabolite Profile in Participants on Simvastatin Treatment. *Metabolites*, *12*(12). doi:10.3390/metabo12121159
- Ferrante, M. I., Giorgio, G., Feather, S. A., Bulfone, A., Wright, V., Ghiani, M., . . . Franco, B. (2001). Identification of the gene for oral-facial-digital type I syndrome. *Am J Hum Genet*, *68*(3), 569-576. doi:10.1086/318802
- Fliegauf, M., Benzing, T., & Omran, H. (2007). When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *8*(11), 880-893. doi:10.1038/nrm2278
- Galdzicka, M., Patnala, S., Hirshman, M. G., Cai, J. F., Nitowsky, H., Egeland, J. A., & Ginns, E. I. (2002). A new gene, EVC2, is mutated in Ellis-van Creveld syndrome. *Mol Genet Metab*, *77*(4), 291-295. doi:10.1016/s1096-7192(02)00178-6
- Gao, E., Cheema, H., Waheed, N., Mushtaq, I., Erden, N., Nelson-Williams, C., . . . Vilarinho, S. (2020). Organic Solute Transporter Alpha Deficiency: A Disorder With Cholestasis, Liver Fibrosis, and Congenital Diarrhea. *Hepatology*, *71*(5), 1879-1882. doi:10.1002/hep.31087
- Garcia-Delgado, A. B., Valdes-Sanchez, L., Morillo-Sanchez, M. J., Ponte-Zuniga, B., Diaz-Corrales, F. J., & de la Cerda, B. (2021). Dissecting the role of EYS in retinal degeneration: clinical and molecular aspects and its implications for future therapy. *Orphanet J Rare Dis*, *16*(1), 222. doi:10.1186/s13023-021-01843-z
- Gilissen, C., Arts, H. H., Hoischen, A., Spruijt, L., Mans, D. A., Arts, P., . . . Brunner, H. G. (2010). Exome sequencing identifies WDR35 variants involved in Sensenbrenner syndrome. *Am J Hum Genet*, *87*(3), 418-423. doi:10.1016/j.ajhg.2010.08.004
- Gissen, P., Johnson, C. A., Morgan, N. V., Stapelbroek, J. M., Forsheew, T., Cooper, W. N., . . . Maher, E. R. (2004). Mutations in VPS33B, encoding a regulator of SNARE-dependent membrane fusion, cause arthrogryposis-renal dysfunction-cholestasis (ARC) syndrome. *Nat Genet*, *36*(4), 400-404. doi:10.1038/ng1325
- Gomez-Ospina, N., Potter, C. J., Xiao, R., Manickam, K., Kim, M. S., Kim, K. H., . . . Moore, D. D. (2016). Mutations in the nuclear bile acid receptor FXR cause progressive familial intrahepatic cholestasis. *Nat Commun*, *7*, 10713. doi:10.1038/ncomms10713
- Gonzales, E., Taylor, S. A., Davit-Spraul, A., Thebaut, A., Thomassin, N., Guettier, C., . . . Jacquemin, E. (2017). MYO5B mutations cause cholestasis with normal serum gamma-glutamyl transferase activity in children without microvillous inclusion disease. *Hepatology*, *65*(1), 164-173. doi:10.1002/hep.28779

- GronholdtKlein, M., Gorzi, A., Wang, L., Edstrom, E., Rullman, E., Altun, M., & Ulfhake, B. (2023). Emergence and Progression of Behavioral Motor Deficits and Skeletal Muscle Atrophy across the Adult Lifespan of the Rat. *Biology (Basel)*, *12*(9). doi:10.3390/biology12091177
- Group, S. C., Link, E., Parish, S., Armitage, J., Bowman, L., Heath, S., . . . Collins, R. (2008). SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy--a genomewide study. *N Engl J Med*, *359*(8), 789-799. doi:10.1056/NEJMoa0801936
- Guglielmi, V., Pancheri, E., Cannone, E., Nigro, V., Malatesta, M., Vettori, A., . . . Vattemi, G. (2023). A novel in-frame deletion in MYOT causes an early adult onset distal myopathy. *Clin Genet*, *104*(6), 705-710. doi:10.1111/cge.14413
- Guthrie, G., Vonderohe, C., & Burrin, D. (2022). Fibroblast growth factor 15/19 expression, regulation, and function: An overview. *Mol Cell Endocrinol*, *548*, 111617. doi:10.1016/j.mce.2022.111617
- Hadj-Rabia, S., Baala, L., Vabres, P., Hamel-Teillac, D., Jacquemin, E., Fabre, M., . . . Smahi, A. (2004). Claudin-1 gene mutations in neonatal sclerosing cholangitis associated with ichthyosis: a tight junction disease. *Gastroenterology*, *127*(5), 1386-1390. doi:10.1053/j.gastro.2004.07.022
- Halbritter, J., Porath, J. D., Diaz, K. A., Braun, D. A., Kohl, S., Chaki, M., . . . Group, G. P. N. S. (2013). Identification of 99 novel mutations in a worldwide cohort of 1,056 patients with a nephronophthisis-related ciliopathy. *Hum Genet*, *132*(8), 865-884. doi:10.1007/s00439-013-1297-0
- Henkel, S. A., Squires, J. H., Ayers, M., Ganoza, A., McKiernan, P., & Squires, J. E. (2019). Expanding etiology of progressive familial intrahepatic cholestasis. *World J Hepatol*, *11*(5), 450-463. doi:10.4254/wjh.v11.i5.450
- Heubi, J. E., Setchell, K. D. R., & Bove, K. E. (2018). Inborn Errors of Bile Acid Metabolism. *Clin Liver Dis*, *22*(4), 671-687. doi:10.1016/j.cld.2018.06.006
- Hoff, S., Halbritter, J., Epting, D., Frank, V., Nguyen, T. M., van Reeuwijk, J., . . . Lienkamp, S. S. (2013). ANKS6 is a central component of a nephronophthisis module linking NEK8 to INVS and NPHP3. *Nat Genet*, *45*(8), 951-956. doi:10.1038/ng.2681
- Horani, A., & Ferkol, T. W. (2021). Understanding Primary Ciliary Dyskinesia and Other Ciliopathies. *J Pediatr*, *230*, 15-22 e11. doi:10.1016/j.jpeds.2020.11.040
- Hu, N., Kim, E., Antoury, L., & Wheeler, T. M. (2023). Correction of Clcn1 alternative splicing reverses muscle fiber type transition in mice with myotonic dystrophy. *Nat Commun*, *14*(1), 1956. doi:10.1038/s41467-023-37619-1
- Huang, S., Hirota, Y., & Sawamoto, K. (2009). Various facets of vertebrate cilia: motility, signaling, and role in adult neurogenesis. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, *85*(8), 324-336. doi:10.2183/pjab.85.324

- Cheng, Y. Y., Chang, K. C., Chen, P. L., Yeung, C. Y., Liou, B. Y., & Chen, H. L. (2023). SLCO1B1 and SLCO1B3 genetic mutations in Taiwanese patients with Rotor syndrome. *J Formos Med Assoc*, *122*(7), 648-652. doi:10.1016/j.jfma.2023.03.003
- Chiang, A. P., Nishimura, D., Searby, C., Elbedour, K., Carmi, R., Ferguson, A. L., . . . Sheffield, V. C. (2004). Comparative genomic analysis identifies an ADP-ribosylation factor-like gene as the cause of Bardet-Biedl syndrome (BBS3). *Am J Hum Genet*, *75*(3), 475-484. doi:10.1086/423903
- Chiang, J. Y. L., & Ferrell, J. M. (2018). Bile Acid Metabolism in Liver Pathobiology. *Gene Expr*, *18*(2), 71-87. doi:10.3727/105221618X15156018385515
- Chiang, J. Y. L., & Ferrell, J. M. (2020). Bile acid receptors FXR and TGR5 signaling in fatty liver diseases and therapy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, *318*(3), G554-G573. doi:10.1152/ajpgi.00223.2019
- Choudhuri, S., & Klaassen, C. D. (2021). Molecular Regulation of Bile Acid Homeostasis. *Drug Metab Dispos*. doi:10.1124/dmd.121.000643
- Ishikawa, H., Thompson, J., Yates, J. R., 3rd, & Marshall, W. F. (2012). Proteomic analysis of mammalian primary cilia. *Curr Biol*, *22*(5), 414-419. doi:10.1016/j.cub.2012.01.031
- Katz, M., & Diskin, R. (2022). Structural basis for matriglycan synthesis by the LARGE1 dual glycosyltransferase. *PLoS One*, *17*(12), e0278713. doi:10.1371/journal.pone.0278713
- Kee, P. S., Chin, P. K. L., Kennedy, M. A., & Maggo, S. D. S. (2020). Pharmacogenetics of Statin-Induced Myotoxicity. *Front Genet*, *11*, 575678. doi:10.3389/fgene.2020.575678
- Kim, Y. G., Sung, H., Shin, H. S., Kim, M. J., Lee, J. S., Park, S. S., & Seong, M. W. (2022). Intronic LINE-1 insertion in SLCO1B3 as a highly prevalent cause of rotor syndrome in East Asian population. *J Hum Genet*, *67*(2), 71-77. doi:10.1038/s10038-021-00967-1
- Kimura, A., Kagawa, T., Takei, H., Maruo, Y., Sakugawa, H., Sasaki, T., . . . Nittono, H. (2021). Rotor Syndrome: Glucuronidated Bile Acidemia From Defective Reuptake by Hepatocytes. *Hepatol Commun*, *5*(4), 629-633. doi:10.1002/hep4.1660
- Klomp, L. W., Vargas, J. C., van Mil, S. W., Pawlikowska, L., Strautnieks, S. S., van Eijk, M. J., . . . Bull, L. N. (2004). Characterization of mutations in ATP8B1 associated with hereditary cholestasis. *Hepatology*, *40*(1), 27-38. doi:10.1002/hep.20285
- Knodler, A., Feng, S., Zhang, J., Zhang, X., Das, A., Peranen, J., & Guo, W. (2010). Coordination of Rab8 and Rab11 in primary ciliogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *107*(14), 6346-6351. doi:10.1073/pnas.1002401107
- Kornienko, J., Rodriguez-Martinez, M., Fenzl, K., Hinze, F., Schraivogel, D., Grosch, M., . . . Steinmetz, L. M. (2023). Mislocalization of pathogenic RBM20 variants in dilated cardiomyopathy is caused by loss-of-interaction with Transportin-3. *Nat Commun*, *14*(1), 4312. doi:10.1038/s41467-023-39965-6

- Kriegermeier, A., & Green, R. (2020). Pediatric Cholestatic Liver Disease: Review of Bile Acid Metabolism and Discussion of Current and Emerging Therapies. *Front Med (Lausanne)*, 7, 149. doi:10.3389/fmed.2020.00149
- Kyttala, M., Tallila, J., Salonen, R., Kopra, O., Kohlschmidt, N., Paavola-Sakki, P., . . . Kestila, M. (2006). MKS1, encoding a component of the flagellar apparatus basal body proteome, is mutated in Meckel syndrome. *Nat Genet*, 38(2), 155-157. doi:10.1038/ng1714
- Leitch, C. C., Zaghoul, N. A., Davis, E. E., Stoetzel, C., Diaz-Font, A., Rix, S., . . . Katsanis, N. (2008). Hypomorphic mutations in syndromic encephalocele genes are associated with Bardet-Biedl syndrome. *Nat Genet*, 40(4), 443-448. doi:10.1038/ng.97
- Li, B., Cai, S. Y., & Boyer, J. L. (2021). The role of the retinoid receptor, RAR/RXR heterodimer, in liver physiology. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1867(5), 166085. doi:10.1016/j.bbadis.2021.166085
- Liu, S., Peng, T., Wang, Z., Li, Y., Zhang, H., & Gui, C. (2021). Effect of rare coding variants of charged amino acid residues on the function of human organic anion transporting polypeptide 1B3 (SLCO1B3). *Biochem Biophys Res Commun*, 557, 1-7. doi:10.1016/j.bbrc.2021.03.169
- Locke, M., Tinsley, C. L., Benson, M. A., & Blake, D. J. (2009). TRIM32 is an E3 ubiquitin ligase for dysbindin. *Hum Mol Genet*, 18(13), 2344-2358. doi:10.1093/hmg/ddp167
- Luan, W., Hao, C. Z., Li, J. Q., Wei, Q., Gong, J. Y., Qiu, Y. L., . . . Wang, J. S. (2021). Biallelic loss-of-function ZFYVE19 mutations are associated with congenital hepatic fibrosis, sclerosing cholangiopathy and high-GGT cholestasis. *J Med Genet*, 58(8), 514-525. doi:10.1136/jmedgenet-2019-106706
- Maddirevula, S., Alhebbi, H., Alqahtani, A., Algoufi, T., Alsaif, H. S., Ibrahim, N., . . . Alkuraya, F. S. (2019). Identification of novel loci for pediatric cholestatic liver disease defined by KIF12, PPM1F, USP53, LSR, and WDR83OS pathogenic variants. *Genet Med*, 21(5), 1164-1172. doi:10.1038/s41436-018-0288-x
- Maggi, L., Bonanno, S., Altamura, C., & Desaphy, J. F. (2021). Ion Channel Gene Mutations Causing Skeletal Muscle Disorders: Pathomechanisms and Opportunities for Therapy. *Cells*, 10(6). doi:10.3390/cells10061521
- Malagnino, V., Hussner, J., Seibert, I., Stolzenburg, A., Sager, C. P., & Meyer Zu Schwabedissen, H. E. (2018). LST-3TM12 is a member of the OATP1B family and a functional transporter. *Biochem Pharmacol*, 148, 75-87. doi:10.1016/j.bcp.2017.12.012
- Martinez-Garcia, J., Molina, A., Gonzalez-Aseguinolaza, G., Weber, N. D., & Smerdou, C. (2022). Gene Therapy for Acquired and Genetic Cholestasis. *Biomedicines*, 10(6). doi:10.3390/biomedicines10061238
- Mazhar, A., & Piper, M. S. (2023). Updates on Wilson disease. *Clin Liver Dis (Hoboken)*, 22(4), 117-121. doi:10.1097/CLD.0000000000000079

- McConnachie, D. J., Stow, J. L., & Mallett, A. J. (2021). Ciliopathies and the Kidney: A Review. *Am J Kidney Dis*, 77(3), 410-419. doi:10.1053/j.ajkd.2020.08.012
- McDaniell, R., Warthen, D. M., Sanchez-Lara, P. A., Pai, A., Krantz, I. D., Piccoli, D. A., & Spinner, N. B. (2006). NOTCH2 mutations cause Alagille syndrome, a heterogeneous disorder of the notch signaling pathway. *Am J Hum Genet*, 79(1), 169-173. doi:10.1086/505332
- McGlone, E. R., & Bloom, S. R. (2019). Bile acids and the metabolic syndrome. *Ann Clin Biochem*, 56(3), 326-337. doi:10.1177/0004563218817798
- McMacken, G., Whittaker, R. G., Charlton, R., Barresi, R., Lochmuller, H., & Horvath, R. (2021). Inherited neuropathies with predominant upper limb involvement: genetic heterogeneity and overlapping pathologies. *Eur J Neurol*, 28(1), 297-304. doi:10.1111/ene.14514
- Meyer Zu Schwabedissen, H. E., Seibert, I., Grube, M., Alter, C. L., Siegmund, W., & Hussner, J. (2020). Genetic variants of SLCO1B7 are of relevance for the transport function of OATP1B3-1B7. *Pharmacol Res*, 161, 105155. doi:10.1016/j.phrs.2020.105155
- Mochizuki, T., Wu, G., Hayashi, T., Xenophontos, S. L., Veldhuisen, B., Saris, J. J., . . . Somlo, S. (1996). PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science*, 272(5266), 1339-1342. doi:10.1126/science.272.5266.1339
- Mollet, G., Salomon, R., Gribouval, O., Silbermann, F., Bacq, D., Landthaler, G., . . . Saunier, S. (2002). The gene mutated in juvenile nephronophthisis type 4 encodes a novel protein that interacts with nephrocystin. *Nat Genet*, 32(2), 300-305. doi:10.1038/ng996
- Muller, J., Stoetzel, C., Vincent, M. C., Leitch, C. C., Laurier, V., Danse, J. M., . . . Dollfus, H. (2010). Identification of 28 novel mutations in the Bardet-Biedl syndrome genes: the burden of private mutations in an extensively heterogeneous disease. *Hum Genet*, 127(5), 583-593. doi:10.1007/s00439-010-0804-9
- Mutanen, A., & Pakarinen, M. P. (2023). Featuring molecular regulation of bile acid homeostasis in pediatric short bowel syndrome. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 47(9), 102220. doi:10.1016/j.clinre.2023.102220
- Na Takuathung, M., Sakuludomkan, W., & Koonrunsesomboon, N. (2021). The Impact of Genetic Polymorphisms on the Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Mycophenolic Acid: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Pharmacokinet*, 60(10), 1291-1302. doi:10.1007/s40262-021-01037-7
- Nachury, M. V. (2014). How do cilia organize signalling cascades? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 369(1650). doi:10.1098/rstb.2013.0465
- Nachury, M. V., Loktev, A. V., Zhang, Q., Westlake, C. J., Peranen, J., Merdes, A., . . . Jackson, P. K. (2007). A core complex of BBS proteins cooperates with the GTPase

- Rab8 to promote ciliary membrane biogenesis. *Cell*, *129*(6), 1201-1213. doi:10.1016/j.cell.2007.03.053
- Ninomiya, K., Saito, T., Ikeda, M., Iwata, N., & Girardin, F. R. (2022). Pharmacogenomic-guided clozapine administration based on HLA-DQB1, HLA-B and SLCO1B3-SLCO1B7 variants: an effectiveness and cost-effectiveness analysis. *Front Pharmacol*, *13*, 1016669. doi:10.3389/fphar.2022.1016669
- Noor, A., Windpassinger, C., Patel, M., Stachowiak, B., Mikhailov, A., Azam, M., . . . Ayub, M. (2008). CC2D2A, encoding a coiled-coil and C2 domain protein, causes autosomal-recessive mental retardation with retinitis pigmentosa. *Am J Hum Genet*, *82*(4), 1011-1018. doi:10.1016/j.ajhg.2008.01.021
- Oda, T., Elkahloun, A. G., Pike, B. L., Okajima, K., Krantz, I. D., Genin, A., . . . Chandrasekharappa, S. C. (1997). Mutations in the human Jagged1 gene are responsible for Alagille syndrome. *Nat Genet*, *16*(3), 235-242. doi:10.1038/ng0797-235
- Oelkers, P., Kirby, L. C., Heubi, J. E., & Dawson, P. A. (1997). Primary bile acid malabsorption caused by mutations in the ileal sodium-dependent bile acid transporter gene (SLC10A2). *J Clin Invest*, *99*(8), 1880-1887. doi:10.1172/JCI119355
- Olbrich, H., Fliegauf, M., Hoefele, J., Kispert, A., Otto, E., Volz, A., . . . Omran, H. (2003). Mutations in a novel gene, NPHP3, cause adolescent nephronophthisis, tapeto-retinal degeneration and hepatic fibrosis. *Nat Genet*, *34*(4), 455-459. doi:10.1038/ng1216
- Otto, E. A., Loeys, B., Khanna, H., Hellemans, J., Sudbrak, R., Fan, S., . . . Hildebrandt, F. (2005). Nephrocystin-5, a ciliary IQ domain protein, is mutated in Senior-Loken syndrome and interacts with RPGR and calmodulin. *Nat Genet*, *37*(3), 282-288. doi:10.1038/ng1520
- Pan, Q., Luo, G., Qu, J., Chen, S., Zhang, X., Zhao, N., . . . Chai, J. (2021). A homozygous R148W mutation in Semaphorin 7A causes progressive familial intrahepatic cholestasis. *EMBO Mol Med*, *13*(11), e14563. doi:10.15252/emmm.202114563
- Parisi, M. A., Bennett, C. L., Eckert, M. L., Dobyms, W. B., Gleeson, J. G., Shaw, D. W., . . . Glass, I. A. (2004). The NPHP1 gene deletion associated with juvenile nephronophthisis is present in a subset of individuals with Joubert syndrome. *Am J Hum Genet*, *75*(1), 82-91. doi:10.1086/421846
- Peng, H., Zhu, Q. S., Zhong, S., & Levy, D. (2015). Transcription of the Human Microsomal Epoxide Hydrolase Gene (EPHX1) Is Regulated by PARP-1 and Histone H1.2. Association with Sodium-Dependent Bile Acid Transport. *PLoS One*, *10*(5), e0125318. doi:10.1371/journal.pone.0125318
- Peral, B., Gamble, V., San Millan, J. L., Strong, C., Sloane-Stanley, J., Moreno, F., & Harris, P. C. (1995). Splicing mutations of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene induced by intronic deletion. *Hum Mol Genet*, *4*(4), 569-574. doi:10.1093/hmg/4.4.569

- Perrault, I., Saunier, S., Hanein, S., Filhol, E., Bizet, A. A., Collins, F., . . . Rozet, J. M. (2012). Mainzer-Saldino syndrome is a ciliopathy caused by IFT140 mutations. *Am J Hum Genet*, *90*(5), 864-870. doi:10.1016/j.ajhg.2012.03.006
- Qiu, Y. L., Liu, T., Abuduxikuer, K., Hao, C. Z., Gong, J. Y., Zhang, M. H., . . . Wang, J. S. (2019). Novel missense mutation in VPS33B is associated with isolated low gamma-glutamyltransferase cholestasis: Attenuated, incomplete phenotype of arthrogryposis, renal dysfunction, and cholestasis syndrome. *Hum Mutat*, *40*(12), 2247-2257. doi:10.1002/humu.23770
- Ramraj, R., Finegold, M. J., & Karpen, S. J. (2012). Progressive familial intrahepatic cholestasis type 3: overlapping presentation with Wilson disease. *Clin Pediatr (Phila)*, *51*(7), 689-691. doi:10.1177/0009922812451076
- Reiter, J. F., & Leroux, M. R. (2017). Genes and molecular pathways underpinning ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol*, *18*(9), 533-547. doi:10.1038/nrm.2017.60
- Ruiz-Perez, V. L., Blair, H. J., Rodriguez-Andres, M. E., Blanco, M. J., Wilson, A., Liu, Y. N., . . . Goodship, J. A. (2007). Evc is a positive mediator of Ihh-regulated bone growth that localises at the base of chondrocyte cilia. *Development*, *134*(16), 2903-2912. doi:10.1242/dev.007542
- Sambrotta, M., Strautnieks, S., Papouli, E., Rushton, P., Clark, B. E., Parry, D. A., . . . Thompson, R. J. (2014). Mutations in TJP2 cause progressive cholestatic liver disease. *Nat Genet*, *46*(4), 326-328. doi:10.1038/ng.2918
- Sanchez-Montegudo, A., Ripolles, E., Berenguer, M., & Espinos, C. (2021). Wilson's Disease: Facing the Challenge of Diagnosing a Rare Disease. *Biomedicines*, *9*(9). doi:10.3390/biomedicines9091100
- Sayer, J. A., Otto, E. A., O'Toole, J. F., Nurnberg, G., Kennedy, M. A., Becker, C., . . . Hildebrandt, F. (2006). The centrosomal protein nephrocystin-6 is mutated in Joubert syndrome and activates transcription factor ATF4. *Nat Genet*, *38*(6), 674-681. doi:10.1038/ng1786
- Scheidecker, S., Etard, C., Pierce, N. W., Geoffroy, V., Schaefer, E., Muller, J., . . . Dollfus, H. (2014). Exome sequencing of Bardet-Biedl syndrome patient identifies a null mutation in the BBSome subunit BBIP1 (BBS18). *J Med Genet*, *51*(2), 132-136. doi:10.1136/jmedgenet-2013-101785
- Schon, P., Tsuchiya, K., Lenoir, D., Mochizuki, T., Guichard, C., Takai, S., . . . Bouvagnet, P. (2002). Identification, genomic organization, chromosomal mapping and mutation analysis of the human INV gene, the ortholog of a murine gene implicated in left-right axis development and biliary atresia. *Hum Genet*, *110*(2), 157-165. doi:10.1007/s00439-001-0655-5
- Singla, V., & Reiter, J. F. (2006). The primary cilium as the cell's antenna: signaling at a sensory organelle. *Science*, *313*(5787), 629-633. doi:10.1126/science.1124534
- Sirtori, C. R. (2014). The pharmacology of statins. *Pharmacol Res*, *88*, 3-11. doi:10.1016/j.phrs.2014.03.002

- Slavotinek, A. M., Stone, E. M., Mykytyn, K., Heckenlively, J. R., Green, J. S., Heon, E., . . . Biesecker, L. G. (2000). Mutations in MKKS cause Bardet-Biedl syndrome. *Nat Genet*, *26*(1), 15-16. doi:10.1038/79116
- Smith, U. M., Consugar, M., Tee, L. J., McKee, B. M., Maina, E. N., Whelan, S., . . . Johnson, C. A. (2006). The transmembrane protein meckelin (MKS3) is mutated in Meckel-Gruber syndrome and the wpk rat. *Nat Genet*, *38*(2), 191-196. doi:10.1038/ng1713
- Strautnieks, S. S., Bull, L. N., Knisely, A. S., Kocoshis, S. A., Dahl, N., Arnell, H., . . . Thompson, R. J. (1998). A gene encoding a liver-specific ABC transporter is mutated in progressive familial intrahepatic cholestasis. *Nat Genet*, *20*(3), 233-238. doi:10.1038/3034
- Sultan, M., Rao, A., Elpeleg, O., Vaz, F. M., Abu-Libdeh, B., Karpen, S. J., & Dawson, P. A. (2018). Organic solute transporter-beta (SLC51B) deficiency in two brothers with congenital diarrhea and features of cholestasis. *Hepatology*, *68*(2), 590-598. doi:10.1002/hep.29516
- Tallila, J., Jakkula, E., Peltonen, L., Salonen, R., & Kestila, M. (2008). Identification of CC2D2A as a Meckel syndrome gene adds an important piece to the ciliopathy puzzle. *Am J Hum Genet*, *82*(6), 1361-1367. doi:10.1016/j.ajhg.2008.05.004
- Temel, R. E., Tang, W., Ma, Y., Rudel, L. L., Willingham, M. C., Ioannou, Y. A., . . . Yu, L. (2007). Hepatic Niemann-Pick C1-like 1 regulates biliary cholesterol concentration and is a target of ezetimibe. *J Clin Invest*, *117*(7), 1968-1978. doi:10.1172/JCI30060
- Trauner, M., Meier, P. J., & Boyer, J. L. (1998). Molecular pathogenesis of cholestasis. *N Engl J Med*, *339*(17), 1217-1227. doi:10.1056/NEJM199810223391707
- Uchiumi, T., Hinoshita, E., Haga, S., Nakamura, T., Tanaka, T., Toh, S., . . . Kuwano, M. (1998). Isolation of a novel human canalicular multispecific organic anion transporter, cMOAT2/MRP3, and its expression in cisplatin-resistant cancer cells with decreased ATP-dependent drug transport. *Biochem Biophys Res Commun*, *252*(1), 103-110. doi:10.1006/bbrc.1998.9546
- Unlusoy Aksu, A., Das, S. K., Nelson-Williams, C., Jain, D., Ozbay Hosnut, F., Evirgen Sahin, G., . . . Vilarinho, S. (2019). Recessive Mutations in KIF12 Cause High Gamma-Glutamyltransferase Cholestasis. *Hepatol Commun*, *3*(4), 471-477. doi:10.1002/hep4.1320
- van Dam, T. J. P., Kennedy, J., van der Lee, R., de Vrieze, E., Wunderlich, K. A., Rix, S., . . . Huynen, M. A. (2019). CiliaCarta: An integrated and validated compendium of ciliary genes. *PLoS One*, *14*(5), e0216705. doi:10.1371/journal.pone.0216705
- van de Steeg, E., Stranecky, V., Hartmannova, H., Noskova, L., Hrebicek, M., Wagenaar, E., . . . Schinkel, A. H. (2012). Complete OATP1B1 and OATP1B3 deficiency causes human Rotor syndrome by interrupting conjugated bilirubin reuptake into the liver. *J Clin Invest*, *122*(2), 519-528. doi:10.1172/JCI59526
- van Groen, B. D., Bi, C., Gaedigk, R., Staggs, V. S., Tibboel, D., de Wildt, S. N., & Leeder, J. S. (2020). Alternative Splicing of the SLCO1B1 Gene: An Exploratory Analysis of

- Isoform Diversity in Pediatric Liver. *Clin Transl Sci*, 13(3), 509-519.
doi:10.1111/cts.12733
- van Mil, S. W., van der Woerd, W. L., van der Brugge, G., Sturm, E., Jansen, P. L., Bull, L. N., . . . Klomp, L. W. (2004). Benign recurrent intrahepatic cholestasis type 2 is caused by mutations in ABCB11. *Gastroenterology*, 127(2), 379-384.
doi:10.1053/j.gastro.2004.04.065
- Vaz, F. M., Paulusma, C. C., Huidekoper, H., de Ru, M., Lim, C., Koster, J., . . . Wanders, R. J. (2015). Sodium taurocholate cotransporting polypeptide (SLC10A1) deficiency: conjugated hypercholanemia without a clear clinical phenotype. *Hepatology*, 61(1), 260-267. doi:10.1002/hep.27240
- Vitale, G., Mattiaccio, A., Conti, A., Turco, L., Seri, M., Piscaglia, F., & Morelli, M. C. (2022). Genetics in Familial Intrahepatic Cholestasis: Clinical Patterns and Development of Liver and Biliary Cancers: A Review of the Literature. *Cancers (Basel)*, 14(14). doi:10.3390/cancers14143421
- Walczak-Sztulpa, J., Eggenschwiler, J., Osborn, D., Brown, D. A., Emma, F., Klingenberg, C., . . . Kuss, A. W. (2010). Cranioectodermal Dysplasia, Sensenbrenner syndrome, is a ciliopathy caused by mutations in the IFT122 gene. *Am J Hum Genet*, 86(6), 949-956. doi:10.1016/j.ajhg.2010.04.012
- Wang, B., Bonkovsky, H. L., Lim, J. K., & Balwani, M. (2023). AGA Clinical Practice Update on Diagnosis and Management of Acute Hepatic Porphyrrias: Expert Review. *Gastroenterology*, 164(3), 484-491. doi:10.1053/j.gastro.2022.11.034
- Wang, M., Tao, H., & Huang, P. (2021). Clinical significance of LARGE1 in progression of liver cancer and the underlying mechanism. *Gene*, 779, 145493.
doi:10.1016/j.gene.2021.145493
- Wankaew, N., Chariyavilaskul, P., Chamnanphon, M., Assawapitaksakul, A., Chetruengchai, W., Pongpanich, M., & Shotelersuk, V. (2022). Genotypic and phenotypic landscapes of 51 pharmacogenes derived from whole-genome sequencing in a Thai population. *PLoS One*, 17(2), e0263621. doi:10.1371/journal.pone.0263621
- Ward, C. J., Hogan, M. C., Rossetti, S., Walker, D., Sneddon, T., Wang, X., . . . Harris, P. C. (2002). The gene mutated in autosomal recessive polycystic kidney disease encodes a large, receptor-like protein. *Nat Genet*, 30(3), 259-269. doi:10.1038/ng833
- Wheway, G., Schmidts, M., Mans, D. A., Szymanska, K., Nguyen, T. T., Racher, H., . . . Johnson, C. A. (2015). An siRNA-based functional genomics screen for the identification of regulators of ciliogenesis and ciliopathy genes. *Nat Cell Biol*, 17(8), 1074-1087. doi:10.1038/ncb3201
- Xie, S., Wei, S., Ma, X., Wang, R., He, T., Zhang, Z., . . . Zhao, Y. (2023). Genetic alterations and molecular mechanisms underlying hereditary intrahepatic cholestasis. *Front Pharmacol*, 14, 1173542. doi:10.3389/fphar.2023.1173542

Zheng, N. X., Miao, Y. T., Zhang, X., Huang, M. Z., Jahangir, M., Luo, S., & Lang, B. (2023). Primary cilia-associated protein IFT172 in ciliopathies. *Front Cell Dev Biol*, *11*, 1074880. doi:10.3389/fcell.2023.1074880

Zimniak, P. (1993). Dubin-Johnson and Rotor syndromes: molecular basis and pathogenesis. *Semin Liver Dis*, *13*(3), 248-260. doi:10.1055/s-2007-1007353

Zollner, G., & Trauner, M. (2008). Mechanisms of cholestasis. *Clin Liver Dis*, *12*(1), 1-26, vii. doi:10.1016/j.cld.2007.11.010

8 PUBLIKACE *IN EXTENSO*, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTACE