

**Univerzita Karlova**

**1. lékařská fakulta**

**Autoreferát disertační práce**



**UNIVERZITA KARLOVA**  
**1. lékařská fakulta**

Molekulární příčiny a mechanismy dědičných cholestáz a statiny indukované myopatie

Ing. Magdaléna Neřoldová

2023

## **Doktorské studijní programy v biomedicině**

*Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky*

Obor: Biochemie a patobiochemie

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.

Školící pracoviště: Institut klinické a experimentální medicíny, Laboratoř experimentální hepatologie

Školitel: prof. MUDr. Mgr. Milan Jirsa, CSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna

k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky

Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Abstrakt .....	4
Abstract .....	4
1. Úvod .....	5
2. Cíle práce.....	6
2.1 Objasnit význam <i>SLCO1B7</i> v etiologii a patogenezi Rotorova syndromu .....	6
2.2 Zjistit příspěvek variant v panelu kandidátních genů asociovaných se SM a případně identifikovat nové kandidátní geny .....	6
2.3 Zjistit příspěvek patogenních variant v panelu kandidátních genů asociovaných s dědičnou cholestázou a případně identifikovat nové kandidátní geny .....	6
3. Metodika.....	6
3.1 Výběr pacientů .....	6
3.3 Sangerovo sekvenování.....	7
3.2 Celoxomové sekvenování.....	7
3.3 Amplifikace dlouhých řetězců a jednomolekulové sekvenování .....	7
3.4 RNASeq - analýza mRNA výtěru z nosohltanu.....	7
4. Výsledky a diskuse k jednotlivým publikacím .....	8
4.1 Funkční význam <i>SLCO1B7</i> v etiologii a patogenezi Rotorova syndromu - publikace č. 1 .....	8
4.2.1 Vzácné varianty predisponující ke statiny indukovaným myopatiím – publikace č. 210 .....	10
4.2.2 Odchyly v počtu kopií u pacientů se statinem asociovanými myopatiemi – publikace č. 3 .....	13
4.3.1 Deficit <i>ABCB4</i> napodobující Wilsonovu chorobu publikace č. 4 .....	14
4.3.2 Varianty v <i>IFT172</i> u pacientů s nesyndromickým cholestatickým jaterním onemocněním – publikace č. 5 .....	16
5. Závěr.....	17
6. Použitá literatura .....	18
7. publikace <i>in extenso</i> , které jsou podkladem disertace:.....	22
8. publikace <i>in extenso</i> bez vztahu k tématu disertace:.....	22

## 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.

## 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 fundament

## 1. Úvod

Jaterní transportéry se podílí na vzniku některých jaterních onemocnění včetně vzácných genetických chorob. Mezi základní metody zkoumání genetických chorob se v posledních letech zařadilo celoxomové sekvenování, které je jednotícím prvkem při řešení příčin jaterního postižení u našich pacientů.

Predispozice ke statinové myopatii může být podmíněna genetickými variantami jak v cytochromech P450 které metabolizují statiny, tak v přenašečích statinů, které ovlivňují koncentraci statinů a jejich metabolitů v krevních buňkách a myocytech. Statiny (Sirtori, 2014) jsou inhibitory 3-hydroxy-3-metyl-glutaryl-coenzym A reduktázy, které snižují celkový a LDL cholesterol v séru. Ačkoli jsou tyto léky obecně dobře snášeny, značný počet pacientů trpí vedlejšími efekty po zahájení léčby statiny, která zahrnuje slabost a bolest svalů. Kromě toho může podávání statinů demaskovat již existující myopatii způsobenou heterozygotním nosičstvím mutací způsobujících svalové onemocnění. Studie rodin naznačují významné zapojení genetické složky ve statiny indukovaných onemocněních. 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.

Závažná cholestáza (Elferink, 2003) je definována jako narušení normálního toku žluči způsobené buď funkčním defektem na úrovni hepatocytů, nebo obstrukcí na úrovni

žlučvodů. Sekrece žluči hraje klíčovou roli ve fyziologii jater, protože žluč slouží jako důležitá vylučovací cesta pro mnoho endo- a xenobiotik. Sekrece žluči závisí na funkci řady membránových transportních systémů exprimovaných v hepatocytech a v epitelových buňkách žlučvodů a na strukturální a funkční integritě žlučového sekrečního aparátu. Změněná exprese a/nebo funkce membránových transportérů může být základem některých forem cholestázy (Zollner & Trauner, 2008). 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, které jsou monogenní recesivní onemocnění několika typů a genů zahrnující varianty v genech *ABCB11*, *ATP8B1*, *MDR3*, *TJP2* a dalších.

## **2. Cíle práce**

### **2.1 Objasnit 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. Metodika**

### **3.1 Výběr pacientů**

Výběr pacientů probíhal na základě stanovených parametrů pro jednotlivé studie. Základním kritériem byla kompletní dokumentace a anamnéza, včetně biochemických a dostupných imunohistologických vyšetření, podle kterých probíhala fenotypizace. Byly získány vzorky

od dostupných příbuzných 1. stupně pro segregační studie. Všichni, kdo poskytli vzorky DNA, podepsali schválený informovaný souhlas s genetickým testováním. Protokol studií byl v souladu s etickými zásadami Helsinské deklarace z roku 1975.

### **3.3 Sangerovo sekvenování**

Sekvenování DNA gelově purifikovaných produktů PCR bylo provedeno podle pokynů výrobce s kitem 3.1 Dye terminator cycle sequencing a na přístroji Applied Biosystem ABI 3130 Genetic Analyzer.

### **3.2 Celoxomové sekvenování**

Knihovny exomů byly po sonické nebo mechanické fragmentaci zkonstruovány podle pokynů výrobce dle standardních protokolů a následně proběhla hybridizace DNA knihovny s oligonukleotidovými sondami specifickými pro jednotlivé exony. WES se prováděl pomocí přístroje Illumina HiSeq 1500 a Illumina NextSeq 500, kde byla provedena Bridge amplifikace a syntéza pomocí fluorescenčně značených terminačních bází. Porovnání s referenční sekvencí (hg19 build) a přiřazení variant bylo provedeno pomocí Novoalign a GEMINI nebo Qiagen CLC Genomics Workbench 12. Pro anotaci a interpretaci byly vybrány identifikovatelné varianty s MAF pod 5% podle databáze gnomAD. K zobrazení dat byl použit IGV Viewer.

### **3.3 Amplifikace dlouhých řetězců a jednomolekulové sekvenování**

Oblast požadované varianty o délce 22 800bp byla amplifikována přímo z genomové DNA pomocí Long Range PCR. Cirkulární DNA byla sekvenována v reálném čase na přístroji firmy Pacific Biosciences a analyzována softwarem Pacific Biosciences SMRT Link.

### **3.4 RNASeq - analýza mRNA výtěru z nosohltanu**

Celková RNA byla izolována z výtěru z nosohltanu. Knihovna RNA byla připravena pomocí KAPA RNA Hyper-prep kit, přepsána do cDNA a sekvenována na přístroji Illumina NovaSeq 6000. Analýza a anotace byla provedena programem Salmon v1.3 pomocí databáze Ensembl EnsDbH.sapiens.v75.

## 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 bílelických 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 *Slco1b2* 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)



2022) (Ciuta et al., 2023). Při plánování studie jsme se však rozhodli nesoustředit se pouze na lokus *SLCO1B* (Na Takuathung, Sakuludomkan, & Koonrungsesomboon, 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, myotonicou 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 svaly, 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 svaly. 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 nevyklučují přítomnost statinem indukované myotoxicity (Kee, Chin, Kennedy, & Maggo, 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 CIC-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 CIC-a (drozofilní homolog CLCN1), což může naznačovat potenciální roli inhibice CIC-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**

<b>Statin transport, blood concentration:</b> <i>ABCB1, ABCG2, CYP2C8, CYP2D9, CYP3A4, CYP3A5, SLC15A1, SLCO1B1, SLCO1B3, SLCO2B1</i>
<b>Concentration of statins in muscle cells:</b> <i>ABCC1, ABCC4, ABCC5</i>
<b>Factors affecting calcium homeostasis:</b> <i>ATP1A1, ATP1A2, ATP1B1, ATP1G1, ATP2A1, RYR1</i>
<b>Cell energy metabolism:</b> <i>AMPD1, CPT2, GAA, PYGM</i>
<b>Variants affecting production of coenzyme Q10 :</b> <i>COQ10A, COQ10B</i>
<b>Muscle vascularization:</b> <i>AGTR1, NOS3</i>
<b>Metabolism of vitamin D:</b> <i>CYP2R1, CYP27B1, CYP24A1, VDR</i>
<b>Centronuclear/core myopathies:</b> <i>BIN1, CCDC78, CNTN1, DNM2, MEGF10, MTM1, MTMR14, MYH2, MYF6, MYH7, STIM1, TNNT1</i>
<b>Congenital muscular dystrophies:</b> <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>
<b>Congenital myopathies with prominent contractures:</b> <i>EMD, FHL1, SEPN1, SYNE1, SYNE2, TMEM43</i>
<b>Limb-girdle muscular dystrophies:</b> <i>ANO5, CAPN3, DAG1, DES, DNAJB6, DPM3, DUX4, DYSF, PABPN1, PLEC, POMGNT1, PTRF, SGCA, SGCB, SGCD, SGCG, TCAP, TNPO3, TRAPPC11, TRIM3, TRIM32, TTN</i>
<b>Nemaline myopathies:</b> <i>ACTA1, CFL2, KBTBD13, KLHL40, KLHL41, LMOD3, NEB, TNNT, TPM2, TPM3</i>
<b>Congenital myasthenic syndromes:</b> <i>AGRN, CACNA15, COLQ, DOK7, DPAGT1, GFPT1, CHAT, CHRNA1, CHRNB1, CHRND, CHRNE, CHRNG, LAMB2, MUSK, RAPSN, SCN4A</i>
<b>Metabolic myopathies:</b> <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>
<b>Vacuolar myopathies:</b> <i>EPG5, GNE, LAMP2, VCP, VMA21</i>

## 4.2.2 Odchyly 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 sekvenční údaje byly použity pro validaci CNV v lokusech souvisejících se SM. Kromě toho jsme provedli specifické hledání CNV v oblasti *SLCO1B1*, 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 SM 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	SM?	clopidogrel-statin interaction	SM?

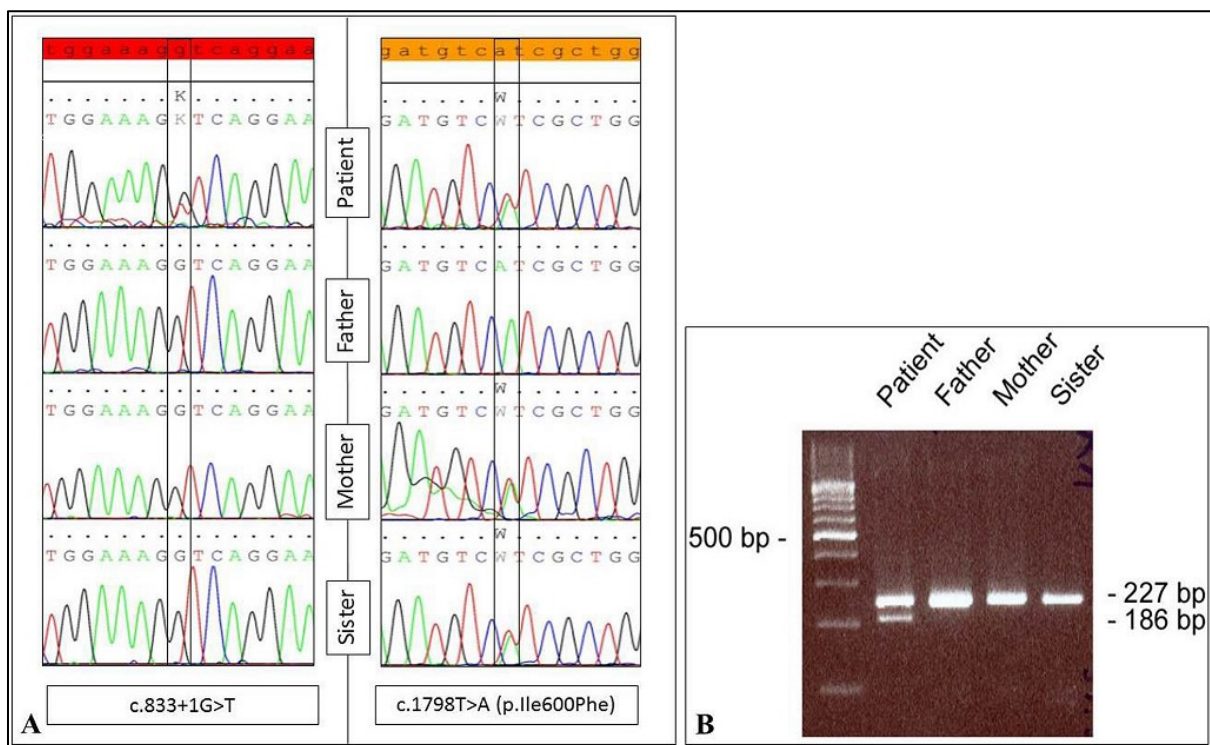
\*DGV – katalog lidských genomických strukturních variant

### 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 diferencially 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-Montegudo, Ripolles, Berenguer, & Espinos, 2021).



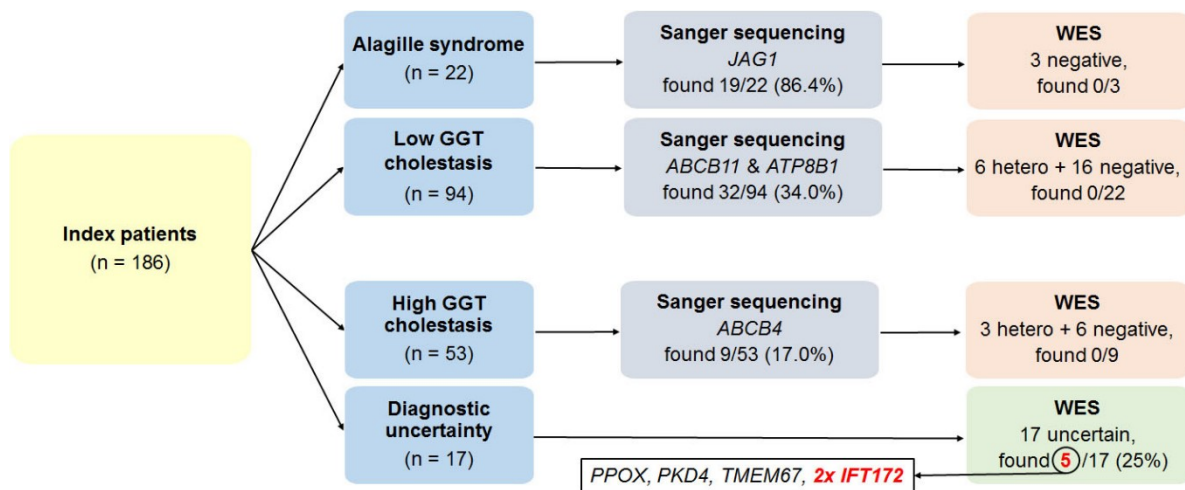
**Obr. 11 Rodinná analýza.** (A) Mutace nalezená u pacienta a jeho přímých příbuzných. (B) Detekce mutace c. 833+1G>T pomocí PCR-*Hpy*8I RFLP.

### 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 žebér 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 zařazování pacientů a analýzy 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 Alagilleovým 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. P – patogenní, LP – pravděpodobně patogenní, VUS – varianta nejasného významu.

## 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. Použitá 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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

- Elalem, E. G., Jelani, M., Khedr, A., Ahmad, A., Alaama, T. Y., Alaama, M. N., . . . Damanhour, 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- Sanchez-Monteagudo, 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
- Sirtori, C. R. (2014). The pharmacology of statins. *Pharmacol Res*, 88, 3-11. doi:10.1016/j.phrs.2014.03.002
- 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
- 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
- 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
- Zollner, G., & Trauner, M. (2008). Mechanisms of cholestasis. *Clin Liver Dis*, 12(1), 1-26, vii. doi:10.1016/j.cld.2007.11.010

## **7. publikace *in extenso*, které jsou podkladem disertace:**

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=3,425**

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=1,648**

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**

## **8. publikace *in extenso* bez vztahu k tématu disertace:**

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.

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.

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.

Horackova K, Frankova S, Zemankova P, Nehasil P, Cerna M, Neroldova M, Otahalova B, Kral J, Hovhannisyanyan 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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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-