V Praze, dne 19.1.2024

Oponentský posudek disertační práce Ing. Magdalény Neřoldové

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

Autorka je studentkou doktorského studijního programu *Biochemie a patobiochemie* na 1.LF UK. Školitelem je Prof. MUDr. Mgr. Milan Jirsa, CSc., IKEM, Laboratoř experimentální hepatologie.

Celkové hodnocení předložené disertační práce

Předložená disertační práce shrnuje výsledky vlastního výzkumu autorky a jejího vědeckého kolektivu v oblasti dědičných cholestáz a myopatie. Práce obsahuje celkem 58 stran včetně seznamu citované literatury, 12 obrázků a 6 tabulek. Dále je přiloženo *in extenso* 5 publikací, které byly podkladem pro vypracování disertace.

Číslování jednotlivých pasáží je logické, formální zpracování velmi dobré, s nevýznamným množstvím drobných překlepů či gramatických chyb. Práce je doplněna podrobným seznamem zkratek. Použitá literatura uvedená na celkem 12 stranách je bohatá a recentní. Je řazena abecedně dle příjmení 1. autora a stejným způsobem je i standardně citována v textu.

Formální a obsahové hodnocení dle jednotlivých kapitol

1) Abstrakt a úvod

Abstrakt práce je přehledný a detailně vysvětluje důvod provedení výzkumu, metodiku a obsahuje podrobné shrnutí nejdůležitějších výsledků. I přesto, že primární hypotéza nebyla v některých částech potvrzena, byl výsledkem výzkumu objev řady nových a zajímavých molekulárně-genetických souvislostí a genových variant, které se jistě stanou předmětem dalšího výzkumu, ať již tohoto vědeckého týmu či dalších působících v příbuzných oblastech zájmu.

Úvod předložené disertační práce je rozsahem přiměřený problematice (29 stran) a jeho součástí je podrobný popis jednotlivých klinických jednotek, které byly předmětem zájmu výzkumného týmu. Pasáže se zabývají cholestázou z pohledu molekulárních mechanismů sekrece žluče, přidružených genetických poruch, dále problematikou familiární intrahepatální cholestázy a ciliopatií. V další pasáži je podrobně popsána problematika statinové myopatie včetně metabolismu cholesterolu.

Po formální i obsahové stránce je text úvodu velmi dobře zpracován a dokládá autorčinu znalost problematiky a její důsledné prostudování z literárních zdrojů. Psán je čtivou formou a podrobnost, struktura i přehlednost této teoretické části svědčí o tom, že autorka, byť není lékařem-klinikem, má velmi dobrý přehled v uvedených medicínských tématech. To je při klinicky zaměřeném výzkumu

základní podmínkou nejen tvorby správné vědecké hypotézy, ale také správného designu celého výzkumu – tak, aby výběr pacientů, síla souboru a výstupy byly relevantní a následně i aplikovatelné v klinické praxi. To se v případě této disertační práce podařilo, o čemž svědčí i řada publikačních výstupů z jenotlivých fází výzkumu. Navíc, schopnost přehledně podat čtenáři studovanou problematiku považuji za jednu ze zásadních vlastností, které by měly být získány během postgraduálního studia. Autorka práce této schopnosti přesvědčivě dosáhla.

2) Cíle práce

Cíle práce jsou jasně definovány ve třech bodech a tvoří logický celek, jehož společným jmenovatelem je snaha o objasnění otázek, které vyplývají z klinické praxe, ale doposud nebyly vědecky podrobně zkoumány. Výzkum navazuje na dříve publikované práce vědeckého týmu, zejména v oblasti molekulárně-genetické podstaty Rotorova syndromu.

3) Výsledky a diskuse k jednotlivým publikacím

Významnou předností předložené práce je fakt, že se jedná o sérii výzkumných prací v oblasti molekulárně-genetického a biochemického výzkumu, které objasňují doposud neznámé patofyziologické mechanismy vzniku jednotlivých onemocnění.

První práce zkoumala varianty v genech u 8 rodin s Rotorovým syndromem a přispěla k objasnění mechanismu vzniku hyperbilirubinemie u tohoto onemocnění. Další práce zkoumala vzácné varianty v kandidátních genech asociovaných se statiny indukovanou myopatií. Velkou předností této publikace je fakt, že se podařilo celkem zařadit 88 subjektů, což umožnilo provést podrobnou asociační analýzu genomu. Výsledkem práce bylo nalezení několika nových vysoce suspektních vzácných variant pravděpodobně asociovaných se vznikem onemocnění. Další práce věnovaná stejnému onemocnění zkoumala potenciální roli velkých „copy-number variations, CNVs" v etiologii onemocnění. Analýza vzorků od 86 pacientů významnou asociaci nepotvrdila. Čtvrtá práce autorského kolektivu se věnuje vzácnému klinickému překryvu jednoho z typů progresivní familiární intrahepatální cholestázy (PFIC 3) a Wilsonovy nemoci (WD). Vzhledem k tomu, že chronická cholestáza může být doprovázena nadměrnou akumulací mědi a sekundárně jejím zvýšeným vylučováním močí, může tato skutečnost komplikovat diferenciální diagnostiku. Práce popisuje kasuistiku 11-letého pacienta, u kterého varianty svědčící pro PFIC 3 odhalilo až podrobnější molekulárně-genetické vyšetření při původně negativním nálezu v genech pro WD. Tato skutečnost je klinicky významná, neboť léčba obou typů onemocnění se liší a proto je na možnou záměnu třeba v klinické praxi myslet. Poslední z komentovaných prací se zabývá variantami v IFT172 u pacientů s nesyndromickým cholestatickým jaterním onemocněním. Celoexomovým sekvenováním bylo analyzováno celkem 51 pacientů, z toho 33 dětí. Nálezy naznačují souvislost variant IFT172 s nesyndromickým cholestatickým jaterním onemocněním, které se mohou stát předmětem budoucího podrobnějšího výzkumu.

Po metodologické stránce nelze jednotlivým pracem nic vytknout a to zejména díky tomu, že pocházejí ze zkušeného autorského kolektivu, který v dané oblasti patří ke světové špičce. Všechny použité metody jsou v laboratoři školitele dlouhodobě zavedeny. Souhrn výsledků je přehledně prezentovaný a rozčleněný dle jednotlivých publikovaných prací, doplněn je vysvětlujícími obrázky a schématy, které vždy vystihují nejdůležitější výsledky dané práce.

Autorka spolu se svým vědeckým týmem přispěla k objasnění některých nových mechanismů či objevu nových variant u klinicky definovaných jednotek. Část výsledků je přímo využitelná v klinické praxi, část se jistě stane předmětem zájmu dalšího navazujícího výzkumu.

4) Závěr práce

Pasáž shrnující závěry výzkumu je formulována jasně a zřetelně.

5) Seznam publikací, které nejsou součástí disertace

Seznam dalších publikací autorky mimo tématiku prezentovanou v disertační práci je impozantní a svým rozsahem převyšuje běžné požadavky na publikační aktivitu v rámci PhD studia. Spolu s 5 publikacemi, které jsou předmětem disertace, prokazuje dostatečnou erudici autorky a schopnost prezentovat výsledky vědecké práce v písemné formě získanou v rámci vědecko-výzkumné činnosti během postgraduálního studia.

6) Literatura

Seznam literatury (reference) k předložené disertační práci je svým rozsahem odpovídající a řada citovaných prací je recentního data.

Závěr hodnocení disertační práce

Předložená disertační práce je výborně zpracovaným výsledkem vlastní vědecké aktivity autorky a jejího týmu. Řešená témata jsou inovativní, výzkum byl proveden moderními metodami na pečlivě selektovaných skupinách pacientů. Disertační práce po formální i obsahové stránce plně vyhovuje požadavkům na ni kladeným a prokazuje předpoklady autorky k samostatné tvořivé vědecké práci. Na základě těchto skutečností doporučuji Ing. Magdaléně Neřoldové udělit titul Ph.D.

Dotaz oponenta k tématu:

Jako dětského gastroenterologa mne zaujala problematika diferenciální diagnostiky PFIC 3 a Wilsonovy nemoci. Vyšetření variant v genu pro ABCB4/MDR3 není součástí genetického vyšetření pro Wilsonovu nemoc (WD). Z klinické praxe víme, že negativní genetický nález WD nevylučuje. U některých pacientů tedy může být dg. PFIC 3 přehlédnuta a chybně zahájena léčba WD. Bylo by dle Vašeho názoru racionální zařadit vyšetření ABCB4 do diagnostického algoritmu WD? Pokud ano-na jakou pozici a u kterých pacientů? Prosím o posouzení z hlediska: 1) finanční, časové a personální náročnosti metody, 2) dostupnosti metody v ČR pro klinickou praxi, 3) klinické relevance vyšetření vzhledem k prevalenci PFIC 3 a WD v populaci.

Předem děkuji za zodpovězení dotazu i za možnost předloženou disertační práci recenzovat.

[redacted]

Prof. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D.
Oddělení dětské gastroenterologie, hepatologie a výživy
Pediatrická klinika
UK 2.LF a FN Motol, Praha