

**Záznam habilitačnej komisie o zhodnotení návrhu na vymenovanie MUDr.
Miriam Kolníkovej, PhD. za docenta v odbore neurológia.**

Dekan LF UK a predseda Vedeckej rady LF UK podľa vyhlášky MŠ SR č. 6/2006 Z.z. o postupe získavania vedecko-pedagogických alebo umelecko-pedagogických titulov docent a profesor a čl. 3 ods. 1 Zásad habilitačného konania o udelení titulu docent a vymenúvacieho konania za profesora na Univerzite Komenského v Bratislave vymenoval so súhlasom Vedeckej rady LF UK v Bratislave habilitačnú komisiu v zložení:

Predseda: Prof. MUDr. Peter Turčáni, PhD. – LF UK Bratislava

Členovia: Prof. MUDr. Ján Benetin, PhD. - LF SZU Bratislava

Prof. MUDr. Zuzana Gdovinová, PhD. – LF UPJŠ Košice

Dňa 18. februára 2021 o 11:00 v prítomnosti členov habilitačnej komisie, oponentov habilitačnej práce a členov Vedeckej rady LF UK poverených hodnotením habilitačnej prednášky MUDr. Miriam Kolníková, PhD., prednostka Kliniky detskej neurológie LF UK v Bratislave a NUDCH, predniesla verejnú habilitačnú prednášku na tému „*Ochorenie miznúcej bielej hmoty – VWM disease – „nová leukodystrofia“*“.

Členovia Vedeckej rady LF UK v Bratislave poverení hodnotením habilitačnej prednášky – prof. MUDr. Ingrid Brucknerová, PhD., prof. MUDr. Daniela Ostatníková, PhD., prof. MUDr. Ľudmila Podracká, CSc., doc. MUDr. Daniel Böhmer, PhD., doc. et doc. MUDr. Viera Lehotská, PhD. - zhodnotili prednášku ako dobrú a názornú, ktorá jednoznačne zdokumentovala schopnosť uchádzača prednášať zrozumiteľne, presvedčivo a zaujímavo.

Obhajoba habilitačnej práce „*Leukodystrofié a genetické leukoencefalopatie u detí*“ prebehla na on-line zasadnutí Vedeckej rady LF UK dňa 18. februára 2021. Po prednesení téz habilitačnej práce MUDr. Miriam Kolníkovou, PhD. oponenti oboznámili prítomných so svojimi posudkami. Všetci traja oponenti hodnotili habilitačnú prácu MUDr. Miriam Kolníkovej, PhD pozitívne. Prof. MUDr. L. Lisý, DrSc.. (LF SZU Bratislava) konštatoval, že autorka prezentovala komplexný aktuálny pohľad na problematiku leukodystrofií a genetických leukoencefalopatií v detskom veku na Slovensku na základe ojedinelej

epidemiologickej štúdie. Práca prináša celý rad originálnych poznatkov, ktoré môžu byť podkladom pre ďalšie štúdie v budúcnosti. Prof. MUDr. S. Nevšimalová, DrSc.(I. LF UK a VFN Praha) uviedla, že MUDr. Kolníková predložila vo svojej habilitačnej práci unikátny súbor 115 pacientov s leukodystrofiami, genetickými leukoencefalopatiami a inými poruchami bielej hmoty, ktorý veľmi starostlivo spracovala v retrospektívnej štúdií za ostatných 25 rokov. Prínosom je multidisciplinárny prístup - okrem detailného opisu klinických nálezov sú jednotlivé diagnózy verifikované molekulárno-genetickými nálezmi a podložené MR zmenami. Štatistické spracovanie umožnilo epidemiologický výpočet prevalencie, výskytu i celoživotného rizika týchto ochorení v Slovenskej republike. Odporúčané diagnostické postupy a manažment ochorení môže byť spolu s výsledkami jej práce podkladom pre vznik národného registra. Habilitačná práca prináša prioritné výsledky, má vynikajúce didaktické usporiadanie a svedčí o vyzretej vedeckej a pedagogickej osobnosti autorky. Prof. MUDr. P. Valkovič, PhD. zdôraznil aktuálnosť témy habilitačnej práce a fakt, že MUDr. Kolníková prináša prvé epidemiologické dáta o leukodystrofiách a vybraných genetických leukoencefalopatiách v SR a porovnáva ich s publikovanými údajmi v literatúre. Konštatuje, že záchytnosť leukodystrofií je podľa údaju hrubej incidencie porovnateľná s inými krajinami, rozdiely sú v početnosti pri jednotlivých typoch ochorení, zvlášť, kde nie je ochorenie možné laboratórne stanoviť. Práca podáva návrhy nielen pre klinickú prax, ale publikačný zoznam dokumentuje aj významný medzinárodný záber a vplyv autorky. To naznačuje a môže slúžiť ako báza pre ďalšie medzinárodné projekty a publikácie ako aj pre kreáciu vlastnej vedeckej školy.

MUDr. M. Kolníková, PhD. veľmi dobre zodpovedala otázky a pripomienky oponentov a v následnej diskusii s prehľadom dokumentujúcim veľmi dobrú odbornú erudíciu zodpovedala otázky diskutujúcich. V diskusii vystúpilo celkom 6 diskutujúcich.

Osobné údaje uchádzača:

Dátum a miesto narodenia: 11. 01. 1964, Topoľčany, Slovenská republika

Národnosť: slovenská

Bydlisko: Pribišova 2, 841 05 Bratislava, Slovenská republika

Vzdelanie a odborná kvalifikácia:

1993 – 1998	Lekárska fakulta Univerzity J. A. Komenského, Bratislava, všeob. lekárstvo
2009 – 2014	Lekárska fakulta Univerzity J. A. Komenského, Bratislava, doktorandské štúdium v odbore neurológia
1989 - 1992	špecializácia v odbore pediatria, IVLF Bratislava
1996 - 1998	špecializácia v odbore detská neurológia, SPAM Bratislava
2017	špecializácia v odbore zdravotnícky manažment a financovanie LF UK Bratislava

Pracovné zaradenie:

1989 - 1992	NsP Trenčín, sekundárna lekárka
1992 - 1997	NsP Topoľčany, sekundárna lekárka
1998 – 2008	Klinika detskej neurológie LF UK a DFN Bratislava, sekundárna lekárka
2009 – 2018	Klinika detskej neurológie LF UK a DFN Bratislava, odborná asistentka
2018 -	Klinika detskej neurológie LF UK a NÚDCh Bratislava, prednostka

Prehľad pedagogickej činnosti

Odborná asistentka na Klinike detskej neurológie LF UK a NÚDCh Bratislava - výučba študentov LF UK – všeobecné lekárstvo od roku 2009 - celková doba výučby: 11 rokov.

Náplň pedagogickej činnosti :

a/ prednášky

b/ semináre a praktické cvičenia

c/ vedenie diplomových prác a záverečných prác v špecializačnom štúdiu

d/ členka štátnicovej komisie, predsedkyňa skúšobnej komisie pre špecializačné štúdium v odbore detská neurológia

Najvýznamnejšie vedecké výsledky

Bremová Tatiana, Malinová Věra, Amraoui Yasmina, Mengel Eugen, Reinke Joerg, Kolníková Miriam, Strupp Michael: Acetyl-DL-leucine in Niemann-Pick type C: A case series Neurology. - Vol. 85, No. 16 (2015), s. 1368-1375.

Východisková situácia: NPC je zriedkavé lyzozómové ochorenie progresívneho charakteru. Dostupná liečba miglustatom vytvára rovnováhu medzi syntézou glykosfingolipidov a ich degradáciou v bunkách, a tak ovplyvňuje vývoj ochorenia. Ďalšou látkou, ktorá by mohla zlepšiť cerebelárne funkcie je Acetyl-DL-leucín.

Ciele práce: Posúdiť účinky modifikovanej aminokyseliny acetyl-dl-leucínu (AL) na cerebelárnu ataxiu, pohyby očí a kvalitu života pacientov s Niemann-Pickovou chorobou typu C (NP-C).

Pacienti a metodiky: Dvanásť pacientov s ochorením NP-C bolo liečených AL 3 g / d počas 1 týždňa a potom 5 g / d počas 3 týždňov s následným vymývacím obdobím 1 mesiac. Na hodnotenie efektivity boli použité škála a hodnotenie ataxie (SARA), spinocerebellárny funkčný index ataxie (SCAFI), modifikovaná škála hodnotenia disability (mDRS), EuroQol 5Q-5D-5L a vizuálna analógová stupnica (VAS). Merania sa uskutočnili na začiatku liečby, po 1 mesiaci liečby a po 1 mesiaci vymývania.

Výsledky: Skóre SARA sa zmenilo z východiskovej hodnoty (medián [\pm SD, rozptätie]) 10,8 (11,2; 8-24,6) na 7,0 (10,7; 5,6-19,6) pri liečbe (rozdiel: 3,8 bodu) a 10,5 (11,5; 7,1 - 23,9) po vymývaní (rozdiel: 3,5 bodu) ($p = 0,000412$; $p = 0,003$ medzi východiskovou hodnotou a liečbou a liečbou a premývaním $p = 0,005$). Pri liečbe sa zlepšil SCAFI 9-jamkový test pre dominantnú ruku, skóre mDRS a VAS. Neboli hlásené žiadne vedľajšie účinky okrem prechodného závratu u jedného pacienta.

Záver: Liečba AL zlepšila príznaky ataxie u pacientov s NP-C bez relevantných vedľajších účinkov, čím preukázala primeraný profil rizika a prínosu.

Kolníková Miriam, Škopková Martina, Ilenčíková Denisa, Foltán Tomáš, Payerová Jaroslava, Daniš Daniel, Klimeš Iwar, Staník Juraj, Gašperíková Daniela: DNM1 encephalopathy - atypical phenotype with hypomyelination due to a novel de novo variant in the DNM1 gene. In: Seizure. - Roč. 56 (2018), s. 31-33.

Východisková situácia: Epileptické encefalopatie spôsobené mutáciami v géne *DNM1* sú novou závažnou detskou neurologickou poruchou typicky charakterizovanou farmakorezistentnou epilepsiou, oneskorením vývoja a

pohybovými poruchami. Gén *DNM1* (MIM 602377, 9q34.11, NM_004408.3, 22 exónov, 864 aminokyselín) kóduje dynamín-1, GTPázu, ktorá hrá rozhodujúcu úlohu pri katalýze endocytózy sprostredkovanej klatrínom a recyklácii synaptických vezikúl. *DNM1* je organizovaný do piatich domén: a) G doména, ktorá viaže a hydrolyzuje GTP; b) stredná doména, ktorá sa podieľa na oligomerizácii; c) doména pleckstrinovej homológie; d) efektorová doména GTPázy a e) doména bohatá na prolín. Počas receptorom sprostredkovanej endocytózy sa molekuly dynamínu zhromažďujú do tetramérov a vytvárajú špirálovité polyméry spojené s vezikulami. Pri hydrolyze GTP prechádzajú *DNM1* konformačnou zmenou, ktorá vedie k zúženiu membrány a k uvoľneniu vezikúl z membrány. Chybná recyklácia spôsobuje vyčerpanie synaptických vezikúl obsahujúcich GABA, čo vedie k zníženiu inhibičnej neurotransmisie. Doteraz bolo v literatúre zachytených 21 pacientov s epileptickou encefalopatiou s mutáciami v géne *DNM1* a opísaných štrnásť rôznych de novo missense mutácií s autozomálne dominantnou dedičnosťou.

Ciele práce: objasniť príčiny neurologických ochorení s leukopatiou na MR mozgu

Pacienti a metodiky: pomocou WES analyzovať pacientov s neobjasneným predpokladaným dedičným ochorením

Výsledky: Publikácia opisuje pacienta s *DNM1* encefalopatiou v dôsledku mutácie de novo in-frame inzercie c.1089_1090insCTTCCA v exóne 8 *DNM1* gene (NM_004408.3) v heteozygotnom stave.

Diskusia: u dievčaťa s infantilnou epileptickou encefalopatiou sme našli nový variant v géne *DNM1*. Gén *DNM1* vzišiel ako kandidátny zo štúdie de novo mutácií vo veľkých súboroch pacientov s epilepsiou, spolu bolo opísaných 22 pacientov s 18 rôznymi patogénnymi variantmi (vrátane nášho pacienta). Všetky patogénne varianty nájdené u pacientov s *DNM1* boli doteraz missense mutácie vytvorené de novo. Náš pacient má nový variant mutácie *DNM1*, prvú in-frame inzerciu identifikovanú doteraz v géne *DMN1*. Gén *DNM1* má vysoké génové Z-skóre = 5,97 čo znamená extrémne vysokú neznášanlivosť tak voči mutáciám missense, ako aj loss-of-function. Spolu s jeho de novo povahou a špecifickým fenotypom zodpovedajúcim iným pacientom s *DNM1* považujeme tento variant za patogénny. Náš pacient má jednu z najťažších foriem *DNM1* encefalopatie v porovnaní s ostatnými hlásenými pacientmi. V nedávnej štúdií iba jeden z 21 pacientov opisuje oneskorenú myelinizáciu na MRI. Umiestnenie jeho mutácie bolo v strednej doméne dynamínu 1. To sa dalo pripísať inzercii, ktorá by mohla mať silnejší vplyv na štruktúru proteínu ako missense

mutácie. Predtým uvedené mutácie sa našli hlavne v doméne GTPázy (doplňkový materiál); šesť mutácií, vrátane tej, ktorá sa našla u nášho pacienta, sa nachádza v strednej doméne. Pri porovnaní klinického priebehu hlásených prípadov sa zdá, že pacienti s mutáciami *DNM1* v strednej doméne majú atypickejší fenotyp. Príznak epilepsie je variabilný a u dvoch pacientov, vrátane nášho, sme zistili neepileptický myoklonus a oneskorenú myelinizáciu na MRI. Závažnosť znakov môže byť navyše ovplyvnená ďalšími genetickými alebo environmentálnymi faktormi. V našom prípade bola hypomyelinizácia dôležitým znakom MRI od prvého roku života pacienta, zatiaľ čo bola hlásená iba u dvoch ďalších pacientov s *DNM1*.

Kolníková Miriam, Jungová Petra, Škopková Martina, Foltán Tomáš, Gašperíková Daniela, Mattošová Slavomíra, Chandoga Ján: Late infantile metachromatic leukodystrophy due to novel pathogenic variants in the PSAP gene. In: Journal of Molecular Neuroscience. - Roč. 67, č. 4 (2019), s. 559-563.

Východisková situácia: Porušenie saposínu B (aktuátor enzýmu ARSA) spôsobuje zriedkavú atypickú metachromatickú leukodystrofiu (MLD). Je kódovaný (spolu so saposínom A, C a D) génom *PSAP*. Doteraz bolo v géne *PSAP* u pacientov s MLD opísaných iba desať patogénnych variantov. Uvádzame dve nové varianty v géne *PSAP* - c.679_681delAAG v saposíne B kódujúcom exón 6 a c.1268delT v saposíne D kódujúcom exón 11 u pacienta s MLD. V práci uvažujeme, že varianty vedúce k nulovej alele *PSAP* môžu byť zdieľané u pacientov s deficitom iných saposínov (A-D) alebo celého prosaposínu. Fenotyp pacienta potom závisí od povahy druhej alely - atypická Gaucherova choroba v prípade saposínu A, MLD v prípade saposínu B a Krabbeho choroba v prípade mutácií ovplyvňujúcich saposín C. Klinicky najťažší deficit prosaposínu je spôsobený prítomnosťou dvoch nulových alel *PSAP*. Preto je potrebné posúdenie variantného dopadu, aby sa zabránilo oneskorenej diagnostike alebo nesprávnej diagnóze u pacientov s mutáciami *PSAP*.

Ciele práce: Podľa klinických nálezov a biochemických štúdií bol pacient v našej práci veľmi podozrivý z MLD, genetická analýza nepotvrdila mutácie v géne *ARSA*, klinický obraz pacienta suponoval na MLD-like ochorenie,

Pacienti a metodiky: Genetické testovanie Sangerovým sekvenovaním DNA u pacienta a segregáčna analýza u oboch rodičov v *PSAP* géne.

Výsledky: Testovanie odhalilo prítomnosť zložených heterozygotných variantov c.679_681delAAG (p.Lys227del) a c.1268delT (p.Leu423Argfs * 40) v géne *PSAP*.

Segregačná analýza u oboch rodičov potvrdila variant c. 679_681delAAG u otca a variant c.1268delT u matky.

Diskusia: MLD- like diagnóza bola potvrdená sekvenčnou analýzou génu *PSAP*, kde sme našli dva varianty. V publikovanej skupine 26 pacientov s PSAP - MLD (Cesani et al. 2016) boli iba dva prípady zložené heterozygoty nesúce variant zhoršujúci SapB a nulovú alelu: p.Asn215Lys + p.Met1Val (Deconinck et al. 2008) a p.Asp193_Ile240del; p.Asp193_Gln199del + p.Lys275fs (Kuchar et al. 2009), pričom prvý z nich je jediným prípadom s mutáciou mimo SapB kódujúcich exóny 6 - 8. Popisujeme ďalší takýto prípad, jednu deléciu aminokyseliny lokalizovanú v exóne 6 kódujúcej SapB a jeden variant posunu čítacieho rámca umiestnený v exóne 11 kódujúci SapD. Fenotyp pacienta potvrdzuje, že variant posunu rámca c.1268delT (p.Leu423fs) v exóne 11 vedie k nulovej alele a trpí izolovaným nedostatkom SapB kvôli alele p.Lys227del v exóne 6. Dôležité je, že ďalej *PSAP* null alely boli opísané pri nedostatku prosaposínu alebo SapC (tabuľka 1) a mohli by sa pravdepodobne podieľať aj na MLD, ak by boli kombinované s mutáciou v časti SapB génu. Na druhej strane, niektoré zostrihové mutácie v géne *PSAP* spôsobujú iba izolovaný deficit saposínu v dôsledku preskočenia exónov spôsobujúcich delécie v rámci. Naše údaje aktualizujú zoznam mutácií génu *PSAP* a ukazujú nový príklad toho, ako môže mutácia v exóne, ktorý nie je SapB, prispieť k izolovanému nedostatku SapB. Uvedomenie si toho môže byť zásadné pre rýchlu a presnú diagnózu a pre včasné poskytnutie genetického poradenstva.

Pineda Mercedes, Juríčková Katarína, Karimzadeh Parvaneh, Kolníková Miriam, Malinová Věra, Insua Jose Luis, Velten Christian, Kolb Stefan: Disease characteristics, prognosis and miglustat treatment effects on disease progression in patients with Niemann-Pick disease Type C: an international, multicenter, retrospective chart review [elektronický dokument] In: Orphanet Journal of Rare Diseases [elektronický dokument]. - Roč. 14 (2019), s. [1-10], Art. No. 32 [online].

Východisková situácia: Niemann-Pickova choroba typu C (NP-C) je porucha ukladania lyzozomálnych lipidov charakterizovaná progresívnou neurodegeneratívnou symptomatológiou. Príznaky NP-C sa líšia s vekom nástupu ochorenia a dostupnosťou terapie, ktorá je zameraná na zmiernenie symptómov a stabilizáciu progresie ochorenia. Uvádzame charakteristiky a faktory súvisiace s progresiou ochorenia a analyzujeme vplyv liečby miglustatom na progresiu ochorenia

a prežitie pacienta pomocou stupníc postihnutia NP-C.

Ciele práce a metóda: retrospektívno-observačný prehľad zahŕňal pacientov s NP-C z piatich odborných centrách NP-C. Skóre postihnutia pacientov boli zaznamenané pomocou troch publikovaných stupníc postihnutia NP-C a bola vyvinutá jednotná stupnica postihnutia, ktorá umožňuje porovnanie údajov z každej škály. Progresia ochorenia bola predstavovaná skóre na zjednotenej stupnici invalidity NP-C. Pacienti boli klasifikovaní ako infantilní (<4 roky), juvenilní (≥ 4 - <16 rokov) a dospelí (≥ 16 rokov) na základe veku objavenia príznakov a boli liečení ≥ 1 rok a neliečení / liečení <1 rok miglustatom.

Pacienti a výsledky: Analýza zahŕňala 63 pacientov; väčšina (61,9%) bola na liečbe miglustatom ≥ 1 rok. Ataxia a neobratnosť boli najbežnejšími neurologickými príznakmi vo vyšších vekových skupinách, zatiaľ čo hypotónia a oneskorené vývojové míľniky boli špecifické pre infantilných pacientov. U novorodencov aj mladistvých pacientov predchádzali diagnóze viscerálne znaky a neurologické príznaky sa zaznamenali pri diagnostike alebo krátko po nej. U dospelých pacientov sa v rokoch pred diagnózou vyskytli rôzne viscerálne, neurologické a psychiatrické príznaky. Pacienti liečení miglustatom po dobu ≥ 1 roka mali nižšiu priemernú ročnú progresiu ochorenia v porovnaní s pacientmi neliečenými/liečenými <1 rok (1,32 oproti 3,54 bodom/rok). Významné bolo zníženie ročnej progresie ochorenia u infantilných pacientov a trend k zníženiu progresie ochorenia u mladistvých pacientov po ≥ 1 roku liečby miglustatom.

Výsledky: Typ a nástup príznakov sa líšili naprieč vekovými skupinami a zodpovedali opisom NP-C v literatúre. Liečba miglustatom bola spojená so zníženou mierou zhoršenia skóre invalidity u dojčiat aj mladistvých.

Kolníková Miriam, Sýkora Pavol: Leukodystrofie - klinické a rádiologické aspekty, minimonografia, In: Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie. - Roč. 77/110, č. 5 (2014), s. 534-552.

Východisková situácia: problematika leukodystrofií nie je v slovenskej literatúre podrobnejšie rozpracovaná, väčšinou nachádzame kazuistické prípady ochorení bez ucelenejšej prehľadovej práce, výnimku tvoria práce o X-adrenoleukodystrofií.

Ciele práce: Cieľom práce je zhrnutie najdôležitejších poznatkov a liečebných možností „klasických leukodystrofií“.

Publikačná činnosť

MUDr. M. Kolníková, PhD. má v EVIPUB-e celkom 225 záznamov. Je autorkou 1 vysokoškolskej učebnice a 1 kapitoly vo vysokoškolskej učebnici, spoluautorkou 39 vedeckých prác v domácich a zahraničných časopisoch a zborníkoch. Na jej práce je evidovaných 69 ohlasov, z toho 60 je registrovaných v citačných indexoch.

Spoluriešiteľ vedecko-výskumných projektov

VEGA 2/0083/17 Celoexómové sekvenovanie u pacientov s podozrením na primárne mitochondriopatie

APVV-17-0296 Štúdium genetických príčin zriedkavých ochorení s dôrazom na metabolické poruchy asociované s hypoglykémiami a poruchy mitochondrií (HYPOMITGEN)

VEGA 1/0731/17 Celogenómová analýza a funkčná charakteristika identifikovaných mutácií u detských pacientov s epileptickými ochoreniami

Habilitačná komisia jednomyselne konštatovala, že MUDr. Miriam Kolníková, PhD. spĺňa všetky kritériá pre docentku Univerzity Komenského, a preto odporúča jej habilitáciu v odbore neurológia.

Bratislava 18. februára 2021

Prof. MUDr. Peter Turčáni, PhD.
predseda habilitačnej komisie

Prof. MUDr. Ján Benetin, PhD.
člen habilitačnej komisie

Prof. MUDr. Zuzana Gdovinová, PhD.
člen habilitačnej komisie