

Akutní intermitentní porfyrie (AIP, OMIM 176000) je autosomálně dominantní vrozená porucha, která se řadí mezi akutní jaterní porfyrie. Je způsobená částečným snížením aktivity hydroxymetylbilan syntázy (HMBS, EC 4.3.1.8), třetího enzymu biosyntetické dráhy hemu. Klinické příznaky zahrnují gastrointestinální, neurologické a kardiovaskulární symptomy, ale nejčastějším projevem je abdominální bolest neuroviscerálního původu.

Základním cílem této disertační práce bylo provádění molekulární analýzy DNA u pacientů s AIP. V případě, že je u pacienta nalezena mutace, testování DNA na molekulární úrovni je nabídnuto rovněž ostatním příbuzným. Tento individualizovaný přístup umožňuje zachycení asymptomatických jedinců v postižené rodině. Ti jsou pak informováni o vhodnosti požívání léků a o dalších faktorech, které mohou vyvolat nebezpečné akutní ataky.

V ideálním případě je DNA diagnostika složena z robustní a efektivní skenovací metody a potvrzujícího kroku, který využívá DNA sekvenování. Rozhodli jsme se zavést skenovací metodu nové generace, která je vysoce citlivá a relativně časově i finančně nenáročná. Zvolili jsme metodu high-resolution melting (HRM) s využitím přístroje LightScanner.

Dalším důležitým aspektem tohoto projektu bylo studium molekulární heterogenity AIP ve vztahu k struktuře proteinu. Snažili jsme se o popsání vlivu mutace v genu pro HMBS na strukturu a funkci enzymu a dále o předvedení, jak tato informace může přispět k interpretaci klinických, biochemických a genetických dat při určování diagnózy AIP. Pro tento účel jsme použili prokaryotickou expresi a charakterizaci mutantních HMBS enzymů společně s počítačem modelovanou prediktivní strukturálně-funkční korelační analýzou.