Abstrakt

Úvod: Hypertrofická kardiomyopatie je vrozené srdeční onemocnění s autozomálně dominantním typem dědičnosti a neúplnou penetrancí. Se znalostí odpovědných genů, schopností detekovat genetické změny, které jsou podkladem vzniku tohoto onemocnění, a studiem funkční analýzy defektních proteinů, můžeme stanovit, zda konkrétní genotypy vedou ke vzniku odlišných fenotypových projevů hypertrofické kardiomyopatie.

Cíle práce: Analyzovat mechanismy vzniku hypertrofické kardiomyopatie u českých pacientů postižených tímto onemocněním z molekulárně genetického hlediska (geny *MYH7, TNNT2*), až po funkční analýzu 3D molekulárního modelu defektního proteinu těžkého řetězce β-myosinu *in silico*. Dalším cílem práce bylo studium možnosti snížení tvorby zánětlivých agregátů v kardiovaskulárním systému u pacientů s diabetem mellitem 2. typu. Studie prověřovala možnosti terapeutického ovlivnění vybraných kardiovaskulárních rizik u pacientů s hypertrofickou kardiomyopatií, současně trpících diabetem mellitem 2. typu. Obě tyto skupiny pacientů jsou ohroženy podstatně vyšším rizikem vzniku kardiovaskulárních onemocnění vzhledem k vývoji předčasné aterosklerózy.

Materiál a metody: Do studie genu *MYH7* bylo zařazeno 170 probandů. Vzorky DNA těchto jedinců byly podrobeny mutačnímu screeningu (PCR, sekvenční analýza) specifických funkčních oblastí genu *MYH7*, které jsou spojovány se vznikem hypertrofické kardiomyopatie. Pomocí rentgenové struktury myosinu S1 hřebenatky, který sloužil jako strukturální templát, byl následně vytvořen 3D model lidského těžkého řetězce β-myosinu. Byla vytvořena *de novo* predikce struktury dvou krátkých peptidů (mutantní a divoké varianty) úseku těžkého řetězce β-myosinu. Do studie genu *TNNT2* bylo zařazeno 181 probandů. DNA vzorky těchto jedinců byly genotypovány (PCR, sekvenční analýza) ve specifických vazebných oblastech genu *TNNT2*, které mohou mít vliv na vývoj hypertrofické kardiomyopatie. Soubor použitý pro testování účinků rosiglitazonu byl tvořen 33 pacienty s diabetem mellitem 2. typu a 32 zdravými kontrolami. Exprese leukocytárních markerů byla měřena imunofluorescenční metodou pomocí jednostupňového barvení monoklonálními protilátkami. Fluorescence byla kvantifikována průtokovou cytometrií.

Výsledky: Mutačním screeningem specifických vazebných a funkčních oblastí genů *MYH7* a *TNNT2* byly nalezeny tři sekvenční záměny u třech nepříbuzných pacientů. Mutace $Asp^{778}Val$ byla objevena u pacienta s těžkou formou hypertrofické kardiomyopatie. Tato změna byla vybrána pro následnou 3D molekulární modelaci *in silico*. $Asp^{778}Val$ nemění pouze charakter interakčních vlastností s ostatními aminokyselinami nebo ionty, ale valin, coby malá hydrofobní aminokyselina, může zcela pozměnit stabilitu celé oblasti. Tato mutace může změnit dynamiku a flexibilitu dlouhé helikální části těžkého řetězce β-myosinu. Ve studii s diabetickými pacienty byla významně zvýšena leukocytární exprese uPAR a PSGL-1 ve srovnání s kontrolním souborem. Leukocyto-trombocytární agregáty, exprese uPAR a PSGL-1 po léčbě rosiglitazonem významně poklesly.

Závěr: Umístění mutací v genech *MYH7/TNNT2* a tedy následné změny ve složení sekvence aminokyselin může mít zásadní negativní dopad na mechanismus vývoje hypertrofické kardiomyopatie. Mutace, které mají za následek změnu vlastností (náboje) aminokyseliny, mají pravděpodobně větší vliv na funkci proteinů než konzervativní mutace. Ve studii s rosiglitazonem jsme po léčbě pozorovali významný pokles exprese trombogenních markerů na leukocytech, předpokládáme tedy, že rosiglitazon vede ke snížení rizika aterotrombotických komplikací.