

Abstrakt

Primární imunodeficiencie (PID) jsou charakterizovány zvýšenou náchylností k infekcím a různě závažnými imunologickými poruchami. S rozvojem masivně paralelního sekvenování je ve skupině PID identifikováno stále více poruch v genech asociovaných s imunitním systémem. Biologická podstata mnoha nalezených mutací je ale často neznámá. Je proto nezbytné vyvíjet metodické nástroje, které pomohou objasnit kauzalitu daných mutací a mohou pomoci nalézt optimální terapii.

Jedněmi z nově objevených mutací jsou aktivační, tzv. gain-of-function, mutace v genu pro *STAT1* způsobující chronickou mukokutánní kandidózu. Kandidózu mohou zmírňovat antimykotika nebo cílený JAK-STAT inhibitor, ruxolitinib. Pro našeho pacienta s nově nalezenou mutací ve *STAT1* jsme vyvinuli jednoduchý test pro detekci fosforylace *STAT* molekul v lymfocytech plné periferní krve. Tímto testem jsme potvrdili aktivační charakter dané mutace a použili jej i pro monitorování cílené léčby ruxolitinibem. U druhého pacienta, který trpí lymfadenopatií a imunodeficitem, byla identifikována dosud nepopsaná mutace v genu pro kaspázu-8. Prokázali jsme inhibiční, tzv. loss-of-function charakter dané mutace projevující se sníženým štěpením samotné kaspázy-8 i jejího substrátu kaspázy-3, poruchou v buněčné apoptóze a sníženou signalizací NFκB. U třetí pacientky, která trpí závažnou plicní fibózou a vaskulitidou, byla identifikována velmi neobvyklá mutace v Src kináze HCK. Mutovaný protein HCK jsme v buňkách pacientky našli a potvrdili i jeho aktivační charakter projevující se hyperfosforylací samotné HCK, zvýšenou expresí adhezivních molekul a zvýšenou produkcí cytokinů IL-1β a TNFα v buňkách nesoucích mutovanou HCK.

Souhnně lze konstatovat, že jsem v mé diplomové práci objevila mnoho funkčních souvislostí mezi nově nalezenými mutacemi ve *STAT1*, *CASP8* a *HCK* a poruchami buněčného chování.