

Abstrakt

Přirozené inhibitory koagulace jsou významnou regulační složkou hemostázy. Vzhledem k množství funkcí nejen v regulaci hemostázy jsme se v této práci zaměřili konkrétně na protein S (PS) a práci jsme rozdělili do tří dílčích částí. Cílem první části bylo nalézt kauzální mutace v genu *PROS1* u kohorty pacientů s vrozeným deficitem PS pomocí Sangerova sekvenování a metody MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification). Deficit PS je významným známým rizikovým faktorem pro vznik žilní trombózy, nicméně vzhledem k struktuře PS lze formulovat hypotézu, že mutace v určitých částí PS budou rizikovější než v jiných. Proto jsme dále analyzovali vliv polohy mutace na riziko trombózy u v této kohortě pacientů s vrozeným deficitem PS. V druhé části práce bylo naším cílem popsat pozorované získané deficity PS u kohorty pacientů Ústavu hematologie a krevní transfuze Praha s hematologickými malignitami. Na závěr ve třetí části bylo cílem ověřit stabilitu PS a dalších koagulačních parametrů v podmínkách zmražené plazmy, což má důležitý přesah jak do každodenní laboratorní praxe, tak pro diagnostiku deficitu PS.

Kauzální mutace v genu *PROS1* byla nalezena u 73/79 (92 %) pacientů. Celkem bylo identifikováno 34 různých mutací, z nichž 15 nebylo dosud popsáno. Výskyt mutací nevykazuje soustředění v žádné oblasti genu. Velkou delecí metodou MLPA jsme identifikovali u 3 rodin (7 %), což odpovídá výskytu delecí popsanému v literatuře. Dále jsme zjistili, že poloha mutace v SHBG (sex-hormone binding globulin) doméně PS je nezávislým rizikovým faktorem pro vznik trombózy a pacienti s těmito mutacemi také prodělali trombózu v mladším věku. U pacientů se získaným deficitem se aktivita PS signifikantně lišila mezi skupinami podle diagnózy s největším podílem patologických hodnot u pacientů s akutní myelomonocytární leukémií. V poslední části práce jsme prokázali dostatečnou stabilitu všech sledovaných parametrů včetně proteinu S, pokud byly uchovávány alespoň při -80 °C a zmražení probíhalo šokově. Při těchto podmínkách byly sledované parametry stabilní po dobu 6 měsíců, kromě krátkodobé anomálie na začátku skladování, kdy APTT, PS aktivita a PS volný antigen byly zvýšené nad nejistotu metody a po určité době se vrátily na úroveň výsledků z čerstvé plazmy (pouze vzorky skladované při -80 °C a méně).

Tato práce potvrzuje význam PS a jeho molekulární diagnostiky pro lepší odhad rizika trombózy u pacientů s vrozeným deficitem a zároveň ukazuje, jakým směrem by mohly být v budoucnu zaměřeny studie tohoto multifunkčního přirozeného inhibitoru koagulace.