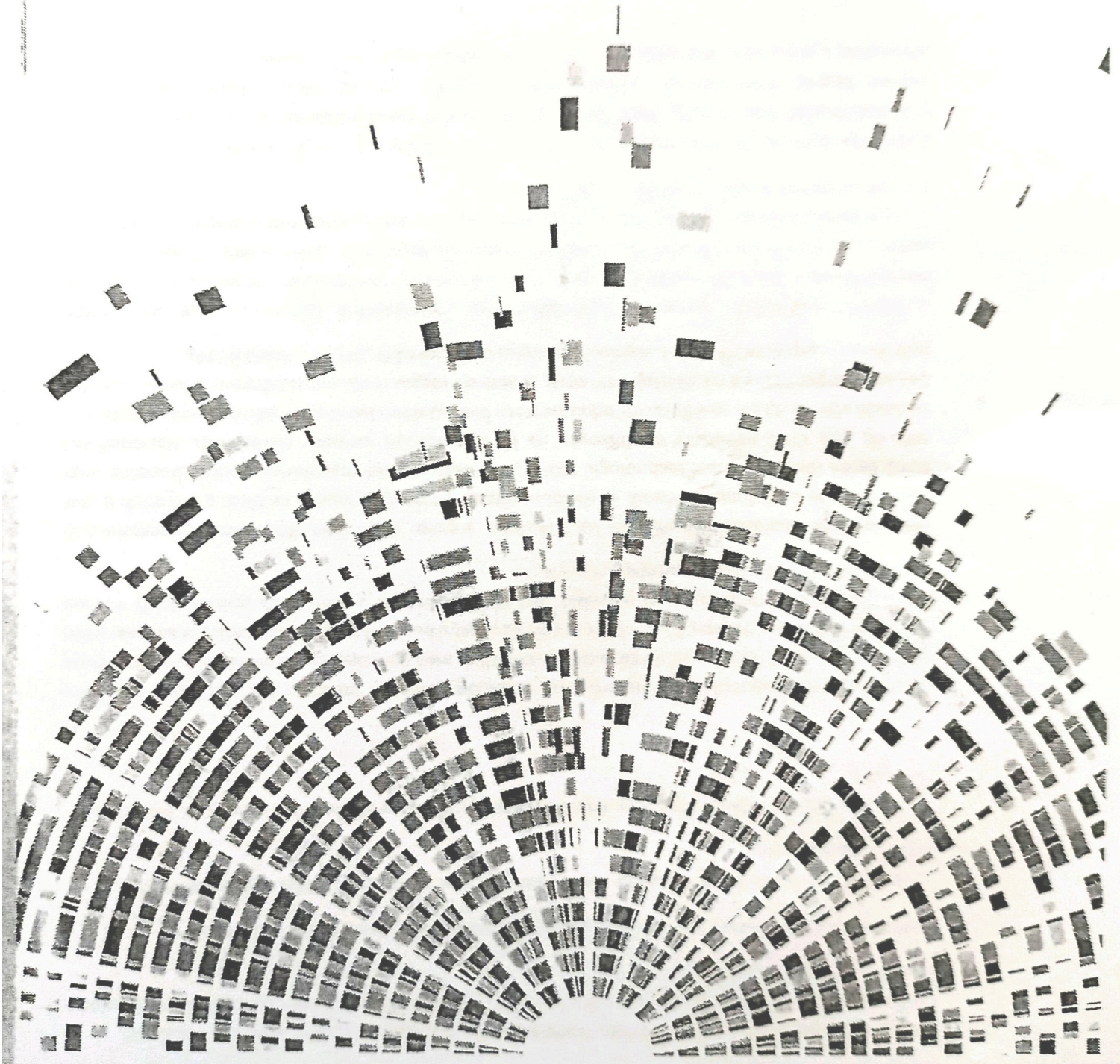
56. VÝROČNÍ CYTOGENOMICKÁ KONFERENCE | SBORNÍK

7. – 8. září 2023 | Clarion Congress Hotel Ostrava



EUC
213 RBP zdravotní pojišťovna
Moravskoslezský kraj
OSTRAVA!!!

Varianta v genu *CYCS* způsobující trombocytopenii 4 zvyšuje kaspázovou aktivitu

Jiří Štika[1,3], Zuzana Vrzalová[1,2], Kateřina Staňo Kozubík[1], Michaela Pešová[1,3], Veronika Palušová[1], Lenka Dostálová[1], Ivona Blaháková[1], Lenka Radová[1], Petra Sedláková[1], Radim Sonnek[1], Michal Šmída[1], Šárka Pospíšilová[1,2,3], Michael Doubek[1,2,3]

[1] Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

[2] Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno a Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

[3] Ústav lékařské genetiky a genomiky, Fakultní nemocnice Brno a Masarykova univerzita, Brno, Česká republika

Vrozené trombocytopenie jsou heterogenní skupinou vzácných onemocnění. Vznikají v důsledku genetických variant ve více než 40 genech účastnících se megakaryopoézy a trombopoézy včetně genu *CYCS* kódujícího cytochrom c (Cycs). Cycs se rovněž účastní buněčného dýchání a aktivace kaspáz, a tím iniciace apoptózy. Doposud bylo popsáno šest různých variant v genu *CYCS* způsobujících mírnou formu onemocnění – trombocytopenii typu 4.

Zde uvádíme variantu NP_061820.1:p.(Thr20Ile) v genu *CYCS* identifikovanou celoexomovým sekvenováním a její funkční dopad. Varianta segreguje s trombocytopenií ve třech generacích u čtyř členů české rodiny. Pomocí technologie CRISPR/Cas9 byl u lidské megakaryoblastické buněčné linie MEG-01 gen CYCS geneticky modifikován na identifikovanou variantu p.(Thr20Ile). Následně byl sledován vliv na: 1) expresi Cycs metodou western blot, 2) mitochondriální aktivitu pomocí testu XFp Cell Mito Stress Test Kit na přístroji Seahorse, 3) aktivaci kaspáz metodou založenou na luminescenci a průtokovou cytometrií (FCM), 4. expresi povrchových antigenů (FCM) a 5) ploidii (FCM).

U MEG-01 s vnesenou variantou p.(Thr20Ile) byla zaznamenána snížená exprese Cycs oproti nemodifikované MEG-01. Snížená exprese Cycs byla rovněž pozorována v trombocytech nositele varianty ve srovnání s trombocyty zdravého jedince. Varianta p.(Thr20Ile) v MEG-01 vedla také ke zvýšené mitochondriální aktivitě a snížené aktivaci kaspáz zaznamenané oběma použitými metodami. Naproti tomu diferenciace a ploidie nebyly ovlivněny.

Z výsledků vyplývá, že námi detekovaná varianta NP_061820.1:p.(Thr20Ile) v genu *CYCS* spojená s trombocytopenií typu 4 vede ke snížené expresi Cycs, zvýšené mitochondriální aktivitě a snížené aktivaci kaspáz. Dříve popsané varianty aktivitu kaspáz zvyšovaly. Snížená kaspázová aktivita je překvapivá a poskytuje nové informace týkající se patofyziologie trombopoézy.

Práce byla podpořena grantovými projekty MZ ČR (grant AZV NU20-08-00137), A-C-G-T z EFRR (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_026/0008448), RRF EXCELES (ID LX22NPO5102), MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705), a MUNI/A/1224/2022.