

Genetická podmíněnost nemocí

- Podstata dědičnosti
- Genetická variabilita
(mutace ■ polymorfismus)
- Monogenní ■ komplexní
nemocí

Historie

- brněnský kněz a středoškolský profesor **Johann Gregor Mendel** se zabýval křížením různobarevných odrůd hrachu

- Genotypové zákony:

- **Zákon o samostatnosti alel**

Genotyp je soubor samostatných genů určujících znaky. Každý znak je určen dvojicí samostatných alel.

- **Zákon o segregaci alel**

Dvojice samostatných alel se při zrání rozcházejí a do každé gamety přechází jedna z obou alel.

- **Zákon o nezávislé kombinaci alel**

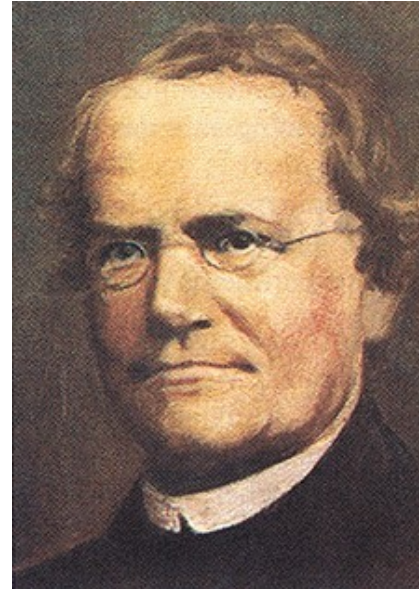
- Fenotypové zákony

- **Zákon o uniformitě hybridů**

Křížíme-li dominantního homozygota s homozygotem recesivním, jsou jejich potomci F1 generace v sledovaném znaku všichni stejní. Reciproká křížení u jakýchkoliv jedinců F1 generace dávají shodné výsledky.

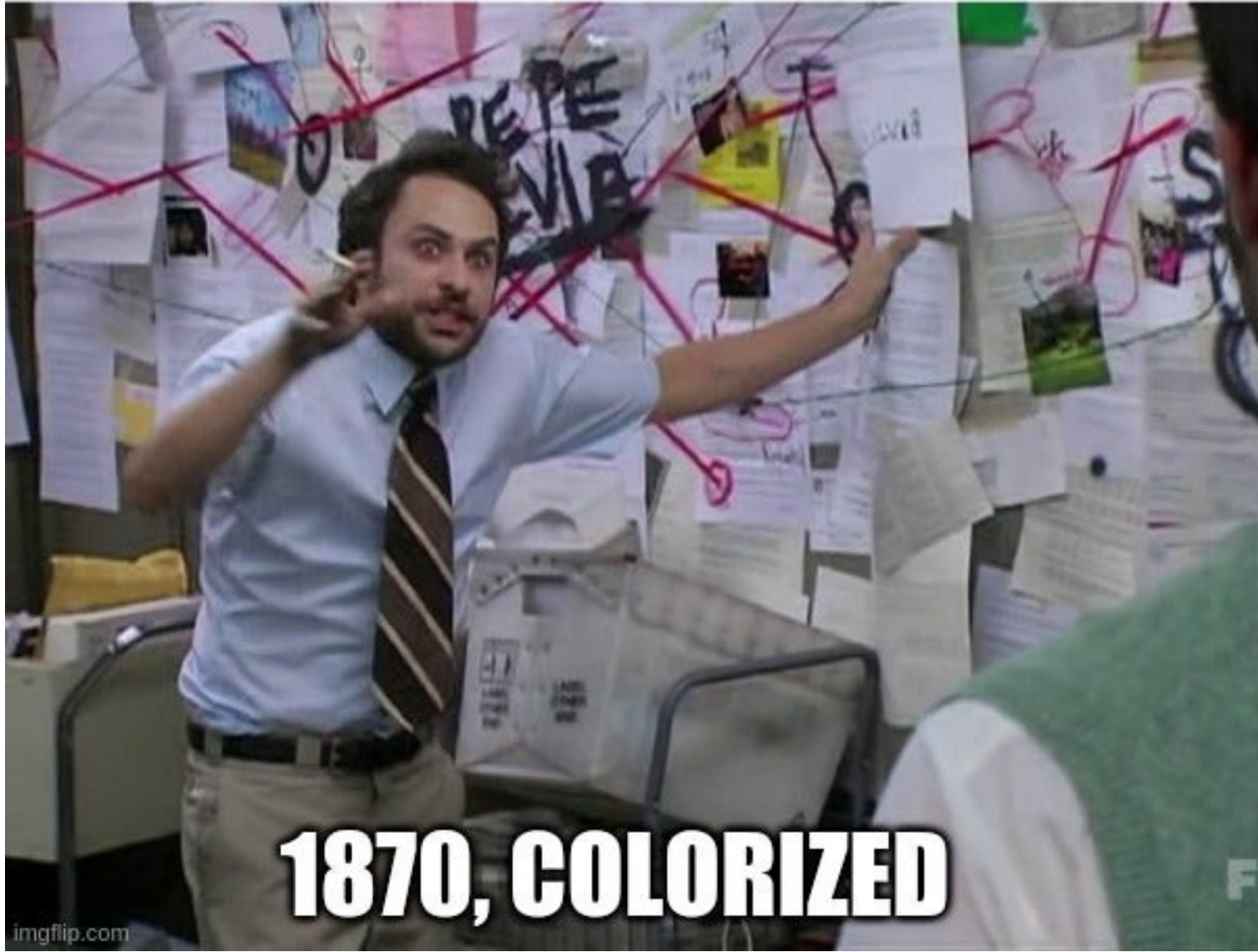
- **Zákon o štěpení v potomstvu hybridů**

Při křížení heterozygotů lze genotypy a fenotypy vzniklých jedinců vyjádřit poměrem malých celých čísel. Vzniká genotypový a fenotypový štěpný poměr.



Historie

GREGOR MENDEL EXPLAINING HIS PEA STUFF TO MORAVIAN FARMERS



Genetika

- specializovaný biologický obor zabývající se variabilitou a dědičností
 - **klinická genetika**
 - zabývá se genetikou patologických stavů
 - zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí (u celé rodiny!)
 - genetické poradenství
 - **lidská genetika**
 - studuje variabilitu a dědičnost u člověka
 - **cytogenetika**
 - studium chromozomů
 - **molekulární genetika**
 - studium struktury a funkce jednotlivých genů
 - **populační genetika**
 - studium proměnlivosti populací
 - **komparativní a evoluční genetika**
 - mezidruhové srovnání a studium evoluce druhů



Genomika



- studuje strukturu a funkci genomů pomocí genetického mapování, sekvenování a funkční analýzy genů
- snaží se o pochopení veškeré informace obsažené v DNA živých organismů
 - **strukturní genomika** = pochopení struktury genomu
 - konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map genomů příslušných organismů
 - reprezentovala zejména iniciální fázi analýzy genomů; konečným cílem byla kompletní znalost DNA sekvence (např. HUGO projekt)
 - **bioinformatika** = shromažďování, analýza a vizualizace biologických souborů dat
 - využívá metod výpočetní techniky, tvorba databází a softwarů
 - **funkční genomika** = studium funkce genů a ostatních částí genomu
 - využívá poznatků strukturní genomiky a snaží se o poznání funkce genů; velmi často k tomu využívá modelové organismy (kvasinka, nematoda, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Mesocricetus auratus* aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů

Drosophila

(zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)



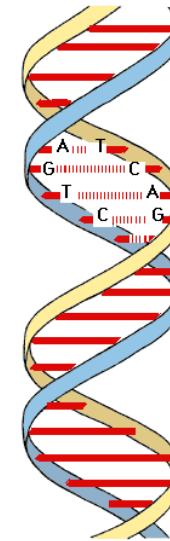
Melanogangster

Chromozomální podstata dědičnosti

- **DNA, RNA, proteiny**

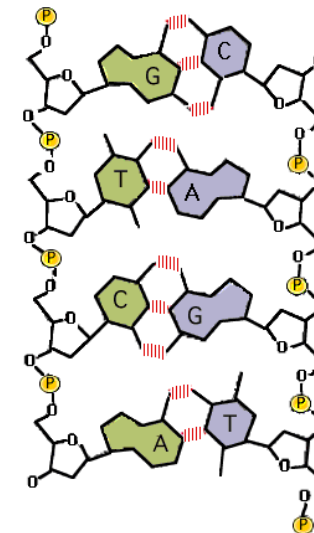
DNA: nese potřebnou informaci potřebnou pro regulaci vývoje, růstu, metabolismu a reprodukce

- složena z nukleotidů (zbytek kys. fosforečné, deoxyribóza a dusíkatá báze [A, G, C, T])
 - DNA kostra – polynukleotidový řetězec
 - zbytky deoxyribózy a kys. fosforečné spojené fosfodiesterovou vazbou
 - DNA dvojšroubovice - 2 polynukleotidové řetězce v opačné orientaci
 - jedno vlákno v 5' → 3' směru, druhé opačně
 - vodíkové vazby mezi páry bází (A=T, G=C)



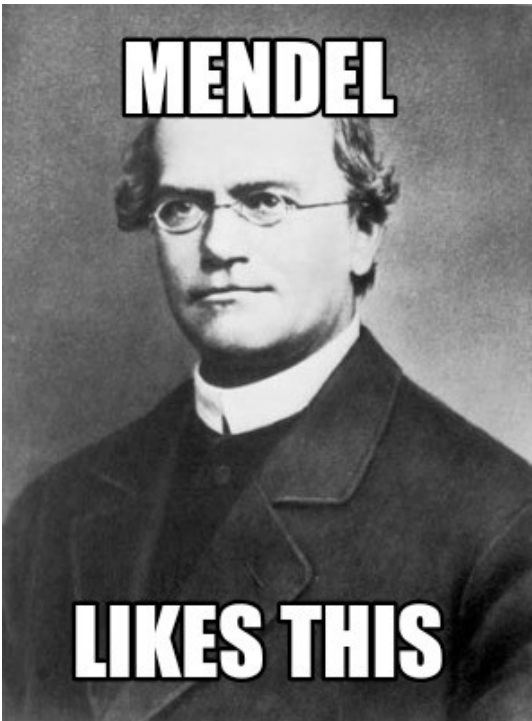
RNA: transport informace z jádra do cytoplazmy

proteiny: základní stavební kameny



Centrální dogma molekulární biologie

MENDEL



LIKES THIS

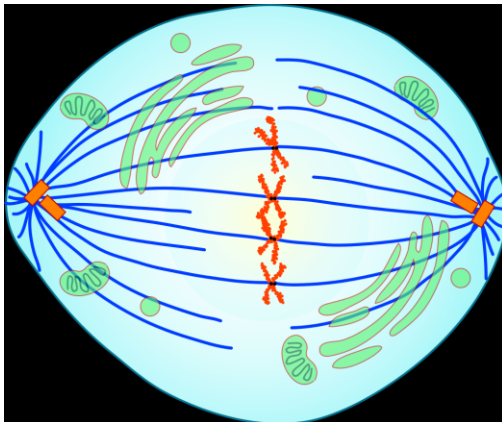
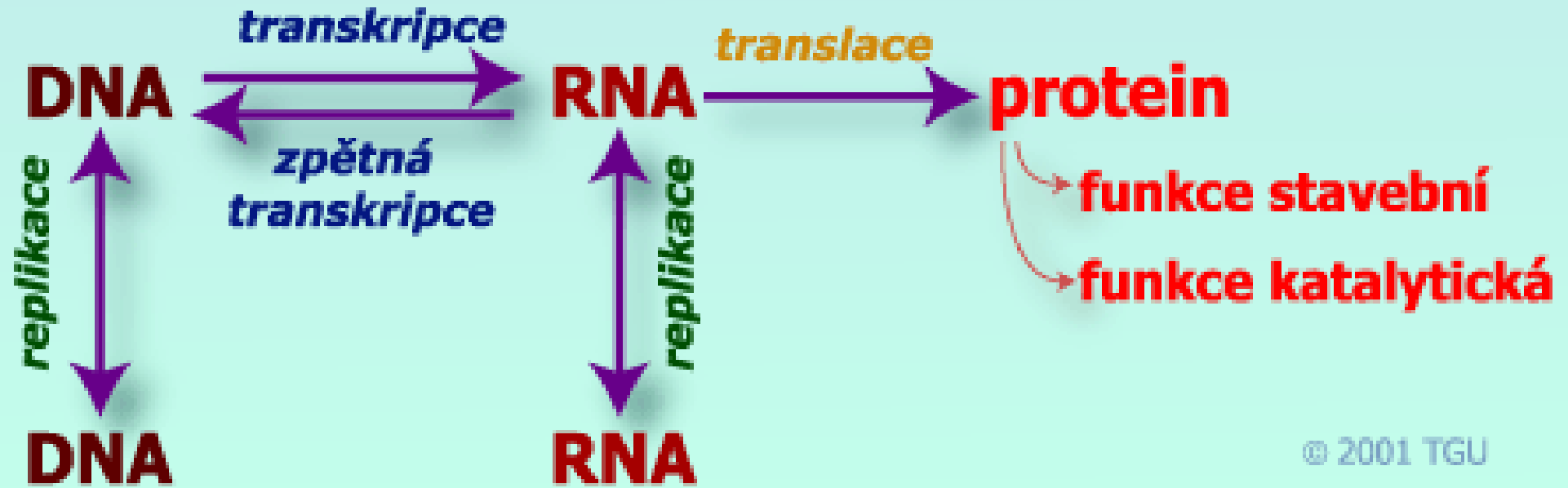


Schéma ústředního dogmatu molekulární biologie

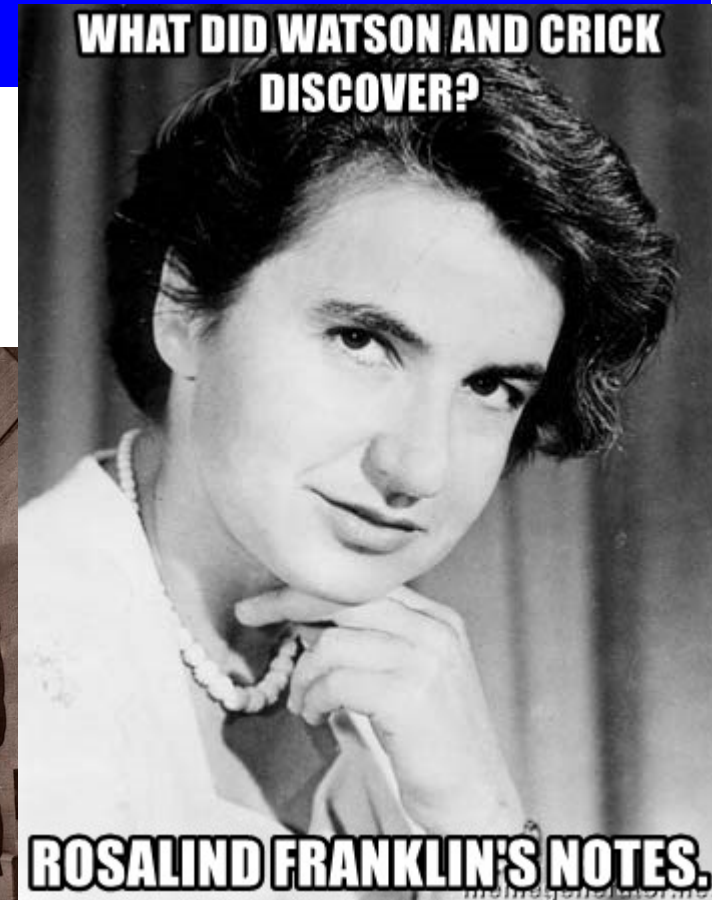
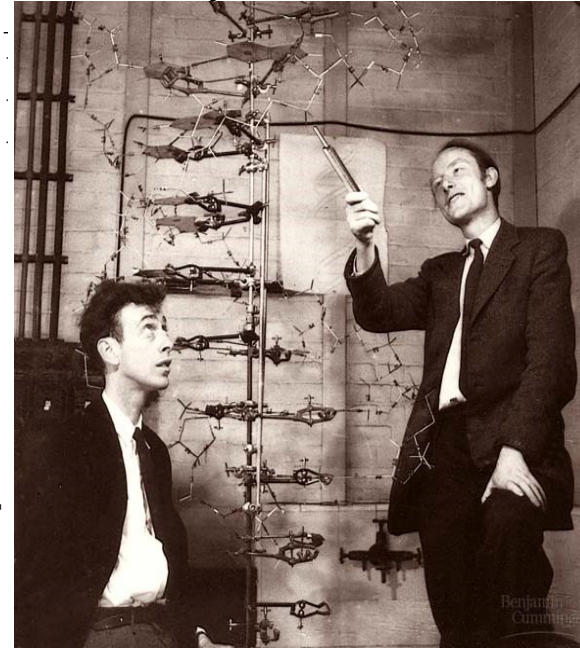
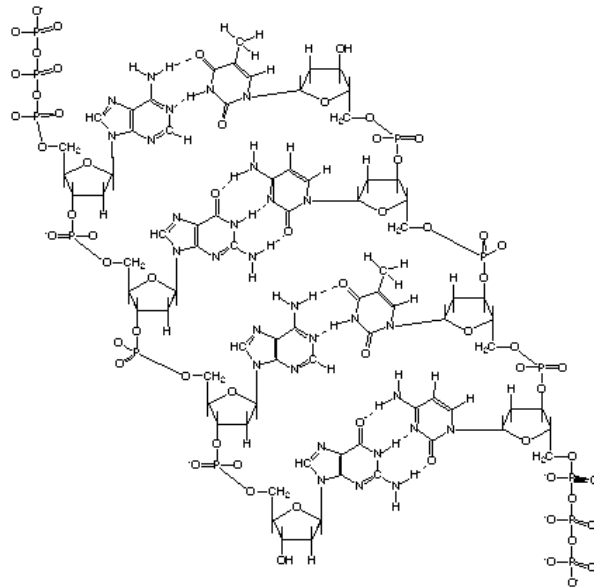


© 2001 TGU

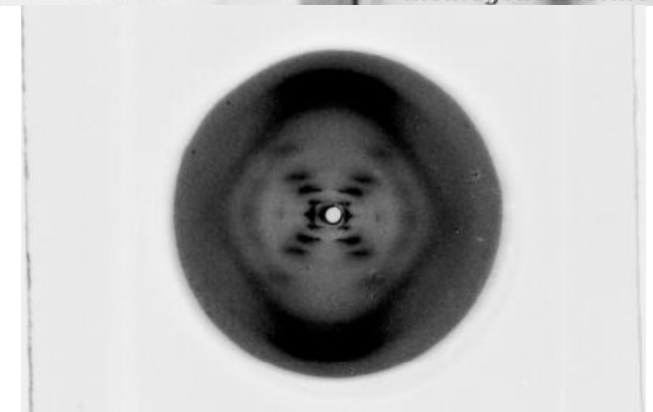
+ epigenetické faktory

DNA

- molekula DNA jako taková byla objevena v roce 1869, kdy se švýcarskému lékaři Friedrich Miescherovi podařilo vyizolovat DNA z bílých krvinek



- 1962 obdrželi společně Francis Crick, James Watson a Maurice Wilkins Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství. Rosalyn Franklin se pro tragické úmrtí této ceny nedočkala.



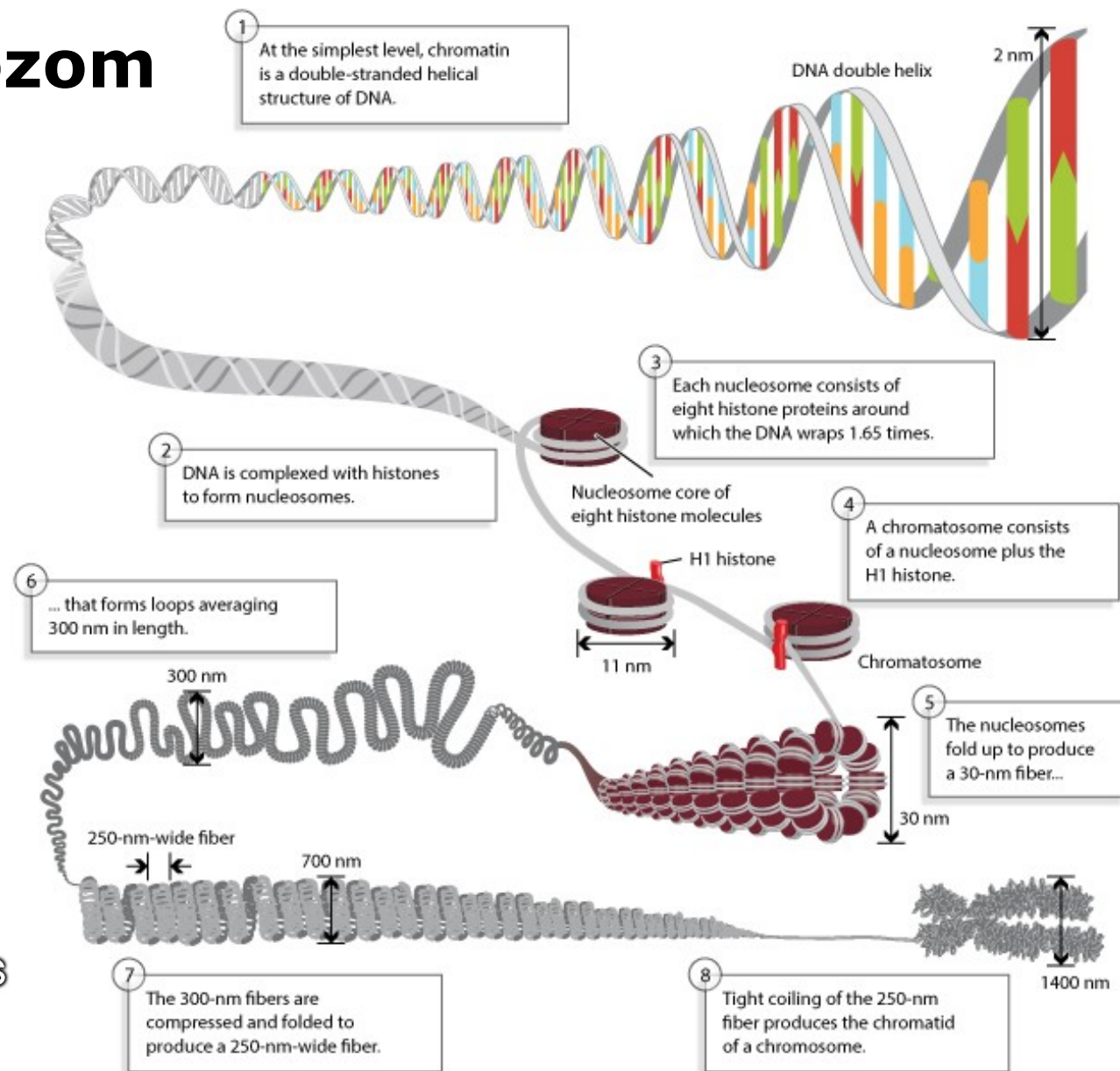
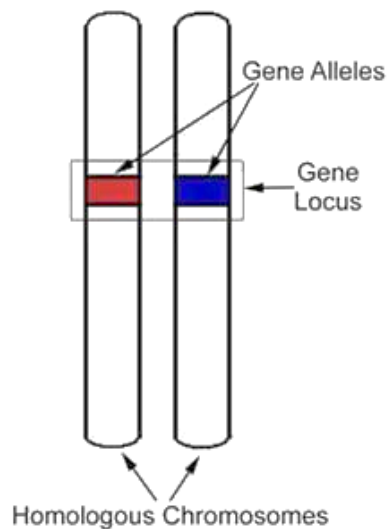
Základní genetické pojmy

- **gen, alela, genom, chromozom**

- lokus
- alely
- dominantní
- recesivní

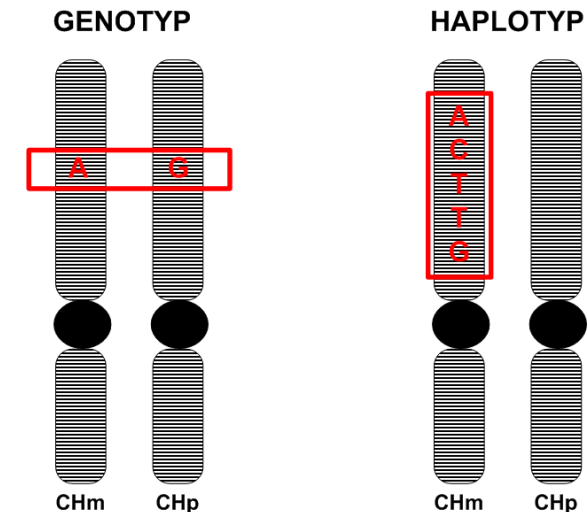
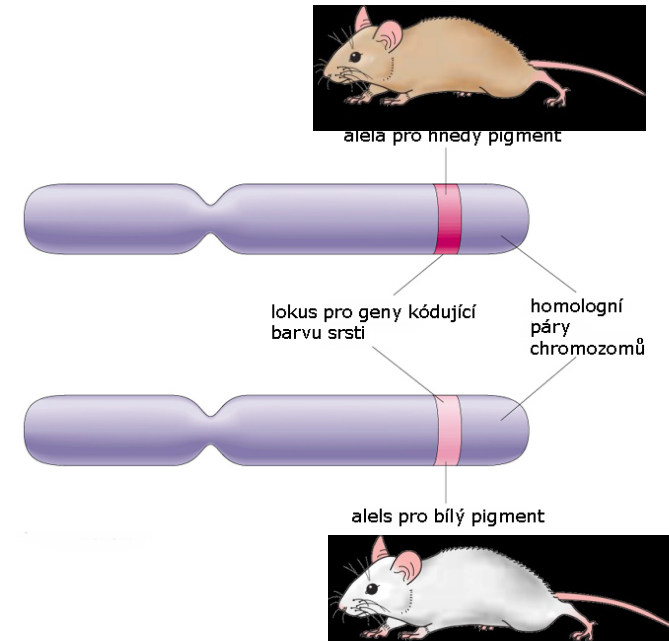
- homozygot
- heterozygot

- genotyp
- fenotyp



Gen ■ alela ■ genotyp ■ fenotyp

- **gen** – základní jednotka dědičnosti
 - **genové rodiny**
 - sekvenčně podobné geny, které vznikly zřejmě duplikací během evoluce
 - např. geny pro hemoglobiny, imunoglobuliny, některé enzymy, ...
 - **pseudogeny**
 - podobné konkrétním genům ale nefunkční
- každý gen je umístěn na konkrétním místě konkrétního chromozomu = **lokus** (např. 12q21.5)
 - lokalizace genů je u všech lidí stejná, sekvence ale ne!
- **alela** – konkrétní varianta genu
 - v populaci se pro naprostou většinu genů vyskytuje vícero variant (= alel), které mohou být různě časté = **genetický polymorfismus**
- **genotyp** – kombinace alel v určitém lokusu na paternálním a maternálním chromozomu diploidního genomu
- **haplotyp** – lineární kombinace alel na jenom z homologních párů chromozomů
- **fenotyp** – vnější projev (vyjádření) genotypu
 - znak – jednoduše měřitelná, většinou spojitá proměnná
 - fenotyp – sbor znaků
 - intermediární fenotyp – podobný znaku, ne vždy musí být spojitý



Gen

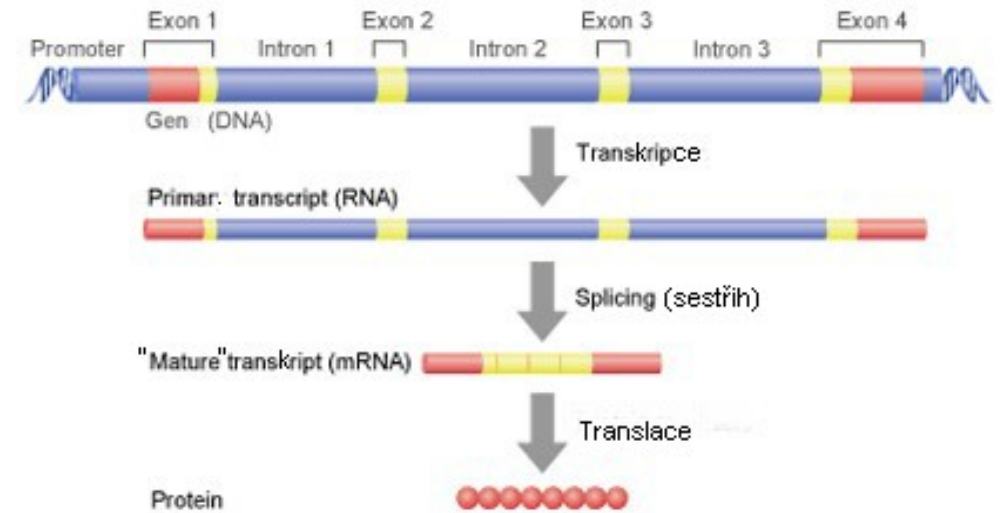
základní jednotka dědičnosti

konkrétní úsek molekuly DNA nesoucí informaci pro tvorbu proteinu nebo NA
(rRNA, tRNA...)

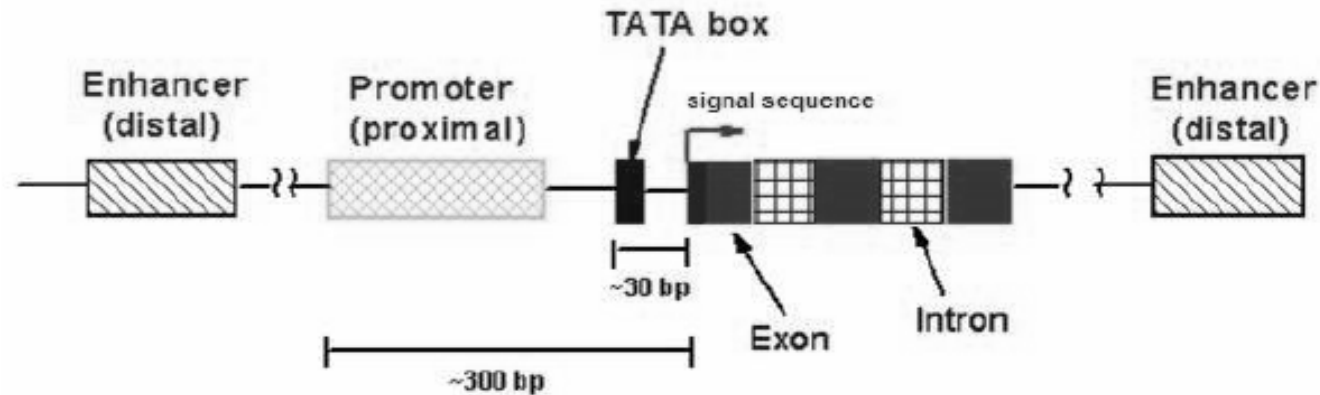
- geny strukturní
- geny pro RNA
- geny regulační (promotory)
- **exony** = funkční úseky genu, které jsou přepisovány do mRNA a dále translatovány při proteosyntéze
- **introny** = úseky genu, jejichž funkce dosud nebyla zcela objasněna a které nejsou využívány pro translaci

Dle jejich obsahu geny dělíme na:

- **jednoduché - obsahují pouze exony**
- **složené - obsahují i introny**
- **genové rodiny** = sekvenčně podobné geny, které vznikly zřejmě duplikací během evoluce, např. geny pro (hemo)globiny, imunoglobuliny...



Struktura genu



- Introny a Exony
- Promotor
- Enhancer a Silencer
- Počátek transkripce
- Transkripční faktory
- Signální sekvence

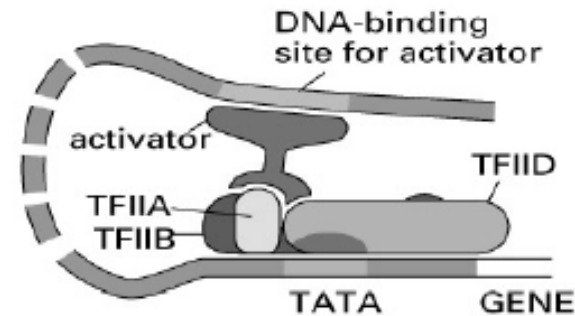


Figure 7-44. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Introny a Exony: Kodující sekvence (ORF) mnoha eukaryotických genů je přerušena sekvencí známou jako **introny**. Introny jsou úseky DNA jejichž transkripty nejsou přítomny ve zralé mRNA. **Exony** jsou části sekvence přítomné ve zralé mRNA a kodují produkt eukaryotického genu.

Struktura genu

Místo počátku transkripce: místo kde začíná syntéza mRNA (pozice 0, -30bp od TATA boxu) .

Promotor: Oblast genu (5'-konec) upstream od místa počátku transkripce sloužící jako templát pro navázání transkripční jednotky a iniciaci transkripce. **Inducibilní promotor** – je závislý na přítomnosti induktoru (nízkomolekulární látka). **Konstitutivní promotor** – nezávislý (provozní „house keeping“ geny).

Enhancer: Část sekvence genu která interaguje s transkripčními faktory a tak zvyšuje účinnost transkripce. Je umístěna upstream nebo downstream od kódující sekvence a může být stovky bází daleko od kódující sekvence kterou kontroluje.

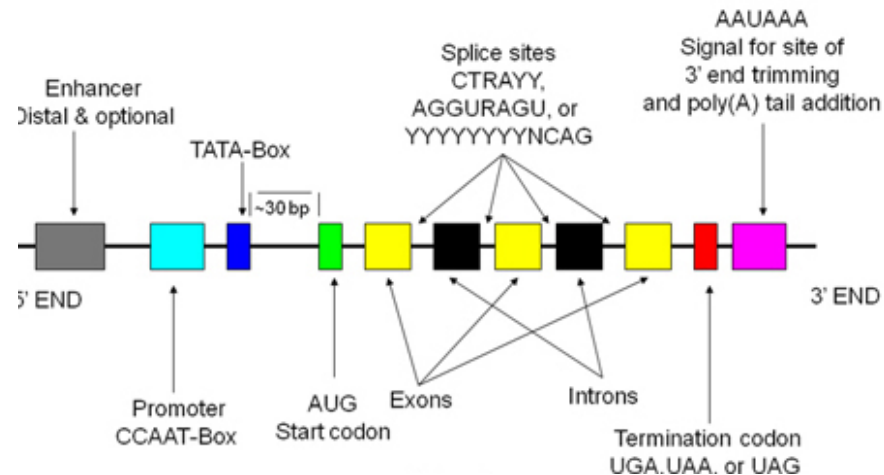
Silencer: Opak enhanceru.

Transkripční faktory: Proteiny interagující se specifickou sekvencí DNA, většinou ovlivňující terciální strukturu DNA a tak regulují transkripční jednotku. Jsou buď aktivátory nebo represory viz výše.

Např. HIF, NF-κB,...

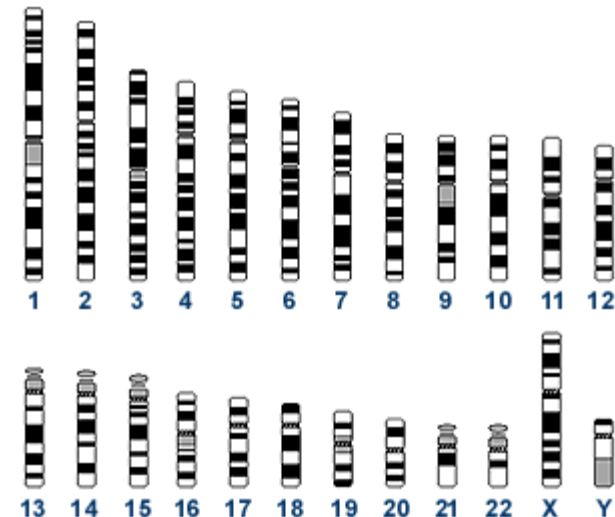
Koaktivátory: Proteiny interagující s transkripčními faktory (ale ne s DNA) regulující transkripci.

Signální sekvence: kóduje signální peptid, který předurčuje zacílení proteinu na buněčné úrovni a následně se odštěpuje.

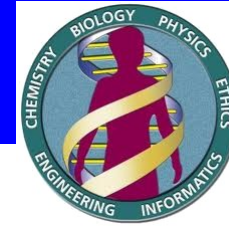


Karyotyp člověka

- každý biologický druh má svou charakteristickou chrom. výbavu (počet a morfologii) = **karyotyp**
 - u člověka mají somatické **diploidní** - 46 chromozomů
 - 22 párů homologních autozomů
 - 1 pár gonozomů (44XX nebo 44XY)
 - gamety (vajíčko, spermie) 23 – **haploidní**
 - standardní klasifikace číslováním podle velikosti
- zpracování vzorku buněk pro karyotyp
 - nejlépe hodnotitelné jsou kondenzované chromozomy v metafázi nebo prometáfázi mitózy
 - lymfocyty perif. krve nutno uvést do mitózy mitogenem a zastavit v metafázi např. colchicinem
 - barvením chromozomů (např. Giems) se dosáhne charakteristického pruhování a tím rozlišení jednotlivých chromozomů
- hodnocení karyotypu
 - manuální – obarvený chromozomový "rozptyl" (nejč. mitotické lymfocyty) se po obarvení vyfotí, vystřihnou a seřadí do párů
 - automatizované (mikroskop + software)



Lidský genom



- **Human Genome Project** (HUGO) – James D. Watson
v r. 2001 zveřejnění prvních výsledků

(The first complete human genome was only decoded in 2007)

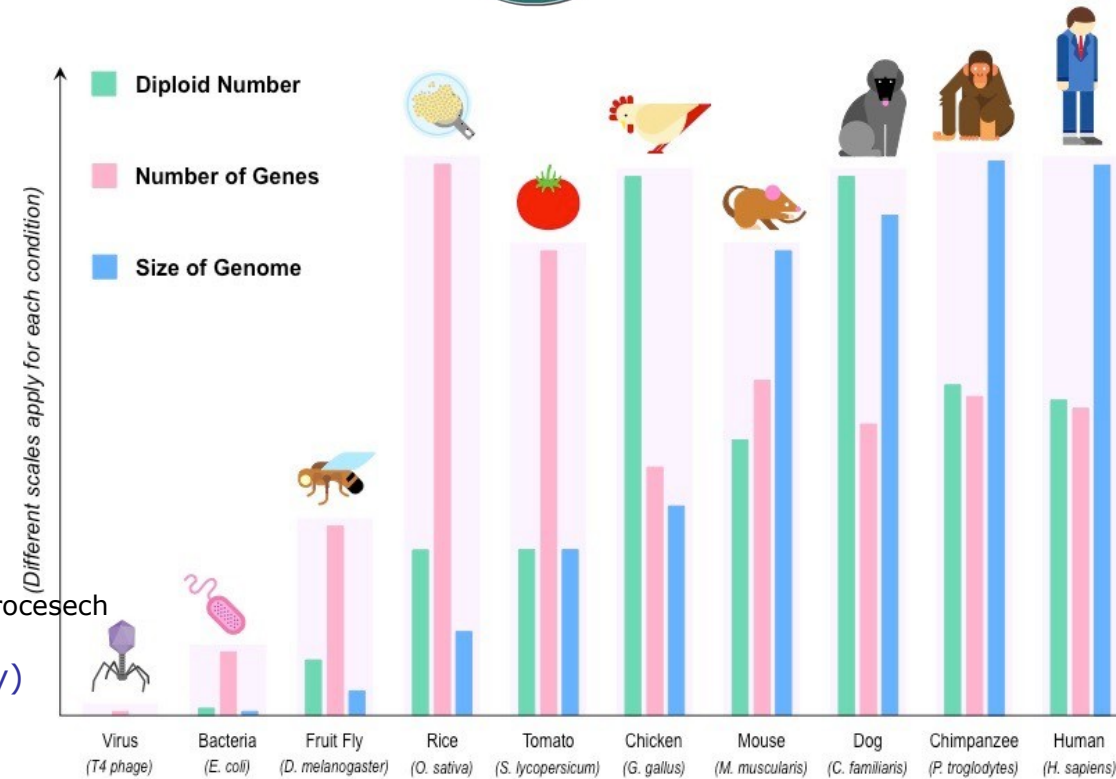
haploidní genom obsahuje cca 3.3×10^9 bp

- **gen** = konkrétní úsek molekuly DNA nesoucí informaci pro tvorbu proteinu nebo NA (rRNA, tRNA...).
~ 21 tisíc genů (2011) + alternativní splicing
- **pseudogen** = sekvence DNA, která je podobná genu, ale nedochází k jejímu přepisování v RNA (transkripci)
~ 20 tisíc pseudogenů
- **genom** = soubor všech genů v jedné buňce,
genom jaderný a mitochondriální (mtDNA)
několik desítek genů kódujících proteiny zapojené v mitochondriálních procesech
přenos pouze od matky!

v jádru diploidní lidské buňky 22 párů chromozomů (autozomy)
a pár pohlavních chromozomů X/Y (gonozomy) = karyotyp

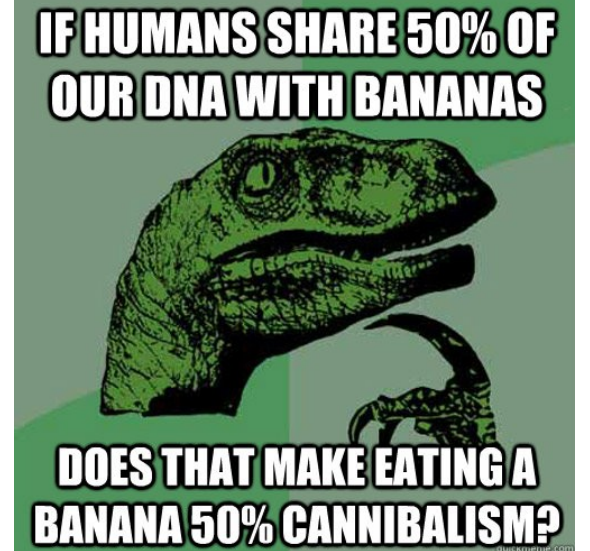
- hustota genů na jednotlivých chromozomech heterogenní
 - pouze ~ 10 % kódující sekvence, ~ 2 % kóduje proteiny
 - ~ 75 % se skládá z jedinečné (neopakující se) sekvence
 - zbytek repetitivní sekvence

nejasná funkce, zřejmě udržují strukturu chromozomů,
možná jsou "evoluční rezervou"

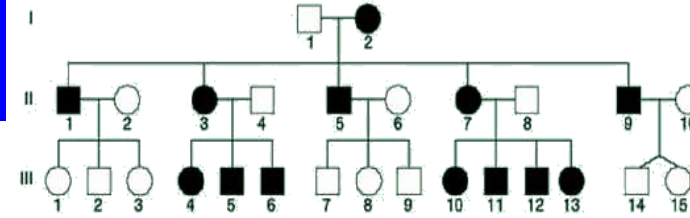


Jak velký genom sdílí člověk s banánem?

- 50% - 60%
 - Most DNA is involved in production of proteins, enzymes for creating or breaking down sugars, for building cellular structures and processes, etc. etc.
 - Structure of the hemoglobin pigment (a protein) has a lot of common code with the structure of the chlorophyll pigment. the same basic molecule structure was basically readapted for two very different functions
 - lot of DNA has no function called "junk DNA."
 - It's this junk DNA that's really a tell-tale sign of common ancestry. Why else would there be common sequences of base-pairs in the DNA, that are present in both species, but serves no function in either species?
-
- 90% identita savců, 99,9% identita mezi lidmi

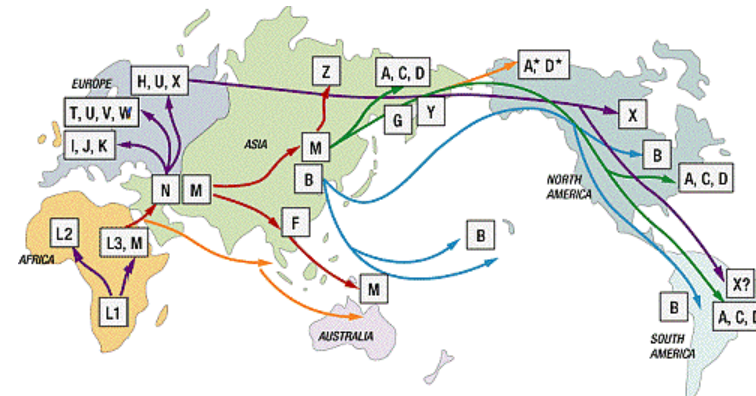
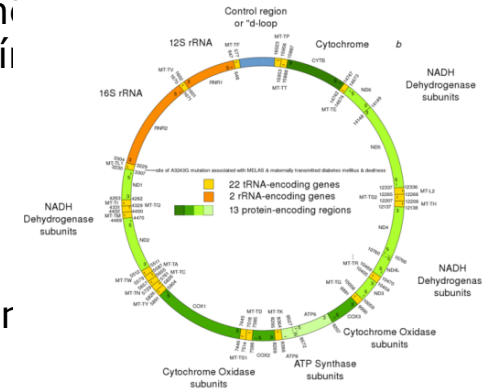


Mimojaderná DNA



mitochondriální DNA

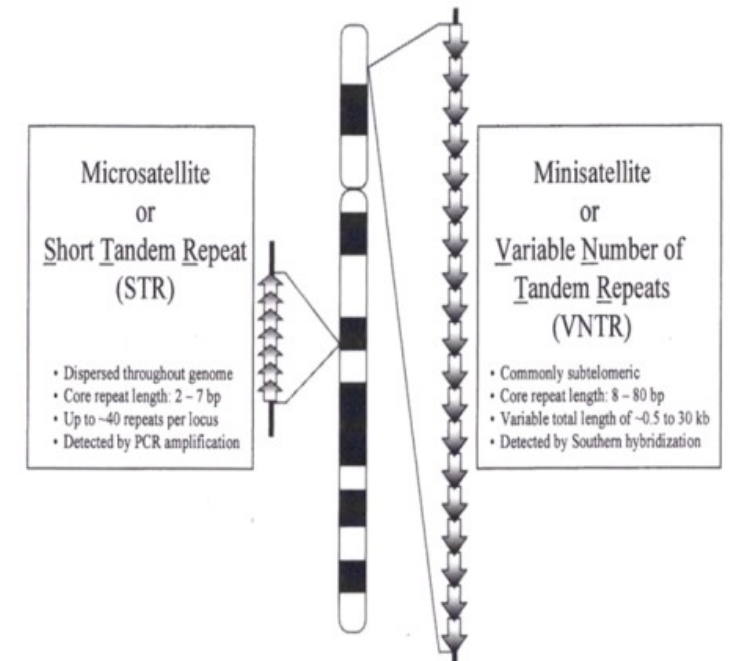
- původ: alfaproteobakterie pohlcena eukaryotickou buňkou
- mnoho genů během evoluce bylo z mtDNA horizontálně přeneseno do buněčného jádra (geny v jádře kódující různé mitochondriální proteiny silně připomínají bakteriální proteiny)
- ~ 16,5 tisíce bp
- kóduje 37 genů
 - 24 genů pro různou nekódující RNA
 - 13 genů kóduje vlastní mitochondriální polypeptidy zapojené v mitochondriálních procesech (využívány během oxidativní fosforylace)
- maternální dědičnost
- genetické analýzy: na základě mtDNA určena migrace lidstva - „mitochondriální Eva“, která žila ~ před 140 000 lety v místech dnešní Etiopie, Keni nebo Tanzanie



Repetitivní sekvence

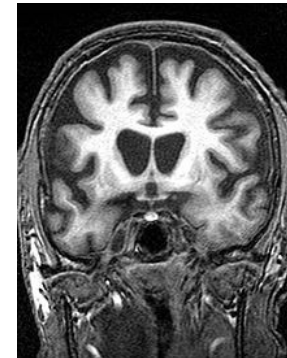
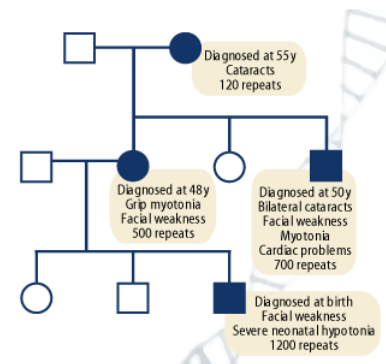
Repetitivní sekvence = DNA s vysokým množstvím kopií

- se podílí na formování vyšších nukleoproteinových struktur, jako jsou telomery nebo centromery
 - při chromozomových přestavbách, mají vliv na regulaci genové exprese při procesu zvaném RNA interference, zajišťují ochranu konců lineárních chromozomů, řídí správný průběh mitotického i meiotického dělení buňky
 - zřejmě udržují strukturu chromozomů, možná jsou "evoluční" rezervou
-
- **rozptýlené**
vs.
 - **tandemové** = za sebou jdoucí identické repetice, VNTR
 - mikrosatelity – opakování 1- 5 bp
 - minisatelity - v rozsahu kilobází, které se více vyskytují v subtelomerických oblastech chromozomů
 - genetické markery

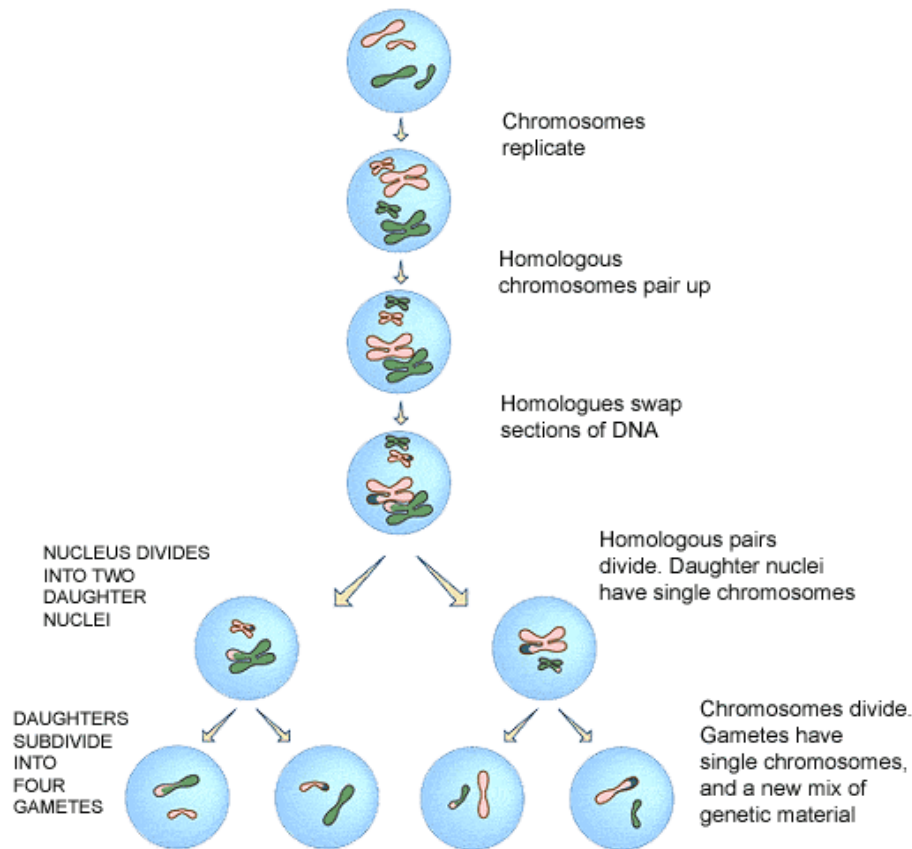


Repetitivní sekvence-význam

- **Huntingtonova choroba**, fatální neurologické onemocnění s nástupem v dospělosti, projevující se jako demence s extrapyramidovou poruchou motoriky. V genu pro huntingtin je repetitivní sekvence (CAG)_n, která kóduje úsek bílkoviny tvořený zbytky glutaminu (polyglutaminový úsek, polyglutamine tract). Za normálních okolností mají lidé méně než 20 trinukleotidů CAG a tedy i glutaminů v huntingtinu, kde tyto tvoří důležitou doménu pro interakce s jinými proteiny. Pokud se však mutací toto množství zvětší nad 30 glutaminů, protein nepracuje správně s výsledným progresivním odumíráním neuronů v nucleus caudatus.
- **myotonické dytrofie** (svalová dystrofie se svalovou slabostí provázenou paradoxně zvýšeným svalovým tonem) se nachází patologická expanze trinukleotidu CTG v 3 nepřekládané oblasti genu DMPK (dystrophia myotonica protein kinase). Mutantní mRNA má sama o sobě patogenní potenciál.
- expanze trinukleotidových repetit



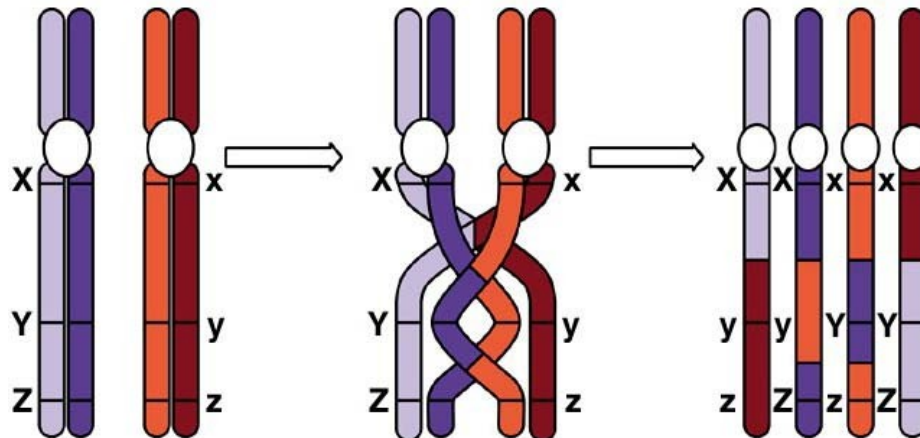
Genetická variabilita (~0.1%)



- DNA sekvence kódujících i nekódujících úseků genomu je variabilní
- v populaci pro daný gen vyskytuje vícero variant (= alel) s různou populační frekvencí = **genetická variabilita**, která je výsledkem několika procesů
 - 1) sexuální reprodukce
 - 2) nezávislé meiotické segregace
 - 23 párů ch. $\rightarrow 2^{23}$ kombinací = 8,388,608 různých gamet
 - 3) rekombinace (meiotický crossing-over)
 - >> kombinací než 8 miliónů
 - 4) mutageneze *de novo*
 - chyba při DNA replikaci
 - proof-reading DNA polymerázy ani mismatch DNA repair není 100%
 - působení externích mutagenů
 - 5) genetický drift
 - 6) přirozená selekce

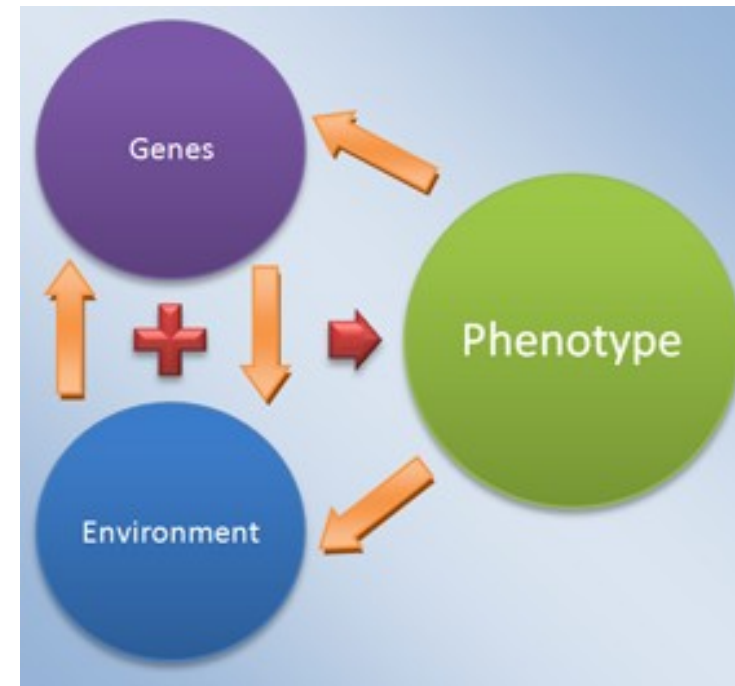
Crossing-over a rekombinace

- při meióze získává každá gameta **náhodně** 1 z páru homologního chromozomu - paternálního (CHp) nebo maternálního (CHm)
 - při celkovém množství 23 páru je tedy teoreticky možných 2^{23} kombinací (= 8,388,608 různých gamet)
- ve skutečnosti ale gameta obsahuje směs homologního CHm a CHp chromozomu v důsledku procesů během prvního meiotického dělení = **crossing-overu** a **rekombinace**
 - takže např. alely, které původně pocházely od různých prarodičů, mohou být na jednom chromozomu
 - vzniká tedy mnohem vyšší počet kombinací než 8 milionů
- **pravděpodobnost rekombinace** ale není pro každý úsek DNA stejná, ale záleží na vzdálenosti
 - čím blíže jsou geny u sebe tím menší je pravděpodobnost rekombinace
 - vzdálenost se může udávat i v centimorganech (1cM = 1% pravděpodobnost rekombinace)
- existence **haplotypů**
 - lineární kombinace alel (SNPs) na vícero sousedních lokusech jednoho z homologních chromozomů přenášená pohromadě (∅ rekombinace)
 - statistická asociace mezi DNA variantami
 - na dané chromatidě se tedy vyskytují skupiny těsně vázaných variant = **haplotypové bloky**

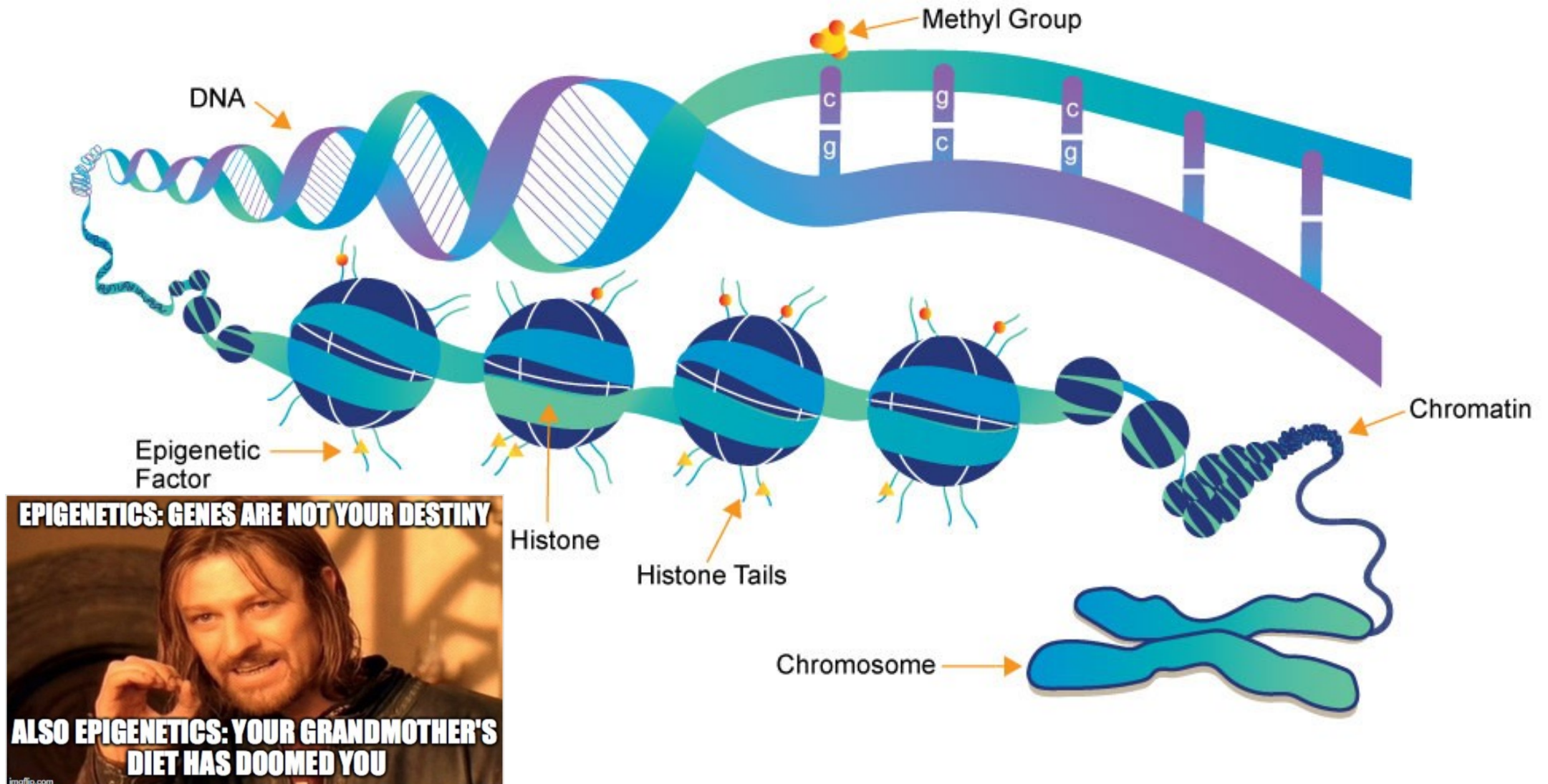


Vliv prostředí na lidský genom

- Genetická výbava jedince je sice osudově zadána v okamžiku zplodění, ale není pro další život konečná, protože v průběhu života se může měnit jak pod vlivem čtených faktorů **epigenetických** (vlivy prostředí), tak pod vlivem **dalších faktorů genetických** (např. mutacemi somatických buněk v průběhu maligní transformace).
- **Biologické mutageny:**
onkogenní viry: adenoviry, herpes viry, virus Epstein-Barr, Rousův sarkomální virus a Rauscherův virus leukémie
- **Fyzikální mutageny:**
záření (rentgenové, gama, UV – tvorba thymidinových dimerů)
- **Chemické mutageny:**
organické, alkylační činidla (ATB), anorganické látky, alkaloidy, kationty těžkých kovů, peroxidy, dusitany, aromatické chlorované deriváty, volné radikály (O·)



Epigenetické faktory



Genetická proměnlivost

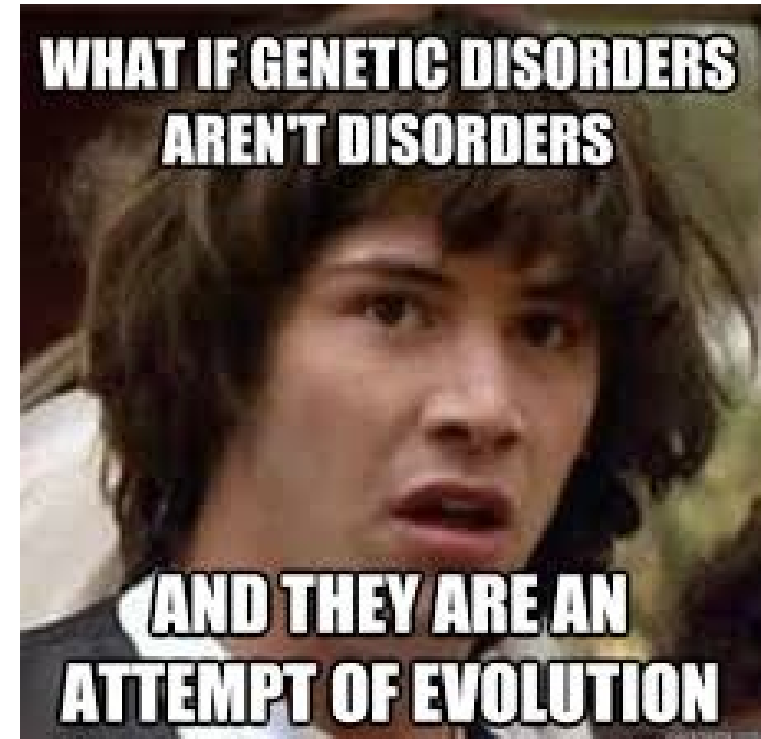
- je zdrojem individuální variability (vytváří se nové kombinace alel):
 - segregace alel při vzniku gamet
 - rekombinace při crossing-overu
 - vznik náhodných kombinací alel při oplození

Mutace

- procesy, při kterých se mění počet alel (mění se kvalita a kvantita genů)
- **mutageneze** = proces vzniku mutací
- mutace = náhodné změny genotypu, změna genetické informace, poměrně vzácné

Typy mutací (indukované nebo spontánní, ty mají četnost $\sim 10^{-7}$, oprava polymerázou a proteinem p53):

- **Genové mutace**
- **Chromozomové mutace (genomové mutace) = aberace**

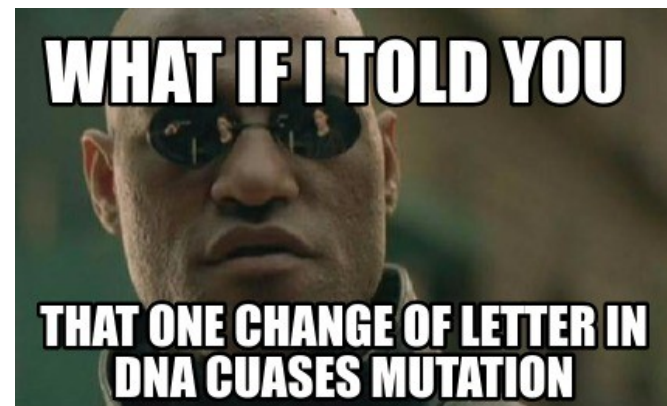


Vzácné mutace a polymorfismus

- **vzácné mutace** - jsou výrazně patologické a tudíž jsou z populace odstraňovány selekcí, nebo vznikly nedávno a nestačily se v populaci rozšířit), vyskytuje se v populaci méně než v 1 %
- **polymorfismus** – nukleotidová záměna, jsou základem interindividuální variability jedinců, v jediném genu je často mnoho polymorfizmů, jejich kombinace tvoří haplotypy, vyskytuje se v populaci více než v 1 %. Představují 90% veškeré variability mezi jedinci.
 - **SNP** = jednonukleotidový polymorfismus - bialelické
 - **minisatelitní a mikrosatelitní polymorfismy** - multialelické

Germinativní a somatická mutace

- **germinativní mutace** - přenášeny na potomstvo (často příčinou zániku plodu), u potomka přítomny ve všech buňkách, mají vliv na vývoj druhu, „úspěšnost“ germinativní mutace 1:100000
- **somatické mutace** - vznikají v somatických buňkách v průběhu života (maligní transformace x žádný fyziologický vliv)



Genové mutace

- mění jednotlivé geny (alely), většinou jsou indukované
- podstata je molekulární, mění se struktura DNA, ale nenarušuje se celistvost stavby chromozomu
- v somatických nebo v pohlavních buňkách
- mutace v regulačních genech pro množení a diferenciaci → nádorového onemocnění
- **bodové mutace - substitute** = záměna páru nukleotidu za jiný (→ změna AA sekvence, změna v regulaci, ovlivnění transkripce a translace... nebo tvorba STOP kodonu)
- **delece/inzerce** = ztráta/zařazení nukleotidů (→ možný posun čtecího rámce), spíše v intronech

**insertion mutations
be like**



Genové mutace

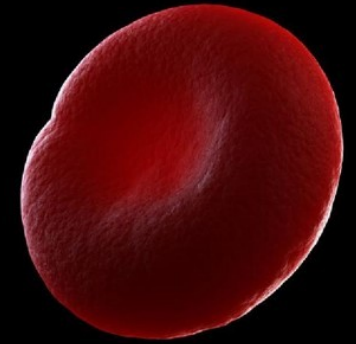
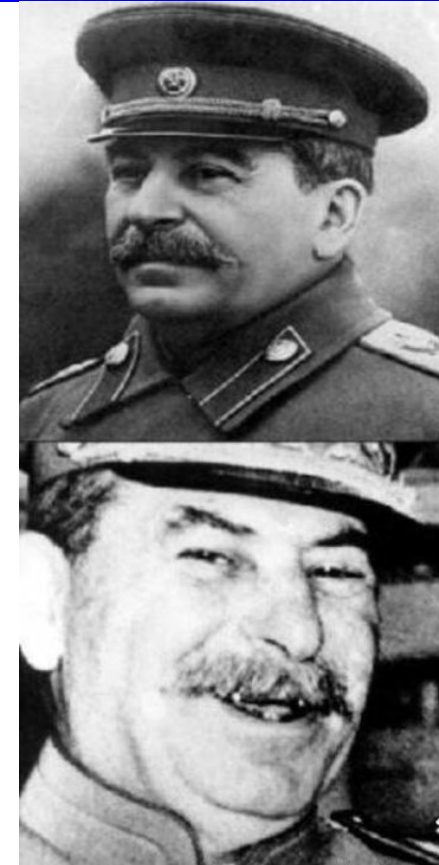


Srpkovitá anemie

- missense mutace genu pro hemoglobin na 6. pozici v β -řetězci (hydrofóbní valin místo hydrofilní glutamové kyseliny, tvorba shluků Hb a tím změna tvaru ery) → HbS
- autosomálně recesivní

	ancestral	mutant
DNA	-CTC-	-CAC-
mRNA	-GAG-	-GUG-
AA	-glu-	-val-

- Srpkovité červené krvinky mnohem hůř přenášejí kyslík. Lidé se srpkovitou anémií mají proto ve srovnání s obyčejnými lidmi červenýchrvinek víc. **To jim dává proti malárii velkou výhodu, díky níž mají lepší šanci přežít.**



Normal Blood Cell



Sickle Cell

Genové mutace

β^0 thalasemie

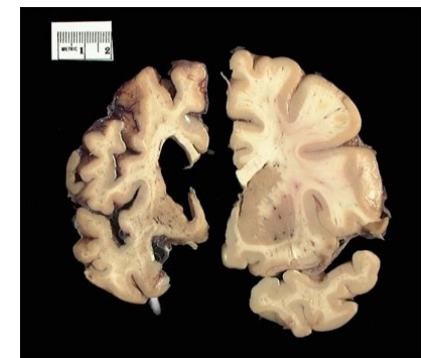
- nonsense mutace pro Hb – chybná syntéza jednoho z řetězců globinu
- autozomálně recesivní

	ancestral	mutant
DNA	-AGT-	-ACT-
mRNA	-UCA-	-UGA-
AA	-ser-	-STOP

Huntingtonova choroba

- trinukleotidová expanze

	ancestral	mutant
DNA	...TAC-GTC-...	...TAC-(GTC-GTC-GTC) ₂₀ -GTC-...
mRNA	...-AUG-CAG-...	...-AUG-(CAG-CAG-CAG) ₂₀ -CAG-...
AA	...-met-gln-...	...-met-(gln-gln-gln) ₂₀ -gln-...



Genové mutace

Hemofilie A

= nedostatek srážecího faktoru VIII

- inzerce 3000 bp – snížení tvorby proteinu
- gonozomálně recesivní – vazba na X chromozom
- žena je přenašečka



Member of European Royalty-
Alas! My baby has hemophilia!

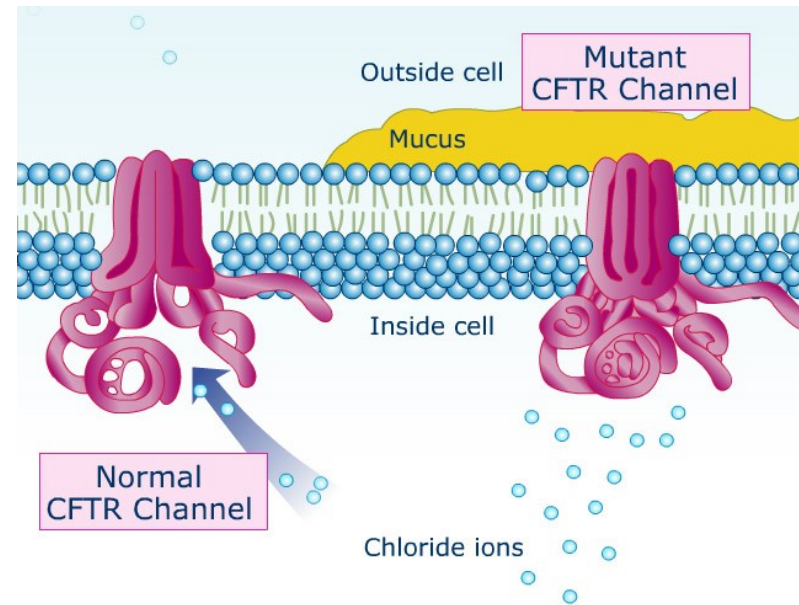
Queen Victoria-



Genová mutace

Cystická fibróza

- deleční mutací genu produkujícího protein CFTR (chloridový ABC transportér na buň. membráně) → nefunkční protein
- delece 3 bp v pozici 1652 až 1655 v exonu 10 (delece phe v kodonu 508)
- autozomálně recesivní

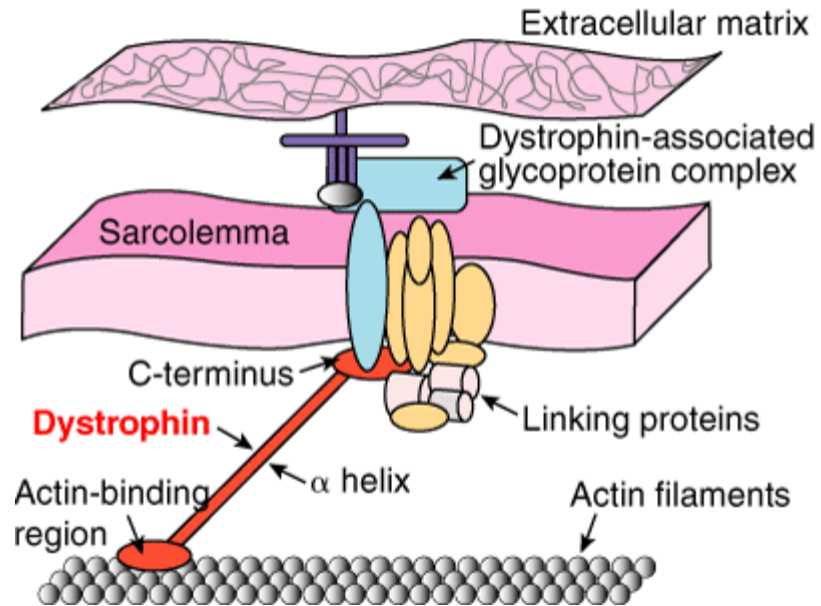


	ancestral	mutant
DNA	-TAG- AAA -CCA-	-TA A-CCA-
mRNA	-AUC- UUU - GGU-	-AUU-GGU-
AA	-ile- phe -gly-	-ile-gly-

Genová mutace

Duchennova svalová dystrofie

- „frameshift“ mutace = posun čtecího rámce v genu pro protein dystrofin
- gonozomálně recesivní – vazba na X chromozom



	ancestral	mutant
DNA	-CAC-TGT	-CAC-TTG-T..-
mRNA	-GUG-ACA-	-GUG-AAC-U..-
AA	-val-thr-	-val-asp-

Chromozomové mutace - aberace

- nemění strukturu samotných genů, ale mění strukturu chromozomů.
- dají se pozorovat ve světelném mikroskopu
- mohou být překážkou normálního průběhu meiózy a jimi postižené gamety mohou být sterilní nebo mohou po splynutí vznikat neživota schopné zygoty.

Strukturní chromozomové aberace

- následkem chromozomových zlomů, na které navazuje určitá přestavba. Primární je tedy porucha struktury, přičemž původní množství genetického materiálu může - ale nemusí - být zachováno. Dělíme je na **balancované** (kdy je zachováno původní množství genetického materiálu) a **nebalancované** (kdy část genetického materiálu chybí či přebývá).
- **deficiencie** = ztráta koncové části chromozomu, oddělený kousek se rozpadne v cytoplazmě, dochází ke ztrátě genů, ztráta důležitých genů vede ke smrti
- **delece** = ztráta vnitřní části chromozomu.
- **duplikace** = zdvojení některých částí chromozomů
- **inverze** = převrácení části chromozomu o 180
- **translokace** = přesun části chromozomu na jiný chromozom, může vést k vytvoření nového znaku
- **fragmentace** = rozpad na malé části

Chromozomové mutace

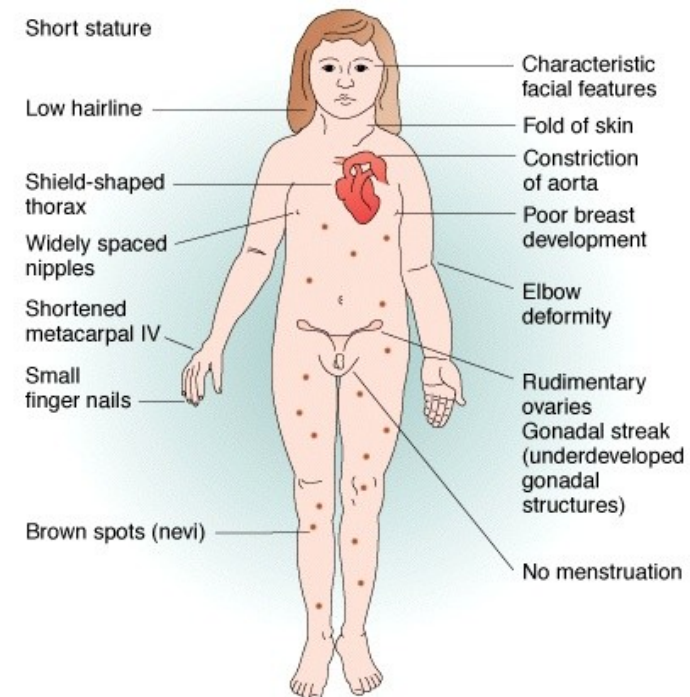
Numerické chromozomové aberace

- způsobeny abnormálním počtem chromozomů v karyotypu
- struktura chromozomů je neporušená, patologicky se uplatňuje nestandardní množství genů
- vznikají díky chybě při rozchodu chromozomů do dceřiných buněk během buněčného dělení (nondisjunkce) nebo abnormalitami fertilizace či časně embryogeneze
- **aneuploidie** - numerická odchylka se týká pouze určitého chromozomu nebo chromozomů, ne však celé sady. Konkrétní chromozom může být buď znásoben - **trisomie** (3x - tři kopie chromozomu), **tetrasomie** (4x - čtyři kopie chromozomu), nebo naopak ztracen - **monosomie** (1x - jedna kopie chromozomu), **nulisomie** (0x - žádná kopie chromozomu)
- **polyploidie** - znásobena je celá chromozomová sada - porucha rozdělení celých sad nebo oplození spermii (dispermie]), u člověka přichází v úvahu zejména triploidie ($3n = 69$ chromozomů) a tetraploidie ($4n = 92$ chromozomů), většinou ale:
 - těhotenství je potraceno
 - molla hydatidosa (a pak těhotenství nutno ukončit potratem)
 - porod novorozence s triploidíí – velmi časná letalita

Aneuploidie

Aneuploidie (změna počtu chromozomů v sadě)

- monosomie
 - gonozomální
 - Turnerův sy. (45, X0)
- trisomie
 - autozomální
 - **Downův sy.** (47, XX/XY + 21)
 - Edwardsův sy. (47, XX/XY + 18)
 - Patauův sy. (47, XX/XY + 13)
 - gonozomální
 - Klinefelterův sy. (47, XXY)
 - XXX sy.
 - XYY sy.



Klasifikace geneticky podmíněných nemocí

- prakticky každá nemoc (tj. její vznik a progres) je u daného jedince modifikována genetickou výbavou, avšak s různým podílem na finálním fenotypu
 - snad s výjimkou úrazů, závažných intoxikací a vysoce virulentních infekcí, kde individuální genetická konstituce nehraje prakticky žádnou roli
 - **monogenní nemoci**
 - jedna kritická "chyba" (tj. alela) konkrétního genu je sama o sobě nebo v homozygotní kombinaci téměř výhradně zodpovědná za rozvoj nemoci (fenotypu) nebo přenašečství a tedy zvýšenému riziku pro potomky
 - **chromozomální poruchy**
 - nejedná se o konkrétní chybu ale o nadbytek/nedostatek genů obsažených v celých chromozomech nebo jejich segmentech ("gene dosage" efekt)
 - **komplexní (poly-, multigenní) nemoci**
 - genetická dispozice podmíněná kombinací alel několika genů je výrazně manifestována prostředím a komorbiditami

Monogenní nemoci

- Rozvoj molekulárně biologických metod umožnil detailní analýzu genetického podkladu mnoha mendelisticky děděných, tzv. **monogenních nemocí**.
- U těchto chorob se dědičný podklad uplatňuje jako **velký faktor**, tj. je přítomen prakticky u všech nemocných a jedná se prokazatelně o faktor příčinný (např. defekty v dystrofinovém genu u muskulárních dystrofií), k němuž se přidávají jen jako přídatné další faktory genetické i faktory zevního prostředí. Příčinou těchto nemocí bývají především tzv. vzácné alely.
- je determinována alelami v jednom lokusu
- variantní alela, která vznikla mutací někdy v nedávné nebo vzdálené minulosti a je většinou relativně málo častá, nahrazuje původní „divokou“ alelu na jednom nebo obou chromozomech
- mají charakteristický způsob přenosu v rodinách

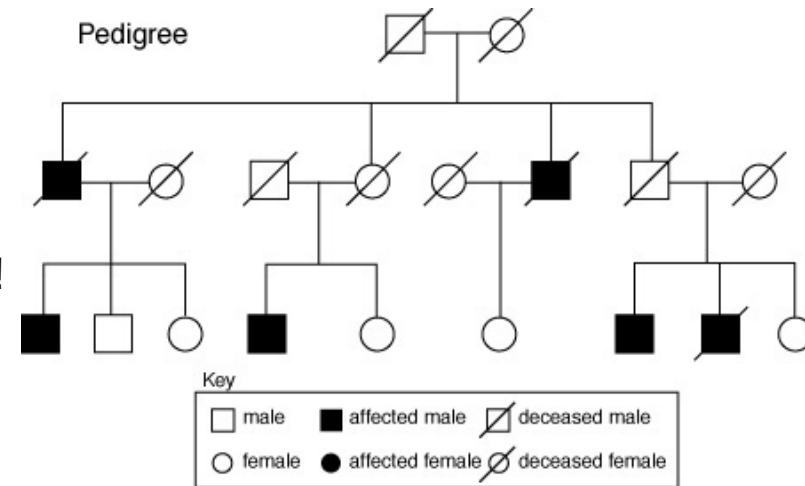
Monogenní nemoci

- choroby dětského věku
- méně než 10% z nich se manifestuje po pubertě a pouhé 1% se objeví po skončení reprodukčního věku
- často výrazně patologické
- V populační studii na 1 milionu živě narozených dětí byla incidence vážných monogenních chorob odhadnuta na 0,36%, u 6-8% hospitalizovaných dětí se uvažuje o monogenních chorobách.
- doposud známé shrnuje OMIM (On-line Mendelian Inheritance in Man)
~6000 klinicky významných fenotypů
- čtyři základní typy dědičnosti:

	dominantní	recesivní
autosomální	autosomálně dominantní (AD)	autosomálně recesivní (AR)
X-vázaný	X-dominantní (XD)	X-recesivní (XR)

Monogenní nemoci

- typy přenosu
 - autozomální
 - geny na obou autozomech aktivní
 - gonozomální (X-chromozom vázané)
 - muži hemizygotní
 - u žen 1 X-chromozom inaktivován!!
 - jiné
 - imprinting, mozaicismus, ...
- podle projevu genotypu ve fenotypu
 - recesivní
 - nemoc jen u mutovaného homozygota
 - dominantní
 - nemoc stejná u heterozygota a mutovaného homozygota
 - neúplně dominantní
 - odstupňovaná tíže nemoci u heterozygota a mutovaného homozygota
 - kodominantní
 - jak normální tak patologická alela jsou vyjádřeny ve fenotypu



Monogenní nemoci - AD

- nemoci jsou důsledkem jak mutací přenášených mezi generacemi tak vzniklých nově
- nemoc se projevuje v každé generaci - postižený jedinec má postiženého rodiče (a prarodiče), a to matku nebo otce
- riziko pro potomka 0.50 (pokud by byli oba rodiče postižení pak 0.75, ale to je vzácné)

- familiární hypercholesterolemie (1/500),
- myotonická svalová dystrofie (1/1000)
- **Huntingtonova chorea** (1/3000)

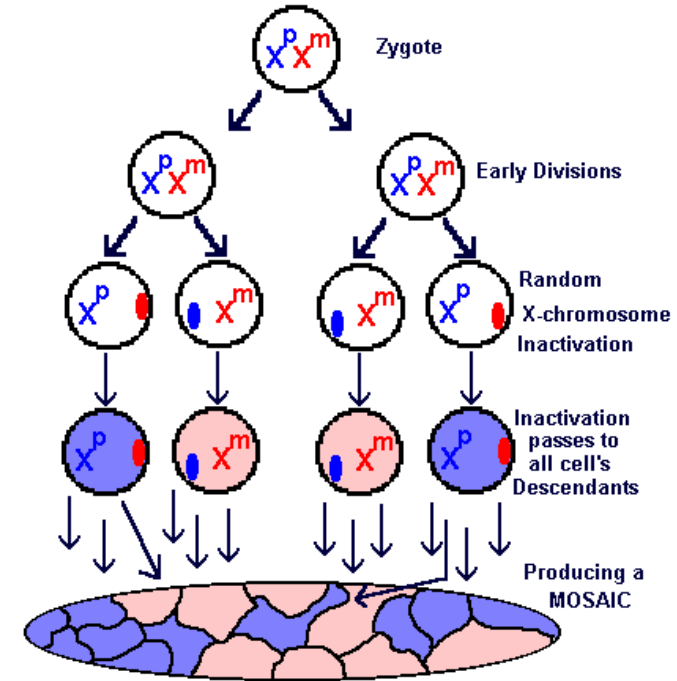
Monogenní nemoci - AR

- u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt k udržení normální funkce
- velmi často enzymové defekty (enzymopatie)
- postižen je mutovaný homozygot (popř. sourozenci), heterozygotní rodiče jsou přenašeči (asymptomatictí) - riziko $0.50 \times 0.50 = 0.25$
- frekvence přenašečů nemoci v populaci $\gg \gg$ frekvence nemocných
- nejčastější AR nemocí u bělochů je **cystická fibróza** (f nemocných 1/2500, f přenašečů 1/25), fenylketonurie, galaktosemie....
- konsanguinita (příbuzní rodiče) a geneticky izolované populace (např. Aškenazi židé – Tay-Sachsova choroba)

Monogenní nemoci - X-vázané

- ženy 3 genotypy, muži pouze 2
- X-vázané nemoci se manifestují u všech mužů, kteří zdělili mutaci, a pouze u homozygotních žen
- **hemofilie A**
- **Duchenneova muskulární dystrofie**
- Wiskott-Aldrichův syndrom (imunodeficiencie)

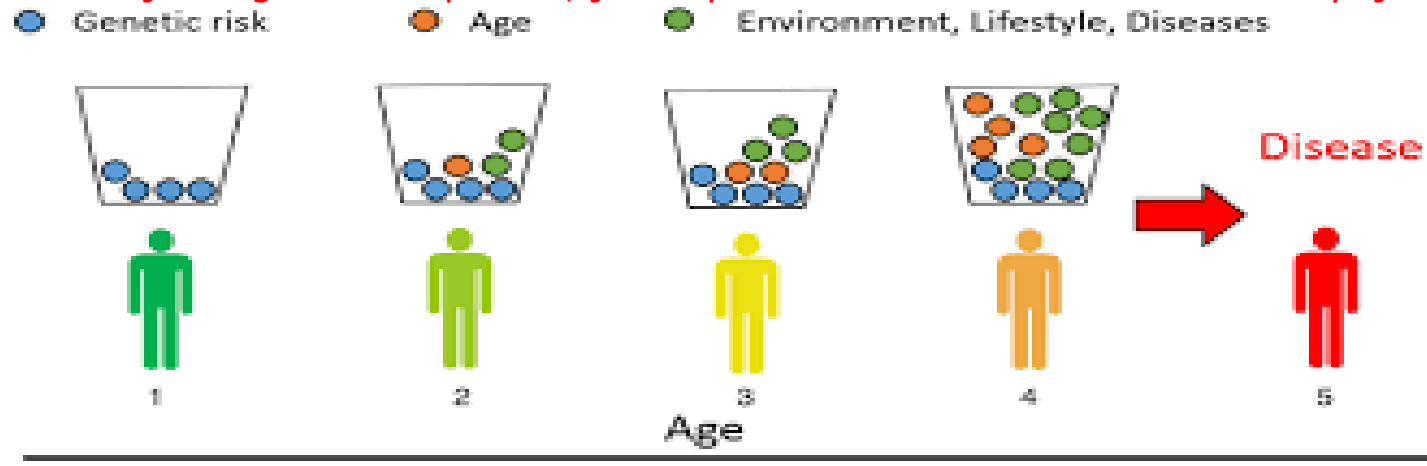
- inaktivace X-chromozomu u žen
 - kompenzace dávky a exprese X-vázaných genů
 - hypotéza Lyonové ("lyonizace")
 - v somatických bb. je 1 X inaktivovaný a v interfázi se zobrazuje jako "Barrovo" tělísko (viz sporné identifikace pohlaví)
 - proces je náhodný, může se týkat jak otcovského tak mateřského X
 - důsledkem je variabilní exprese X-vázaných genů u heterozygotek ("manifestující přenašečka")
 - funkční mozaicismus



Komplexní nemoci

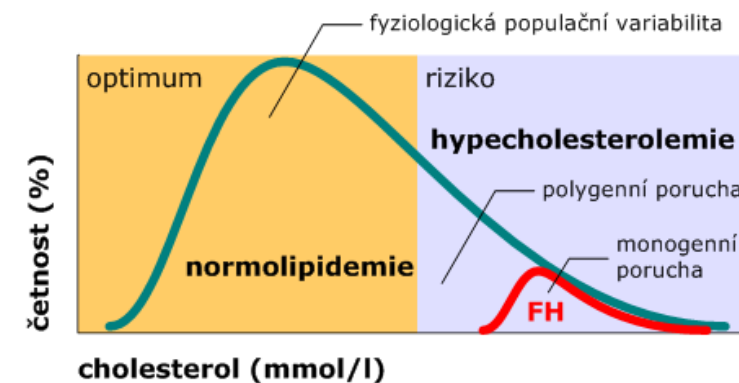
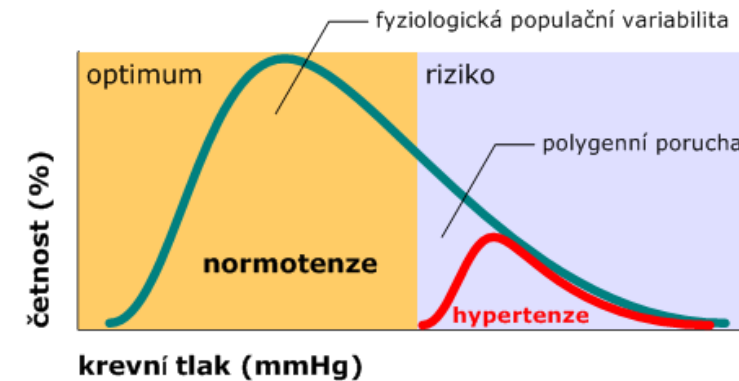
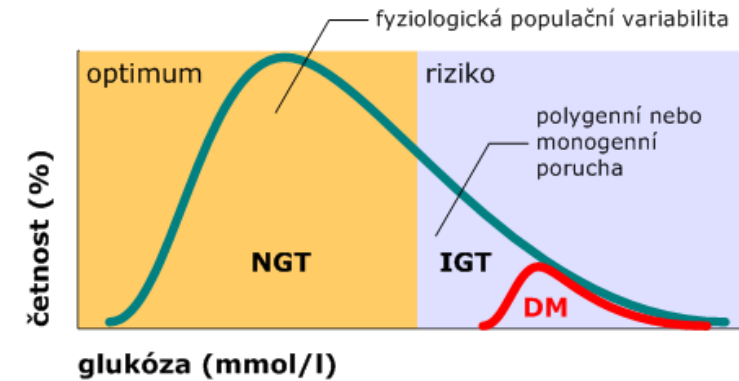
- multifaktoriální, multigenní
- roli hrají **kombinace určitých genů a určitých faktorů zevního prostředí**
- Na odhalení nejobecnějších principů genetiky multifaktoriálních nemocí se na rozdíl od genetiky nemocí mendelistických v současné době stále ještě čeká.
- v klinické praxi často kolísá názor na výsledky genetických studií, které se snaží odhalit genetický podklad komplexních nemocí, od neodůvodněného očekávání nad nalezenými geny velkého účinku až po velkou skepsi vzhledem k existenci genetického podkladu v populaci četných nemocí (nad 1%), jako je v kardiologii např. esenciální hypertenze.
- pokud choroba má **prokazatelně familiární výskyt, musíme očekávat podíl genetického podkladu na její manifestaci**, a to i v tom případě, že není dosud dobře definován nebo dosavadní znalost nepovažujeme za přesvědčivou.
- Své genetické pozadí mají i tak relativně vzdálené proximální fenotypy, jako je např. kvalita života u nemocných s chronickým kardiovaskulárním onemocněním.

Každá choroba má nějaké genetické pozadí, jehož podíl na manifestaci dané choroby je různý.



Komplexní nemoci

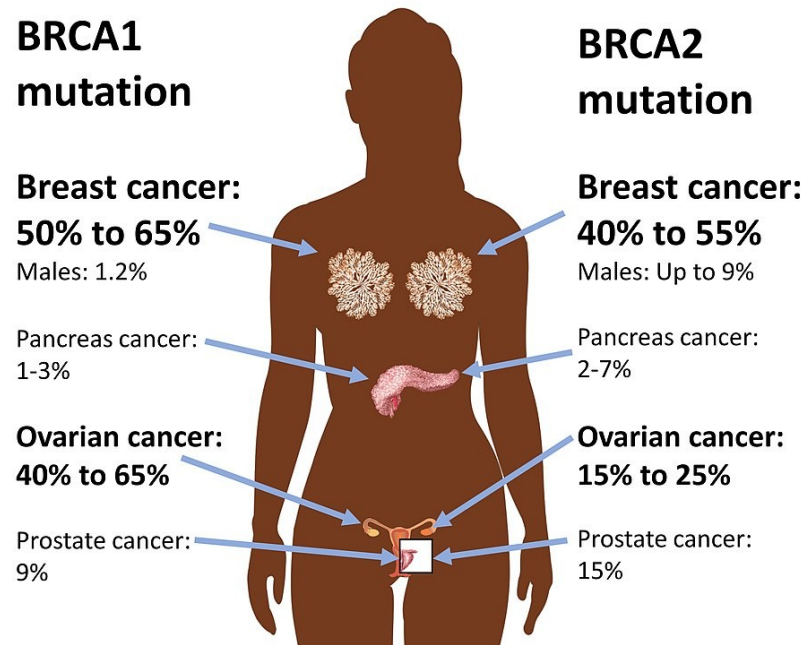
- choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „komplex“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů
 - fenotyp nevykazuje klasickou mendelistickou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- **predisponující „geny“** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminuje jednoznačně jeho přítomnost
 - je nutné spolupůsobení negenetických faktorů (**prostředí**)...
 - dieta, fyzická aktivita, kouření,
 - ...a **interakcí genů** mezi sebou
- nejčastější komplexní nemoci
 - diabetes (1. i 2. typu)
 - dyslipidemie
 - esenciální hypertenze
 - alergie



Komplexní nemoci

Nádorová onemocnění

- Komplexní dlouhodobý vývoj onemocnění
- Velký vliv prostředí
- Existence dědičných nádorových syndromů
- Genetický vliv, predispozice – onkogeny
 - Mutovaný BRCA1/2

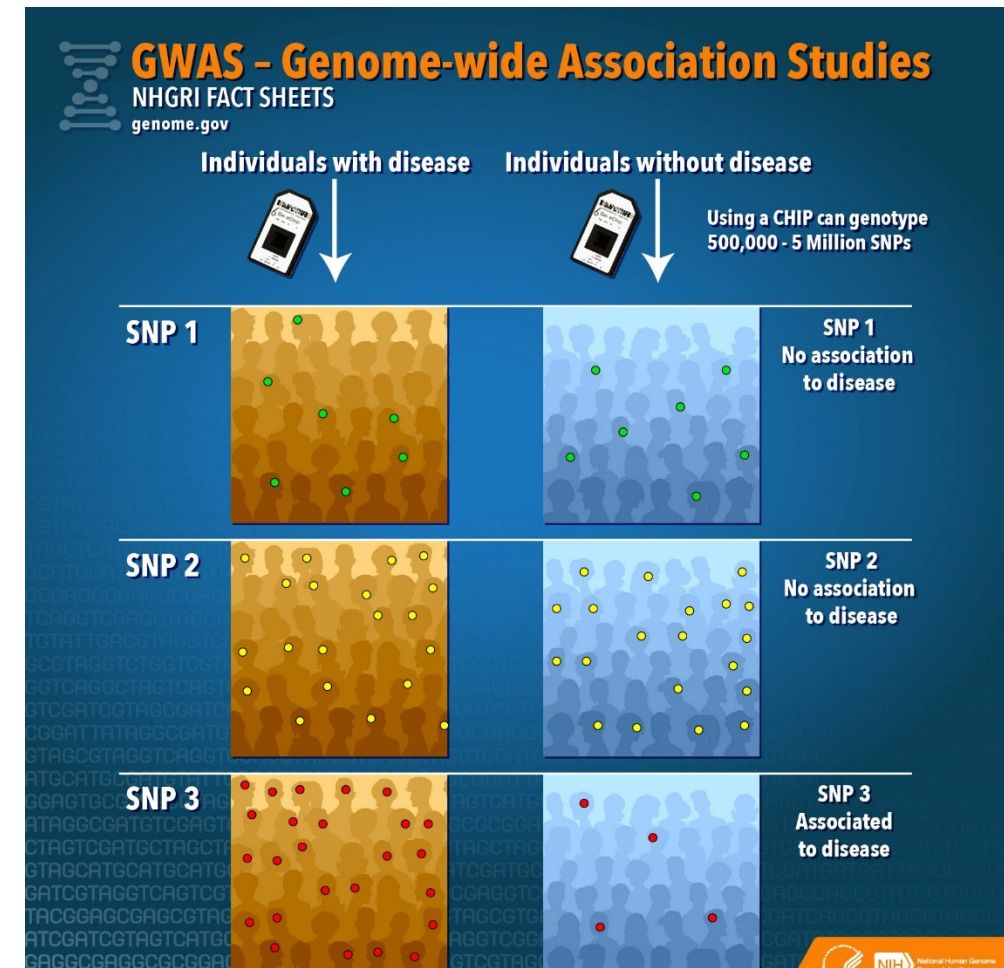


Komplexní nemoci

- komplexní onemocnění jsou charakterizována:
 - **neúplnou penetrancí** patologického fenotypu
 - u určité části osob, přestože zdědí nevýhodný genotyp (zde ve smyslu souboru vícero genů) se patologický fenotyp nerozvine
 - existencí **fenokopíí**
 - patologický fenotyp může být přítomen u lidí, kteří nejsou nosiči zmíněného genotypu
 - **genetickou heterogenitou** (lokusovou a alelickou)
 - klinický obraz není specifický, ale může se rozvinout v důsledku záměn v genech ležících na různých lokusech (= lokusová heterogenita), v jednotlivých genech může být přítom vícero mutací či polymorfizmů (= alelická heterogenita)
 - **polygenní dědičností**
 - predispozice k rozvoji patologického fenotypu se zvyšuje pouze při simultánním výskytu určitého souboru alel
 - **vysokou populační frekvencí alel** zodpovědných za rozvoj patologického fenotypu
 - *každá jednotlivá predisponující alela pravděpodobně není sama o sobě výrazně patogenní*
 - spolupůsobením **dalších mechanismů** přenosu
 - mitochondriální dědičnost, imprinting

Genetické studie

- Základní debata nad genetickým podkladem nemocí logicky začíná od strategie výběru tzv. **kandidátních genů**. Tato otázka je podstatně jednodušší u mendelisticky děděných nemocí, kde se změněná funkce jednoho genu snadněji identifikuje.
- **Celogenomové asociační studie** (GWAS=Genome-Wide Association Study) vyhledávají polymorfismus jednotlivých nukleotidů nebo běžné genové variace, které se typicky chovají jako ukazatelé genových oblastí s malým efektem u stoupajícího rizika nemocí.
- Dalším významným momentem je výběr statistické metodologie, která zhodnotí sílu asociace genů s chorobami. Možnosti jsou v zásadě dvě: **linkage (vazebná) analýza a asociační studie**. K detekci specifických genetických oblastí a genů, které se účastní v transmissi nemoci, je v principu možné použít obě metody.



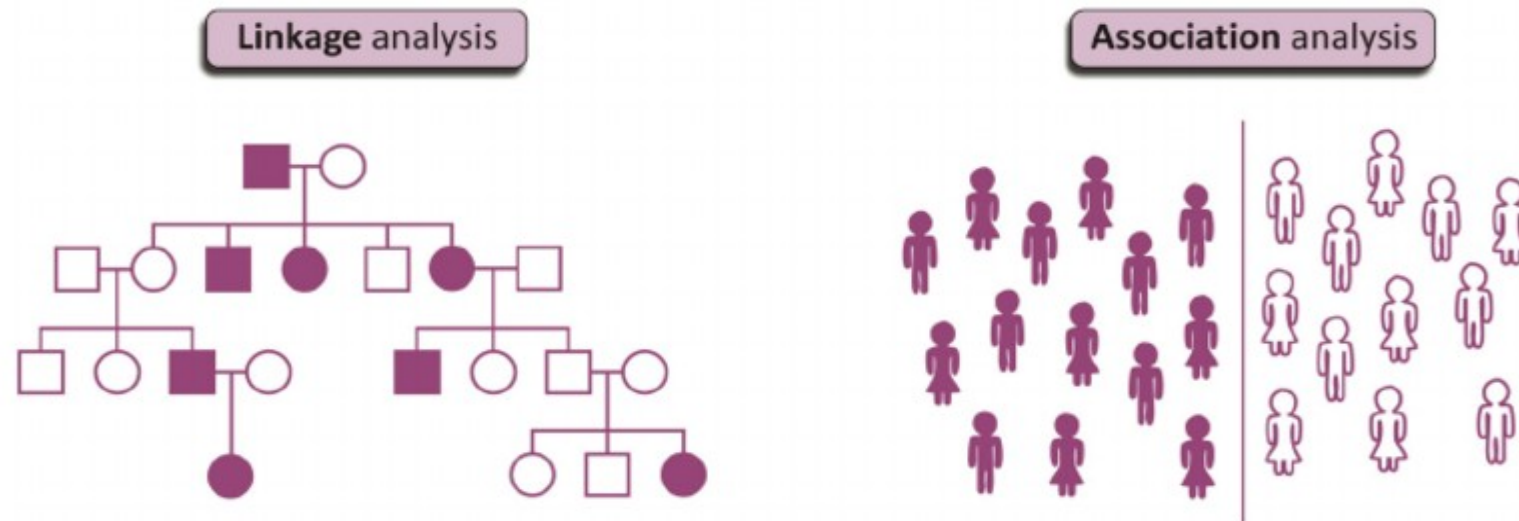
Genetické studie

Linkage (vazebná) analýza

- testuje kosegregaci genového markeru a fenotypu nemoci v rodině. Čili marker a nemoc se v dané rodině mají vždy vyskytovat spolu.

Asociační studie

- vyšetřují souvěsyt markeru a nemoci na populační úrovni, tj. u nepříbuzných jedinců, obvykle srovnáním frekvencí markerů u nepříbuzných nemocných a kontrolních subjektů (studie case-control).
- Statistickou sílu asociace je možno dále zvýšit obohacením o další kritéria, jako jsou klinické subtypy nemoci (studie case-case), závažnost nemoci, časný začátek nemoci, rizikové faktory pro nemoc včetně pohlaví a vhodné biologické znaky (např. plasmatické hladiny cytokinů při asociaci genetických polymorfismů v cytokinových genech; studie genotyp-fenotyp).



Klinická genetika

- **zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí**
- **genetické poradenství**
- **vrozené vady** - poruchy utváření orgánů, které vznikly v období nitroděložního života, i poruchy funkční (např. duševní opoždění) a poruchy na úrovni biochemické a molekulární (např. vrozené vady metabolismu).

Skupina	Příčina	Zastoupení
Primárně (geneticky)	chromozomální aberrace	10 %
	monogenní dědičnost	20 %
Sekundárně (prostředí)	léky, infekce, záření	5 %
	porodní poranění	12 %
	infekce po narození	7 %
Neznámé (multifaktoriální)	geny + prostředí	46 %

Klinická genetik

Prenatální diagnostika

- zahrnuje vyšetřovací postupy směřující k vyhledávání statisticky významné odchylky ve struktuře nebo funkci, která přesahuje hranice fenotypové variability
- umožňuje v závažných případech ukončení gravidity, u dalších je možno v předstihu plánovat optimální perinatální péči.

Rizikové faktory:

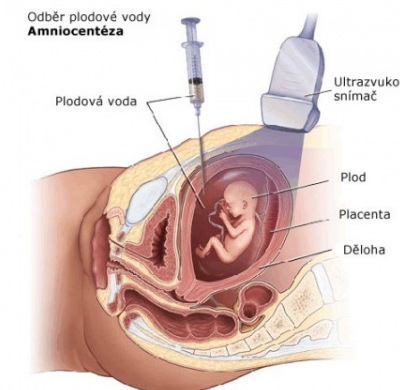
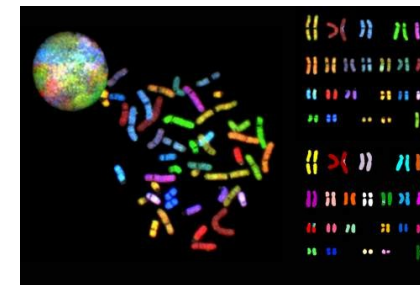
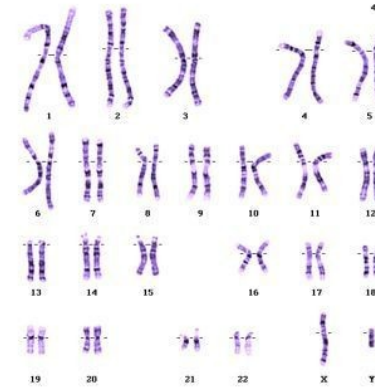
- věk matky v době porodu je vyšší jak 35 let
- pozitivní biochemický screening z krve matky
- ultrazvukový nález, který zvyšuje riziko přítomnosti chromozomální aberace (nahromadění tekutiny v podkoží, nepřítomnost nosní kůstky, srdeční vada plodu aj.)
- přítomnost chromozomální aberace v rodině



Klinická genetika

Vyšetření karyotypu plodu

- invazivní metody - amniocentéza, biopsie choriových klků, kordocentéza
- genetické vyšetření, přesněji **vyšetření cytogenetické** (neboť se vyšetřují chromozomy), ovšem nejedná se o test DNA
- **FISH** – fluoresceční hybridizace in situ
- vazba denaturované sDNA se specifickou sondou
- **AmnioPCR** je moderní metoda sloužící ke genetickému vyšetření plodu.
- porovnání DNA markerů matky i plodu → stanovení počtu jednotlivých chromozomů u plodu.
- výsledek je následně potvrzen klasickým cytogenetickým vyšetřením
- K dispozici je v současné době vyšetření 21. chromozomu - amnioPCR, nebo sada vyšetřující chromozomy 13,18, 21, X a Y- tzv. multiamnioPCR.



Klinická genetika

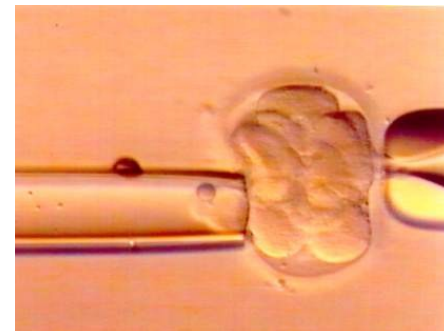
Stanovení pohlaví plodu

- volné fetální DNA kolující v krvi matky
- neinvazivní s přesností ~98 %
- od 10. týdne těhotenství
- DNA plodu z venózní krve matky
- z klinického hlediska je určení pohlaví plodu důležité v případě rizika nějaké genetické choroby vázané na určité pohlaví (např. hemofilie).



Preimplantační diagnostika

- metodu časně prenatalní diagnostiky, která je vázána na techniky umělého oplodnění. Za účelem minimalizace chyby genetického vyšetření je třeba k oplozování vajíček použít metody intracytoplazmatické injekce spermie
- buňky pro genetické vyšetření jsou odebírány z embrya nejčastěji ve stadiu 8 buněk nebo blastocysty



Postnatální diagnostika

- např. trombofilie , cystická fibróza...



Trombofilie

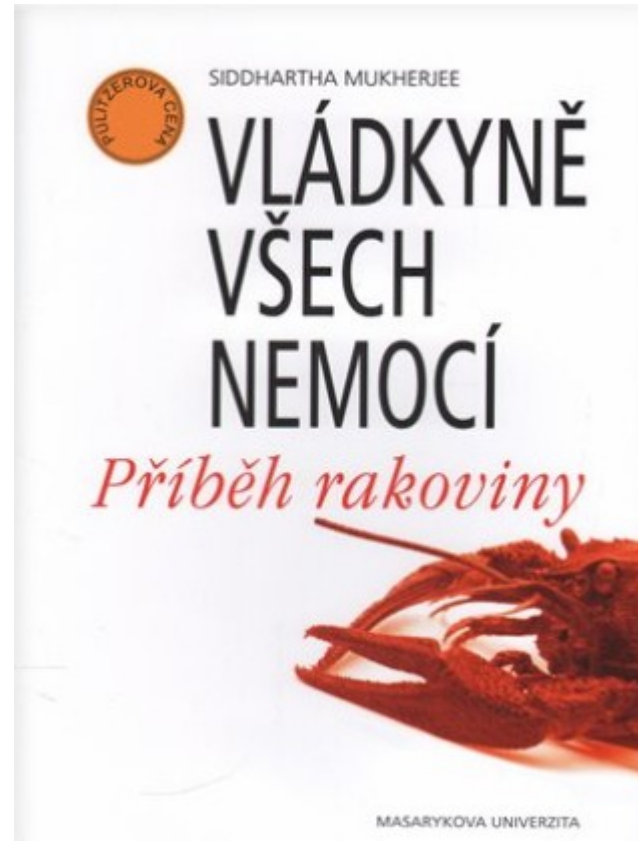
- vrožený sklon ke zvýšenému srážení krve
- může být v některých případech pro své nositele výhodná (omezení ztrát krve při poranění)
- i příčinou různých komplikací v těhotenství, při dlouhodobém znehybnění nebo při užívání některých léků může způsobit hlubokou trombózu či plicní embolii
- genetické vyšetření u: gravidních, před začátkem užívání hormonální antikoncepce, před chirurgickým zákrokem

•**Leidenská mutace** – mutace genu pro inhibitor koagulace faktor V - riziko trombembolie ~30 %, genová mutace rs6025 G1691A, R506Q (arg→gln), AD

•**Hyperhomocysteinemie** - mutace enzymu konvertujícího kyselinu listovou – metyltetrahydrofolátreduktáza (MTHFR) - projeví při nedostatku vitaminů B6, B12 a kyseliny listové, genová mutace rs1801133 C677T, AR

•**Defekt antitrombinu** (FII) - mutace koagulačního faktoru II zvyšujícího hladinu protrombinu – riziko trombembolie ~70 – 90 %, genová mutace rs1799963 G20210A

Doporučená literatura



Příběhy vědy: rakovina

Bi0001

Příběhy vědy: gen

Bi0002

<https://www.ceskatelevize.cz/porady/1044129465>

3-hyde-park-

civilizace/220411058090

919/

GATTACA