

**MONOGENNÍ  
VS.  
KOMPLEXNÍ  
NEMOCI**

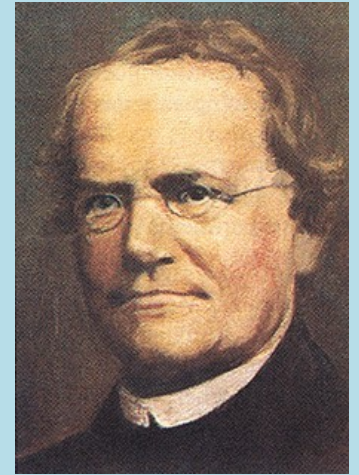
**MOLEKULÁRNÍ PODSTATA  
PATO FYZIOLOGICKÝCH PROCESŮ**

**MGR. PETRA LINHARTOVÁ**

# Obsah přednášky

- **Struktura lidského genomu a cytogenetika**
- Reakce lidského genomu na vlivy prostředí. Exonové, intronové a promotorové mutace.
- Monogenní a polygenní choroby a vztah multigenních nemocí a prostředí.
- Genetické studie a klinická genetika.

# Genetika



- 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.

# Genetika

- specializovaný biologický obor zabývající se variabilitou a dědičností
  - **klinická genetika**
    - 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

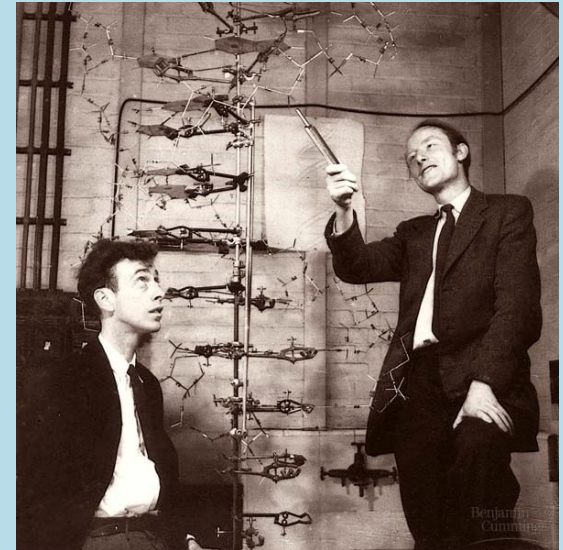
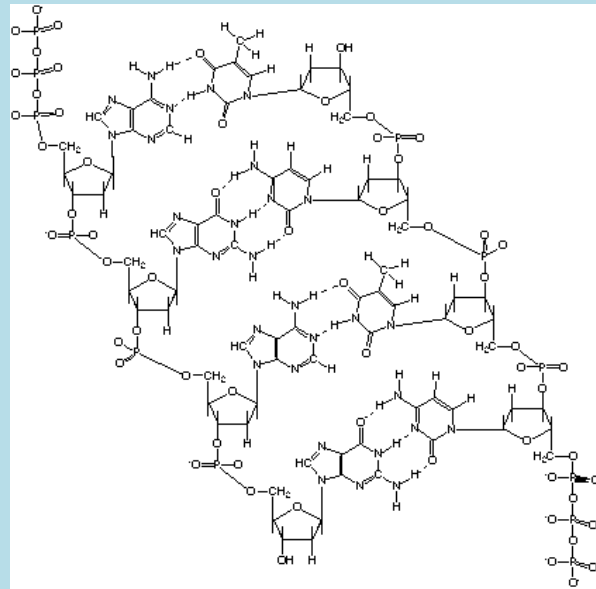


- studuje strukturu a funkci genomů pomocí genetického mapování, sekvenování a funkční analýzy genů
- snaží se o pochopení veškeré informace obsažené v DNA živých organismů
  - **strukturní genomika** = pochopení struktury genomu
    - konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map 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 organizmy (kvasinka, nematoda, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Mesocricetus auratus* aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)



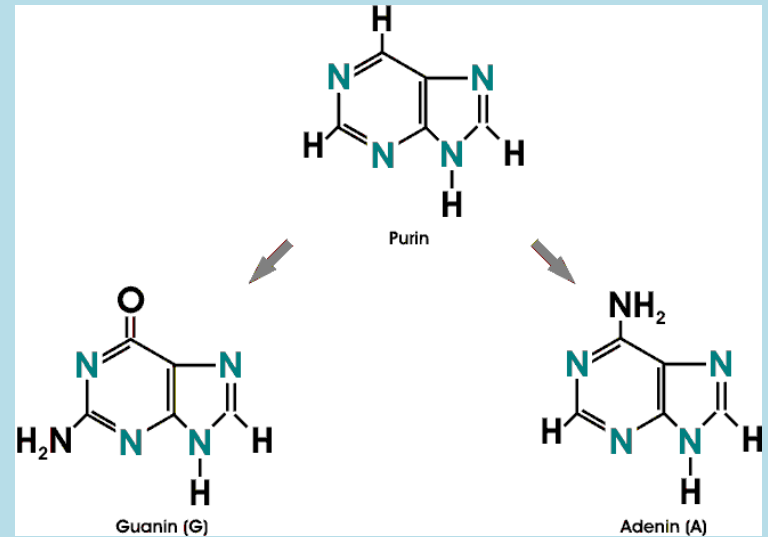
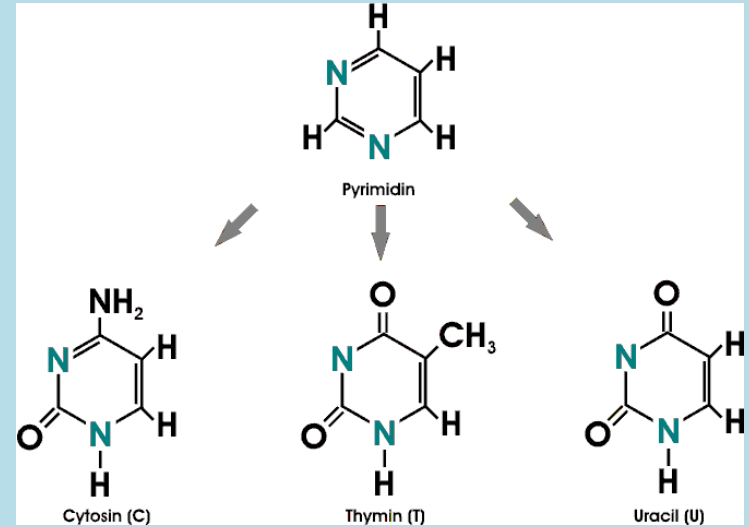
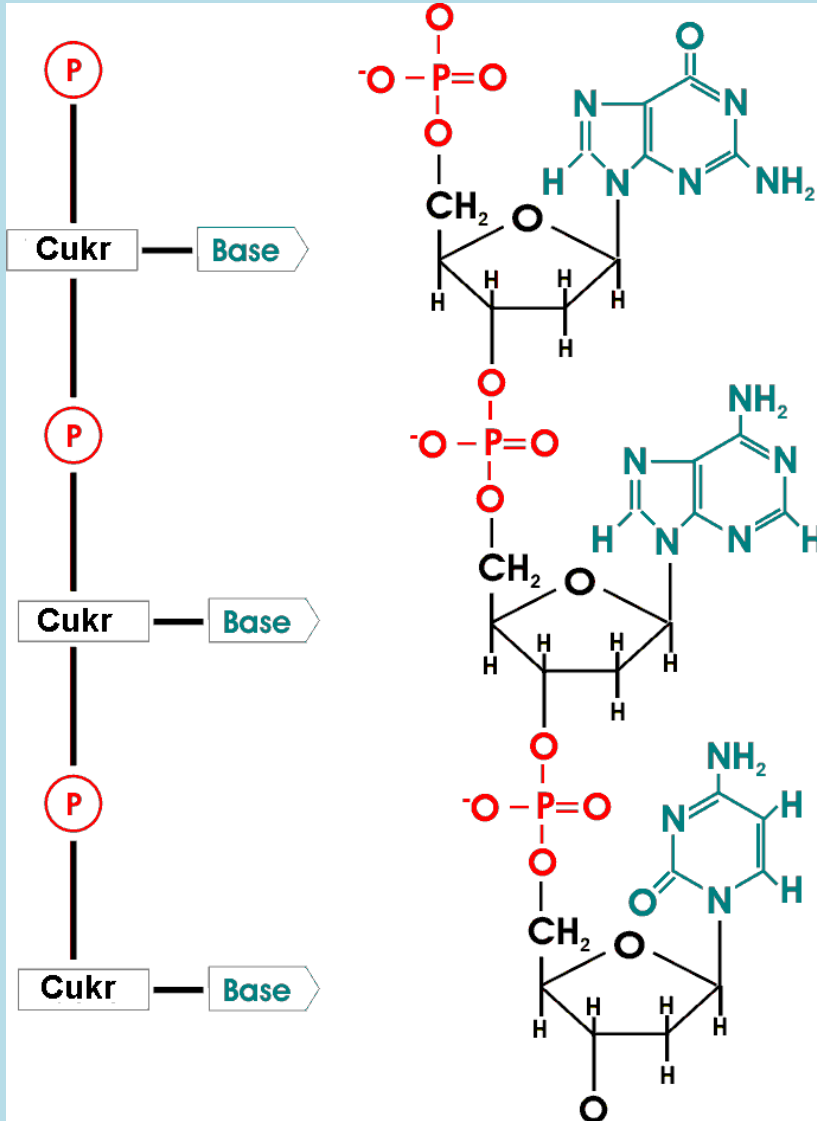
# DNA

- molekula DNA jako taková byla objevena v roce 1869, kdy se švýcarskému lékaři Friedrich Miescherovi podařilo izolovat DNA z leu



- 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.

# DNA



# Gen

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

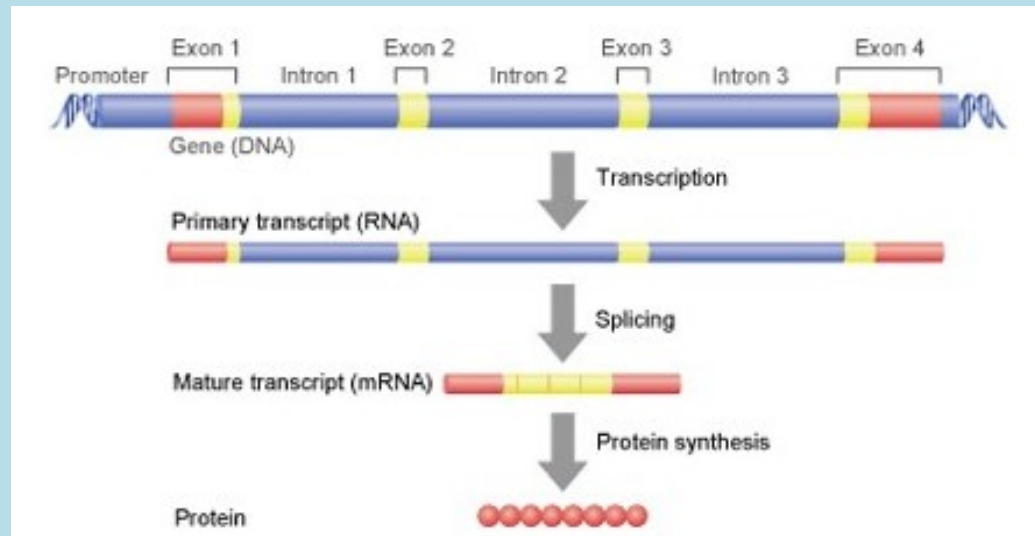
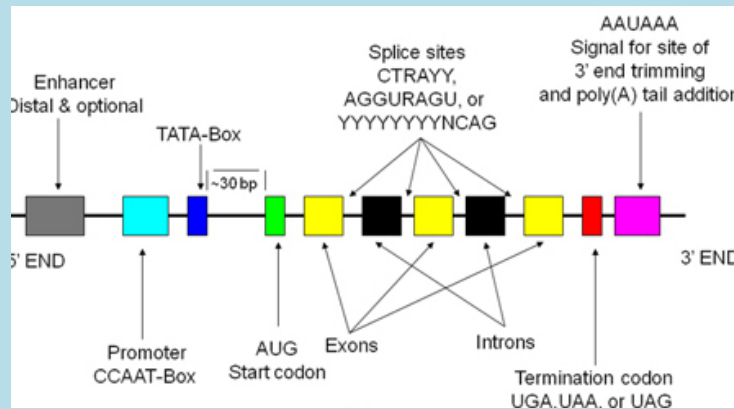
- geny strukturní
- geny pro RNA
- geny regulační
  
- **exony** = funkční úseky genu, které jsou přepisovány do mRNA a dále translantovány při proteosyntéze
- **introny** = úseky genu, jejichž funkce dosud nebyla zcela objasněna a které nejsou využívány pro translaci

Dle jejich obsahu geny dělíme na:

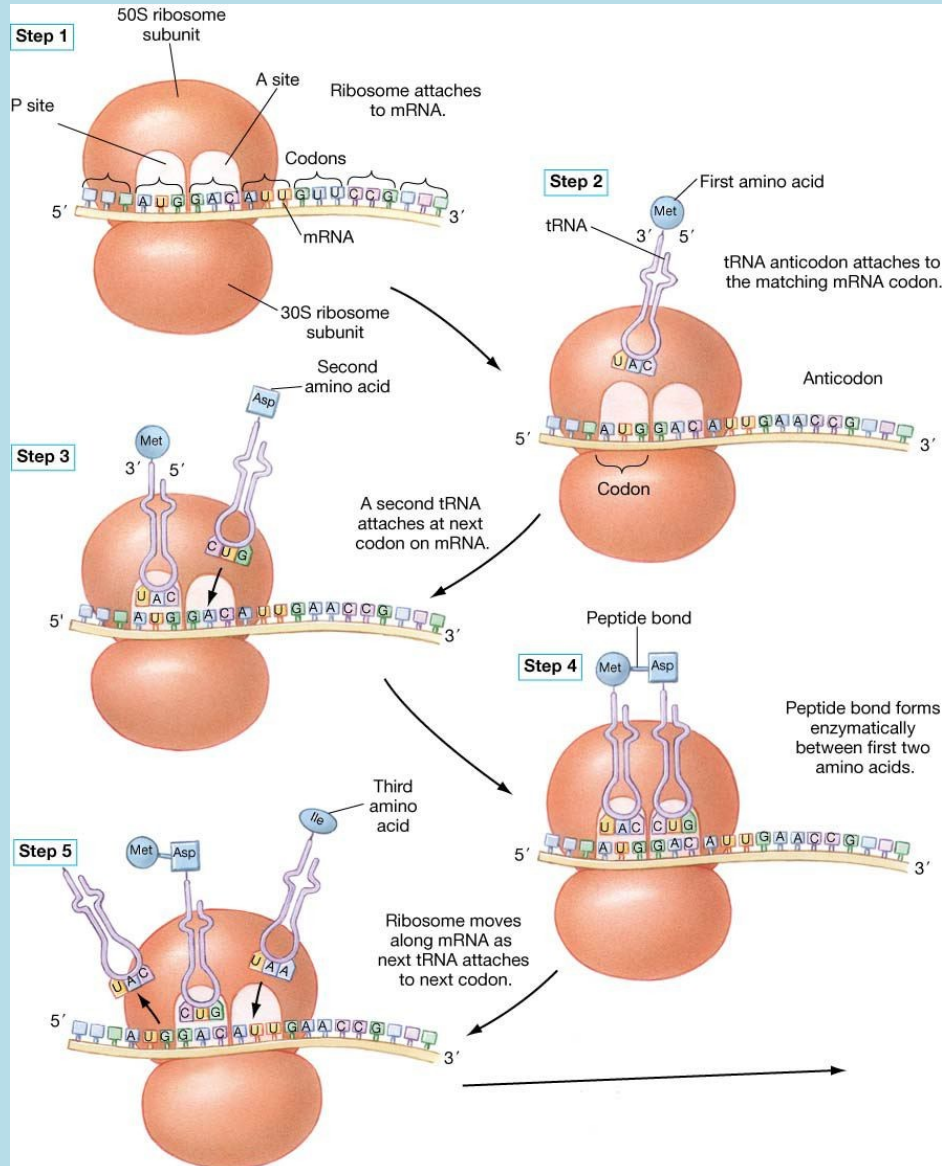
- **jednoduché** - obsahují pouze exony
- **složené** - obsahují i introny
  
- **genové rodiny** = sekvenčně podobné geny, které vznikly zřejmě duplikací během evoluce, např. geny pro (hemo)globiny, imunoglobuliny, ...



# Struktura genu a transkripce

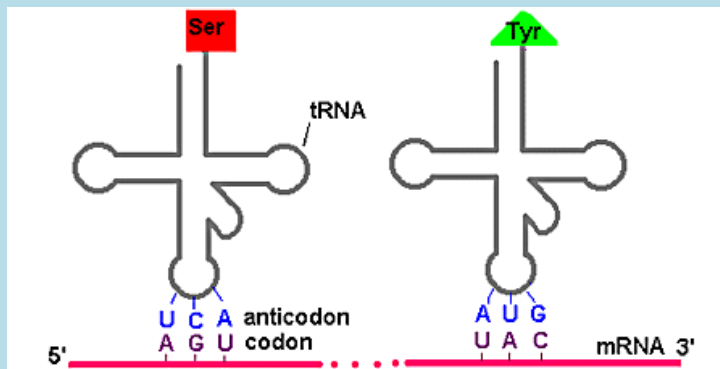


# Genová translace



# Genetický kód

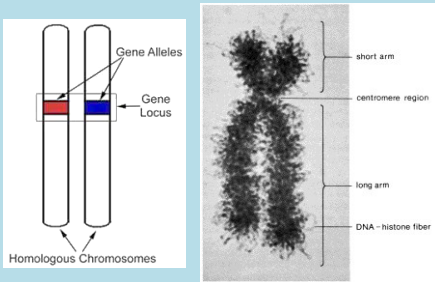
- určuje pořadí aminokyselin v proteinu
- univerzální = podobný princip u většiny živých organismů
- tripletový = trojkombinace 4 nukleotidů (A, C, G, T)
- degenerovaný =  $4^3 = 64$ , ale aminokyselin jen 21



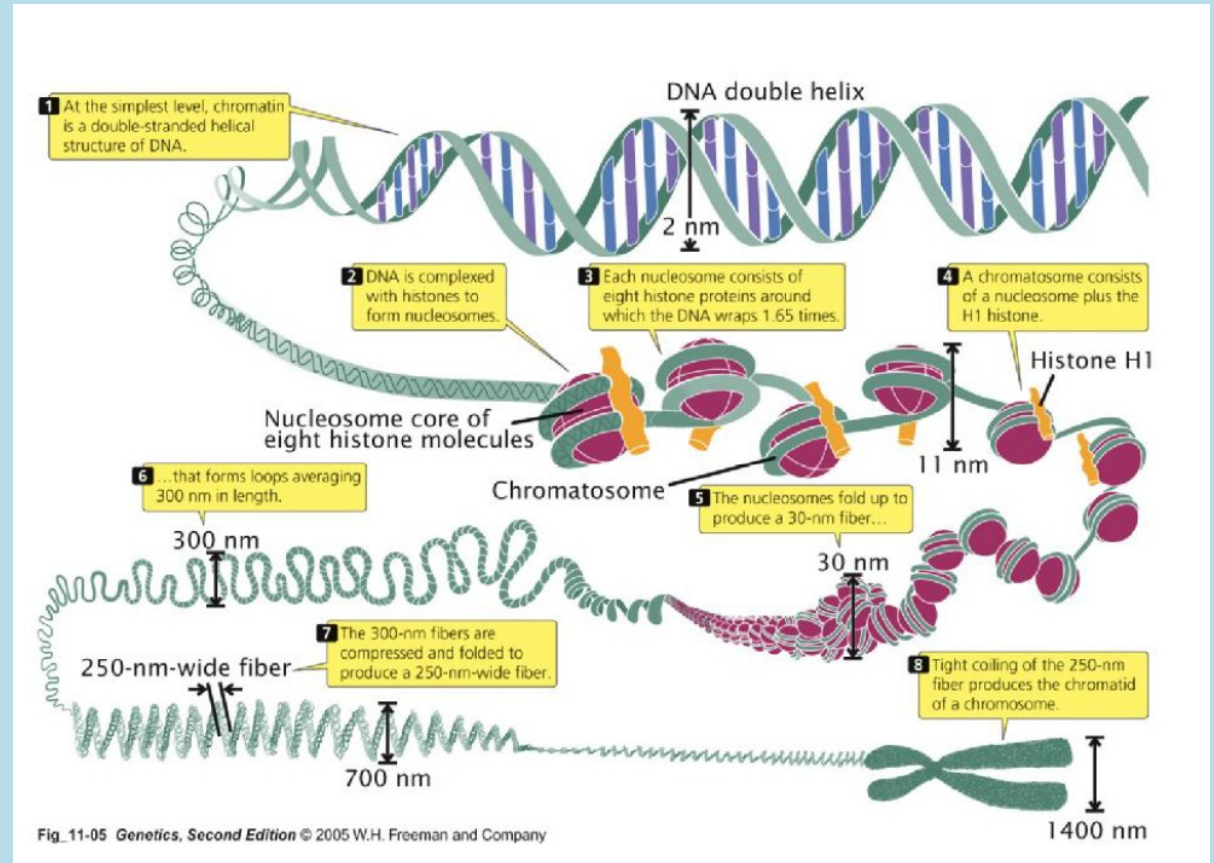
	1. pozice		2. pozice				3. pozice		
	U		C		A		G		
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G

# Základní genetické pojmy

- chromozom



- lokus
- alely
- dominantní
- recesivní
  
- homozygot
- heterozygot
  
- genotyp
- fenotyp



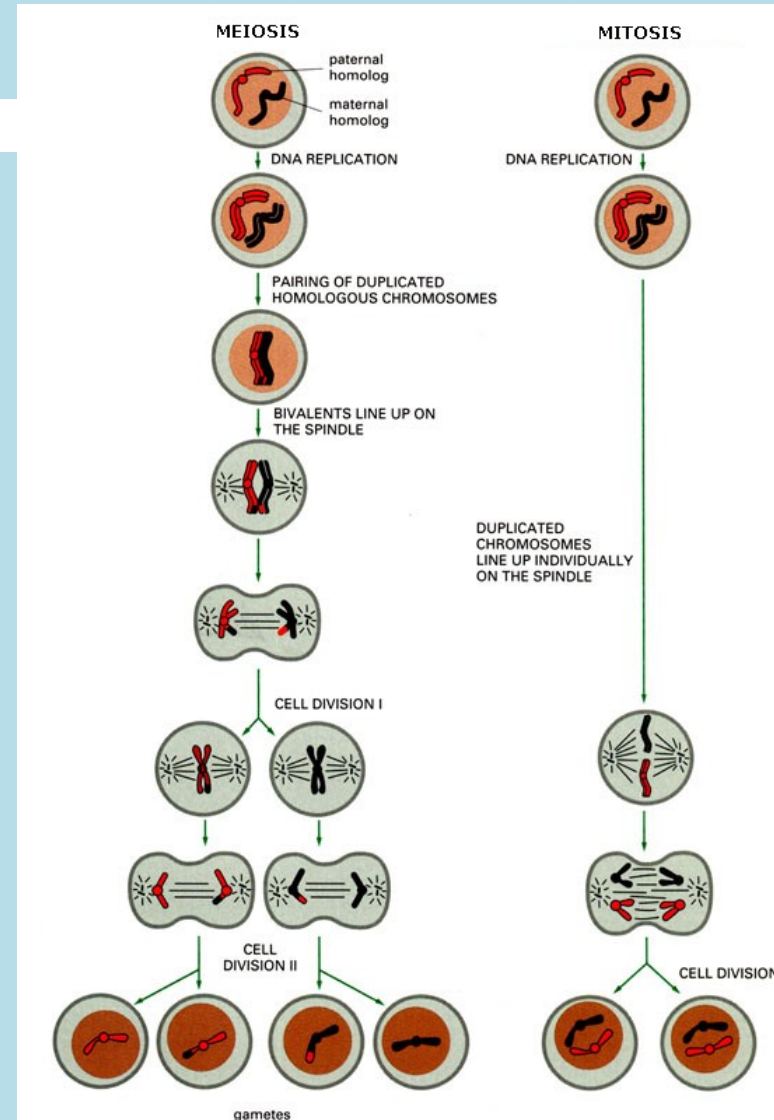
Fig\_11-05 Genetics, Second Edition © 2005 W.H. Freeman and Company

# Mitóza a meióza

**Mitóza** = 2 dceřinné buňky s diploidním počtem chromozomů, 1 cyklus DNA replikace následuje rozdělení chromozomů a jádra (profáze → prometafáze → metafáze → anafáze → telofáze) a násl. celé buňky (cytokineze)

**Meióza** = 1 cyklus replikace následován 2 cykly segregace chromozomů a buněčného dělení

1. meiotické (redukční) dělení - rozdělení homologních chromozomů  
významné - odehrává se zde meiotický crossing-over (rekombinace) - žádná z gamet není identická!  
poruchy rozestupu - např. trisomie
2. meiotické dělení - rozestup sesterských chromatid  
2 dceřinné buňky s haploidním počtem chromozomů  
vznik pohlavních buněk (spermie, vajíčko)  
dodatečné promíchání genetického materiálu crossing-overem





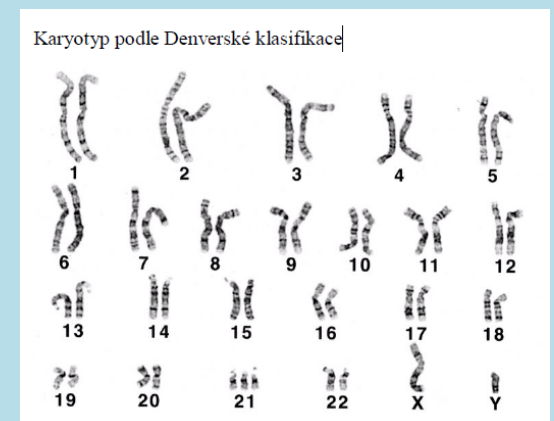
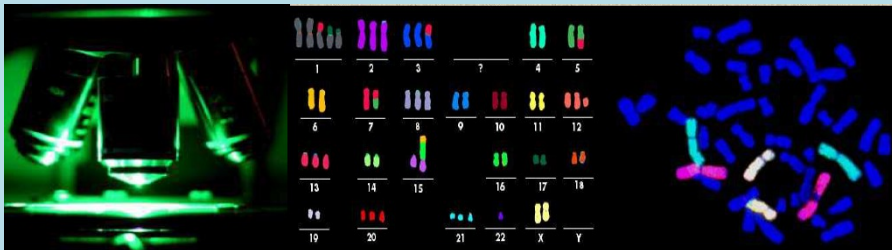
# Cytogenetika a stanovení karyotypu

- cytogenetika se zabývá studiem organizace genomu, struktury a funkce chromozomů u eukaryot

## Vyšetření chromozomů

- materiál: b. z periferní krve, plodové vody atd. se kultivují in vitro (stimulace mitózy pomocí fytohemaglutininu), zastavení mitózy za 2-3 dny (pomocí kolchicinu, kt. zabraňuje tvorbě dělicího vřeténka)
- b. do hypotonického prostředí → barvení → fotografování
- **karyotyp** = soubor všech chromozomů v jádře b., zjišťuje se na základě cytogenetického barvení, kt. využívá různé barvitelnosti sekvencí bohatých na AT páry a GC páry nukleotidů
- idiogram = obraz chromozomů v b. určitého jedince

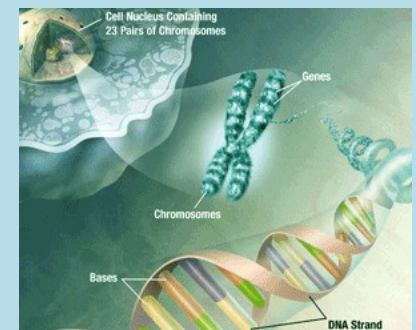
## FISH



# Lidský genom

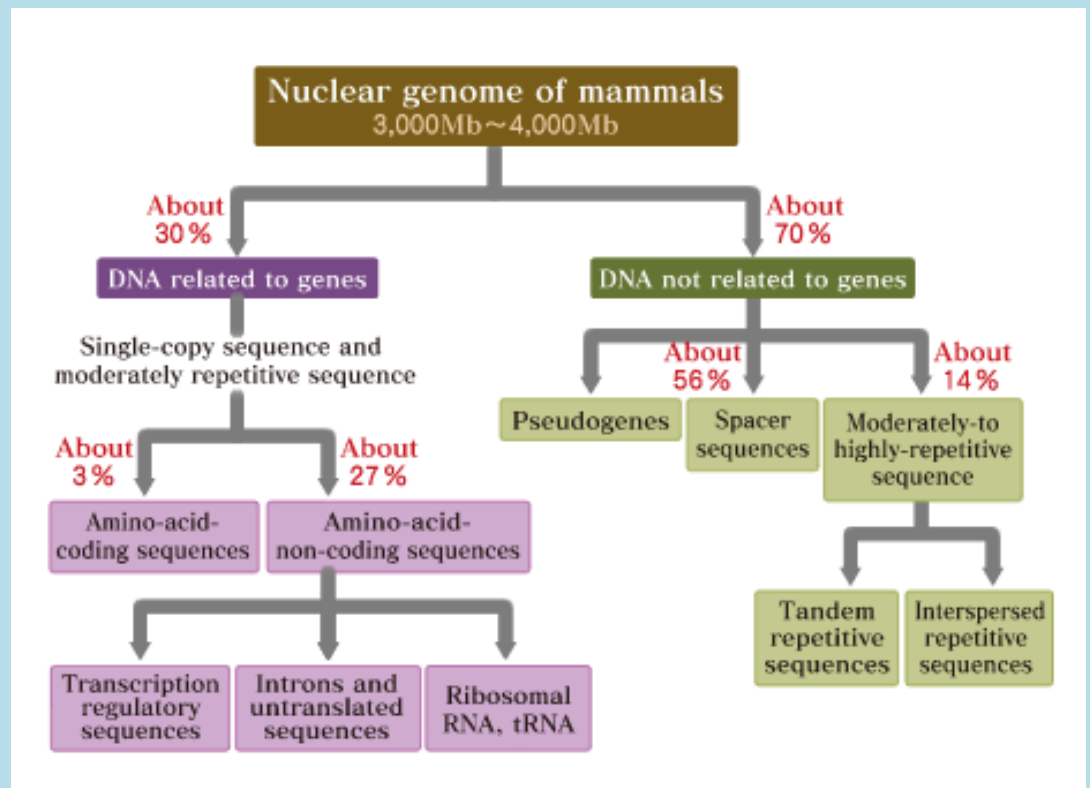


- **Human Genome Project** (HUGO) - James D. Watson - v r. 2001 zveřejnění prvních výsledků
- **gen** = konkrétní úsek molekuly DNA nesoucí informaci pro tvorbu proteinu nebo NA (rRNA, tRNA...). ~ 21 tisíc genů (2011)
- **pseudogen** = sekvence DNA, která je podobná genu, ale nedochází k jejímu přepisování v RNA (transkripci). ~ 20 tisíc pseudogenů
- **genom** = soubor všech genů v jedné buňce, **genom jaderný a mitochondriální** (mtDNA)
- v jádru diploidní lidské buňky 22 párů chromozomů (autozomy) a pár pohlavních chromozomů X/Y (gonozomy) = karyotyp



# Lidský genom

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





# Lidský genom

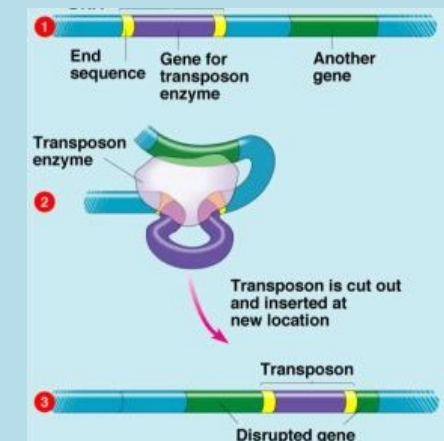
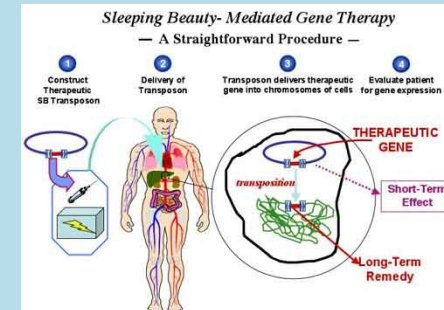
**Repetitivní sekvence** = DNA s vysokým množstvím kopií

- 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**
  - DNA transpozony
  - retrotranspozony
  
- **tandemové**
  - mikrosatelity
  - minisatelity

# Lidský genom

## DNA transpozony

- např. „Sleeping Beauty“ - možné využití při genové terapii díky více specifickým místům integrace, než je tomu např. u retrovirů
- jádrem je sekvence kódující enzym transponázu, který se váže k oběma koncům repetitivního elementu, jež jsou tvořeny invertovanými repetitivními sekvencemi
- invertované konce si tedy mohou "vyměnit" řetězce a stabilizovat tak strukturu stopka-klička, nezbytnou pro aktivitu transponázy
- transponáza pak vyštěpí transpozon a liguje takto vzniklé volné konce chromozomální DNA - podobnost u maturace genů pro Ig (V-D-J rekombinace) a TCR při vyštěpení mezilehlých sekvencí
- uvolněný komplex transpozon-transponáza se váže na specifický sekvenční motiv jinde v genomu, transponáza štěpí hostitelskou DNA a liguje transpozon na nové místo
- transpozon se pohybuje mechanismem vyjmout-vložit (cut and paste) a počet kopií zůstává stabilní

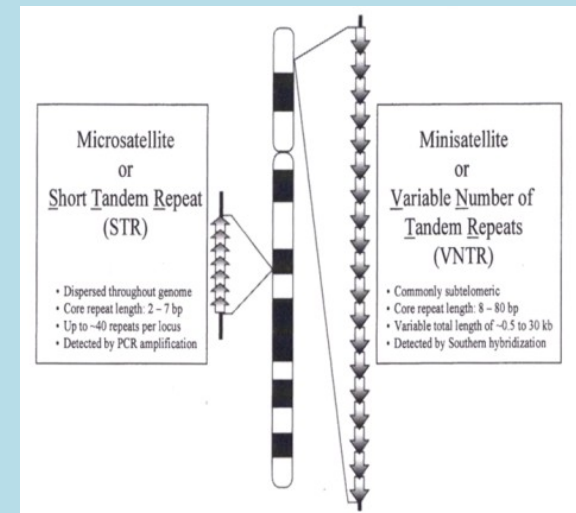


# Lidský genom

## Retrotranspozony

- endogenní retrovity - obsahují na koncích dlouhé repetitivní části zvané LTR („long terminal repeat“) a jsou poměrně časté, ačkoliv v lidském genomu nejsou známy žádné v současnosti aktivní
- autonomní - LINE (*long interspersed nuclear elements*) velmi hojné v lidském genomu (21 % celku), nejčastější L-1 obsahují ve své sekvenci i geny ORF1 a ORF2, které se účastní jejich další replikace
- neautonomní - SINE (short...) samy nekódují žádné geny a zneužívají pouze určité buněčné proteiny (včetně ORF proteinů LINE elementů), pouze se přepisují do RNA a následně pomocí reverzních transkriptáz zpět na nějaké místo do DNA, nejčastější jsou Alu-repetice (11 % celku),

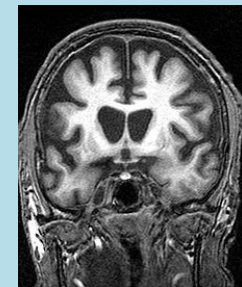
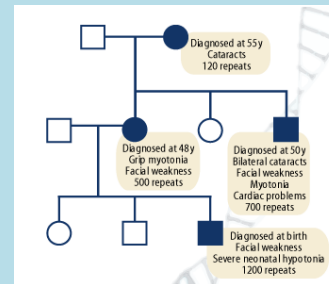
- **tandemové** = za sebou jdoucí identické repetice, VNTR
  - mikrosatelity - opakování 1- 5 bp
  - minisatelity - VNTR (v kb)
    - v subtelomerických oblastech
    - genetické markery



# Lidský genom

- **Huntingtonova chorea**, 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 repetitivních sekvencí
- autosomálně dominantní choroby



# Lidský genom

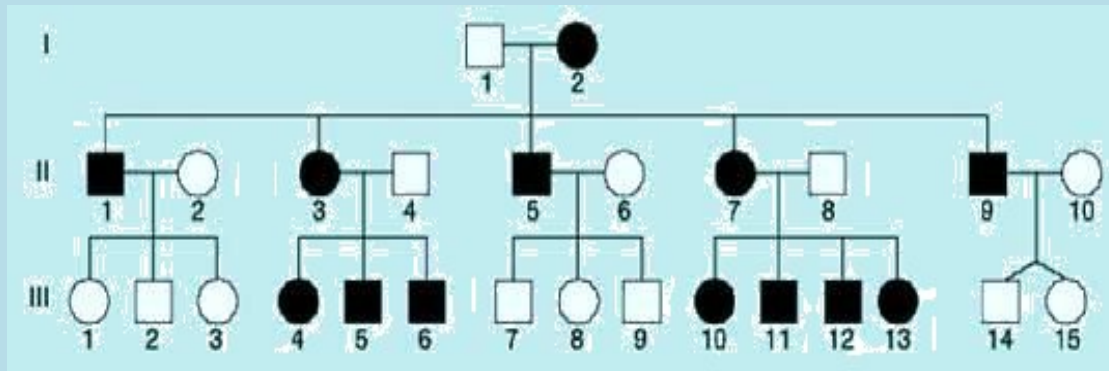
## mtDNA

- původ: alfa proteobakterie 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 - není pouhým důsledkem nepoměru počtu mitochondrií lidského oocyty (cca 100 000) a spermie (50-70), ale předpokládá se aktivní proces, který po oplození zlikviduje mitochondrie paternálního původu

# Lidský genom

## mtDNA

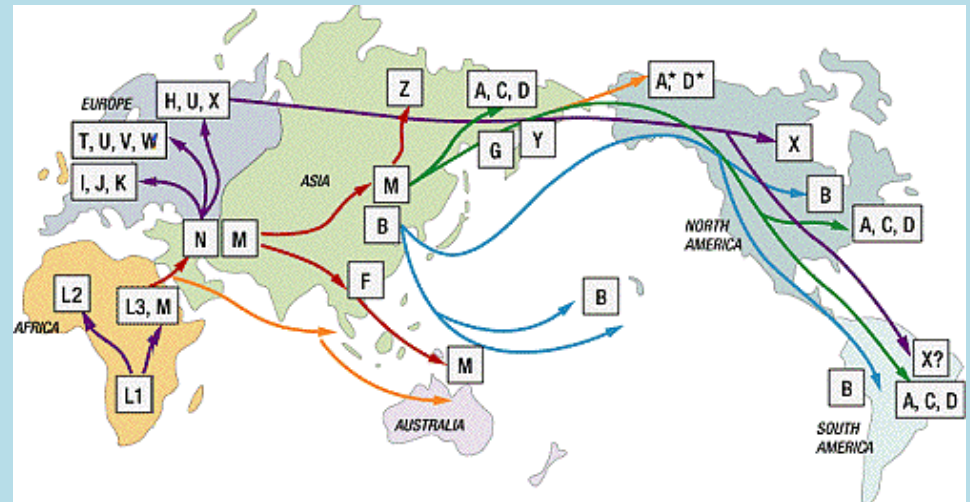
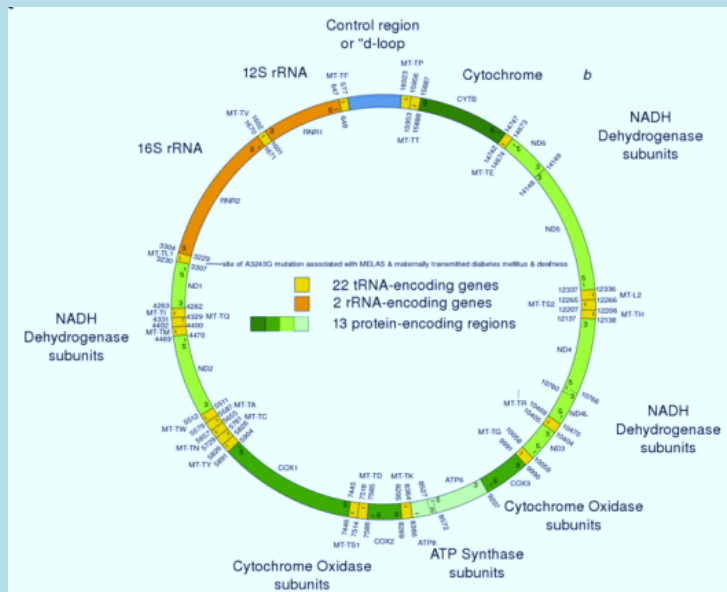
- frekvence mutací je u mitochondrií 10-20x vyšší než u jaderné DNA
- → **heteroplazmie** = smíšená populace s více variantami mtDNA, pokud je heteroplazmická mutace zděděna nebo k ní dojde v časných fázích embryogeneze, normální i mutovaná varianta jsou náhodně předávány při buněčném dělení dceřinným buňkám (mitotická i meiotická segregace)
- distribuce a zastoupení mutované mtDNA v jednotlivých orgánech jsou proto patrně závislé na čase a vzniku mutace a rovněž na typu postižené buňky



# Lidský genom

## mtDNA

- na základě mtDNA určena migrace lidstva - „mitochondriální Eva“, která žila ~ před 140 000 lety v místech dnešní Etiopie, Keni nebo Tanzanie





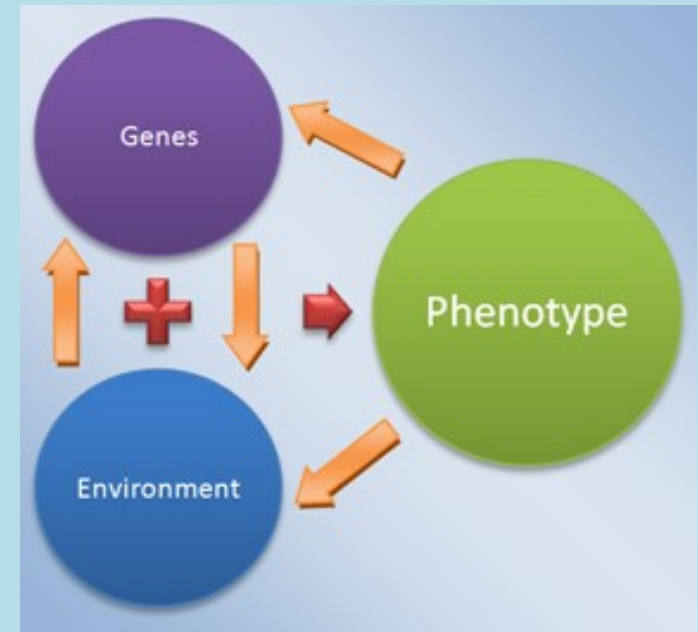
# Obsah přednášky

- Struktura lidského genomu
- Reakce lidského genomu na vlivy prostředí. Exonové, intronové a promotorové mutace.
- Monogenní a polygenní choroby a vztah multigenních nemocí a prostředí.
- Genetické studie a klinická genetika.



# Vliv prostředí na lidský genom

- Genetická výbava jedince je zadána v okamžiku zplodění, ale není pro další život konečná - v průběhu života se může měnit jak pod vlivem četných 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·)



# Genetická proměnlivost

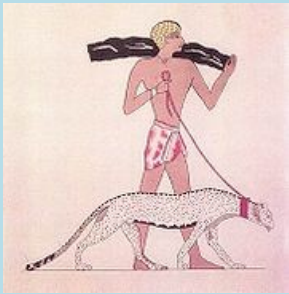
- je zdrojem individuální variability (vytváří se nové kombinace alel):
  - segregace alel při vzniku gamet
  - rekombinace při crossing-overu
  - vznik náhodných kombinací alel při oplození

## 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 = aberace**
- **Genomové mutace**



# Genetická uniformita

Science.1983 Jul 29;221(4609):459-62.

The cheetah is depauperate in genetic variation.

[O'Brien SJ](#), [Wildt DE](#), [Goldman D](#), [Merril CR](#), [Bush M](#).



- A sample of **55 South African cheetahs** (*Acinonyx jubatus jubatus*) from two geographically isolated populations in South Africa **were found to be genetically monomorphic at each of 47 allozyme (allelic isozyme) loci**. Two-dimensional gel electrophoresis of 155 abundant soluble proteins from cheetah fibroblasts also revealed a low frequency of polymorphism (average heterozygosity, 0.013). Both estimates are dramatically lower than levels of variation reported in other cats and mammals in general. The extreme monomorphism may be a consequence of a demographic contraction of the cheetah (a population bottleneck) in association with a reduced rate of increase in the recent natural history of this endangered species.

# 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** - častá mutace, tyto mutace jsou základem interindividuální variability jedinců, v jediném genu je často mnoho polymorfizmů, jejich kombinace tvoří haplotypy, vyskytuje se v populaci více než v 1 %
  - **SNP** = jednonukleotidový polymorfismus - bialelické
  - **minisatelitní a mikrosatelitní polymorfismy** - multialelické

## Germinativní a somatická mutace

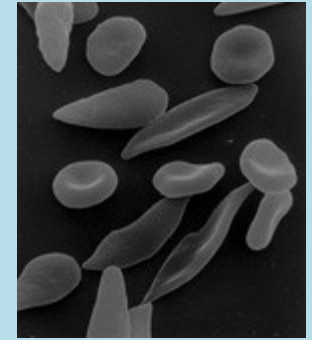
- **germinativní mutace** - přenášeny na potomstvo (často příčinou zániku plodu), u potomka přítomny ve všech buňkách, mají vliv na vývoj druhu, „úspěšnost“  
germinativní mutace 1:100000
- **somatické mutace** - vznikají v somatických buňkách v průběhu života (maligní transformace x žádný fyziologický 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 - substituce** = záměna páru nukleotidu za jiný (→ změna AA sekvence, změna v regulaci, ovlivnění transkripce a translace... nebo tvorba STOP kodonu), transverze/tranzice, spíše v exonech
  
- **delece/inzerce** = ztráta/zařazení nukleotidů (→ možný posun čtecího rámce), spíše v intronech



# Genové mutace



## Srpkovitá anemie

- **missense** mutace genu pro hemoglobin na 6. pozici v  $\beta$ -řetězci (hydrofóbní valin místo hydrofilní glutamové kyseliny, tvorba shluků Hb a tím změna tvaru ery)  $\rightarrow$  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 červených krvinek víc. To jim dává proti malárii velkou výhodu, díky níž mají lepší šanci přežít.

# Genové mutace

## $\beta^0$ thalasemie

- **nonsense** mutace pro Hb - chybná syntéza jednoho z řetězců globinu
- autosomálně recesivní

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

# Genové mutace



## Huntingtonova choroba

- trinukleotidová expanze

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

## Hemofilie A

= nedostatek srážecího faktoru VIII

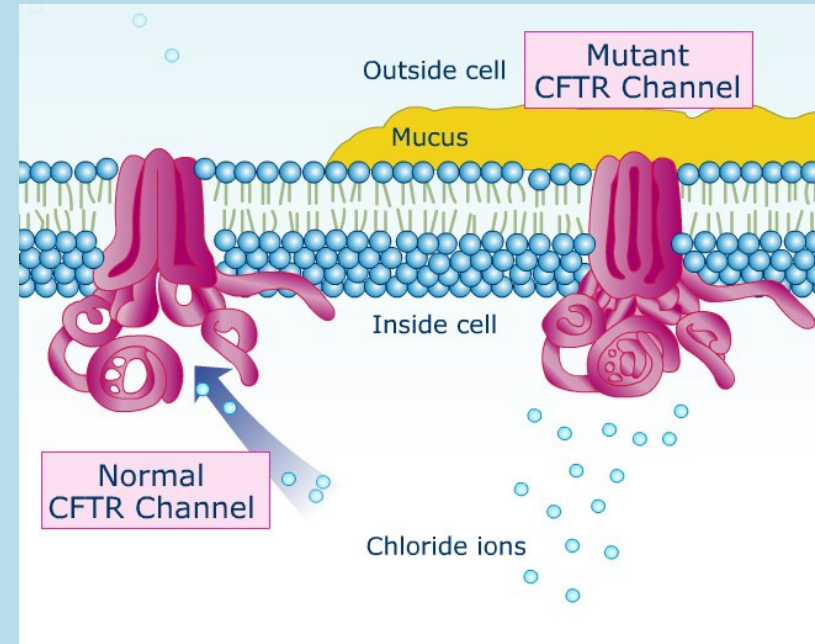
- **inzerce** 3000 bp - snížení tvorby proteinu
- gonosomálně recesivní - vazba na X chromozom
- žena je přenašečka



# 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)
- autosomálně recesivní

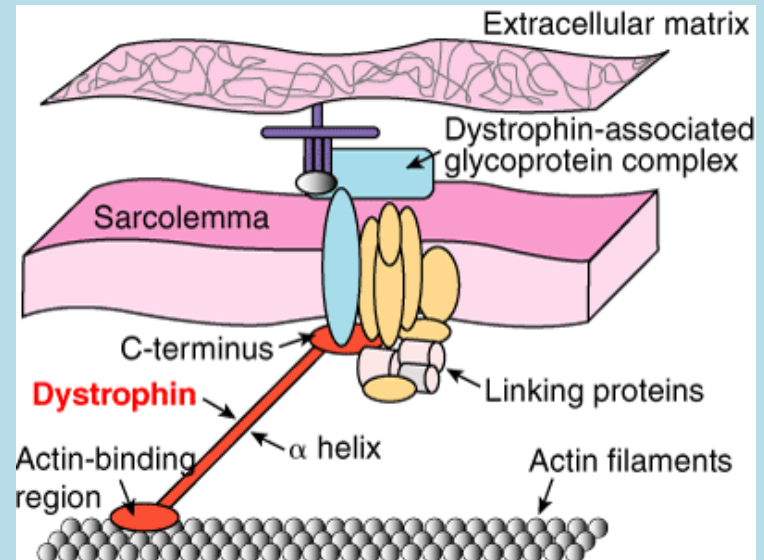


	ancestral	mutant
DNA	-TAG-AAA-CCA-	-TA A-CCA-
mRNA	-AUC-UUU-GGU-	-AUU-GGU-
AA	-ile-phe-gly-	-ile-gly-

# Genová mutace

## Duchennova svalová dystrofie

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



	ancestral	mutant
DNA	-CAC-TGT	-CAC- <b>TTG</b> -T..-
mRNA	-GUG-ACA-	-GUG-AAC-U..-
AA	-val-thr-	-ile-gly-

# Chromozomové mutace - aberace

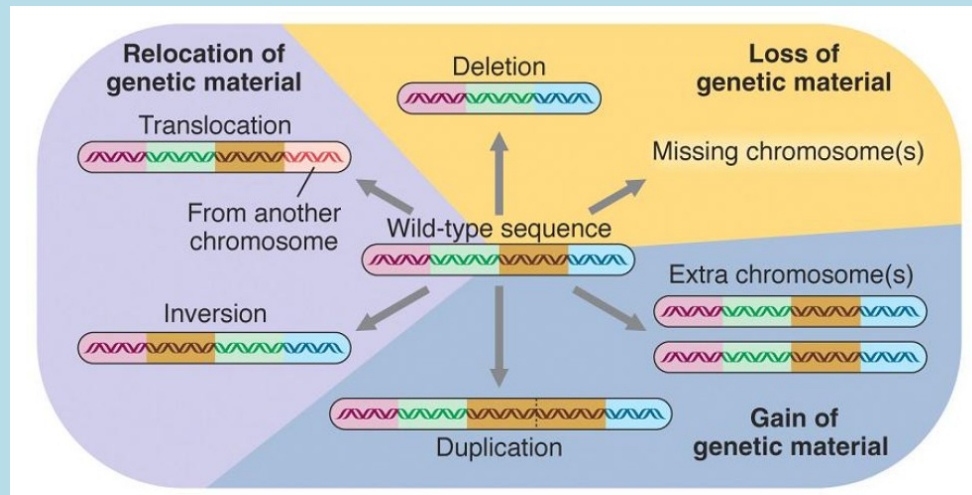
- nemění strukturu samotných genů, ale mění strukturu chromozomů.
- dají pozorovat ve světelném mikroskopu
- mohou být překážkou normálního průběhu meiózy a jimi postižené gamety mohou být sterilní nebo mohou po splynutí vznikat neživota schopné zygoty.

## Strukturní chromozomové aberace

- následkem chromozomových zlomů, na které navazuje určitá přestavba - primární je tedy porucha struktury
- dělíme je na:
  - **balancované** - je zachováno původní množství genetického materiálu
  - **nebalancované** - část genetického materiálu chybí či přebývá

# Chromozomové mutace - aberace

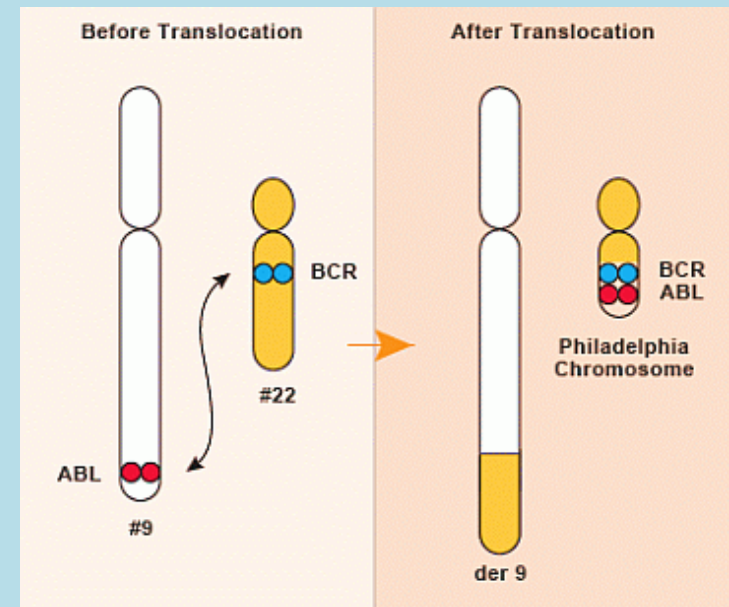
- **deficience** = ztráta koncové části chromozomu, oddělený kousek se rozpadne v cytoplasmě, dochází ke ztrátě genů, ztráta důležitých genů vede ke smrti
- **delece** = ztráta vnitřní části chromozomu.
- **duplikace** = zdvojení některých částí chromozomů
- **inverze** = převrácení části chromozomu o  $180^\circ$
- **fragmentace** = rozpad na malé části
- **translokace** = přesun části chromozomu na jiný chromozom, může vést k vytvoření nového znaku



# Chromozomové mutace - aberace

## Philadelphský chromozom

- chromozomální translokace mezi dlouhými raménky 9. a 22. chrom.
- $t(9;22)(q34;q11)$ ,
- u CML je fúzní gen ABL/BCR exprimován jako cytoplazmatický protein p210, ten asociuje s cytoskeletárním aktinem
- p210 má silnou tyrozin-kinázovou aktivitu → fosforylace více než 50 proteinů → fenotyp. změny b.:
- ↑ proliferální aktivity (mitogenní úč.)
- ↓ adhezivita ke stromatu krvetv. tkáně
- ↑ rezistence k apoptóze
- nestabilita genomu



# Genomové 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** ( $2n + 1$ ), **tetrasomie** ( $2n + 2$ )
  - nebo naopak ztracen - **monosomie** ( $2n - 1$ ), **nulisomie** ( $2n - 2$ )

# Genomové mutace

## Aneuploidie

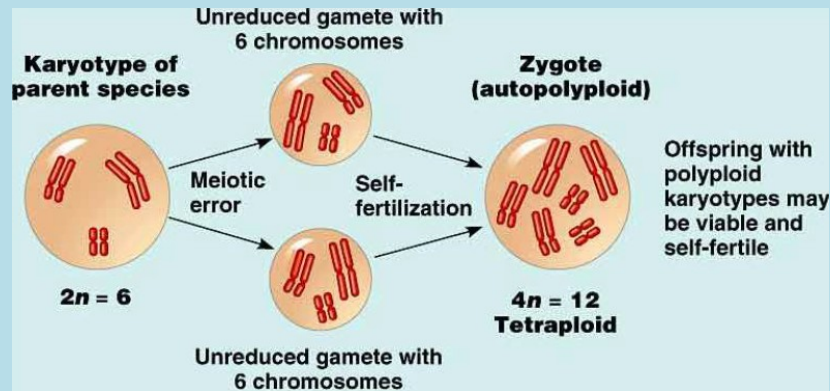
- monosomie
  - gonosomální
    - Turnerův sy. (45, X0)
  - trisomie
    - autosomální
      - Downův sy. (47, XX/XY + 21)
      - Edwardsův sy. (47, XX/XY + 18)
      - Patauův sy. (47, XX/XY + 13)
    - gonosomální
      - Klinefelterův sy. (47, XXY)
      - super female - triple X sy. (47, XXX)
      - super male = Jakobův sy. (47, XYY)





# Genomové mutace

- **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 triploidí - velmi časná letalita



- u rostlin polyploidie časté: triploidie (banány), tetraploidie (brambory), hexaploidie (pšenice), oktoploidie (jahody) - spojitost mezi růstem a vnitřními hodinami rostlin → hybridní a polyploidní rostliny mají za denního světla sníženou funkci represorů transkripce, kt. regulují aktivitu genů → během dne jsou tak aktivnější geny, jejichž produkty se účastní fotosyntézy a metabolismu škrobu → díky zvýšenému výkonu fotosyntézy i ukládání škrobu pak hybridní a polyploidní rostliny rostou lépe



# Obsah přednášky

- Struktura lidského genomu
- Reakce lidského genomu na vlivy prostředí. Exonové, intronové a promotorové mutace.
- Monogenní a polygenní choroby a vztah multigenních nemocí a prostředí.
- Genetické studie a klinická genetika.

# Monogenní nemoci

- **mendelistická dědičnost**
- dědičný podklad - 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

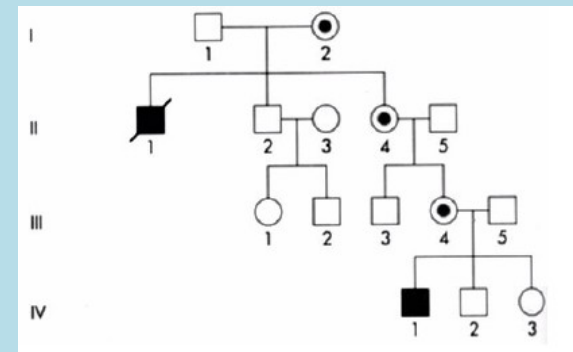
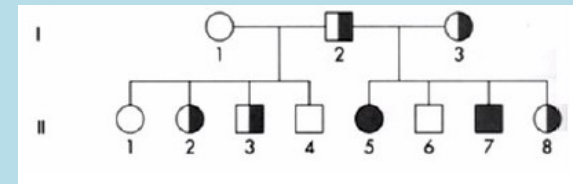
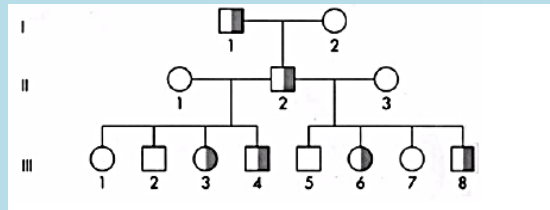
# Monogenní nemoci

- 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

# Monogenní nemoci

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 = aktivita určitého genu regulována v závislosti na tom, od kt. rodiče byl gen zděděn
  - mozaicizmus = přítomnost dvou (nebo více) buněčných linií s různým karyotypem, pocházejících z jedné zygoty

# Monogenní nemoci

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

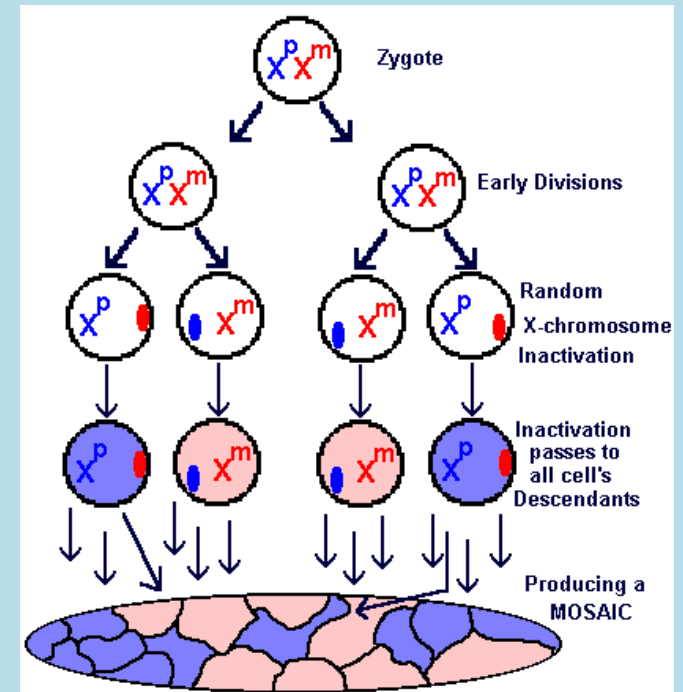
- u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt k udržení normální funkce
- manifestní onemocnění u heterozygota je důsledkem:
  - haploinsuficience - pro normální funkci je potřeba >50% aktivního genového produktu
  - dominantě negativního efektu - syntéza abnormálního proteinu, který "soutěží" s normálním a ovlivňuje fenotyp
  - zesílení funkce ("gain-of-function") - mutací je posílena přirozená vlastnost proteinu
  - ztráty heterozygozity (loss-of-heterozigosity, LOH) v somatické buňce - např. familiární predispozice k nádorům v důsledku mutací v supresorových genech (např. retinoblastom)
- velmi často enzymové defekty
- postižen je mutovaný homozygot (popř. sourozenci), heterozygotní rodiče jsou přenašeči (asymptomatictí) - riziko  $0,50 \times 0,50 = 0,25$
- frekvence přenašečů nemoci v populaci >>> frekvence nemocných
- nejčastější AR nemocí u bělochů je cystická fibróza (f nemocných 1/2000, f přenašečů 1/22)
- 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 zdědili mutaci, a pouze u homozygotních žen
- hemofilie A
- Duchenneova muskulární dystrofie
- Wiskott-Aldrichův syndrom (imunodeficience)

## 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" tělíčko (viz sporné identifikace pohlaví), proces je náhodný, může se týkat jak otcovského tak mateřského X a 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

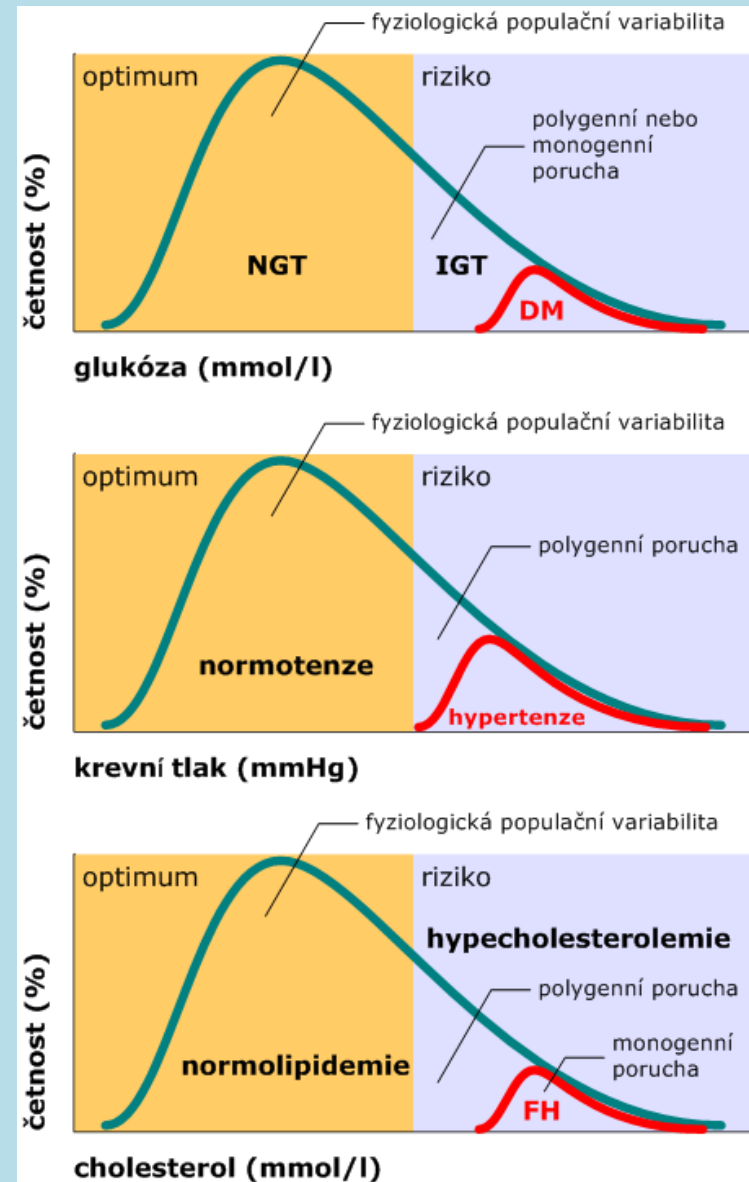
Každá choroba má nějaké genetické pozadí, jehož podíl na manifestaci dané choroby je různý.

# Komplexní nemoci

- neúplná penetrance patologického fenotypu
  - u určité části osob, přestože zdědí nevýhodný genotyp (zde ve smyslu souboru vícero genů) se patologický fenotyp nerozvine
- existence fenokopii
  - 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

# Komplexní choroby

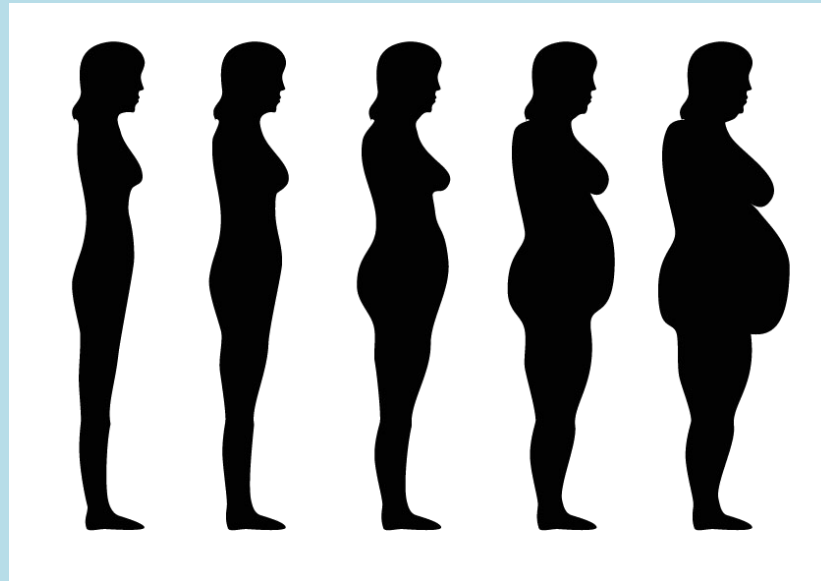
- choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „komplex“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů
  - fenotyp nevykazuje klasickou mendelistickou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- **predisponující „geny“** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, 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

## Obezita - Hypotéza typu „thrifty genotype“

- V současné populaci jsou selektovány alely, které favorizují přírůstek váhy a skladování tuků, aby byl zajištěn dostatek živin pro častá období nedostatku potravy.
- Při konstantně vysoké nabídce potravy a poklesu fyzické aktivity tato predispozice vede k pandemii obezity v rozvinutých zemích.





# Obsah přednášky

- Struktura lidského genomu
- Reakce lidského genomu na vlivy prostředí. Exonové, intronové a promotorové mutace.
- Monogenní a polygenní choroby a vztah multigenních nemocí a prostředí.
- Genetické studie a klinická genetika.



# 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 transmisi nemoci, je v principu možné použít obě metody.

# Genetické studie

## Kandidátní geny

- s intermediálním fenotypem
- s klinickou manifestací nemoci
- s klinickou závažností nemoci
- s odpovídavostí nemoci na léčbu

## Linkage (vazebná) analýza

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

# Genetické studie

## Asociační studie

- vyšetřují souvěsky 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 např.:
  - klinické subtypy nemoci (studie case-case)
  - závažnost nemoci
  - časný začátek nemoci
  - rizikové faktory pro nemoc včetně pohlaví
  - 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 aberace	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:

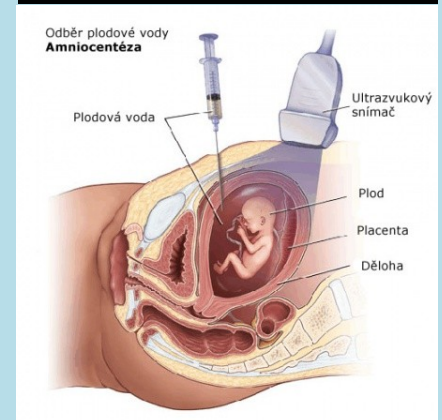
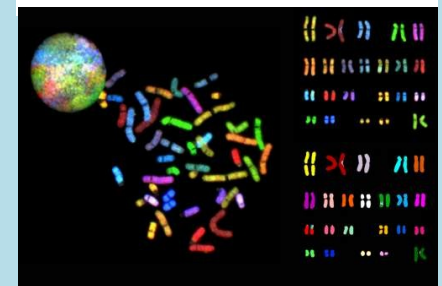
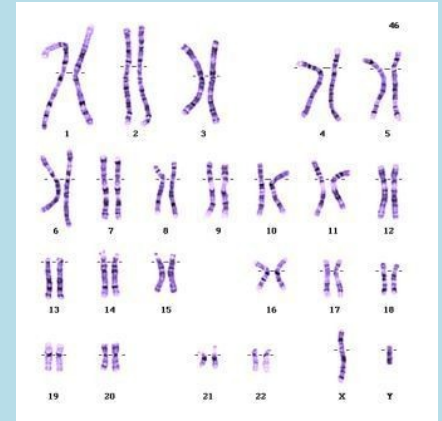
- věk matky v době porodu je vyšší jak 35 let nebo součet věku rodičů nad 70 let
- pozitivní biochemický screening z krve matky
- ultrazvukový nález, který zvyšuje riziko přítomnosti chromozomální aberace (nahromadění tekutiny v podkoží, nepřítomnost nosní kůstky, srdeční vada plodu aj.)
- přítomnost 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 viz přednáška č.8, celiakie, cystická fibróza...



# Klinická genetika

## Celiakie

- celoživotní autoimunitní onemocnění způsobené nesnášenlivostí lepku (glutenu)
- lepek mění povrch sliznice tenkého střeva, mizí zde mikroklky a klky, povrch tenkého střeva snižuje, s tím se zmenšuje jeho schopnost trávení a vstřebávání živin
- příznaky: průjem, plynatost, křeče, pokles hmotnosti nebo únava, anémie z nedostatku železa, zvracení, snížená chuť k jídlu, osteoporóza, zvýšená kazivost zubů, bolesti kloubů, deprese
- od dětství, nebo později - po zátěži (nemoc, těhotenství)
- bezlepková dieta



# Klinická genetika

## Celiakie

### Diagnostika

- stanovení autoprotilátek k tkáňové transglutamináze v krevním séru
- při pozitivním výsledku je indikována biopsie sliznice dvanáctníku u nemocného, který konzumuje stravu s obsahem lepku

### Cílený screening

- Pro osoby s rizikovými chorobami
- S podezřelými nebo nespecifickými symptomy
- S autoimunními chorobami asociovanými s celiakií (T1DM...)
- U příbuzných jedinců s celiakií



GHC GENETICS 1600Kč

- [http://medicinman.cz/?p=nemoci-sympt&p\\_sub=celiakie/f-dg](http://medicinman.cz/?p=nemoci-sympt&p_sub=celiakie/f-dg)

# Klinická genetik

## Celiakie

- AD s neúplnou penetrancí
- Genetické vyšetření predispozičních HLA alel II. třídy kódujících heterodimer DQ2 (DQA1\*0501/DQB1\*0201 nebo DQA1\*02:01/DQB1\*02:02) a heterodimer DQ8 (DQA1\*0301/DQB1\*0302)
- Heterodimer HLA-DQ2 se vyskytuje asi u 95 % pacientů s celiakií (jen ve 20 % u kontrolních osob).
- Riziko pro jednotlivce spojené s přítomností heterodimeru HLA-DQ2 je 50x zvýšeno oproti průměrnému riziku v populaci.
- Menšina pacientů, kteří jsou HLA-DQ2 negativní, bývají pozitivní na HLA-DQ8, často ještě ve spojení s alelou HLA-DRB1\*04.
- Genetické vyšetření má vysokou negativní prediktivní hodnotu, nepřítomnost predispozičních alel DQ2/DQ8 téměř s jistotou (99%) vylučuje diagnózu celiakie.
- Oproti sérologickému vyšetření protilátek vykazuje menší výskyt falešně negativních výsledků, zejména u dětí mladších 2 let a u pacientů na bezlepkové dietě.

# Klinická genetiká

## Cystická fibróza

- více než 30 mutací, které způsobují toto onemocnění

důvody k vyšetření jsou:

- podezření na klinické onemocnění
- příbuzenský vztah rodičů
- opakované potraty
- léčená neplodnost

