

# MONOGENNÍ VS. KOMPLEXNÍ NEMOCI

MGR. PETRA BOŘILOVÁ LINHARTOVÁ, PH. D.



MOLEKULÁRNÍ PODSTATA  
PATO FYZIOLOGICKÝCH  
PROCESŮ

# 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

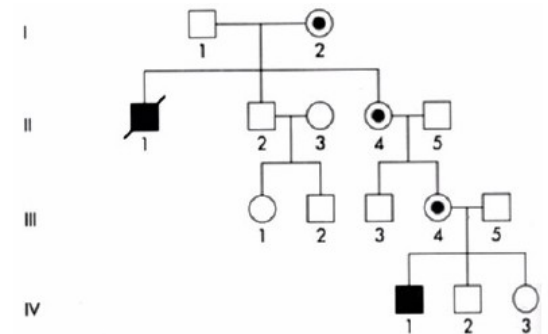
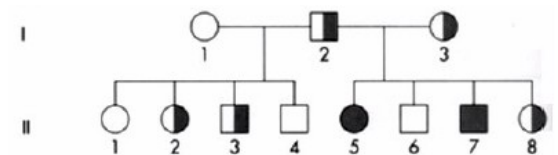
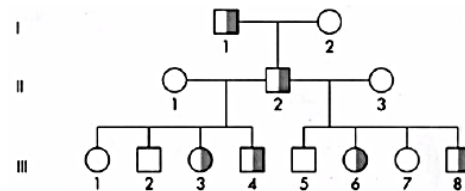
- choroby dětského věku
- méně než 10 % z nich se manifestuje po pubertě a pouhé 1 % se objeví po skončení reprodukčního věku
- často výrazně patologické
- v populační studii na 1 milionu živě narozených dětí byla incidence vážných monogenních chorob odhadnuta na 0,36 %, u 6-8% hospitalizovaných dětí 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
autozomální	autozomálně dominantní (AD)	autozomálně 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

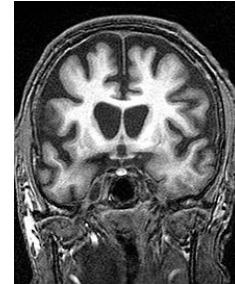


# Monogenní nemoci - AD

- 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)



# Huntingtonova chorea



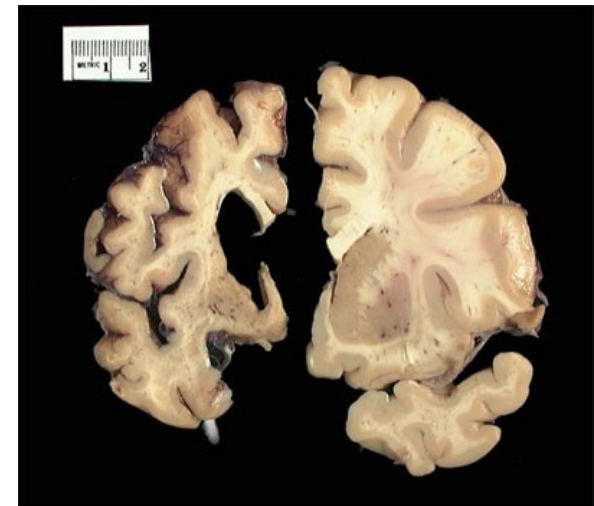
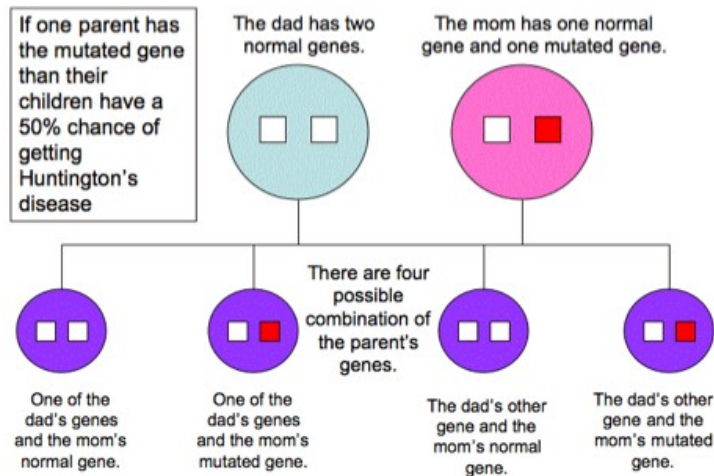
- fatální neurologické onemocnění s nástupem v dospělosti, projevující se jako demence s extrapyramidovou poruchou motoriky
- v genu pro **huntingtin** je repetitivní sekvence  $(CAG)_n$ , která kóduje úsek bílkoviny tvořený zbytky glutaminu (polyglutaminový úsek, polyglutamine tract)
- za normálních 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



# 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-...





# Genetická uniformita

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

**The cheetah is depauperate in genetic variation.**

O'Brien SJ, Wildt DE, Goldman D, Merrill 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.

# Monogenní nemoci - AR

- u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt k udržení normální funkce
- 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  $\gg$  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 - AR

- 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 heterozygotnosti (loss-of-heterozygosity, LOH) v somatické buňce - např. familiární predispozice k nádorům v důsledku mutací v supresorových genech (např. retinoblastom)

# Cystická fibróza

- v zakavkazské populaci s incidencí 1: 3000 živě narozených dětí a frekvencí přenašečů 1:25
- onemocnění multiorgánové, zasahuje různé orgány, plíce, pankreas, trávicí trakt, reprodukční orgány
- více než 30 mutací, které způsobují toto onemocnění

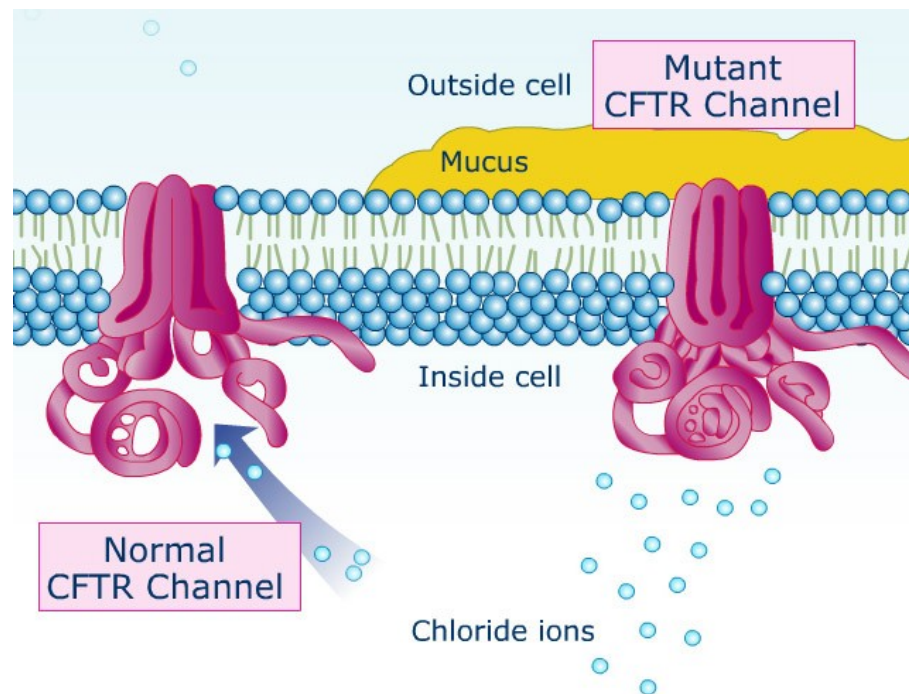
Důvody k vyšetření jsou:

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



# Cystická fibróza

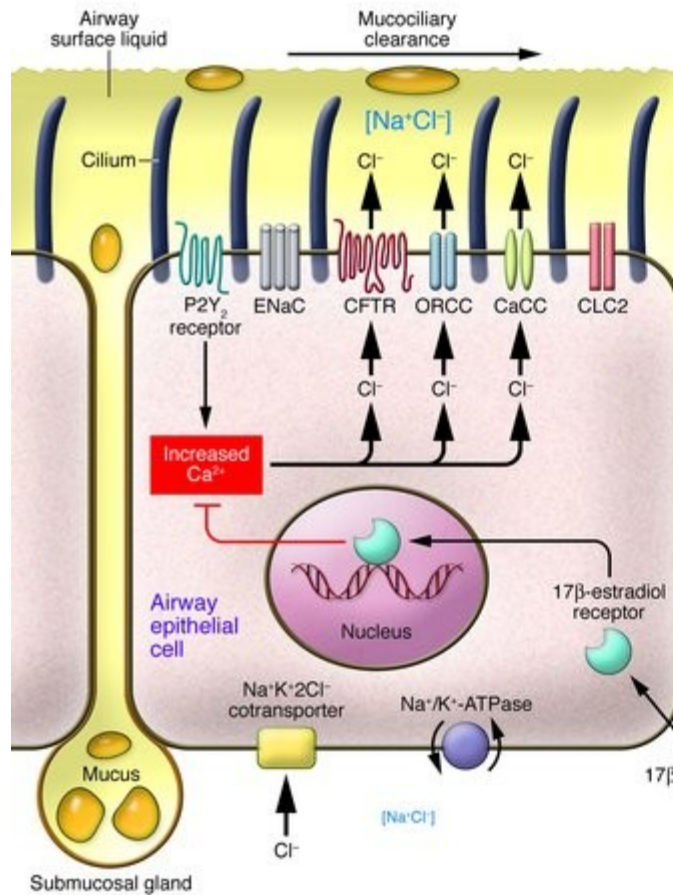
- základní fyziologický defekt při tomto onemocnění je porucha v transportu iontů chlóru, sodíku a vody přes apikální membránu specializovaných epiteliálních buněk, který je regulován chloridovým kanálem (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Protein = CFTR)



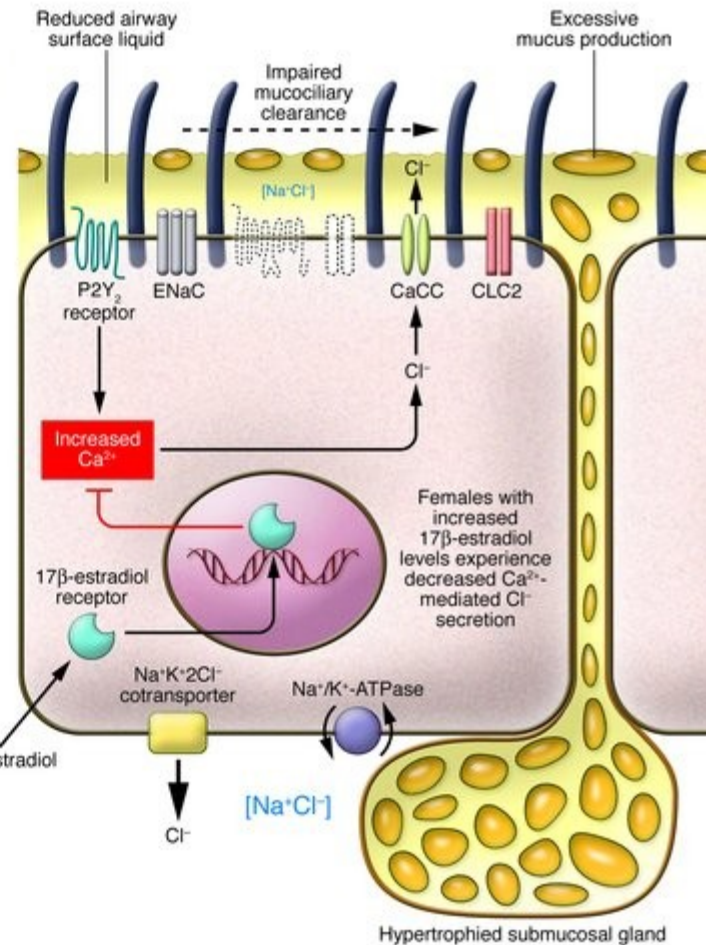


# Cystická fibróza

**A** Normal airway (hydration)



**B** Cystic fibrosis airway (dehydration)



# 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)

	ancestral	mutant
DNA	-TAG- <b>AAA</b> -CCA-	-TAA-CCA-
mRNA	-AUC- <b>UUU</b> -GGU-	-AUU-GGU-
AA	-ile- <b>phe</b> -gly-	-ile-gly-



# Metody léčby

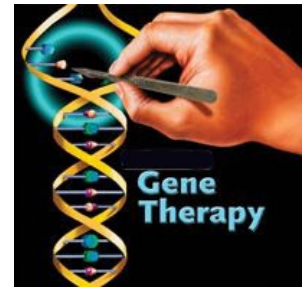
## Symptomatická

- substituční terapie - dodání proteinu, který je v daném organismu defektní nebo zcela chybí (př. enzymopatie hemofilie - dodání faktoru VIII)
- karenční terapie - vyloučení nebo omezení složky potravy, která v důsledku defektu enzymu není odbourávána (př. fenylketonurie - potrava bez phe)


## Kauzální

- genová terapie - náhrada mutovaného, nefunkčního genu standardními, funkčními geny

# Genová terapie



- zahrnuje všechny postupy, které využívají přenosu genetického materiálu do buněk pacienta k léčebným účelům
- metodologie GT je uplatnitelná tam, kde je **známa molekulární podstata nemoci**
- vzhledem k tomu, že poznatků o patogenezi chorobných stavů na molekulární úrovni přibývá, rozšiřuje se i okruh indikací pro GT
- v nejbližších letech změní zásadním způsobem léčbu mnoha lidských nemocí




# Genová terapie

## Využití při léčbě

- vrozených chorob - korekce abnormality (nemoci monogenní i polygenní)
- i získaných chorob - jakákoliv manipulace s DNA, která příznivě ovlivní průběh nemoci (zhoubné nádory, léčba kardiovaskulárních a metabolických chorob, degenerativních nervových onemocnění, AIDS, v transplantační medicína)

## Principy

- nahrazení nefčného genu fčným (homologní rekombinace)
- oprava nefčného genu (cílené mutace)
- přenesení nového genu (terapeutický gen)



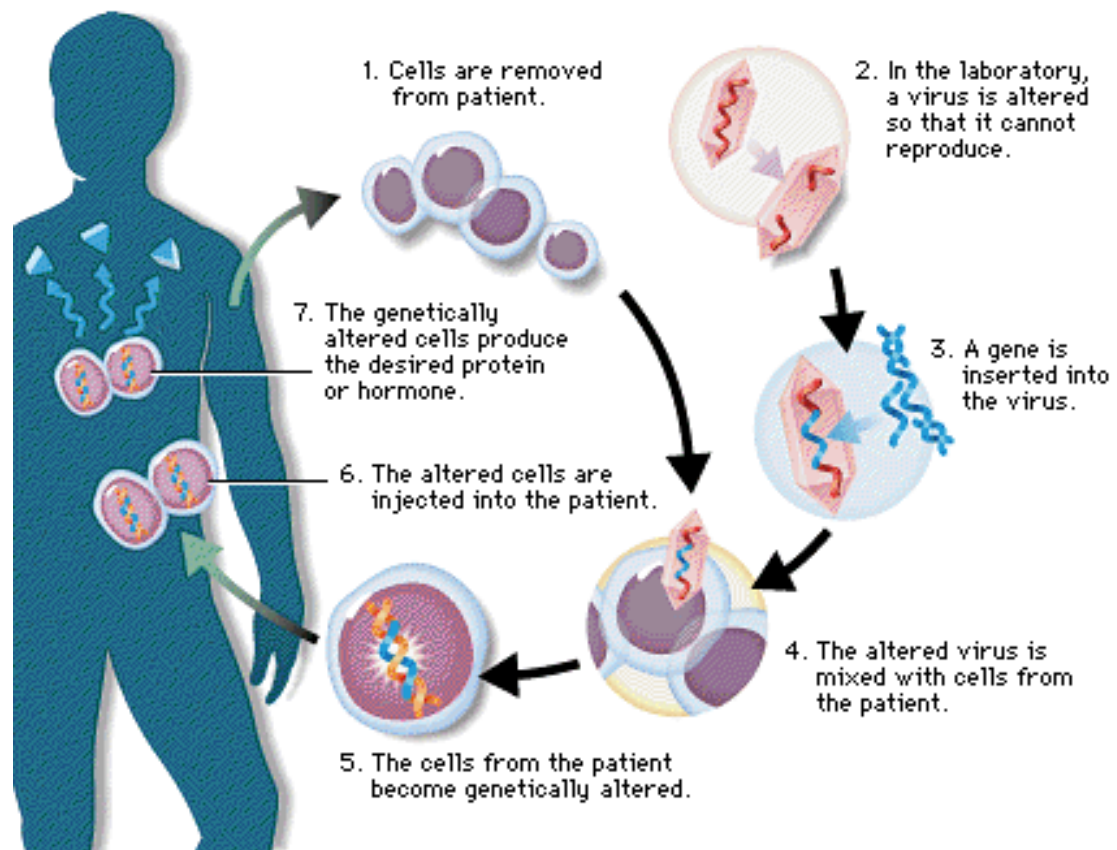
# Genová terapie


Co je třeba znát před začátkem genové terapie?

- kompletní informace o defektním genu - umístění, mechanismus patologického účinku
- znalost přesné sekvence zdravého genu
- volba vhodného vektoru, vytipování cílových buněk
- souhlas pacienta

# Genová terapie

- opravu, vložení, vyřazení genu lze provádět *in vivo*, *in vitro* a nejč. *ex vivo*
- odběr bb. z pacienta -> kultivace *in vitro* -> modifikace DNA -> selekce -> proliferace selektovaných bb. -> přenos zpět do pacienta
- geny lze do genomu začlenit v časně embryogenezi (léčba v zárodečné linii)
- gen může být začleněn pouze do somatických bb., které jsou nejvíce poškozené (v tomto případě se geneticky opravená DNA nepředává následujícím generacím potomků)





# Genová terapie

## Postup při genové terapii

- vytvoření genetické informace určené pro transport do buněk
- vytipování cílových buněk
- vpravení vektoru (vektory = nosiče pro vpravení genetické informace do cílových buněk)

## Vlastnosti ideálního vektoru

- průnik do velkého počtu cílových buněk
- přenos genu v transkripčně aktivním stavu
- netoxický pro cílové buňky
  
- plazmidy, virové částice

# Genová terapie

## Virové vektory

- interakce s receptory na povrchu cílových buněk
- vybavení regulačními elementy zajišťujícími účinnou expresi transgenů
- integrace transgenů do buněčného genomu
- náročnější příprava (mimo jiné se musí se zbavit všech virových genů, aby nebyly infekční)
- malý rozměr částic
- vyšší biologická rizika (hrozí nebezpečí rekombinace a vzniku viru schopných replikace)
- nejčastěji používané virové vektory - retroviry (dělící se bb.), adenoviry (začlenění se i do nedělících se bb.), poxviry, adeno-asociované viry (AAV) a herpetické viry





# Genová terapie

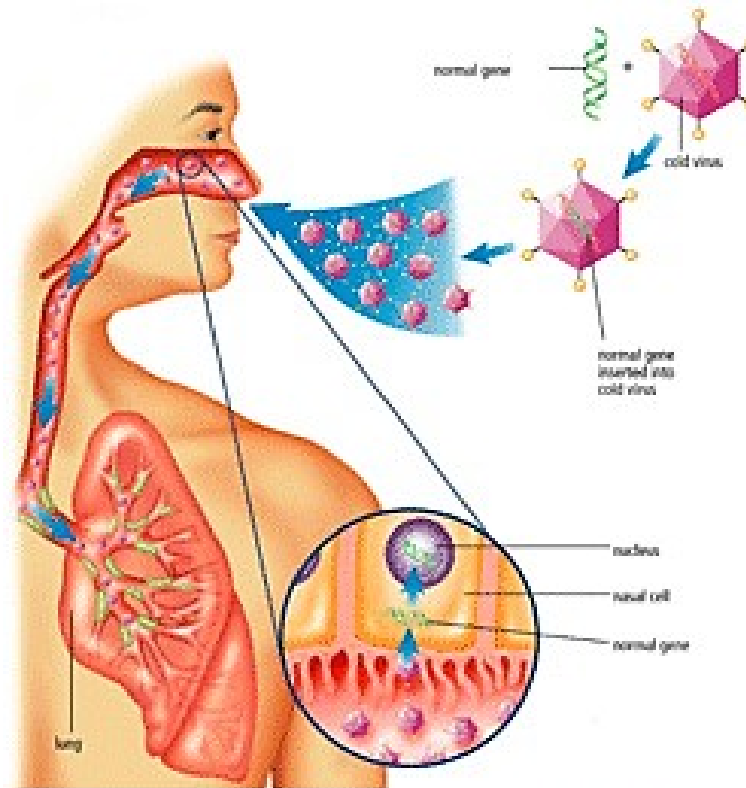
**Monogenně podmíněná onemocnění teoreticky vhodná pro genovou terapii**

- Parkinsonova choroba (gen pro dopamin -> do bb. subst. nigra)
- cystická fibróza (gen CFTR -> epitel v plicích, pankreatu aj.)
- fenylketonurie (gen pro phenylalanin hydroxylázu - > hepatocyty)
- hemofilie A, B (gen pro faktor VIII a IX -> hepatocyty)
- Duchennova svalová dystrofie (gen pro dystrophin -> svaly)
- $\alpha$ - $\beta$ -talasemie (gen pro  $\alpha$ - $\beta$ -globin -> ery)
- srpkovitá anémie (gen pro  $\beta$ -globin -> ery)

# Genová terapie

## Cystická fibróza

- genová terapie v prenatálním období



Gene therapy could deliver a working gene into a CF patient's cells.

(courtesy of BC Science 9, © McGraw-Hill Ryerson Limited, 2008.)

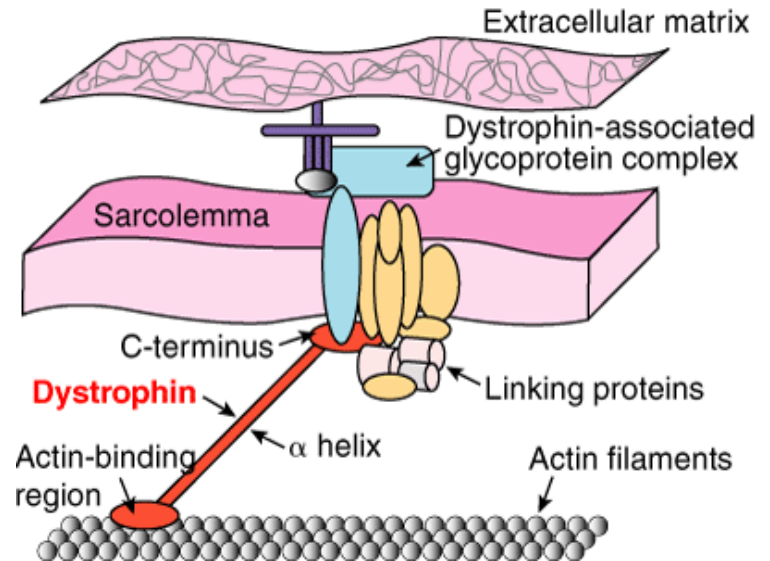
# Monogenní nemoci - X-vázané

- 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 (imunodeficiency)



# Duchennova svalová dystrofie

- „frameshift“ mutace = posun čtecího rámce v genu pro protein dystrofin



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



# Komplexní nemoci

- multifaktoriální, multigenní
- roli hrají kombinace určitých genů a určitých faktorů zevního prostředí
- 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
- 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.

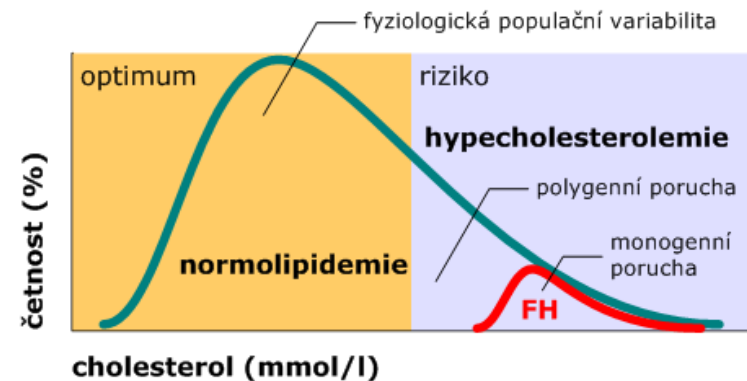
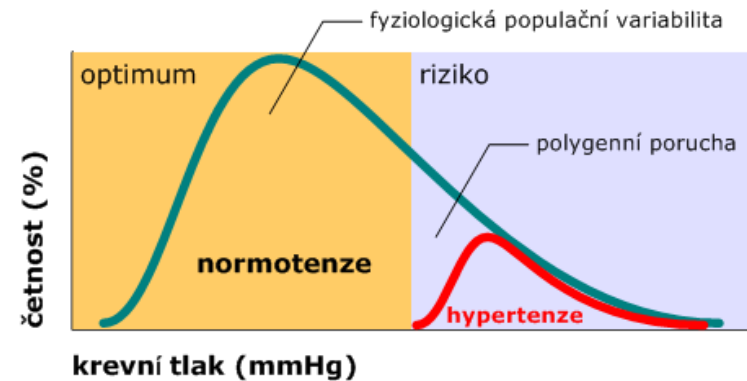
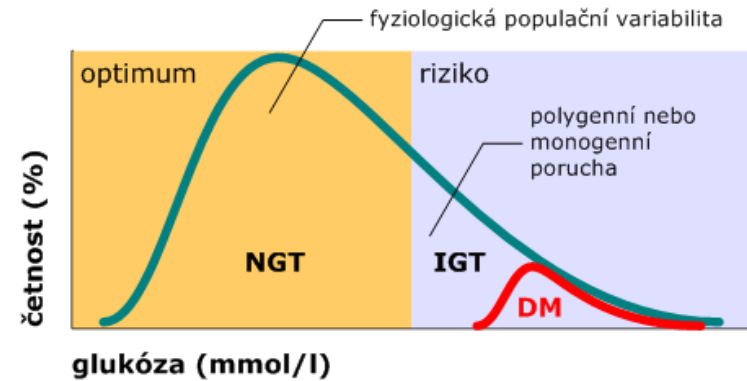
# Komplexní nemoci

- **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)
- dyslipidémie
- esenciální hypertenze
- alergie

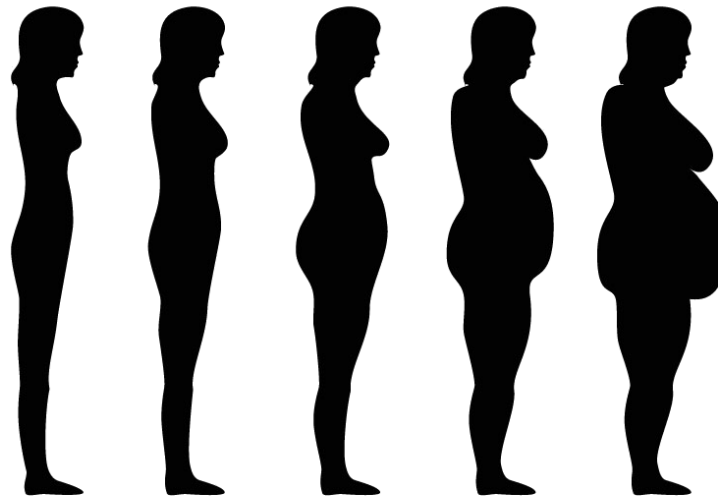




# Komplexní nemoci

## 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.**



	JEDNOLOKUSOVÉ NEMOCI	KOMPLEXNÍ NEMOCI
Závažnost nemoci, manifestace	Narušují homeostázu zásadním způsobem a porucha se objevuje brzy v průběhu života. Závažnost je pro konkrétního nositele je značná. Z hlediska populační morbidity a mortality jsou však nevýznamné!	Rovněž zásadně narušují homeostázu, ovšem efekt nastupuje postupně a efekt kulminuje v pozdějším období života. Hlavní faktor ovlivňující morbiditu a mortalitu v populaci, zejm. v rozvinutých zemích!
Interakce s prostředím	Některé se vyvinou bez ohledu na prostředí, u jiných je nutný specifický etiologický činitel (např. u fenylketonurie přítomnost fenylalaninu v dietě) nebo několik činitelů (např. oxidační stres u hemolytické anemie při G6PD deficitu).	Manifestace je pravidelně výsledkem spolupůsobení komplexu genů interagujících s prostředím během vývoje, dospívání a zejm. stárnutí.
Variabilita fenotypu	Modifikující geny, někdy pohlaví (např. heredit. hemochromatóza) a efekt prostředí činí fenotyp do jisté míry variabilní, ale ne tak jako u komplexních onemocnění; efekt hlavního patologického genu vždy dominuje a kvalitativně jsou značně homogenní.	Fenotyp je výsledkem interakce efektů jednotlivých genů, přičemž charakter interakce může být heterogenní, aditivní či multiplikativní.
Penetrance	Obecně vysoká.	Typicky nekompletní (avšak pojem penetrance úzce souvisí s definicí fenotypu, což je u komplexních onemocnění svébytný problém).
Populační frekvence genetických variant	Obecně velmi nízká jako důsledek vysokého selekčního tlaku; výjimku z pravidla představují nemoci, které přinášejí určitou selekční výhodu (např. hereditární hemoglobinopatie v malarických oblastech).	Frekvence minoritních alel jsou vyšší, často se jedná o tzv. běžné polymorfizmy. Varianty genů jsou pravděpodobně evolučně starší; evoluční konzervace je součástí lidského vývoje.
Genetická architektura	Poměrně velmi velká lokusová homogenita (tj. stejný gen), ale jsou výjimky (např. retinitis pigmentosa, Ehlers-Danlosův syndrom aj.). Typicky extrémně vysoká alelická heterogenita (tj. různé mutace) jako důsledek očišťující selekce (např. ~160 mutací u hemofilie B, ~270 mutací u cystické fibrózy, ~700 u familiární hypercholesterolemie).	Je předmětem intenzivního výzkumu. Lokusová heterogenita bude zřejmě vyšší, alelická už by nemusela být, protože zodpovědné varianty nejsou předmětem tak silné selekce (běžné polymorfizmy).

# 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 související 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 polymorfizmů 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

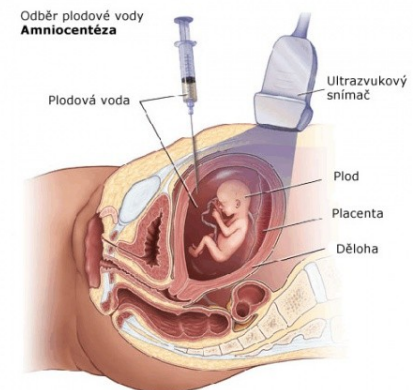
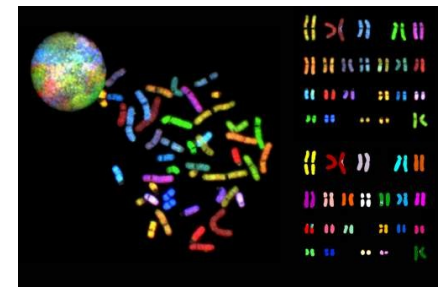
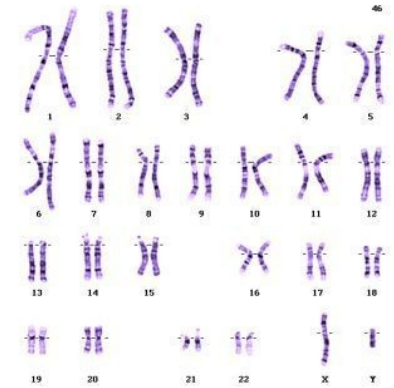




# Klinická genetika

## Vyšetření karyotypu plodu

- invazivní metody - amniocentéza, biopsie choriových klků, kordocentéza
- **cytogenetické vyšetření** - karyotypizace
- **FISH** - fluoresceční hybridizace *in situ*
  - vazba denaturované sDNA se specifickou sondou
- **AmnioPCR** - genetické 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

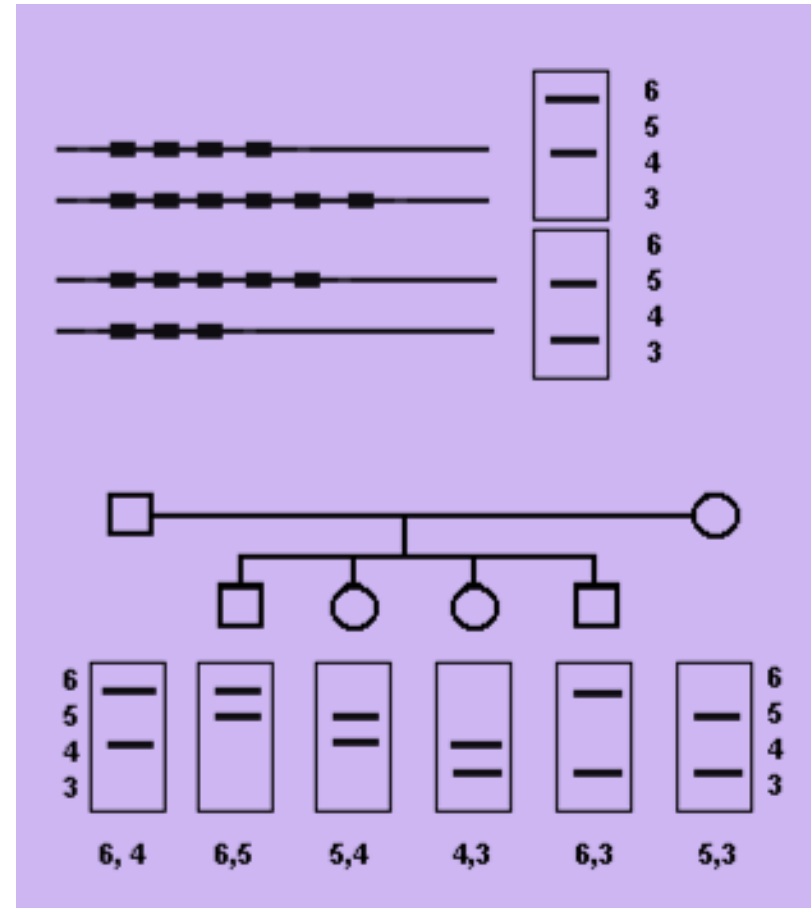
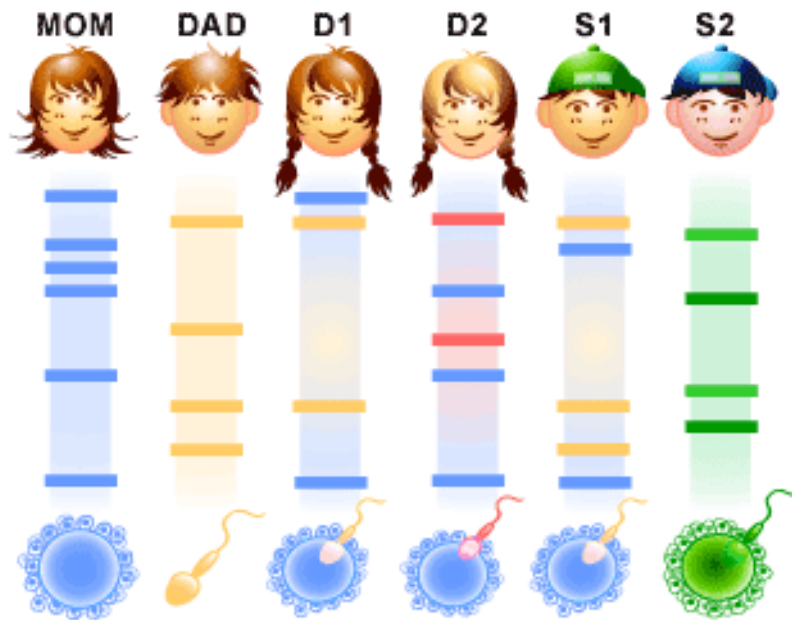
- metodu časně prenatalní diagnostiky, která je vázána na techniky umělého oplodnění, za účelem minimalizace chyby genetického vyšetření je třeba k oplozování vajíček použít metody intracytoplazmatické injekce spermie
- buňky pro genetické vyšetření jsou odebírány z embrya nejčastěji ve stadiu 8 buněk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

## Postnatální diagnostika

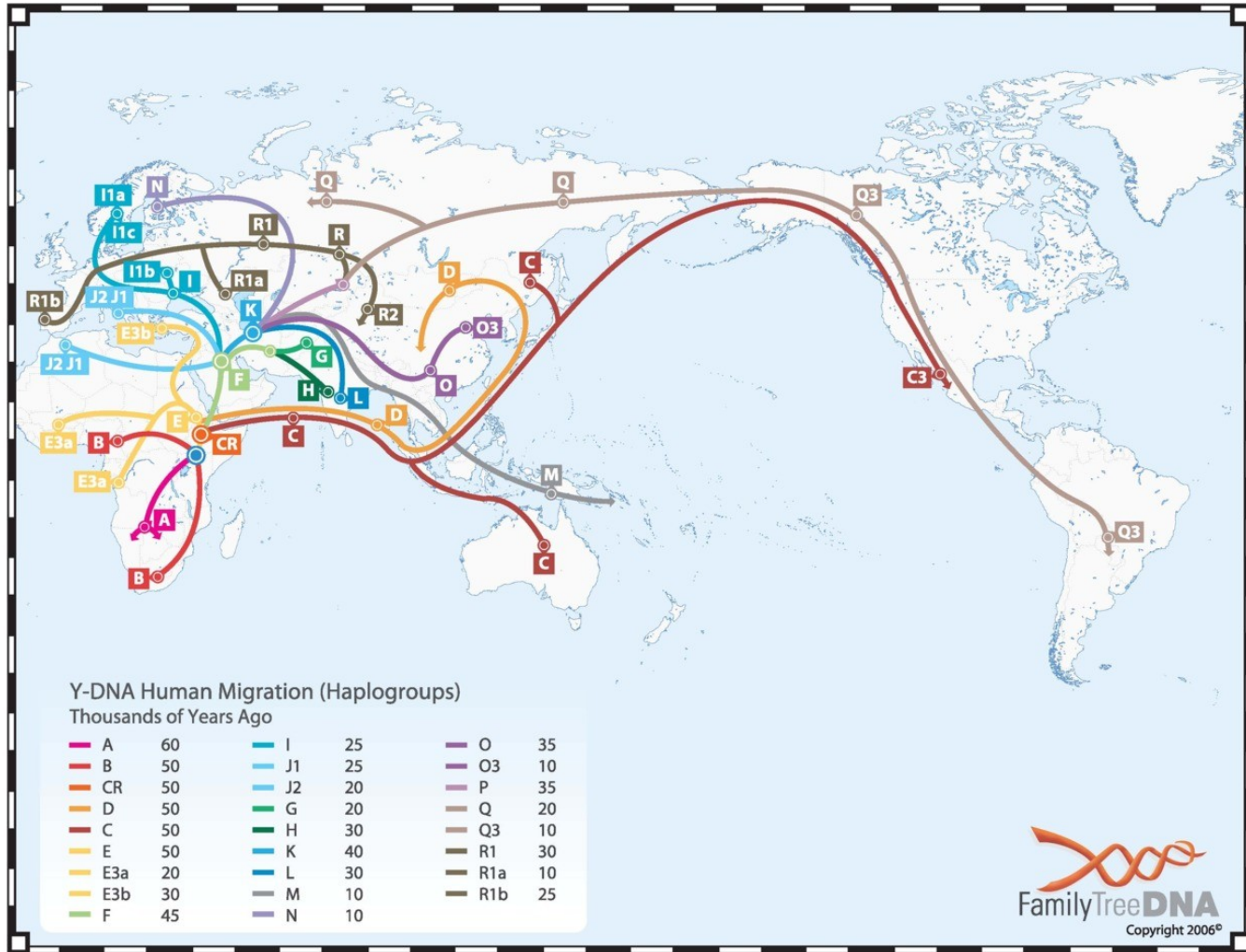
- např. trombofilie, viz přednáška č.8, celiakie, cystická fibróza...



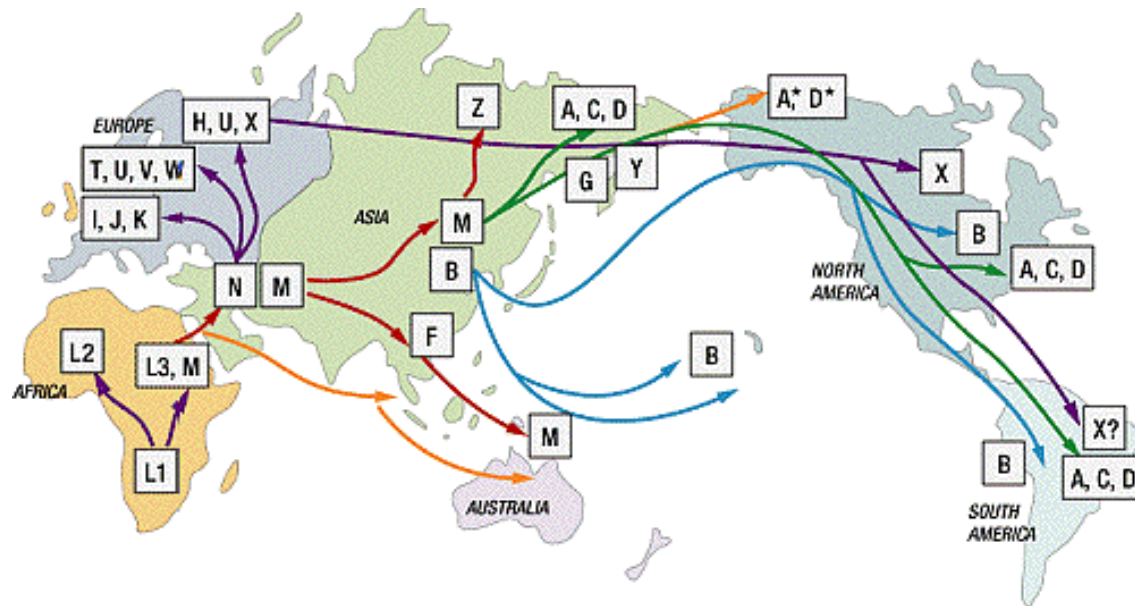
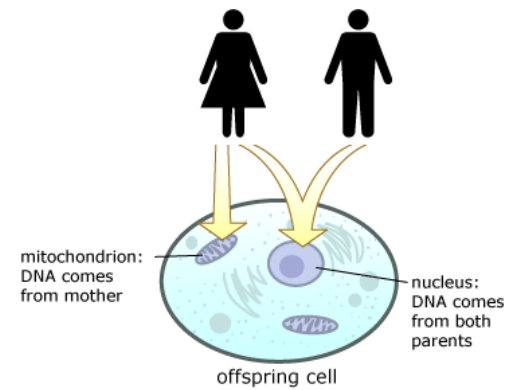
# DNA fingerprinting



# Lidský genom



# Lidský genom



EXPANSION TIMES (years ago)	
Africa	120,000 - 150,000
Out of Africa	55,000 - 75,000
Asia	40,000 - 70,000
Australia/PNG	40,000 - 60,000
Europe	35,000 - 50,000
Americas	15,000 - 35,000
Na-Dene/Esk/Aleuts	8,000 - 10,000



# Klinická genetik

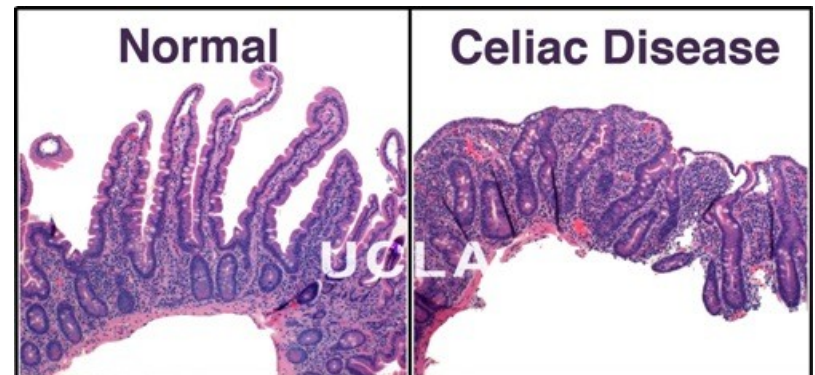
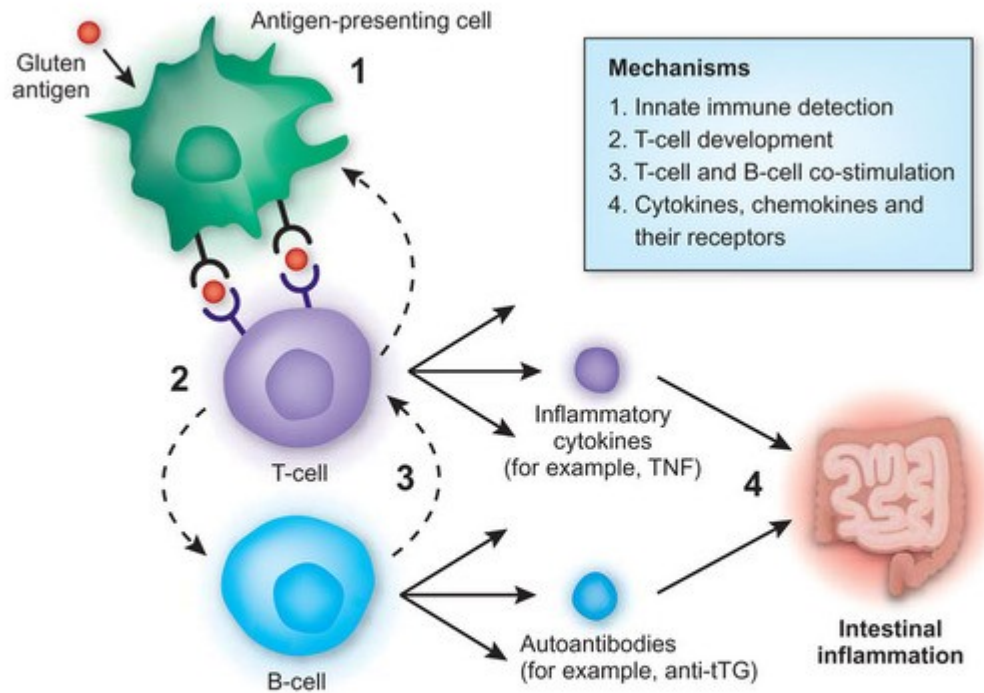
## Celiakie

- 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





# Celiakie



# 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



# 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 50× 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.



# Farmakogenetika

- zabývá se hledáním vztahu mezi metabolizmem, případně efektivitou léčiva a přítomností polymorfizmů genů, které se na absorpci, distribuci, metabolismu, eliminaci podílejí
  - procesy spojené se vstřebáváním léků
  - jejich vazbou na proteiny
  - distribucí v organismu
  - přenosem přes buněčnou membránu
  - interakce s buněčnými receptory
  - biotransformace i vylučování z organismu
- pro určení, který dostupný lék bude mít u konkrétního pacienta **největší terapeutický benefit**, zatímco **nežádoucí účinky** budou **minimální**
- volba nejefektivnější a nejbezpečnější způsobu léčby



# Farmakogenomika

- zkoumá vztah účinku léku na úrovni celého genomu, resp. transkriptomu
- screening známých genových polymorfismů
- účelná farmakoterapie, minimální nežádoucí účinky
- identifikace a genetické určení tzv. „**drug targets**“ (cílových struktur léčiva)
- **stanovení genetických polymorfismů**, které mohou tyto cílové struktury pozměňovat i polymorfismů asociovaných s rozvojem choroby a lékovou odpovědí
- **vývoj účinnějšího léčiva** s menším počtem nežádoucích účinků



# Farmakogenetika a genomika

## Kandidátní geny

- enzymy lékového metabolismu
- membránové transportní přenašeče
- receptorové proteiny
- proteiny iontových kanálů



# Farmakogenetika

## Mendelistická dědičnost

- **deficience glukózo-6-fosfatázy (favismus)** - GR - hemolytický sy po podání analgetik, sulfonamidů, antimalarik, antibakt. léků, vit. K, chininu. Země s endemickou malárií.
- **deficience glutathion reduktázy** - AD - spojení s glukózo-6-fosfatázou hemolytická anémie po podání fenybutazonu a léků jako při favismu
- **hemoglobinopatie** se zvýšenou citlivostí k lékům u lidí s nestabilními typy hemoglobinu: Hb-Zürich, Hb-Torino při podání léků s oxidačními vlastnostmi - jako při favismu



# Farmakogenetika

## Mendelistická dědičnost

- **polymorfismus acetyltransferázy** - AR - inaktivace léků v játrech - pomalí inaktivátoři x rychlí inaktivátoři - INH, sulfamethazin, prokainamid, hydralazin - periferní neuropathie - prevence: pyridoxin
- **↑ nitrooční tenze** po apl. glukokortikoidů - AR - 50 % bělochů - 100x vyšší riziko glaukomu u reces. homozygotů - enzymatický defekt není znám
- **deficience methemoglobin-reduktázy** - AR - odbourávání methemoglobinu po podání léků, které jej zvyšují - methemoglobinémie s cyanózou stejné léky jako u favismu
- **atypická pseudocholinesteráza** - AR - přecitlivělost na suxamethonium - protrahovaná apnoe po myorelaxans antidotum - čerstvá plasma nebo čistý enzym

# Farmakogenetika

## Mendelistická dědičnost

- **maligní hypertermie** - AD
  - porucha Ca mtb svalové b.
  - hypertemie až 44,4°C po inhal. narkotikách - halothan, éther, methoxyfluran, suxamethonium
  - tachykardie, hypoxie, hyperkalémie, acidóza - antidotum: prokain, Dandrolen (myorelax.)
- **rezistence na kumarin** - AD
  - rezistence na p.o. antikoagulancia
  - odchylný typ receptorů v jaterních buňkách
  - zvýšená afinita k vit. K

# Farmakogenetika

## Protinádorová terapie

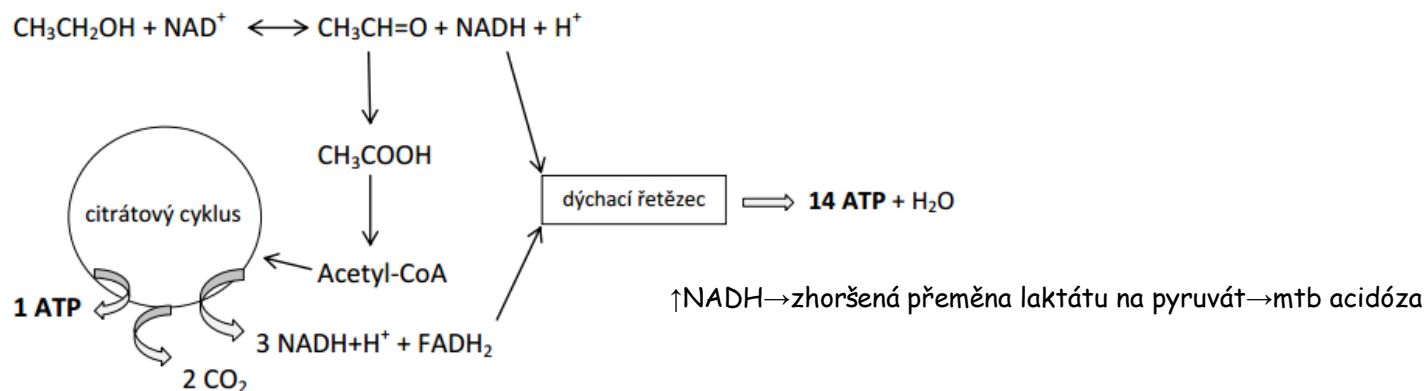
### Azathioprin

- je antimetabolit purinových bází, který se používá při léčbě HEMONK onemocnění u dětí, k terapii AI onemocnění nebo střevních zánětů u pacientů rezistentních k jiné léčbě
- pro odbourávání je zásadní enzym **thiopurinmethyltransferáza (TPMT)**
- u evropského obyvatelstva je TPMT polymorfní, s výskytem přibližně **11 % jedinců**, kteří mají jednu funkčně deficitní **alelu** v genomu → snížení katalytické aktivity enzymu → **myelotoxicita** po podání azathioprinu
- analýza genotypu TPMT je před zahájením podávání azathioprinu doporučována zejména u dětských pacientů s akutní lymfoblastickou leukemií, protože v případě deficitu TPMT je u pacientů nutné z důvodu toxicity odložit cyklus chemoterapie a tudíž je u nich potom horší prognóza

# Farmakogenetika

## Polygenní dědičnost

- digoxin, nortryptilin, fenylbutazon, prokainamid, salicyláty, propranolol - zvýšené riziko trombózy po HAK u KS
- **odchylná reakce na léky u různých etnických skupin** - zpomalená inaktivace etanolu u severoam. Indiánů a Eskymáků



- vyšší aktivita ADH vede k vyšší tvorbě acetaldehydu - nevolnost
- nízká aktivita a ALDH u asiátů „asijský flush“
- polymorfizmy v genech pro enzymy - 50-60% podíl na alkoholismu
- mtb tolerance - mikrosomální oxidace (MEOS), p450, kataláza



# Farmakogenetika

- **Proteiny iontových kanálů**
- geny kódující proteiny Na a K iontových kanálů (**geny skupiny LQTS**)
- nalezeno v nich bylo přinejmenším 35 SNPs
- některé nalezené polymorfizmy vedou k dramatické redukci hustoty kanálů nebo ke změně jejich elektrofyzologie, tj. ke změnám v aktivaci, inaktivaci a regeneraci kanálu
- tyto mutantní změny pak mohou vyústit až v patologickou **arytmii**
- mutace v genu pro Na kanál a souvislosti s rozdílnou odpovědí pacientů na **antikonvulziva**, rovněž jako s dědičnou dispozicí k **epilepsii** (sledovány jsou především oblasti vazebných domén)



# Farmakogenetika

- **Cytochrom p450**
- mtb xenobiotik (zvýšení polarity, konjugace s glutathionem, kys. glukuronovou)
- pomalí, **střední**, **rychlí** a ultrarychlí metabolizátoři - farmkinetika
- CYP 3A4, 2C9 a 2D6...
- **CYP 3A4**
- 55 % léčiv, mtb: statiny, blokátory Ca kanálu, makrolidová ATB, steroidy či některá antiarytmika a cytostatika
- indukce → selhání p.o. kontraceptiv
- inhibice : antiulcerózum cimetidin, řada makrolidových ATB, metronidazol, methylprednisolon, antimykotika, některé blokátory Ca kanálu (diltiazem a verapamil) či **grapefruitová šťáva**, i některé flavonoidy z vína
- indukce: dexamethason, fenobarbital, omeprazol, antidiabetika glitazonové řady či třezalka



↑ c.p.o. podávaných léčiv až 300krát, kofeinu o 31%



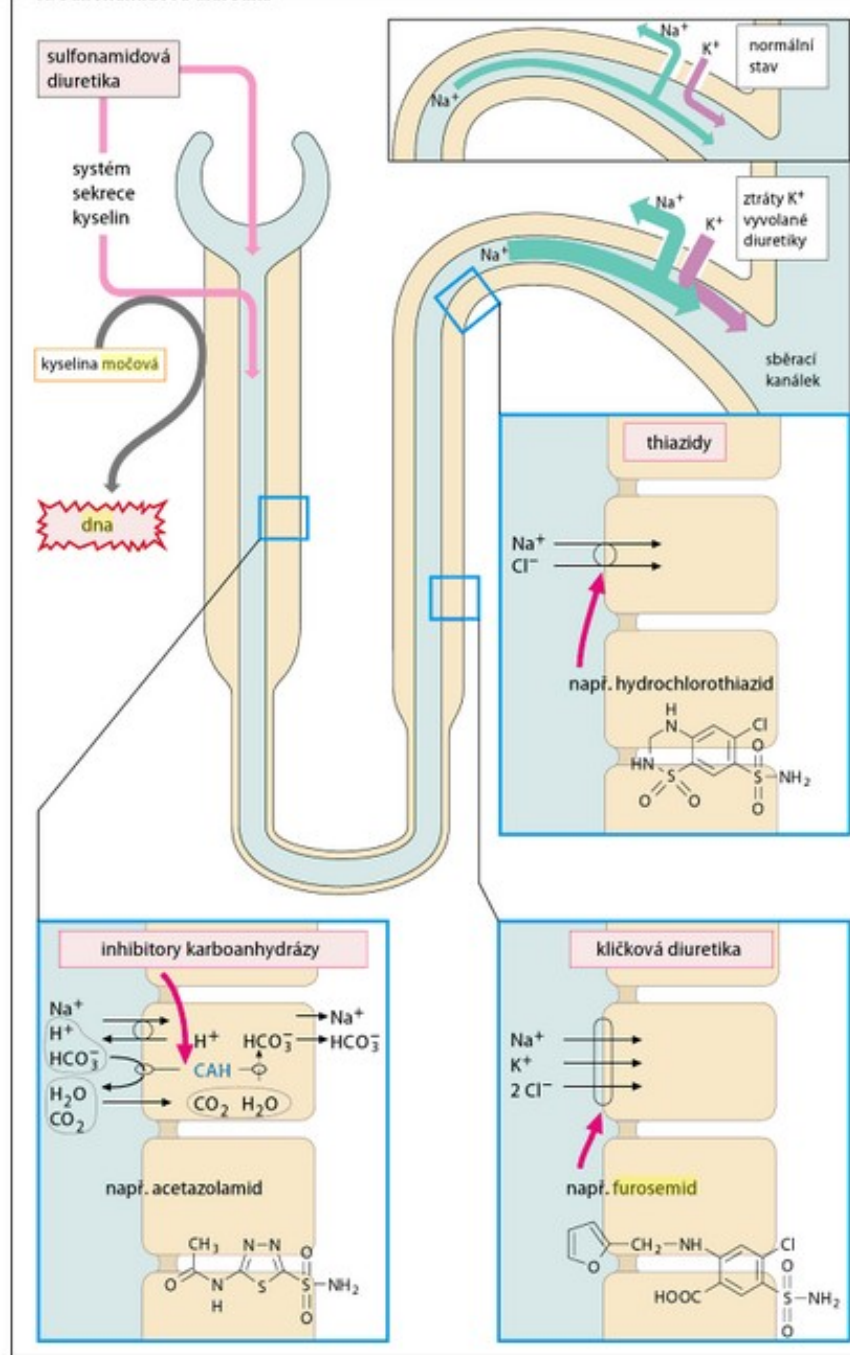
# Farmakogenetika

Geneticky podmíněné choroby se změnou citlivostí na léky

- **dna** - alkohol zhoršuje vylučování kys. močové ledvinami porucha mtb purinů, krystalky kys. močové v kloubech → zánět a degenerace
- alkohol - kompetice s tubulární sekrecí kys. močové
- podobný účinek chlorothiazidu či furosemidu
  
- **hepatální porfyrie** - zvýšení syntézy kys. delta-amino-levulinové exacerbace této AD choroby po barbituranech, sulfonamidech, estrogenech (HAK), etanolu, hydantoinu, sedativech



### A. Sulfonamidová diuretika



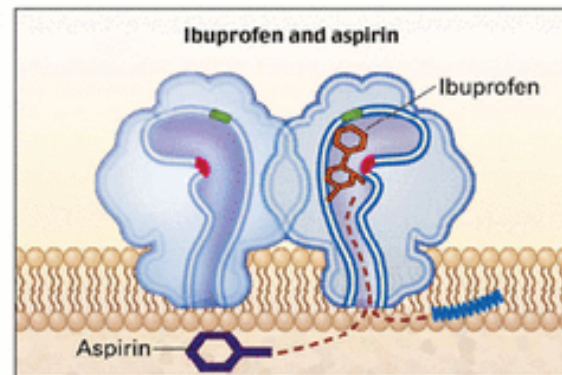
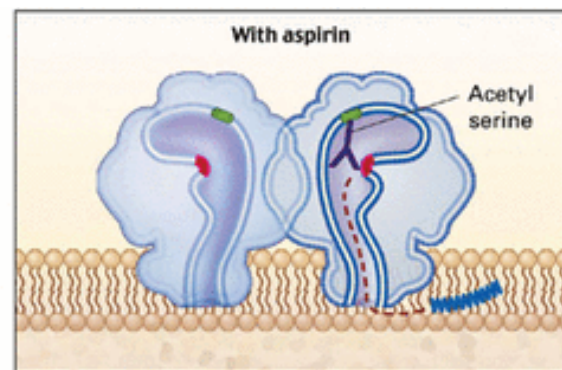
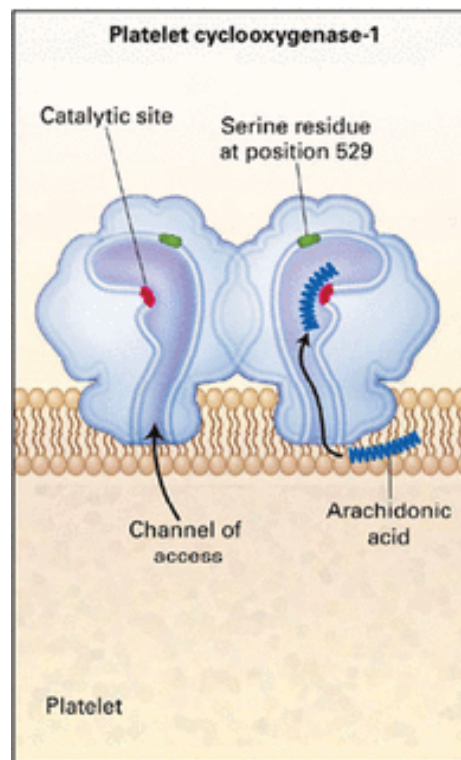
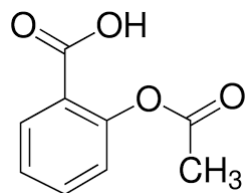
# Farmakogenetika

Geneticky podmíněné choroby se změnou citlivostí na léky

- **krvácivé stavy** - nemocní s von Willebrandovou chorobou a část hemofiliků

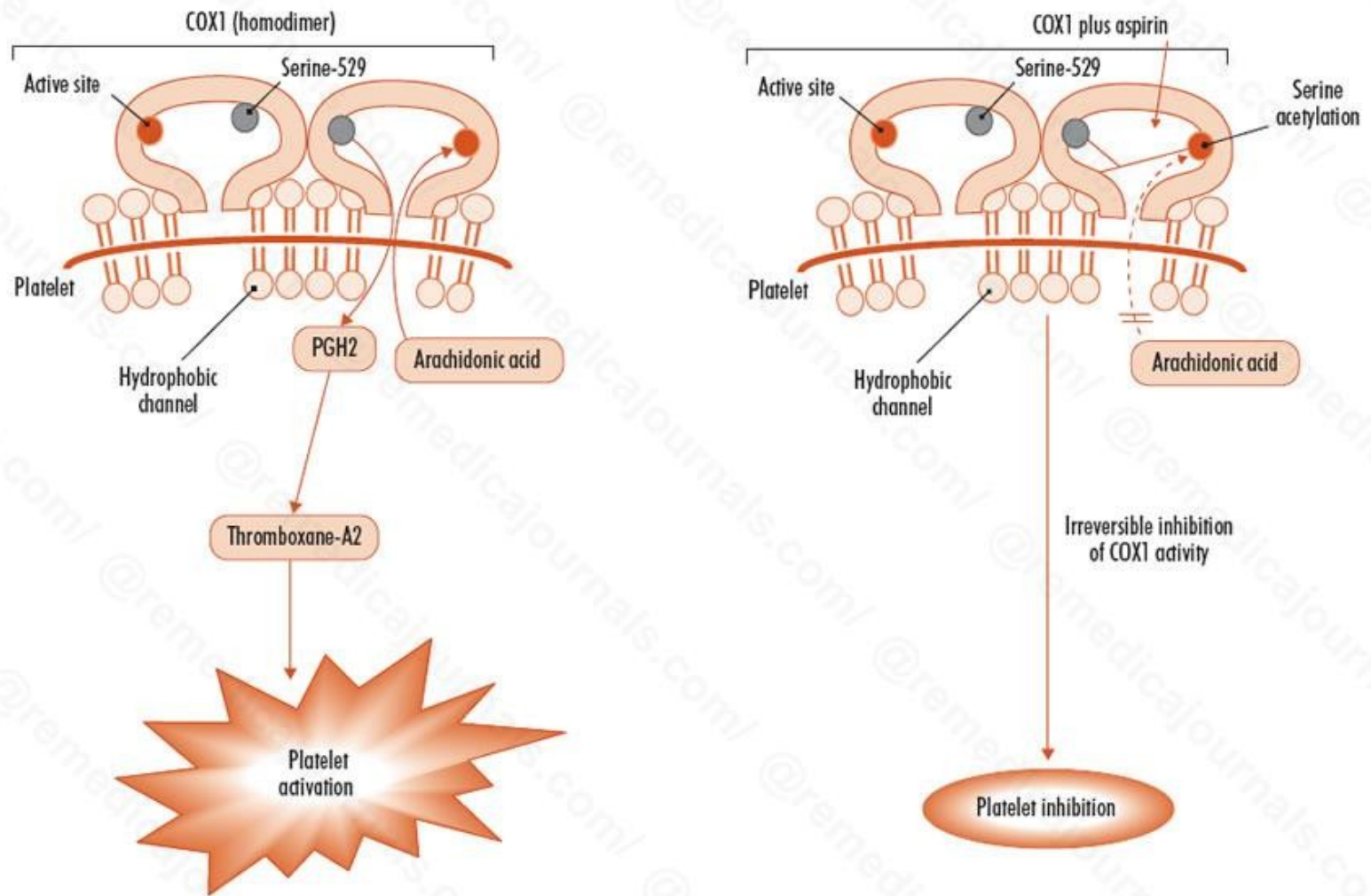
## ASA

- ireverzibilní inhibice agregace destiček (přenosem acetylové skupiny z molekuly ASA na koenzym) → krvácení
- John Robert Vane - 1992 NP





**Figure 2. Mechanism of action of aspirin.**



COX1: cyclooxygenase-1; PGH2: prostaglandin-H2.

# Farmakogenetika

Geneticky podmíněné choroby se změnou citlivostí na léky

- **osteogenesis imperfecta** - suxamethonium a halothan způsobují horečnatý stav bez maligní hypertermie
- **familiární dysautonomie** AR - sy Riey-Dayův - přecitlivělost na parasymptomimetika - labilní TK při narkóze





# Farmakogenetika

## Limity

- nezbytnou předchozí identifikací významných genových polymorfizmů na základě dlouhodobých klinických **výzkumů**
- variabilita lékové odpovědi není obvykle dána jen variabilitou jednoho genu (monogenní variabilita) ale variabilitou mnoha genů (**multigenní variabilita**)
- všechno dohromady to pak vytváří „**individuální lékovou odpověď**“
- **negenetické faktory**, tj. faktory vnějšího prostředí znemožňuje předpovědět účinnost nebo bezpečnost léčiva **POUZE** na základě farmakogenetické informace
- genotyp sice není citlivý na vnější faktory, ovšem interakce **drug-drug** (léčivo s léčivem) a léková odpověď pacienta mohou být těmito vnějšími faktory ovlivněny.
- geneticky podmíněné rozdíly nejsou jen mezi jednotlivými osobami, ale i mezi celými populacemi

# Farmakogenetika

## Výhody individualizace farmakoterapie

- maximální účinnost léčby (efektivita farmakoterapie i z hlediska finančního pohledu)
- minimální nežádoucí účinky léčby (ochrana zdraví a prevence závažných komplikací)

