



## Smíme klonovat člověka?

Jaroslav PETR  
VÚŽV v.v.i.  
petr@vuzv.cz



**Klón = výhonek**

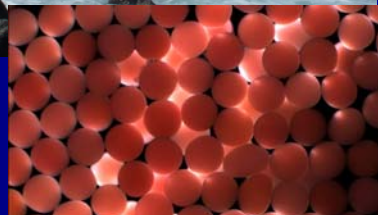
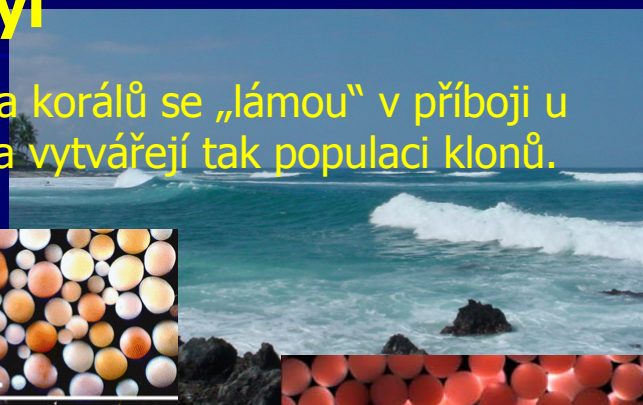
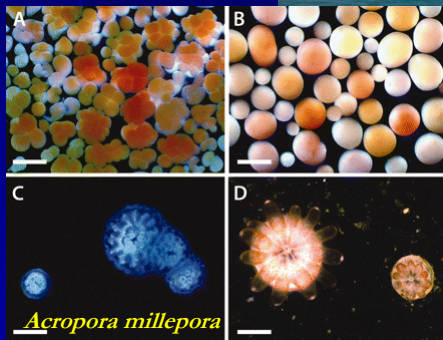


## Vegetativní rozmnožování = přírodní klonování



## Spontánní fragmentace embryí

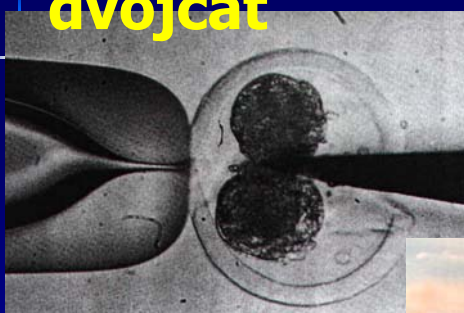
- Embrya korálů se „lámou“ v příboji u útesů a vytvářejí tak populaci klonů.



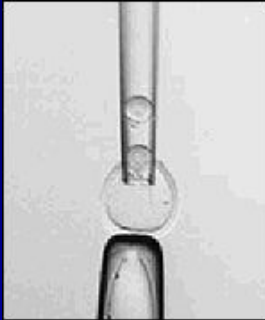
## Jednovaječní sourozenci



## Produkce identických dvojčat

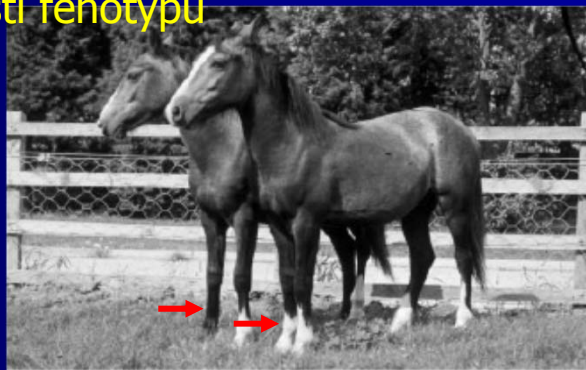


## Rok 2000 - makak



## Identická dvojčata

- Identický genotyp
- Odlišnosti fenotypu



## Identická dvojčata



### Matroklinní efekt:

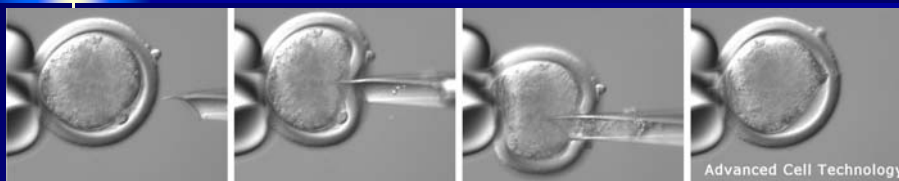
Ve 2 letech

Rozdíl 64 kg

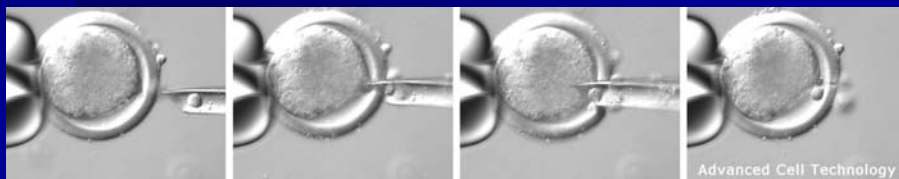
8 cm v kohoutku

## Přenos jader

### Enukleace oocyty

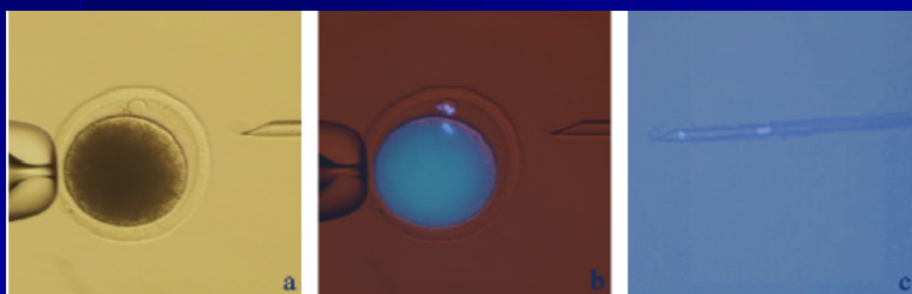


### Přenos somatické buňky pod zonu cytoplasmu

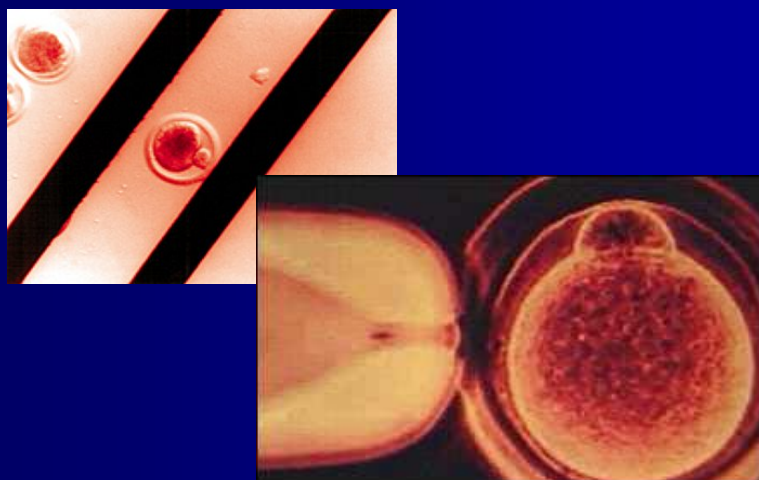


## Přenos jader

- Kontrola enukleace po vitálním barvení chromatinu



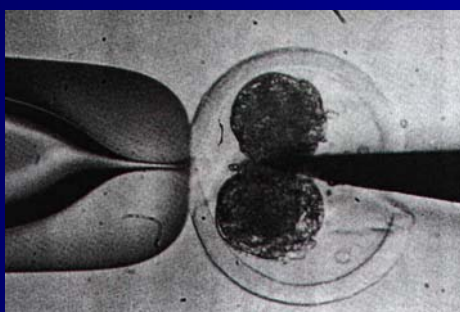
## Fúze



## Kultivace embrya a jeho přenos

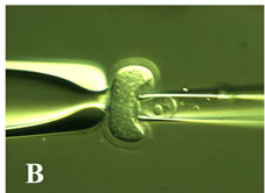
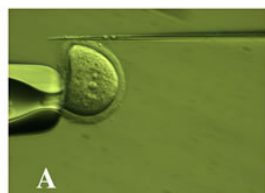


## Klonování není jen přenos jader

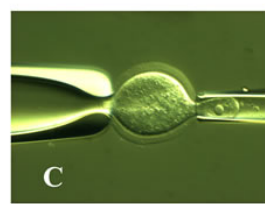


Důležité pro legislativu – co je povoleno  
- co je zakázáno

## Přenos jader není jen klonování



Přenos jader  
u oocytů



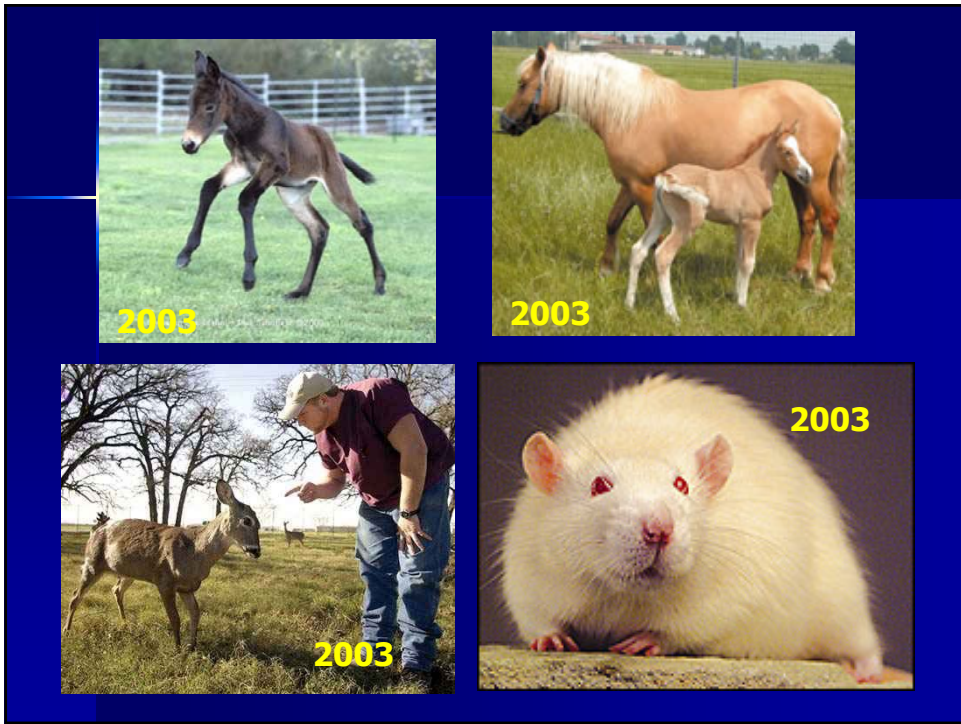
Následně IVF



## Klony domácích zvířat







2006



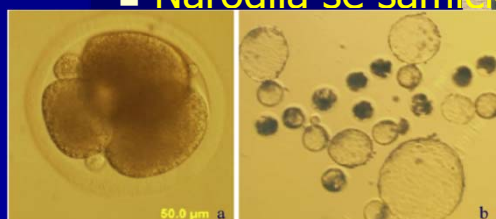
Lilly + 6



Libby + 10

## Velbloud 2009

- Spojené arabské emiráty
- Použity kumulární buňky
- Oocyty dozrálé in vivo
- Odběr ovum pick up
- Narodila se samička Injaz



# Klony ohrožených druhů

Muflon 2000



Gaur 2001



Banteng 2003

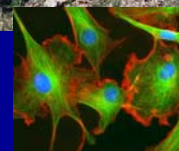


## Mezidruhové přenosy embryí

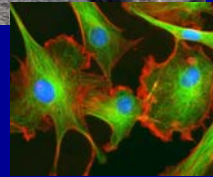
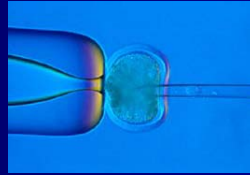
- Kůň – 64 chromozomů
- Zebra – 44 chromozomů
- Kůň Przewalského – 66 chromozomů
- Osel – 62 chromozomů



## Antilopa dzeren - 2006

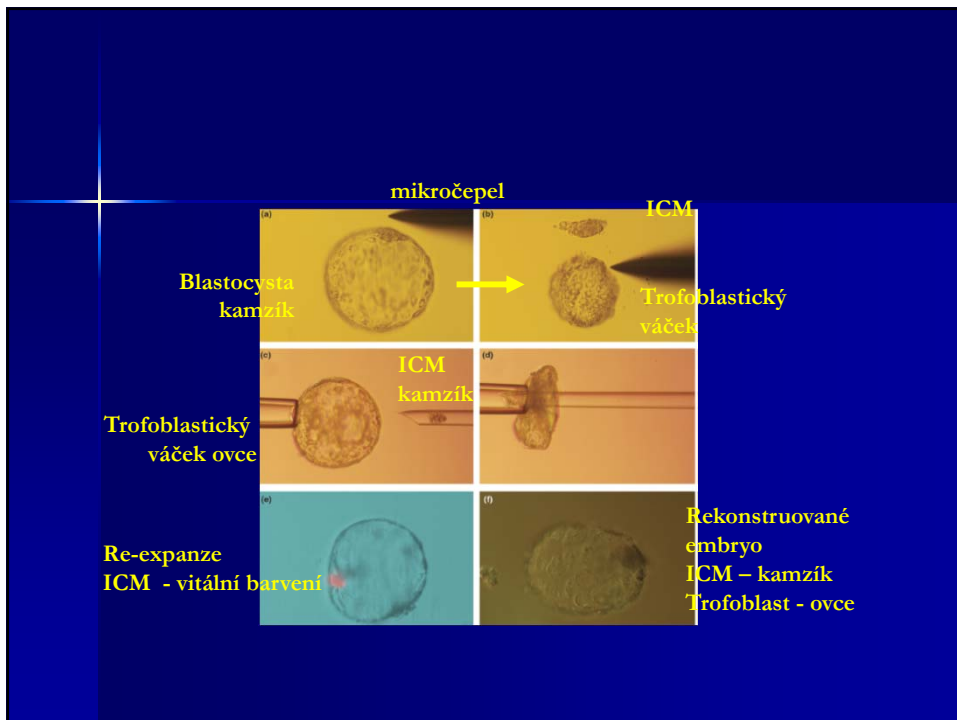


## Ovce tlustorohá - 2006



## VIK - 2005





## Pomůže klonování k záchraně ohrožených druhů?



Bongo lešný



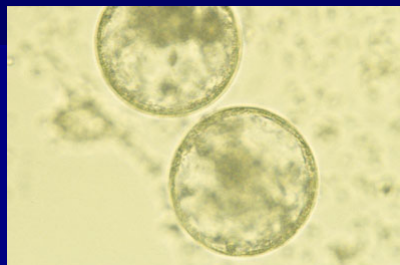
Antilopa losí

## Saola



- Popsána v roce 2000 podle zakoupené trofeje.
- Žije jich asi 200 ks (?) na vietnamsko-laoském pomezí
- Je intenzivně lovena
- V zajetí rychle hyne, i když je krotká
- Biologie druhu – prakticky neznámá

## Klonování



## Panda velká





# Kočkovité šelmy



Gepard



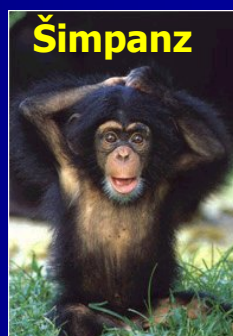
# Primáti



Gorila



Gueréza



Šimpanz

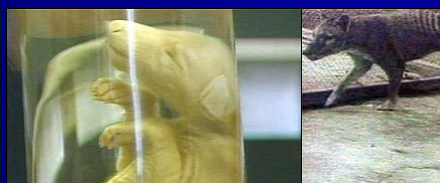
## Vyhynulé druhy

**Kozorožec bucardo  
(Capra pyrenaica  
pyrenaica)**



Klon vytvořen v roce 2008 – žil 2 hodiny – defekt plic

## Mamuti a dinosauři??



## Klon myši 16 let při -20°C



Zamražené myší  
tělo



Mozek vyjmutý z  
lebky



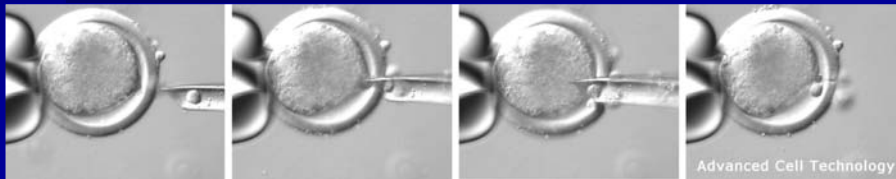
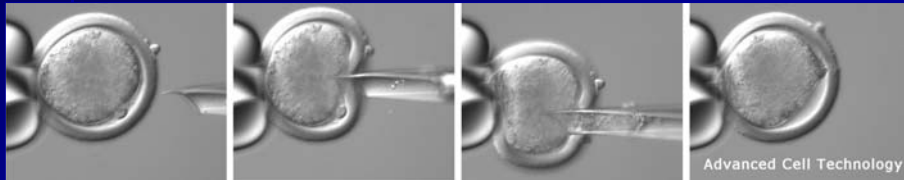
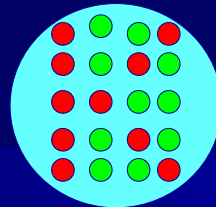
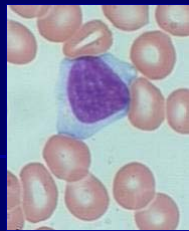
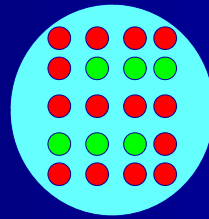
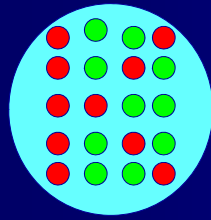
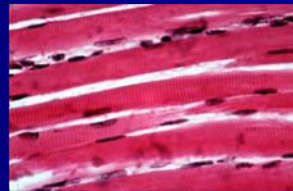
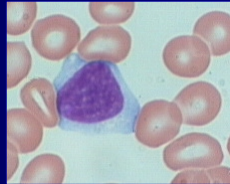
Izolovaná jádra  
neuronů

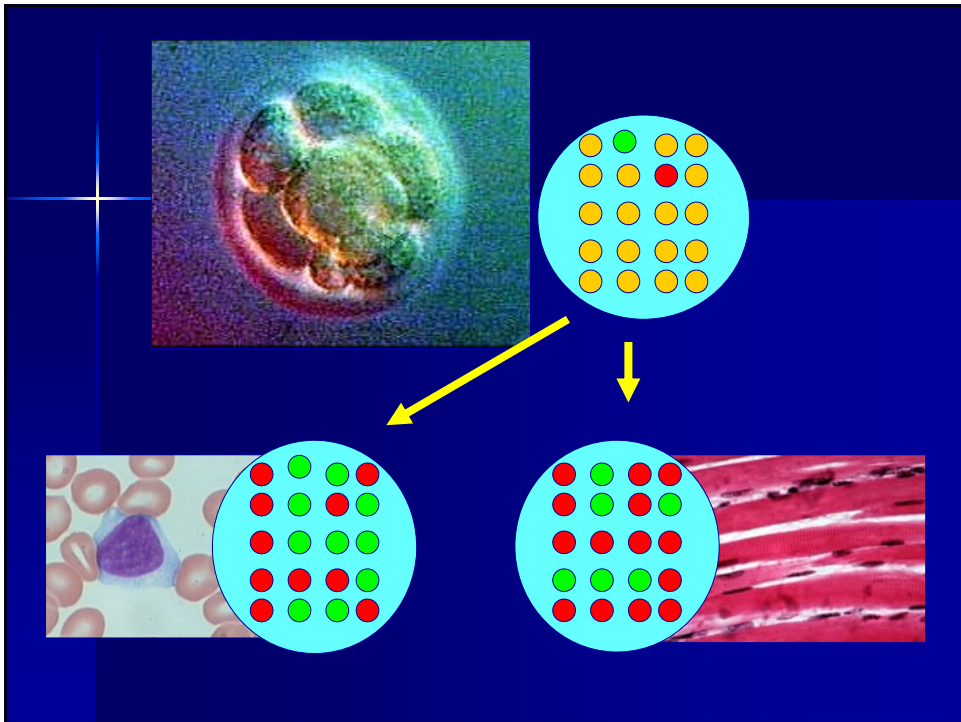
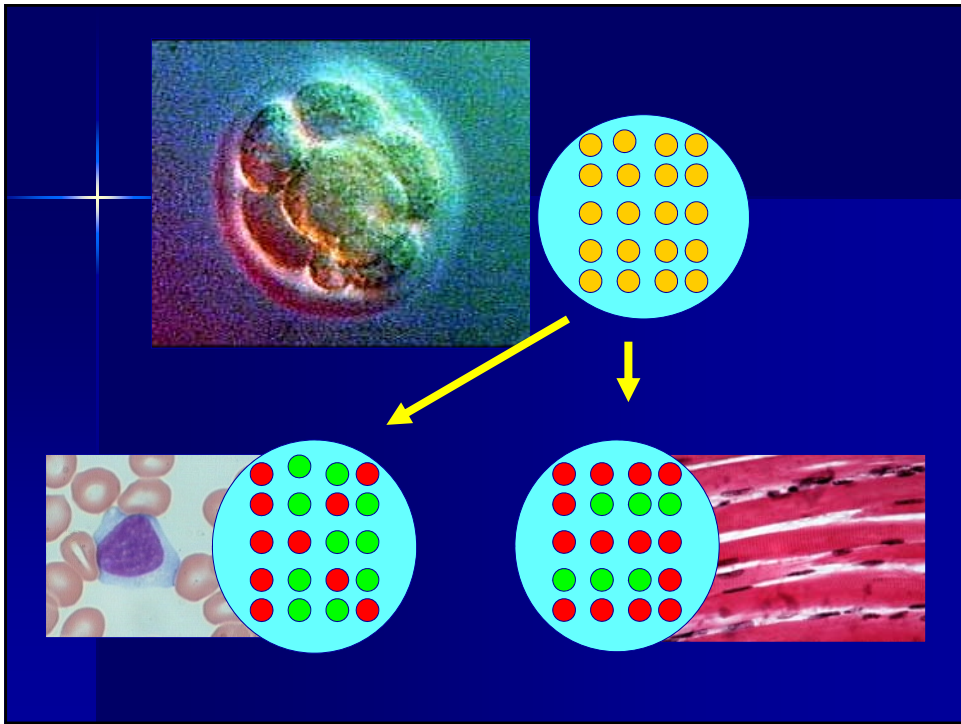
## Klonování

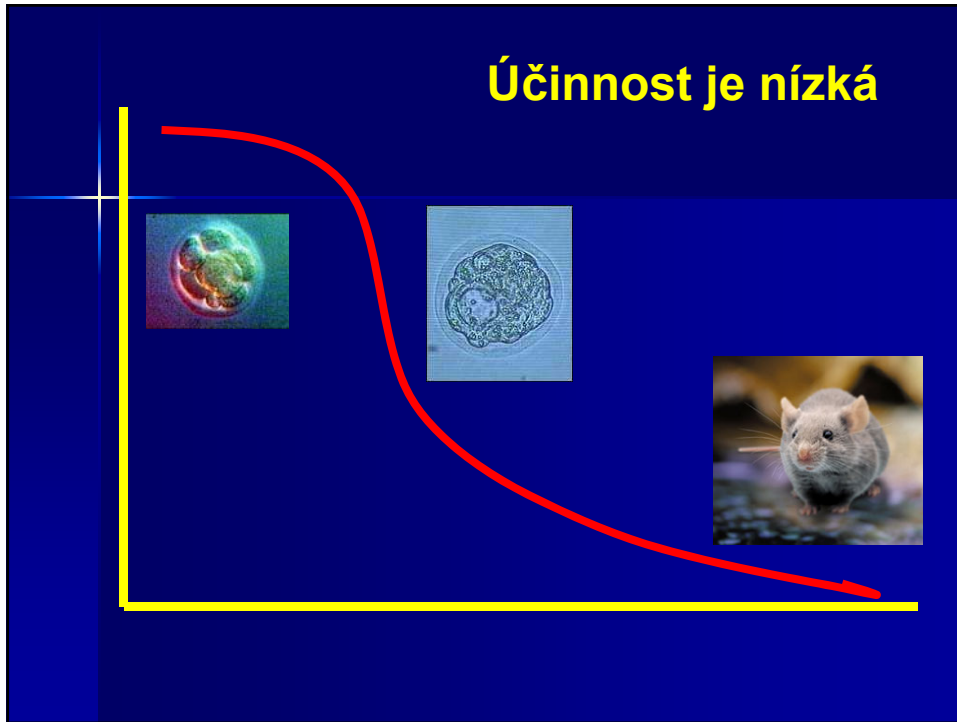
- Má nízkou účinnost
- Zvířata trpí vrozenými defekty
- Zvířata jsou náchylná k nádorovým onemocněním
- Zvířata se nedožívají vysokého věku
- „nevysvětlitelná“ úmrtí - Matilda

**PROČ?**

# Vadná reprogramace genomu







## Náhlá úmrtí klonů



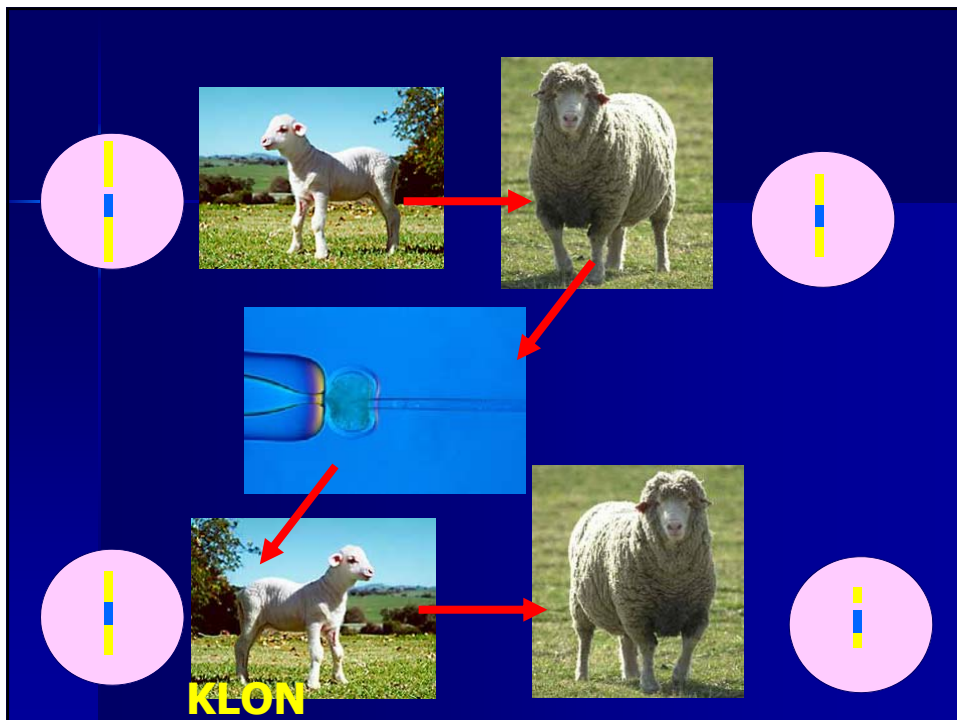
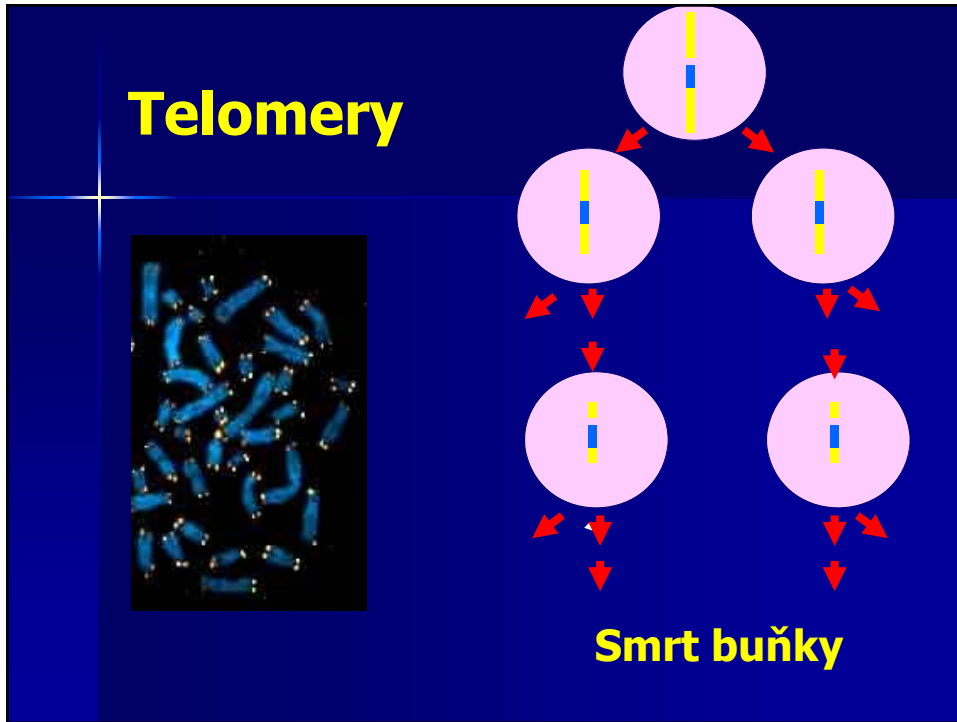
**Klony prasat**  
- úhyn bez zjevné příčiny  
- stáří 6 měsíců



**Matilda**  
- úhyn bez zjevné příčiny  
- stáří 3 roky

## Jak jsou klony staré?







## Aldous Leonard Huxley (1894 – 1963)



**Konec civilizace (1932)**



## První údajné klonování člověka Soul - prosinec 1998



Údajný klon  
(embryo)



Lee Bo-yon

## Kdo chce klonovat člověka?



Severino Antinori  
a Panayotis Zavos



Brigitte Boisselierová  
– společnost Clonaid



Richard Seed

## 26. 12. 2002 narodil se první lidský klon?



Raëliáni  
– cílem je geniokracie  
vláda úzké skupiny géniů

## Určitě ne!

- nebyly podány vědecké důkazy
- klonování savců má nízkou účinnost
- primáty nelze klonovat současnými technikami
- za firmou Clonaid je sekta raelinánů

## Bezpečnost klonování

- Hlavní vědecká námitka proti klonování lidí  
nízká úspěšnost  
vysoká zdravotní rizika  
pro dítě i matku
- Každá nová technologie nese rizika  
Testování léku nese rizika a  
dobrovolníci je podstupují  
na základě poučeného souhlasu
- Klon – vznikne a nemohl projevit svou vůli

## Biologická bezpečnost klonování

- Defekty
- Biologické stáří
- Délka života
- Odlišnosti v délce telomer
- Záhadná úmrtí klonů
- U člověka – duševní zdraví klonu



## Biologická bezpečnost klonování

- Defekty jsou výsledkem rediferenciace buněčného jádra
- Dva názory
  - 1) Povede se optimalizovat přenos jader
  - 2) Neúplná či defektní rediferenciace jádra je dána principem klonování a defekty nelze odstranit



## Biologická bezpečnost klonování



- Epigenetické reprogramování jádra po klonování přenosem jader
- Epigenetické změny v pohlavních buňkách probíhají měsíce či roky
- V klonech musí dojít k reprogramování jádra během minut či hodin
- Methylace DNA klonů je defektní

## Biologická bezpečnost klonování



- Rudolf Jaenisch
- 30-50% genů v zárodku klonu má změněnou expresi
- Není technika pro kontrolu správného vzoru exprese na živém embryu
- Nelze selektovat klony s normální expresí genu

## Nízká úspěšnost



- Za současného stavu techniky přenosu jader by bylo pro narození klonu třeba 1000 oocytů  
50 různých náhradních matek
- Znamená to zásah do života 50 žen, aby byla šance na narození 1 dítěte
- Jaká bude role náhradních matek v životě klonu?
- Co se stane, když se narodí více klonů? Kdo se o ně postará?

## Rizika tvorby klonu



- Většina biologů – rizika jsou tak velká, že opodstatňují zákaz reprodukčního klonování
- Wilmut a Jaenisch  
Pokud se někdo pokusí klonovat člověka a narodí se postižené dítě, ohrozí to celou jednu část biomedicínského výzkumu

## Rizika tvorby klonu

- Jednou se podaří vyvinout bezpečné techniky srovnatelné s ART
- Přinese to obrovský pokrok do biomedicíny
- Bezpečnost sama o sobě není důvod pro trvalý zákaz



Anne McLaren

## Epigenetická normalizace klonovaného embrya

### Wakayama et al. (2013)

- Klonování 25 generací myší bez zjevných defektů
- Zygota (klonota) vytvořená přenosem jader vystavená inhibitoru histon deacetyláz (trichostatin A)

**Mechanismus účinku nejasný**



## Rizika tvorby klonu

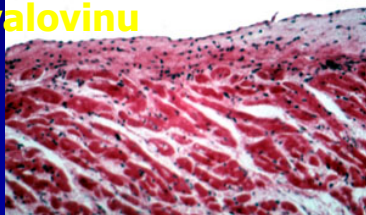


- **Zastánci klonování**
- Pokud by měla být na prvním místě absolutní bezpečnost – zastavil by se biomedicínský výzkum
- Testy léků – nebezpečné ale přínos vyváží rizika
- Pokud jsou však rizika při pokusech na zvířatech vysoká, klinické zkoušky nezačnou

## Terapeutické klonování

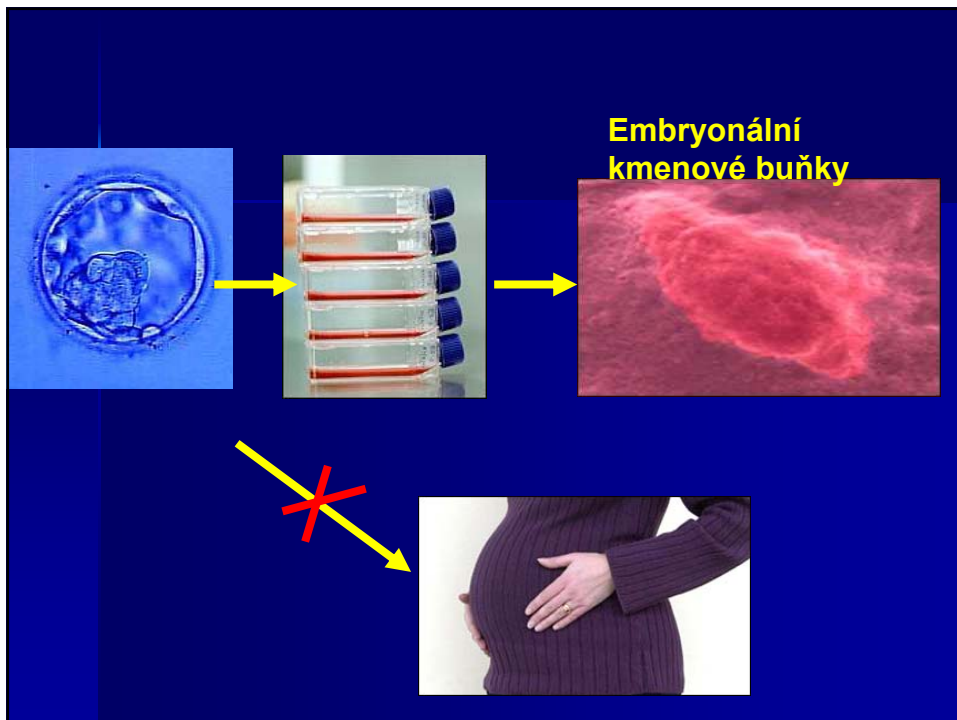
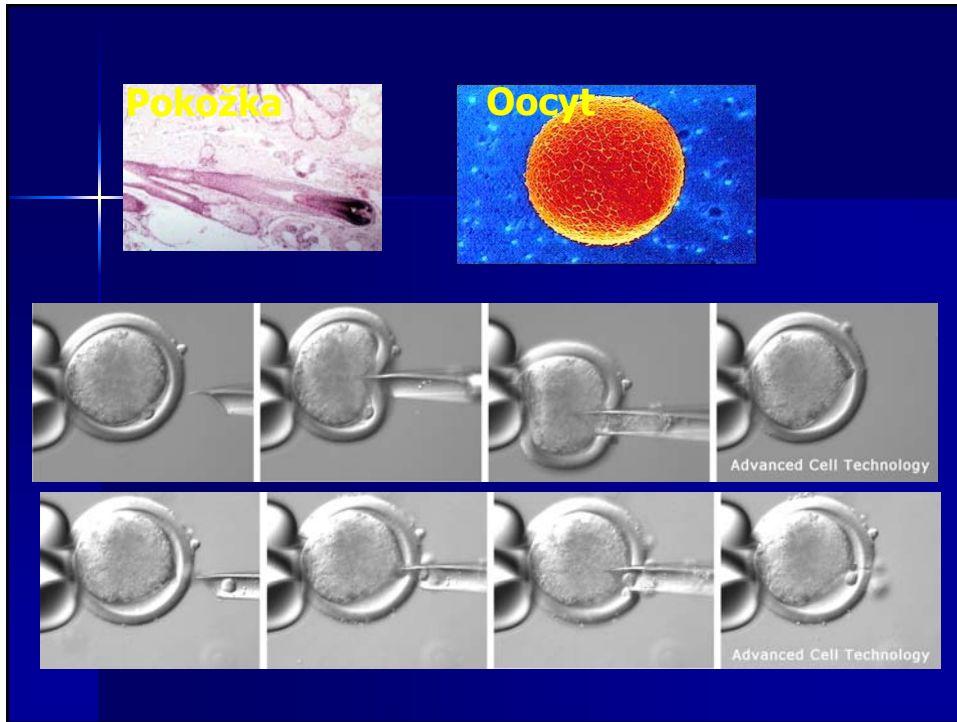
Pacient

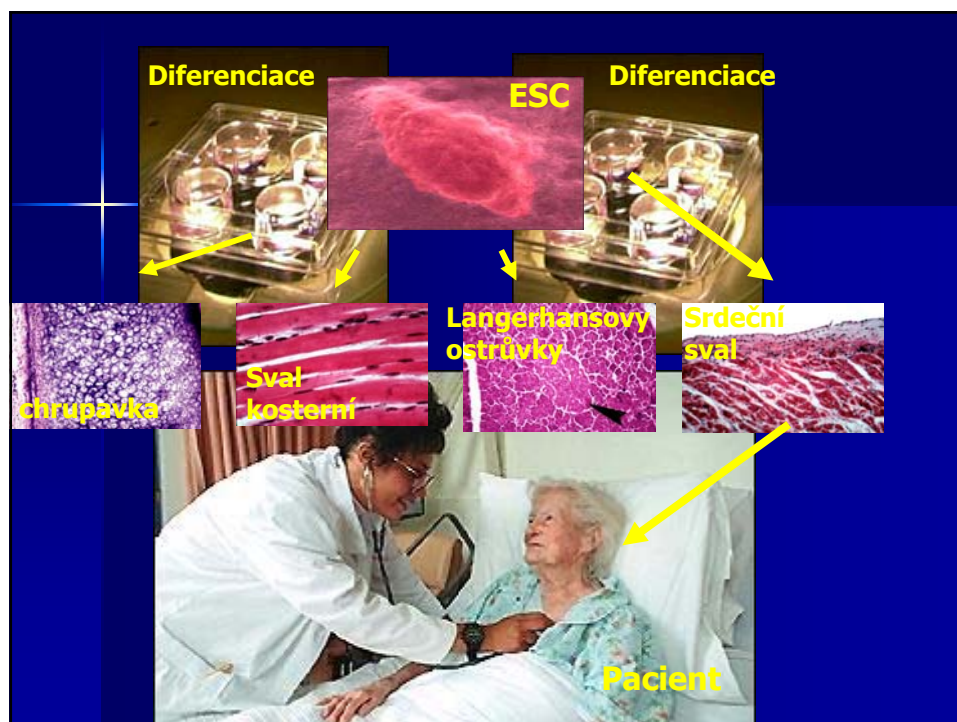
Potřebuje srdeční svalovinu



Odběr buněk pokožky







## Přínosy a rizika

- Přínosy jsou sporné
- Rizika enormní

## K čemu by to bylo dobré?

- 1) **Kopie konkrétních jedinců**
- 2) **Děti pro neplodné a homosexuální páry**
- 3) **Dárci orgánů pro „předlohu“**
- 4) **Nic by se nemělo jen tak zakazovat**



## Klon konkrétní osoby

- **Osobnost je určena geny jen zčásti**
- **Klon vyrůstá v jiných podmínkách**
- Existuje variabilita v chování klonů zvířat. Srovnatelná s mláďaty z normálního vrhu.
- V důsledku epigenetických změn se budou klony lišit během života čím dál tím více





## Děti pro neplodné a homosexuály

- Až 20% manželských párů v ekonomicky rozvinutých zemích nemůže mít děti.

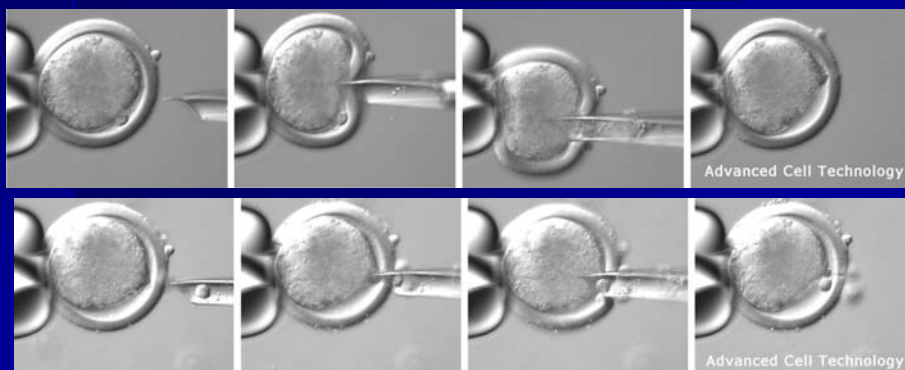
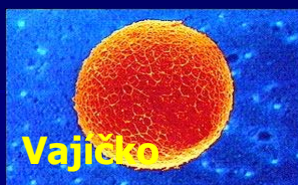


## Neplodnost ART

### Nepomůže všem



# Pomohlo by klonování



## Děti pro neplodné a homosexuály



**Nikdo nesmí nikomu upírat právo  
na založení rodiny  
zplození dětí**



## Momentální stav zákazů reprodukčního klonování

- Není zákazem či omezením reprodukce
- Zákaz reprodukčního klonování

Chrání člověka před technologií, která je drahá, neúčinná a nebezpečná.

Brání narození klonů, které by byly téměř s jistotou postiženy jak duševně tak i fyzicky.

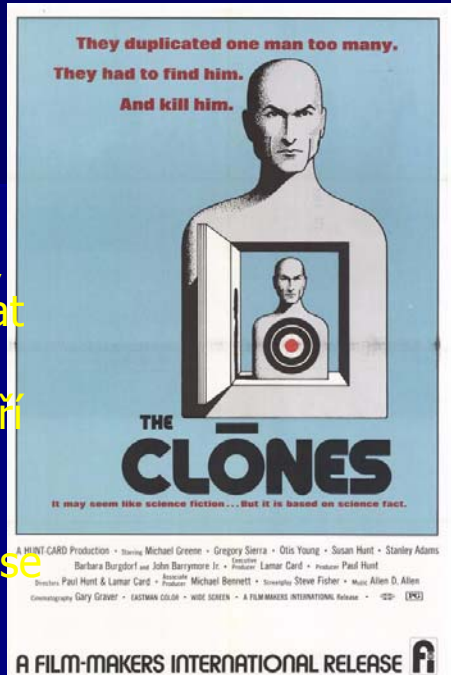
## Dárci orgánů pro „předlohu“

- **ETIKA!**
- Byly by buňky klonu vhodné pro léčbu „předlohy“?
- Otázka času  
Stihlo by se to?



## Svět se bojí klonů

- Lidé se bojí věcí, kterých se obávat nemusejí
- Lidé snadno uvěří ve „spiknutí“
- Lidé se nebojí věcí, kterých by se měli obávat



## 1 týden po zprávě o narození Dolly

90% Američanů pro zákaz klonů  
67% je proti klonování zvířat  
56% by odmítlo maso z klonů

- Výsledek prezentace Dolly ve sdělovacích prostředcích
- Hysterie opadla
- Averse zůstala



## Schválení živočišných produktů z klonů - FDA

- 2007 - USA – FDA
- Maso a mléko klonů skotu, koz a prasat se neliší od produktů normálních zvířat
- Potomci klonů vzniklí oplozením se neliší od normálních zvířat
- Veřejnost – požaduje značení „Made from clone“





## Živočišné klony - EU

### 2008 – EFSA

Živočišné produkty klonů neškodí zdraví spotřebitelů

Klonování narušuje welfare zvířat

a) klonů

b) samic, které klon donosí

(giant offspring syndrome)

**Tvorba klonů pro produkci potravin je momentálně neetická.**

## Potomci klonů

V USA – normální zvířata

V EU - ?

Požadavky, aby produkty potomků klonů prošly stejným schvalovacím řízením jako léky živočišného původu



Dundee Paradise

## Klonování člověka

- Pokud bude klonování bezpečné  
Bude se rozhodovat o klonování člověka na základě etických norem
- Námitky  
Klonování je nemorální,  
protože je nepřirozené

## Klonování a náboženství

- Destrukce spousty embryí
- Otázka počátku lidského života
- Klonování jako „hra na boha“
- Otázka účelu lidského života
- Náboženské texty klonování neřeší
- Existuje široké spektrum názorů

## Judaismus

- Velká váha medicíny  
souhlas s terapeutickým klonováním
- Reprodukční klonování
- Různé názory
  - 1) z náboženského hlediska bez výhrad
  - 2) mělo by se zakázat



## Judaismus

- Lidé  
partneři boha  
spolutvůrci světa
- Je povinností měnit svět tak, aby v něm bylo méně utrpení - medicína



## Judaismus

Rabi  
Avraham  
Steinberg



- Mít dítě za jiným účelem než naplnit boží příkaz „Milujte se a množte se“ není neetické
- Narození dítěte, které bude dárce buněk pro nemocného přináší dvojí dobro
  - 1) Narození dítěte
  - 2) Záchrana lidského života
- Bůh neměl v úmyslu nechat lidi klonovat
- „Milujte se a množte se“ nikoli „Klonujte se“

## Judaismus



- Klonování může narušit tradiční rodinné vztahy
- Dítě nebude mít jasně identifikovatelné rodiče na základě judaistického práva (halacha)
- Klonování nezahrnuje pohlavní akt a jako takové není přímo zakázáno předpisy, které upravují vztah muže a ženy

## Judaismus

- Velké obavy z defektů klonů
- Obavy z přenosu somatických mutací
- Defekty plodů klonů
- Nepřijatelné nábožensky i světsky
- Nepanují obavy, že by klon neměl duši
- Izrael  
moratorium na reprodukční klonování



## Římsko–katolická církev

- Striktně odmítá klonování
  - Stejně argumenty jako proti ART, antikoncepci a interrupci
- 1) Oddělení fyzického pohlavního aktu od početí
  - 2) Ničení embryí, která vznikají, je ekvivalentem interrupce
- Odmítají reprodukční i terapeutické



## Protestantské církve

- Hlavní protestantské církve

Požadují moratorium na klonování dokud se nevyjasní etické otázky

Nejsou v principu proti klonování, pokud je zaručena lidská důstojnost pro klon



## Protestantské církve

- Některé protestantské církve
- Klonování potlačuje lidskost klonu  
klon vzniká jinak, než jak to určil bůh
- Klonování posouvá člověka na „šikmou plochu“
- Klonování může oživit eugeniku - omezí rozmnožování jen na určitou skupinu lidí



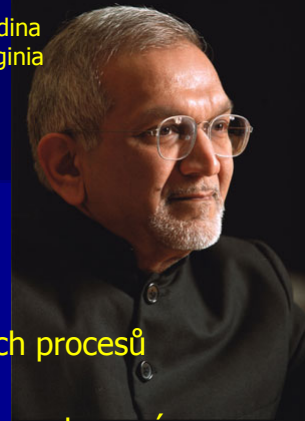
## Islám



- Korán vyzývá k zásahům, které mají za cíl léčbu. Varuje před arogancí v těchto otázkách
- Korán považuje „párování pohlaví“ za universální princip a klonování jej popírá
- Muslimové se obávají, že klony budou diskriminovány a mohou se stát zbožím
- Většina muslimských zemí klonování člověka zakazuje

## Islám

Abdulaziz Sachedina  
University of Virginia



- Mezi islámem a klonováním existují oblasti shody a rozporu
- Lidé - spolutvůrci světa s bohem
- Lidé by měli zasahovat do přírodních procesů když to pomůže člověku
- Oduševnění nastává až po 40. dnu, proto není manipulace s embryi zakázána
- Pokud vede klonování k početí dítěte mezi manželi, nelze jej odmítat
- Pokud klonování nezpůsobuje újmu na zdraví a udrží si nezávislost na politických vlivech, není v rozporu s islámem

## Hinduismus

- Mezi hinduisty
  - silná averze ke klonování
- Hinduističtí duchovní
- Klonování
  - arogantní
  - hříšné
  - je to hra na boha
- Klonování není potřeba
- Provází jej příliš vysoké riziko



## Hinduismus

- Klon může žít i po smrti „předlohy“
  - Problém s karmou
  - Problém s reinkarnací
- Chtějí velmi jasnou regulaci klonování
- Tvorba legislativy - účast duchovních
- Neodmítá pokrok ve vědě vedený dobrými úmysly. Pokud se věda dělá ze sobectví, lakoty a touhy pomoci, vážně naruší karmu





## Buddhismus

- Nemají oficiální stanovisko ke klonování.  
Každý se učí sám.
- Klonování není samo o sobě špatné
- Dvě základní složky života  
Rupa – hmota  
Nama – duchovno
- Klonování manipuluje jen s hmotou
- Duchovno klonu – svobodný rozvoj



## Buddhismus

- Klonování není v rozporu s buddhismem, dokud nikomu neubližuje
- Obavy ze zneužití
- Jaká je motivace těch, co chtějí klonovat?
- Klonování narušuje přirozený stav světa a to může být nevratné.



## Buddhismus

- Odmítá klonování lidí
- Terapeutické klonování  
„opětovné nastartování  
životního cyklu“



Woo Suk Hwang

## Klonování a kulturní hodnoty

- Klonování vynikajících plemenných zvířat inspirovalo obavy z klonování vynikajících lidí.
- Kdo je VYNIKAJÍCÍ?
- Muslimská konference v Dubaji:  
Klonovat by se měli jen ženatí muži.

- Raeliáni:  
Klonovat by se měli lidé s nejvyšším IQ



## Klonování a kulturní hodnoty



„Přenos jader somatických buněk není vlastně vědecká technika pro reprodukci jedinců. Jde tu o to klonovat naše hodnoty. Raeliáni budou klonovat chytré lidi, protože to je to, čeho si váží. Muslimové budou klonovat muže.“

## Klonování a kulturní hodnoty



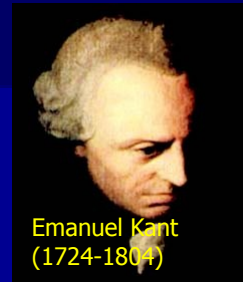
- **Obavy:** Klonování může omezit rekombinaci vloh a zablokovat evoluci člověka.
- **Protiargument:** Klonování je drahé a v dohledné době nenabude rozsahu, který by geneticky poznamenal populaci. Preference by se lišily a klony by byly geneticky různorodé. Evoluci jsme již prakticky zablokovali medicínským a technologickým omezením přírodního výběru.

## Psychologická stránka klonování

- Psychologická stránka
  - Klon
  - Rodiče
  - Tvůrci
- Klíčové pro případné povolení reprodukčního klonování

## Psychologická stránka Klon

- Kant: Člověk by měl přijít na svět, aby naplnil svůj vlastní život. Pokud přijde na svět z jiných důvodů, pak je tím narušena jeho důstojnost.



Emanuel Kant  
(1724-1804)

## Psychologická stránka Klon

- Většina bezdětných párů si může zajistit dítě jinými prostředky než reprodukčním klonováním

IVF

dárcovství gamet

adopce



## Psychologická stránka Klon

- Klon vzniklý jako dárce buněk pro léčbu nemocného
- Může to posílit vazbu mezi klonem a „předlohou“
- Ale je tu narušena kantovská zásada: existuje účel, pro který klon vznikl
- Klon může cítit frustraci z toho, že bez tohoto účelu by se nikdy nenarodil



## Psychologická stránka Klon

- **Potenciální dárce buněk pro léčbu jsou získáváni i přirozeným početím**
- **Není objektivní důvod, proč by takto počaté dítě mělo být bráno jako méněcenné a rodiče k němu měli horší vztah**
- **Obecně je početí života pro léčbu chápáno jako problematické**
- **Řešení - terapeutické klonování, při kterém nevzniká klon**

## Psychologická stránka Klon

- **Vytvoření klonu zemřelé osoby**
- **Bude klon chápat jako svůj životní úkol pokračování v životní dráze „předlohy“?**

Co když klon selže?

Jak to ponese klon?

Jak to ponесou rodiče?



## Psychologická stránka Klon

- **Přenášení ambicí a životních cílů na dítě se děje i bez klonování**
- Hovoří se o „ukradené individualitě“
- Individualita se vytváří vlastními zkušenostmi a vzpomínkami. Klon si může udržet vlastní individualitu.
- Rozhodující je jeho pocit. Pokud má pocit, že individualitu ztratil, je to pro něj, jako by ji ztratil skutečně.

## Psychologická stránka Klon

- V konfrontaci s „předlohou“ může mít klon pocit ztráty individuality
- Přispívá k tomu i názor lidí v okolí, kteří vidí klon „jen jako kopii“
- Klon – „život ve stínu“

## Klonování a veřejnost

- **2002 – USA**
- Pro reprodukční klonování - 25% lidí
- Většina odmítajících:  
Klonování je nemorální
- Minimum odmítá pro nebezpečnost
- **Masové odmítání  
založeno na emocích**

## USA



- President's Council on Bioethics
- Předseda Leon Kass
- Odpor Američanů ke klonování je „moudrá antipatie“.  
I když není ničím zdůvodněný,  
je hoden zřetele.

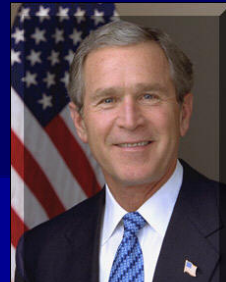


## Zákaz reprodukčního klonování



- Mezinárodní konvence na ochranu lidského genomu
  - Národní legislativa
  - Zakázalo více než 30 zemí
  - 2005 - OSN
    - zákaz jakéhokoli klonování v deklaraci, jejíž neplnění nelze postihnout sankcemi
- Pro – USA a katolické země  
 Proti – Evropa – nehodlá dodržovat  
 Islámské země – zdržely se hlasování

## USA



- Stály za deklarací OSN
- V USA není nijak regulováno
- Politici se shodují na zákazu reprodukčního klonování
- Politici se neshodují na zákazu terapeutického klonování
- Obavy z povolení terapeutického byla by dostupná technika pro reprodukční

## Lze oddělit reprodukční a terapeutické?

- Podle mnohých to lze  
Reprodukční klonování  
přenos embrya matce a narození klonu



V počáteční fázi - stejné

## Zákaz nebo tvrdou regulaci?

- Panayotis Zavos
- „Dnes může klonovat každá klinika IVF. Zákaz jen posune tyto aktivity do illegality. Džin už utekl z láhve.“



## Zákaz nebo tvrdou regulaci?

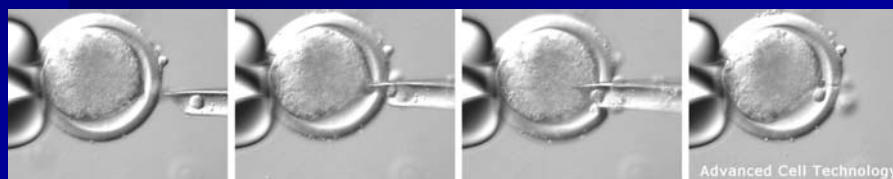
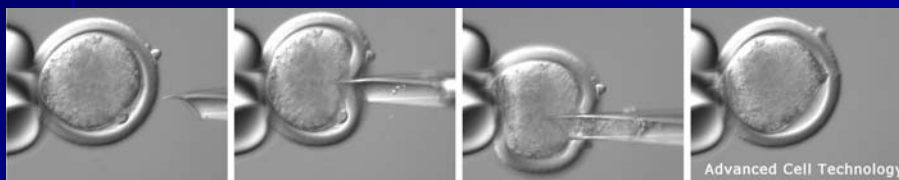
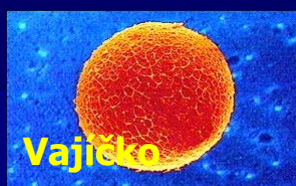
Opor k reprodukčnímu klonování je tak silný, že zatím neproběhly žádné diskuse o tom, jak by měla vypadat jeho regulace. Shoda je jen na absolutním zákazu.

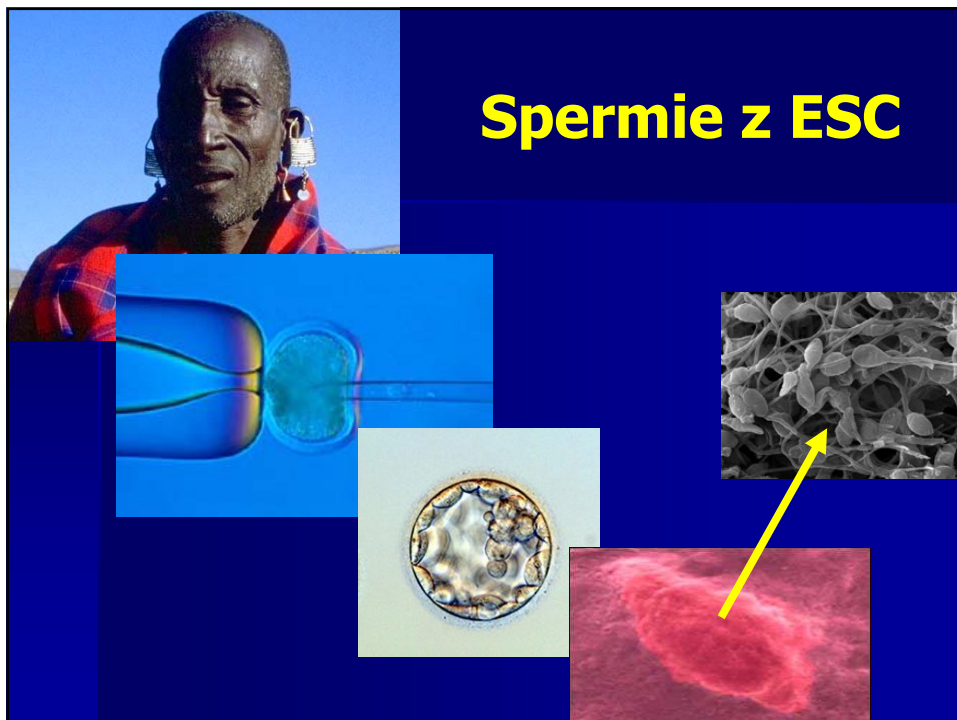
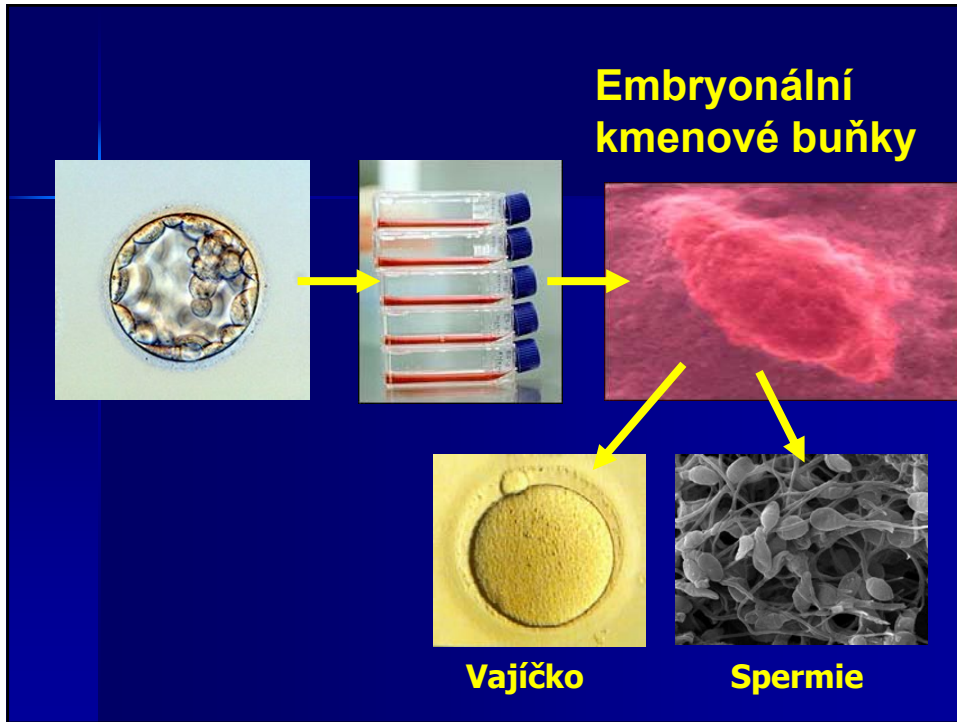
## Bude zapotřebí lidských klonů?



Pohlavní buňky pro početí dítěte vzniknou z ESC.

## Léčba neplodnosti terapeutickým klonováním









# Spermie lze teoreticky získat i z buněk s XX

The collage features several key elements: a woman in traditional Maasai attire in the top left; a blue-tinted diagram of a cell division process in the center; a scanning electron micrograph of a cell surface in the top right; a micrograph of a cell with the label 'SRY' and a yellow arrow pointing to it in the bottom right; and a red-stained cell in the bottom right.

This collage illustrates the practical application of the concept. It features a woman in traditional Maasai attire in the top left and right; a laboratory technician in a white lab coat and mask in the center; a scanning electron micrograph of a cell surface in the bottom left; a micrograph of a cell in the bottom right; and a young child in the bottom center. Red arrows indicate the flow of information and materials between these elements.

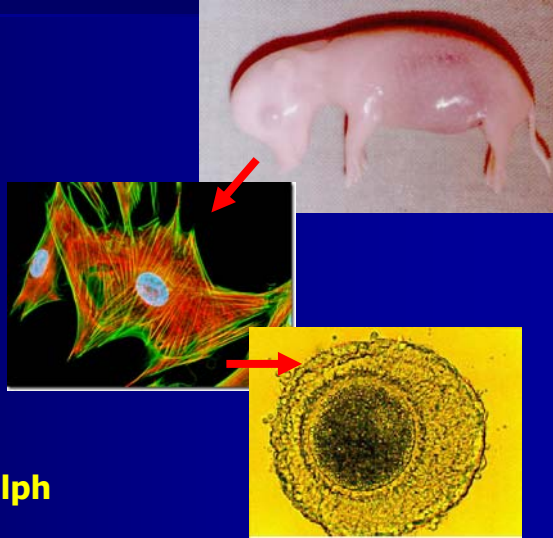




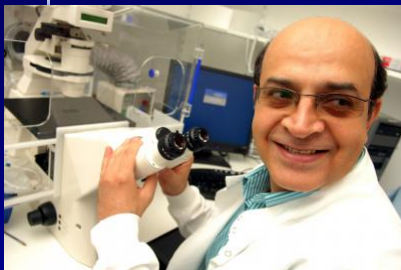
## Pohlavní buňky přímo ze somatických buněk



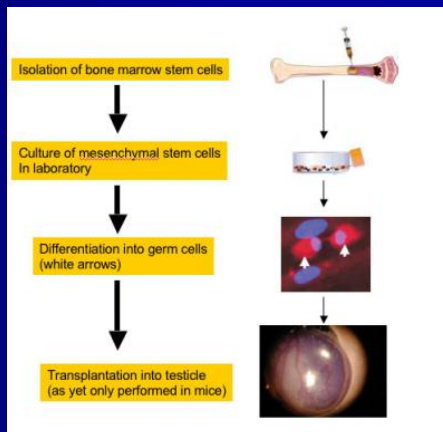
**Julang Li**  
University of Guelph



## Pohlavní buňky přímo ze somatických buněk



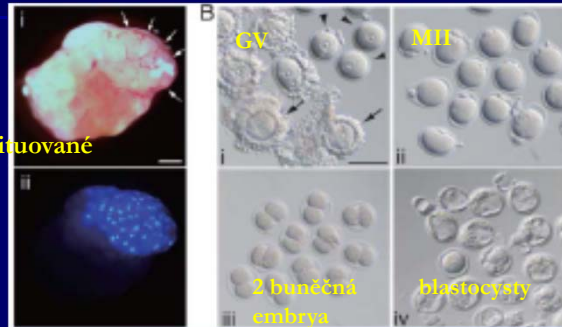
**Karim Nayernia**  
University of Newcastle





## Oocyty z ESC a IPSC

Rekonstituované  
ovárium



## Oocyty z ESC a IPSC

- Po IVF se narodila z oocytů mláďata



- Tato zvířata jsou plodná



**I bez klonování nás čeká  
„nádherný nový svět“.**



## **Genová terapie**

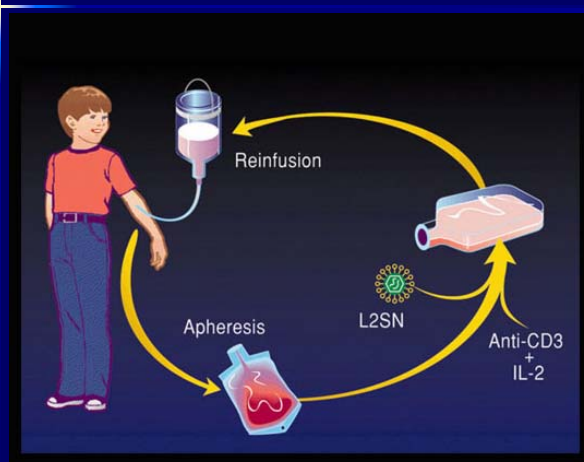
- **Zárodečná - zakázaná**
- **Somatická**
  - **in utero**
  - **in vivo**
  - **ex vivo**

## Zárodečná



- Gen je v každé buňce těla
- Je i v pohlavních buňkách
- Dědí jej potomci
- Obavy ze ztráty kontroly nad genem
- Obavy z defektů vyvolaných inserční mutací

## Somatická



- Gen jen v některých buňkách těla
- Potomci ho nedědí

## 1990 – první pokus French Anderson - USA

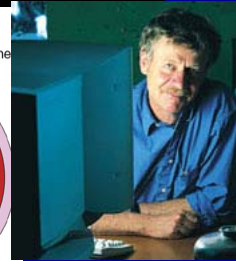
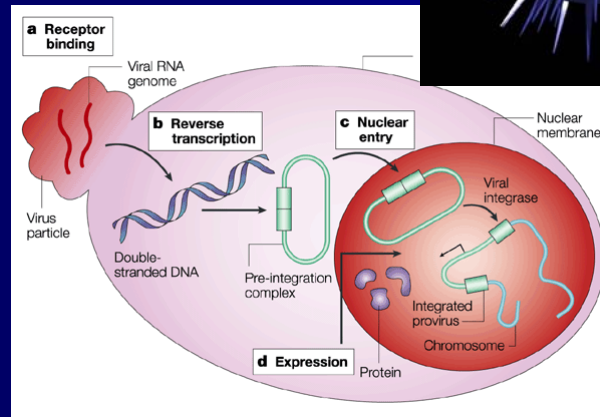


Nedostatečná imunita – Ashanti da Silva

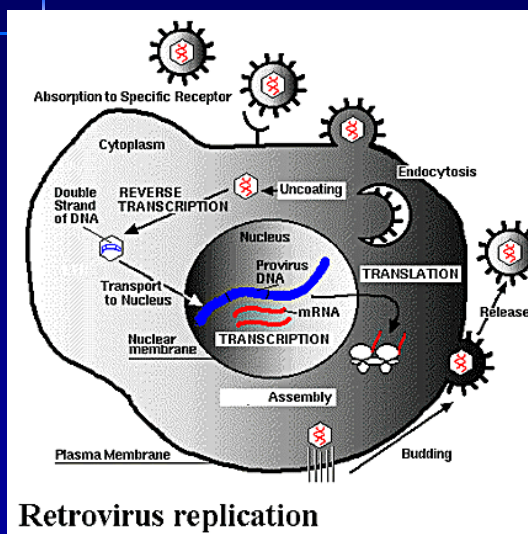
## Metody genové léčby

- **Virové nosiče**  
retroviry  
adenoviry  
adenoasociované viry
- **Nevirové nosiče**  
liposomy, gene gun, nanočástice  
polymerů
- **Bez nosičů**  
přímá injekce, elektroporace

# Retrovirové vektory



# Retroviry



Retrovirus replication



- **Malá imunitní odezva**
- **stabilní integrace**
- **Exprese genu klesá – narušeny promotory**



## 2001 – léčba SCID



Alain Fischer

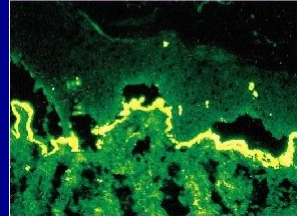
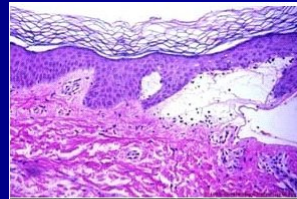


## 3 z 12 pacientů - leukemie

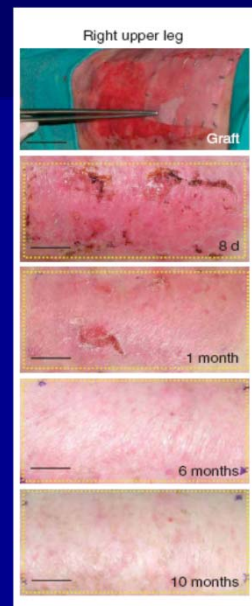
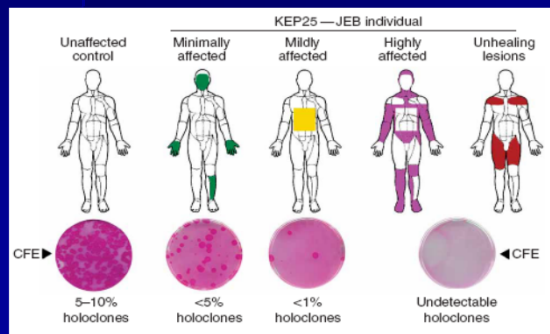
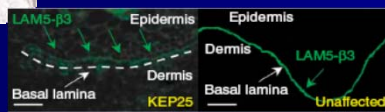
- **Retrovir se přednostně integruje u vysoce aktivních genů**
- **Při léčbě ex vivo se musí buňky množit – přednostně se množí buňky, které získaly aktivaci genů proliferační schopnosti**
- **U pacientů s nevyzrálým imunitním systémem**

# Léčba junkční dermatolysis bullosa

- Mutace genu pro laminin



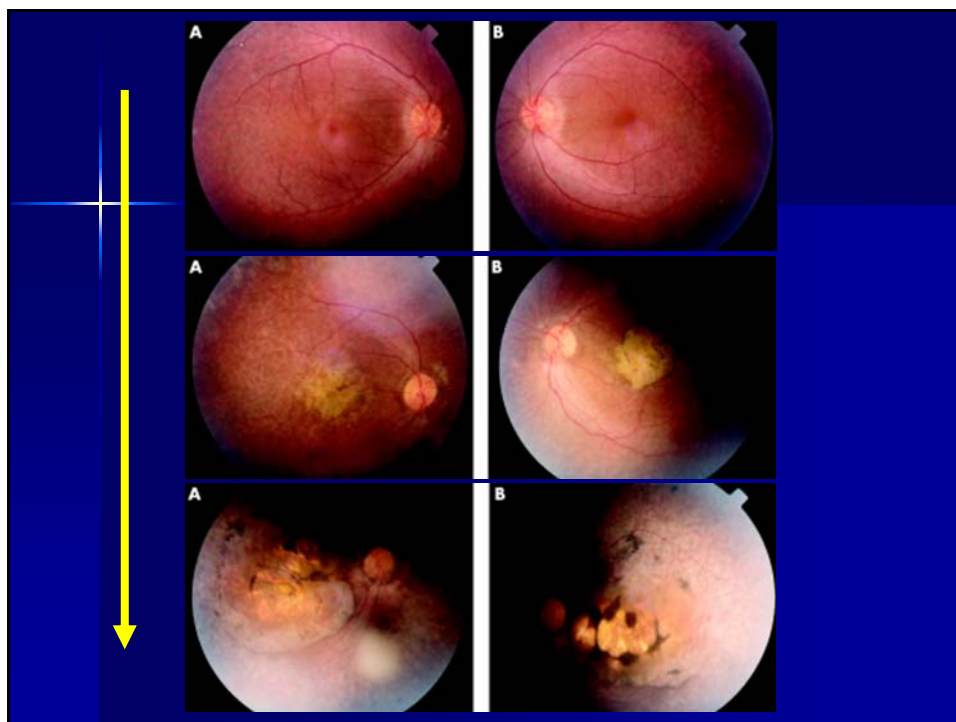
**Michele de Luca**  
**Universita v Modeně**  
**Itálie**



## Léčba Leberovy vrozené amaurozy



- Dědičná choroba
- Vyvolána mutací genu RPE65
- Světločivné buňky sítnice ztrácejí schopnost reagovat na světlo a předávat signály do gangliových buněk sítnice
- Postupná ztráta zraku
- Nejprve klesá funkčnost tyčinek a pak čípků

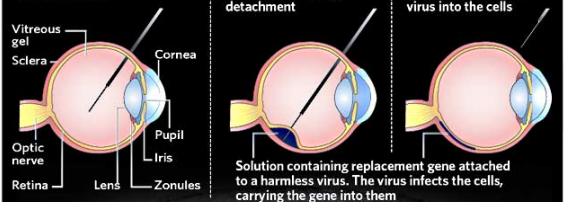


**How the miracle of sight was restored**


**1:** Surgeon inserts needle through cornea into the back of the eye and places the tip precisely behind the retina

**2:** Solution with replacement gene is injected, gently lifting the retina and causing a temporary detachment

**3:** Needle is withdrawn, retina reattaches itself, solution spreads across retina and replacement gene is carried by the virus into the cells



Solution containing replacement gene attached to a harmless virus. The virus infects the cells, carrying the gene into them



**Steven Howarth (18)**

**Virový vektor  
Funkční gen RPE65**

**Před léčbou  
Vidí nejvýše pohyby své ruky**

**Po léčbě  
Může číst knihy ve speciální edici s velkým písmem**

## Genová terapie Leberovy vrozené amaurozy

### Rok po terapii

- Není imunitní reakce na produkt genu RPE65
- Udržuje se zlepšená schopnost vidění  
Vidění na světle se zlepšilo 1000krát  
Vidění za šera se zlepšilo 63 000krát

## Genová terapie Leberovy vrozené amaurozy

- Oblast léčené sítnice se vyrovná citlivostí ke světlu žluté skvrně pacientů. Nedává ale tak ostrý obraz.
- Pacienti se naučí využívat léčenou oblast sítnice jako druhou žlutou skvrnu např. pro málo jasné objekty ve tmě.



## Léčba daltonismu

- **Barevné vidění**  
 červená - „dlouhovlnný“ opsin – OPN1LW  
 zelená – „středněvlnný“ opsin – OPN1MW  
 žlutá – „středněvlnný“ opsin – OPN1MW2  
 modrá – „krátkovlnný“ opsin – OPN1SW  
 OPN1LW a OPN1MW - tandemově na X chromozomu  
 Rekombinace a konverze – ztráta funkce
- **Kotul veverovitý – většina samců a mnoho samic je barvoslepých**  
 mutace genů OPN1LW a OPN1MW,  
 nerozeznají červenou a zelenou



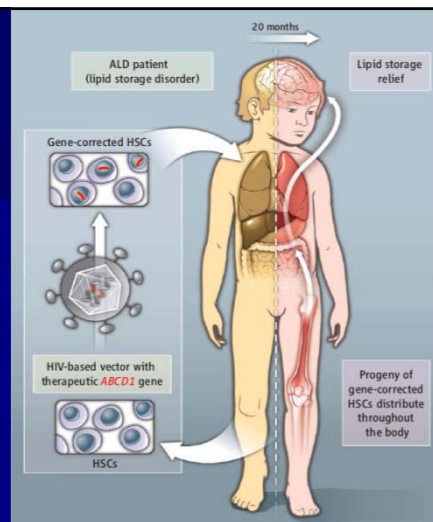
## Léčba daltonismu



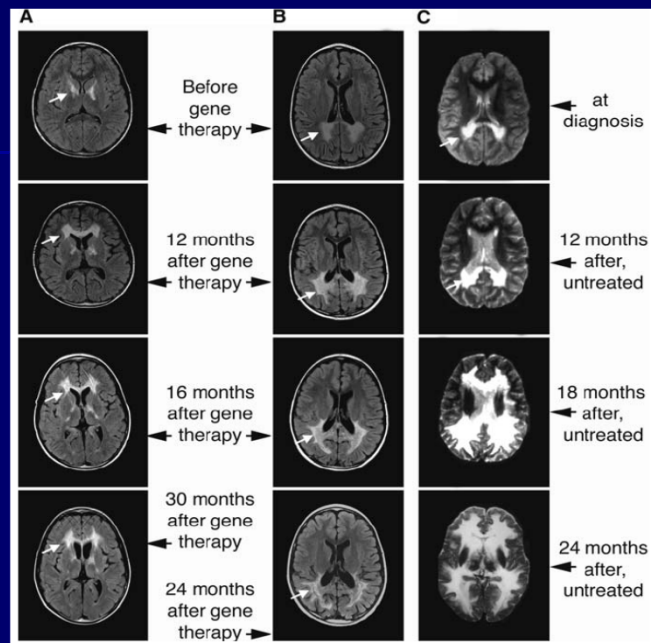
- Vnesení genu OPN1LW do světločivných buněk sítnice
- Použita zvířata „středního“ věku
- Za 20 týdnů po léčbě rozlišovali kotulové červenou a zelenou
- Zrakové centrum se naučilo zpracovávat informaci o barvě

## Léčba ALD 2009

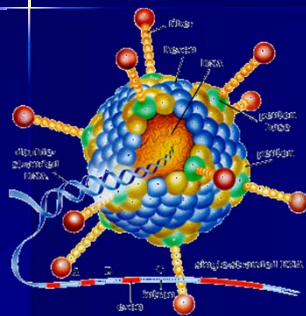
- Adrenoleukodystrofie
- Porucha v metabolismu tuků
- Neurodegenerativní onemocnění
- Vázáno na X chromozom
- Mutace genu ABCD1
- Léčba pomocí vektoru odvozeného z HIV
- Přenos do krve tvorných buněk kostní dřeně



## ALD

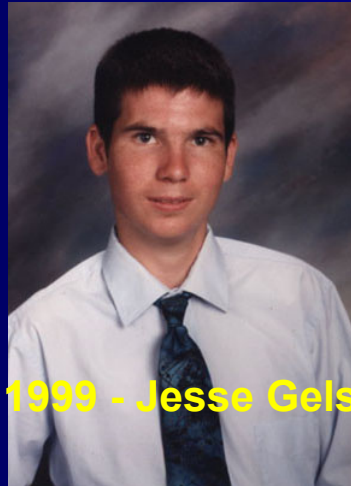


## Adenoviry



- **Genom – DNA dvouvláknová**
- **Kapsida**
- **3 hlavní proteiny**
- **menšinové proteiny**
- **Vyvolává nachlazení**
- **Napadá specializované postmitotické buňky**
- **Genom vnesen do jádra**

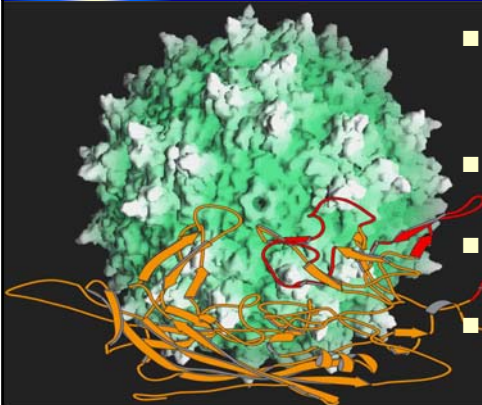
## Na adenoviry je silná imunitní reakce



1999 - Jesse Gelsinger

- Vytvářejí se bezpečnější nosiče
- „Gutless“ zbavené zcela vlastních genů

## Adenoasociované viry



- Genom – DNA jednovláknová 4680 bp – malý vir
- Nevyvolávají onemocnění
- Pro replikaci potřebují AV
- Bez pomocného viru je latentním provirem
- AV ho může aktivovat dodatečně



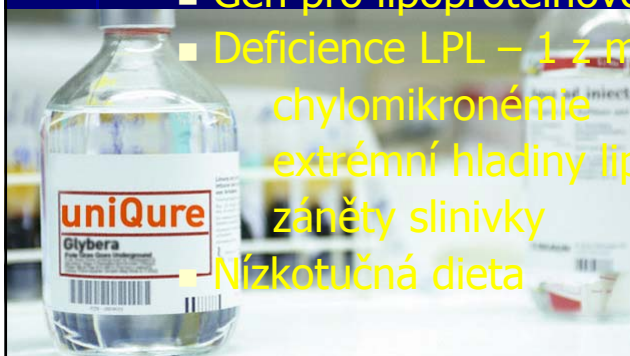
## AAV nosič

- Nemá žádné vlastní geny jen koncové sekvence
- Dlouhá exprese
- Není na něj imunitní reakce
- Nosiče se nezabudují ale fungují jako minichromozom

## První genová terapie v EU

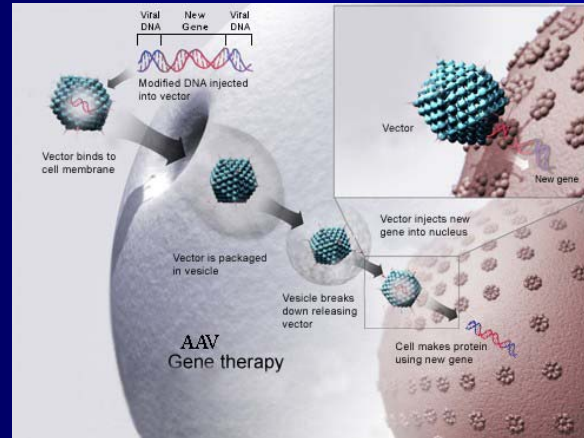
### Glybera (uniQure –NL)

- Povoleno v EU - 2012
- Gen pro lipoproteinovou lipázu (LPL)
- Deficience LPL – 1 z milionu lidí
  - chylomikronémie
  - extrémní hladiny lipoproteinů
  - záněty slinivky
- Nízkotučná dieta

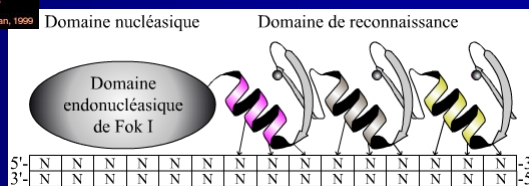


# Glybera

## ■ Přenos genu pro LPL pomocí AAV



# Zinc finger nucleases



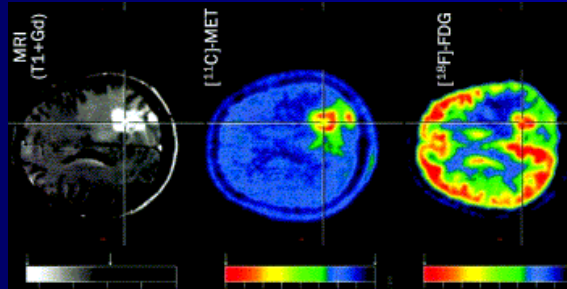
## Využití „ZFN“

- **Zdařila se homologní rekombinace u genu IL2R gama v lidských buňkách in vitro**  
**Účinnost**
  - **buňky kostní dřeně 18%**
    - **T-lymfocyty 5%**
- **Navození mutace genu CCR5**  
**Navozuje odolnost vůči viru HIV-1**

## Problémy

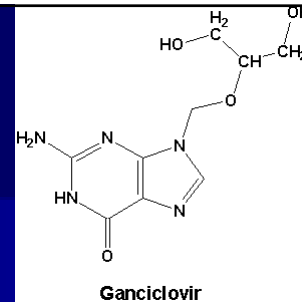
- **Patenty**
- **Vnesení ZNF do buněk**  
**Používá se elektroporace**  
**Nezralé T-lymfocyty jsou příliš křehké**  
**Vyvíjí se vnášení pomocí lentivirů**
- **Bezpečnost**
  - **zlomy DNA v necílových místech**
  - **riziko nádorového bujení**

## Genová terapie nádorů



- Více než 2/3 všech klinických zkoušek

## Cytotoxické postupy



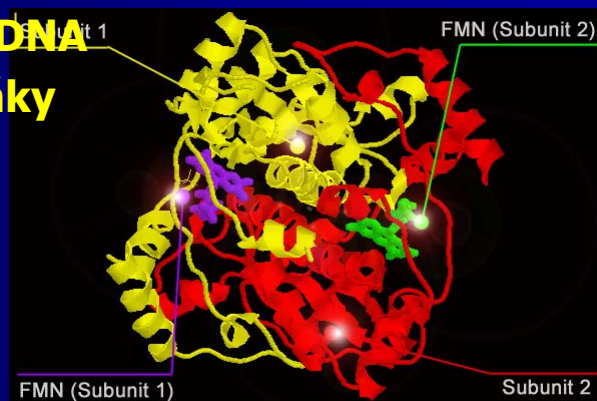
- Thymidin kináza z herpes simplex viru – fosforylace nukleosidů
- Člověk ji postrádá
- Po injekci nosiče s HSV TK se podá abnormální nukleosid ganciclovir
- Po fosforylaci se zabuduje do DNA a buňky hynou

## Další možnosti

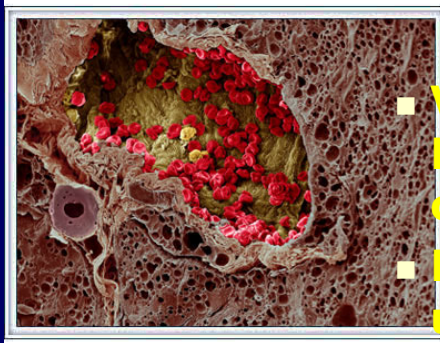
- Cytosin deamináza (bakteriální gen)
- Podává se fungicid 5-fluorocytosin
- Mění se na 5-fluorouracyl
- Naruší syntézu RNA
- Smrt buněk



- Nitroreduktáza (E. coli)
- Mění slabé alkylační činidlo CB1954 na silné
- Alkyluje DNA
- Smrt buňky



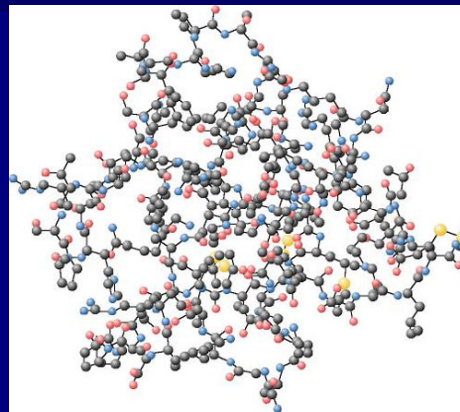
## Narušení angiogeneze



- VEGF a receptory R, R1, R3 budí růst cév
- R2 váže VEGF bez účinku
- VEGF – i RNA

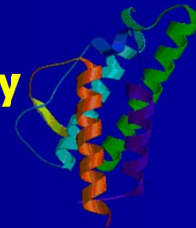
## Antiangiogenní faktory

- Angiostatin
- Endostatin



## Aktivace imunitního systému

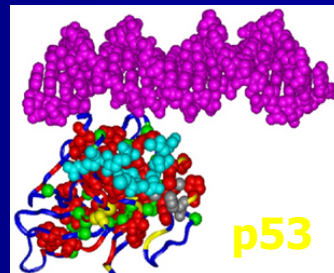
- Do nádoru je vnesen gen pro cytokiny
- Ty pomohou prezentovat antigeny rakovinných buněk imunitnímu systému
- Nádor likvidují T-lymfocyty



## Apoptotické účinky

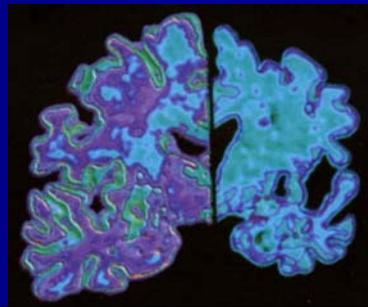
- Nádory mají nefunkční signální kaskádu programované buněčné smrti - apoptózy
- Dodání genů pro enzymy z apoptózové kaskády

- Kaspázy
- Protein p53
- Retinoblastoma protein



## Genová terapie degenerativních onemocnění

- Alzheimerova choroba
- Gen pro NGF – zajišťuje přežití neuronů v cholinergním systému
- Vnášení buněk s NGF do nucleus basalis



## Genová terapie Parkinsonovy choroby

- Třas, pomalý pohyb, potíže s rovnováhou a chůzí, „mrznutí“
- Odumírání neuronů substantia nigra produkujících dopamin
- Nedostatek dopaminu vede k nadměrné aktivaci neuronů motorických center v subthalamických jádrech
- Podávání dopaminu pomáhá v počátečních fázích – později nežádoucí vedlejší účinky.





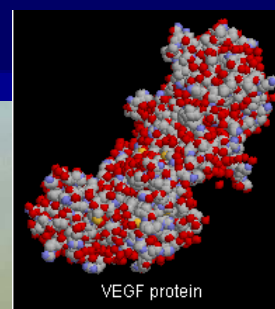
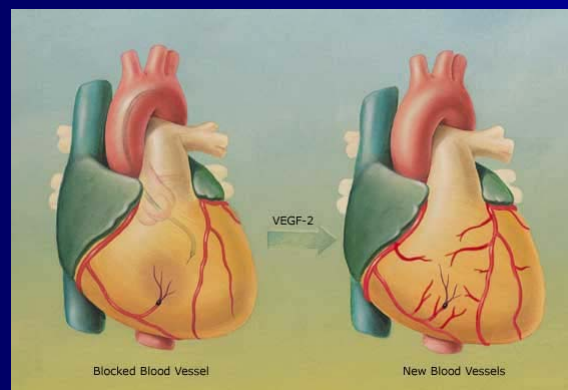
## Genová terapie - PD

- AAV2 virový vektor s lidským genem GAD
- Injekce do subhypothalamických jader
- GAD -dekarboxyláza kyseliny glutamové – katalyzuje tvorbu GABA
- GABA inhibuje neurony a uvádí do rovnováhy motorická centra

**2011**  
Druhá fáze klinických zkoušek  
U poloviny pacientů zlepšení motorických funkcí o 23%



## VEGF – kardiovaskulární choroby





**Startuje s GT i genové vylepšení člověka?**

**Genová terapie – návrat k normálu**



**Napravuje dědičné defekty  
Léčí nádorová onemocnění  
Léčí degenerativní onemocnění**



**Takto vypadá „přirozený“ stav  
při nákaze tetanem**



**Clostridium  
tetani**

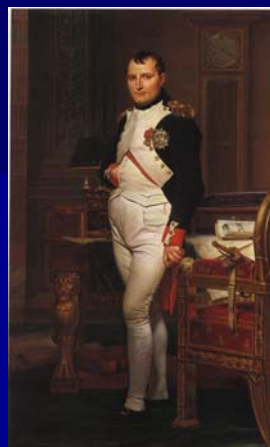


**I v zemích s rozvinutou medicínou umírá  
30 % nakažených lidí**

**Očkováním se dostáváme za hranici „normy“**

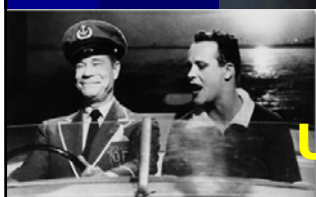
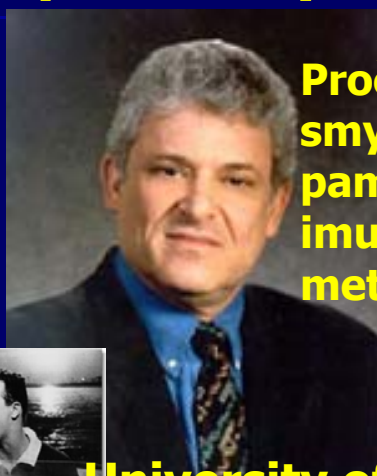
## Co je „nemoc“?

- Malá postava?
- Neplodnost?
- Plešatost?



## Nikdo není dokonalý. Tak proč nebýt lepší?

Proč si nevylepšíť  
smysly,  
paměť,  
imunitu,  
metabolismus?



**Arthur Caplan**  
**University of Pennsylvania**

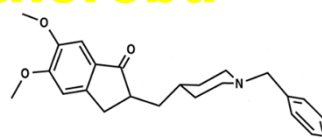
## Využití medicíny pro vylepšení člověka



Plastická chirurgie  
pro kosmetické účely

## Donepezil – lék na Alzheimerovou chorobu

- Při testech zlepšoval výkon pilotů při krizových situacích na trenážeru

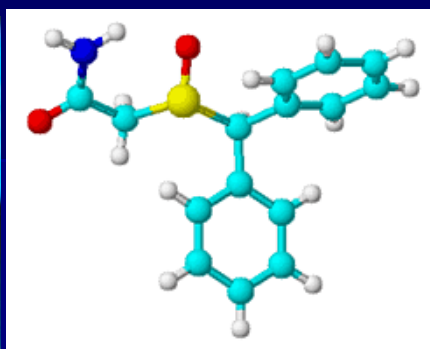


## Ritalin – lék na poruchy pozornosti a hyperaktivitu

- V USA ho užívají 2,1 milionu zdravých studentů středních a vysokých škol
- Pomáhá při soustředění




## Modafinil



- Léčivo užívané při narkolepsii
- Sportovní doping
- Armáda – potlačení ospalosti
- Testy – vyšší duševní výkonnost

## Testosteron



- Původně pro muže s hormonálními poruchami
- Dnes ho ve formě náplastí a gelů užívají jen v USA 2 miliony zdravých mužů pro kompenzaci přirozeného poklesu testosteronu ve vyšším věku
- 30% uživatelů ve věku 18- 45 let

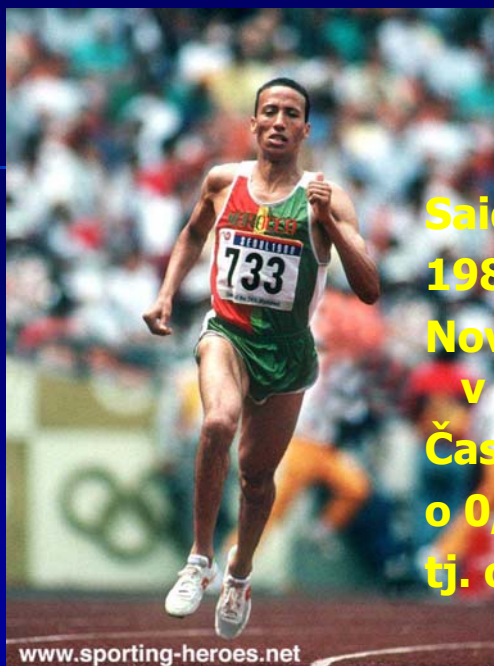
## Vnesením nových genů



### Odolnost vůči

- AIDS
- malárii
- rakovině
- chorobám srdce

## Sport - hlavní pole pro start genového vylepšení



**Said Aouita**  
**1984**  
**Nový světový rekord**  
**v běhu na 5000 m**  
**Čas zlepšen**  
**o 0,01 sec**  
**tj. o 0,000013%**



## Sport je zajímavý až za hranicemi lidských možností



## Ve hře jsou

- Peníze
- Sláva
- Ctížádost
- Osobní ambice



## At' to stojí, co to stojí



Tim Montgomery:  
„Kdybych vyhrál  
zlatou  
olympijskou  
medaili, tak to  
stálo za to, i  
kdybych za  
cílovou čarou  
umřel.“



## Odolnost k námaze



Delší varianta genu ACE

## Zvýšení exprese genu PPAR-delta



Myši uběhnou do vyčerpání dvakrát větší vzdálenost.

## Myostatin nebo IGF1



## Geny pro ukládání tuku



## Tělem produkované látky nelze odhalit



## Lee Sweeney:



„Olympiáda v Athénách byla poslední, kde ještě medaile nebrali geneticky dopovaní sportovci.“

## Velké dilema



- **Dělat nebo nedělat?**
- **Zkoušet nebo nezkoušet?**
- **Zkoumat nebo nezkoumat?**

## Zárodečná genová terapie



- Genetická změna – dědičná
- Gregory Stock: „Otázka nestojí, jestli budeme geneticky zasahovat do dědičné informace pohlavních buněk člověka, ale kdy s tím začneme.“

## Zárodečná genová terapie

- Má vyznavače i odpůrce
- Zastánci – přeruší se dědění chorob
- Odpůrci – není třeba, stačí PGD



**X**



## Je GT bezpečná?

- Riziko inzerčních mutací
- u GM myši
  - defekty oka, ucha, čichu, náchylnost k nádorům
  - defekty se mohou objevit až po několika generacích
- Capecchi: „celotělová somatická GT“
  - Využití umělých chromozomů
  - Ponesou nové geny
  - Bude u nich možné indukovat externím signálem ztrátu centromer
  - Nebudou předávány při mitóze a meiozi
  - Nebudou se dědit



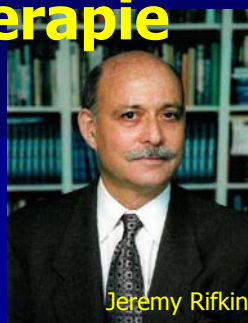
Mario Capecchi

## Hrajeme si na bohy?

- Ze hry na boha a zasahování do přirozeného běhu věcí byl viněn např. objevitel očkování proti neštovicím Edward Jenner

Edward Jenner  
(1749 – 1823)

## Může být genová terapie zneužita?



Jeremy Rifkin

Jeremy Rifkin: Zásahy do dědičné informace nastolí nerovnost biologickou, ekonomickou a sociální.

## Protiargument

- Nikdo nezakazuje ani léky pro hyperaktivní děti ani plastickou chirurgii. Tak proč zakazovat genovou terapii?





## Které dědičné vlastnosti a znaky jsou dobré?

- Alely genů mají pleiotropní účinky
- Mutace CCR5 chrání před AIDS, ale zvyšuje riziko západonilské horečky
- Srpková anemie zvyšuje odolnost k malárii, ale homozygoti umírají
- Geny pro bipolární poruchu a umělecký talent



## Známe všechny funkce genů, které bychom měnili?

- Lidský genom má 23 500 genů
- Neznáme funkce všech
- Neznáme interakce genů
- Neznáme význam míry exprese genů
- BMP4 – růst kostí, indukce apoptózy, diferenciacie epidermu i nervové tkáně
- Záleží na podmínkách

## Mají rodiče právo měnit genotyp svých dětí?

- Genotyp dítěte je výsledkem náhodné kombinace genů rodičů
- Volbou určitých alel se předurčuje osud dítěte a jeho individualita
  - zúžené spektrum
  - posunuté spektrum
  - rozšířené spektrum



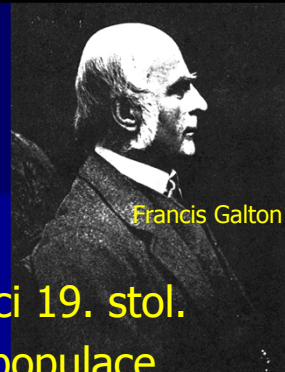
## Mají rodiče právo měnit genotyp svých dětí?

- Společnost může definovat „optimum“ vzhledu, inteligence, zdraví apod. Kdo tomu neodpovídá – méněcenný
- Jaké bude postavení postižených?
- Nelze zabránit dědičným chorobám
  - Achondroplasia – 7 z 8 případů je výsledek „de novo“ mutace ve spermii
  - Každý z nás nese několik recesivních alel pro dědičná postižení



## Hrozí eugenika?

- **Eugenika** – počátky na konci 19. stol.
- Cílem je vytvoření zdravější populace plození dětí vybranými rodiči bezdětnost „méněcenných“
- Vrchol - 1. polovina 20. stol.
- Nejen nacistické Německo, ale i další země, např. Británie, USA

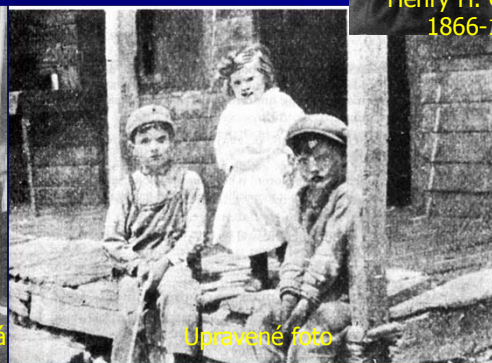


Francis Galton

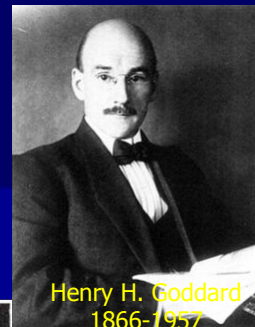
## Rodina Killikaků



Deborah Killikaková



Upravené foto

Henry H. Goddard  
1866-1957

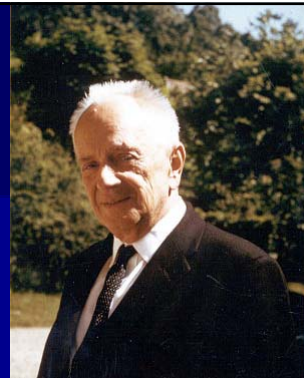
## Vrátí zárodečná GT eugeniku?



David Duke  
National Director  
Ku Klux Klan

- Většina vědců, kteří jsou zastánci zárodečné GT, nemají zájem na eugenice
- Některé rasistické skupiny apod. mají zájem o zárodečnou GT

## Theodosius Dobzhansky



„Problémy tohoto světa nejsou způsobeny těmi, kdo mají poškozenou dědičnou informaci, ale těmi, kdo mají geny úplně v pořádku a využívají své nadání k amorálním cílům.“