

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

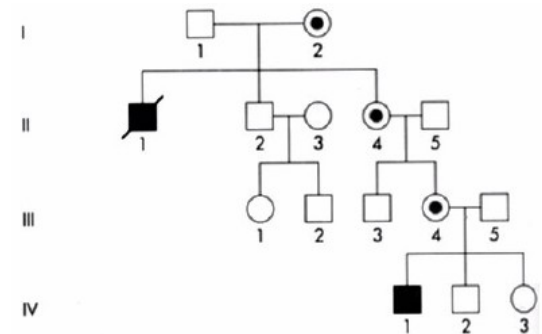
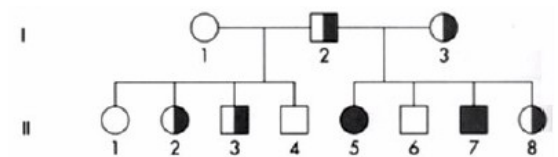
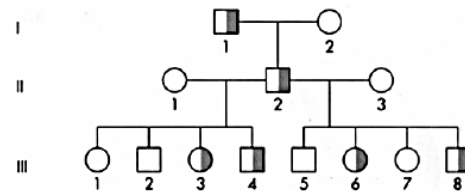
- choroby dětského věku
- méně než 10 % z nich se manifestuje po pubertě a pouhé 1 % se objeví po skončení reprodukčního věku
- často výrazně patologické
- v populační studii na 1 milionu živě narozených dětí byla incidence vážných monogenních chorob odhadnuta na 0,36 %, u 6-8% hospitalizovaných dětí 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
 - časná ztráta chromozomu z trizomické zygoty může vést i k tzv. uniparentální dizomii
- vs.
- chimerismus - oplozením vajíčka a polového tělíska, nebo 2 vajíček - hermafrodit

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



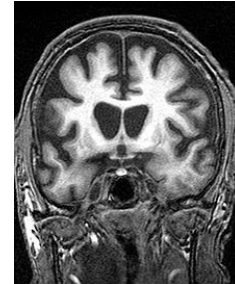
Monogenní nemoci - AD

- 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

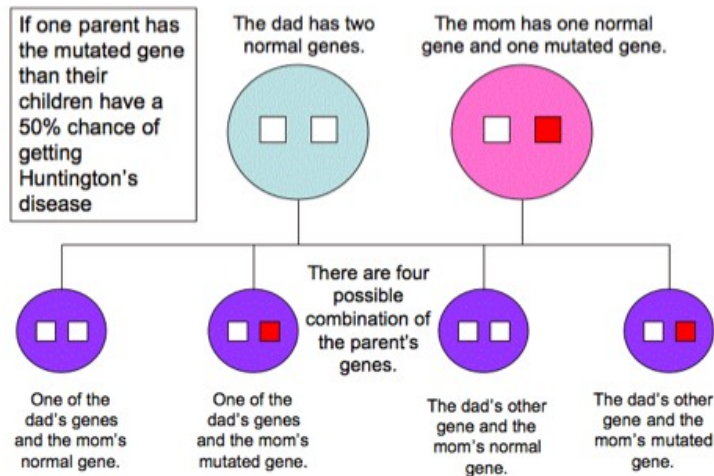


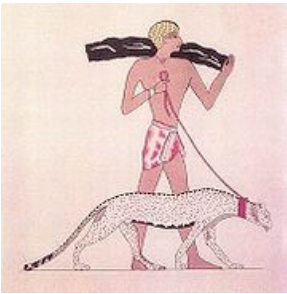
- fatální neurologické onemocnění s nástupem v dospělosti, projevující se jako demence s extrapyramidovou poruchou motoriky
- v genu pro **huntingtin** je repetitivní sekvence $(CAG)_n$, která kóduje úsek bílkoviny tvořený zbytky glutaminu (polyglutaminový úsek, polyglutamine tract)
- za normálních okolností 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) ₂₀ -GTC-...
mRNA	...-AUG-CAG-...	...-AUG-(CAG-CAG-CAG) ₂₀ -CAG-...
AA	...-met-gln-...	...-met-(gln-gln-gln) ₂₀ -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

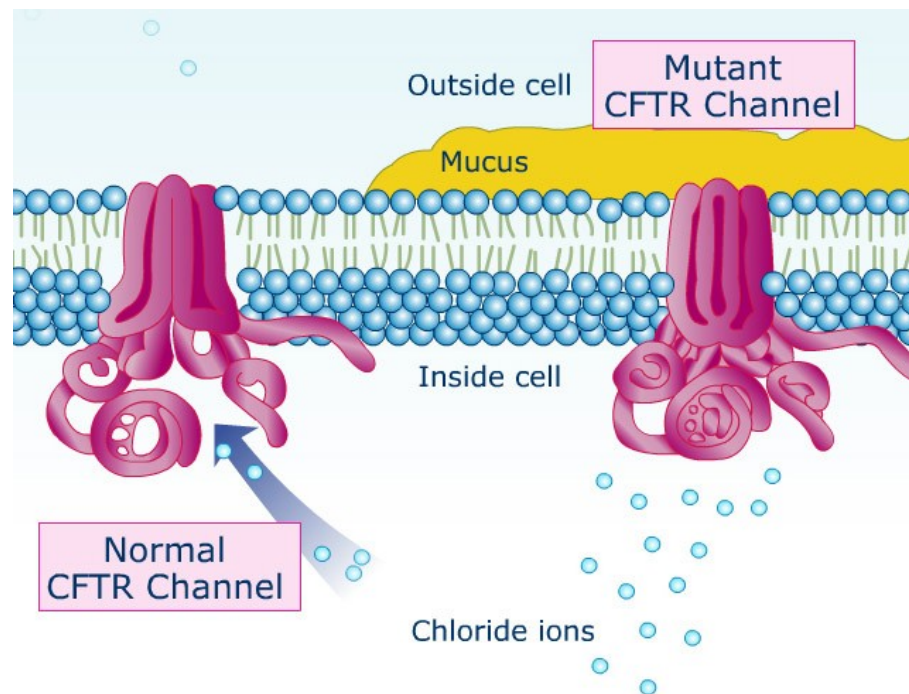
Důvody k vyšetření jsou:

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



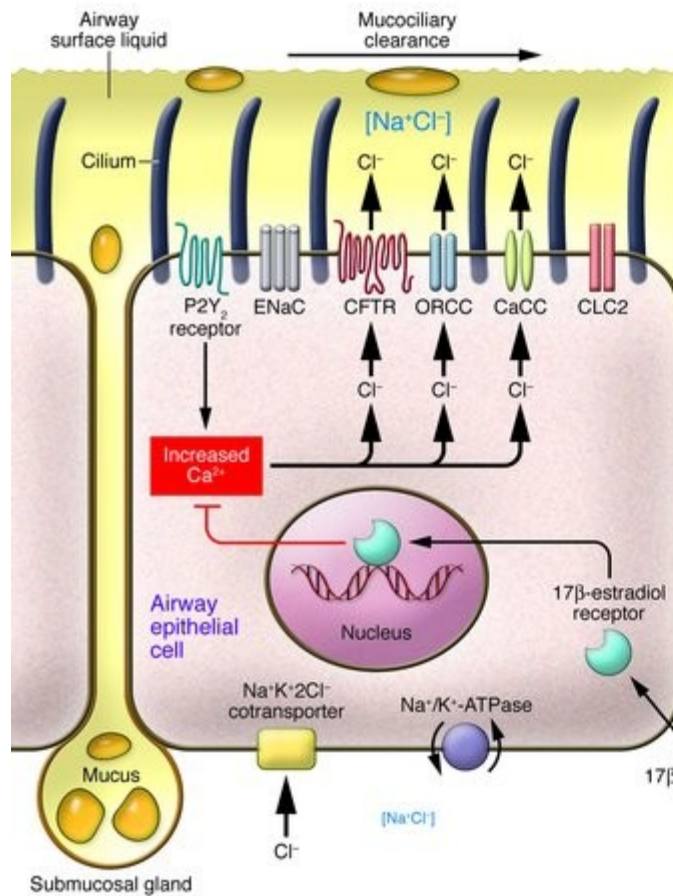
Cystická fibróza

- 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)

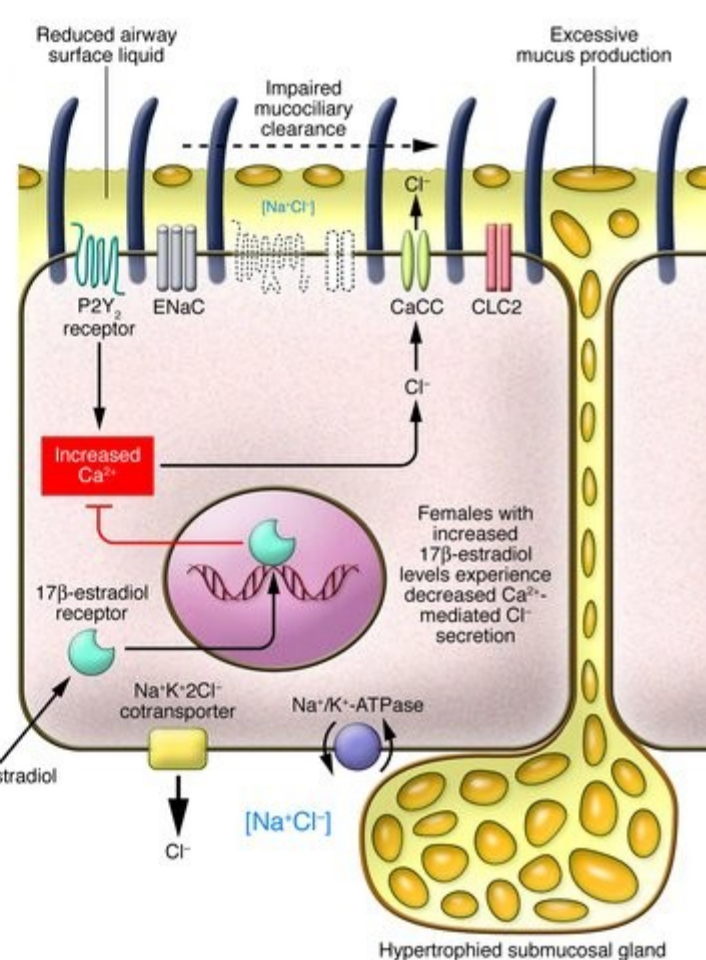


Cystická fibróza

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- AAA -CCA-	-TAA-CCA-
mRNA	-AUC- UUU -GGU-	-AUU-GGU-
AA	-ile- phe -gly-	-ile-gly-

Metody léčby

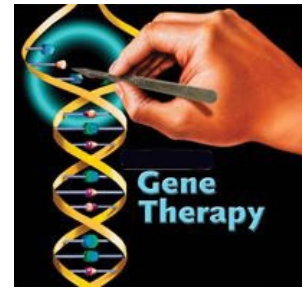
Symptomatická

- 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

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, liposomy

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





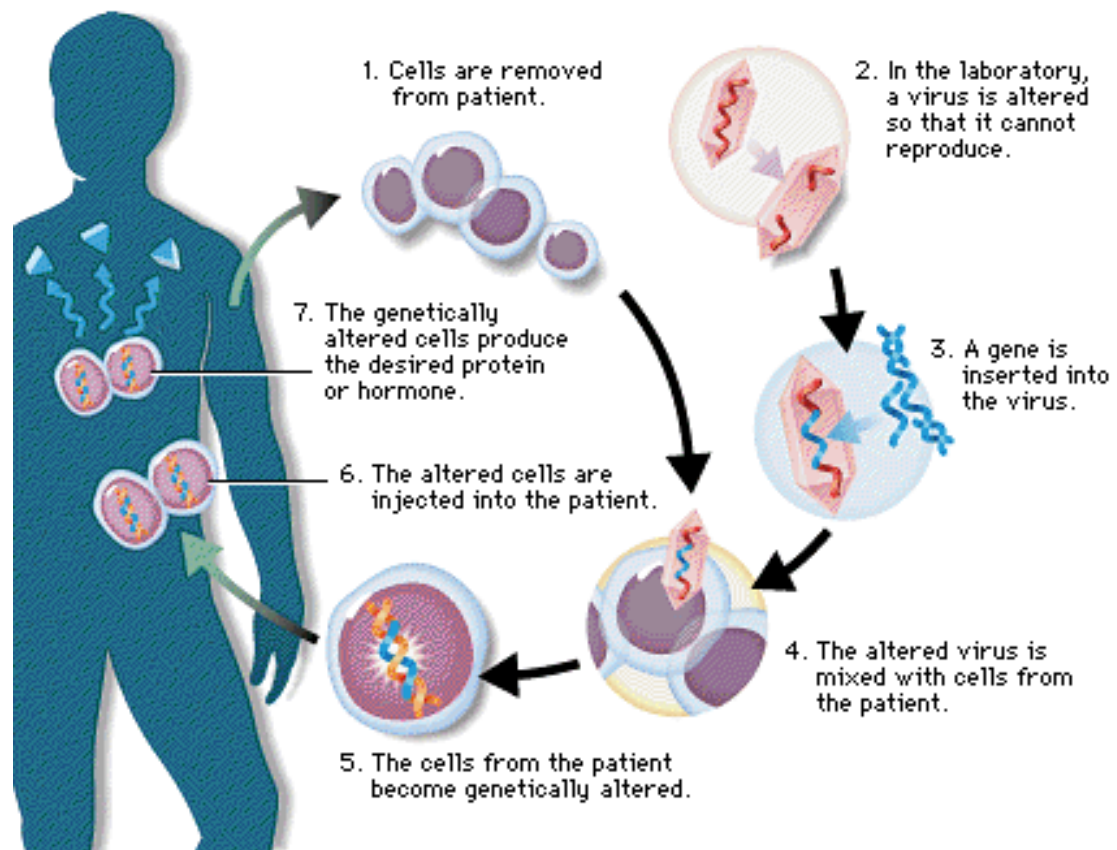
Genová terapie

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* a *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

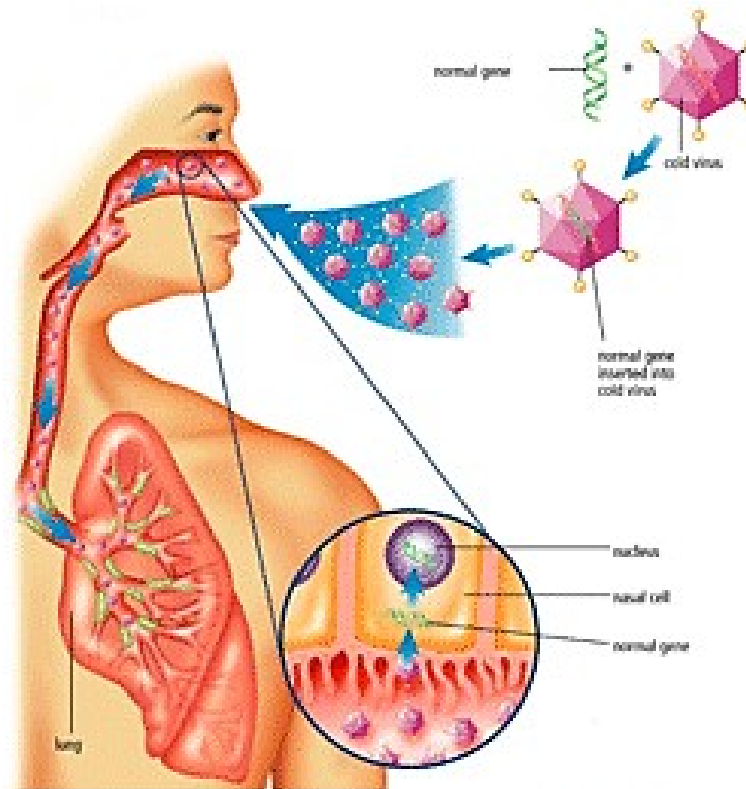
Monogenně podmíněná onemocnění teoreticky vhodná pro genovou terapii

- 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)
- α - β -talasemie (gen pro α - β -globin -> ery)
- srpkovitá anémie (gen pro β -globin -> ery)

Genová terapie

Cystická fibróza

- genová terapie i 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.)

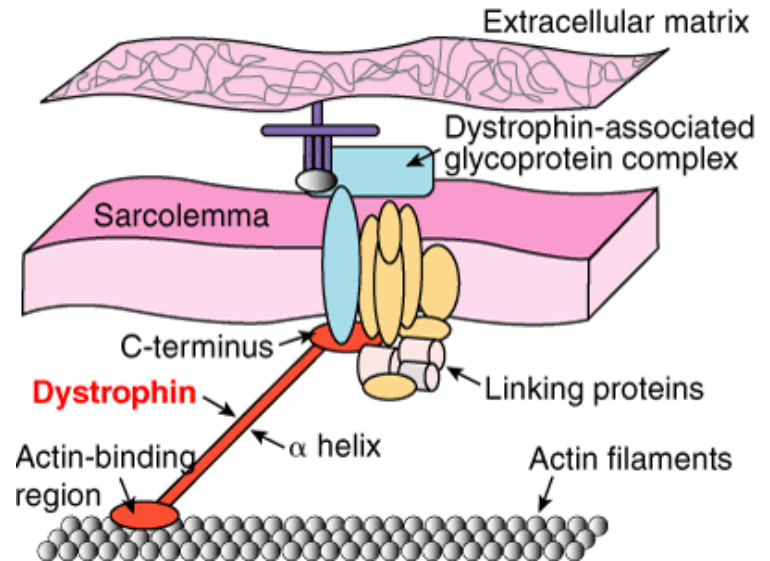
Monogenní nemoci - X-vázané

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



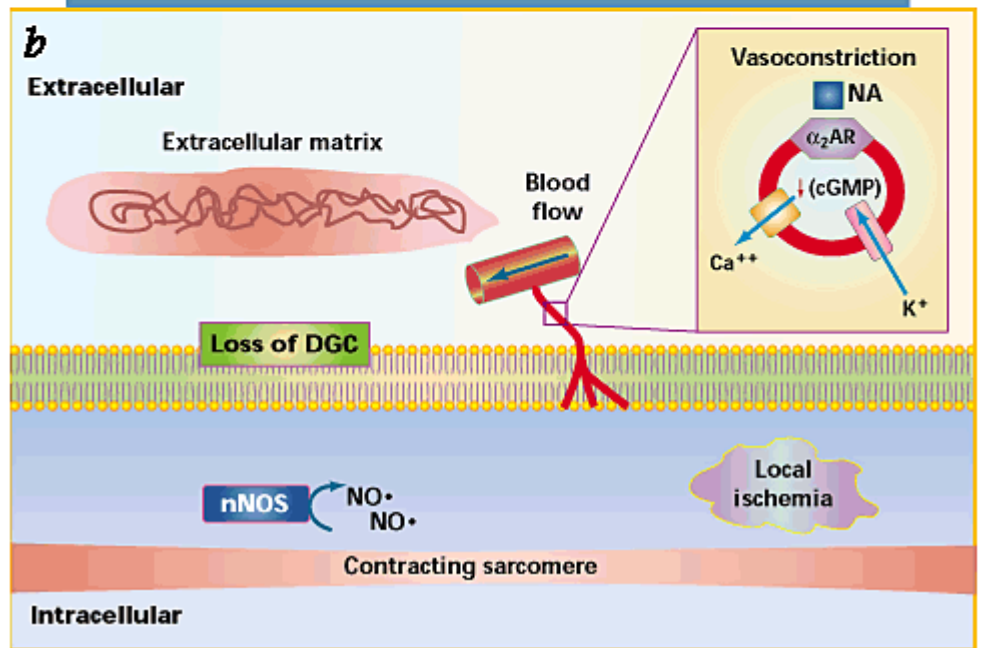
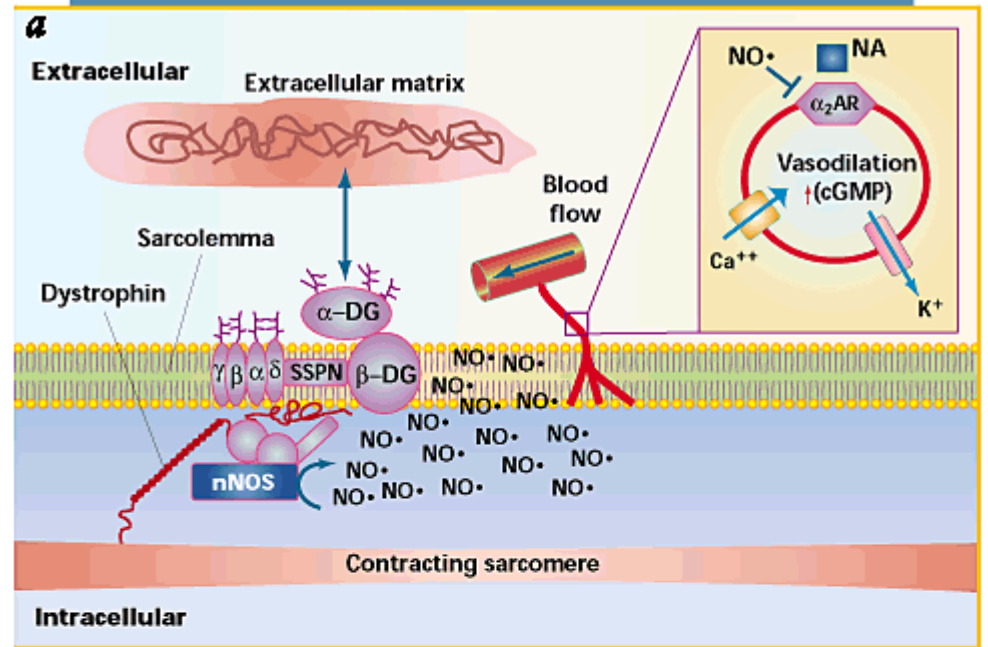
Duchennova svalová dystrofie

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



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

Duchennova svalová dystrofie



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

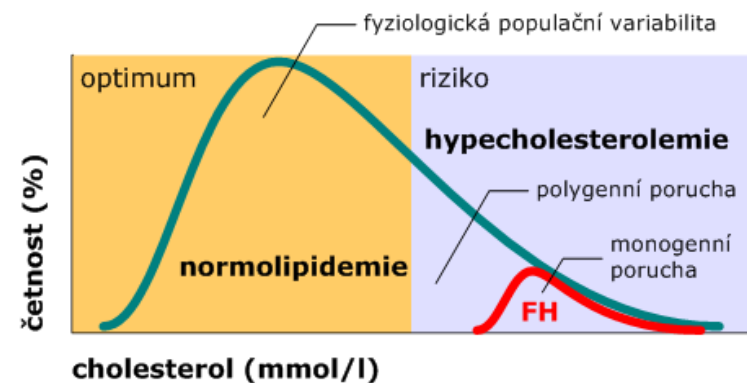
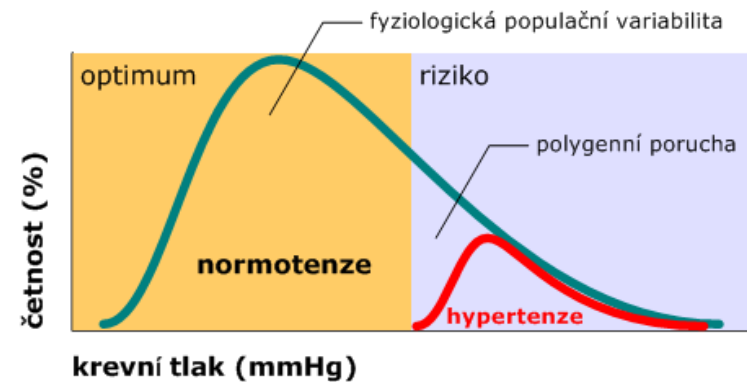
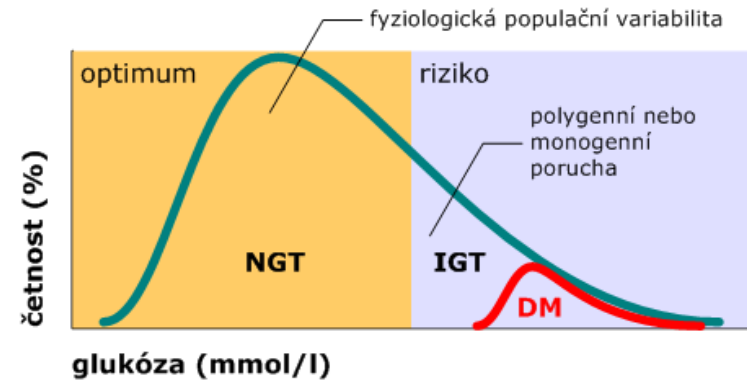
Každá choroba má nějaké genetické pozadí, jehož podíl na manifestaci dané choroby je různý.

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

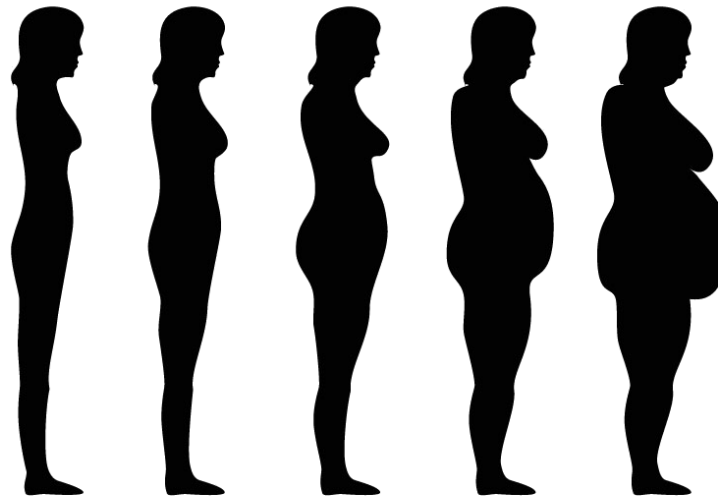
- choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „komplex“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů
- fenotyp nevykazuje klasickou mendelistickou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- **predisponující „geny“** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, 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 přináší 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 aberrace	10 %
Sekundárně (prostředí)	monogenní dědičnost	20 %
	léky, infekce, záření	5 %
	porodní poranění	12 %
Neznámé (multifaktoriální)	infekce po narození	7 %
	geny + prostředí	46 %

Klinická genetika

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:

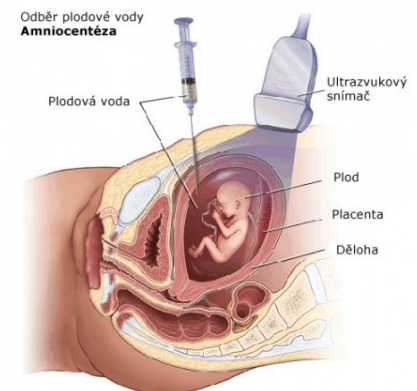
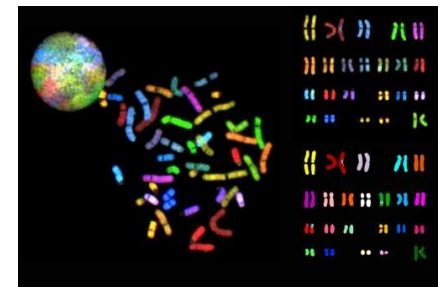
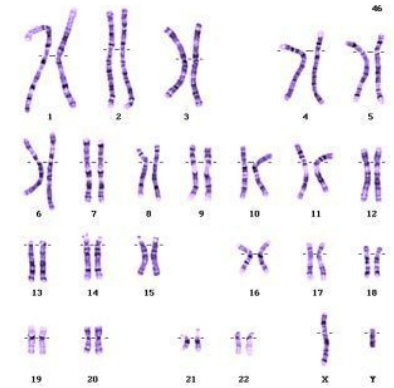
- věk matky v době porodu je vyšší jak 35 let nebo součet věku rodičů nad 70 let
- pozitivní biochemický screening z krve matky
- ultrazvukový nález, který zvyšuje riziko přítomnosti chromozomální aberace (nahromadění tekutiny v podkoží, nepřítomnost nosní kůstky, srdeční vada plodu aj.)
- přítomnost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

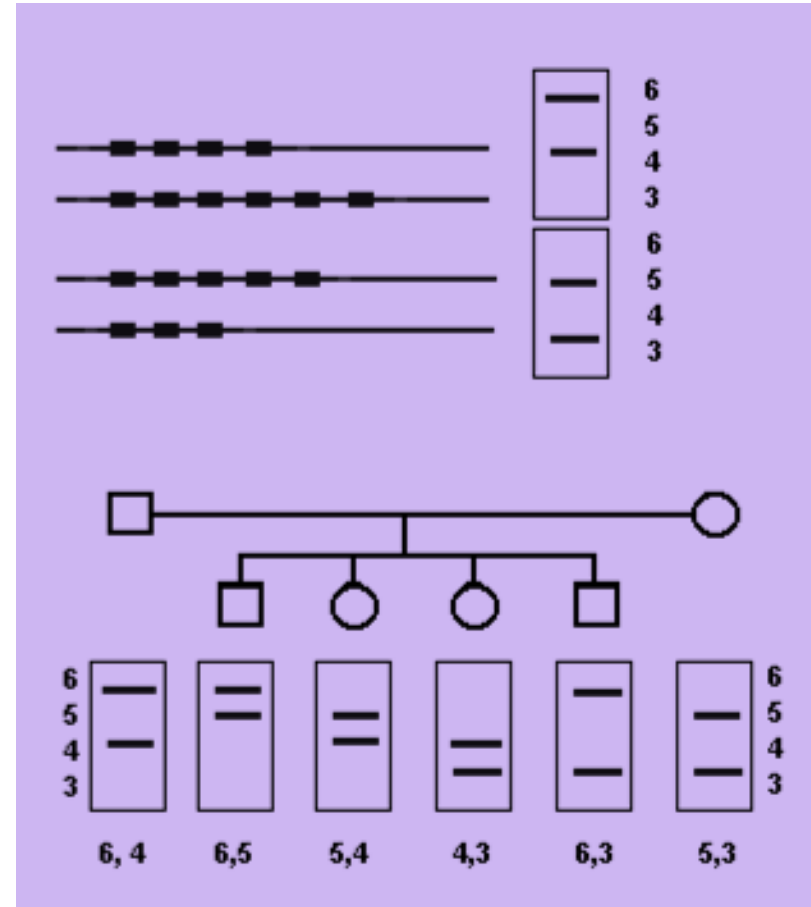
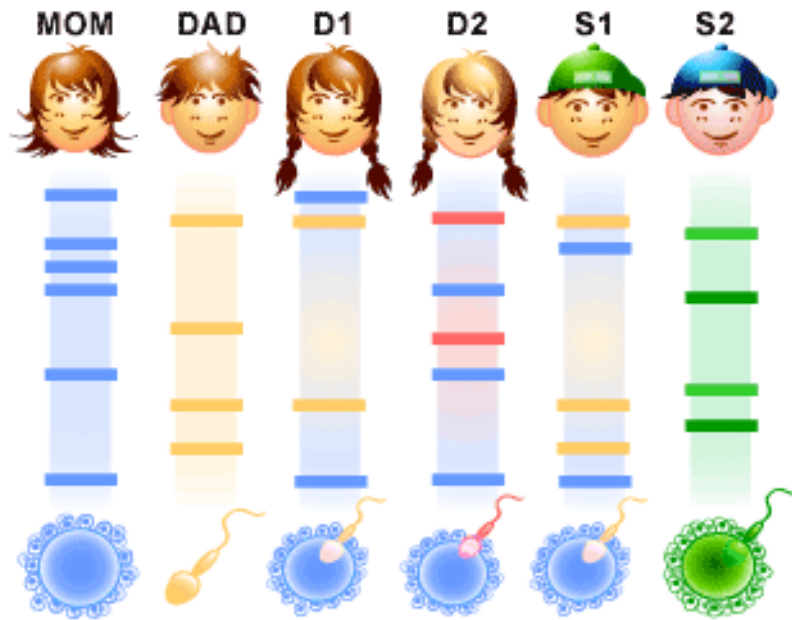
- metodu časně prenatalní diagnostiky, která je vázána na techniky umělého oplodnění, za účelem minimalizace chyby genetického vyšetření je třeba k oplozování vajíček použít metody intracytoplazmatické injekce spermie
- buňky pro genetické vyšetření jsou odebírány z embrya nejčastěji ve stadiu 8 buněk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

Postnatální diagnostika

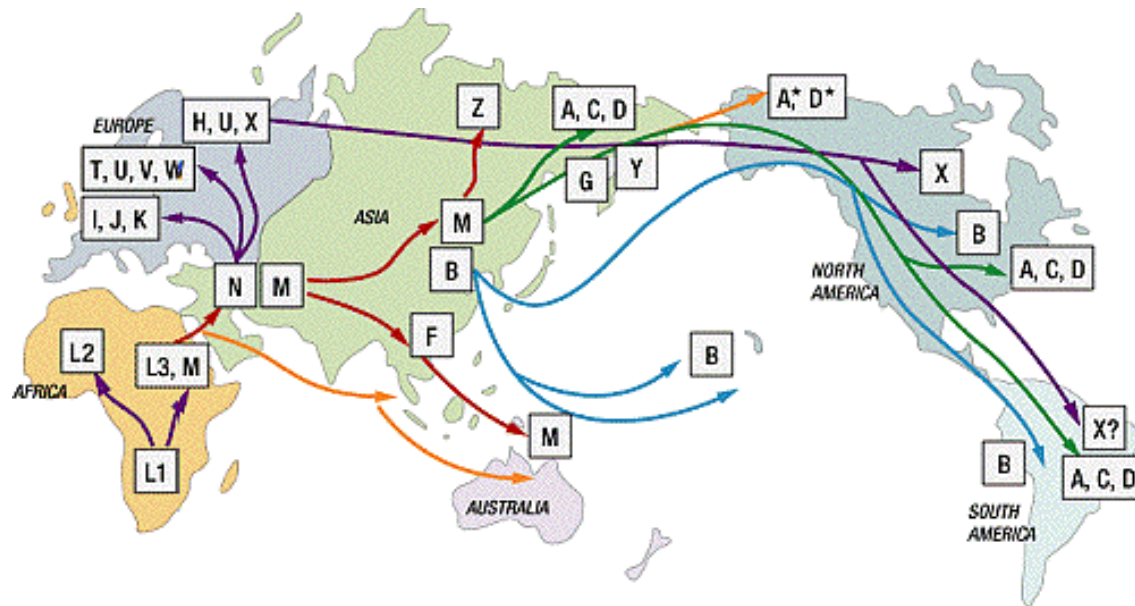
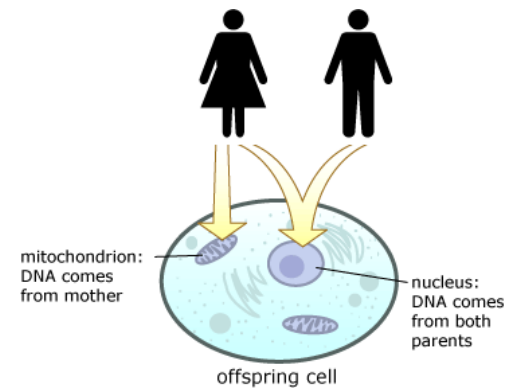
- např. trombofilie, celiakie, cystická fibróza...



DNA fingerprinting



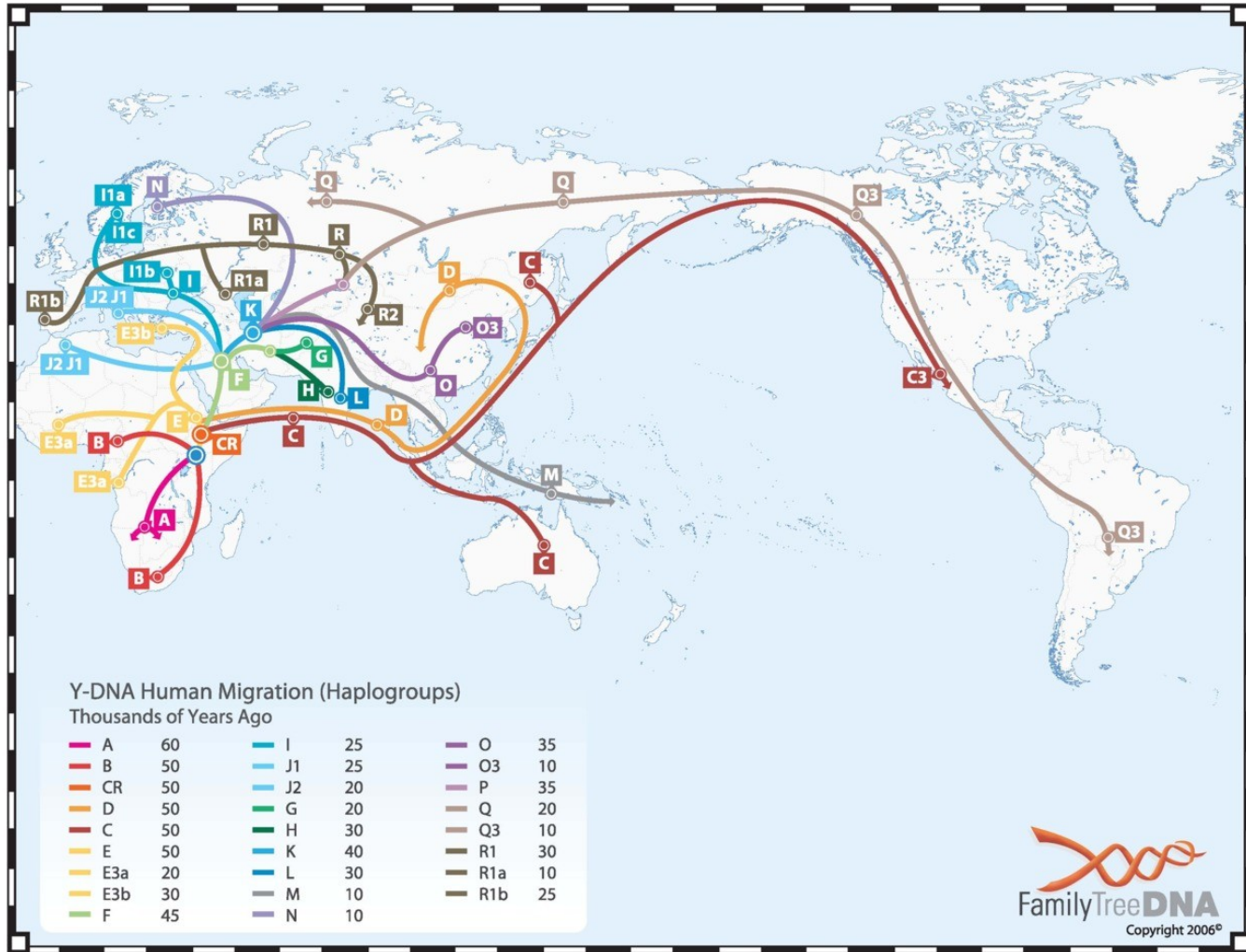
Lidský genom



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



Lidský genom



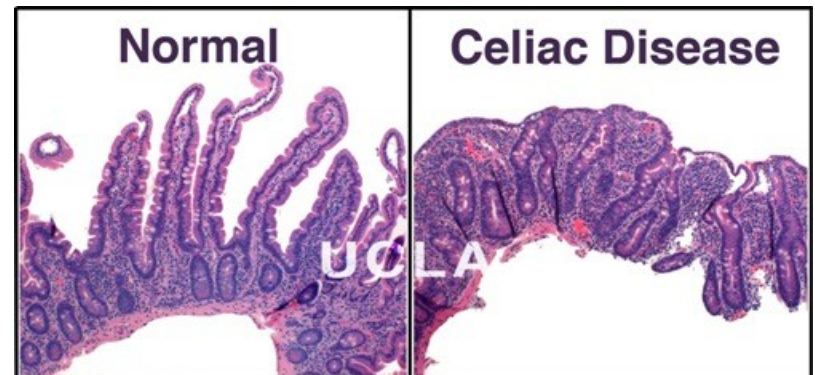
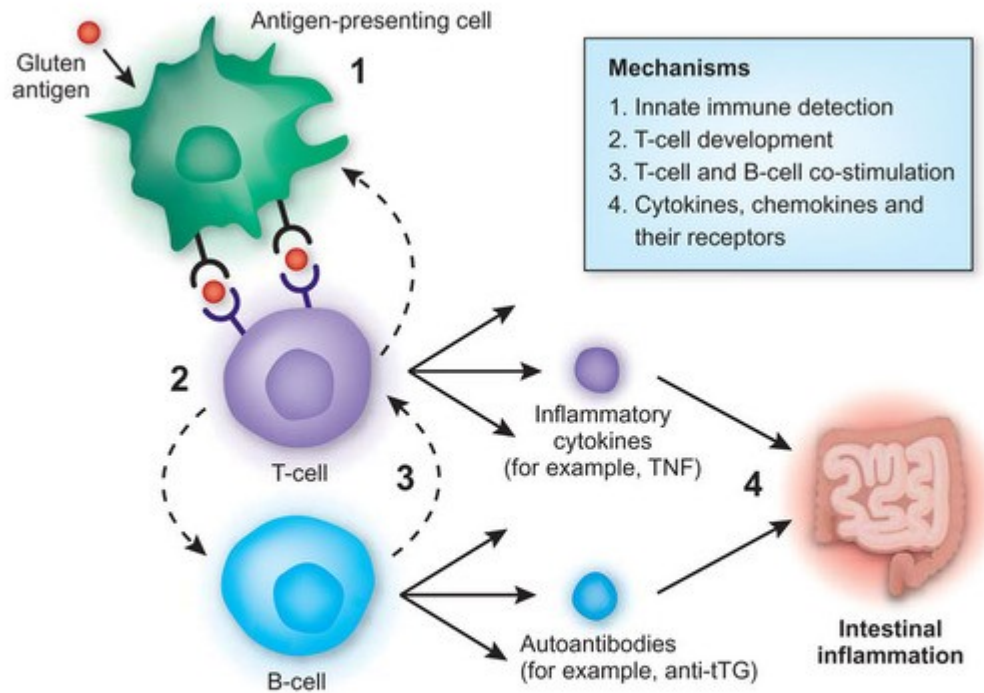
Klinická genetika

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



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



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 fenylobutazonu 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

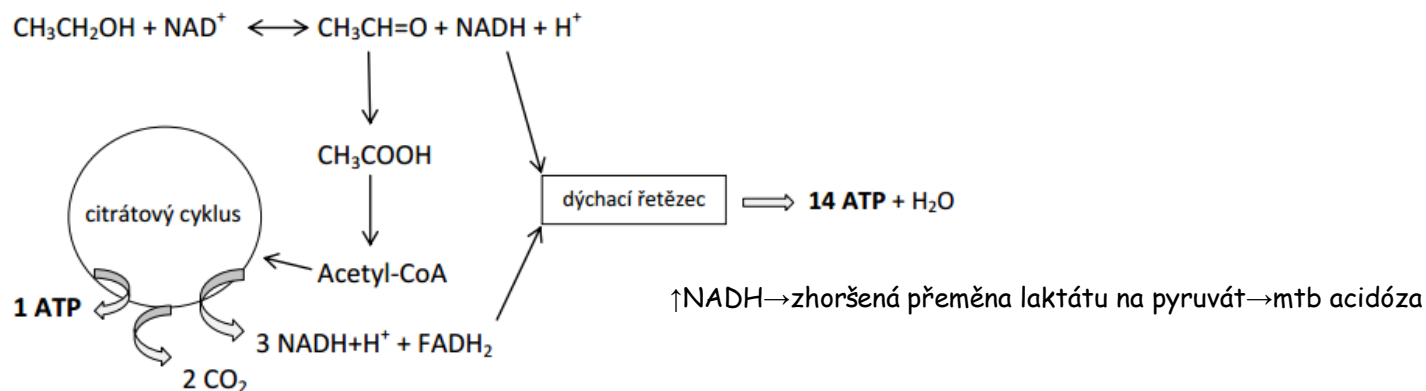
Azathioprin

- 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
- **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

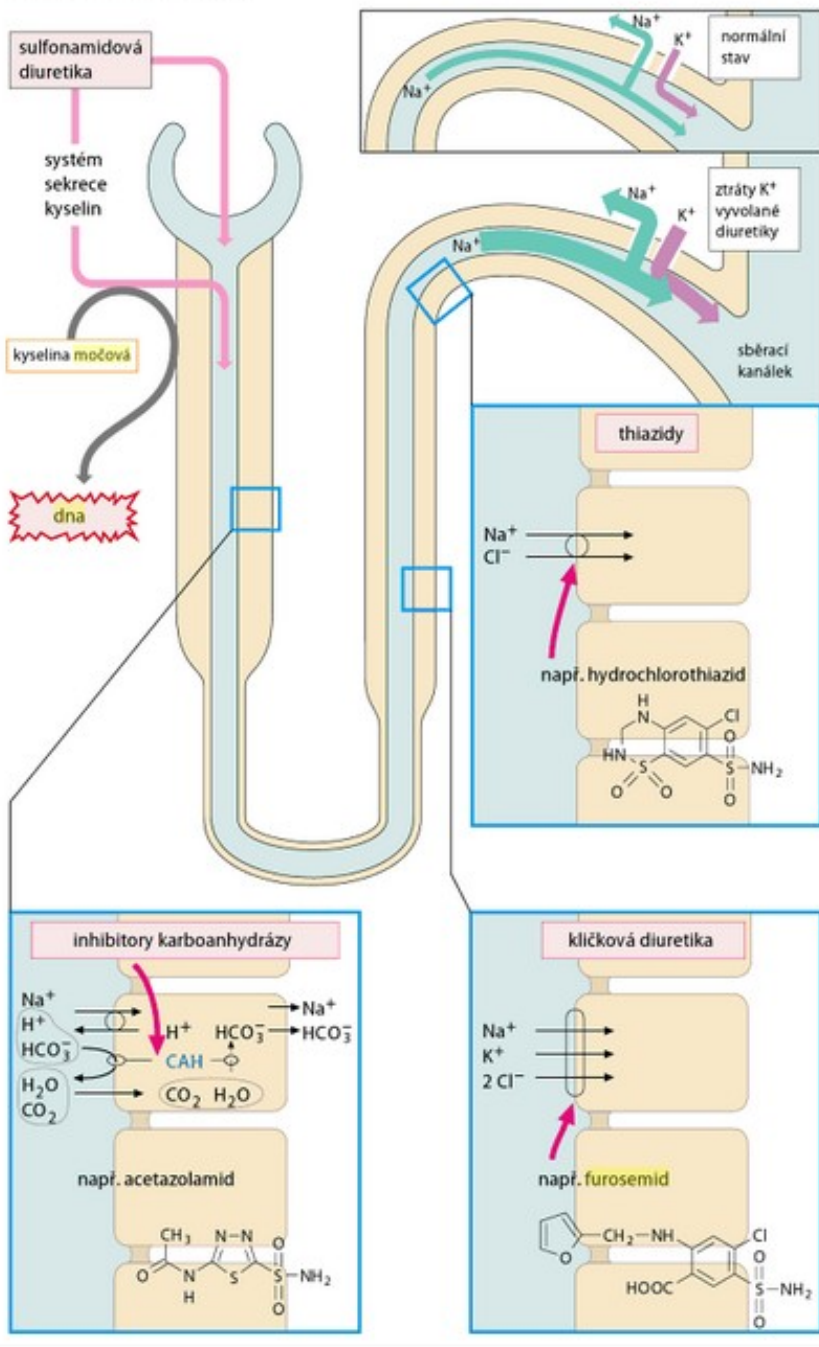
Geneticky podmíněné choroby se změnou citlivostí na léky

- **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

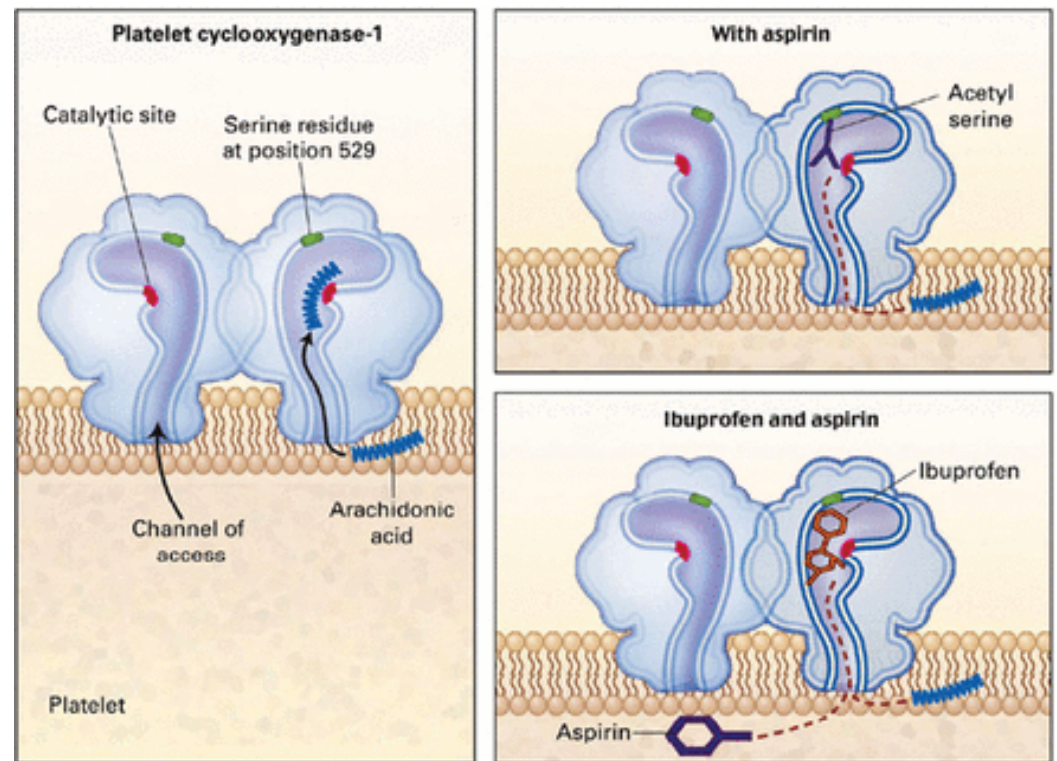
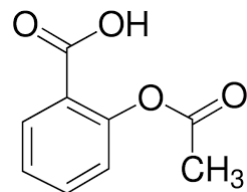
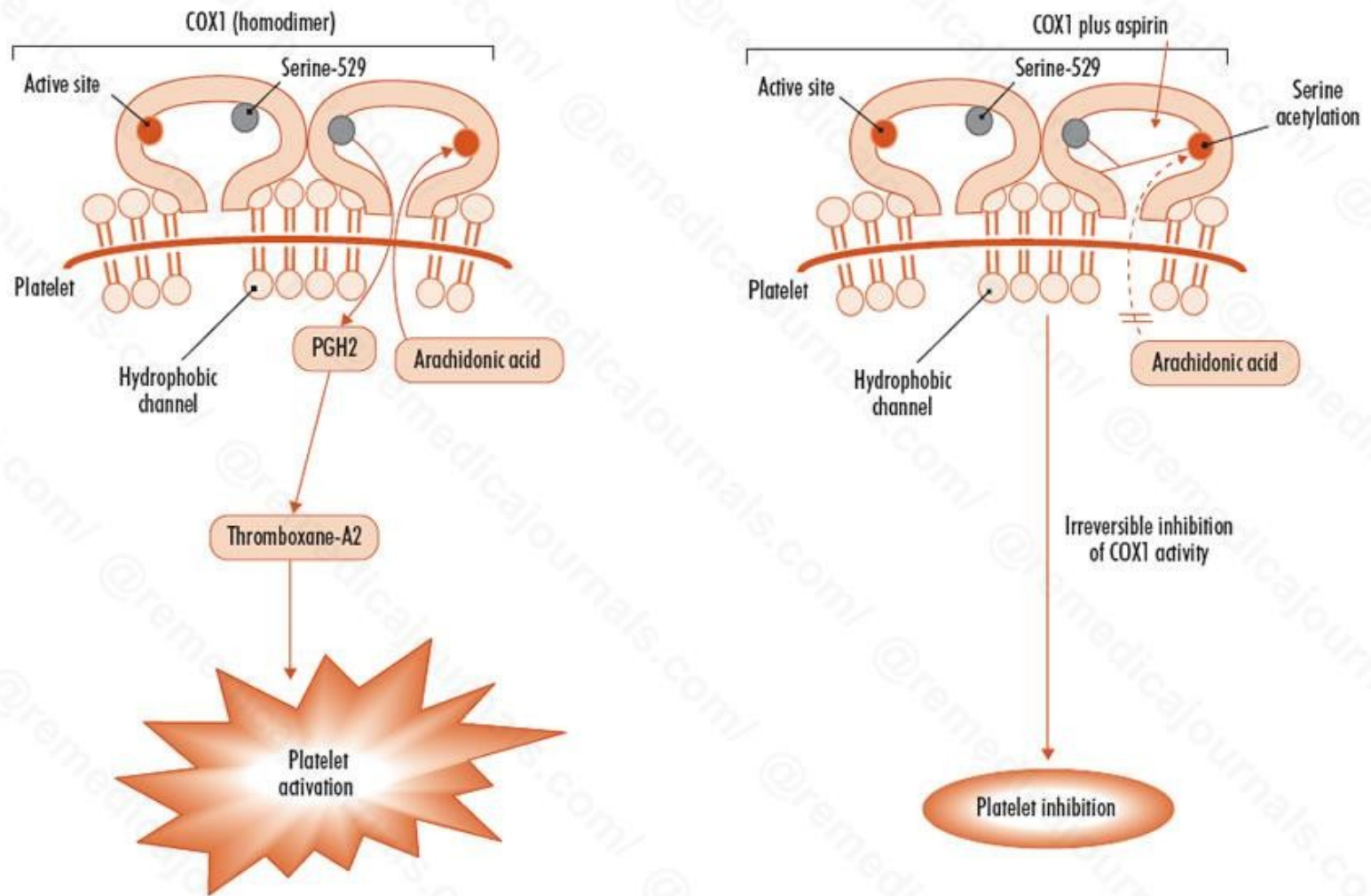


Figure 2. Mechanism of action of aspirin.



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 znemožňují 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)

