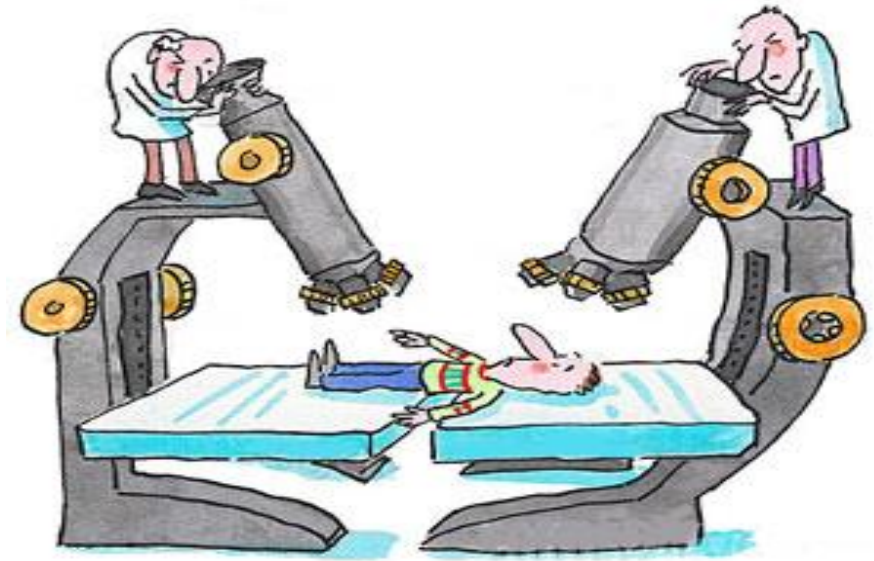
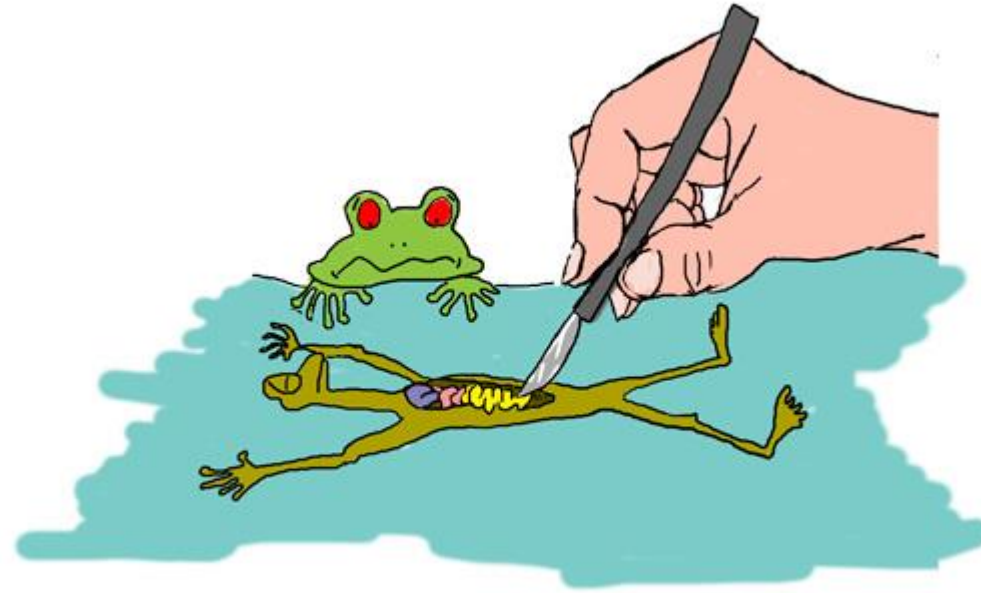


Molekulární pato(fyzi)logie



Osnova

- I. část:
 - definice a vymezení oborů patologie a patofyziologie
 - genetická podmíněnost nemocí
 - vztah genotyp (mutací resp. polymorfismus) a fenotyp z hlediska nemocí
 - jejich diagnostiky
 - prognózy a predikce
- II. část – příklady:
 - (A) **diagnostický** a terapeutický přínos molekulární patologie
 - diabetes mellitus typu 1
 - MODY
 - T2DM
 - (B) **prognostický** a **prediktivní** význam molekulární patologie („precision medicine“)
 - diabetické komplikace



ETIOPATOGENEZE NEMOCÍ Z HLEDISKA PATO(FYZIO)LOGIE

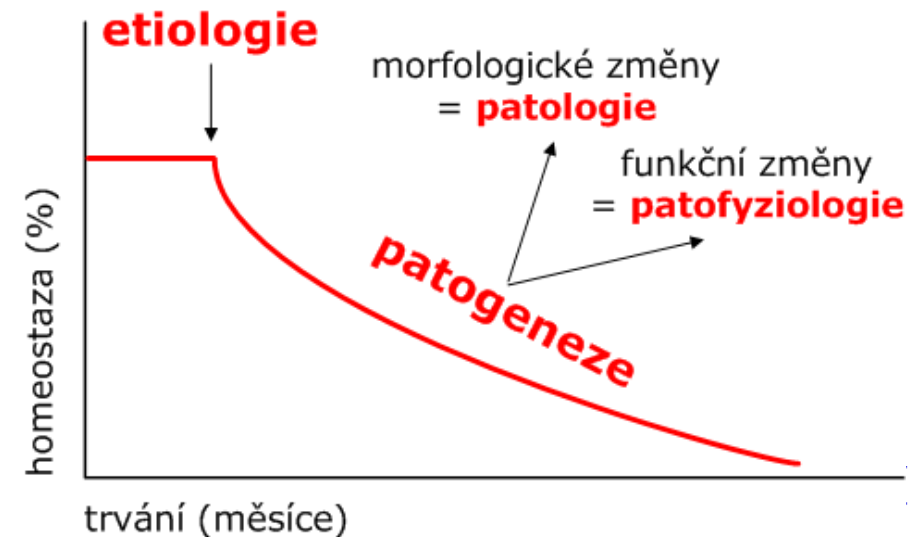
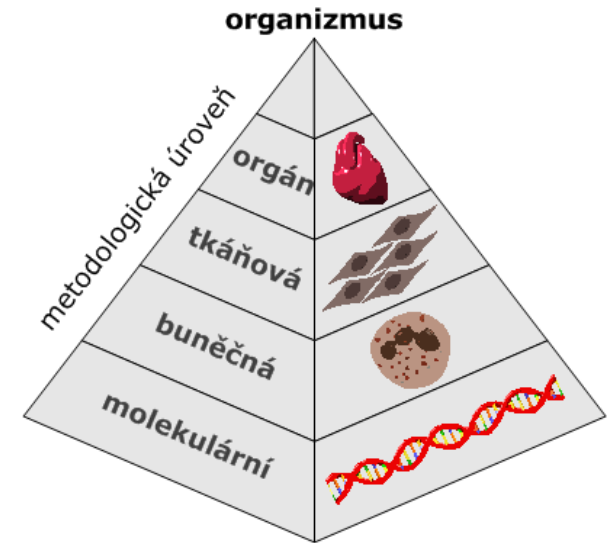
Patofyziologie (PF) jako lékařský obor

- lékařská disciplína (obor) zabývající se studiem nemocí, konkrétně jejich **etiologií** a **patogenezí** a rovněž tím jak se nemoc rozvíjí v čase a jaké **adaptace** a **kompenzace** vyžaduje od ostatních orgánových systémů
 - fyziologie = jako funguje **zdravé tělo**
 - patofyziologie = jako (ne)funguje **nemocné tělo**
 - PF je “fyziologií narušeného zdraví”
 - **PF vysvětluje funkční konsekvence chorobného procesu**
- **otázky proč? a jak?**
- PF studuje zejména dva procesy
 - etiologie nemoci = příčina nemoci, tj. co (jaké faktory) způsobuje nemoc, proč se začne rozvíjet
 - patogenezi nemoci = rozvoj nemoci, tj. jakým způsobem se nemoc rozvíjí
- příbuzné disciplíny
 - patologie (patologická anatomie) = popisuje anatomické změny, které nemoc způsobuje
 - epidemiologie = studuje choroby na úrovni populace



Patofyziologie vs. patologie

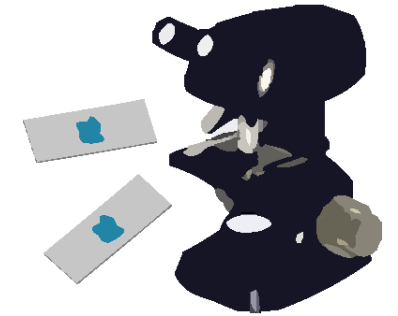
- jsou to příbuzné disciplíny
 - **patologie** (patologická anatomie) = popisuje **anatomické** (tj. makroskopické) a histologické (tj. mikroskopické) změny, které nemoc způsobuje
 - **patofyziologie** vysvětluje **funkční** změny na všech úrovních a jejich časový rozvoj
 - oba obory se zabývají etiopatogenezí nemocí = soubor morfologických a funkčních změn, které nelze striktně oddělit (pat. anatomie vs. patofyziologie)
- v klasickém medicínském a zdravotnickém pojetí je patologie diagnostický obor zabývající se diagnostikou nemocí a příčin úmrtí na makro- a mikroskopické úrovni
 - na úrovni organismu, orgánů, tkání a buněk
- obě disciplíny úzce souvisí s dalšími obory
 - molekulární biologie – metodologie výzkumu a rovněž rutinní diagnostiky
 - epidemiologie = studuje choroby na úrovni populace
 - imunologie – aktivace imunitního systému je téměř vždy součástí chorobného procesu
 - genetiky – jen velmi malá část nemocí nemá vůbec žádný podíl dědičnosti či dispozice



Metody klasické a molekulární pato(fyzi)logie

- klasické
 - pitva – inspekce
 - nekropsie (post mortem)
 - biopsie (in vivo)
 - klasické barvení vs. (imuno)histochemie
 - mikroskopie
 - světelná
 - elektronová
 - fluorescenční
- molekulární = objasnění proč a jakým mechanismem vede změna sekvence DNA, RNA či proteinu ke konkrétním patologickým projevům
 - změna většinou získaná, v somatických bb. nebo vrozené u tzv. komplexních nemocí
- diagnostika na molekulární úrovni
 - nukleové kyseliny
 - proteiny
 - cytogenetika, FISH
 - PCR + RFLP, heteroduplexy, SSCP, DGGE, sekvenování
 - microarrays
 - hybridizace
 - RNA/real time PCR
 - klonování, transfekce, mutageneze
 - izolace, separace proteinů, blotting,
 - detekce apoptózy - DNA fragmentation TUNEL,

metody klasické patologie



metody molekulární patologie



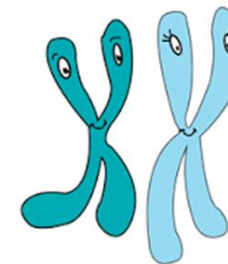


GENETICKÁ PODMÍNĚNOST VZNIKU A ROZVOJI NEMOCÍ

Etiologie nemocí – podíl genetiky

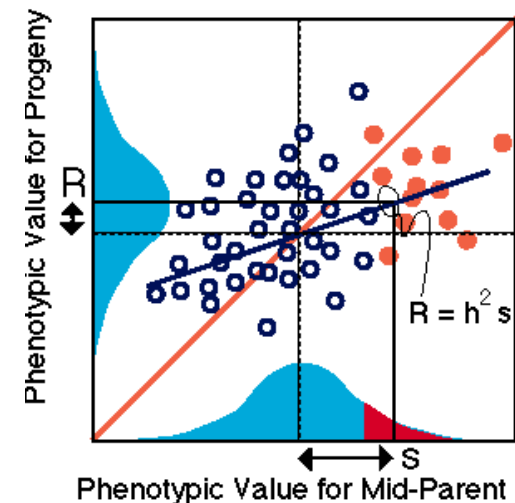
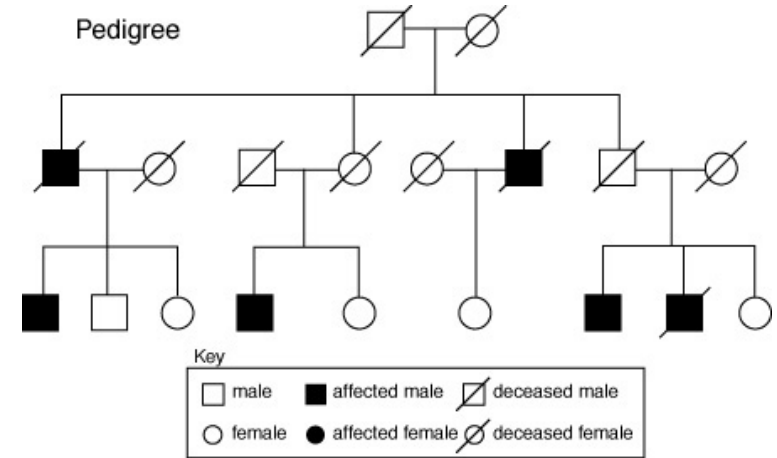
- endogenní = **vnitřní faktory**
 - vrozené (kongenitální)
 - genetické
 - hereditární (monogenní vs. polygenní dědičnost)
 - » determinace vs. predispozice
 - ne-hereditární (např. aneuploidie)
 - malformace v důsledku prenatální expozice virům a toxinům
 - fetální programování
 - získané
 - v důsledku komorbidit (např. změny metabolické, imunitní, cirkulační apod.)
 - interindividuální variabilita
- exogenní = **zevní faktory**
 - fyzikální
 - mechanické, termické, ionizující záření, elektrika, ...
 - chemické
 - xenobiotika vč. léků (vedlejší a nežádoucí účinky)
 - toxiny a jedy
 - environmentální kontaminanty
 - potravní řetězec
 - kouření a znečištění ovzduší
 - nadbytečný nebo nedostatečný nutriční příjem
 - biologické
 - infekce (bakterie, viry, kvasinky, parazité, ...)
 - toxiny
 - priony
 - psychologické a sociální
 - mentální trauma
 - stres

- **naprostá většina chorob má multifaktoriální původ**
- **u většiny je také jistá (větší či menší) účast genetiky**



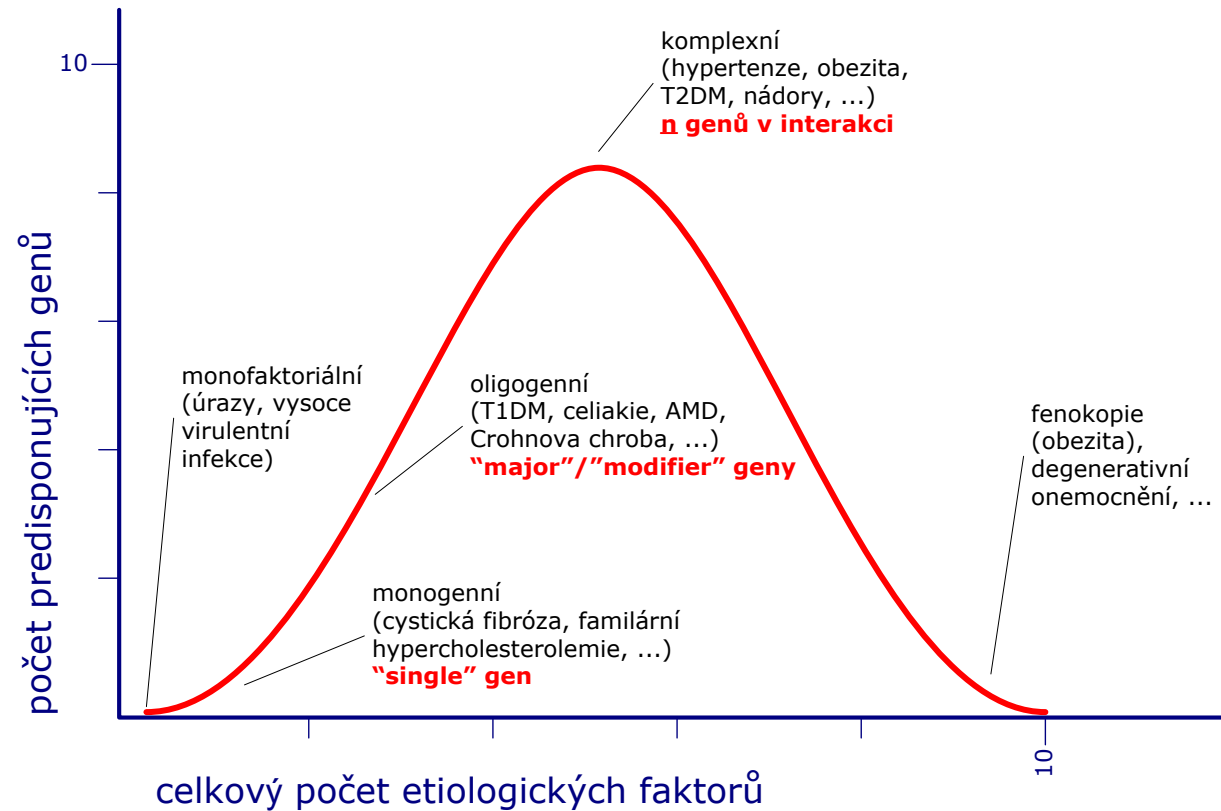
Z čeho lze poznat, že na vzniku určité nemoci (IM fenotypu) se podílí genetické faktory?

- binární fenotyp (ano/ne)
 - familiární agregace
 - prevalence v rodinách postižených probandů > prevalence v celk. populaci
 - segreganční analýza
 - nalezení modelu dědičnosti daného fenotypu rodinách (tj. recesivní nebo dominantní)
 - pouze pro “major” geny
- spojitý fenotyp (jak moc)
 - intra-family correlation coefficient
 - proporce celk. variability ve fenotypu způsobená variabilitou mezi rodinami
 - heritabilita
 - procento variability fenotypu v důsledku variability genotypu (studie na dvojčatech)

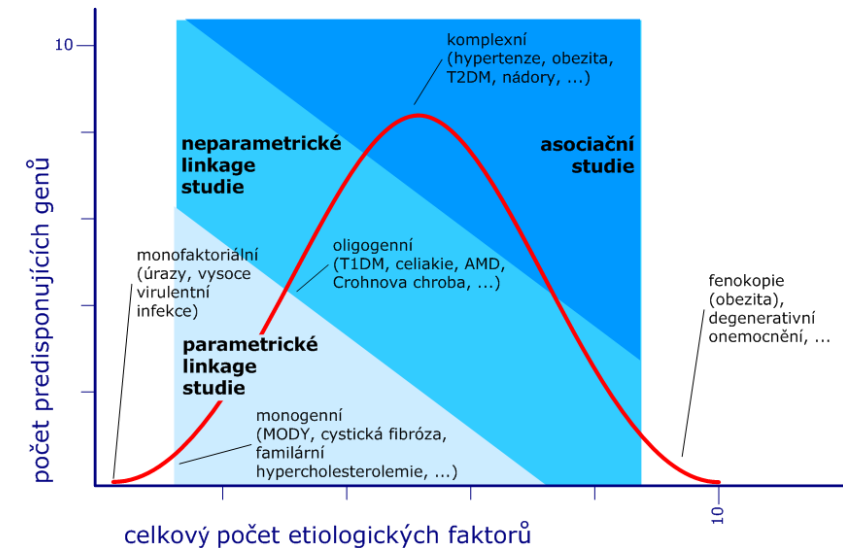
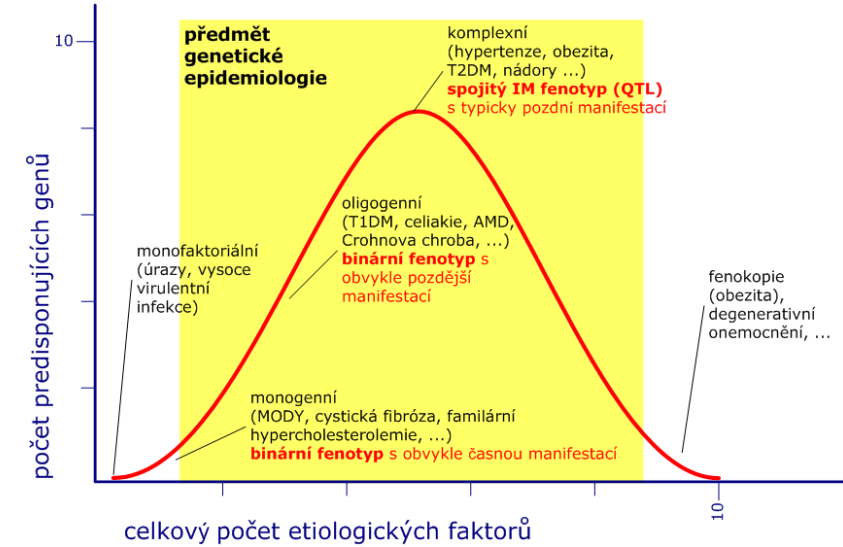
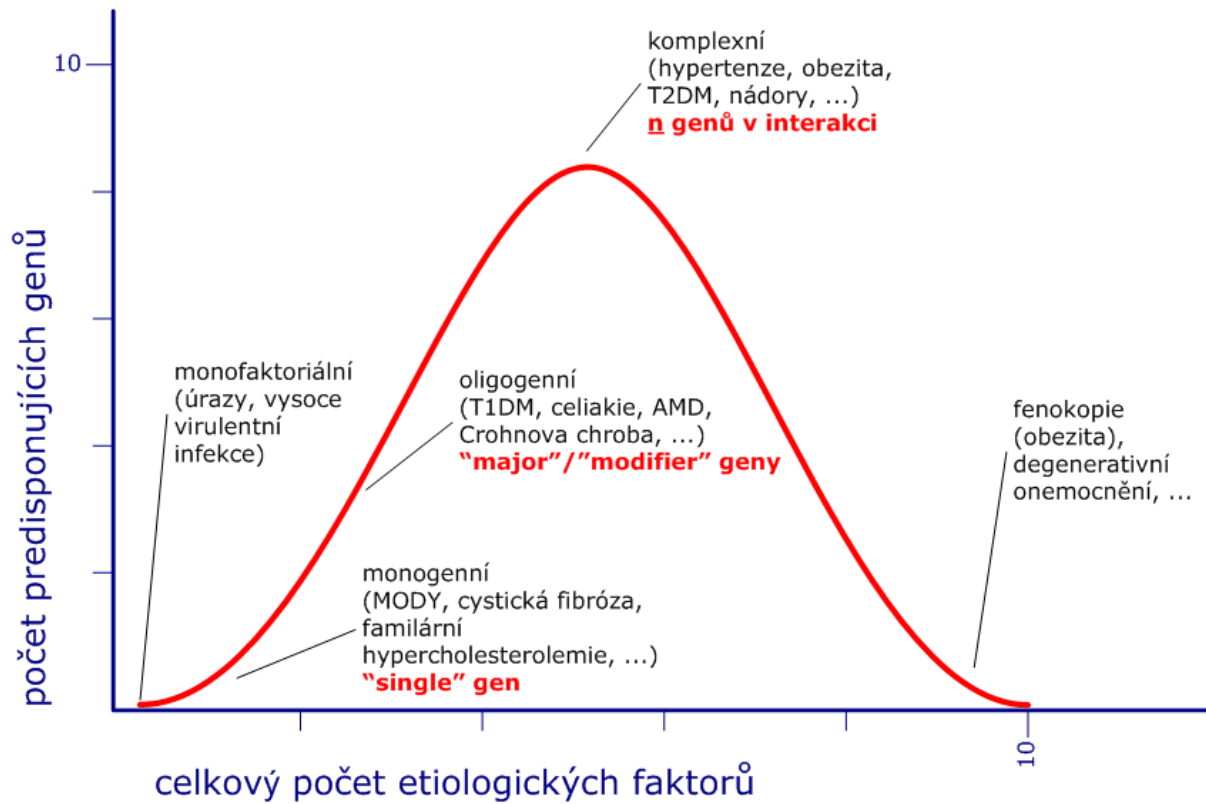


Míra vlivu jednotlivých faktorů

- nemoci z jedné velké příčiny (monofaktoriální) – „alternativní model nemoci“
 - jeden faktor je dostatečně potentní k tomu vyvolat sám o sobě nemoc
 - prostředí a životní styl hrají obecně malou či zanedbatelnou roli
 - příklady
- multifaktoriální (= komplexní) nemoci – „nemoc jako plynulá funkce znaku“
 - jsou výsledkem spolupůsobení vícero faktorů jak vnitřních tak vnějších
 - tzv. “civilizační nemoci”
 - příklady
 - obezita
 - diabetes
 - ateroskleróza
 - alergie
 - nádory

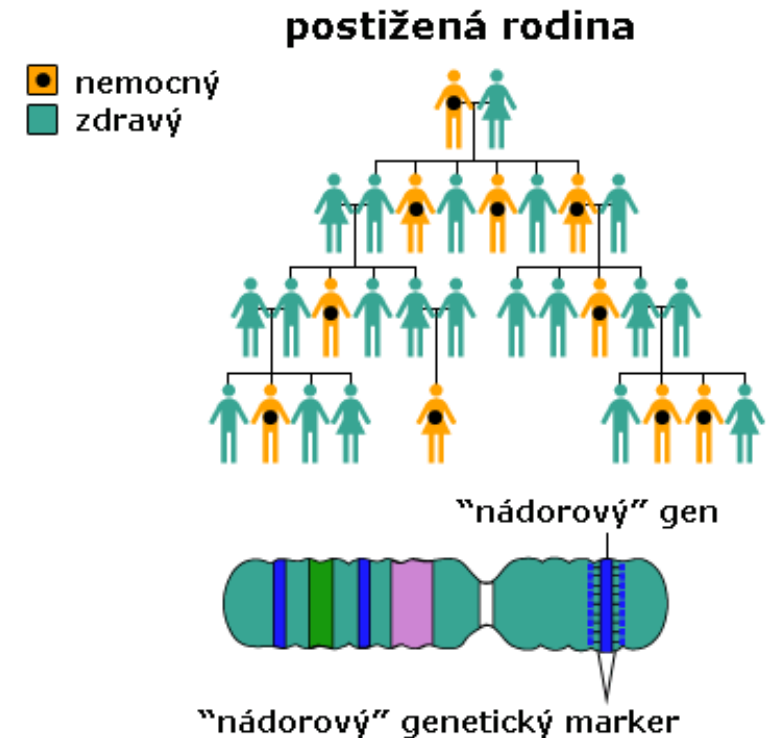


Nemoci podle počtu etiologických faktorů a genetické podmíněnosti



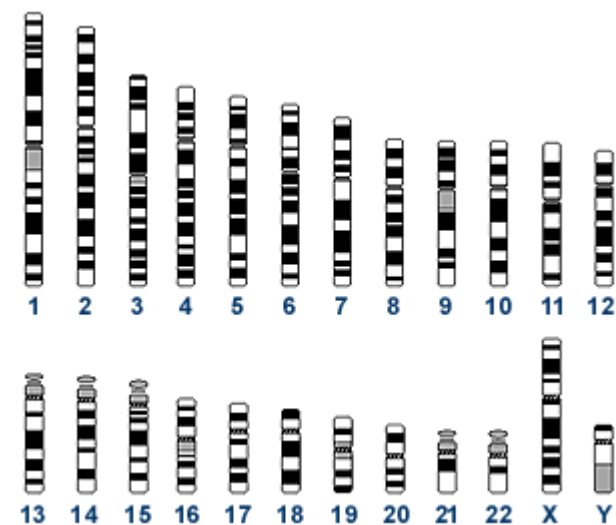
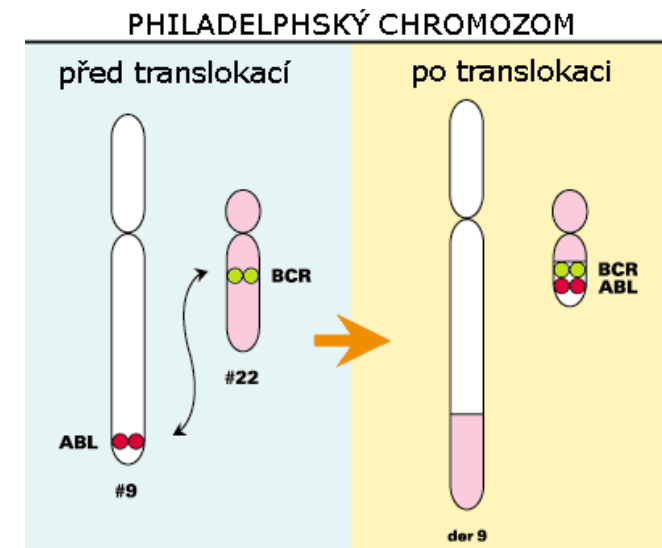
Lékařská genetika

- obor zabývající se převážně monogenními, vrozenými nemocemi
 - mendelistická dědičnost
 - autozomální
 - recesivní
 - dominantní
 - kodominantní
 - gonozomální
 - tzv. geny velkého účinku
 - 1 gen = 1 nemoc
 - ale např. CF >500 mutací, LDL receptor >700 mutací
- náplň oboru:
 - patogeneze
 - diagnostika a predikce
 - poradenství
 - screening



Diag. využití mol. patologie skrz obory

- Onkologie
 - detekce zbytkové choroby po chemoterapii (MRD) a relapsu
 - zpřesnění klasifikace tumorů
 - chromosomální translokace (RT-PCR detekce bcr-abl mRNA, t(9;22)
 - mutace onkogenů, supresorových a reparačních genů
 - mozaicismus po allogenní BMT
- Hematologie
 - koagulopatie (poruchy kr. srážení)
 - hemofilie, von Willebrandova choroba, ...
 - familiární trombofilie
 - Factor V Leiden, protrombin 20210A, C677T MTHFR,
 - anemie/přetížení železem
 - hereditární hemochromatóza
- Mikrobiologie
 - detekce virů
 - EBV, CMV, HIV, HVB, C,
 - detekce bakteriálních patogenů
 - Helicobacter pylori, Mycoplasma tuberculosis, ...
- Metabolismus, diabetologie a kardiologie
 - identifikace rizikových markerů nemocí
 - I/D ACE, HLA DB, DQ, MTHFR, apo(a), apoB, LDL receptor, ...
 - identifikace genet. faktorů ovlivňujících efekty faktorů prostředí a diety (= nutrigenetika)
 - MTHFR,
 - identifikace genet. faktorů ovlivňujících efekt léčby (= farmakogenetika)
 - cytochrom P450 (CYP2D6,
- Forezní patologie
 - DNA fingerprinting
 - DNA profiling
 - paternita



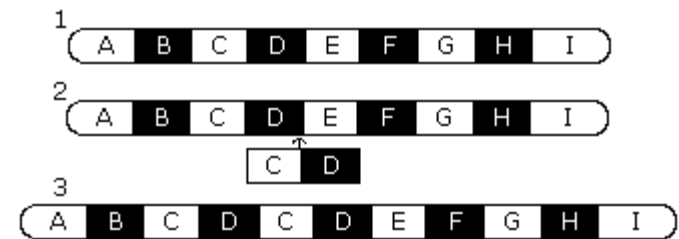
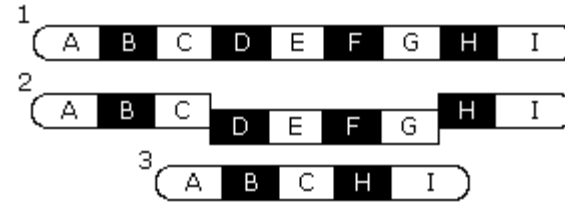


FENOTYPOVÝ PROJEV JAKO DŮSLEDEK MUTACE/POLYMORFIZMU

Klasifikace mutací

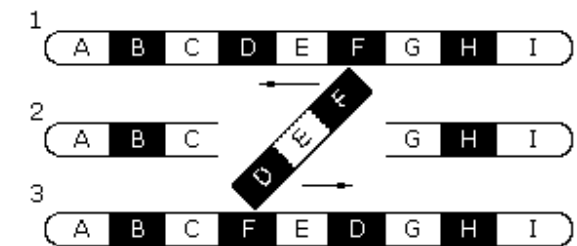
- (A) strukturní = podle mechanismu vzniku

- délkové
 - delece (1bp – MB)
 - inserce + duplikace
 - inverze
 - translokace
- bodové mutace (SNP)
 - silent (žádný efekt)
 - missense (záměna AK)
 - nonsense (stop kodon)
 - splice site (exon/intron splicing site)



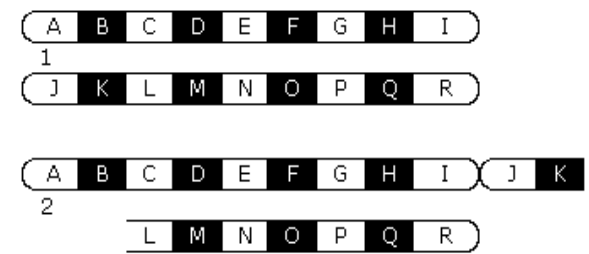
- (B) poziční = podle pozice v genu (lokalizace mutace vs. efekt)

- 5' UTR (tj. promotor genu)
 - kvantitativní efekt (např. různá intenzita transkripce)
- exony
 - kvalitativní efekt (např. různá sekundární a terciární struktura, aktivita, afinita, ...)
- introny
 - kvalitativní efekt (změna sestřihového místa)
 - kvantitativní efekt ? (vazba represorů nebo enhancerů)
- 3' UTR
 - efekt na stabilitu mRNA



- (C) funkční

- ztráta funkce (**loss-of-function**)
 - produkt genu je v důsledku mutace nefunkční či je jeho funkce nedostatečná
- získání nové funkce (**gain-of-function**)
 - produkt genu má v důsledku mutace abnormální funkci
- **gene dosage effect**
 - odstupňovaný efekt podle množství produktu

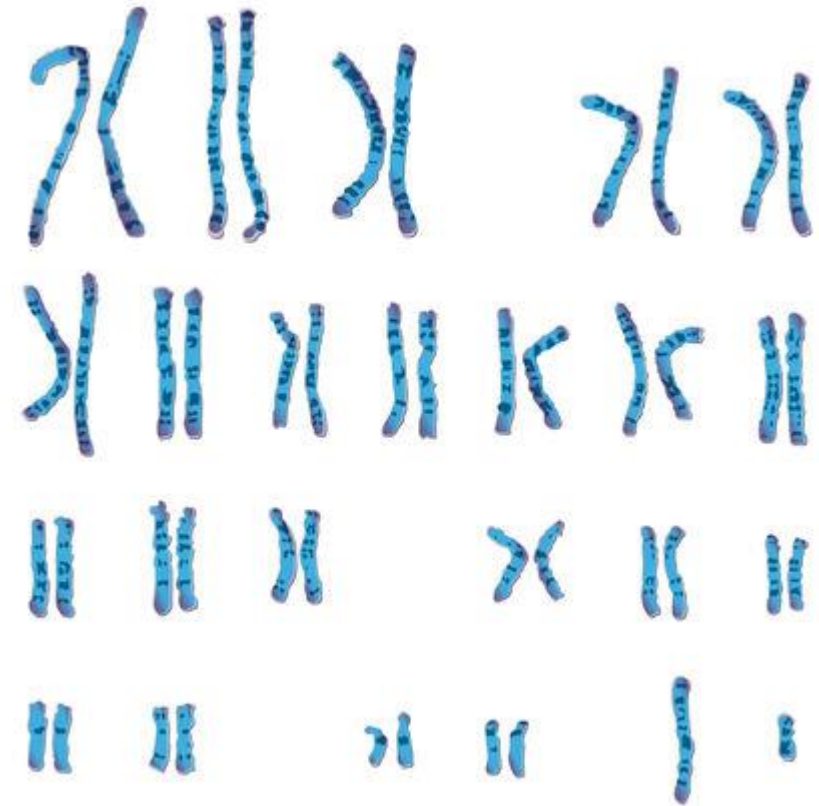


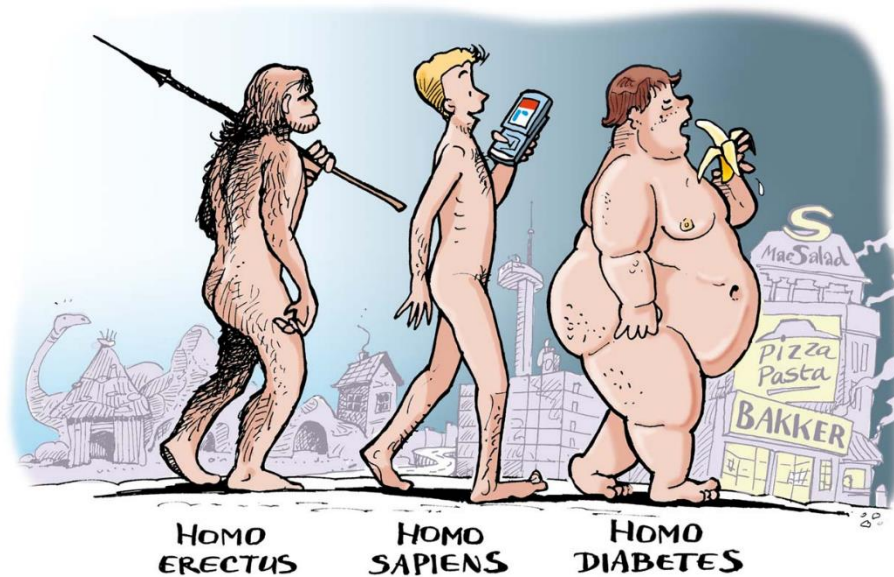
Funkční klasifikace mutací

- (1) “loss-of-function” mutace - recesivní fenotyp
 - 50% množství produktu stačí
 - většina vrozených chorob metabolismu
 - nemocní/přenašeči
- celá řada DNA změn může vést k loss-of-function efektu
 - delece celého genu nebo části genu
 - porušení struktury bodovou mutací (missense resp. non-synonymní mutace)
 - translokace, inverze nebo inserce do genu
 - porucha transkripce
 - promotorová mutace snižující mRNA
 - pokles stability mRNA
 - frameshift mutace
 - inaktivace místa sestřihu nebo vytvoření alternativního místa sestřihu nebo nonsense mutace
 - porucha posttranslační modifikace
 - porucha celulární lokalizace
 - porucha parenterálního imprintingu a metylace
- (2) “gain-of-function” mutace - dominantní fenotyp
 - změna DNA, která vede k vytvoření nějaké nové kvality
 - typicky během maligní transformace (mutace onkogenů vs. supresorů)
 - dominantně negativní
 - nejen ztráta funkce produktu jedné alely, ale navíc blokáda funkce produktu normální alely
- mechanismy vzniku “gain-of-function” efektu
 - změna afinity k substrátu, popř. vazba jiného substrátu
 - overexprese genu
 - receptor není degradován, trvale obsazen
 - iontový kanál neustále otevřen
 - expanze trinukleotidového repeatu (CAG)_n
 - strukturální abnormalita multimerických proteinů
 - vznik chimerického genu
 - neznámý

Funkční klasifikace mutací

- (3) “gene dosage” mutace
 - týká se většinou genů, jejichž produkty:
 - jsou součástí signálních nebo metabolických kaskád
 - soutěží s jinými během embryonálního vývoje a v metabolismu
 - fungují ve stochiometrickém poměru s jinými
- copy-number mutace
- na X-chromozom vázané nemoci
 - např. hemofilie
 - muži nemocní / ženy přenašečky (ale!!!)
 - inaktivace jednoho z páru X-chrom. vede k různě vyjádřenému onem. i žen
- chromozmální numerické aberace
 - polyploidie
 - triploidie (69 XXX, XXY, XYY) - cca 2% všech počtů, časný potrat
 - aneuploidie
 - gonozomální
 - XXX, XXY, XYY - normální očekávaná délka života, poruchy fertility
 - 45, X - 99% letální, jinak poruchy fertility a fyzické změny
 - autozomální
 - nulisomie (chybění páru chromozomů) - preimplantačně letální
 - monosomie (chybění 1 chromozomu) - embryonálně letální
 - trisomie (1 chromozom navíc) - až na výjimky většinou embryonálně či fetálně letální
 - » trisomie 13 (Patauův syndrom) - časně poporodní úmrtí
 - » trisomie 18 (Edwardův syndrom) - časně poporodní úmrtí
 - » trisomie 21 (Downův syndrom) – dožití cca 40 let





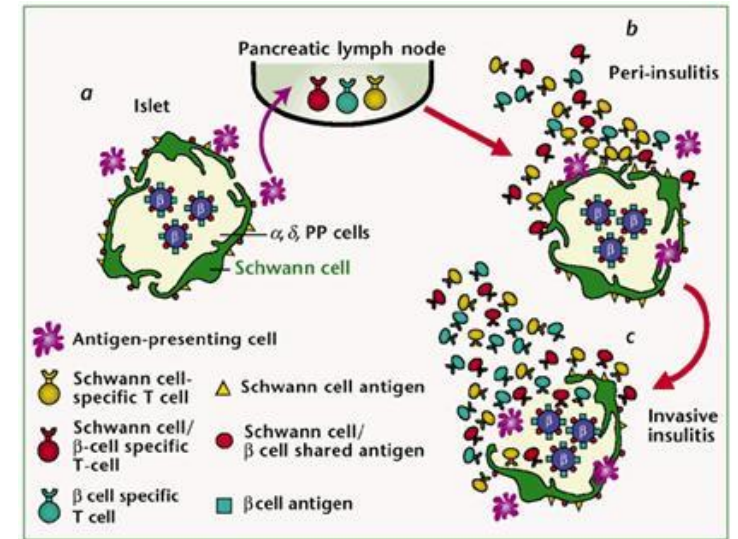
PŘÍKLADY VYUŽITÍ MOL. BIOLOGIE K POCHOPENÍ ETIOPATOGENEZE RŮZNÝCH TYPŮ DIABETU A JEJICH KOMPLIKACÍ

Příklady

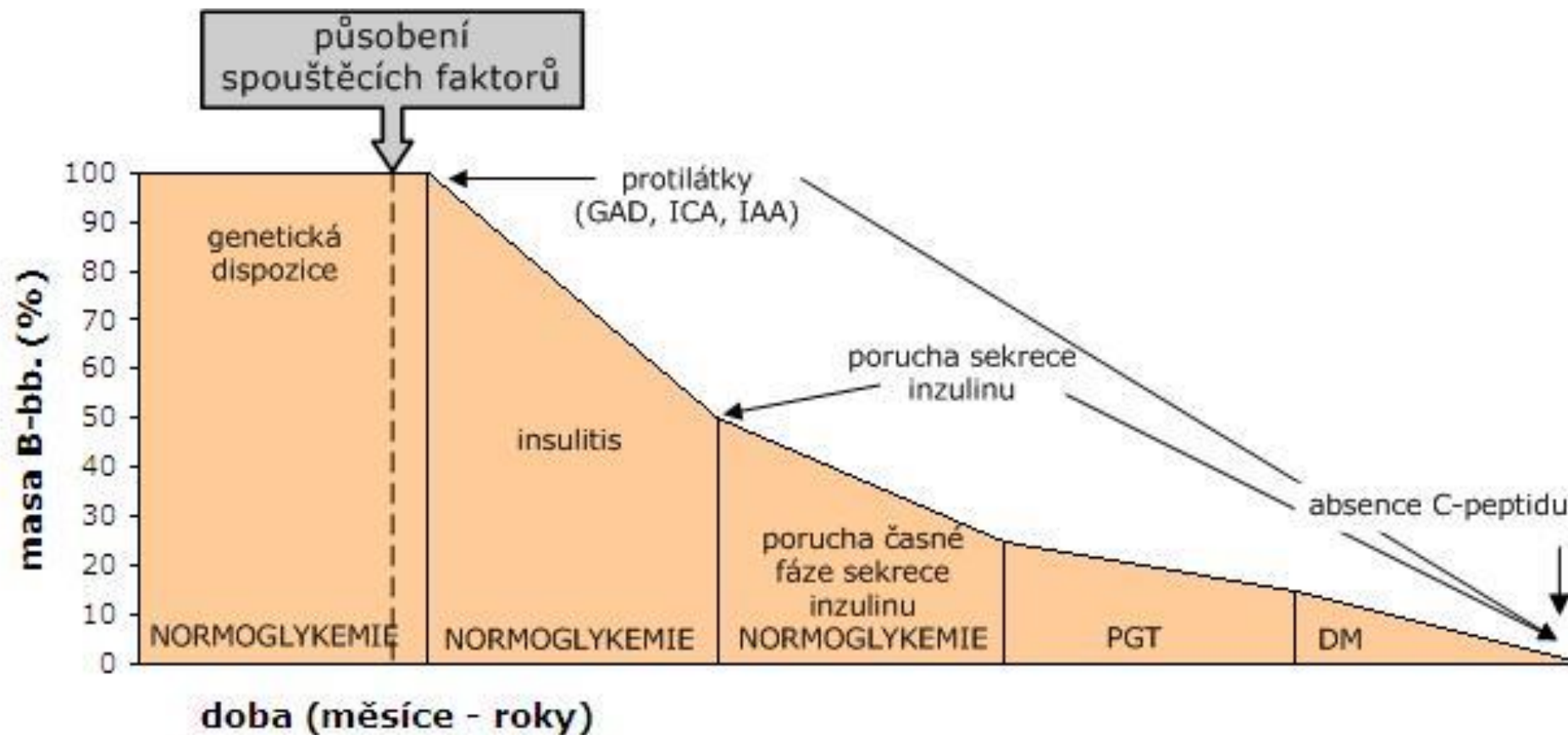
- (A) molekulární diagnostika diabetes mellitus
 - (příklad 1) typ 1 (T1DM) ~5%
 - (příklad 2) maturity-onset diabetes of the young (MODY) ~1%
 - (příklad 3) typ 2 (T2DM) ~90%
- (B) stratifikace pacientů a „precision medicine“
 - komplikace diabetu
 - (příklad 4) diab. nefropatie

(A) T1DM – příklad 1

- v důsledku autoimunitní destrukce β -bb. LO u geneticky disponovaných jedinců
 - 30 - 50% konkordance u MZT
 - 15% u DZT
- cytotoxická autoimunita (Th1) zprostředkovaná T-lymfocyty vede k postupné destrukci až úplnému chybění β -bb. a tím produkce inzulínu
- spouštěcí faktory autoimunity – časová a geografická variabilita!!!
 - virová infekce
 - zarděnky, spalničky, coxsackie B, CMV, EBV, enteroviry, retroviry)
 - zevní faktory
 - proteiny kravského mléka - příliš brzy!
 - nedostatek vitamínu D (severojižní gradient)
 - sev. Evropa >>> prevalenci než jižní – slunce??
 - toxiny (dieta, voda, bakterie)
- dynamika
 - manifestace obvykle v dětství, ve většině případů autoimunita dokončena, absolutní závislost na exogenním inzulínu

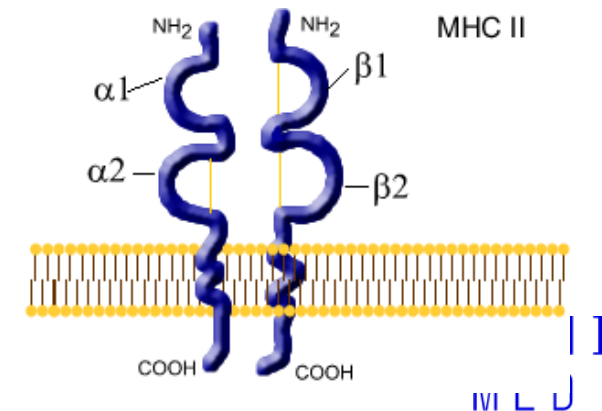
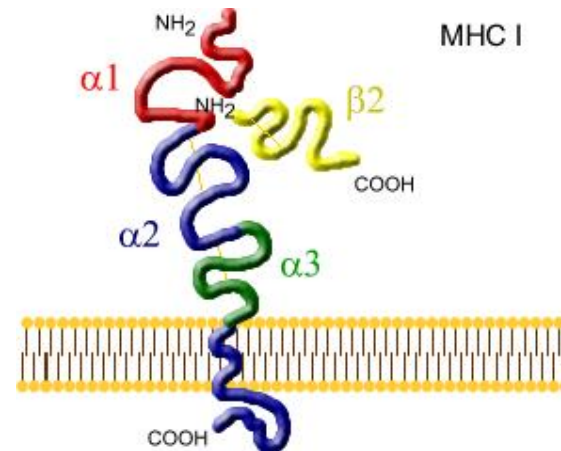
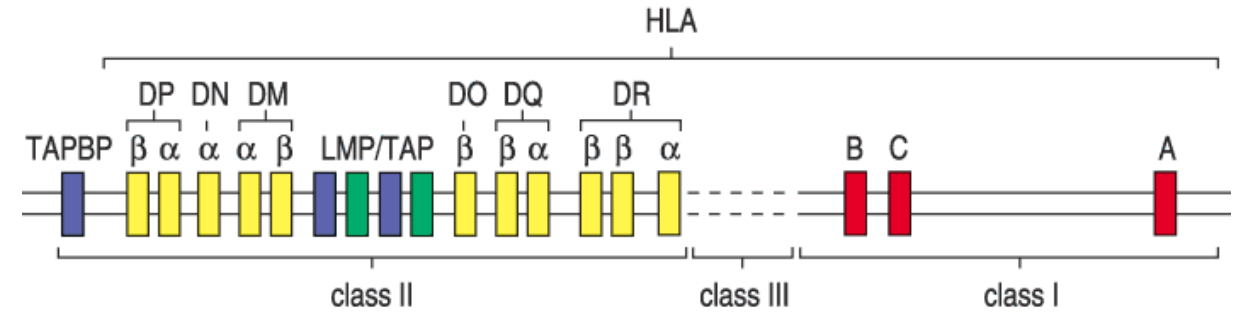


Etiopatogeneze T1DM

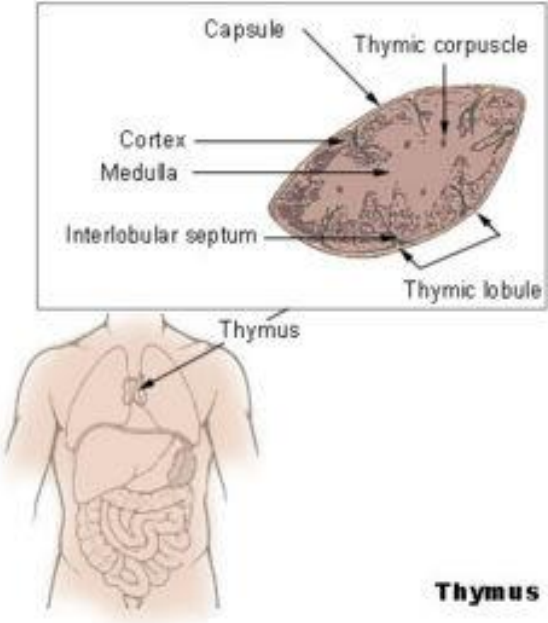
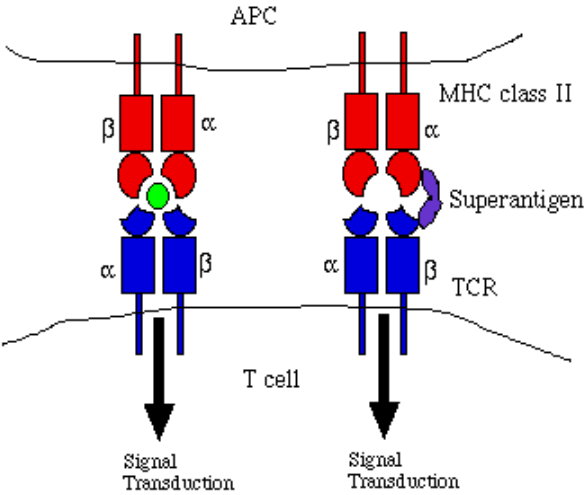


Genetika T1DM

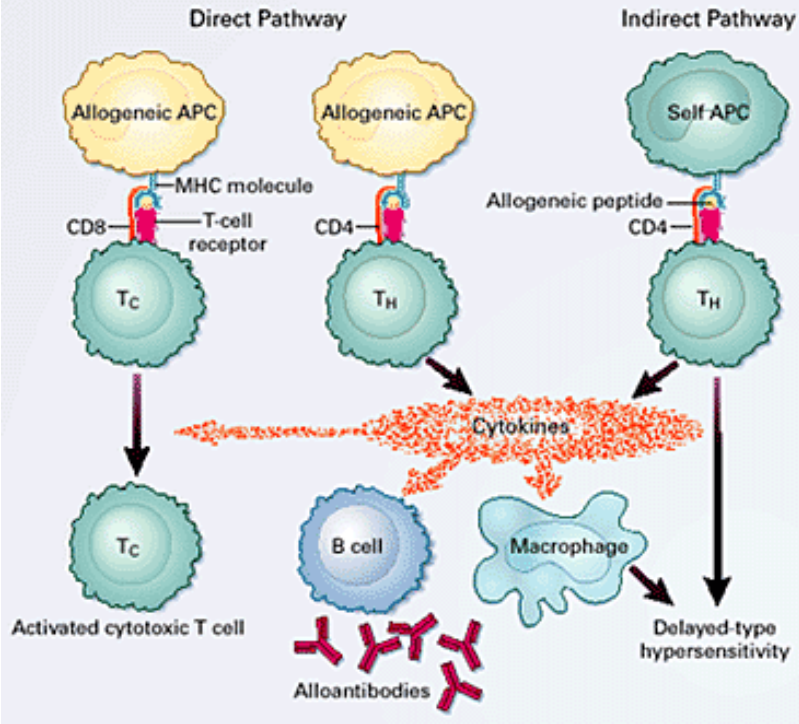
- IDDM1 (HLA II lokus, 6p21)
 - asociace je výsledkem mnohočetných vazebných studií
 - hlavní rizikové determinanty (alely) u bělochů jsou DRB1 a DQB1 geny
 - DRB1*04_DQ8
 - DRB1*03_DQ2
 - cca 10% je non DRB1*04/DRB1*03
 - jiné HLA II haplotypy
 - DQ6 antigen (DQA1*0102 a DQB1*0602) má silný protektivní efekt
 - nejsilnější riziko nese genotyp DRB1*04_DQ8/ DRB1*03_DQ2
 - heterozygotnost pro jednu z výše uvedených alel v kombinaci s jinými představuje menší riziko
 - jakýkoliv genotyp obsahující DQ6 má dominantně protektivní efekt
- **molekulární podstata asociace**
 - rizikové a protektivní varianty HLA II mění 3-D strukturu povrchového antigenu (← krystalografie)
 - antigen-binding cleft
 - rozdíly v selektivitě prezentovaných peptidů (APC) a stabilitě komplexů antigen/molekula HLA II
 - protektivní molekuly mají stabilnější vazbu antigenu
 - hypotézy
 - nedostatečná delece autoreaktivních T-lymfocytů v thymu
 - rozdílná vazba na TCR a tím rozdílná imunomodulace T-lymf. (proliferující × regulační)



HLA II molekuly – prezentace antigenů - imunotolerance

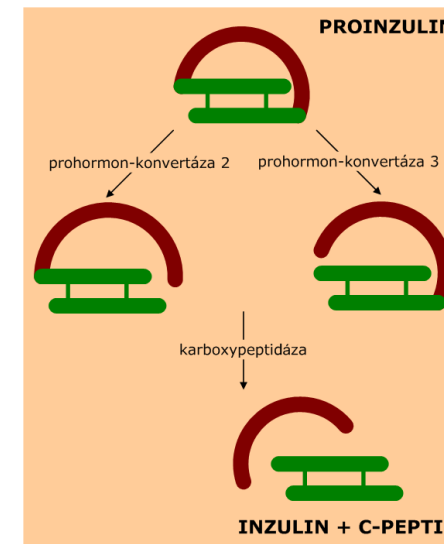
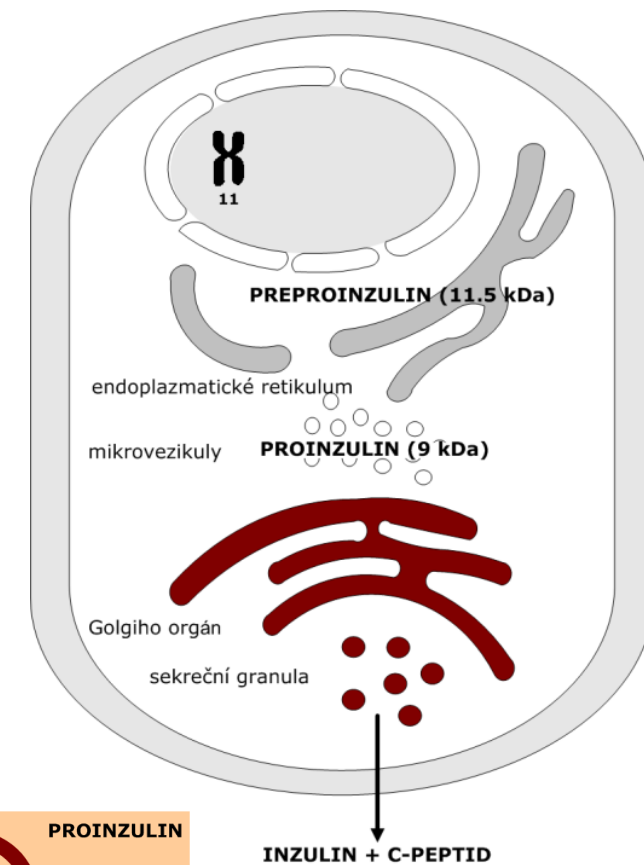


Thymus



Genetika T1DM

- IDDM2 (INS lokus, 11p15)
 - asociace je výsledkem vazebných studií
 - minisatelit (VNTR) v 5'UTR
 - repetice 14-15bp:
 - alela 1 (26 – 63 repetice) - riziková
 - alela 2 (64 – 139 repetice)
 - alela 3 (140 – 210 repetice) – protekční (AD)
 - asociace není tak jednoznačná jako u HLA II
 - náznaky paternální transmise (maternální imprinting)
- molekulární podstata asociace
 - inzulin jako autoantigen
 - riziková varianta vede k nižší expresi genu a tím navození menší imunotolerance???

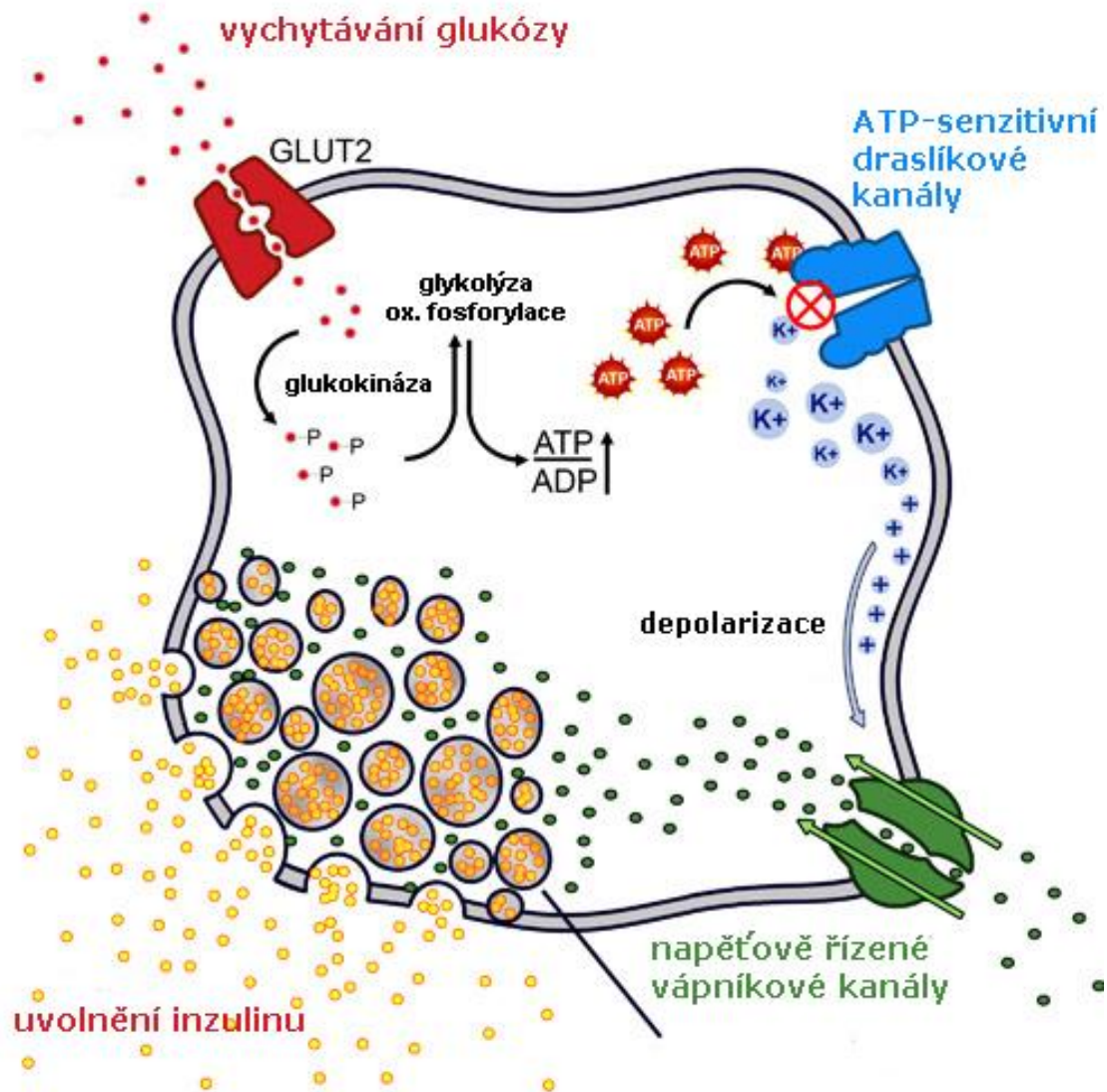


(A) MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) – příklad 2

- cca 1% všech diabetiků v populaci
 - skupina monogenních diabetů s familiárním výskytem a dobře definovaným mendelistickým způsobem dědičnosti (zpravidla AD), časnou manifestací (dětství, adolescenci či časná dospělost) a bez vztahu k obezitě
 - cca 6 typů (MODY1 - 6)
 - patofyziologie: geneticky podmíněná dysfunkce β -buněk ale dlouhodobě měřitelný C-peptid bez známek autoimunity
 - dvě podskupiny
 - MODY v důsledku mutací v glukokináze (MODY2)
 - lehčí forma bez výrazného rizika pozdních komplikací
 - MODY v důsledku mutací v transkripčních faktorech (ostatních 5 typů)
 - těžké defekty β -buněk progresivně vedoucí k diabetu se závažnými pozdními následky
 - postižena glukózou stimulovaná tvorba a uvolnění inzulínu a proliferace a diferenciací β -buněk

MODY	lokus	gen	produkt	prim. defekt	závaž
		<i>HNF4A</i>	hepatocyte nuclear factor-4 α	pankreas	vysoká	časté
		<i>GCK</i>	glukokináza	pancreas/játra	mírná	vzácně
		<i>TCF1 (HNF1A)</i>	hepatocyte nuclear factor-1 α	pancreas/ledviny	vysoká	časté
		<i>IPF1</i>	insulin promoter factor-1	pancreas	vysoká	?
5	17q	<i>TCF2 (HNF4B)</i>	hepatocyte nuclear factor-1 β	pancreas/ledviny	vysoká	renální
6	2q32	<i>NEUROD1</i>	NEUROD1	pankreas	vysoká	?

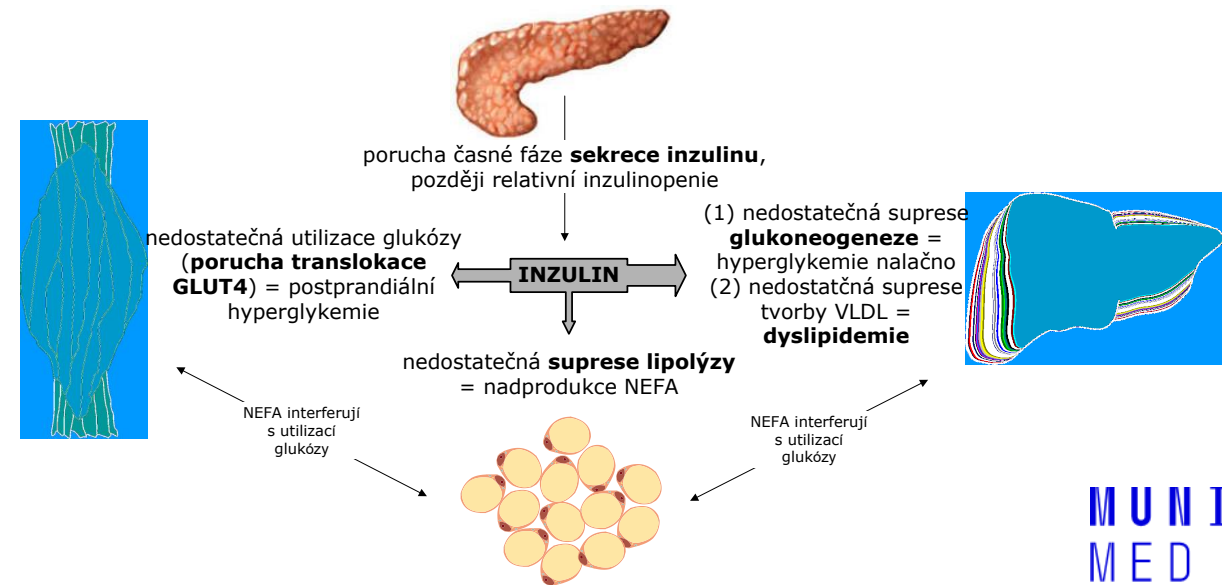
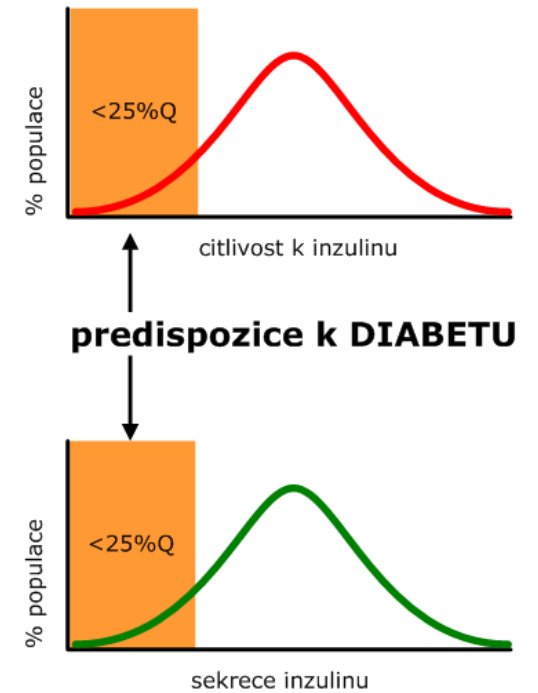
Funkční význam asociací



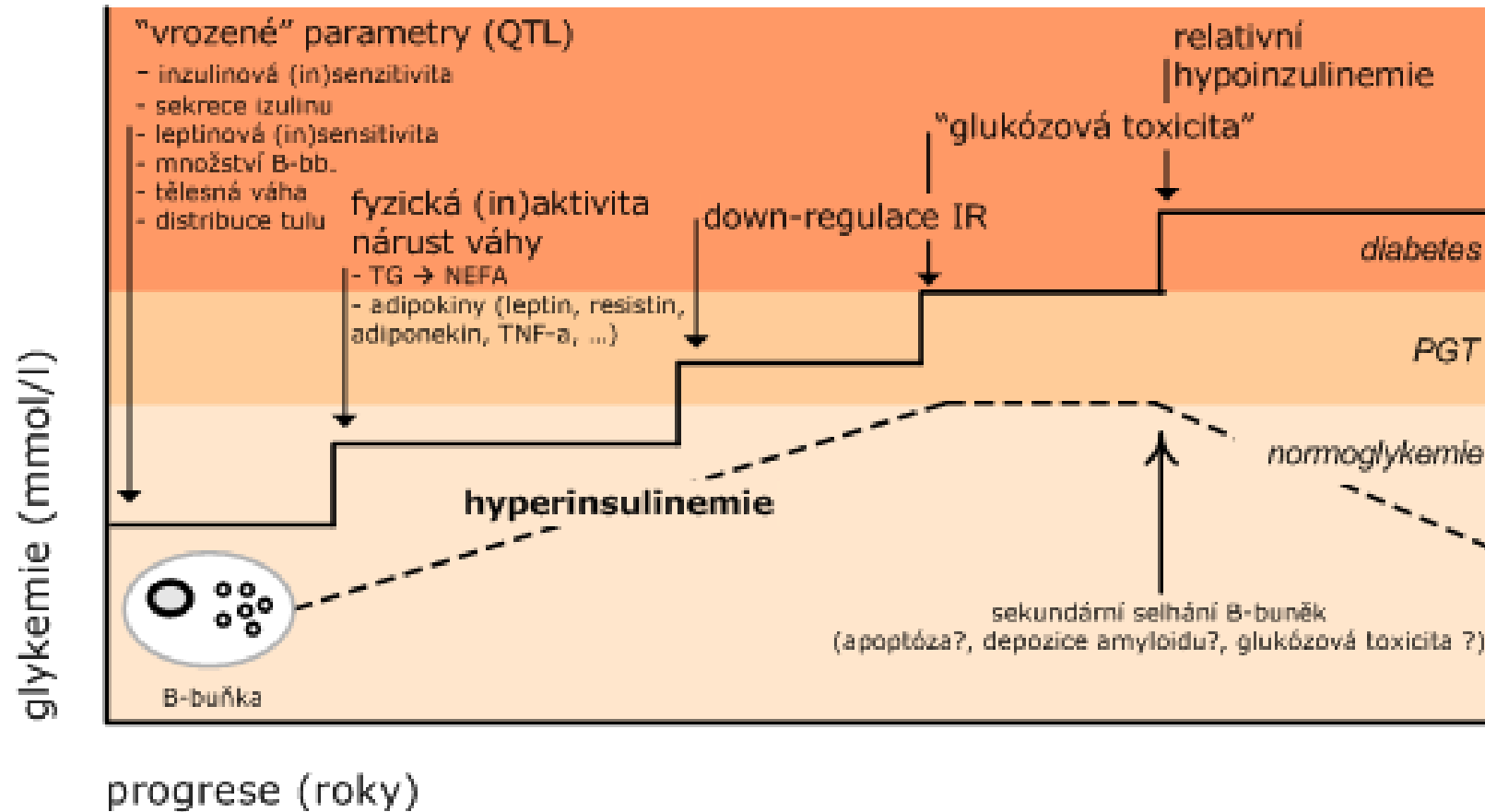
- glukokináza
 - “glukózový senzor” (vázne uvolňování a produkce inzulínu)
- HNF
 - většina transkripčních faktorů původně popsaných ve spojení s jaterním metabolismem je rovněž zapojena ve vývoji pankreatu a B-bb.
- IPF1 a NEUROD1
 - ovlivňují transkripci inzulínu

(A) T2DM – příklad 3

- patofyziologicky nerovnováha mezi sekrecí a účinkem inzulínu
 - při manifestním T2DM je současně přítomná inzulínová rezistence a porucha sekrece inzulínu
 - ale co je “slepice” a co “vejce” ????
 - inz. rezistence – primární + sekundární při obezitě
 - kompetice glukózy a NEFA v citrátovém cyklu zejm. ve svalu!!!
 - inz. sekrece – redukce B-bb. o 20-40% ale 80% redukce uvolňování inzulínu!!!
- komplexní choroba se vším všudy
- u ~90% pacientů nadváha/obezita – **metabolický syndrom**



Dynamika T2DM



Genetika T2DM

- problém definice fenotypu
 - (1) final disease-endpoint (dg. kritéria DM na základě hyperglykemie)
 - (2) intermediární fenotypy
 - inzulínová senzitivita/rezistence
 - sekrece inzulínu
 - množství/ztráty B-bb.
- problém metodologie
 - **vazebné analýzy** – příliš se nehodí (díky pozdní manifestaci většinou nedostatečný počet generací)
 - **asociační studie** (většinou “under-powered” při malých velikostech souborů – jen tisíce!)
 - s kandidátní hypotézou
 - bez (genome-wide association study)
- reprodukovatelné LOD/asociace (min. 3 populace nebo meta-analýzy)
 - **stovky asociačních studií – replikované – 4 geny**
 - PPAR γ - receptor/transkripční faktor (i T1DM !)
 - KCNJ11(Kir6.2) - receptor – glukózový senzor β buněk
 - HNF1B - transkripční faktor β buněk
 - WFS1 – Ca kanál ER - inzulínová sekrece/UPR v β buňkách
 - **> 30 vazebných studií – replikované - 2 geny**
 - CAPN10 - nelysozom. neutr. Ca-dep. cystein. proteáza – inzulínová sekrece
 - TCF7L2 - transkripční faktor β buněk (OR 1.56) celogenomové studie (GWAS) – doposud cca 38 genů
 - typicky OR 1.1 - 1.2, vysvětlují max. 5 - 10% genetické predispozice - missing heritability ???
 - » copy-number variations (CNV-aware chips)
 - » vzácné varianty – whole genome sequencing
 - **GWAS asociace**

• TCF7L2	2 SNP	transkripční faktor
• PPAR γ	Pro12Ala	receptor/transkripční faktor
• KCNJ11(Kir6.2)	Glu23Lys	receptor – glukózový senzor
• HNF1A	Ala98Val	transkripční faktor
• IRS-1	Gly972Arg	signální kaskáda ins. receptoru

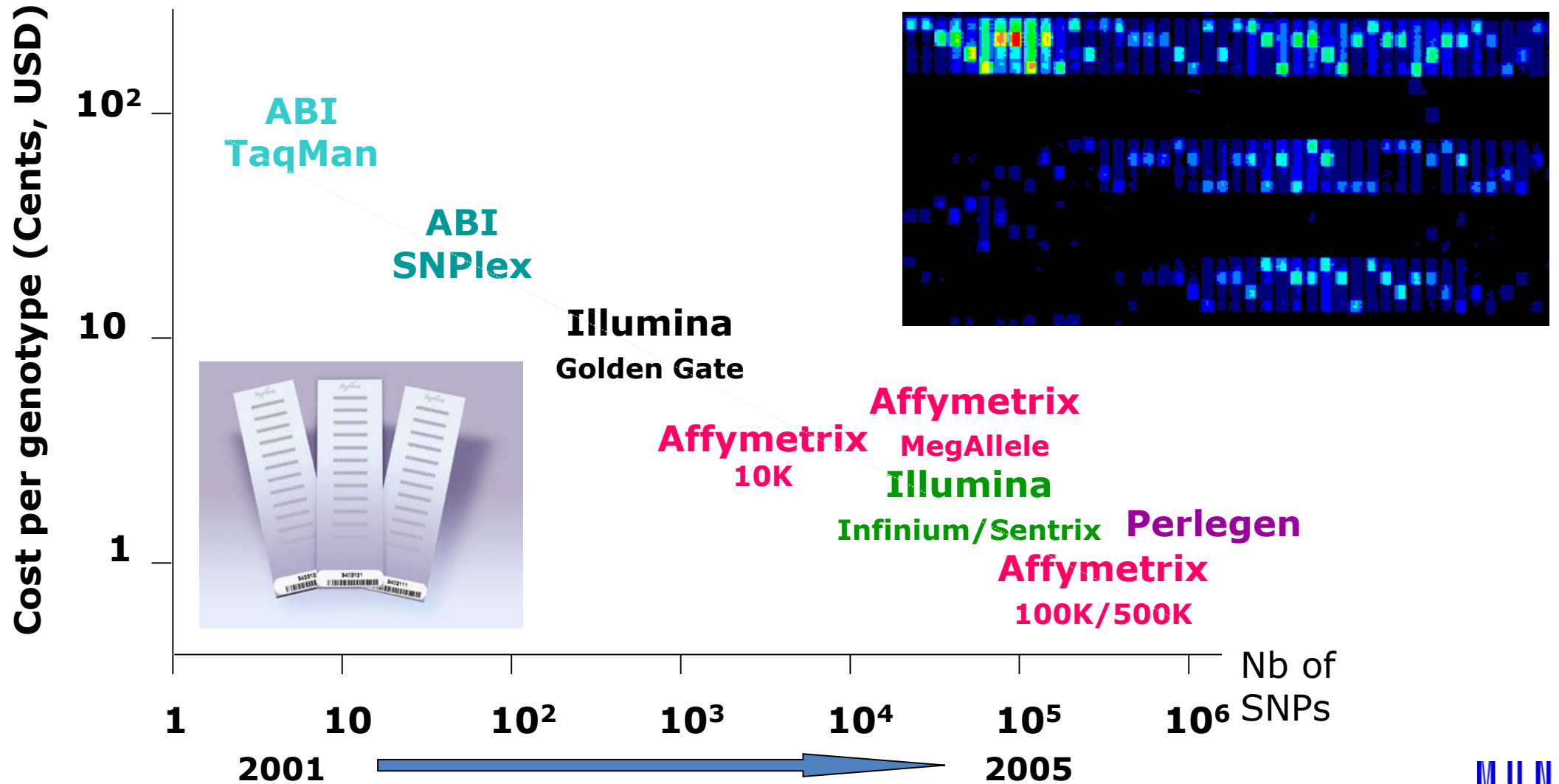
podle dosavadních poznatků se tedy zdá, že se dilema mezi prvotní poruchou sekrece inzulínu vs. inz. rezistencí přiklání k první možnosti, tedy ↓ **sekreci**

“Candidate-gene” strategie vs. GWAS

- “candidate-gene” AA
 - hypotéza o funkčnosti
 - SNP jako kauzální faktor
 - znalost patofyziologie je limitujícím faktorem
- “indirect” AA
 - předchozí indikace asociace na základě neparametrické linkage
 - změna v uvažování díky poznání LD a haplotypové struktury lidského genomu
 - SNP jako marker
- pokrok v designu GWAS díky HapMap
 - ~ do r. 2005
 - detekční metody pro všech ~10 mil. SNPs
 - shromáždit ~1000 případů a ~1000 kontrol
 - genotypizovat všechny DNA pro všechny SNPs
 - tedy ~20 miliard genotypů
 - s tehdejší cenou (~0.5 USD/genotyp = \$10 billion USD pro každou komplexní nemoc) = naprosto nemyslitelné
 - od ~2007
 - detekce setu ~300,000 “tagging SNPs”
 - shromáždit ~1000 případů a ~1000 kontrol
 - genotypovat všechny DNA pro všechny SNPs
 - tedy ~600 milionů genotypů
 - s dnešní cenou (~0.001 USD/genotyp = \$800,000 USD pro každou komplexní nemoc) = naprosto reálné

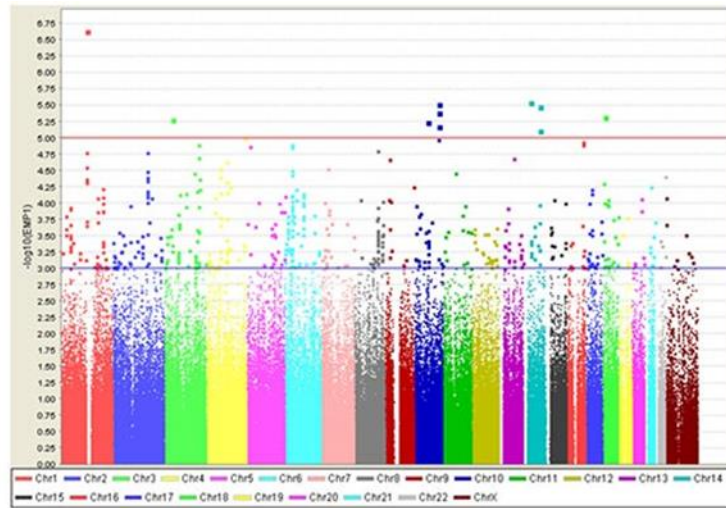


Pokroky v metodologii genotypizace



[S. Chanock, NCI]

GWAS pro T2DM



472

J.R. Peirie et al./Biochemical Pharmacology 81 (2011) 471–477

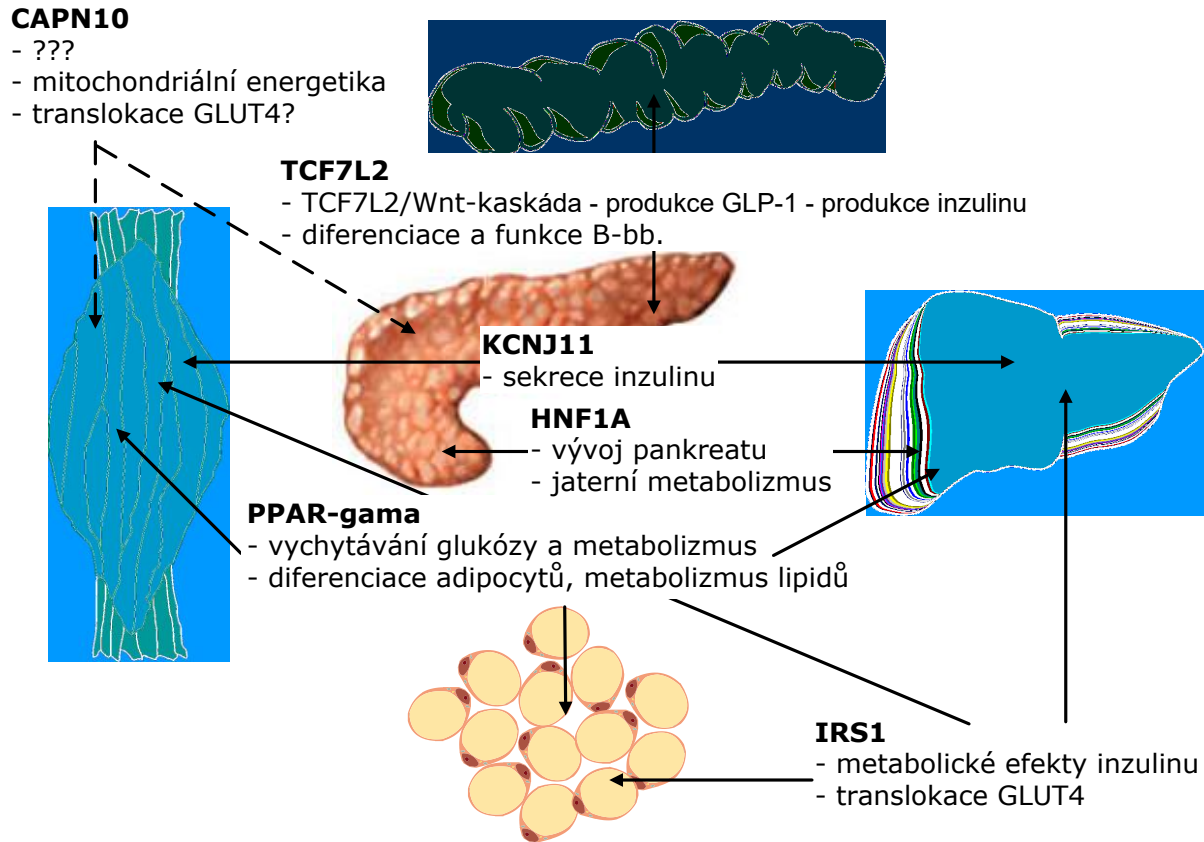
Table 1
38 validated type 2 diabetes associated variants and impact on glucose-insulin homeostasis.

Chromosome	SNP	Nearest gene	Description	Reduced beta cell function	Reduced insulin action
1	rs10923931	NOTCH2	Notch Homolog 2		
1	rs340874	PROX1	Prospero homeobox 1		
2	rs780094	GCKR	Glucokinase (hexokinase 4) regulator		Yes
2	rs11899863	THADA	Thyroid adenoma associated	Yes	
2	rs243021	BCL11A	B-cell CLL/lymphoma 11A (zinc finger protein)		Yes
2	rs7578426	IRS1	Insulin receptor substrate 1		Yes
3	rs13081389	PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma		Yes
3	rs6795735	ADAMTS9	ADAM metallopeptidase with thrombospondin type 1 motif 9	Yes	
3	rs11708067	ADCY5	Adenylate cyclase 5	Yes	
3	rs1470579	IGFBP2	Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2	Yes	
4	rs1801214	WFS1	Wolfram syndrome 1 (wolframin)	Yes	
5	rs4457053	ZBED3	Zinc finger, BED-type containing 3		
6	rs10440833	CDKAL1	CDK5 regulatory subunit associated protein 1-like 1	Yes	
7	rs2191349	DGKB-TMEM195	Diacylglycerol kinase, beta	Yes	
7	rs849134	JAZF1	JAZF zinc finger 1	Yes	
7	rs4607517	GCK	Glucokinase	Yes	
7	rs972283	KLF14	Kruppel-like factor 14		Yes
8	rs896854	TP53BP1	Tumor protein p53 inducible nuclear protein 1		
8	rs3802177	SLC30A8	Solute carrier family 30 (zinc transporter), member 8	Yes	
9	rs10865250	CDKN2A/B	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/B	Yes	
9	rs13292136	CHCHD9	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 9		
10	rs12779790	CAMK1D	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase ID	Yes	
10	rs5015480	HHEX/IDE	Hematopoietically expressed homeobox/insulin-degrading enzyme	Yes	
10	rs7903146	TCF7L2	Transcription factor 7-like 2	Yes	
11	rs2334499	Imprinted region			
11	rs231362/rs163184	KCNQ1	Potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1	Yes	
11	rs5215	KCNJ11	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 11	Yes	
11	rs1552224	CENTD2	Centaurin, delta 2	Yes	
11	rs1387153	MTNR1B	Melatonin receptor 1B	Yes	
12	rs1531343	HMGCA2	High mobility group AT-hook 2		Possible
12	rs4760790	TSPAN8	Tetraspanin 8	Yes	
12	rs7957197	HNF1A	Hepatic nuclear factor 1 alpha		
15	rs11634397	ZFAND6	Zinc finger, AN1-type domain 6		
15	rs8042680	PRCI	Protein regulator of cytokinesis 1		
16	rs11642841	FTO	Fat mass and obesity associated		Yes
17	rs4430796	HNF1B	Hepatic nuclear factor 1 beta	Yes	
19	rs10423928	GIPR	Gastric inhibitory polypeptide receptor	Yes	
X	rs5945326	DUSP9	Dual specificity phosphatase 9		Possible

SNP, single nucleotide polymorphism.

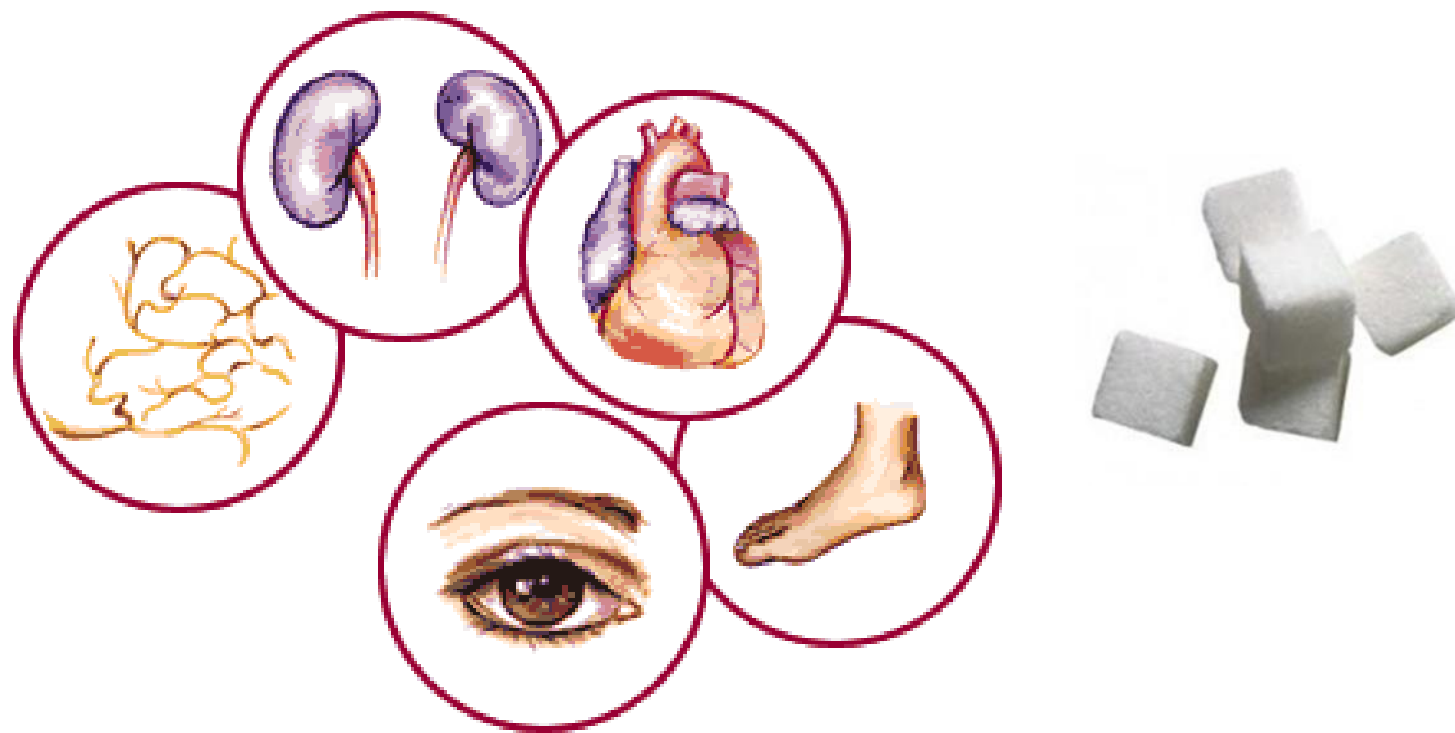
[reviewed in McCarthy M and Zeggini E. *Curr Diab Rep* 2009,
Steiger H et al. *Endocrine Rev* 2009]

Funkční význam T2DM asociací

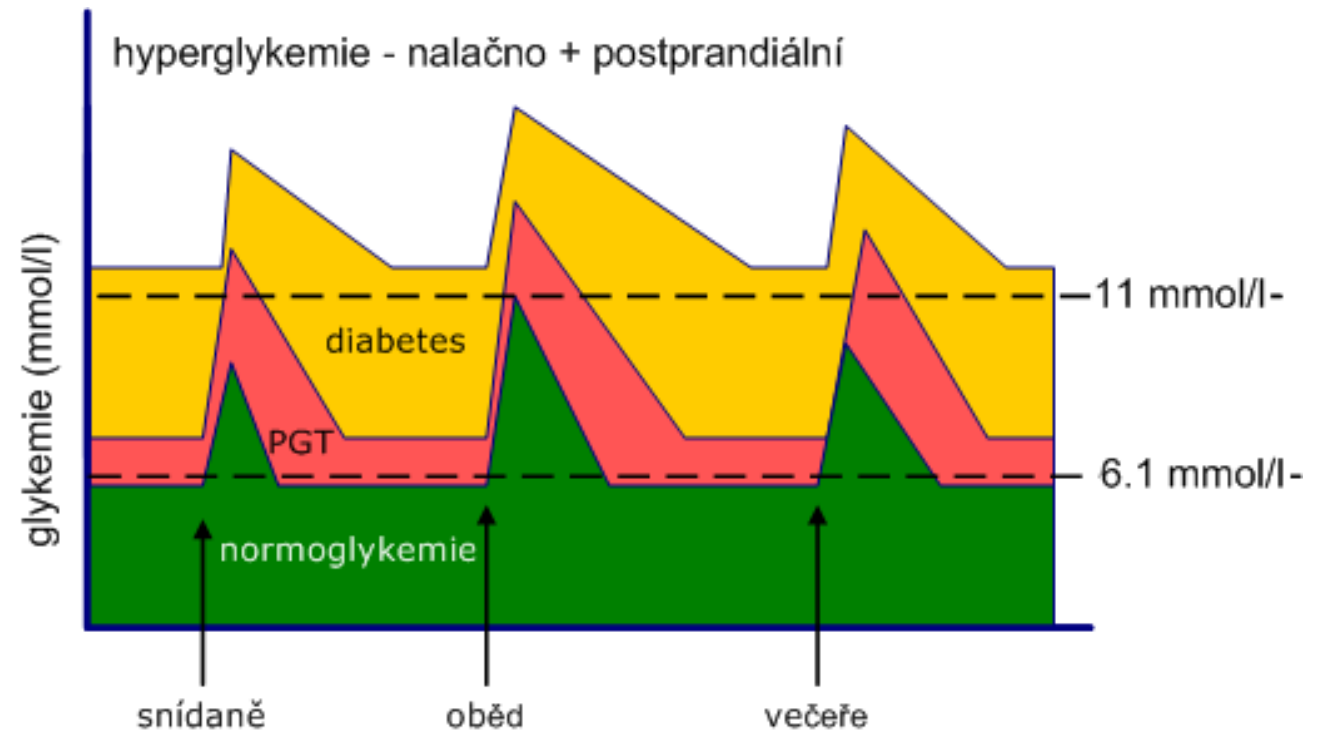


- hypotetický patomechanismus asociací
 - pouze 3 geny se týkají inzulínové rezistence - PPAR γ , IRS-1 a FTO (ale via BMI!)
 - všechny ostatní se týkají sekrece inzulínu
 - embryogeneze β buněk (transkripční faktory)
 - senzitivity k inkretinům (TCF7L2)
 - glukózového senzoru β buněk (KCNJ11)
 - proinsulin processing
 - exocytózy inzulínu (CAPN10)

(B) Diabetes – sladký (?) zabiják – příklad 5 (precision medicine)



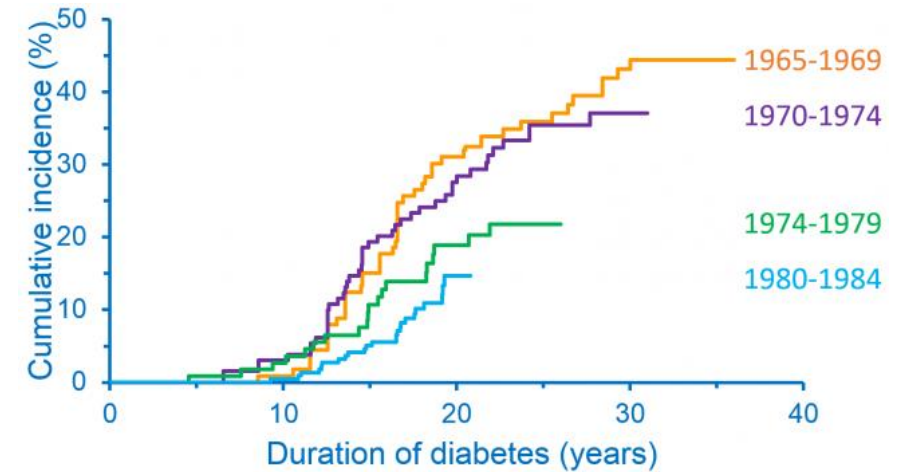
DM neškodí akutně ale chronicky - chronická hyperglykemie



Diabetická choroba ledvin (DKD)

- Postihuje $\sim \frac{1}{3} - \frac{1}{2}$ pacientů s T1DM či T2DM
- DN je charakterizována
 - postupně se zvyšující exkrecí albuminu (UAE) a neselektivního proteinu do moči
 - hypertenzí
 - postupným poklesem GFR
 - současnou přítomností retinopatie
- Etiopatogeneze
 - neovlivnitelná rizika:
 - věk, pohlaví, genetika
 - částečně ovlivnitelná rizika:
 - věk při nástupu DM a jeho trvání
 - ovlivnitelná rizika:
 - kompenzace DM a TK, hyperlipidemie, dieta/BMI, kouření, fyzická aktivita

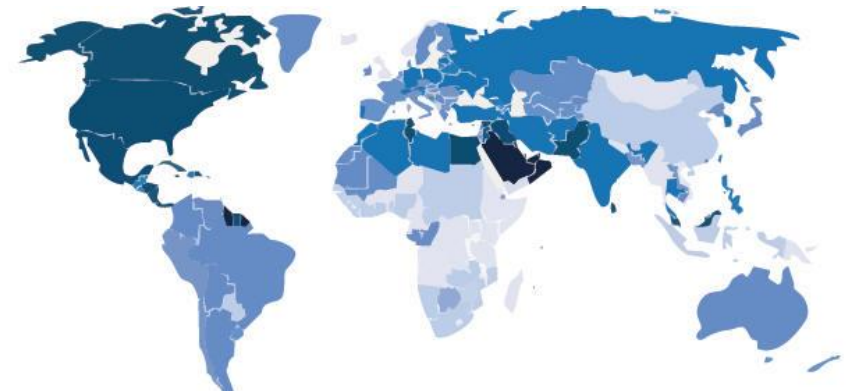
OPTIMISMUS



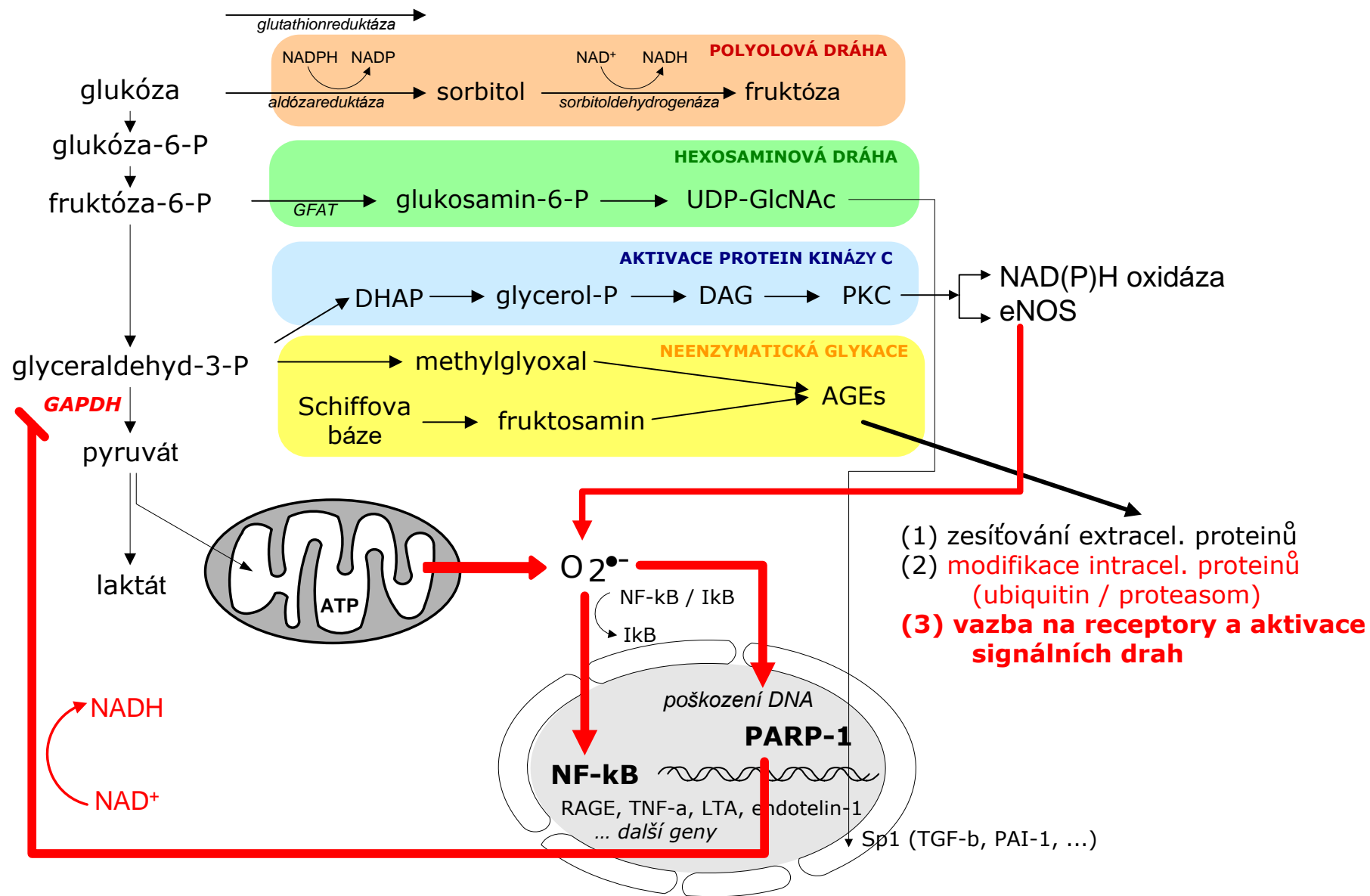
The decreasing prevalence (and possibly later onset) of diabetic nephropathy in subsequent year-cohorts [Hovind, *Diabetes Care* 2003]

PESIMISMUS

roste prevalence DM a tedy i DKD

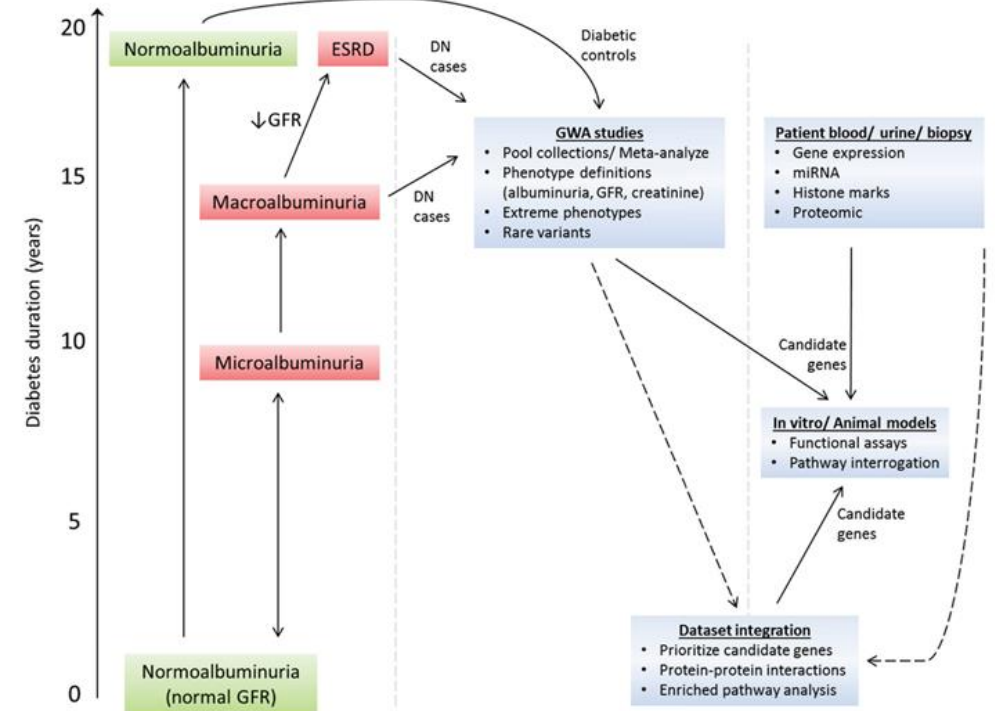


Glukotoxicita



Genetika DKD

- na vzniku DKD se podílí genetické faktory
 - etnické rozdíly v prevalenci
 - familiární agregace
 - heritabilita
 - GFR 0.75 (T2DM, Caucasians)
 - ACR 0.46 (T2DM, Caucasians)
 - glomerular number & size
- genetické mapování
 - stovky asociačních studií
 - min. replikace v GWAS
 - linkage studie
 - 3q13-26, 7p, 6q22-27, 10p11-15, 15q21, 16p11-13 (UMOD), 18q22 (CNDP1), 20q11, 22q (MYH9)
 - GWAS – konsorcia
 - GoKind UK, GoKind USA, Warren 3, EURAGEDIC, FinnDiane, FIND, SUMMIT, GENIE
 - celogenomové signifikance
 - T1DM: FRMD2, CERS, CHN2, CPVL, ZMIZ1, GLRA3, ...
 - T2DM: ELMO1, LIMK2, SF11, ...
 - meta-analýzy – inconclusive so far
 - další
 - NGS – rare variants, EWAS, non-coding RNAs



C-A-T



JARAPE

PROFESSOR... YOU WON'T BELIEVE HOW SIMPLE
ITS GENOME TURNED OUT TO BE.

jarapelab@yahoo.com