



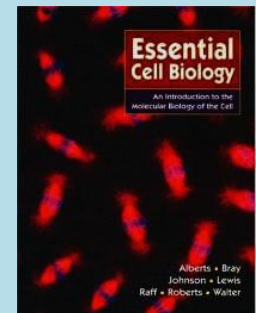
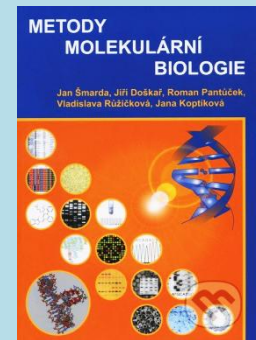
**Genetika
v zubním lékařství
(20.2.2012)**

Petra Linhartová

peta.linhartova@gmail.com

Doporučená studijní literatura

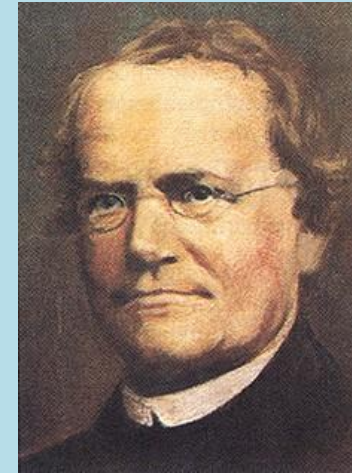
- Skripta: <http://www.med.muni.cz/patfyz/gzl.pdf>
- **Essential genetics: a genomics perspective.** Edited by Daniel L. Hartl - Elizabeth W. Jones. 2002.
- Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F.: **Klinická genetika.** 2004.
- Šmarda J. a kol.: **Metody molekulární biologie.** Brno, 2005
- Alberts B. et kol.: **Essential cell biology: An Introduction to the Molecular Biology of the Cell.**
- Rosypal S.: **Úvod do molekulární biologie**
- Rosypal S. a kol.: **Terminologie molekulární biologie.** Brno, 2001.
- Mazura I. a kol.: **Speciální metody molekulární biologie.** Praha, 2001.
- Odborné články: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>



Obsah přednášky

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

Genetika



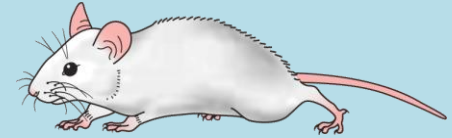
- brněnský kněz a středoškolský profesor **Johann Gregor Mendel** se zabýval křížením různobarevných odrůd hrachu
- Genotypové zákony:
 - **Zákon o samostatnosti alel**
Genotyp je soubor samostatných genů určujících znaky. Každý znak je určen dvojicí samostatných alel.
 - **Zákon o segregaci alel**
Dvojice samostatných alel se při zrání rozcházejí a do každé gamety přechází jedna z obou alel.
 - **Zákon o nezávislé kombinaci alel**
- Fenotypové zákony
 - **Zákon o uniformitě hybridů**
Křížíme-li dominantního homozygota s homozygotem recesivním, jsou jejich potomci F1 generace v sledovaném znaku všichni stejní. Reciproká křížení u jakýchkoliv jedinců F1 generace dávají shodné výsledky.
 - **Zákon o štěpení v potomstvu hybridů**
Při křížení heterozygotů lze genotypy a fenotypy vzniklých jedinců vyjádřit poměrem malých celých čísel. Vzniká genotypový a fenotypový štěpný poměr.

Genetika

- specializovaný biologický obor zabývající se variabilitou a dědičností
 - **klinická genetika**
 - zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí (u celé rodiny!)
 - genetické poradenství
 - **lidská genetika**
 - studuje variabilitu a dědičnost u člověka
 - **cytogenetika**
 - studium chromozomů
 - **molekulární genetika**
 - studium struktury a funkce jednotlivých genů
 - **populační genetika**
 - studium proměnlivosti populací
 - **komparativní a evoluční genetika**
 - mezidruhové srovnání a studium evoluce druhů



Genomika

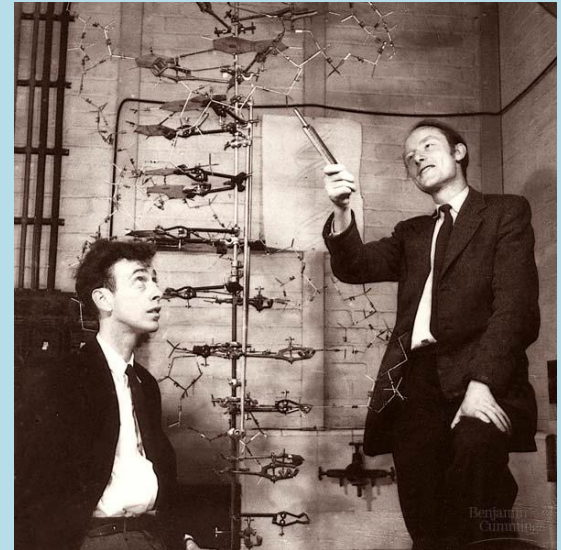
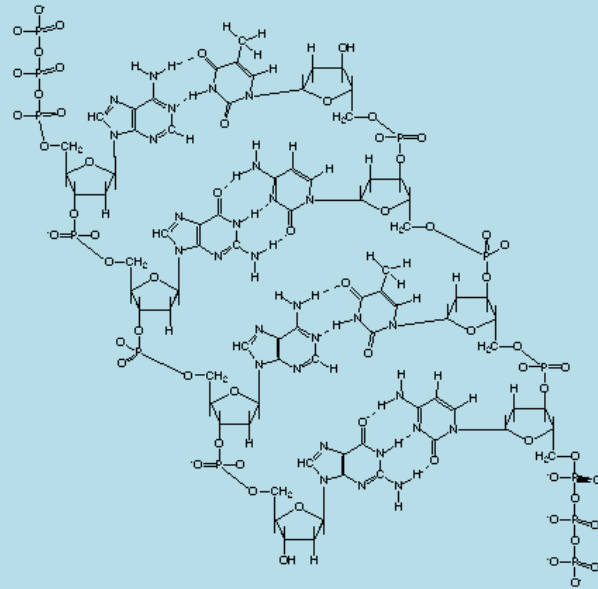


- studuje strukturu a funkci genomů pomocí genetického mapování, sekvenování a funkční analýzy genů
- snaží se o pochopení veškeré informace obsažené v DNA živých organismů
 - **strukturní genomika** = pochopení struktury genomu
 - konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map genomů příslušných organismů
 - reprezentovala zejména iniciální fázi analýzy genomů; konečným cílem byla kompletní znalost DNA sekvence (např. HUGO projekt)
 - **bioinformatika** = shromažďování, analýza a vizualizace biologických souborů dat
 - využívá metod výpočetní techniky, tvorba databází a softwarů
 - **funkční genomika** = studium funkce genů a ostatních částí genomu
 - využívá poznatků strukturní genomiky a snaží se o poznání funkce genů; velmi často k tomu využívá modelové organizmy (kvasinka, nematoda, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Mesocricetus auratus* aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)



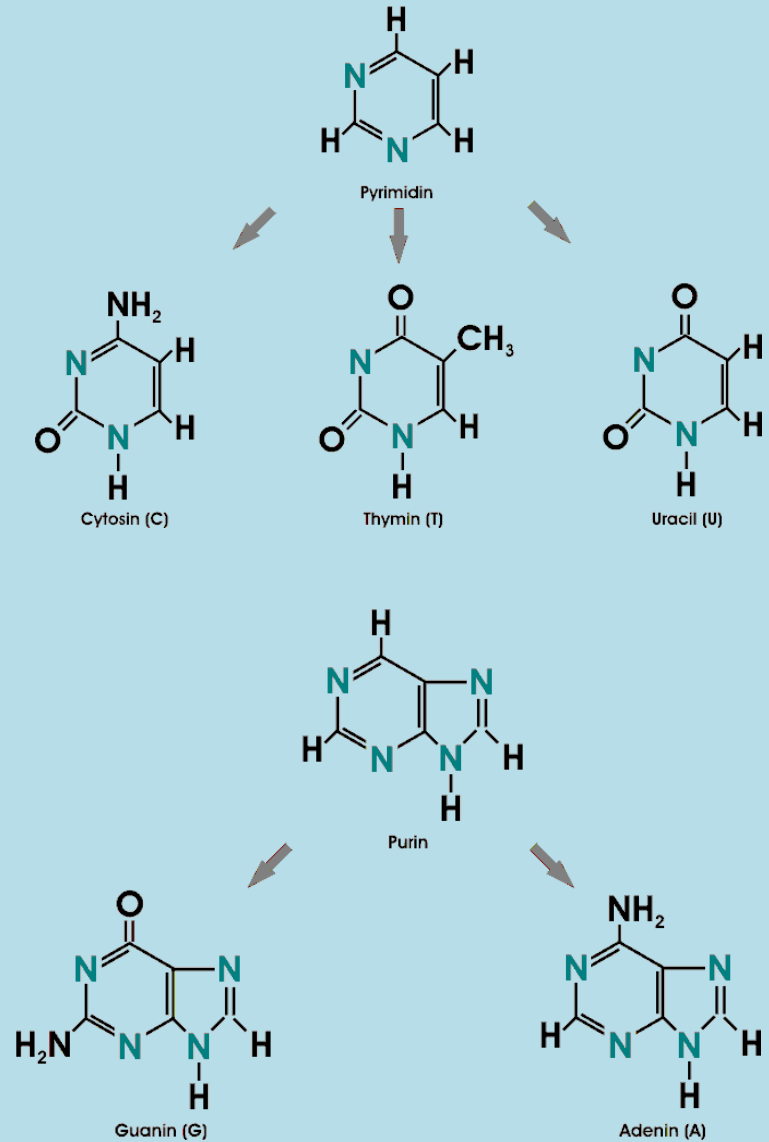
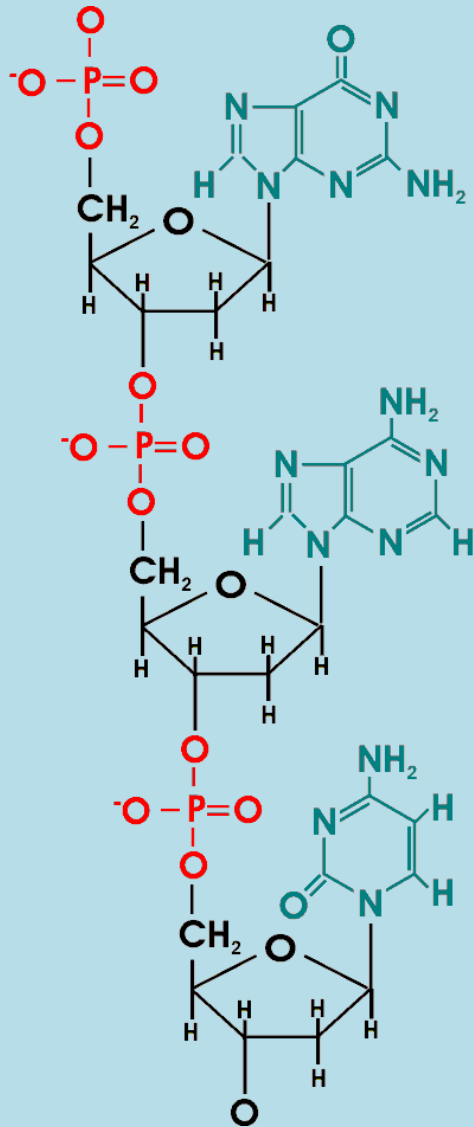
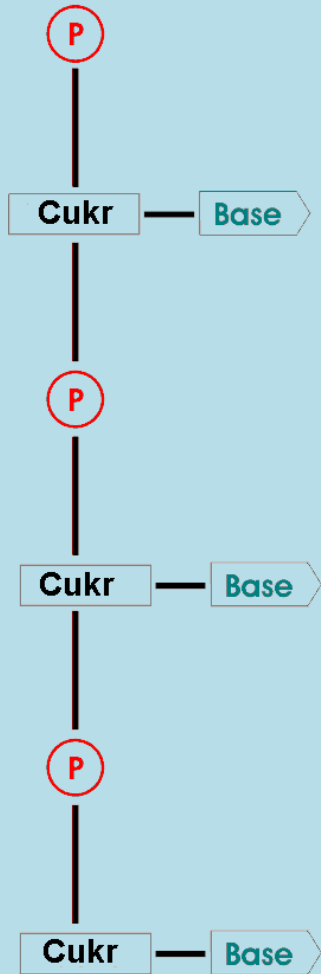
DNA

- molekula DNA jako taková byla objevena v roce 1869, kdy se švýcarskému lékaři Friedrich Miescherovi podařilo vyizolovat DNA z bílých krvinek



- 1962 obdrželi společně Francis Crick, James Watson a Maurice Wilkins Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství. Rosalyn Franklin se pro tragické úmrtí této ceny nedočkala.

DNA



Gen

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

- geny strukturní
- geny pro RNA
- geny regulační

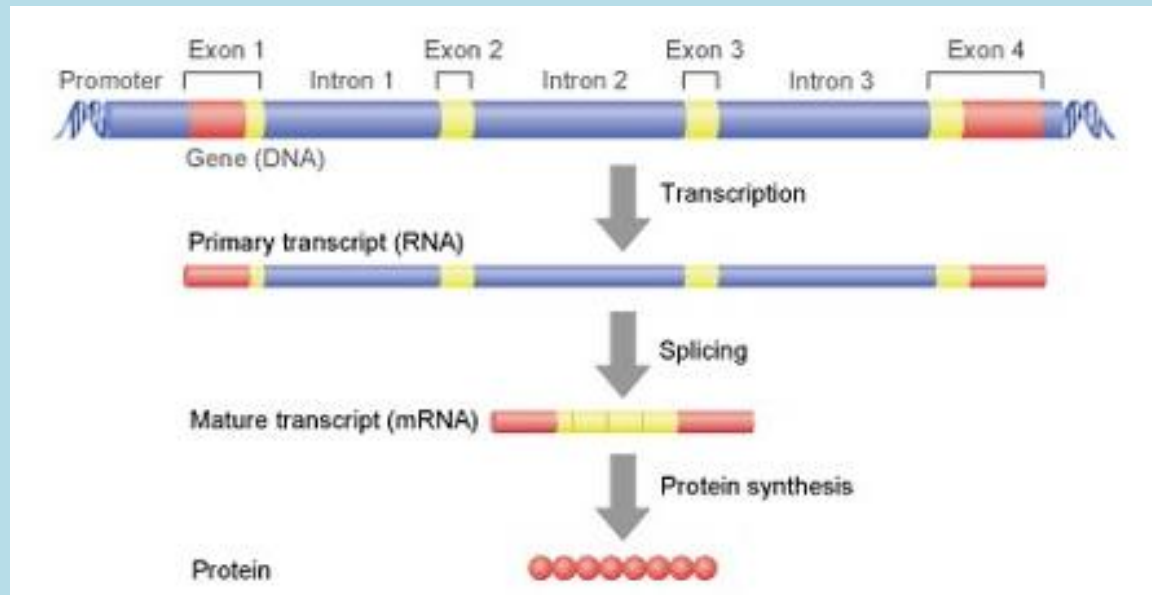
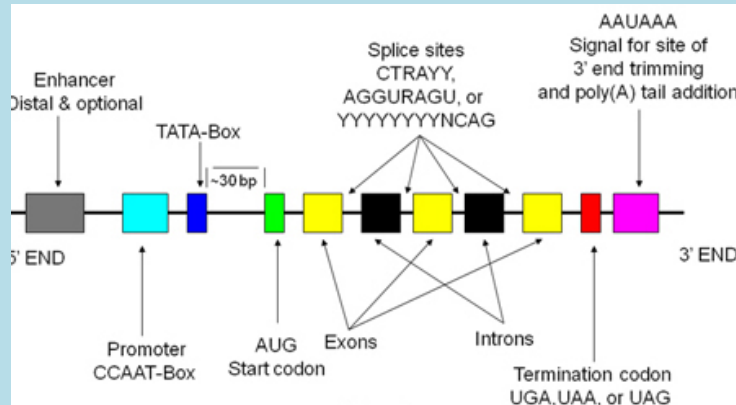
- **exony** = funkční úseky genu, které jsou přepisovány do mRNA a dále translantovány při proteosyntéze
- **introny** = úseky genu, jejichž funkce dosud nebyla zcela objasněna a které nejsou využívány pro translaci

Dle jejich obsahu geny dělíme na:

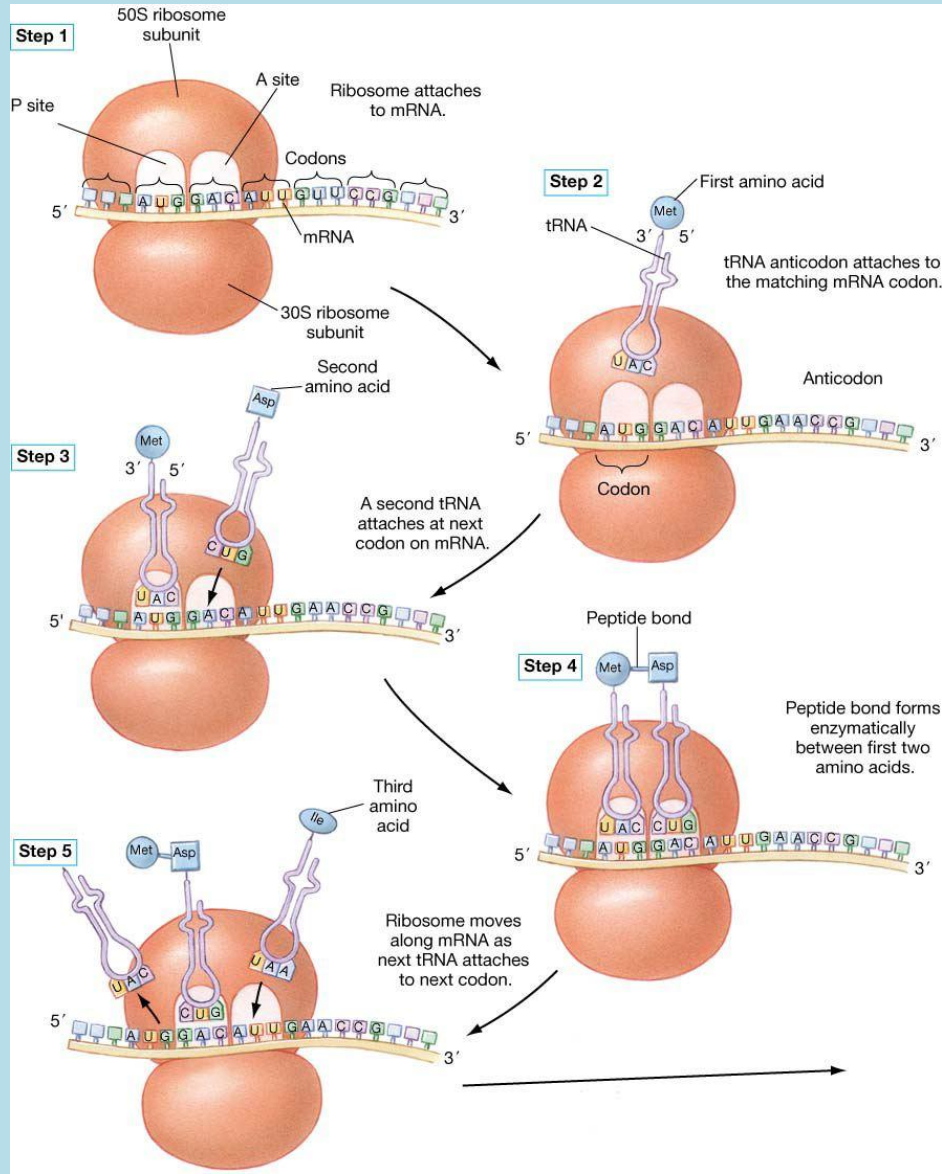
- **jednoduché - obsahují pouze exony**
- **složené - obsahují i introny**

- **genové rodiny** = sekvenčně podobné geny, které vznikly zřejmě duplikací během evoluce, např. geny pro (hemo)globiny, imunoglobuliny, ...

Struktura genu a jeho transkripce

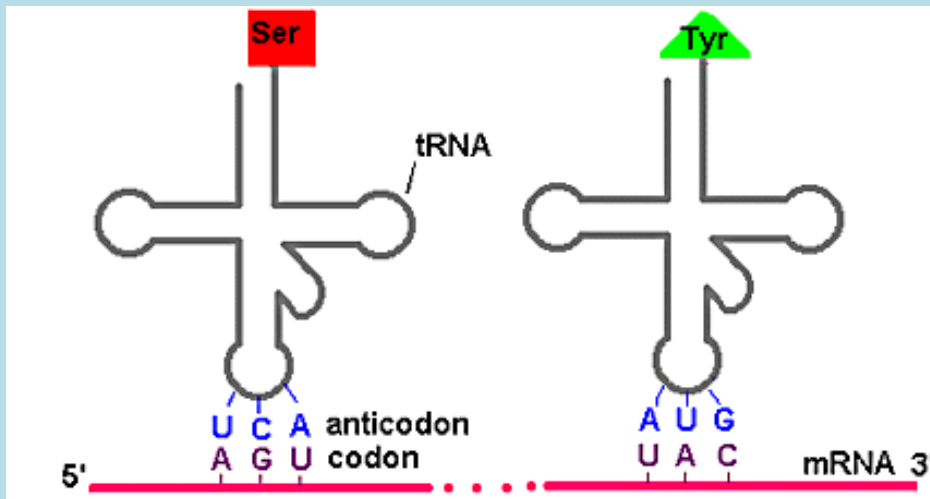


Genová translace



Genetický kód

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

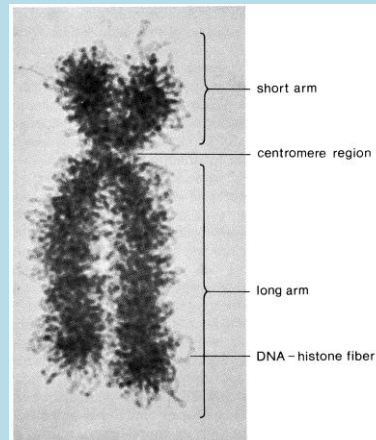
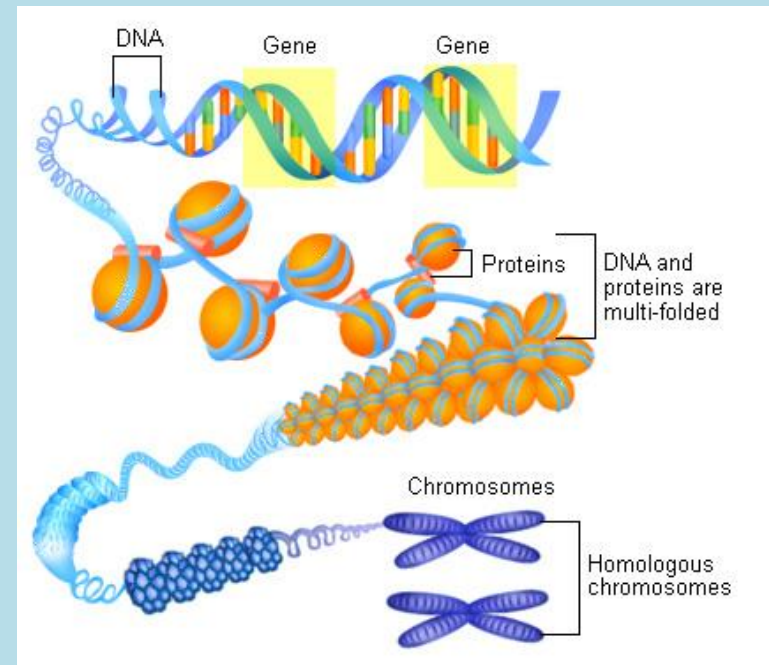
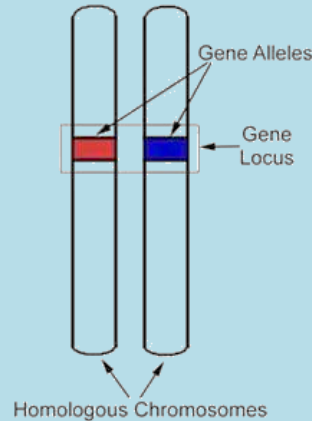


1. pozice 2. pozice 3. pozice

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

Základní genetické pojmy

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

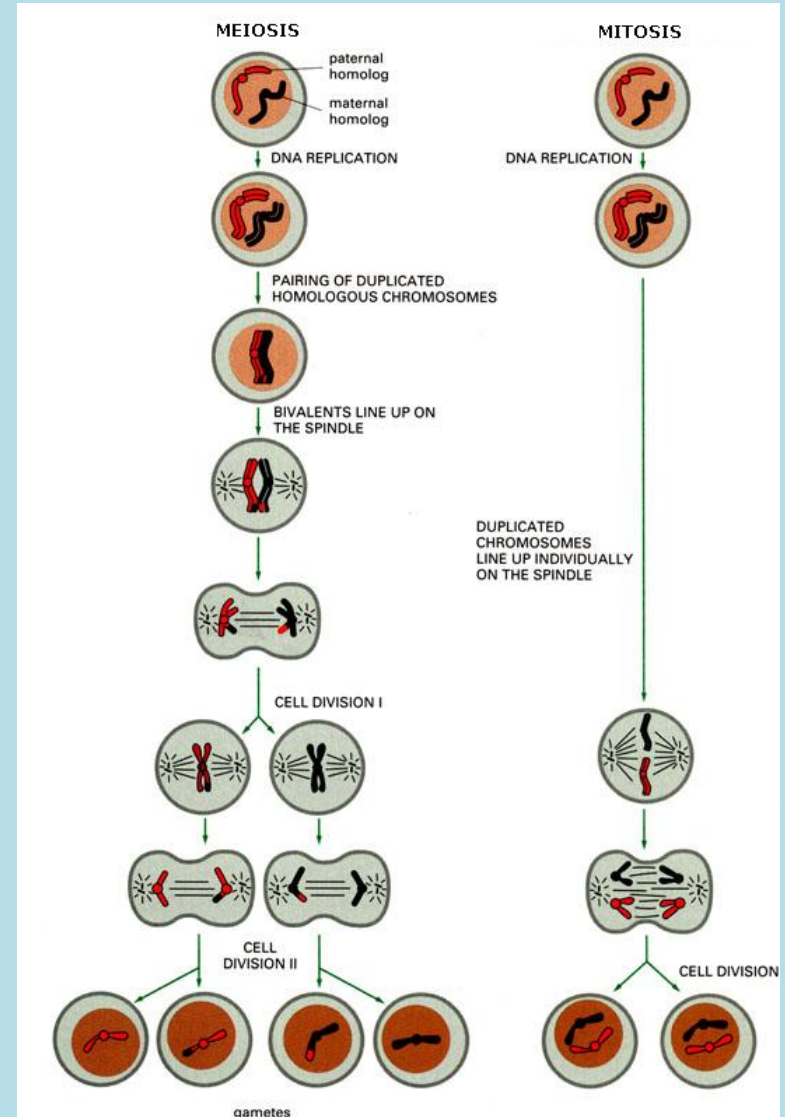


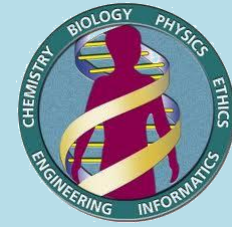
Mitóza a meióza

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

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

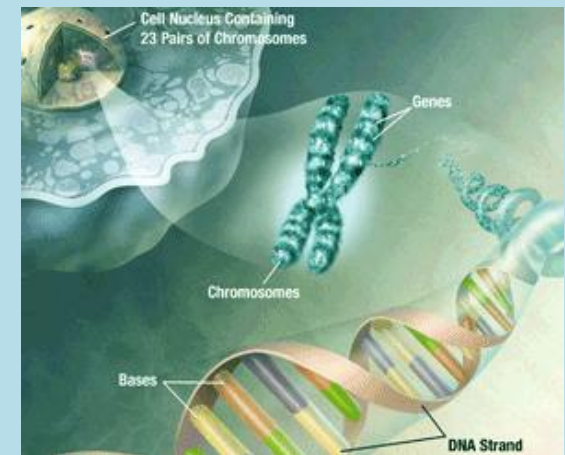
1. meiotické (redukční) dělení – rozdělení homologních chromozomů
významné – odehrává se zde meiotický crossing-over (rekombinace) – žádná z gamet není identická!
poruchy rozestupu – např. trisomie
2. meiotické dělení – rozestup sesterských chromatid
2 dceřinné buňky s haploidním počtem chromozomů
vznik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





Lidský genom

- **Human Genome Project** (HUGO) – James D. Watson – v r. 2001 zveřejnění prvních výsledků
- **gen** = konkrétní úsek molekuly DNA nesoucí informaci pro tvorbu proteinu nebo NA (rRNA, tRNA...). ~ 21 tisíc genů (2011)
- **pseudogen** = sekvence DNA, která je podobná genu, ale nedochází k jejímu přepisování v RNA (transkripci). ~ 20 tisíc pseudogenů
- **genom** = soubor všech genů v jedné buňce, **genom jaderný a mitochondriální** (mtDNA)
- v jádru diploidní lidské buňky 22 párů chromozomů (autozomy) a pár pohlavních chromozomů X/Y (gonozomy) = karyotyp
- hustota genů na jednotlivých chromozomech dost heterogenní
 - pouze ~ 10 % kódující sekvence
 - ~ 75 % se skládá z jedinečné (neopakující se) sekvence
 - zbytek repetitivní sekvence



Lidský genom

Repetitivní sekvence = DNA s vysokým množstvím kopií

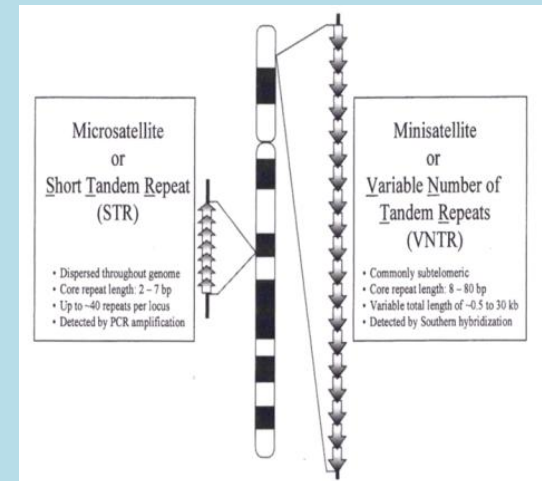
- se podílí na formování vyšších nukleoproteinových struktur, jako jsou telomery nebo centromery
- při chromozomových přestavbách, mají vliv na regulaci genové exprese při procesu zvaném RNA interference, zajišťují ochranu konců lineárních chromozomů, řídí správný průběh mitotického i meiotického dělení buňky
- zřejmě udržují strukturu chromozomů, možná jsou “evoluční” rezervou

- **rozptýlené**

- DNA transpozony (př. „Sleeping Beauty“ – genová terapie)
- retrotranspozony
- endogenní retroviry = LTR
- autonomní – LINE – L1-repetice
- neautonomní – SINE – Alu-repetice

- **tandemové** = za sebou jdoucí identické repetice, VNTR

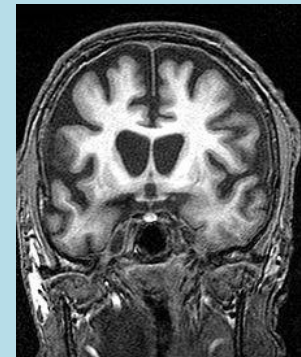
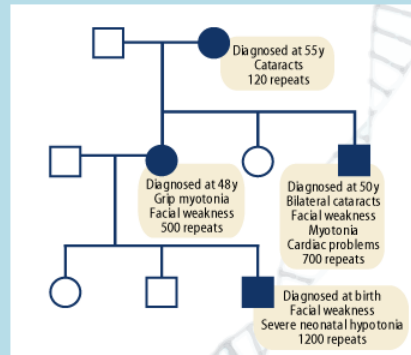
- mikrosatelity – opakování 1- 5 bp
- minisatelity - v rozsahu kilobází, které se více vyskytují v subtelomerických oblastech chromozomů
- genetické markery



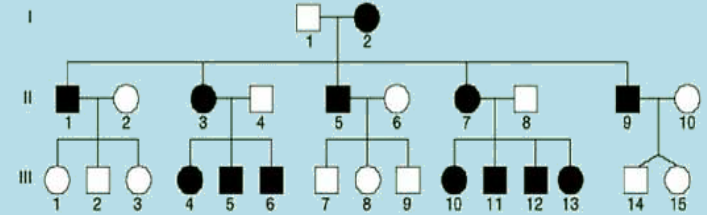
Lidský genom

- **Huntingtonova chorea**, fatální neurologické onemocnění s nástupem v dospělosti, projevující se jako demence s extrapyramidovou poruchou motoriky. V genu pro huntingtin je repetitivní sekvence (CAG)_n, která kóduje úsek bílkoviny tvořený zbytky glutaminu (polyglutaminový úsek, polyglutamine tract). Za normálních okolností mají lidé méně než 20 trinukleotidů CAG a tedy i glutaminů v huntingtinu, kde tyto tvoří důležitou doménu pro interakce s jinými proteiny. Pokud se však mutací toto množství zvětší nad 30 glutaminů, protein nepracuje správně s výsledným progresivním odumíráním neuronů v nucleus caudatus.
- **myotonické dytrofie** (svalová dystrofie se svalovou slabostí provázenou paradoxně zvýšeným svalovým tonem) se nachází patologická expanze trinukleotidu CTG v 3' nepřekládané oblasti genu DMPK (dystrophia myotonica protein kinase). Mutantní mRNA má sama o sobě patogenní potenciál.

- expanze trinukleotidových repetitivních
- autosomálně dominantní choroby

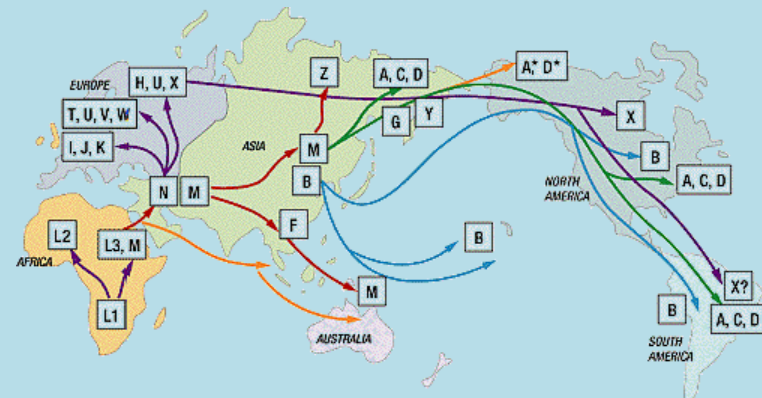
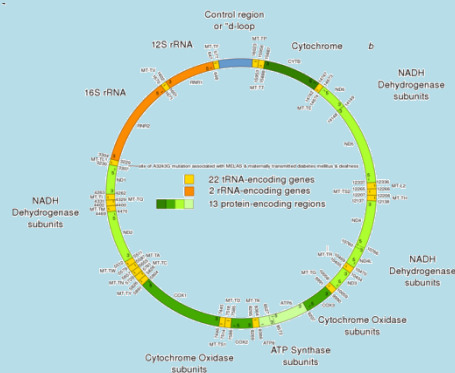


Lidský genom



mtDNA

- původ: alfaproteobakterie pohlcena eukaryotickou buňkou
- mnoho genů během evoluce bylo z mtDNA horizontálně přeneseno do buněčného jádra (geny v jádře kódující různé mitochondriální proteiny silně připomínají bakteriální proteiny)
- ~ 16,5 tisíce bp
- kóduje 37 genů
 - 24 genů pro různou nekódující RNA
 - 13 genů kóduje vlastní mitochondriální polypeptidy zapojené v mitochondriálních procesech (využívány během oxidativní fosforylace)
- maternální dědičnost
- genetické analýzy: na základě mtDNA určena migrace lidstva - „mitochondriální Eva“, která žila ~ před 140 000 lety v místech dnešní Etiopie, Keni nebo Tanzanie

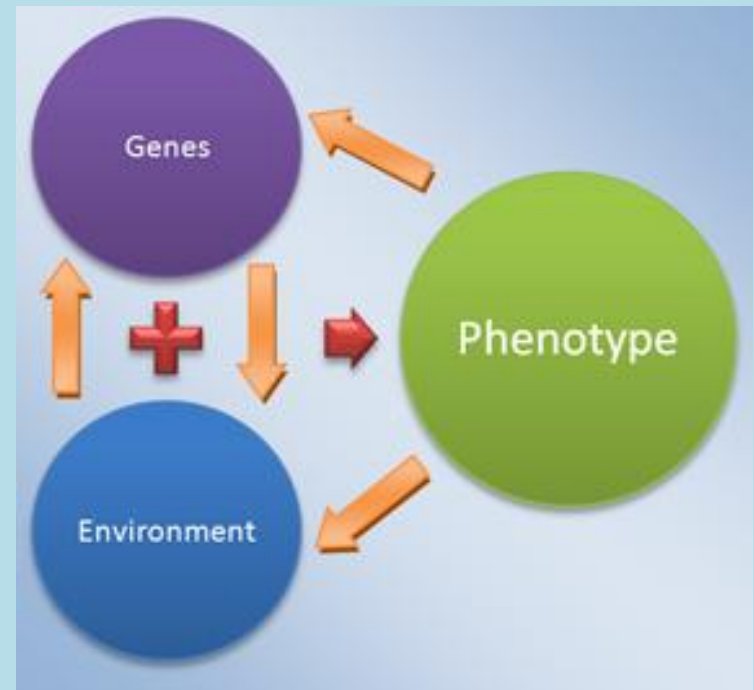


Obsah přednášky

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

Vliv prostředí na lidský genom

- Genetická výbava jedince je sice osudově zadána v okamžiku zplodění, ale není pro další život konečná, protože v průběhu života se může měnit jak pod vlivem četných faktorů **epigenetických** (vlivy prostředí), tak pod vlivem **dalších faktorů genetických** (např. mutacemi somatických buněk v průběhu maligní transformace).
- **Biologické mutageny:**
onkogenní viry: adenoviry, herpes viry, virus Epstein-Barr, Rousův sarkomální virus a Rauscherův virus leukémie
- **Fyzikální mutageny:**
záření (rentgenové, gama, UV – tvorba thymidinových dimerů)
- **Chemické mutageny:**
organické, alkylační činidla (ATB), anorganické látky, alkaloidy, kationty těžkých kovů, peroxidy, dusitany, aromatické chlorované deriváty, volné radikály (O·)



Genetická proměnlivost

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

Mutace

- procesy, při kterých se mění počet alel (mění se kvalita a kvantita genů)
- **mutageneze** = proces vzniku mutací
- mutace = náhodné změny genotypu, změna genetické informace, poměrně vzácné

Typy mutací (indukované nebo spontánní, ty mají četnost $\sim 10^{-7}$, oprava polymerázou a proteinem p53):

- **Genové mutace**
- **Chromozomové mutace = aberace**
- **Genomové mutace**



Genetická uniformita

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

The cheetah is depauperate in genetic variation.

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



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

Vzácné mutace a polymorfismus

- **vzácné mutace** - jsou výrazně patologické a tudíž jsou z populace odstraňovány selekcí, nebo vznikly nedávno a nestačily se v populaci rozšířit), vyskytuje se v populaci méně než v 1 %
- **polymorfismus** - častá mutace, tyto mutace jsou základem interindividuální variability jedinců, v jediném genu je často mnoho polymorfizmů, jejich kombinace tvoří haplotypy, vyskytuje se v populaci více než v 1 %
 - **SNP** = jednonukleotidový polymorfismus - bialelické
 - **minisatelitní a mikrosatelitní polymorfismy** - multialelické

Germinativní a somatická mutace

- **germinativní mutace** - přenášeny na potomstvo (často příčinou zániku plodu), u potomka přítomny ve všech buňkách, mají vliv na vývoj druhu, „úspěšnost“ germinativní mutace 1:100000
- **somatické mutace** - vznikají v somatických buňkách v průběhu života (maligní transformace x žádný fyziologický vliv)

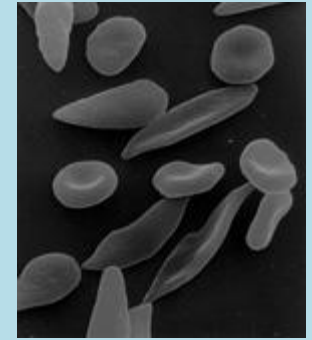
Genové mutace

- mění jednotlivé geny (alely), většinou jsou indukované
- podstata je molekulární, mění se struktura DNA, ale nenarušuje se celistvost stavby chromozomu
- v somatických nebo v pohlavních buňkách
- mutace v regulačních genech pro množení a diferenciaci → nádorového onemocnění

- **bodové mutace - substitute** = záměna páru nukleotidu za jiný (→ změna AA sekvence, změna v regulaci, ovlivnění transkripce a translace... nebo tvorba STOP kodonu), transverze/tranzice, spíše v exonech
- **delece/inzerce** = ztráta/zařazení nukleotidů (→ možný posun čtecího rámce), spíše v intronech



Genové mutace



Srpkovitá anemie

- missense mutace genu pro hemoglobin na 6. pozici v β -řetězci (hydrofóbní valin místo hydrofilní glutamové kyseliny, tvorba shluků Hb a tím změna tvaru ery) \rightarrow HbS
- autosomálně recesivní

	ancestral	mutant
DNA	-CTC-	-CAC-
mRNA	-GAG-	-GUG-
AA	-glu-	-val-

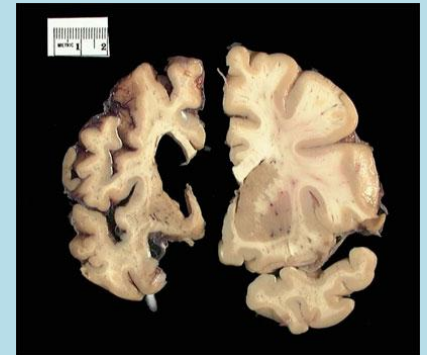
- Srpkovité červené krvinky mnohem hůř přenášejí kyslík. Lidé se srpkovitou anémií mají proto ve srovnání s obyčejnými lidmi červených krvinek víc. To jim dává proti malárii velkou výhodu, díky níž mají lepší šanci přežít.

Genové mutace

β^0 thalasemie

- nonsense mutace pro Hb – chybná syntéza jednoho z řetězců globinu
- autozomálně recesivní

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



Huntingtonova choroba

- trinukleotidová expanze

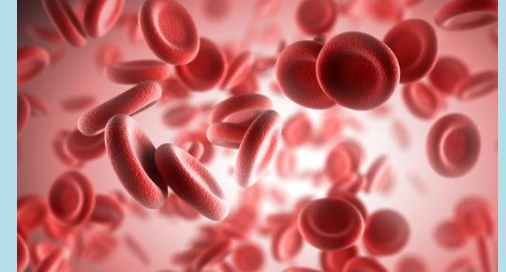
	ancestral	mutant
DNA	...TAC-GTC-...	...TAC-(GTC-GTC-GTC) ₂₀ -GTC-...
mRNA	...-AUG-CAG-...	...-AUG-(CAG-CAG-CAG) ₂₀ -CAG-...
AA	...-met-gln-...	...-met-(gln-gln-gln) ₂₀ -gln-...

Genové mutace

Hemofilie A

= nedostatek srážecího faktoru VIII

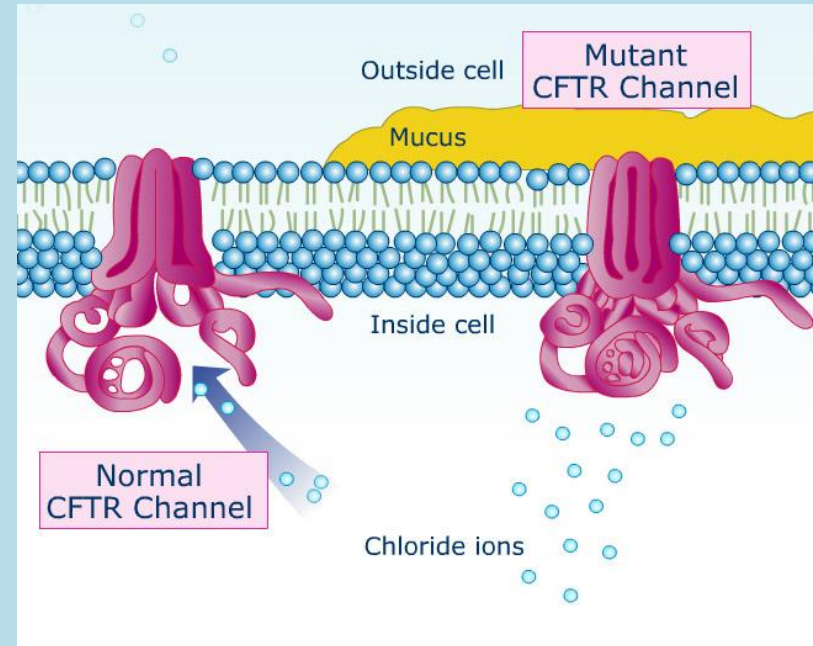
- inzerce 3000 bp – snížení tvorby proteinu
- gonozomálně recesivní – vazba na X chromozom
- žena je přenašečka



Genová mutace

Cystická fibróza

- deleční mutací genu produkujícího protein CFTR (chloridový ABC transportér na buň. membráně) → nefunkční protein
- delece 3 bp v pozici 1652 až 1655 v exonu 10 (delece phe v kodonu 508)
- autozomálně recesivní

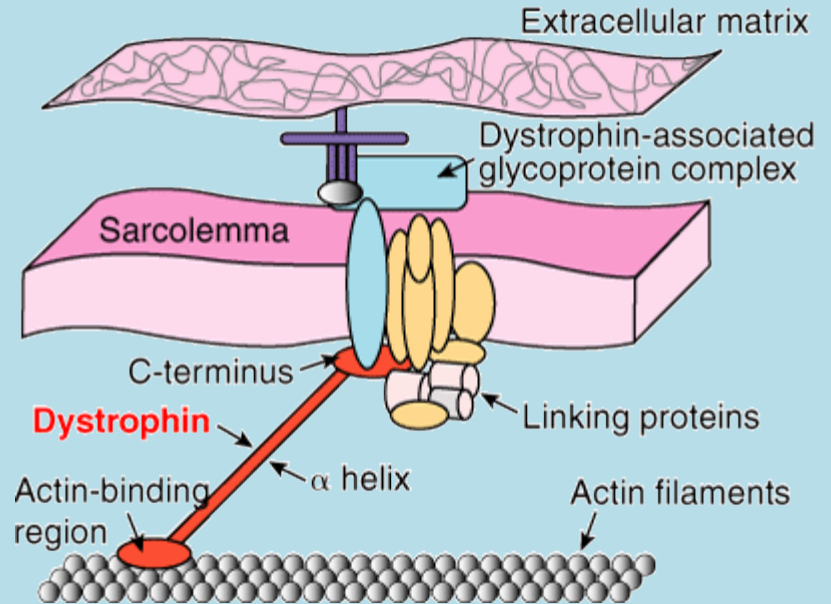


	ancestral	mutant
DNA	-TAG-AAA-CCA-	-TA A-CCA-
mRNA	-AUC-UUU-GGU-	-AUU-GGU-
AA	-ile-phe-gly-	-ile-gly-

Genová mutace

Duchennova svalová dystrofie

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



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

Chromozomové mutace - aberace

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

Strukturní chromozomové aberace

- následkem chromozomových zlomů, na které navazuje určitá přestavba. Primární je tedy porucha struktury, přičemž původní množství genetického materiálu může - ale nemusí - být zachováno. Dělíme je na **balancované** (kdy je zachováno původní množství genetického materiálu) a **nebalancované** (kdy část genetického materiálu chybí či přebývá).
- **deficience** = ztráta koncové části chromozomu, oddělený kousek se rozpadne v cytoplazmě, dochází ke ztrátě genů, ztráta důležitých genů vede ke smrti
- **delece** = ztráta vnitřní části chromozomu.
- **duplikace** = zdvojení některých částí chromozomů
- **inverze** = převrácení části chromozomu o 180°
- **translokace** = přesun části chromozomu na jiný chromozom, může vést k vytvoření nového znaku
- **fragmentace** = rozpad na malé části

Genomové mutace

Numerické chromozomové aberace

- způsobeny abnormálním počtem chromozomů v karyotypu
- struktura chromozomů je neporušená, patologicky se uplatňuje nestandardní množství genů
- vznikají díky chybě při rozchodu chromozomů do dceřiných buněk během buněčného dělení (nondisjunkce) nebo abnormalitami fertilizace či časně embryogeneze
- **aneuploidie** - numerická odchylka se týká pouze určitého chromozomu nebo chromozomů, ne však celé sady. Konkrétní chromozom může být buď znásoben - **trisomie** (3x - tři kopie chromozomu), **tetrasomie** (4x - čtyři kopie chromozomu), nebo naopak ztracen - **monosomie** (1x - jedna kopie chromozomu), **nulisomie** (0x - žádná kopie chromozomu)
- **polyploidie** - znásobena je celá chromozomová sada - porucha rozdělení celých sad nebo oplození spermii (dispermie)], u člověka přichází v úvahu zejména triploidie (3n = 69 chromozomů) a tetraploidie (4n = 92 chromozomů), většinou ale:
 - těhotenství je potraceno
 - molla hydatidosa (a pak těhotenství nutno ukončit potratem)
 - porod novorozence s triploidii – velmi časná letalita

Genomové mutace

Aneuploidie (změna počtu chromozomů v sadě)

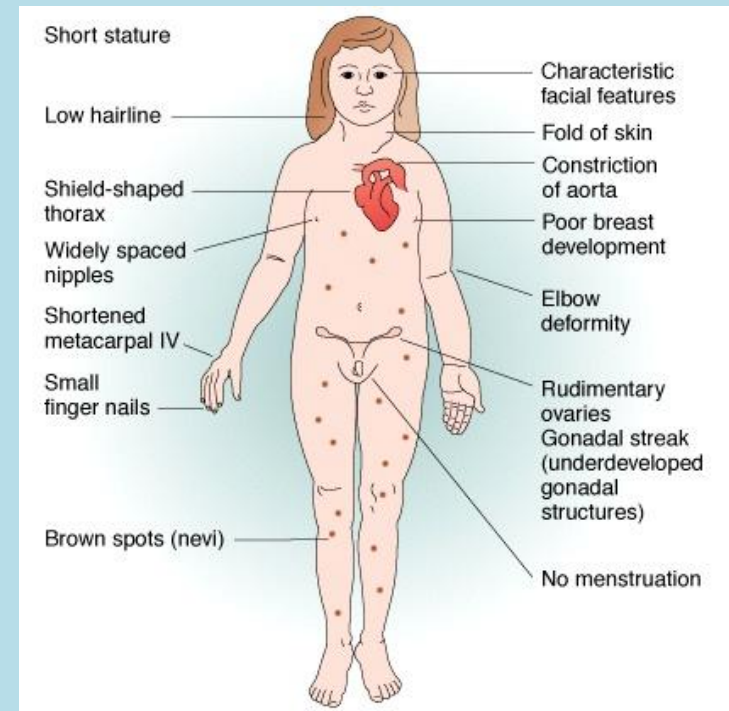
○ monosomie

- gonozomální
 - Turnerův sy. (45, X0)



○ trisomie

- autozomální
 - **Downův sy.** (47, XX/XY + 21)
 - Edwardsův sy. (47, XX/XY +18)
 - Patauův sy. (47, XX/XY +13)
- gonozomální
 - Klinefelterův sy. (47, XXY)
 - XXX sy.
 - XYY sy.



Obsah přednášky

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

Monogenní nemoci

- Rozvoj molekulárně biologických metod umožnil detailní analýzu genetického podkladu mnoha mendelisticky děděných, tzv. **monogenních nemocí**.
- U těchto chorob se dědičný podklad uplatňuje jako **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

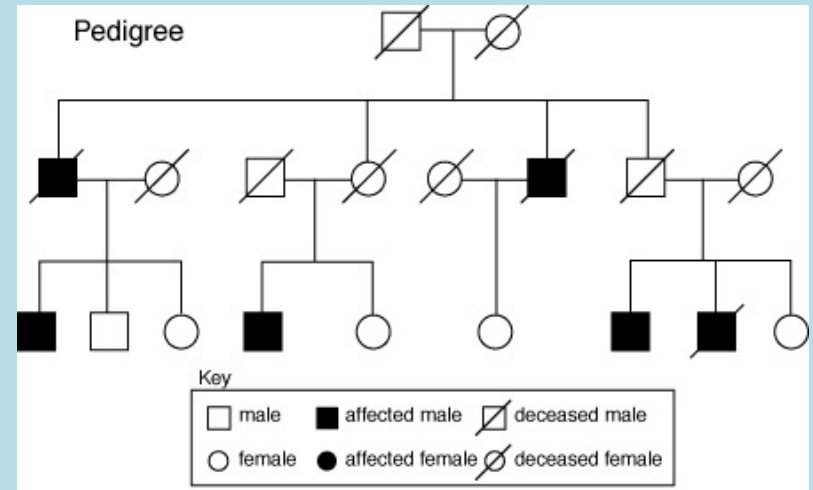
Monogenní nemoci

- 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
- čtyři základní typy dědičnosti:

	dominantní	recesivní
autosomální	autosomálně dominantní (AD)	autosomálně recesivní (AR)
X-vázaný	X-dominantní (XD)	X-recesivní (XR)

Monogenní nemoci

- typy přenosu
 - autozomální
 - geny na obou autozomech aktivní
 - gonozomální (X-chromozom vázané)
 - muži hemizygotní
 - u žen 1 X-chromozom inaktivován!!
 - jiné
 - imprinting, mozaicismus, ...



- 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 - AR

- u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt k udržení normální funkce
- manifestní onemocnění u heterozygota je důsledkem:
 - haploinsuficience - pro normální funkci je potřeba >50% aktivního genového produktu
 - dominantě negativního efektu - syntéza abnormálního proteinu, který “soutěží” s normálním a ovlivňuje fenotyp (např. osteogenesis imperfecta)
 - zesílení funkce (“gain-of-function”) - mutací je posílena přirozená vlastnost proteinu
 - ztráty heterozygoty (loss-of-heterozigosity, LOH) v somatické buňce - např. familiární predispozice k nádorům v důsledku mutací v supresorových genech (např. retinoblastom)
- velmi často enzymové defekty
- postižen je mutovaný homozygot (popř. sourozenci), heterozygotní rodiče jsou přenašeči (asymptomatictí) - riziko $0.50 \times 0.50 = 0.25$
- frekvence přenašečů nemoci v populaci $\gg \gg$ 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)

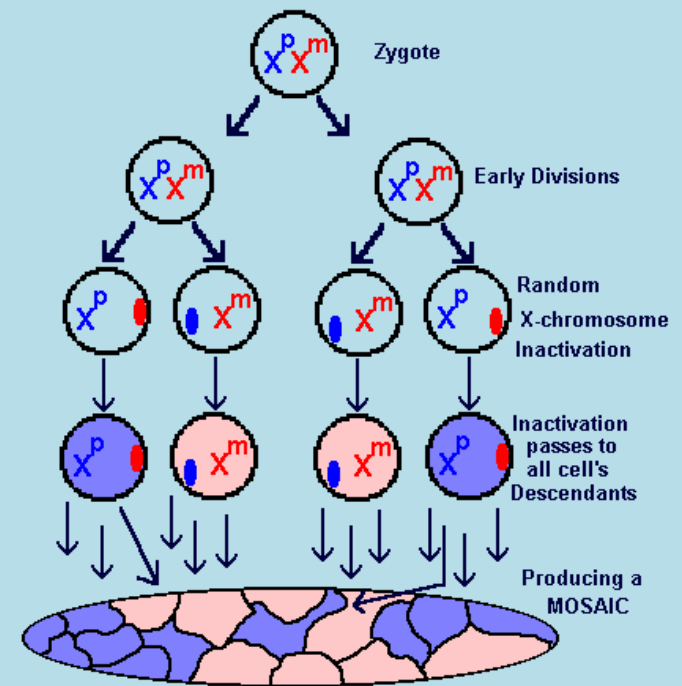
Monogenní nemoci - AD

- nemoci jsou důsledkem jak mutací přenášených mezi generacemi tak vzniklých nově
- nemoc se projevuje v každé generaci - postižený jedinec má postiženého rodiče (a prarodiče), a to matku nebo otce
- riziko pro potomka 0.50 (pokud by byli oba rodiče postižení pak 0.75, ale to je vzácné)

- familiární hypercholesterolemie (1/500),
- myotonická svalová dystrofie (1/1000)
- Huntingtonova chorea (1/3000)

Monogenní nemoci - X-vázané

- ženy 3 genotypy, muži pouze 2
- X-vázané nemoci se manifestují u všech mužů, kteří zdělili mutaci, a pouze u homozygotních žen
- hemofilie A
- Duchenneova muskulární dystrofie
- Wiskott-Aldrichův syndrom (imunodeficiency)
- inaktivace X-chromozomu u žen
 - kompenzace dávky a exprese X-vázaných genů
 - hypotéza Lyonové (“lyonizace”)
 - v somatických bb. je 1 X inaktivovaný a v interfázi se zobrazuje jako “Barrovo” tělíčko (viz sporné identifikace pohlaví)
 - proces je náhodný, může se týkat jak otcovského tak mateřského X
 - důsledkem je variabilní exprese X-vázaných genů u heterozygotek (“manifestující přenašečka”)
 - funkční mozaicismus



Komplexní nemoci

- multifaktoriální, multigenní
- roli hrají kombinace určitých genů a určitých faktorů zevního prostředí
- Na odhalení nejobecnějších principů genetiky multifaktoriálních nemocí se na rozdíl od genetiky nemocí mendelistických v současné době stále ještě čeká.
- v klinické praxi často kolísá názor na výsledky genetických studií, které se snaží odhalit genetický podklad komplexních nemocí, od neodůvodněného očekávání nad nalezenými geny velkého účinku až po velkou skepsi vzhledem k existenci genetického podkladu v populaci četných nemocí (nad 1%), jako je v kardiologii např. esenciální hypertenze.
- pokud choroba má prokazatelně familiární výskyt, musíme očekávat podíl genetického podkladu na její manifestaci, a to i v tom případě, že není dosud dobře definován nebo dosavadní znalost nepovažujeme za přesvědčivou.
- Své genetické pozadí mají i tak relativně vzdálené proximální fenotypy, jako je např. kvalita života u nemocných s chronickým kardiovaskulárním onemocněním.

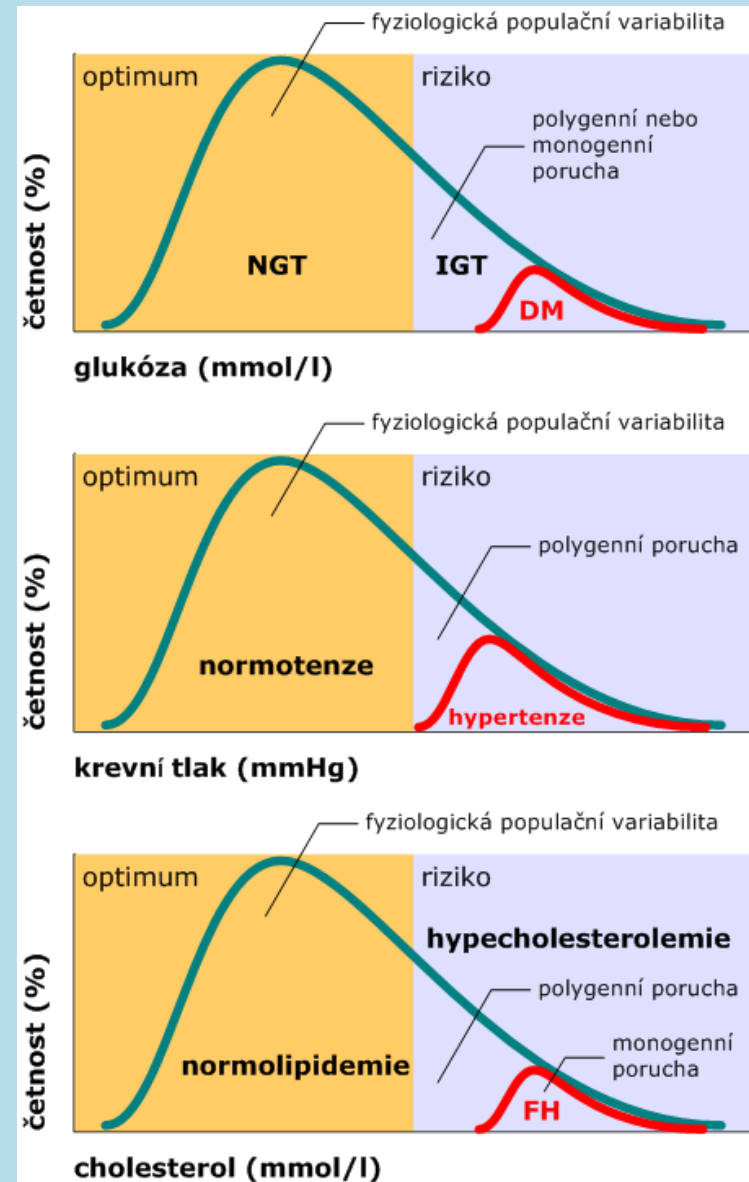
Každá choroba má nějaké genetické pozadí, jehož podíl na manifestaci dané choroby je různý.

Komplexní nemoci

- komplexní onemocnění jsou charakterizována:
 - neúplnou penetrancí patologického fenotypu
 - u určité části osob, přestože zdědí nevýhodný genotyp (zde ve smyslu souboru vícero genů) se patologický fenotyp nerozvine
 - existencí fenokopí
 - patologický fenotyp může být přítomen u lidí, kteří nejsou nosiči zmíněného genotypu
 - genetickou heterogenitou (lokusovou a alelickou)
 - klinický obraz není specifický, ale může se rozvinout v důsledku záměn v genech ležících na různých lokusech (= lokusová heterogenita), v jednotlivých genech může být přítom vícero mutací či polymorfizmů (= alelická heterogenita)
 - polygenní dědičností
 - predispozice k rozvoji patologického fenotypu se zvyšuje pouze při simultánním výskytu určitého souboru alel
 - vysokou populační frekvencí alel zodpovědných za rozvoj patologického fenotypu
 - každá jednotlivá predisponující alela pravděpodobně není sama o sobě výrazně patogenní
 - spolupůsobením dalších mechanismů přenosu
 - mitochondriální dědičnost, imprinting

Komplexní choroby

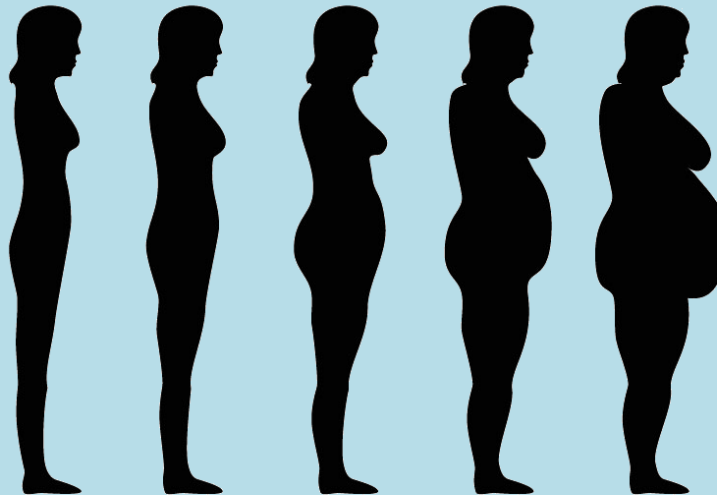
- choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „komplex“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů
 - fenotyp nevykazuje klasickou mendelistickou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- **predisponující „geny“** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminuje jednoznačně jeho přítomnost
 - je nutné spolupůsobení negenetických faktorů (**prostředí**)
 - dieta, fyzická aktivita, kouření,
 - a **interakcí genů** mezi sebou
- nejčastější komplexní nemoci
 - diabetes (1. i 2. typu)
 - dyslipidemie
 - esenciální hypertenze
 - alergie



Komplexní nemoci

Obezita – Hypotéza typu „thrifty genotype“

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



Obsah přednášky

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

Genetické studie

- Základní debata nad genetickým podkladem nemocí logicky začíná od strategie výběru tzv. **kandidátních genů**. Tato otázka je podstatně jednodušší u mendelisticky děděných nemocí, kde se změněná funkce jednoho genu snadněji identifikuje.
- **Celogenomové asociační studie** (GWAS=Genome-Wide Association Study) vyhledávají polymorfismus jednotlivých nukleotidů nebo běžné genové variace, které se typicky chovají jako ukazatelé genových oblastí s malým efektem u stoupajícího rizika nemocí.
- Dalším významným momentem je výběr statistické metodologie, která zhodnotí sílu asociace genů s chorobami. Možnosti jsou v zásadě dvě: **linkage (vazebná) analýza a asociační studie**. K detekci specifických genetických oblastí a genů, které se účastní v transmisi nemoci, je v principu možné použít obě metody.

Genetické studie

Kandidátní geny

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

Linkage (vazebná) analýza

- testuje kosegregaci genového markeru a fenotypu nemoci v rodině. Čili 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 jsou klinické subtypy nemoci (studie case-case), závažnost nemoci, časný začátek nemoci, rizikové faktory pro nemoc včetně pohlaví a vhodné biologické znaky (např. plasmatické hladiny cytokinů při asociaci genetických polymorfismů v cytokinových genech; studie genotyp-fenotyp).

Klinická genetika

- **zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí**
- **genetické poradenství**
- **vrozené vady** - poruchy utváření orgánů, které vznikly v období nitroděložního života, i poruchy funkční (např. duševní opoždění) a poruchy na úrovni biochemické a molekulární (např. vrozené vady metabolismu).

Skupina	Příčina	Zastoupení
Primárně (geneticky)	chromozomální aberace	10 %
	monogenní dědičnost	20 %
Sekundárně (prostředí)	léky, infekce, záření	5 %
	porodní poranění	12 %
	infekce po narození	7 %
Neznámé (multifaktoriální)	geny + prostředí	46 %

Klinická genetik

Prenatální diagnostika

- zahrnuje vyšetřovací postupy směřující k vyhledávání statisticky významné odchylky ve struktuře nebo funkci, která přesahuje hranice fenotypové variability
- umožňuje v závažných případech ukončení gravidity, u dalších je možno v předstihu plánovat optimální perinatální péči.



Rizikové faktory:

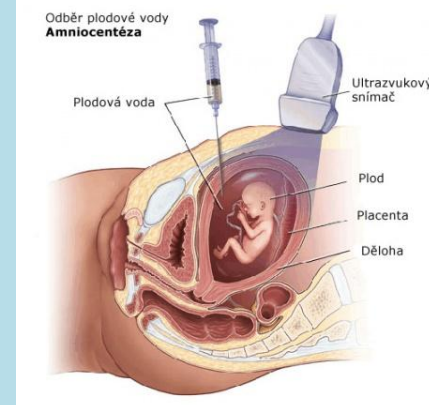
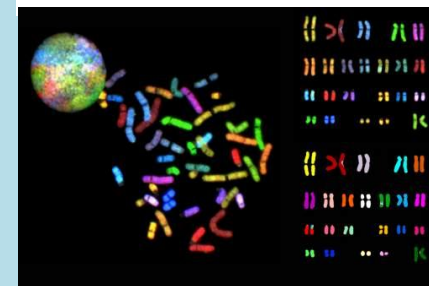
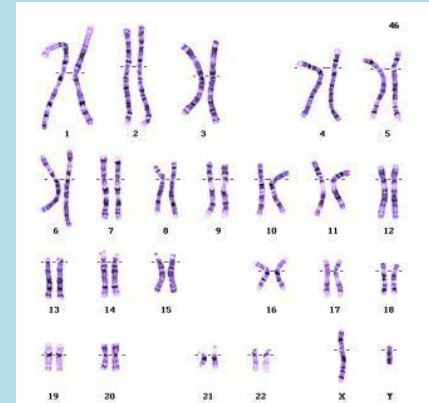
- věk matky v době porodu je vyšší jak 35 let
- pozitivní biochemický screening z krve matky
- ultrazvukový nález, který zvyšuje riziko přítomnosti chromozomální aberace (nahromadění tekutiny v podkoží, nepřítomnost nosní kůstky, srdeční vada plodu aj.)
- přítomnost chromozomální aberace v rodině



Klinická genetika

Vyšetření karyotypu plodu

- invazivní metody - amniocentéza, biopsie choriových klků, kordocentéza
- genetické vyšetření, přesněji **vyšetření cytogenetické** (neboť se vyšetřují chromozomy), ovšem nejedná se o test DNA
- **FISH** – fluoresceční hybridizace in situ
- vazba denaturované sDNA se specifickou sondou
- **AmnioPCR** je moderní metoda sloužící ke genetickému vyšetření plodu.
- porovnání DNA markerů matky i plodu → stanovení počtu jednotlivých chromozomů u plodu.
- výsledek je následně potvrzen klasickým cytogenetickým vyšetřením
- K dispozici je v současné době vyšetření 21. chromozomu - amnioPCR, nebo sada vyšetřující chromozomy 13,18, 21, X a Y- tzv. multiamnioPCR.



Klinická genetika

Stanovení pohlaví plodu

- volné fetální DNA kolující v krvi matky
- neinvazivní s přesností ~98 %
- od 10. týdne těhotenství
- DNA plodu z venózní krve matky
- z klinického hlediska je určení pohlaví plodu důležité v případě rizika nějaké genetické choroby vázané na určité pohlaví (např. hemofilie).



Preimplantační diagnostika

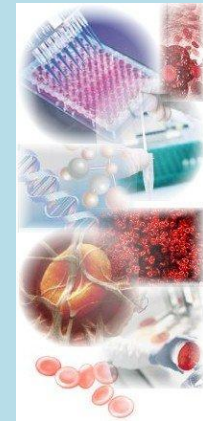
- metodu časně prenatalní diagnostiky, která je vázána na techniky umělého oplodnění. Za účelem minimalizace chyby genetického vyšetření je třeba k oplozování vajíček použít metody intracytoplazmatické injekce spermie
- buňky pro genetické vyšetření jsou odebírány z embrya nejčastěji ve stadiu 8 buněk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

Postnatální diagnostika

- např. trombofilie , cystická fibróza...



Klinická genetika



Trombofilie

- vrožený sklon ke zvýšenému srážení krve
- může být v některých případech pro své nositele výhodná (omezení ztrát krve při poranění)
- i příčinou různých komplikací v těhotenství, při dlouhodobém znehybnění nebo při užívání některých léků může způsobit hlubokou trombózu či plicní embolii
- genetické vyšetření u: gravidních, před začátkem užívání hormonální antikoncepce, před chirurgickým zákrokem

- **Leidenská mutace** – mutace genu pro inhibitor koagulace faktor V - riziko trombembolie ~30 %, genová mutace rs6025 G1691A, R506Q (arg→gln), AD

- **Hyperhomocysteinemie** - mutace enzymu konvertujícího kyselinu listovou – metyltetrahydrofolátreduktáza (MTHFR) - projeví při nedostatku vitaminů B6, B12 a kyseliny listové, genová mutace rs1801133 C677T, AR

- **Defekt antitrombinu (FII)** - mutace koagulačního faktoru II zvyšujícího hladinu protrombinu – riziko trombembolie ~70 – 90 %, genová mutace rs1799963 G20210A

Klinická genetika

Cystická fibróza

- více než 30 mutací, které způsobují toto onemocnění

důvody k vyšetření jsou:

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

