

Genetika vnímavosti/
rezistence k onemocněním u
lidí. Interakce hostitel vs.
patogen

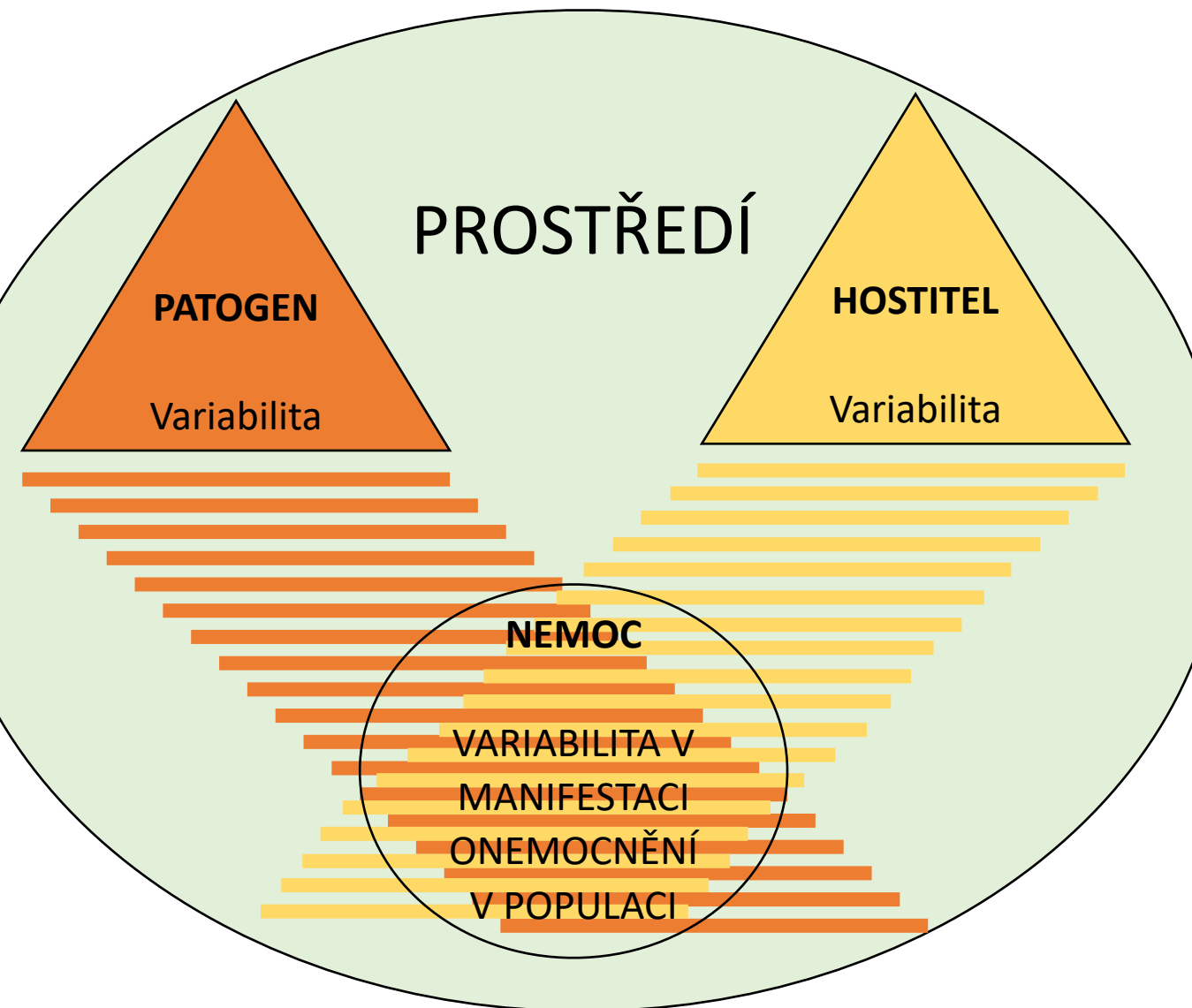
FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ RIZIKO VZNIKU A PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ

- Aktuální stav
- Vakcinace
- Medikamentózní léčba
- Faktory vnějšího prostředí
- Hygiena prostředí
- Genetická variabilita

INTERAKCE HOSTITELE A PATOGENA

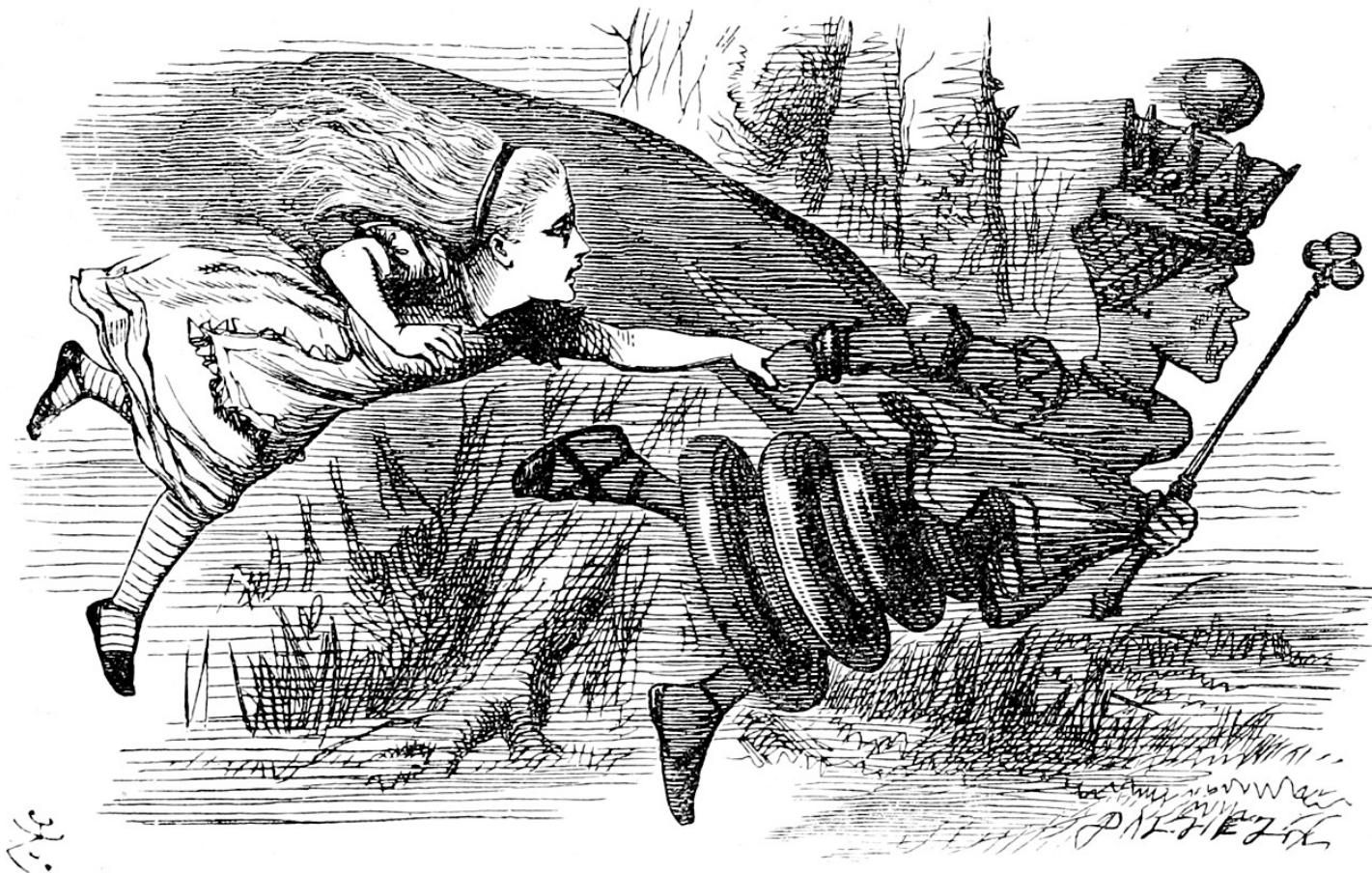
- Patogen x hostitel – boj o přežití
 - Hostitel – dlouhověký, pomalu se adaptující na měnící se tlak patogenů, komplexní imunitní odpověď
 - Patogen – krátkověký, rychle se množící a měnící, rychle hledající nové možnosti jak obejít imunitní mechanismy hostitele
- Různé evoluční strategie
 - Totální destrukce hostitele – namnožení patogena, kolaps imun. Systému hostitele a smrt x nebo naopak eliminace patogena a nastolení dlouhodobé imunity (Orthomixoviry – chřipkové viry, flaviviry – horečka dengue, zapadonilská horečka), filoviry – ebola
 - Bez totální destrukce hostitele – vyžadují zdroje hostitele k množení a přežití, ale infekce nesměřují k likvidaci hostitele. Většina patogenů
 - Dlouhodobá latentní infekce s občasnou exacerbací, herpesvirová onemocnění, toxoplazmoza
- Rozdílná patogeneze onemocnění
 - Patogeneze a průběh onemocnění a klinické příznaky jsou dány buďto především vlastnostmi patogenu nebo naopak reakcí hostitele na přítomnost patogena (typicky u infekcí CNS, poškození nepřiměřenou reakcí imun. Systému)

INTERAKCE HOSTITELE A PATOGENA



- Různé výsledky interakce hostitele a patogena jsou dány také variabilitou obou aktérů a to především v genech imunitní odpovědi (hostitel) a v genech ovlivňujících virulenci (patogen)
- Onemocnění vykazuje variabilitu (vnímavost/rezistence, klin. Příznaky, průběh, závažnost, smrt/přežití)
- Interakce hostitel x patogen
 - na úrovni jedinců
Jedinečná interakce
 - na úrovni populace
Umožňuje adaptaci hostitelské populace na tlak patogenů
Patogenu umožňuje selekci variant schopných virulence
 - Na úrovni genomů = KOEVOLUCE
Tlak, který na sebe navzájem patogen a hostitel vyvolávají, je základní evoluční silou

INTERAKCE HOSTITELE A PATOGENA



Efekt červené královny

Vysvětluje potřebu
neustálého vývoje
druhu pro jeho přežití

"Now, here, you see, it takes all the running you can do, to
keep in the same place."

PATOGEN – mechanismy přežití

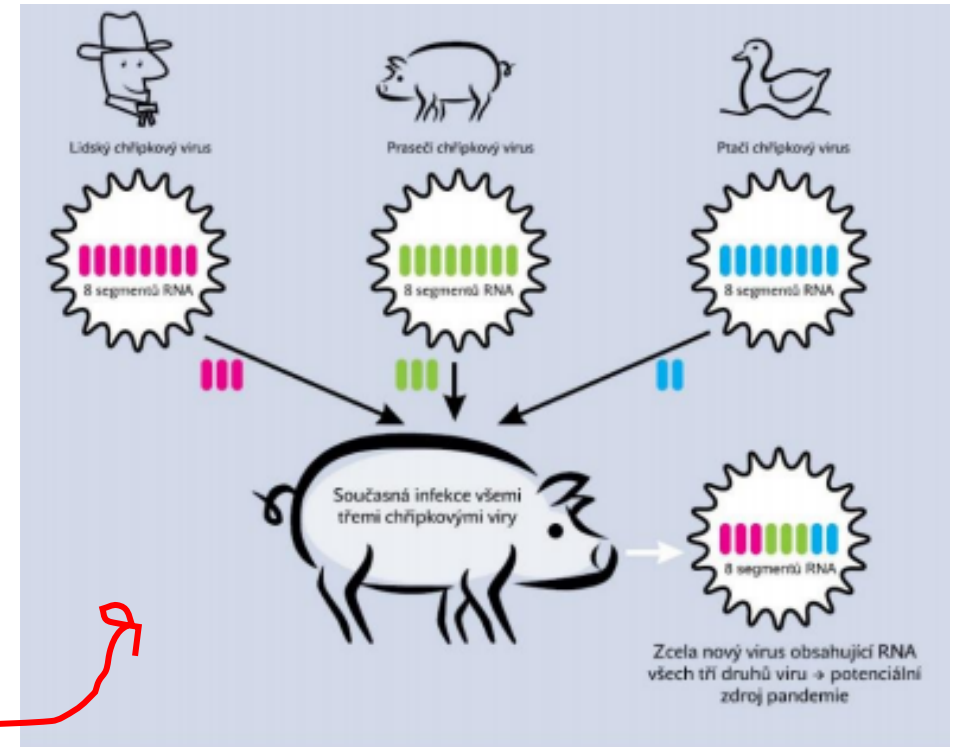
- Změna antigenních struktur
 - Mutace
 - Antigenní variace (Trypanosoma)
- Indukce imunosuprese
 - Omezení exprese MHC I
- Zabránění apoptóze
- Modulace imunitní odpovědi (Th1 vs.Th2)
- Interference s cytokiny

PATOGEN – mechanismy přežití

- Mutace – evoluční nástroj patogenů
- Selektivní prostředí a reakce na něj na genetické úrovni = analogie infekčního a nádorového onemocnění

VIRY

- Mutace RNA vs. DNA
- Zdroj variability RNA virů
 - Mutace (antigenní posun, drift)
 - Přeskupování genů (antigenní zvrát, shift)
- Zdroj variability DNA virů
 - Mutace
 - Rekombinace



VIRY – ANTIVIROVÁ CHEMOTERAPIE

- Provázanost virové replikace s metabolickými drahami hostitelské buňky
- Účinnost na virovou replikaci = toxicita pro buňku
- Potřeba identifikace specifických virových genů/proteinů a mechanismů

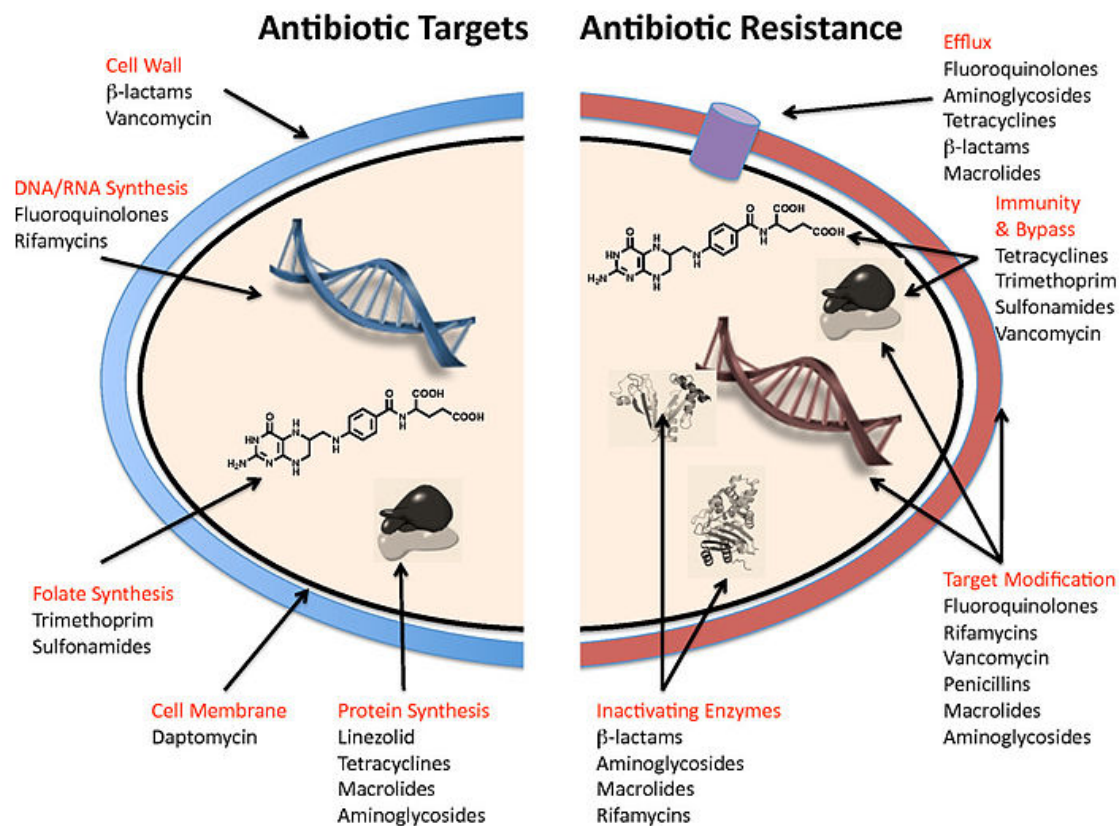
BAKTERIE

- Antibiotická rezistence
 - Přirozená - bakterie nemá cílové struktury účinku antibiotika, nebo je jinak přirozeně odolná (např. gram-negativní bakterie jsou odolné vůči penicilinovým antibiotikům, protože na rozdíl od gram-positivních bakterií jsou chráněné lipopolysacharidovou vrstvou, která zabraňuje vstupu antibiotika do buňky)
 - Získaná - je následek evoluce bakteriálního genomu a selekčního tlaku prostředí

BAKTERIE – ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE

MOLEKULÁRNÍ MECHANISMY ATB REZISTENCE:

- Zabránění přístupu k cílové molekule
 - Snížená propustnost
 - Zvýšený eflux
- Změna cílové molekuly mutací
- Ochrana cílové molekuly
- Přímá inaktivace antibiotik

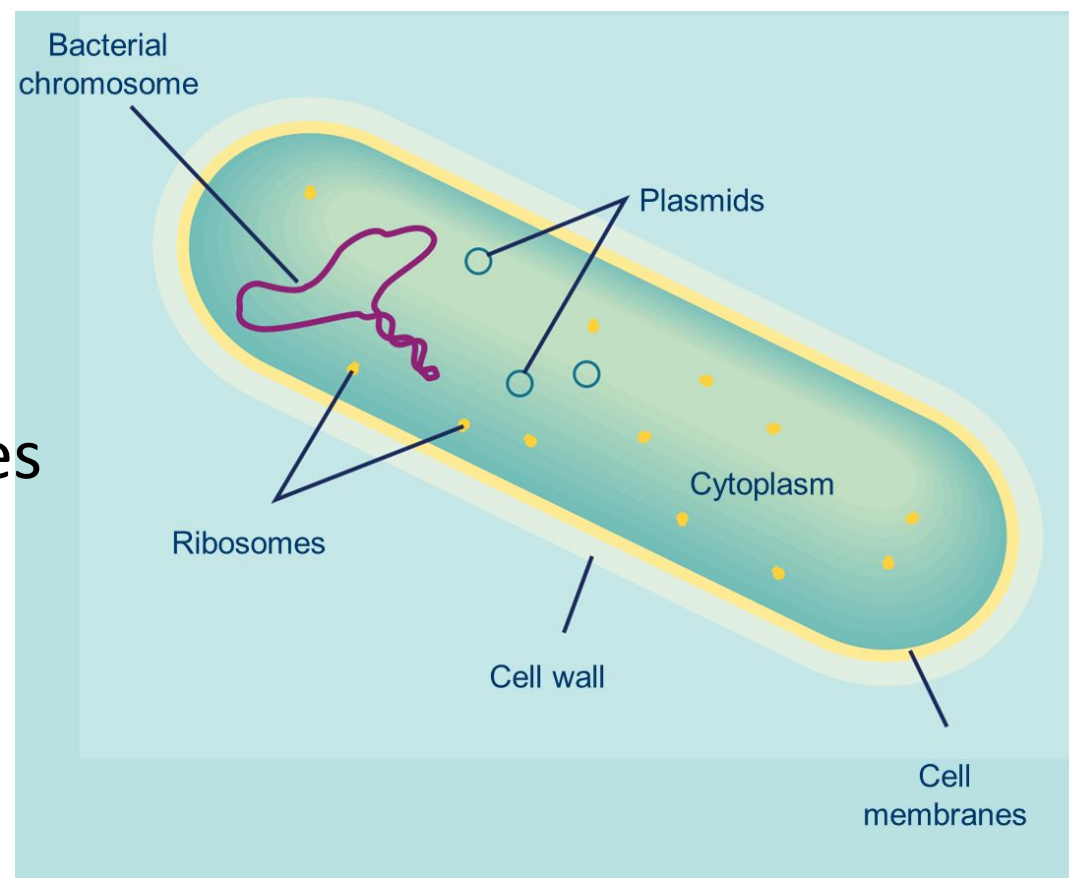


BAKTERIE – ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE

LOKALIZACE GENŮ PRO REZISTENCI SOUVISÍ SE ZPŮSOBEM ŠÍŘENÍ REZISTENCE

1) Chromozomální

- Klonální, vertikální dědičnost
- Získání rezistence je vícestupňový proces
- Selektivní tlak antibiotik
- Změna (mutace) genetické informace již v genomu existující



BAKTERIE – ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE

2) Extra-chromozomální

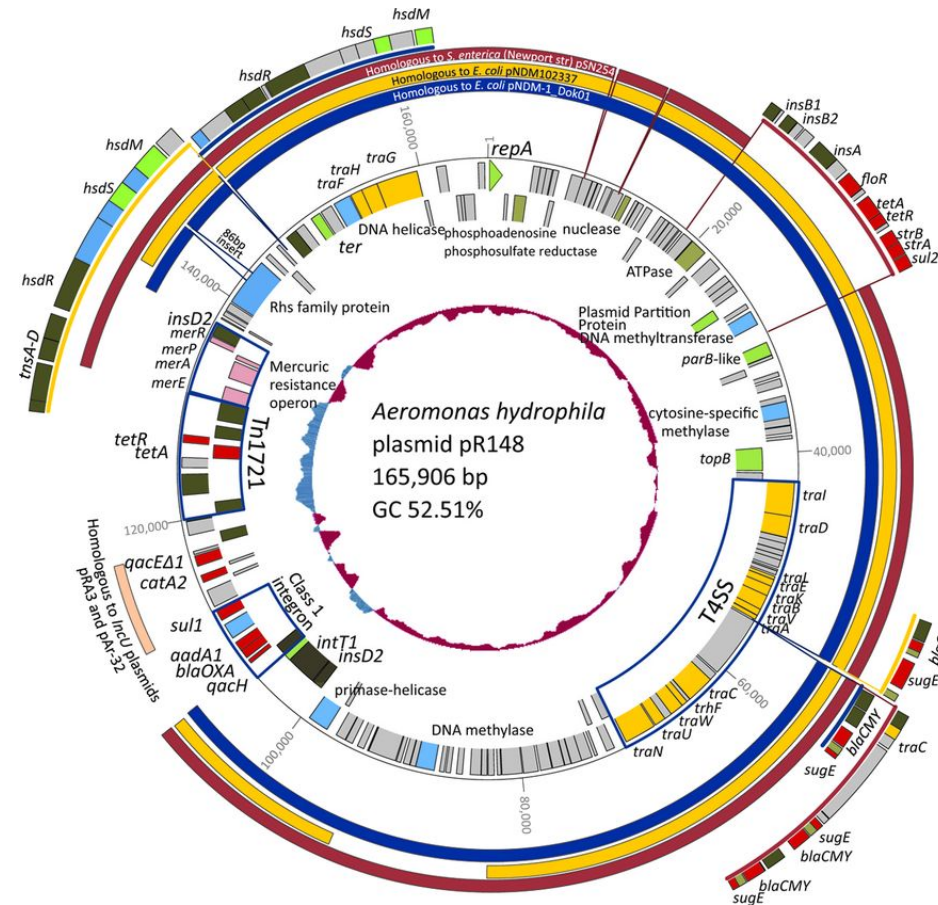
- Vertikální i horizontální přenos
- Rezistence vzniká jednostupňově
- Plazmidy, transpozony, integrony
- Horizontální přenos DNA:
konjugace, transformace, transdukce
- Získání nového genetického materiálu



Figure 1 An electron microscope picture of a small bacterial plasmid.

BAKTERIE – ANTIBIOTICKÁ REZISTENCE

- Multirezistence
- Geny ve vazbě – dědí se společně



Sequencing method	454
Generated Contigs	227
Assembled Contigs	8
Assembled Contig Length	162,778
Annotated genes using:	
CRITICA	169
glimmer2	186
(manually)	147

Functional Categories	
Replication, partitioning, and termination	
Conjugative transfer	
Antimicrobial resistance	
Heavy metal resistance	
Integration, transposition	
DNA processing	
structural	
Cellular processes	
Hypothetical proteins	

1-GC content (blue-GC+, red-GC-)
2-Reverse CDs of pR148
3-Forward CDs of pR148
4-Nucleotide position (relative to <i>repA</i> gene)
5-Region homologous to <i>E. coli</i> pNDM-1_Dok01
6-Region homologous to <i>E. coli</i> pNDM102337
7-Region homologous to <i>S. enterica</i> (Newport) pSN254
8-Inserts found in pNDM-1_Dok01
9-Inserts found in pNDM102337
10-Inserts found in pSN254

HOSTITEL - IMUNOGENETIKA

- Zdroj variability – mutace a rekombinace, ale díky delšímu generačnímu intervalu je to zejména v dlouhodobé evoluční perspektivě
- Vyrovnání se s možnostmi patogenů:
 - Diferenciace imunitního systému, rozvoj komplexních imunitních reakcí
 - Lymfocyty – schopnost rychle se množit a do jisté míry se geneticky měnit
 - Fyzikální bariéry, přítomnost/absence receptorů
 - Etologické charakteristiky

VARIABILITA VE VNÍMAVOSTI / RESISTENCI

- **Mezidruhová** - jedná se o rozdíly v odolnosti mezi různými druhy zvířat. Často je dána typem metabolismu nebo absencí příslušných receptorů u srovnávaného druhu. Tyto mechanismy tvoří tzv. mezidruhovou bariéru. Například nestabilní tělesná teplota a odlišný způsob termoregulace jsou podstatou odolnosti plazů vůči některým infekcím savců (vzteklina aj.). Některé infekční patogeny, jako třeba chřipkové viry nebo virus psinky však dokáží mezidruhovou bariéru překonat a jsou schopny infikovat různé, i nepříbuzné druhy zvířat.
- **Populační (plemenná)** - pozorujeme rozdíly ve vnímavosti či rezistenci mezi jednotlivými plemeny stejného druhu (zvířata) nebo různými populacemi lidí. Plemenná rezistence byla zaznamenána u reakce na některé infekční patogeny i na řadu nepříznivých faktorů prostředí. Příkladem mohou být plemena skotu, která jsou odolná vůči vysokým teplotám prostředí (Zebu, Brahmský skot) nebo trypanosomám (N´Dama).
- **Individuální** - když bychom sledovali střetnutí hostitelské populace určitého plemene s určitým typem patogenu, všimneme si, že každý jedinec bude reagovat trochu jinak. Najdeme jedince velmi odolné, potom řadu jedinců průměrně odolných a dále jedince vnímavé i velmi vnímavé. Výsledek interakce hostitele s patogenem je tedy i v rámci populace jednoho plemene variabilní a vykazuje rozložení jako ostatní kvantitativní znaky.

Rezistence k onemocněním je komplexní znak. Vzhledem k existenci vnitrodruhové variability (na úrovni jedince a dále také na úrovni plemen) můžeme předpokládat, že jednou z příčin pozorované variability jsou faktory genetické, tedy **genetická variabilita** mezi jedinci a plemeny téhož druhu. Různé genetické založení pro základní stavební a funkční jednotky imunitních i neimunitních mechanismů obrany tak přispívá k pozorované variabilitě ve vnímavosti a odolnosti k nemocem u zvířat a má praktický význam pro selekci a šlechtění. Dalšími faktory jsou pak environmentální příčiny, interakce genotypu s prostředím a variabilita patogenů. Environmentální příčiny přispívají zejména k variabilitě individuální, zatímco variabilita v rezistenci na úrovni plemen a druhů je dána převážně geneticky

VARIABILITA VE VNÍMAVOSTI / RESISTENCI

V rámci vnitrodruhové variability v rezistenci k onemocněním rozeznáváme ještě rezistenci obecnou a specifickou.

- **obecná rezistence** poskytuje svým nositelům celkově vyšší odolnost vůči patogenům i vlivům prostředí, je založená multifaktoriálně (tedy podílí se na ní řada genů malého a velkého účinku, to vše modifikováno interakcí s prostředím) a má proto relativně nízkou heritabilitu. Přesto už středověcí chovatelé položili základy šlechtění na obecnou rezistenci, když do chovů upřednostňovali jedince s tzv. silnou konstitucí, zatímco jedinci se slabou konstitucí, tedy obecně vnímaví, byli vyřazováni.

- **specifická rezistence** označuje odolnost vůči jednomu konkrétnímu patogenu nebo skupině patogenů. Je to dáno mechanismem, prostřednictvím kterého se tato rezistence uplatňuje, a většinou platí, že mechanismy rezistence nejsou stejné jako mechanismy vnímavosti. Heritabilita specifické rezistence je řádově vyšší než u obecné rezistence a v některých případech může být dědičnost až jednoduše monogenní (např. rezistence k malárii prostřednictvím mutace v genu pro beta podjednotku hemoglobinu u lidí, rezistence k průjmovým onemocněním vyvolaným F4 kmeny *Escherichia coli* u novorozených selat, vnímavost k infekci virem západonilské horečky u některých kmenů laboratorních myší)

IDENTIFIKACE GENŮ SPOJENÝCH S VNÍMAVOSTÍ / RESISTENCÍ K ONEMOCNĚNÍM

- Užití zvířecích modelů (často není možná extrapolace na člověka)
- Knockout myši
- Linkage studie
- Asociační studie – case- control
 - GWAS – využití SNPs
 - Whole genome sequencing – celogenomové sekvenování
 - Candidate gene studies – analýza kandidátních genů

IDENTIFIKACE GENŮ SPOJENÝCH S VNÍMAVOSTÍ / RESISTENCÍ K ONEMOCNĚNÍM

Table 1. ‘The Big Six’ of human infectious disease genetics. All six genetic variants have a substantial impact (odds ratio > 3) on risk of an important infectious disease and all are prevalent in at least one major human population group.

genetic variant/condition	gene	infectious disease	year reported	reference
sickle haemoglobin	<i>HBB</i>	<i>Plasmodium falciparum</i> malaria	1954	[1]
the Duffy blood group	<i>DARC</i>	<i>Plasmodium vivax</i> malaria	1976	[4]
prion protein gene variant	<i>PRNP</i>	Creutzfeldt–Jakob disease	1991	[29]
Melanesian ovalocytosis	<i>SLC4A1</i>	<i>P. falciparum</i> malaria	1995	[30]
CC chemokine receptor-5 Δ 32	<i>CCR5</i>	HIV-1 infection	1996	[2]
blood group non-secretion	<i>FUT2</i>	Norwalk virus diarrhoea	2003	[31]

Table 2. Loci strongly associated with infectious disease susceptibility. For each gene–disease pair the table indicates whether the association was identified by, or confirmed by, a genome-wide association study (GWAS), whether the association should be detectable by exome sequencing studies and whether the minor allele is associated with protection or susceptibility (or whether different alleles are associated with protection and susceptibility = ‘both’).

gene	disease	GWAS?	exomic?	minor allele	reference
haemoglobin S	malaria		yes	protective	[1]
<i>SLC4A1</i> (ovalocytosis)	malaria		yes	protective	[30]
<i>CCR5</i>	HIV/AIDS		yes	protective	[2]
<i>PRNP</i>	vCJD		yes	protective	[29]
<i>FUT2</i>	norovirus		yes	protective	[31]
Duffy blood group	vivax malaria		no	protective	[4]
<i>HLA-DR/DQ</i>	leprosy	confirmatory	yes	both	[32]
<i>HLA-B</i>	HIV/AIDS	confirmatory	yes	both	[33]
<i>HLA-DQ/DP</i>	HBV	yes	yes	both	[34]
<i>HLA-C</i>	HIV/AIDS	confirmatory	yes	both	[33]
blood group O	malaria		yes	protective	[35]
<i>G6PD</i>	malaria		yes	protective	[36]
<i>CFH</i>	meningococcus	confirmatory	yes	protective	[37]
<i>MAL</i>	bacteraemia		yes	protective	[38]
<i>TLR1</i>	leprosy	confirmatory	yes	protective	[39]
<i>IL-28B</i>	HCV	yes	yes	susceptible	[40]
<i>MBL2</i>	pneumococcus		yes	susceptible	[41]
<i>C13orf31</i>	leprosy	yes		susceptible	[32]
<i>CCDC122</i>	leprosy	yes		protective	[32]

PERSONALIZOVANÁ MEDICÍNA

- Personalized medicine (PM) has the potential to tailor therapy with the best response and highest safety margin to ensure better patient care. By enabling each patient to receive earlier diagnoses, risk assessments, and optimal treatments, PM holds promise for improving health care while also lowering costs (Vogenberg et al., 2010).
- Personalised medicine is an emerging approach to patient care in which an individual's characteristics, including their genetic profile, guide clinical decisions, aiming for the right treatment for the right patient at the right time. It is an evolving field in medicine with many resources dedicated to searching for diagnostic, prognostic and predictive biomarkers (Jackson and Chester, 2015).

PERSONALIZOVANÁ MEDICÍNA & GENOMIKA

- 2001 Human genome project
- Lidský genom velikost: 3×10^9 bp
- NGS = next generation sequencing: Pokrok v sekvenačních technologiích umožňuje sekvenovat (a analyzovat) celý genom v řádech dní (týdnů)
- WGS, WES – celogenomové, celoexonové sekvenování
- 100,000 Genomes Project

PERSONALIZOVANÁ MEDICÍNA & GENOMIKA

Table 1. A comparison of whole genome sequencing, whole exome sequencing and static gene panel techniques

Approach	Definition	Advantages	Disadvantages
Whole genome sequencing (WGS)	Sequencing of the entire genome	<ul style="list-style-type: none"> > Comprehensive > Even coverage enabling identification of dosage abnormalities/structural rearrangements > Detects non-coding variants > Potential to detect disorders caused by DNA repeats, including Fragile X, myotonic dystrophy > Able to detect mitochondrial mutations 	<ul style="list-style-type: none"> > Expensive > Millions of variants, which can be difficult to interpret > Relatively shallow sequencing (fewer reads per gene), which can affect sensitivity; however, this is improving as technology advances > Need a clear system to deal with additional findings
Whole exome sequencing (WES) or clinical exome sequencing	Sequencing of the exons (coding region) of genes or sequencing of the exons of known disease genes	<ul style="list-style-type: none"> > Cheaper than WGS > Analysis not restricted to genes known to cause a given condition > Fewer variants than WGS so easier to interpret > Deep sequencing increases sensitivity > Able to detect mitochondrial mutations 	<ul style="list-style-type: none"> > Less even coverage of the genome, therefore dosage abnormalities are more difficult to detect > Only 1–2% of the genome is covered > Need a clear system to deal with additional findings
Targeted gene sequencing via a static gene panel	Sequencing of a specific list of pre-determined genes that are known to cause a particular phenotype	<ul style="list-style-type: none"> > Cost effective > Very deep sequencing > Fewer variants detected so data easier to interpret 	<ul style="list-style-type: none"> > Difficult to add new genes to the panel as they are discovered as this requires a redesign of the capture process > Less even coverage of the subset of genes, therefore dosage abnormalities are harder to detect > Patients do not benefit from additional health findings

PERSONALIZOVANÁ MEDICÍNA

