



KOMPLEXNÍ CHOROBY



24. 11. 2006

Genetika onemocnění s komplexní dědičností

- **Dědičnost se podílí na většině běžných onemocnění**
- U téměř 2 ze tří jedinců způsobuje během života morbiditu a předčasnou mortalitu nemoci, jako jsou IM, rakovina, duševní choroby, diabetes apod.

Frekvence různých typů dědičných onemocnění:

Typ dědičnosti	Incidence při porodu (na 1000)	Prevalence ve věku 25 let (na 1000)	Prevalence v populaci (na 1000)
Onemocnění způsobená genomovými a chromozomovými mutacemi	6	1,8	3,8
Onemocnění způsobená mutacemi jednoho genu	10	3,6	20
Onemocnění s multifaktoriální dědičností	~ 50	~ 50	~ 600

- Dědičný znak nebo postižení, které buďto je nebo není přítomno ⇒ **diskrétní (kvalitativní) znak**
- Měřitelné vlastnosti (fyziologické nebo biochemické veličiny – TK, výška, hladina cholesterolu, BMI)
⇒ **kvantitativní znaky**

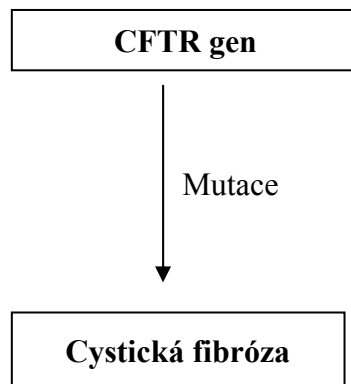
Pochopení dědičné podstaty variability kvantitativních znaků je základem pro porozumění tomu, jak se geny podílejí na vzniku komplexních nemocí.

Problémy, kterými se budeme zabývat

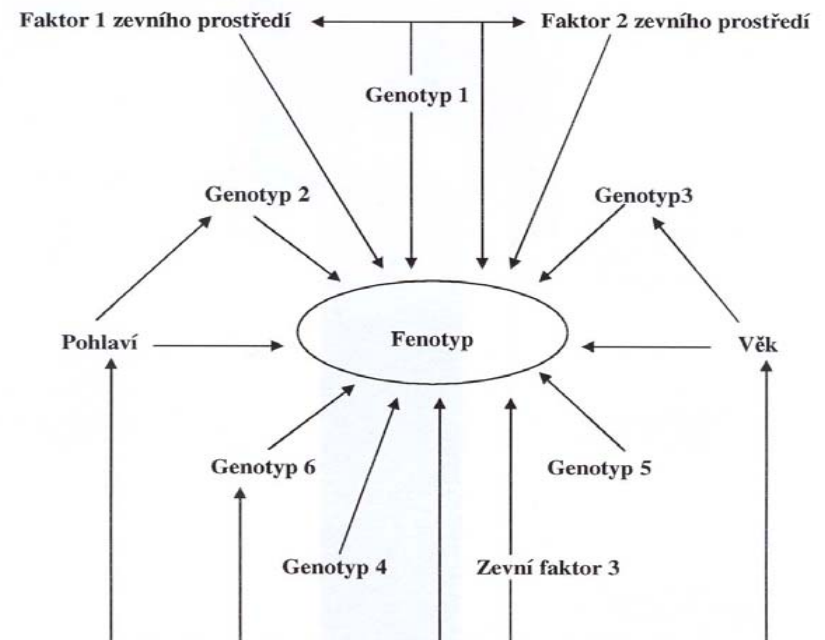
- **Jak zjistit, zda určité geny přispívají ke vzniku častých nemocí a k variabilitě v kvantitativních fyziologických znacích**
- **Popíšeme metody studia těchto chorob**
- **Vysvětlíme metody, které se používají k určení, kolik genů se na vzniku určitého fenotypu podílí a metody, jimiž je zjišťována lokalizace těchto genů v genomu**
- **Nakonec si ukážeme řadu příkladů komplexních nemocí**

Komplexní nemoci

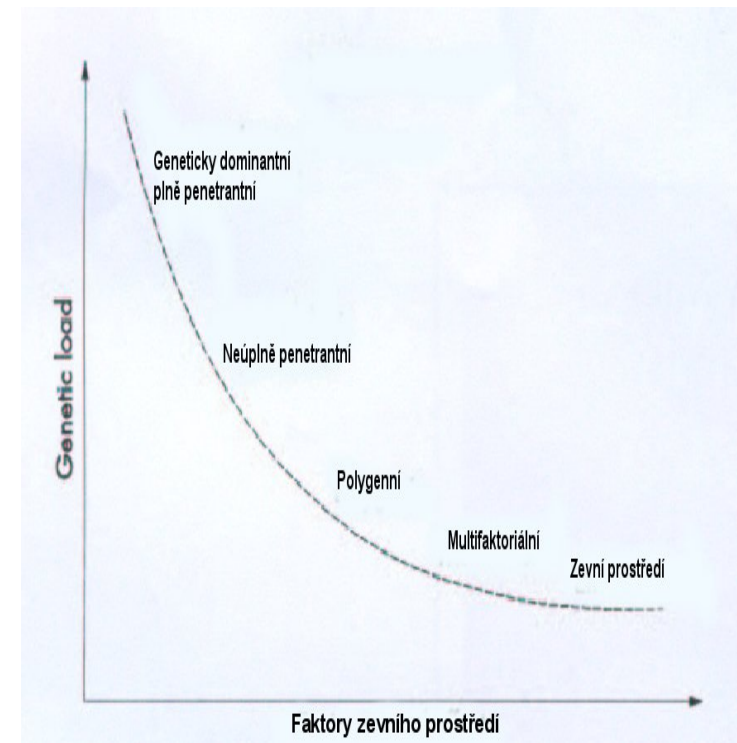
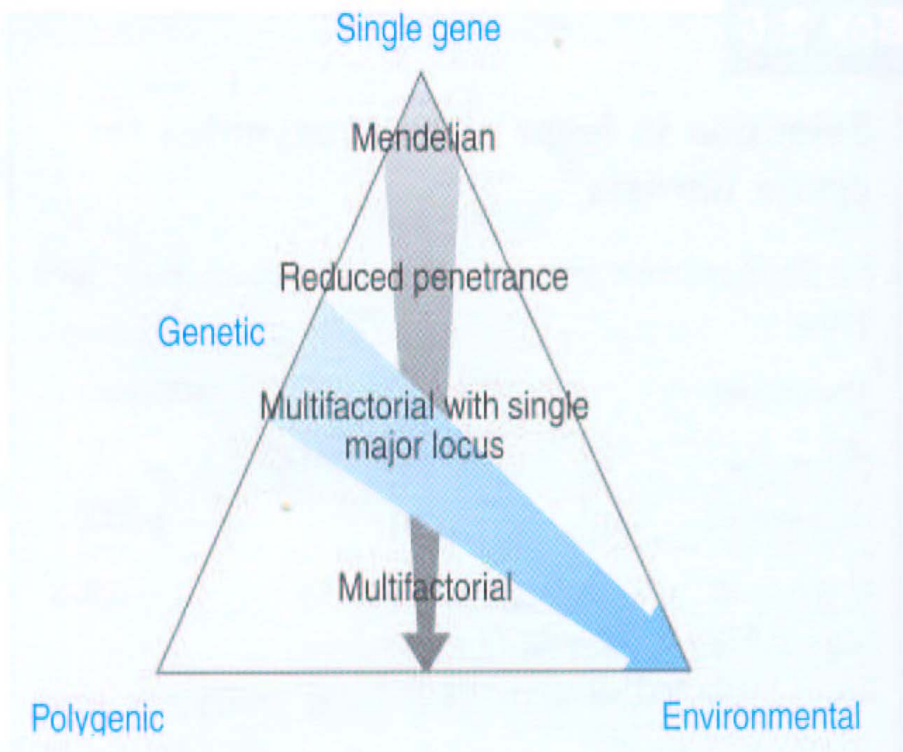
Monogenní nemoc



Komplexní choroba



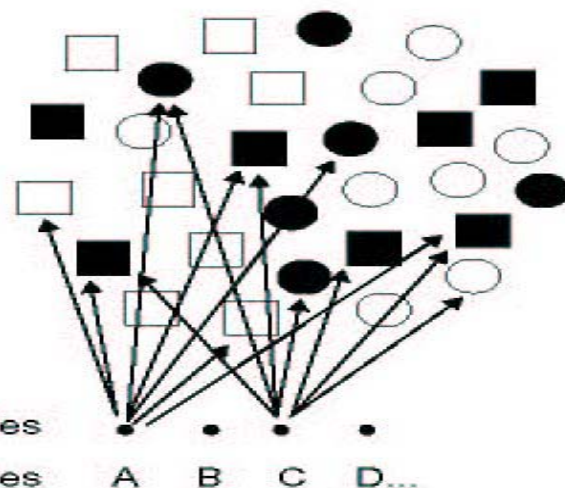
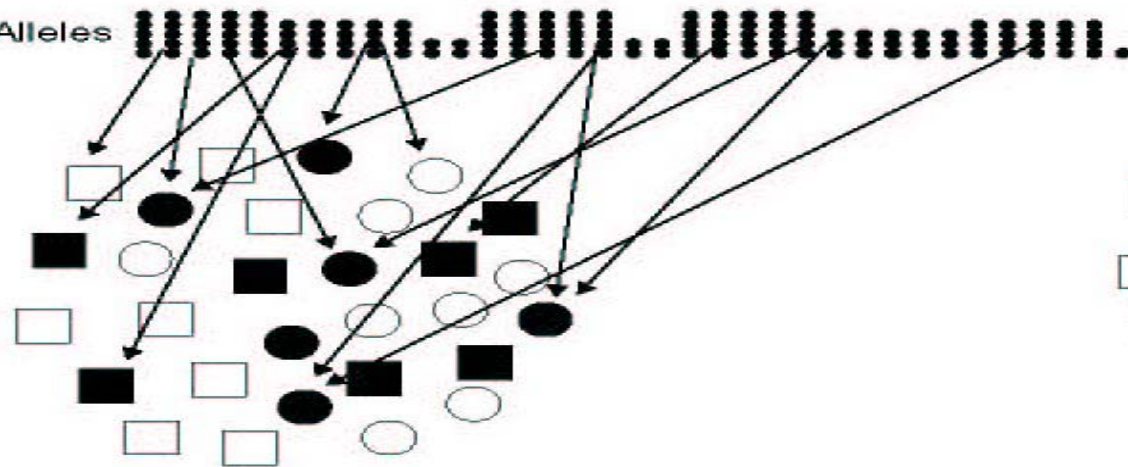
Spektrum lidských chorob



(a)
Multilocus/multiallele hypothesis

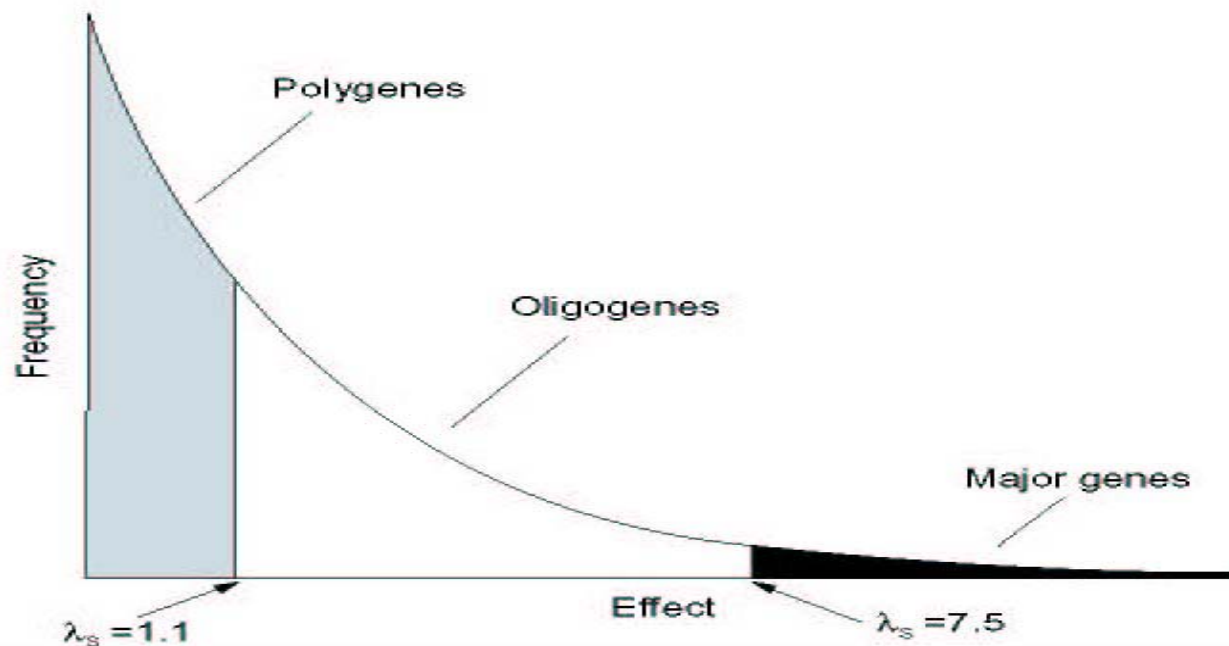
Genes A B C D E F G H I J K L...

Alleles



Common disease/common variant hypothesis

(b)

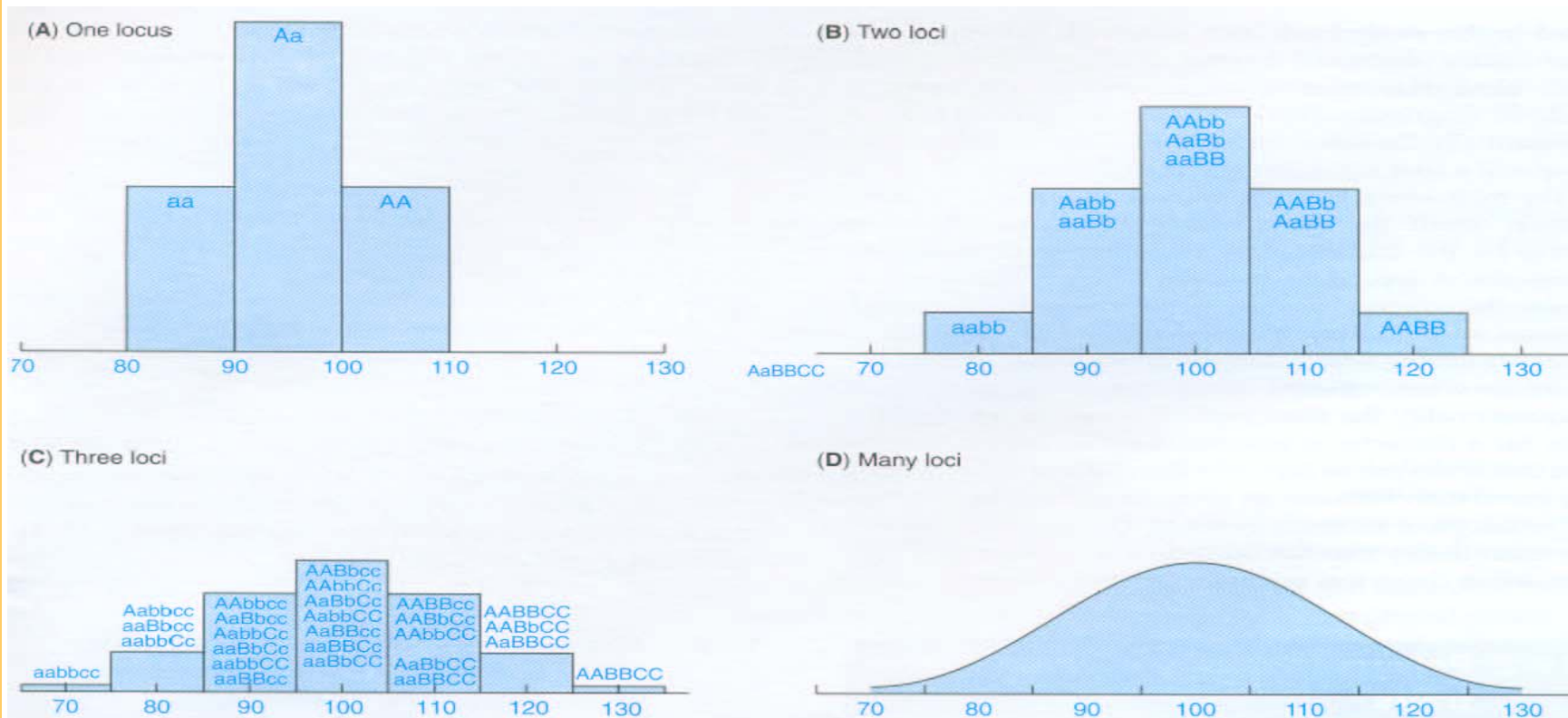


Komplexní nemoci (znaky)

- Stojí na vrcholu pomyslné pyramidy složitosti celé genetiky
- Genotypovou složkou komplexních chorob není striktní determinismus, nýbrž **predispozice** k fenotypové manifestaci nemoci
- Řada **interakcí** : genotyp – genotyp
genotyp – prostředí
- **Epidemiologickou charakteristikou** komplexních chorob
↓
je **statistická kumulace v rodinách**, tj. statisticky významně zvýšená frekvence onemocnění u pokrevních příbuzných daného postiženého jedince bez jasného mendelistického způsobu přenosu

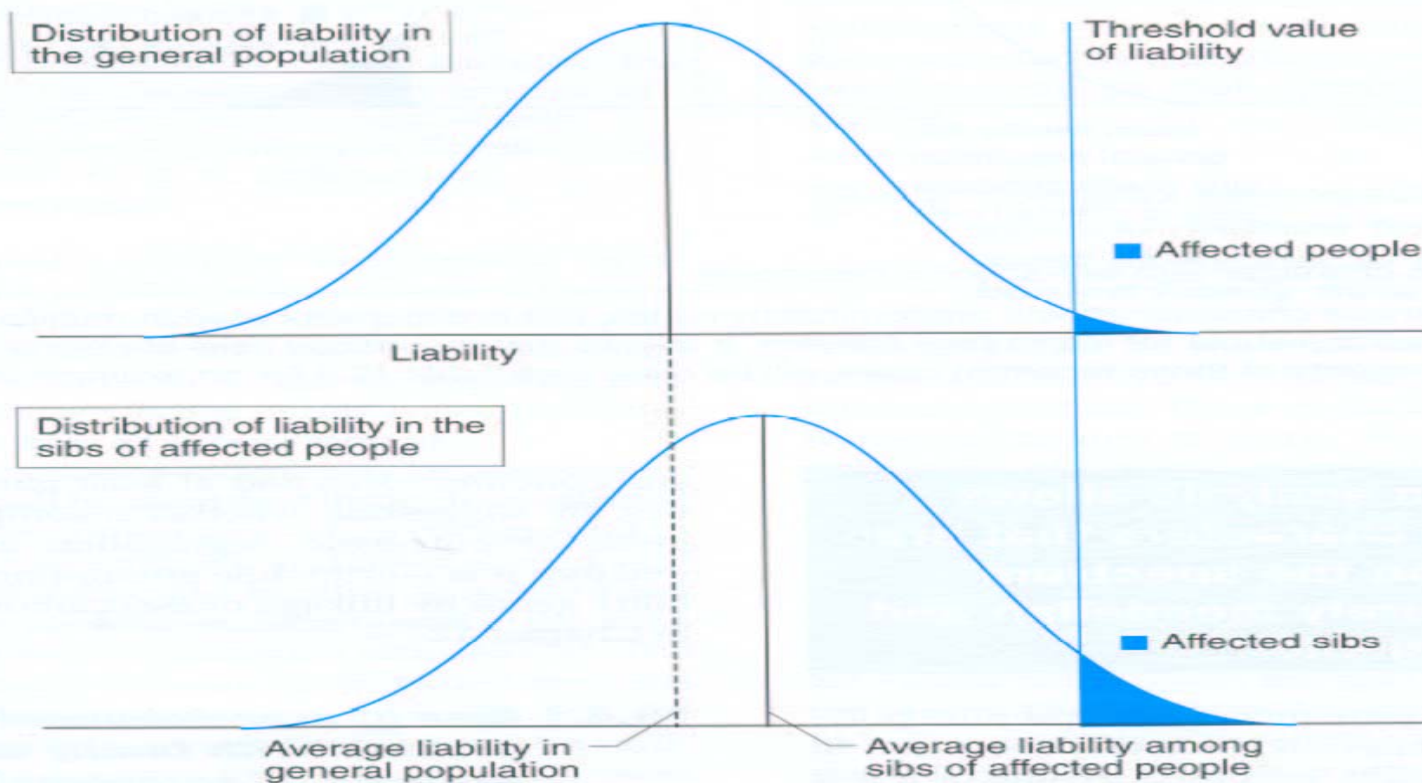
Polygenní model

- Základy genetiky komplexních stavů položil v r. 1918 R.A. Fisher

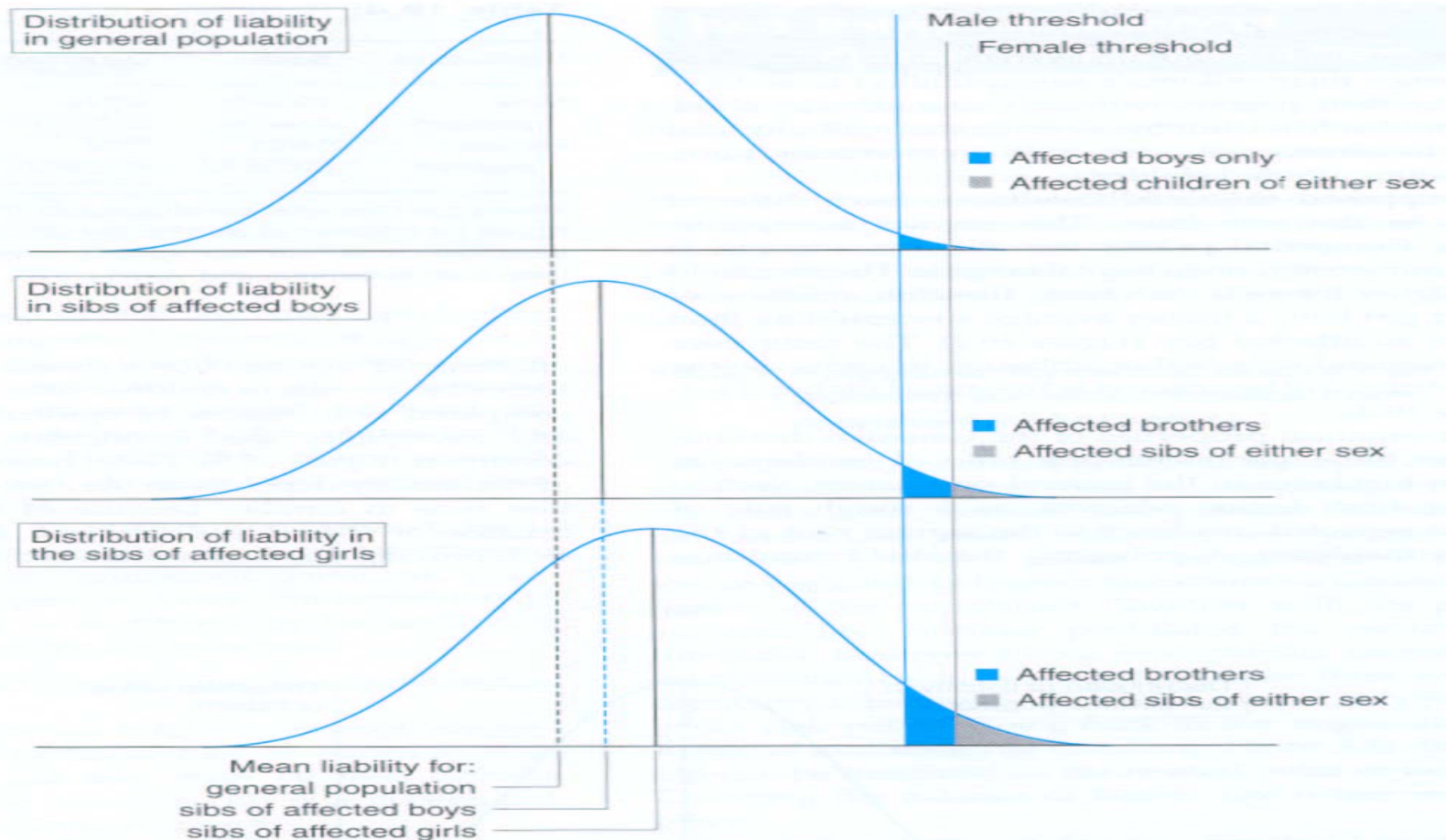


Prahový model

- V polovině 60. let přišel s tzv. prahovým modelem D.S. Falconer



Prahový model s pohlavně rozdílným prahem



Dnešní model

- se od těch klasických v několika ohledech dost zásadně liší
- Je jasné, že **genotypová složka** komplexních znaků **není tak rozsáhlá**, jak se předpokládalo (nezahrnuje stovky, max. desítky genů)
- Genotypová složka **není homogenní** ve smyslu rozsahu účinku jednotlivých genů (zahrnuje geny jak relativně velkého, tak i malého a středního účinku)
- Vzájemný **vztah** jednotlivých predisponujících **genů není** v žádném případě uniformně **aditivní**



vyjádřeno **multiplikativním modelem**

⇒ souhrnný účinek predisponujících genů je roven součinu jejich dílčích účinků (interekční efekty)

Podklady pro hledání genetické determinace:

- **Zvýšený výskyt v rodinách**
- **Zvýšená incidence u dvojčat : MZ > DZ**
- **Dědičnost intermediárních fenotypů:**

Familiární výskyt nemocí

Familiární agregace

- Je charakteristikou nemocí s komplexní dědičností, protože příbuzní sdílejí větší podíl genů navzájem mezi sebou než s nepříbuznými osobami
- Obráceně to platit nemusí – FA neznamena, že se na chorobě musí podílet dědičnost
 - ⇒ rodina nesdílí jenom stejné geny, ale i vnější prostředí, kulturní návyky, vzorce chování apod.
- Nutno posoudit podíl genetických a negenetických faktorů

Konkordance a diskordance

- Mají-li 2 příbuzní jedinci v rodině stejnou nemoc – **konkordantní**
- Je-li jeden postižený a druhý ne – **diskordantní**
 - ⇒ lze vysvětlit jiným vlivem dalších faktorů nutných k nastartování patologického procesu
- Naopak – konkordantní fenotyp může vzniknout i při rozdílných predisponujících genotypech
 - ⇒ nemoc u jednoho z nich je **genokopíí** nebo **fenokopíí** druhého

Konkordance a sdílení alel mezi příbuznými

- Čím blíže jsou si 2 rodinní příslušníci, tím více alel zděděných od společných předků mají totožných
- Pokud geny přispívají ke vzniku onemocnění významně, stoupá konkordance pro dané onemocnění s rostoucím stupněm příbuznosti

- extrémní případ: MZ dvojčata

- příbuzní 1. řádu: rodič + dítě (společná 1 alela s každým z rodičů)

pár sourozenců vč. fraternálních (DZ) (25% má stejnou dvojici alel nebo žádnou alelu, 50% má stejnou 1 alelu)

⇒ s každým lokusem je tedy průměrný počet mezi sourozenci sdílených alel
 $0,25 (2 \text{ alely}) + 0,5 (1 \text{ alela}) + 0,25 (\text{alel}) = 1 \text{ alela}$

- Pokud tedy geny k nemoci predisponují, lze očekávat, že λ_r bude nejvyšší pro MZ dvojčata, nižší pro příbuzné 1. stupně a dále klesá úměrně počtu sdílených alel

Vztah k probandovi	Podíl s probandem sdílených alel
Monozygotická dvojčata	1
Příbuzní prvního stupně	1/2
Příbuzní druhého stupně	1/4
Příbuzní třetího stupně	1/8

Podíl relativního rizika (λ_r)

⇒ vyjadřuje, kolikrát vyšší pravděpodobnosti onemocnění čelí definovaný příbuzný nemocného jedince ve srovnání s obecným rizikem populace

$$\lambda_r = \frac{\text{prevalence nemoci u příbuzných „r“ postižené osoby}}{\text{prevalence nemoci v populaci}}$$

r – znamená obecně příbuzný („relative“), v praxi se měří např. λ_s („sibs“), λ_p („parents“)

Podíly relativního rizika λ_r příbuzných probandů s vybraným onemocněním

- Čím vyšší je hodnota λ , tím větší je familiární agregace a tím snažší je genetická analýza daného komplexního znaku.
- Hodnota $\lambda_r = 1$ znamená, že příbuzný nemá větší pravděpodobnost vzniku nemoci než kterýkoliv jedinec v populaci

Onemocnění	Vztah	λ_r
Schizofrenie	MZ dvojčata	48
	Sourozenci	12
Autismus	MZ dvojčata	2000
	Sourozenci	150
Manio-depresivní (bipolární) porucha	MZ dvojčata	60
	Sourozenci	7
Diabetes mellitus I. typu	MZ dvojčata	80
	Sourozenci	12
Crohnova choroba	MZ dvojčata	840
	Sourozenci	25
Roztroušená skleróza	MZ dvojčata	800
	Sourozenci	24

MZ = monozygotická

Údaje upraveny a převzaty z Rimoin DL, Connor JM. Pyeritz RE. Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics, 3. vyd., Edinburgh, Churchill Livingstone 1997; a King RA, Rotter JI, Motulsky AG. The Genetic Basis of Common Diseases. Oxford, England, Oxford University Press 1992.

Studie dvojčat

- „experiment přírody na lidech“
- Základním přístupem je tradičně **stanovení stupně fenotypové shody** u MZ a DZ dvojčat → minimalizace relat. vlivů zevního prostředí



čím vyšší je fenotypová shoda MZ oproti DZ dvojčatům, tím vyšší je relativní genetický příspěvek studovaného komplexního znaku

- **Výhody:** umožňují abstrahovat od variability prostředí

Porovnání konkordance u MZ a DZ dvojčat

- Vyšší konkordance u MZ dvojčat oproti DZ dvojčatům je silným argumentem pro přítomnost **genetických faktorů** (zejména u onemocnění s časným výskytem)**

Onemocnění	Konkordance (%)	
	MZ	DZ
Netraumatická epilepsie	70	6
Roztroušená skleróza	17,8	2
Diabetes mellitus 1. typu	40	4,8
Schizofrenie	53	15
Osteoartróza	32	16
Revmatoidní artritida	12,3	3,5
Psoriáza	72	15
Rozštěp rtu s/bez rozštěpu patra	30	5
Systémový lupus erythematodes	22	0

Údaje převzaty a upraveny z Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics, 3. vyd., Edinburgh, Churchill Livingstone 1997; a King RA, Rotter JL, Motulsky AG The Genetic Basis of Common Diseases. Oxford, England, Oxford University Press 1992; Tsuang MT. Recent advances in genetic research on schizophrenia. J Biomed Sci 1998;5:28-30.

Omezení studií dvojčat

- MZ dvojčata i přes totožný genotyp nemají stejnou genovou expresi (např. náhodná X-inaktivace u žen)
- Ve skupinách lymfocytů se MZ budou lišit díky somatickým chromozomálním přestavbám v lokusech pro Ig a T-buněčný receptor
- Nitroděložní prostředí nemusí být pro obě stejné
- Expozice faktorům zevního prostředí nemusí být stejná (zejména u chorob s pozdní manifestací)
- Posun zjištění – 1 postižené dvojče přivede 2. (volunter based ascertainment = zjištění na základě dobrovolnosti) místo toho, aby byla nejprve zjištěna jako dvojčata a pak vyšetřena (population based ascertainment -

Heritabilita (h^2)

- Je definována jako **relativní podíl variability podmíněné geneticky na celkové variabilitě znaku**

$$h^2 = V_G/V_P$$

[Variabilita fenotypu (V_P) = genetická variabilita (V_G) + variabilita zevních faktorů (V_E)]

- čím je vyšší a blíží se jedné, tím vyšší je obecný příspěvek genetické složky ve fenotypu

Nejjednodušší způsob odhadu dědivosti (heritability) znaku je
⇒ dvojnásobek rozdílu korelačního koeficientu MZ a DZ dvojčat

Odhad heritability ze studií dvojčat

- Rozptyl hodnot fyziologických měření u množiny párů MZ dvojčat (100% genů) je porovnán s rozptylem hodnot měření u dvojic DZ dvojčat (50% genů)

rozptyl u DZ dvojčat – rozptyl u MZ dvojčat

$$h^2 = \frac{\text{rozptyl u DZ dvojčat} - \text{rozptyl u MZ dvojčat}}{\text{rozptyl u DZ dvojčat}}$$

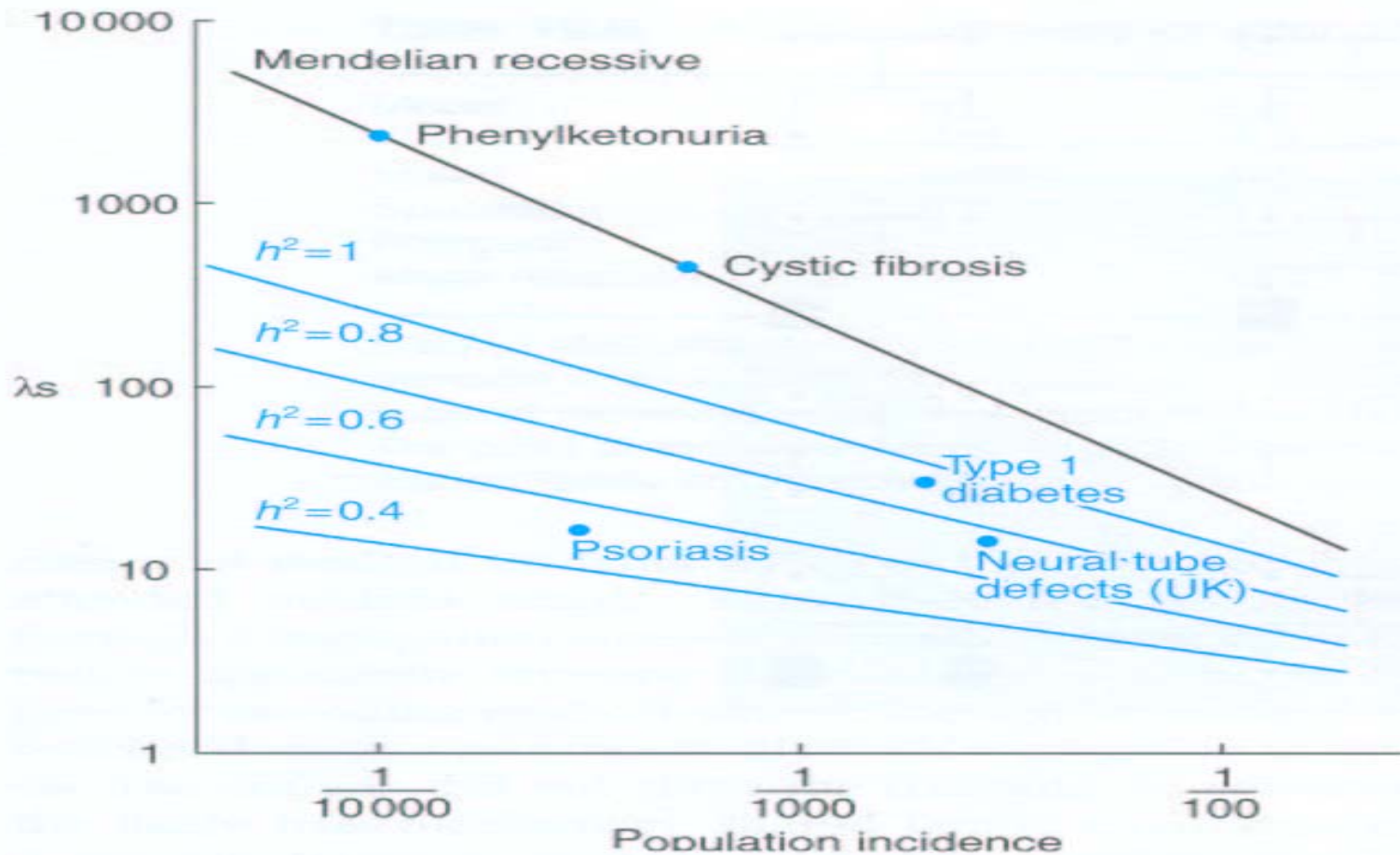
rozptyl u DZ dvojčat

- Je-li variabilita znaku určena zejména prostředím, je rozptyl u DZ dvojčat blízký rozptylu u MZ a čítec a tím i hodnota h^2 se bude blížit 0.
- Pokud je variabilita dána pouze genetickým složením, rozptyl u MZ dvojčat je nulový a h^2 je rovno 1.

Heritabilita běžných komplexních nemocí (znaků)

Astma	60 %
Krevní tlak	40-70%
Kostní denzita	60-80%
Degenerace plotének	60-80%
IDDM	70%
Obezita	50-90%
Osteoartritida	50-70%
Revmatoidní artritida	60%
Ulcerativní kolitida	50%

Vztah mezi incidencí v populaci a incidencí u příbuzných postižených osob



Genetická analýza komplexních chorob

- Důležité je **definovat studovaný fenotyp**

Komplexní choroby (astma, cukrovka)



konglomerát fenotypů nižších úrovní

⇒ **Intermediární fenotypy** – např. hladiny IgE, bronchiální hyperreaktivita u astmatu

Vágní stanovení fenotypu → komplikace při porovnávání různých nezávislých studií

Genetická analýza komplexních nemocí

- má **vždy statistický charakter**

⇒ zdědění jednotlivé patologické alely není ani nezbytné, ani dostatečné pro manifestaci komplexního fenotypu

Fenotyp

=

Zevní faktory

+

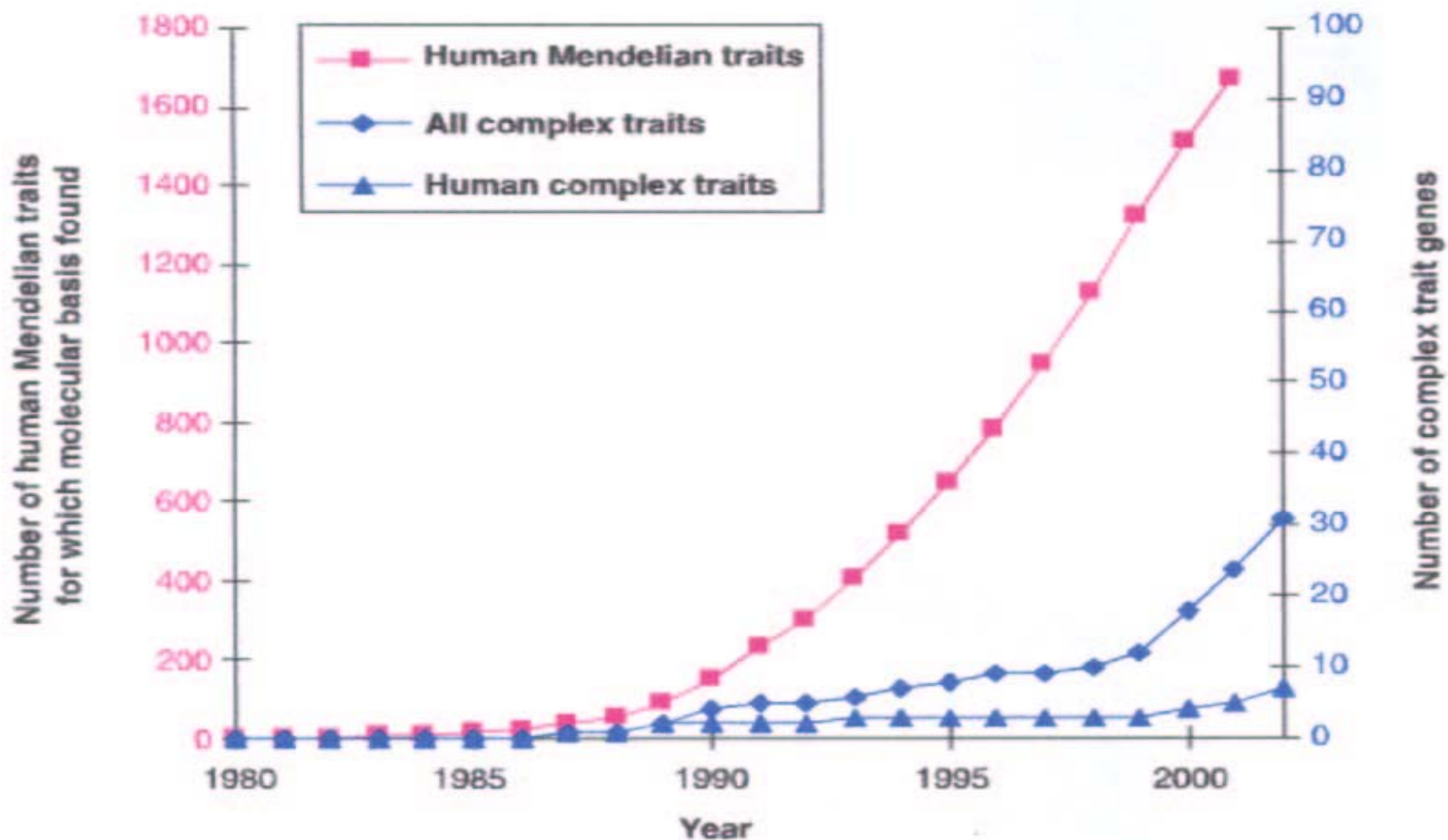
Genet. faktory

+

Geny + zevní faktory

- Dosud se nepodařilo charakterizovat žádnou komplexní polygenní chorobu ve formě úplného souboru „patologických“ alel a jejich interakcí (navzájem a se zevními faktory)

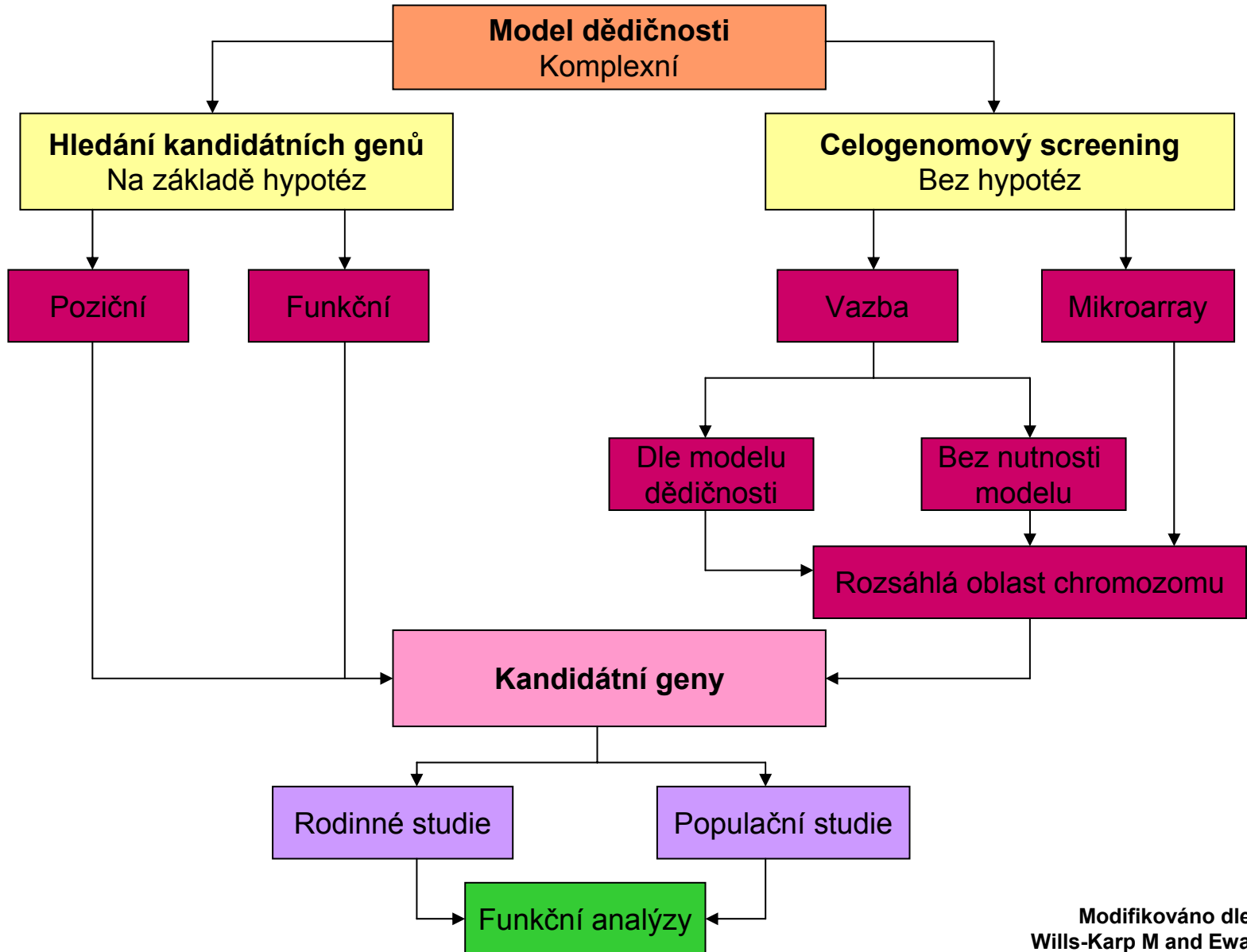
Hledání genů Mendelistických a komplexních chorob



Molekulární základ komplexních nemocí u člověka

Trait	Gene	Molecular basis	Formal complementation?
		<i>Human</i>	
Type 1 diabetes	HLA-DQB	Aspartic acid at position 57 is protective	No
Type 1 diabetes	HLA-DQA	Multiple amino acid substitutions	No
Type 2 diabetes	CADY10	Intronic haplotype	No
Crohn's disease	CARD15*	Multiple amino acid substitutions, single nucleotide insertion at nucleotide position 3020 causing frameshift and protein truncation	No
Alzheimer's disease	ApoE	Arginine substituted for cysteine at position 112	No
Asthma	ADAM33	Coding and noncoding haplotype pairs	No
Angiotensin I-converting enzyme levels	ACE	Multiple intragenic SNPs	No

Metodologie genetického výzkumu komplexních nemocí



Metodologie genetického mapování komplexních znaků (nemocí)

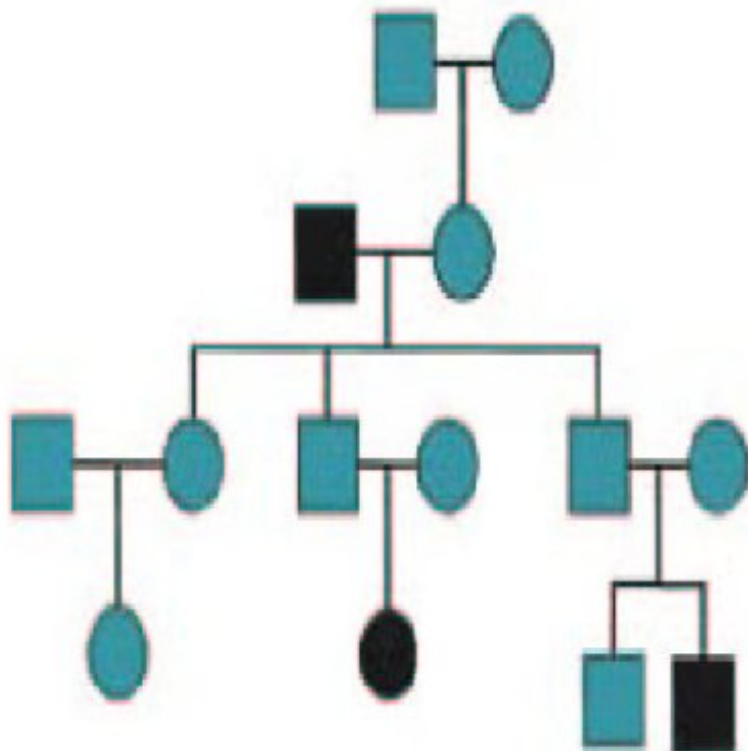
- Studie na modelových organizmech
- **Vazebné studie** – parametrické
↓
neparametrické
TDT analýza
- **Asociační studie** – retrospektivní („case-control“)
↓
prospektivní

Celogenomová analýza x studium jednoho (několika)
polymorfizmů

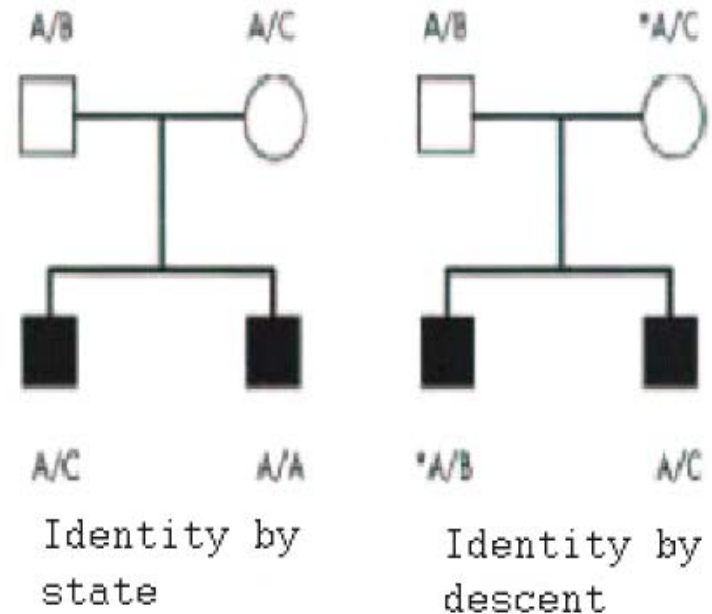
Vazebné studie (linkage studies)

parametrické neparametrické

Klasická vazebná analýza v rodinách



Sdílení alel
(např. sib pair metod)

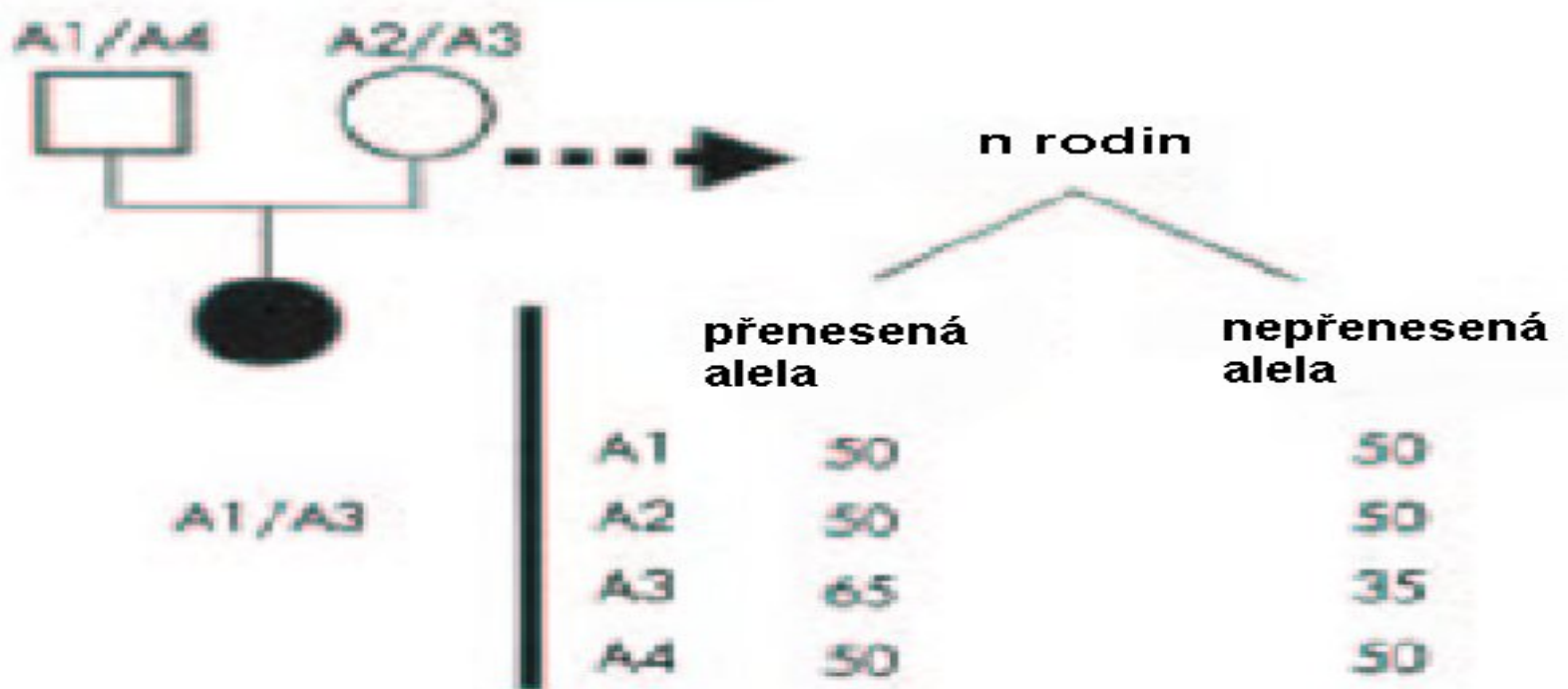


LOD skóre

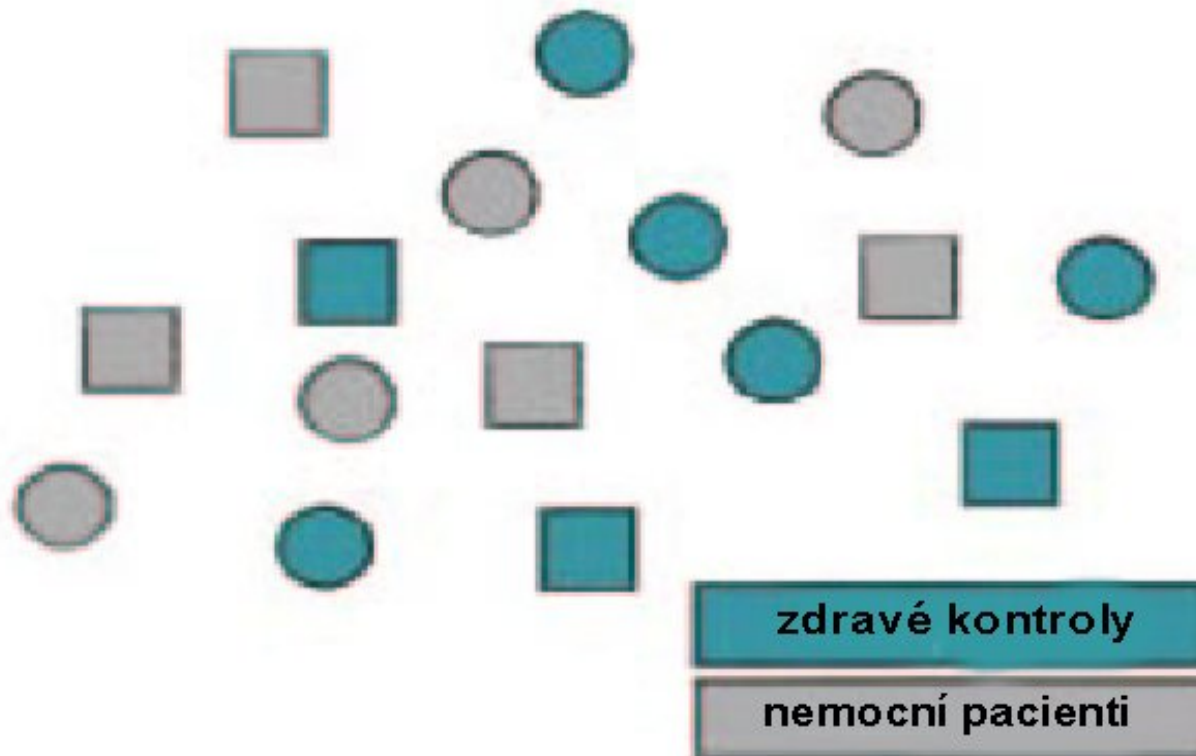
- **Statistická metoda vyhodnocující genetické markery v rodinách** s cílem určit, zda jsou 2 lokusy vázány. Lod skóre je logaritmus šance (odds), že tato vazba existuje.
- **Konvenčně je LOD skóre 3** (šance 1000:1 ve prospěch existence vazby) přijímáno jako **důkaz vazby** a lod skóre – (minus) 2 (100:1 proti) jako důkaz, že lokusy nejsou vázány.

TDT analýza (transmission disequilibrium test)

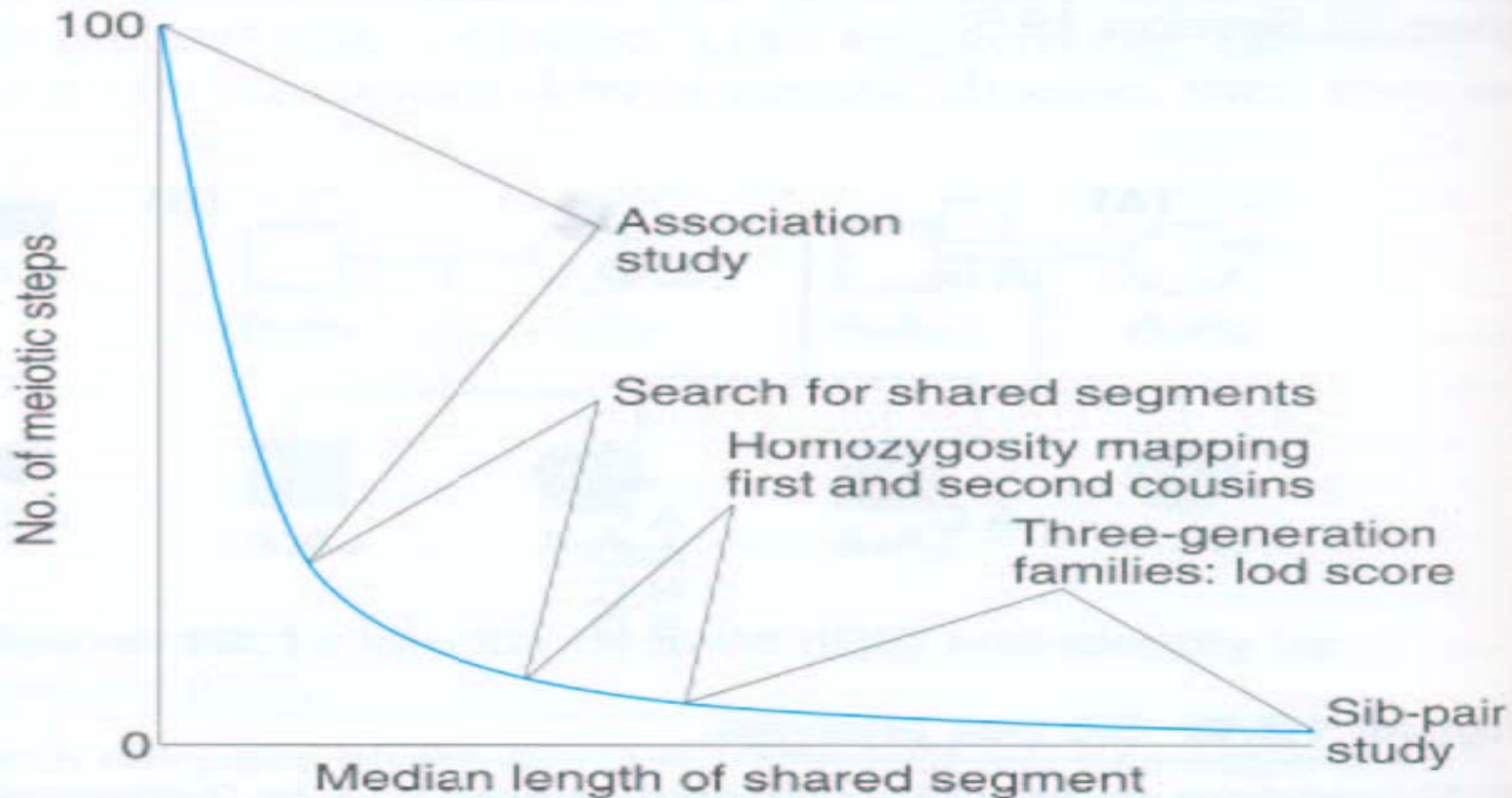
TDT test



Asociační studie



Rodinné a asociační studie – dva konce kontinua



Asociace je principem zcela odlišná od vazby

Linkage (vazba) - je vztah mezi lokusy

Asociace – je statistický údaj o společném výskytu alel či fenotypů
(vztah mezi alelami či fenotypy)



Alela A je asociována s chorobou D, když osoby, které trpí D mají A více (nebo méně často) než lze předpokládat z výskytu frekvencí D a A v populaci.

!!! Problematika výběru kontrolní skupiny!!!

Možné příčiny „pozitivní“ asociace

- **Kauzální souvislost**
- **Přirozená selekce**
- **Populační stratifikace**
- **Statistický artefakt**

!Hodnoty pravděpodobností asociačních studií **musí být korigovány:
ne $p=0.05$ (event. 0.01) ale $p=0.05/n$ (Bonferonni correction)**

- **Linkage disequilibrium**

- **Posun zjištění (ascertainment bias)**

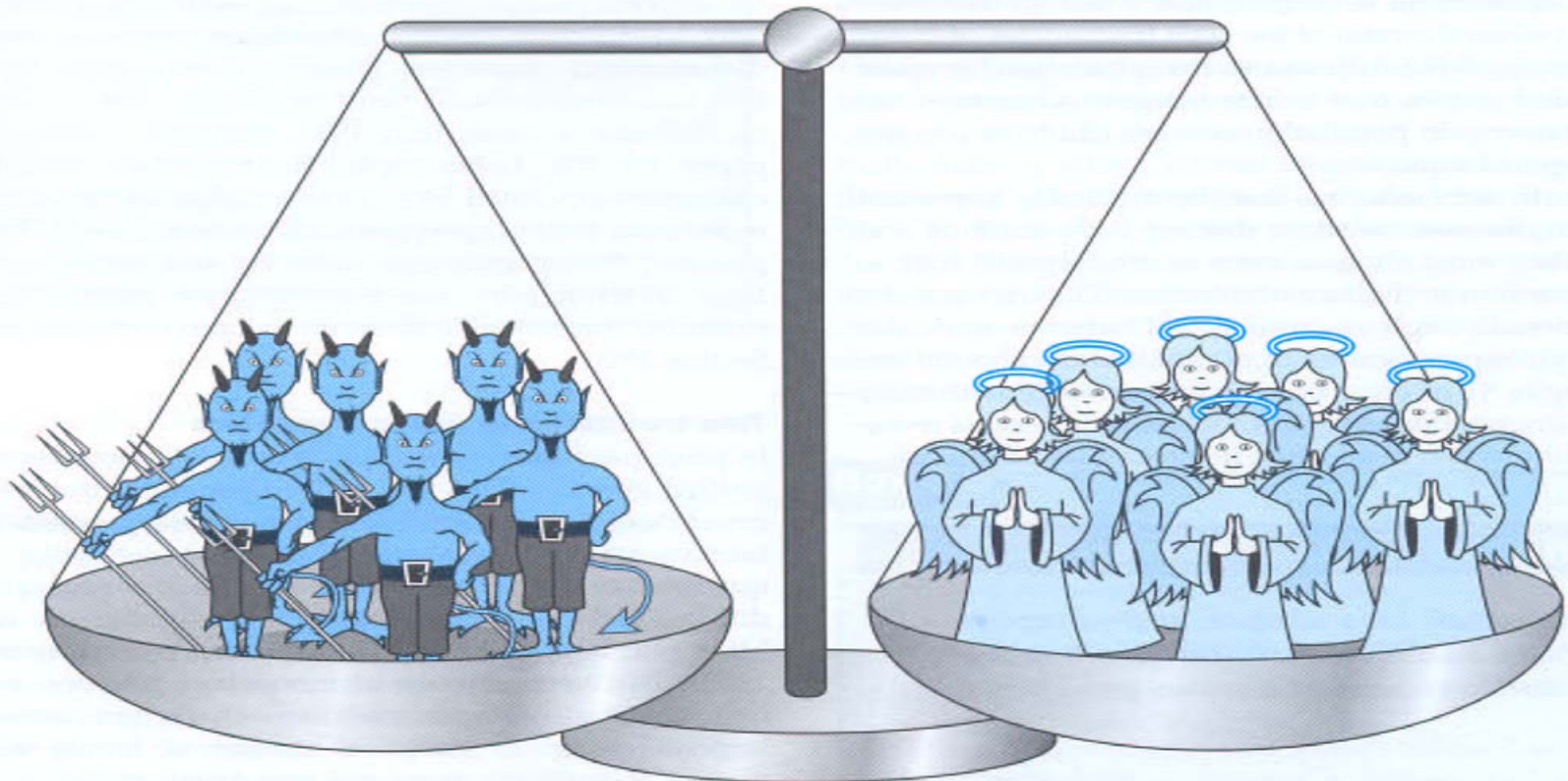
- tj. rozdíl v pravděpodobnosti, s jakou budou nahlášeni postižení příbuzní pacientů ve srovnání s postiženými příbuznými kontrol

- **Posun hlášení (recall bias)**

- větší motivace příbuzných probanda k vyplnění dotazníku, protože je jim dané onemocnění bližší

Problematika studia komplexních nemocí

Polygennost → více faktorů - tzv. „malé“ faktory



Heterogenita

(klinického fenotypu - genetická – populační)

	Allelic heterogeneity	Locus heterogeneity	Phenocopy
Definition	When two or more alleles of a single locus are independently associated with the same trait	When two or more DNA variations in distinct genetic loci are independently associated with the same trait	The presence of a disease phenotype that has a non-genetic (random or environmental) basis
Diagram			
	Trait heterogeneity	Phenotypic variability	
Definition	When a trait, or disease, has been defined with insufficient specificity such that it is actually two or more distinct underlying traits	Variation in the degree, severity or age of onset of symptoms exhibited by persons who actually have the same trait or disease process	
Diagram			

Interakce faktorů

	Gene-gene interaction	Gene-environment interaction
Definition	When two or more DNA variations interact either directly (DNA-DNA or DNA-mRNA interactions), to change transcription or translation levels, or indirectly by way of their protein products, to alter disease risk separate from their independent effects	When a DNA variation interacts with an environmental factor, such that their combined effect is distinct from their independent effects
Diagram	<p>Allelic variant I of locus A Allelic variant II of locus B</p> <p>No disease Disease X</p>	<p>Allelic variant I of locus A Environmental factor K</p> <p>No disease Disease X</p>

Genokopie

Genotyp determinující velmi podobný fenotyp determinovaný odlišným genotypem

Fenokopie

Fenotyp, který je obvykle podmíněn specifickým genotypem, je u fenokopie podmíněn interakcí nějakého faktoru zevního prostředí s normálním fenotypem

Inkompletní penetrance

zděděné příslušné sady patologických alel ještě nemusí nutně vést ke klinicky manifestnímu onemocnění

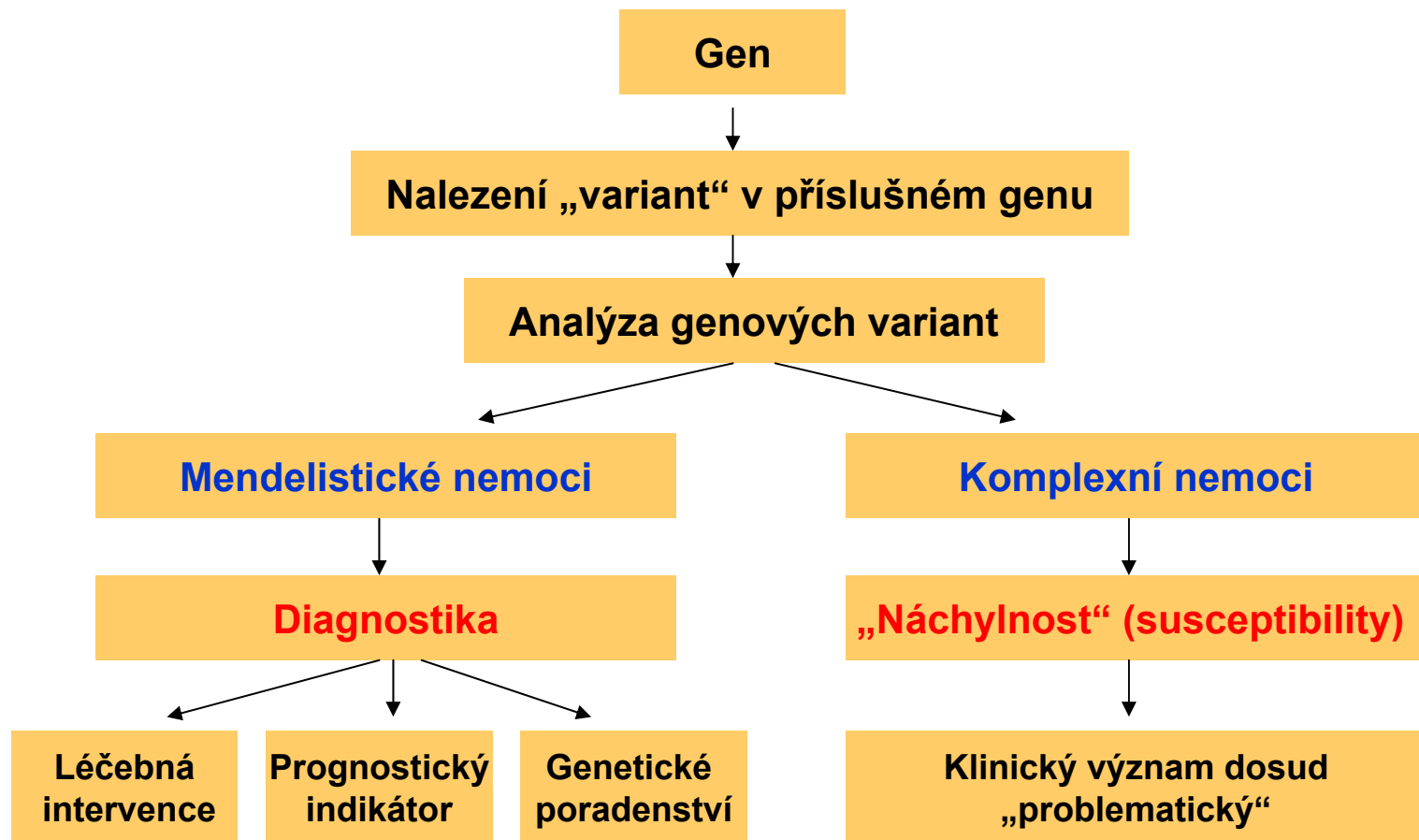
Pleiotropie

Mnohočetné fenotypové efekty jednoho genu nebo jednoho páru genů

Imprinting

modifikace maternálních a paternálních genů během gametogeneze tak, že mají odlišnou expresi v zygotě (fenomén odlišné exprese alel v závislosti na rodičovském příspěvku)

Genetická analýza komplexních nemocí vs. monogenních chorob



Vyjádření „rizika“ u komplexních nemocí

- **Riziko** = pravděpodobnost vývoje onemocnění
Numericky: 0 – 1

Znaky (genetické, environmentální,...), které zvyšují tuto pravděpodobnost
⇒ **rizikové faktory:**

- Výsledky různých studií daného RF by měly být konzistentní
- Asociace by měla být silná a specifická (nezávislá na jiných faktorech)
- Odpověď dávka/efekt
- Biologická věrohodnost

Síla asociace

- Síla asociace je vyjádřena **podílem nadějí (odds ratio)** vypočítaným z frekvence dané alely u pacientů a kontrol

$$OR = \frac{A/C}{B/D} = \frac{AD}{BC} = \frac{(41)(9)}{(11)(5)} = 6.71$$

- Je-li frekvence studované alely shodná u pacientů i kontrol, je podíl nadějí = 1

		Condition:		Total
		Yes	No	
Exposure	Yes	41 (A)	11 (B)	52 (A+B)
	No	5 C	9 D	14 C+D
Total		46 A+C	20 B+D	66 A+B+C+D

- Jinou, ale podobnou mírou asociace je vyjádření **relativního rizika (RR)**, které porovnává riziko vzniku nemoci při nosičství určité alely s rizikem bez nosičství této alely

$$RR = \frac{A/A+B}{C/C+D} = \frac{(349)(1786)}{(1076)(7974)} = 1.45$$

- U vzácných onemocnění se přibližně rovná i podílu nadějí
($b < d$ a $a < c$)

		Condition:		Total
		Yes	No	
Exposure	Yes	349 (A)	1437 (B)	1786 (A+B)
	No	1706 C	6898 D	7974 C+D
Total		1425 A+C	8335 B+D	9760 A+B+C+D

Alergické choroby – příklad komplexních chorob

- Celosvětově řazeny mezi závažnou skupinu civilizačních nemocí - komplexní nemoci
- **„Alergie“** - z řečtiny (allos ergeia) =
změněná schopnost reakce
(von Pirquet, 1906)
- **„anafylaktická reakce“** - už z r. 2140 př. n. l.
(faraon Menes po bodnutí hmyzem)

Alergie

= imunopatologický stav **neúčelné obrany** organismu,



vyjádřen **nepřiměřenou specifickou odpovědí na antigení podnět**



navozující **zánětlivé změny ve tkáních** a vedoucí k poruše funkce orgánů



GENY



**ATOPIE
BHR**

PROSTŘEDÍ

Alergeny
Viry
Polutanty



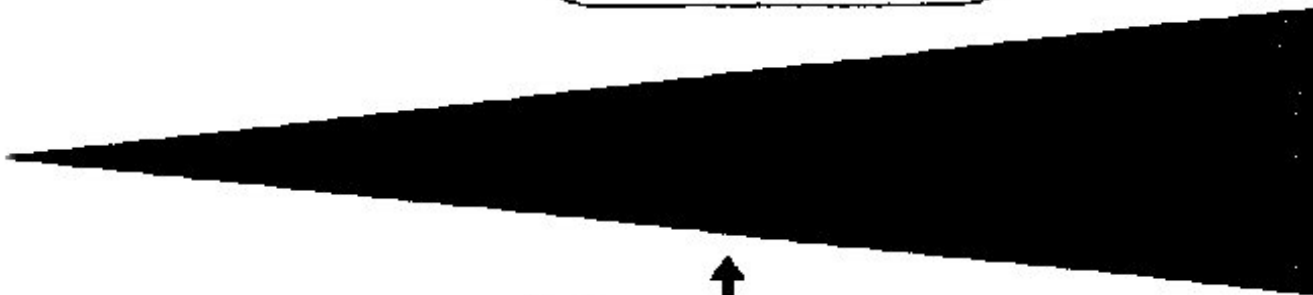
ASTMA

Mírné

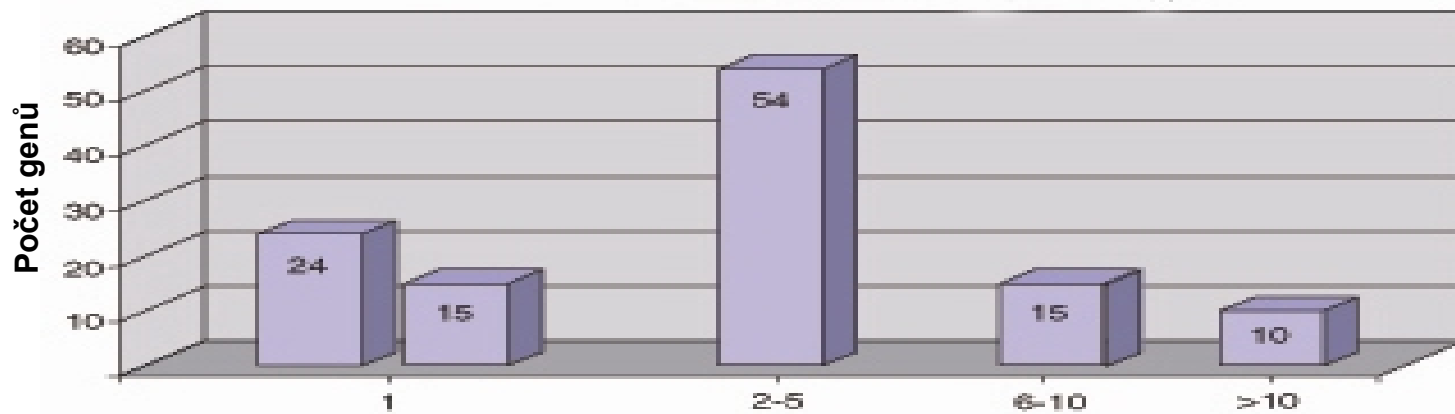
Závažné



**GENY
PROSTŘEDÍ**



Genetika astmatu 2006



Počet studií s pozitivními asociacemi

CHIA (0)	COX2 (1)
VCAM1 (0)	AGT (1)
CLCA1 (0)	HMNT (3)
DAP (3)	STAT4 (1)
SELP (0)	CCR3 (2)
CHRM3 (0)	TLR9 (3)
ST2 (0)	IL8 (1)
ICOS (0)	EDNRA (1)
IL8RA (0)	UGRP1 (3)
MUC7 (0)	EDN1 (1)
PGDS (0)	IKAP (2)
IL15 (0)	FLAP (2)
IRF2 (0)	MCP1 (3)
IRF1 (0)	IFNGR2 (1)
IL3 (0)	IL13RA1 (1)
CYFIP2 (0)	
SDF1 (0)	
C3AR1 (0)	
PTGER2 (0)	
AACT (0)	
IL12RB1 (0)	
SSCE (0)	
TIMP1 (0)	
CXCR3 (0)	

KCNS33	NAT2
ACP1	DEFB1
IL1RN	TLR4
IL1A	C5
IL1B	GATA3
DPP10	ALOX5
CCR5	CRTH2
IL5RA	IL18
TLR6	AICDA
TLR10	VDR
TLR2	IFNG
CSF2	PHF11
IL5	CYSLTR2
IL12B	TCRA/D
TIM1	CMA1
TM3	PTGDR
HLA-G	CARD15
HLA-DQA1	NOS2A
HLA-DPB1	CRHR1
TAP1	CCL11
PAFAH	TBX21
EDN1	STAT3
IFNGR1	ITGB3
CCL24	ACE
CCL26	C3
CFTR	GSTT1
NOS3	MIF

GSTM1
IL10
CTLA4
SPINK5
LTC4S
LTA
GRPA
NOD1
CC16
GSTP1
STAT6
NOS1
CCL5
TBXA2R
TGFB1

IL4
IL13
CD14
ADRB2
HLA-DRB1
HLA-DQB1
TNF
FCER1B
IL4RA
ADAM33

Celogenomové analýzy u alergických nemocí

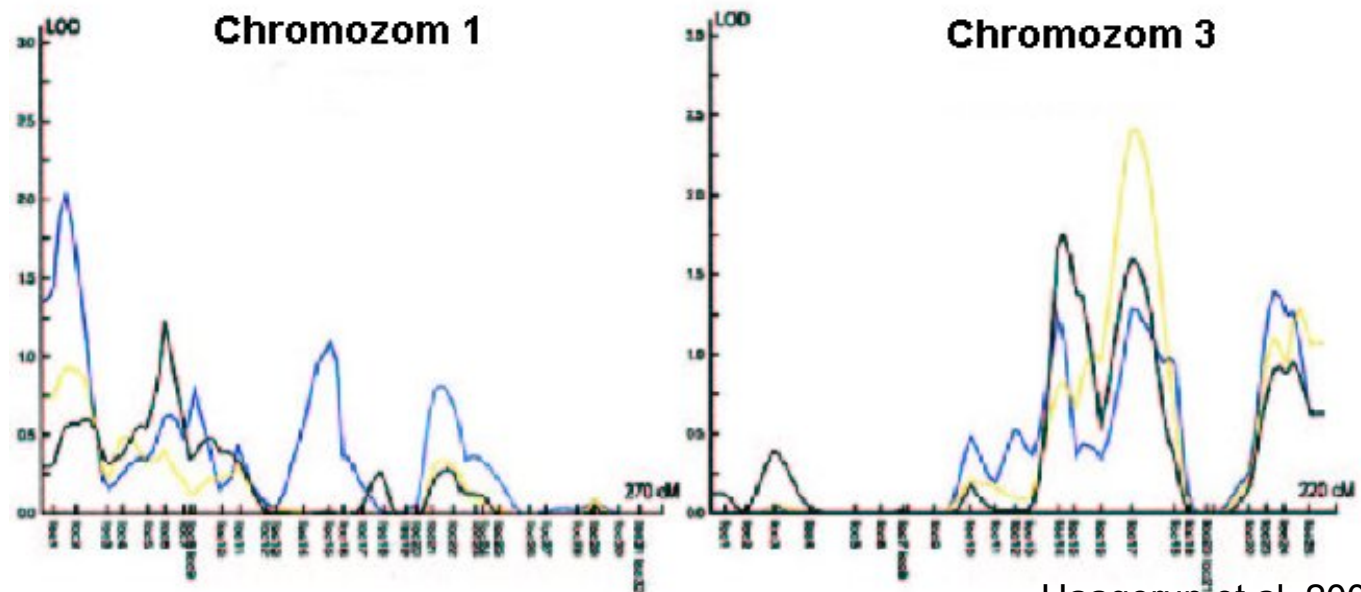
- dosud 12 celogenomových studií
(<http://cooke.gsf.de/asthmagen>)
- Detekce oblastí chromozomů s možnou vazbou na výskyt alergických chorob nebo intermediárních znaků (IgE, eosinofily, kožní testy apod.)
- celogenomová signifikance – vzácná, většinou „podezřelé“ oblasti
- některé výsledky se opakují, některé rozdílné (jiná populace, jiná metoda, jinak definovaný fenotyp)

Oblasti chromozomů „podezřelé“ z účasti na genetice astmatu

Cytogenetický lokus

1p31
2p
2q33
3p
3q21
4q24 q27
4q35
5p15
5q31 q33
6p23 p21
7p15 p14
7q35
9q31
11p15
11p13
11q13
12q15 q24
13q21
13q31
14q11
16p12
16q22 q24
17p12–17q11
17q12–21
19q13
21q21
Xq28 (Yq28)

■ **Atopie**
■ **Alergické astma**
■ **Celkové IgE**



Astma a další alergické nemoci



Gen pro ADAM33 (A Disintegrin And Metalloproteinase 33)

- **první gen** asociovaný s astmatem a BHR nalezený na základě celogenomové vazebné analýzy (Eerdewegh et al. 2002)
 - **exprese: fibroblasty a hladká svalovina** bronchů
 - **funkce:**
 - zinek-dependentní metaloproteináza, zakotvená v plazmatické membráně
 - mj. interakce s membránově vázanými enzymy a receptory, extracelulární komunikace
 - účast v remodelaci dýchacích cest u astmatu
- gen: chromozom 20p13**

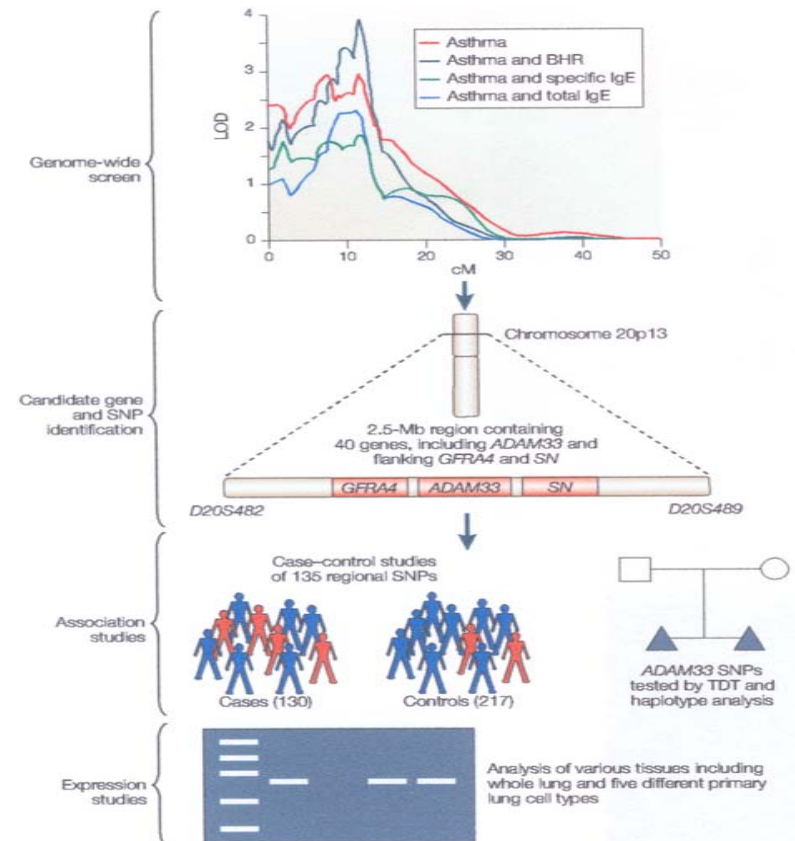


TABLE II. Asthma-related phenotypes associated with SNPs in *ADAM33*

Population	Phenotype	S1 (V→I)	S2	ST+4	ST+7	T1 (M→T)	T2 (P→S)	V-1	V4
Dutch	Positive ST	$P = .037^*$	$P = .014^\dagger$		$P = .046^*$			$P = .050^*$	
	Total serum IgE								
African American	Positive ST			$P = .022^\ddagger$					$P = .017^\ddagger$
	Total serum IgE								
US white	Positive ST		$P = .031^*$			$P = .0033^*$	$P = .0037^*$		
	Total serum IgE								
US Hispanic	Positive ST			$P = .032^*$		$P = .0099^*$	$P = .0092^*$	$P = .020^\ddagger$	
	Total serum IgE								

ST, Skin test.

*Common allele is recessive.

†Codominant model.

‡Common allele is dominant.

Gen pro DPP10 (DiPptidyl Peptidase 10)

- Allen et al (2003) - vazebnou analýzou na chromozomu 2q
- Potvrzení TDT analýzou 144 rodin
- Sekvenování oblasti o 1,5 MB → 105 SNP



nejsilnější asociace s WTC122

nejběžnější alela asociována s astmatem a fenotypy
(také haplotypy s touto alelou)

- Case-control studie 1047 dětí z Mnichova



asociace s prick testy, atopií a astmatem

- **Funkce:** - modulace zánětlivého procesu v dýchacích cestách ?
- regulace neuronální (parasymatická ganglia) ?

Gen pro PHF11

(**P**lant **H**omodomain (PHD) **F**inger protein-11)

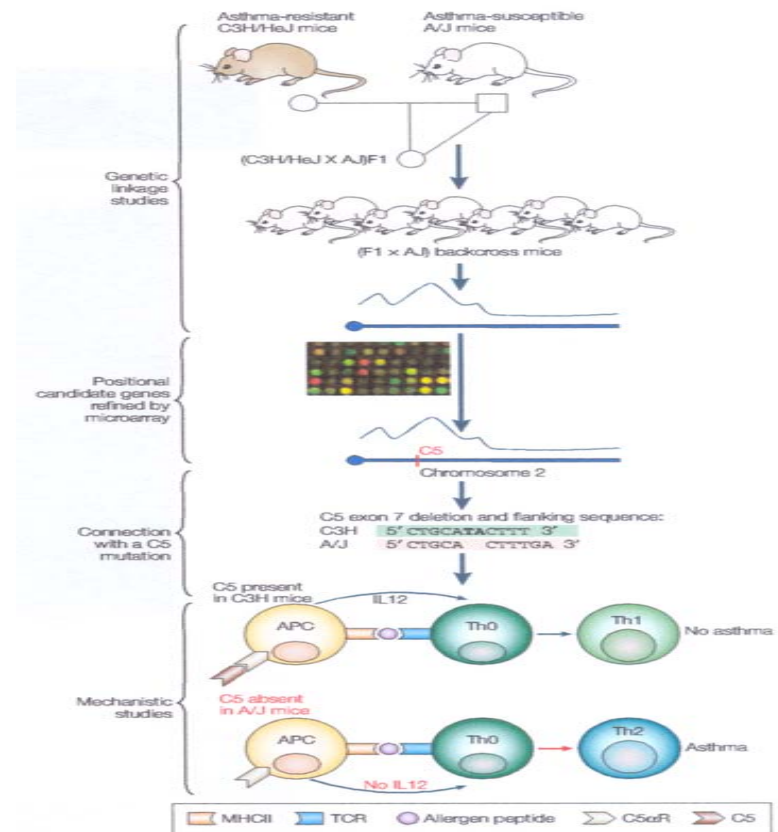
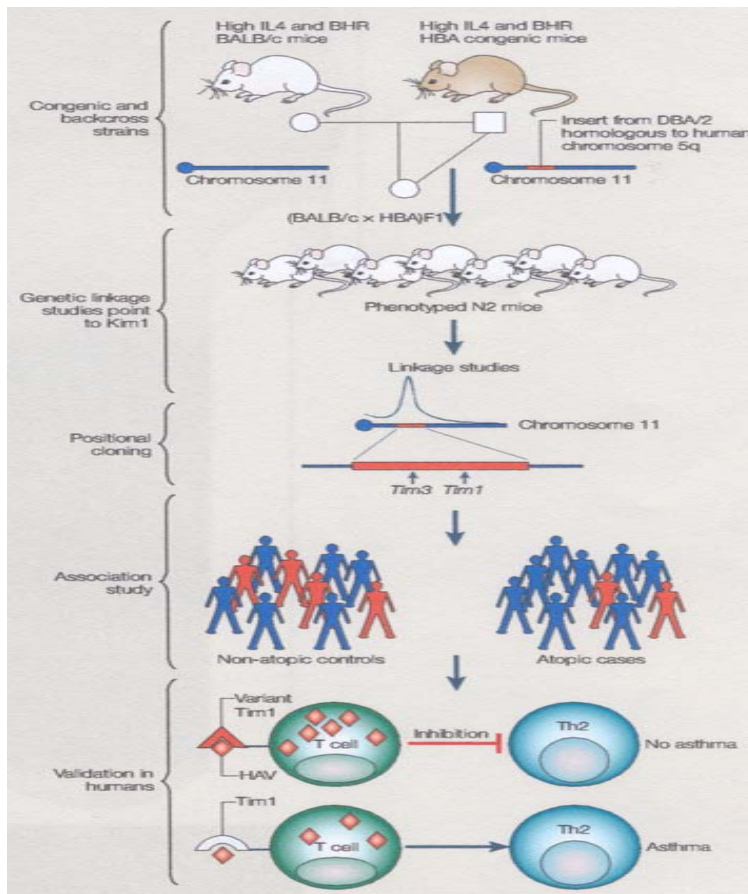
- Cookson et al. (2003) identifikovali PHF11 na chromozomu 13q
↓
podobným přístupem jako u DPP10
- 49 SNP, 4 del/ins a (GGGC) repetice → 3 (intron 5, 9 a 3' oblast)
↓
asociace s Ln IgE a astmatem
- **Funkce:** - negativní regulace transkripce ?

Gen pro Tim 1

(T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing molecules)

Gen pro C5

(complement factor 5 gene)



Výzkumné hypotézy & cíle genetického výzkumu v naší laboratoři

- **Asociace „kandidátních“ genů** s vybranými patologickými stavy metodou „case-control“
- **Role genetické variability** (polymorfizmů) v těchto lokusech při:
 - **predispozici/náchylnosti** k onemocnění
 - **modulaci penetrance** (např. klinické manifestace), progresu či závažnosti
 - **tkáňové/orgánové preferenci**
- **Interakce** alelických variant v genu/genech **s** jiným **genem/geny** či **zevními faktory**

Přístupy ke studiu genetického pozadí na našem pracovišti

- Metoda **pozičního klonování** (genetické mapování)
- Metoda **hledání kandidátních genů**

Patologický stav (nemoc)



způsobený

Defekt



kódovaný

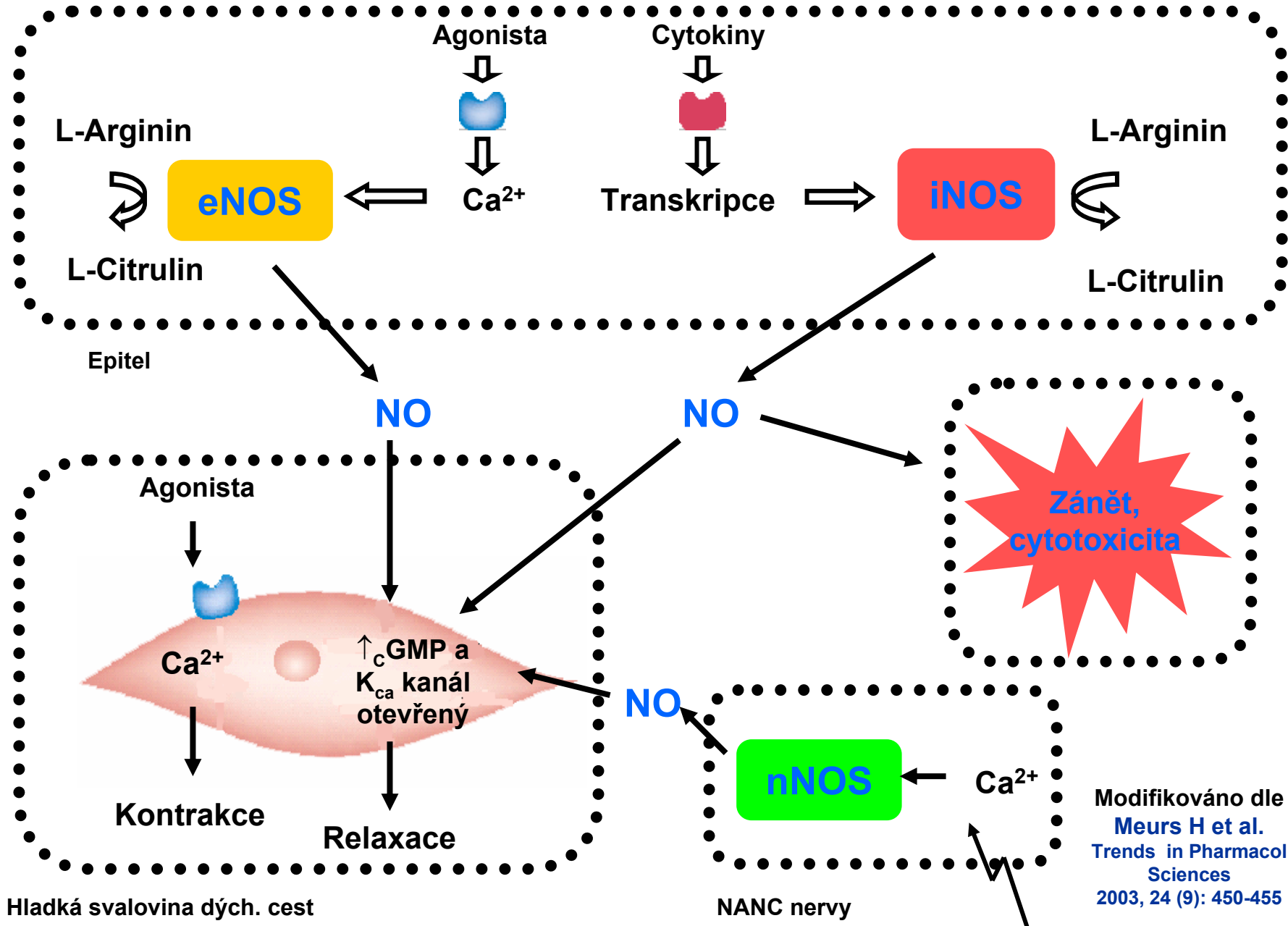
Gen



obsahuje

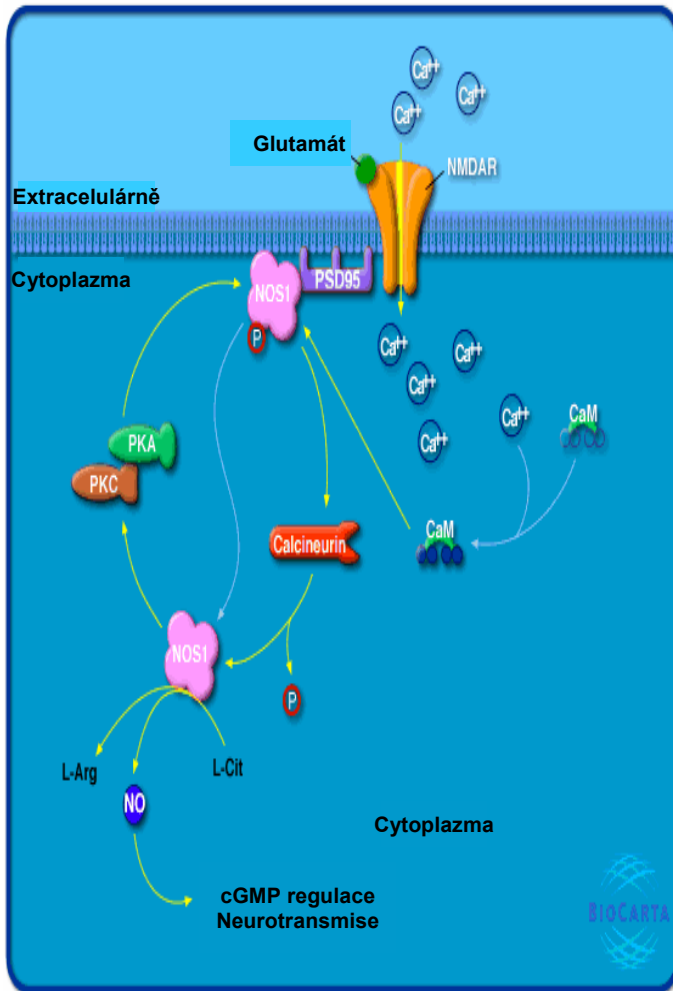
Polymorfismus

Oxid dusnatý a NOS



Modifikováno dle
Meurs H et al.
Trends in Pharmacol
Sciences
2003, 24 (9): 450-455

Gen pro NOS1



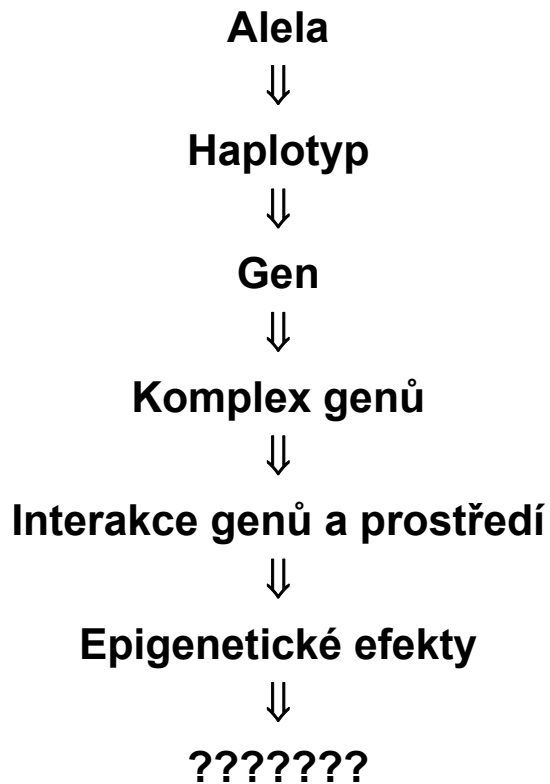
- CA repeat (exon 29) s AB (Grasseman et al., 1999)
- CA repeat (exon 29) s AB (Grasseman et al., 2000)
- 3391C/T s počtem eozinofilů
+ 5266C/T s IgE (Immervoll et al., 2001)
- AAT repeat (intron 20) s FE_{NO} (Grasseman et al., 2001)
- AAT repeat (intron 20) s atopií (Ali et al., 2001)
- 5266C/T s IgE (Holla LI et al., Allergy 2004)
- GT repeat v intronu 2 s AB (Shao et al., 2004)
- 5266C/T s IgE
AAT repeat (intron 20) s IgE (Leung et al., 2005)
- NOS1 deficientní myši mají nižší „upregulaci“ NOS2 po LPS (nižší počty eozinofilů, nižší Fe_{NO} – Iijima et al., 2005)

Cíle genetického výzkumu u komplexních nemocí

- Zlepšit porozumění **patofyziologii** uvedených chorob
- Přispět k **diagnostice** onemocnění
- Nalézt **parametry rizika** **progrese** nemoci či stupně její závažnosti
- nové poznatky by měly napomoci **upřesnění diagnostických a/nebo léčebných postupů** (individualizovaný přístup k terapii)

Perspektivy výzkumu

Komplexní nemoci = komplexní asociace



Otázky k hodnocení významu genetických faktorů u komplexních nemocí

1. **Jak důležité jsou genetické vlivy** u nejčastějších forem multigenních nemocí?
2. **Jaký je vliv prostředí** na vznik nemoci?
3. Které jsou **nejslibnější přístupy k determinaci genetických faktorů** pro nemoc?
4. **Které geny již byly vybrány** jako možní kandidáti?
5. **Které cesty přispívají ke genetické vnímavosti** pro danou nemoc?
6. **Jak mnoho genů** se podílí na vnímavosti k nemoci?
7. Jsou nejčastější formy multigenní nemoci asociovány s častou nebo vzácnou genetickou variabilitou v populaci? (hypotéza častá variace/častá nemoc vs. genetický heterogenní model)?
8. **Proč alely, které jsou asociovány s nemocí, nebyly z populace eliminovány?**
9. Jak důležité jsou pro danou nemoc **interakce geny-prostředí a geny-geny?**
10. Jaké jsou **důsledky pro farmakogenetiku?**

Další multifaktoriální (komplexní) choroby

- Diabetes mellitus
- Hypertenze
- Schizofrenie
-

Výsledky genetického výzkumu se netýkají jen relativně malého počtu nešťastníků postižených některou z více či méně vzácných monogenních chorob, ale desítek miliónů lidí na světě.



obtížný interdisciplinární problém



Děkuji Vám za pozornost