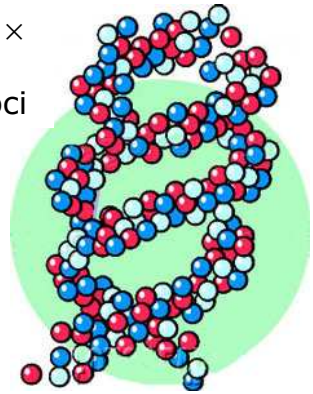
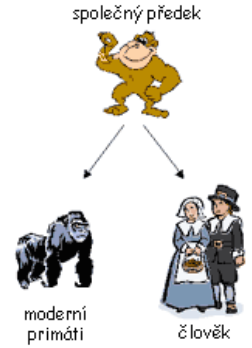
Genetika – genetická podmíněnost nemocí

Principy dědičnosti
Genetická variabilita (mutace × polymorfizmus)
Monogenní × komplexní nemoci



Genetika, genomika

- **genetika**
  - specializovaný biologický obor zabývající se **variabilitou** a **dědičností**
  - **klinická genetika**
    - zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí (nejen u pacienta ale 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 organizmů
    - **strukturní genomika** = pochopení struktury genomu
      - konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map genomů příslušných organizmů
      - reprezentovala zejména iniciální fázi analýzy genomů; konečným cílem byla kompletní znalost DNA sekvence (např. HUGO projekt)
    - **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 (myš, kvasinka, nematoda, Drosofila aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase

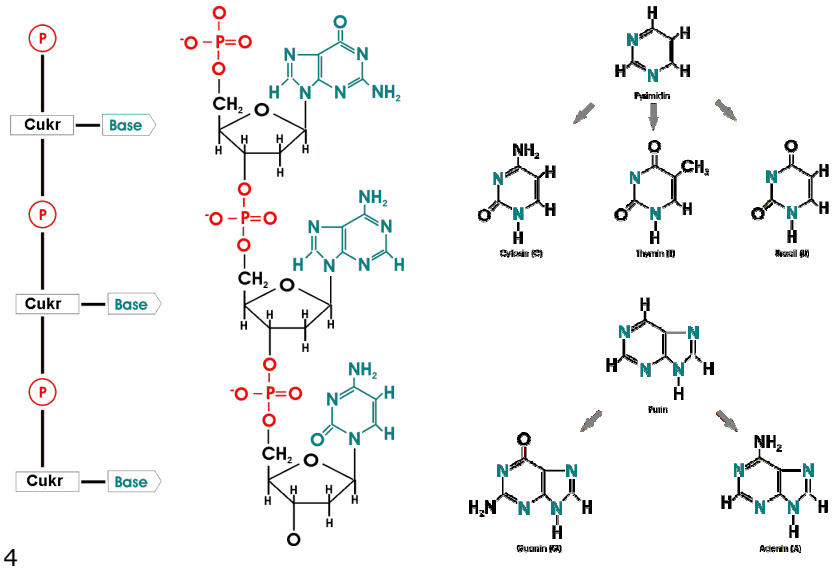


Chromozomální podstata dědičnosti

- **DNA**
  - nese potřebnou informaci potřebnou pro regulaci vývoje, růstu, metabolismu a reprodukce
  - složena z nukleotidů (zbytek kys. fosforečné, deoxyribóza a dusíkatá báze)
  - molekulárně-biologické dogma
    - DNA → RNA → protein
- organizována v **chromozomech**
  - chromatin+ chromozomální proteiny (histony)
- základní jednotky informace jsou **geny**
  - lidský genom obsahuje cca 30 000 genů
  - každý le umístěn na konkrétním místě konkrétního chromozomu = **lokus**
- **genetický kód** – určuje pořadí aminokyselin v proteinu
  - univerzální
    - podobný princip u většiny živých organizmů
  - tripletový
    - trojkombinace 4 nukleotidů (A, C, G, T)
  - degenerovaný
    - $4^3 = 64$, ale aminokyselin jen 21

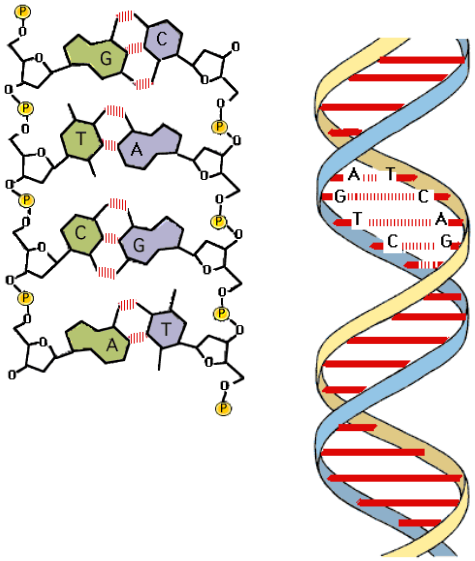
1. pozice	2. pozice U	2. pozice C	2. pozice A	2. pozice G	3. pozice
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
	UUA Leu	UCA Ser	UAA *Stop*	UGA *Stop*	A
	UUG Leu	UCG Ser	UAG *Stop*	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
A	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
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

Nukleosid × nukleotid × báze × DNA

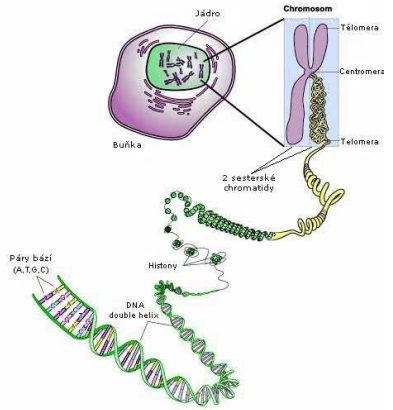


DNA - dvojšroubovice

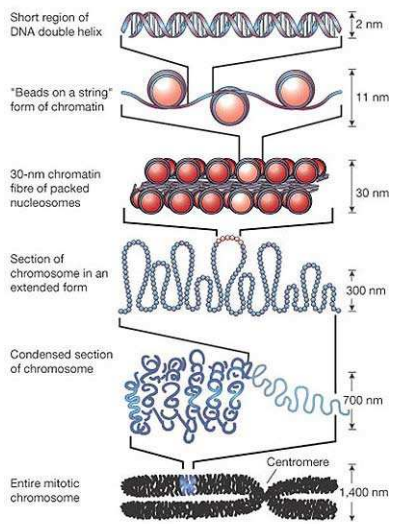
- DNA kostra – polynukleotidový řetězec
  - zbytky deoxyribózy a kys. fosforečné spojené fosfodiesterovou vazbou
- DNA dvojšroubovice
  - 2 polynukleotidové řetězce v opačné orientaci
  - vodíkové vazby mezi páry bází (A=T, G≡C)



Chromatin × chromozom

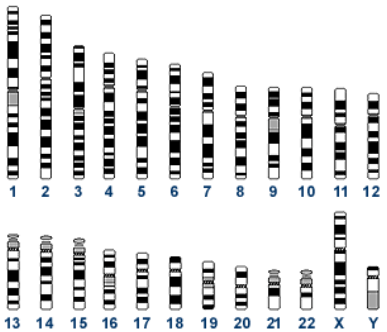


- v nedělící se buňce je chromatin rozprostřen volně v jádře
- u dělící se organizuje do viditelných chromozomů

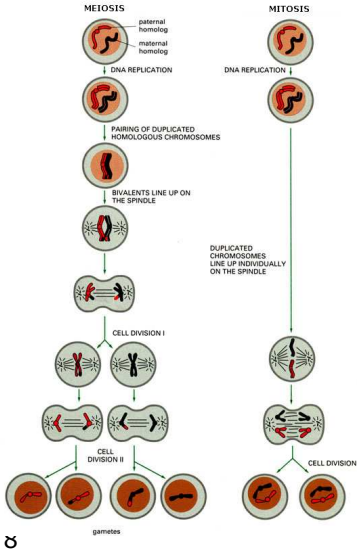


Karyotyp člověka

- každý biologický druh má svou charakteristickou chrom. výbavu (počet a morfologii) = **karyotyp**
  - u člověka mají **diploidní** bb. 46 chromozomů
    - 22 párů homologních autozomů, 1 pár gomozomů (44XX nebo 44XY)
  - zárodečné (vajíčko, spermie) 23 – **haploidní**
- struktura chromozomu
  - centromera
  - telomery (raménka)
    - dlouhé - q
    - krátké – p
  - barvením chromozomů (např. Giems) se dosáhne charakteristického pruhování a tím rozlišení jednotlivých chromozomů



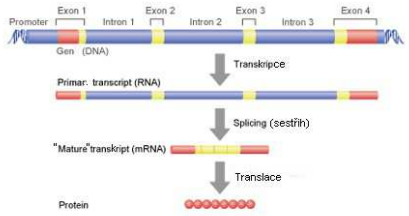
Dělení buněk

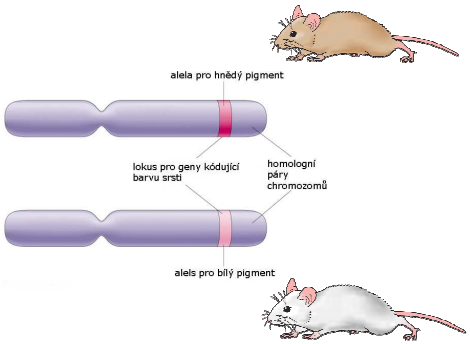


- **mitóza**
  - 2 dceřinné buňky s diploidním počtem chromozomů
  - 1 cyklus DNA replikace následuje rozdělení chromozomů a jádra (profáze → prometafáze → metafáze → anafáze → telofáze) a násl. celé buňky (cytokineze)
- **meióza**
  - 1 cyklus replikace následován 2 cykly segregace chromozomů a buněčného 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

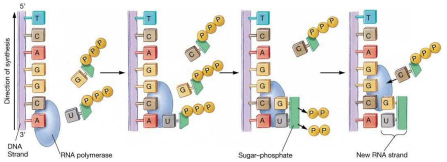
Gen × alela × genotyp × fenotyp

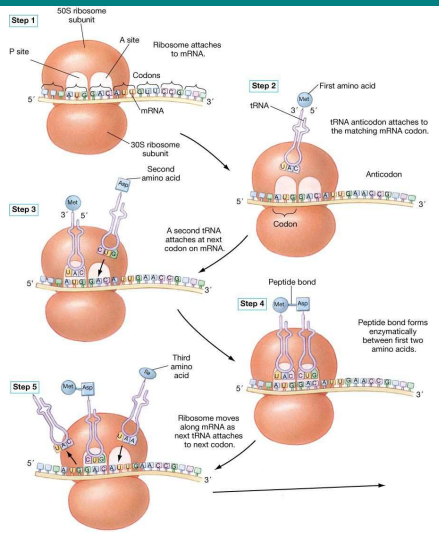
- **gen** – základní jednotka dědičnosti
  - segment molekuly DNA, který obsahuje kód pro aminokyseliny přísl. polypeptidu a nezbytné regulační sekvence pro regulaci své exprese
    - exony
    - introny
    - promotor (5'-konec)
      - ☛ vazebná místa pro transkripční faktory
    - 3' nepřepisovaná oblast (UTR)
- **genové rodiny**
  - sekvenčně podobné geny, které vznikly zřejmě duplikací během evoluce
    - např. geny pro (hemo)globiny, imunoglobuliny, …
- **pseudogeny**
  - podobné konkrétním genům ale nefunkční
- **alela** – konkrétní varianta genu
  - v populaci se pro daný gen vyskytuje vícero variant (= alel), které mohou být různě časté
- **genotyp** – kombinace alel v určitém lokusu v diploidním genomu
- **fenotyp** – vnější projev (vyjádření) genotypu





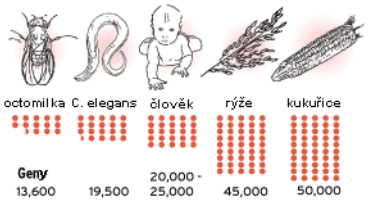
Genová exprese - transkripce a translace DNA

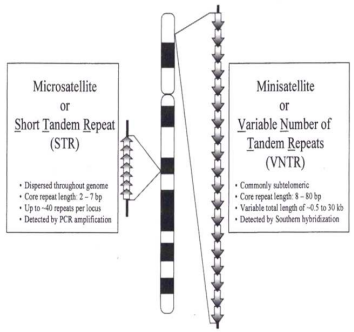




Lidský genom

- Human Genome Project (HUGO)
- hustota genů na jednotlivých chromosomech dost heterogenní
  - pouze ~10% kódující sekvence
  - ~75% se skládá z jedinečné (neopakující se) sekvence
  - zbytek repetitivní sekvence
    - nejasná funkce, zřejmě udržují strukturu chromozomů, možná jsou "evoluční"rezervou
    - typy repetic
      - ☛ tandemové
        - » mikrosatelity
        - » minisatelity
      - ☛ Alu-repetice
      - ☛ L1-repetice
- mitochondriální DNA
  - několik desítek genů kódujících proteiny zapojené v mitochondriálních procesech
  - přenos pouze od matky!





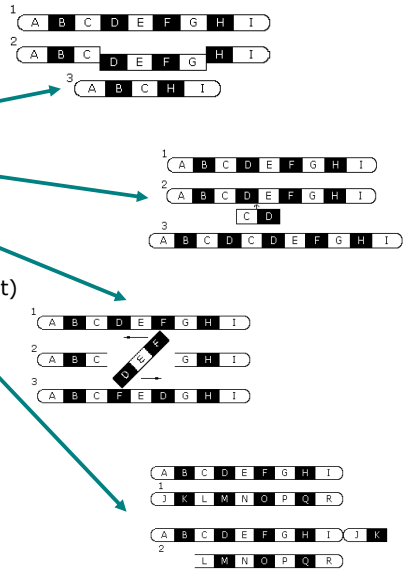
Genetická variabilita

- fyziologická **interindividuální variabilita** i geneticky podmíněné nemoci jsou důsledkem **genetické variability**
- v populaci se pro daný gen vyskytuje vícero konkrétních variant (= **alel**), které mohou být různě časté
  - genetická variabilita je výsledkem dvou procesů
    - (1) mutací *de novo* (chyba replikace, mutageny)
    - (2) rekombinace (meiotický crossing-over)
  - na výsledné situaci v populaci (= frekvenci alel) se dále odráží **genetický drift** a přirozená **selekce**

- na základě populační frekvence jednotlivých variant se tradičně rozlišují genetický polymorfizmus a mutace
  - **genetický polymorfizmus** = existence několika (přinejmenším dvou) alel pro daný gen, z nichž nejméně častá má populační frekvenci alespoň 1%
  - **mutace** = méně častá alela má populační frekvencí <1%
- typy
  - genomové
    - změna počtu chromozomů nebo celých sad (aneuploidie, polyploidie)
  - chromozomové (aberace)
    - výrazná změna struktury jednotlivých chromozomu (duplikace, delece, inserce, inverze, translokace)
  - genové
    - kratší změny (1 – tisíce bází) = mutace a polymorfizmy v pravém slova smyslu

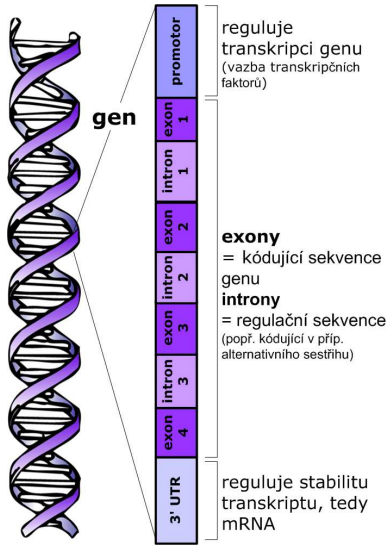
Klasifikace mutací/polymorfizmů

- bodové (tranzice a transverze)
  - bialelické jednonukleotidové polymorfizmy (angl. single nucleotide polymorphisms, tzv. SNP)
- délkové
  - delece (1bp – MB)
  - inzerce + duplikace
  - inverze
  - translokace
- funkční dopad
  - žádný – alternativní kodon (tzv. silent)
  - substitucí vytvořen stop-kodon (tzv. nonsense)
  - dojde k záměně aminokyseliny (tzv. missense)
  - ke změně místa sestřihu (tzv. frameshift)
  - zdvojení dávky genu (tzv. gene-dosage effect)
- důsledky
  - germinativní bb. ⇒ **geneticky podmíněné nemoci**
  - somatické buňky ⇒ **nádory**



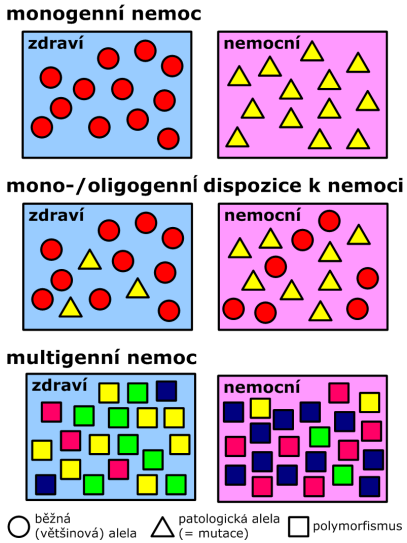
Vztah lokalizace záměny vs. efekt

- podle pozice v genu
  - 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



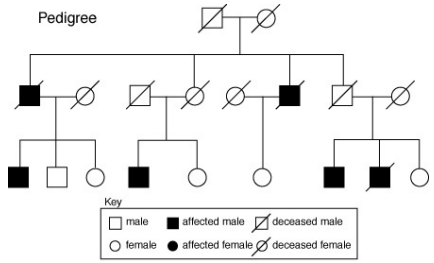
Klasifikace geneticky podmíněných nemocí

- prakticky každá nemoc (tj. její vznik a progrese) je u daného jedince modifikována genetickou výbavou, avšak s různým podílem
  - **monogenní nemoci**
    - jedna kritická varianta (alela) konkrétního genu je téměř výhradně zodpovědná za rozvoj nemoci (fenotypu)
  - **chromozomální poruchy**
    - nejedná se o konkrétní chybu ale o nadbytek/nedostatek genů obsažených v celých chromozomech nebo jejich segmentech
  - **multigenní (komplexní) nemoci**
    - genetická dispozice podmíněná kombinací alel několika genů je manifestována prostředím



Monogenní nemoci

- onemocnění je důsledkem **mutace v jediném lokusu** (= jednolokusové)
- přenos mutace (a fenotypu) odpovídá Mendelovým zákonům (= mendelistické nemoci)
  - konstrukce rodokmenů
- typy přenosu
  - autozomální
    - geny na obou autozomech aktivní
  - gonozomální (X-chromozom vázané)
    - muži hemizygotní
    - u žen 1 X-chromozom inaktivován!!
  - jiné
    - imprinting, mozaicizmus, …
- 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
- doposud známé shrnuje OMIM (On-line Mendelian Inheritance in Man)
  - ~6000 klinicky významných fenotypů
- typické znaky
  - časná manifestace (dětství)
  - malá frekvence v populaci
  - většinou výrazně patologické



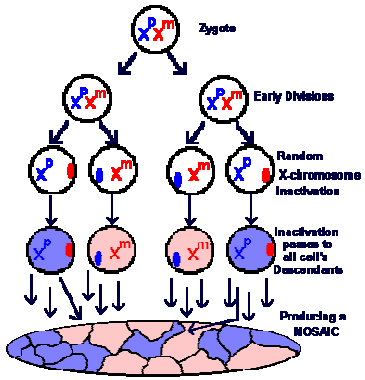
Autozomální monogenní nemoci

- (1) **recesivní** = u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt normální k udržení normální funkce
  - manifestní onemocnění u heterozygota je důsledkem:
    - haploinsuficience
      - pro normální funkci je potřeba >50% aktivního genového produktu
    - dominantně 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 (např. Huntingtonova chorea)
    - ztráty heterozygozity (loss-of-heterozigosity, LOH) v somatické buňce
      - např. familiární predispozice k nádorům důsledku mutací v supresorových genech (např. retinoblastom)
- (2) pokud nestačí produkt k udržení normální funkce ⇒ **dominantní**
- nemoci jsou důsledkem jak mutací přenášených mezi generacemi tak vzniklých nově

- **autozomálně recesivní (AR)**
  - velmi často enzymové defekty
  - postižen je mutovaný homozygot (popř. sourozenci), heterozygotní rodiče jsou přenašeči (asymptomatičtí)
    - riziko $0.50 \times 0.50 = 0.25$
  - muži a ženy většinou postiženi stejně
  - frekvence přenašečů nemoci v populaci >>> frekvence nemocných
  - nejčastější AR nemocí u bělochů je cystická fibróza
    - f nemocných 1/2000, f přenašečů 1/22 !!!
  - konsanguinita (příbuzní rodiče) a imbreeding významně zvyšuje riziko AR (přenašeči v rodinách)
    - domluvené sňatky (např. bratranec / sestřenice)
    - geneticky izolované populace (např. Aškenazi židé – Tay-Sachsova choroba)
- **autozomálně dominantní (AD)**
  - 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)
  - příklady nejčastějších AD
    - familiární hypercholesterolemie (1/500),
    - myotonická dystrofie (1/1000)
    - Huntingtonova chorea (1/3000)

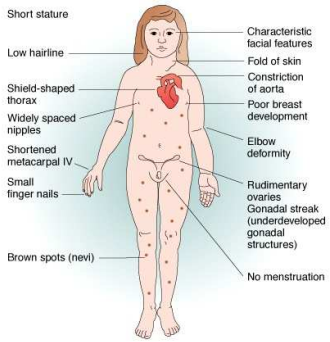
X-vázané monogenní nemoci

- ženy 3 genotypy, muži pouze 2
- X-vázané nemoci se manifestují u všech mužů, kteří zdědili mutaci, a pouze u homozygotních žen
  - ale výjimky viz dále
- příklady
  - hemofilie A
  - Duchenneova muskulární dystrofie
  - Wiskott-Aldrichův syndrom (imunodeficience)
- 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" tělísko (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



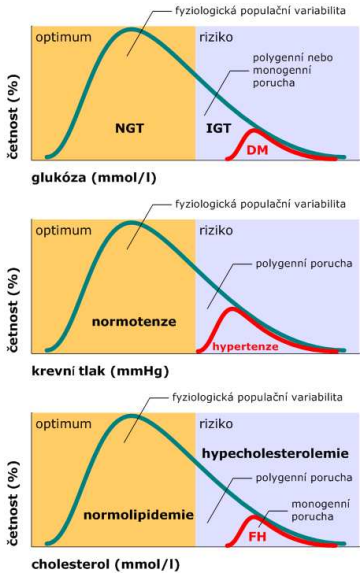
Chromozomální poruchy

- aneuploidie (změna počtu chromosomů v sadě)
  - porucha rozdělení sesterských chromozomů [meiotická non-disjunkce]
  - později během rýhování → somatická mozaika
  - 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)
- polyploidie (porucha rozdělení celých sad nebo oplození 2 spermiemi [dispermie])
  - u člověka neslučitelné se životem
    - těhotenství je potraceno
    - molla hydatidosa (a pak těhotenství nutno ukončit potratem)
    - porod novorozence s triploidií – velmi časná letalita



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
- komplexní onemocnění jsou charakterizována:
  - neúplnou penetrancí patologického fenotypu
    - u určité části osob, přestože zdědí nevýhodný genotyp (zde ve smyslu souboru více genů) se patologický fenotyp nerozvine
  - existencí fenokopií
    - 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 přítomn více 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 mechanizmů přenosu
    - mitochondriální dědičnost, imprinting
- nejčastější komplexní nemoci
  - diabetes (1. i 2. typu)
  - dyslipidemie
  - esenciální hypertenze
  - alergie



	JEDNOLOKUSOVÉ NEMOCI	KOMPLEXNÍ NEMOCI
Závažnost nemoci, manifestace	Narušují homeostázu zásadním způsobem a porucha se objevuje brzy v průběhu života. Závažnost je pro konkrétního nositele je značná. Z hlediska populační morbidity a mortality jsou však nevýznamné!	Rovněž zásadně narušují homeostázu, ovšem efekt nastupuje postupně a efekt kulminuje v pozdějším období života. Hlavní faktor ovlivňující morbiditu a mortalitu v populaci, zejm. v rozvinutých zemích!
Interakce s prostředím	Některé se vyvinou bez ohledu na prostředí, u jiných je nutný specifický etiologický činitel (např. u fenylketonurie přítomnost fenylalaninu v dietě) nebo několik činitelů (např. oxidační stres u hemolytické anemie při G6PD deficitu).	Manifestace je pravidelně výsledkem spolupůsobení komplexu genů interagujících s prostředím během vývoje, dospívání a zejm. stárnutí.
Variabilita fenotypu	Modifikující geny, někdy pohlaví (např. heredit. hemochromatóza) a efekt prostředí činí fenotyp do jisté míry variabilní, ale ne tak jako u komplexních onemocnění; efekt hlavního patologického genu vždy dominuje a kvalitativně jsou značně homogenní.	Fenotyp je výsledkem interakce efektů jednotlivých genů, přičemž charakter interakce může být heterogenní, aditivní či multiplikativní.
Penetrance	Obecně vysoká.	Typicky nekompletní (avšak pojem penetrance úzce souvisí s definicí fenotypu, což je u komplexních onemocnění svébytný problém).
Populační frekvence genetických variant	Obecně velmi nízká jako důsledek vysokého selekčního tlaku; výjimku z pravidla představují nemoci, které přinášíurčitou selekční výhodu (např. hereditární hemoglobinopatie v malarických oblastech).	Frekvence minoritních alel jsou vyšší, často se jedná o tzv. běžné polymorfizmy. Varianty genů jsou pravděpodobně evolučně starší; evoluční konzervace je součástí lidského vývoje.
Genetická architektura	Poměrně velmi velká lokusová homogenita (tj. stejný gen), ale jsou výjimky (např. retinitis pigmentosa, Ehlers-Danlosův syndrom aj.). Typicky extrémně vysoká alelická heterogenita (tj. různé mutace) jako důsledek očišťující selekce (např. ~160 mutací u hemofilie B, ~270 mutací u cystické fibrózy, ~700 u familiární hypercholesterolemie).	Je předmětem intenzivního výzkumu. Lokusová heterogenita bude zřejmě vyšší, alelická už by nemusela být, protože zodpovědné varianty nejsou předmětem tak silné selekce (běžné polymorfizmy).