

5. PATOGENÉZA CHORÔB Z HL'ADISKA GENETIKY A GENOMIKY

Ráč Oliver a Ništár František

5.1. GENETIKA A GENOMIKA NA PRAHU 21. STOROČIA

Vonkajšie a vnútorné príčiny chorôb

Vonkajšie príčiny chorôb sú rozmanité a pomerne jednoducho pochopiteľné. V mnohých prípadoch však rozbor účinkov vonkajších činiteľov nestačí na vysvetlenie patogenézy chorôb (tab. 5.1), z čoho logicky vyplýva, že choroby majú aj **vnútorné** príčiny. Pri podrobnej analýze možných vnútorných príčin ochorení sa nakoniec vždy dostaneme k základnej informačnej sústave organizmu, ku **genetickému kódu**. Cesta od genetického kódu k prejavom choroby je však vo väčšine prípadov veľmi zložitá. V príkladoch uvedených v tabuľke sú choroby, o ktorých je dávno známe, že patria do skupiny dedičných chorôb (hemofília). U iných (diabetes, ischemická choroba srdca, psychické choroby) podiel dedičnosti na vzniku choroby donedávna nebol presne objasnený. Situácia sa v poslednom čase rýchlo mení, pretože veľkolepý projekt prečítania celého ľudského genómu bol úspešne ukončený v roku 2000, 5 rokov pred pôvodným termínom. Na tento projekt nadväzuje veľký počet ďalších projektov, ktorých cieľom je práve odhalenie genetického pozadia **komplexných chorôb**. K pochopeniu významu tohoto obrovského pokroku je potrebné stručne preopakovať vývoj genetiky.

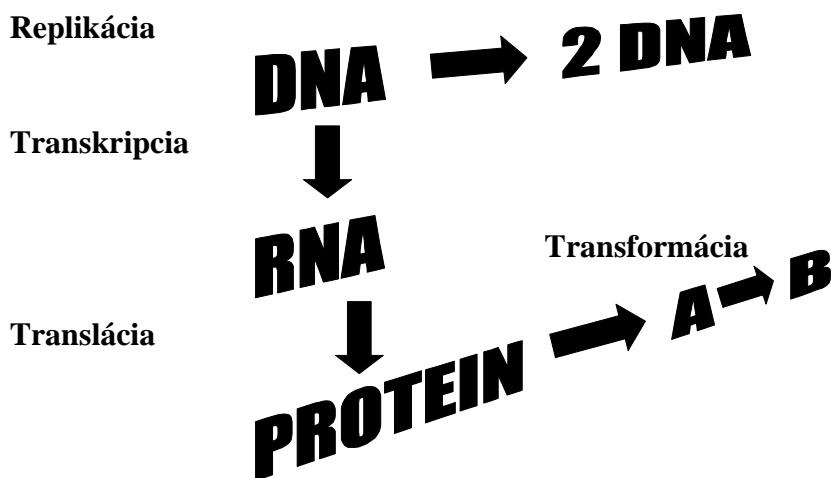
Míľniky lekárskej genetiky a zrod genomiky (tab. 5.2.)

Už naši veľmi dávni predkovia vedeli, že deti sa podobajú na svojich rodičov a starých rodičov a snažili sa o šľachtenie rastlín a domácich zvierat. V Talmude je zákaz cirkumcie u chlapcov, kde v rodine u skôr narodeného súrodenca došlo po zákroku ku vykrvácaniu (pravdepodobne pre hemofíliu). Poznatky o dedičnosti boli do 19. storočia čisto empirické. Veda sa dostala do genetiky až v druhej polovici 19. storočia zásluhou opáta augustiniánskeho kláštora v Brne, Johanna Gregora Mendela. Mendel natoľko predbehol svoju dobu (o bunke sa vedelo veľmi málo, o chromozómoch a nukleových kyselinách nič), že jeho objavy zapadli do zabudnutia.

K znovuobjaveniu zákonov genetiky došlo na začiatku 20. storočia (príloha 5.1). Postupne sa vytvoril dnes platný obraz o bunke a o subcelulárnych štruktúrach. Bolo objasnené, že genetický materiál sa nachádza v jadre, počas delenia buniek ho prenášajú chromozómy a že nositeľom genetického kódu nie sú bielkoviny, ako sa to dlho myslelo, ale nukleové kyseliny. Tajomstvo kódovania genetickej informácie odhalili v roku 1953 J.D. Watson a F. Crick na univerzite v Cambridge. Výsledkom ich práce bol model dvojitej špirály deoxyribonukleovej kyseliny (DNA), v ktorej jedno vlákno je zrkadlovým obrazom druhého a tri po sebe idúce písmená zo štyroch možných (nukleotidy A,T,C a G) určujú jednu aminokyselinu v bielkovinovom reťazci. Na základe tzv. **ústrednej dogmy molekuly biológie** (obr. 5.1) sa zdalo, že odhalenie úlohy génov pri vzniku chorôb je otázkou krátkeho času.

Prvé vedecky fundované údaje o dedičnosti ľudských ochorení boli publikované v 18. a 19. storočí. Tieto sa týkali len opisu niektorých dedičných a vrodenných chorôb. Vážnejší pokrok nastal až v druhej polovici 20. storočia. Postupne sa objasnili jednotlivé formy dedičných chorôb. Jednu veľkú skupinu tvoria **monogénové** choroby, ktorých je veľmi veľa, ale nie sú príliš časté (dedia sa podľa Mendelových zákonov) a druhú choroby s **genetickým pozadím**. Do tejto skupiny patrí veľa bežných chorôb. Ich dedičnosť sa zdanlivo neriadi klasickými zákonmi genetiky a nedajú sa vysvetliť ani pomocou jednoduchej predstavy o úlohe DNA, RNA a bielkovín.

Molekulová biológia pôvodne slúžila len základnému výskumu. Vďaka novým technológiám a metódam sa v posledných rokoch dostala do medicínskej praxe. Prvý veľký prelom medzi teóriou a praxou sa uskutočnil v sedemdesiatych rokoch, keď sa začalo hovoriť o **genetickom inžinierstve**. Priama manipulácia s genetickým materiálom sa stala bežnou v poľnohospodárstve a bola využitá aj v medicíne. Počiatkové obavy, že sa takto stvorí Frankenstein, alebo vražedné baktérie sa ukázali neopodstatnené. Dnes skoro každý diabetik je liečený ľudským inzulínom, ktorý vyrábajú baktérie alebo kvasinky. Podobne sa vyrába ľudský erythropoetín, rastový hormón a mnohé iné terapeuticky užitočné bielkoviny.



OBR. 5.1.
ÚSTREDNÁ DOGMA MOLEKULOVEJ BIOLÓGIE

TAB. 5. 1
PRÍKLADY KOMPLEXNÝCH CHORÔB , KTORÉ NIE JE MOŽNÉ VYSVETLIŤ LEN ÚČINKOM VONKAJŠÍCH FAKTOROV

Vysoký krvný tlak Diabetes mellitus Ischemická choroba srdca Alzheimerova choroba Duševné choroby Endokrinné ochorenia

Obrovský technologický skok znamenal objav **polymerázovej reťazovej reakcie (PCR)** v roku 1987. Touto metódou je možné identifikovať a v krátkom čase rozmnožiť hľadaný gén ak poznáme časť jeho štruktúry. V tom istom období sa začalo uvažovať o gigantickom pláne - prečítať celý ľudský genóm ($3 \cdot 10^9$ nukleotidov alebo 3 metre DNA husto natočenej v jednej sade ľudských chromozómov a niekoľko génov v mitochondriách).

Práca na **Projekte ľudského genómu** (Human Genome Project) sa začala v mnohých vedeckých centrách USA, Kanady a Európy v roku 1990 a bola plánovaná na 15 rokov. Koordináciu mali na starosti vedci z Národného ústavu zdravia v USA (National Institute of Health, NIH). Prvé roky neprinesli príliš veľké výsledky, ale už v roku 1995 sa zdalo, že úloha je splniteľná. Obrovské množstvo financií, medzinárodná spolupráca, široká aplikácia nových technológií a v neposlednom mieste využitie informačnej technológie na spracovanie obrovského množstva dát začali prinášať ovocie.

Koncom tisícročia došlo k významnému zrýchleniu práce, o čo sa zaslúžil Craig Venter a jeho súkromná firma Celera. Konkurencia urýchlila prácu aj v akademických centrách. Vzťah medzi Venterom a vedcami z NIH bol napätý ale po zložitých rokovaniach, do ktorých musel zasahovať aj prezident Clinton, výsledok ohlásili na spoločnej tlačovej konferencii 26. júna 2000. Je možné diskutovať o tom, kto zo zainteresovaných má väčší podiel na tomto obrovskom úspechu, ale jedno je isté: *Ľudstvo má už teraz k dispozícii obrovské množstvo informácií, ktoré v budúcnosti zmenia medicínsku prax - umožnia včasnejšiu diagnostiku a úspešnejšiu liečbu väčšiny chorôb, ktoré nás trápia.*

TAB. 5. 2**MILNIKY GENETIKY A GENOMIKY****STAROVEK**

Deti sa podobajú na svojich rodičov
 Chov domácich zvierat, poľnohospodárstvo
 Zákaz cirkumcie u súrodencov hemofilikov (Talmud)

18. A 19. STOROČIE

1750 Maupertius - polydaktýlia
 1820 Nasse – opis hemofílie
 1865 **Mendel – základné zákony genetiky**
 1871 Miescher – objav nukleových kyselín
 1909 Galton – metóda výskumu dvojčiat, polygénna dedičnosť – ale aj eugenika

20. STOROČIE

1900 Morgan, De Vries a Tchermak – znovuobjavenie zákonov genetiky **NC Morgan 1933**

1909 Garrod – vrodené poruchy metabolizmu
 1926 Muller – mutácie indukované žiarením **NC 1946**
 1930 Haldane, Fischer, Wright – matematický aparát populačnej genetiky
 1944 Avery, MacLeod a McCarty – nositeľom genetického kódu je DNA
 1948 – 1956 Pauling, Ingram – molekulová podstata kosáčikovej anémie **NC**
1953 Watson a Crick – štruktúra DNA **NC 1982**
 1955 Sanger – poradie aminokyselín v inzulíne **NC**
 1961 Nirenberg – UUU kóduje fenylalanín
 1970 Prvé kroky genetického inžinierstva
 1977 Sanger – vývoj metódy na sekvenovanie nukleových kyselín, stanovenie poradia nukleotidov v genóme bakteriofágu ØX174 **NC**
 1983 Gusella – Gén zodpovedný za Huntingtonovu chorobu je na 4. chromozóme
1984 Mullis – polymerázová reťazová reakcia **NC**
 1985 Tsui – gén zodpovedný za cystickú fibrózu je na 7. chromozóme

Human Genome Project

1986 Dulbecco – nápad prečítať poradie nukleotidov v ľudskom genóme
 1990 Začiatok práce na projekte
 1991 Prvé problémy s patentovaním identifikovaných nových génov
 1992 Watson rezignuje z postu vedúceho projektu. Venter odchádza z NIH a zakladá TIGR, neziskovú súkromnú firmu na sekvenovanie genómu
 1993 Mutácia zapríčiňujúca Huntingtonovu chorobu je nesprávny počet tripletov
 1994 Identifikácia génu zodpovedného pre rakovinu prsníka – BRCA1
 1995 Venter publikuje sekvenciu genómu Hemophilus influenzae (1 830 000 nukleotidov)
 1997 Dolly, klónovaná ovca
 1998 Nový, rýchlejší prístroj na sekvenovanie nukleotidov. Venterova nová spoločnosť Celera. V Celere 300 nových prístrojov stanoví poradie milión nukleotidov denne. Údaje hodnotí jeden z najvýkonnejších počítačov sveta.
 1999 Venter publikuje poradie nukleotidov v genóme Drosophila melanogaster (120 milión nukleotidov)

26.6.2000 Venter a Collins: The race is over, the genome is mapped.

27.6.2000 Sekvencia ľudského genómu je len začiatok (novej epochy medicíny)

Ďalšie medicínske Nobelove ceny za genetiku a molekulovú biológiu: Beadle, Tatum, Lederberg (1958); Ochoa, Kornberg (1959); Jacob, Lwoff, Monod (1965); Rous (1966); Holley, Khorana, Nirenberg (1968); Delbrück, Hershey, Luria (1969); Baltimore, Dulbecco, Temin (1975); Barbara McClintock (1983); Bishop, Varmus (1989); Roberts, Sharp (1993). Sanger dostal obidve Nobelove ceny za chémiu. V roku 1967 prednášal o sekvenovaní nukleových kyselín na Lekárskej fakulte UPJŠ.

Dostali sme sa k obrovskému množstvu údajov, ale zatiaľ máme málo vedomostí o činnosti celého, nesmierne komplexného systému. Hlavná zmena je v chápaní funkcie genómu. Až doteraz sme sa na jednotlivé gény a na ich bielkovinové produkty dívali jednotlivo, ale to je krajné zjednodušenie skutočnosti. Na každom životnom prejave buniek, tkanív a organizmu participuje veľký počet génov. Zznaky a choroby určené jediným génom (čo je základom klasickej genetiky) sú skôr výnimkou ako pravidlom.

Zjednodušená a chybná je aj predstava, ktorá sa na genóm díva ako na usporiadanú knižnicu informácií. Je pravda, že gény kódujú primárnu štruktúru polypeptidových reťazcov bielkovín, ale ani cesta od génu po produkt nie je jednoduchá¹. Hotové bielkoviny účinkujú v organizme ako enzýmy, receptory, regulačné látky, signálové a transportné systémy, štruktúrne bielkoviny. Napriek množstvu a rozmanitosti bielkovín zaberajú štruktúrne gény veľmi málo miesta v genóme vyšších organizmov, oveľa menej ako **nekódujúce sekvencie**. Presná funkcia rôznych foriem nekódujúcich častí nie je ešte presne známa, ale je isté, že nejde o nadbytočný balast, ale o súčasť genómu s dôležitými regulačnými a integračnými úlohami.

K pochopeniu komplexnej a harmonickej spolupráci génov prispel paradoxne jeden nečakaný výsledok projektu. Človek totiž nemá 70 – 100 tisíc génov, ako sa to predpokladalo, ale len asi 30 tisíc. Pre porovnanie malý červ *C. elegans* (jeho telo pozostáva z menej ako 1000 buniek) má 20 tisíc génov a väčšina cicavcov toľko ako my. Naviac štruktúra a funkcia veľkej väčšiny génov zvierat je totožná s funkciou a štruktúrou analogických ľudských génov². Vysvetlenie rozdielu medzi nižšími a vyššími živočíchmi a medzi zvieratami a človekom spočíva práve v komplexite genómu. 30 000 génov je len o niečo viac ako 20 000, ale kombináciou zapnutých a vypnutých génov v jednom prípade vzniká $2^{20\,000}$, v druhom $2^{30\,000}$ možností. Ak uvažujeme o genóme ako o komplikovanej informačnej sieti, sme schopní pochopiť aj to, že napriek všetkým podobnostiam vo funkcii génov, biochémii a fyziológii sa predsa zásadne líšime od zvierat.

Dôjde k obrovskému pokroku v našich vedomostiach o chorobách - zmení sa aj naše poňatie choroby (tab. 5.3). Aj v budúcnosti budeme hovoriť o lekárskej genetike (náuka o dedičných chorobách), ale oveľa viac o **genomike**. Na gény sa nebudeme dívať ako na možné príčiny pomerne zriedkavých chorôb, ale ako na informačné systémy riadiace každý prejav života. Na druhej strane prestaneme vnímať gény deterministicky, lebo ich činnosť je možná len vo vzťahu k prostrediu. Prevencia v ére genomikkej medicíny bude založená na konkrétnych údajoch a bude individualizovaná a cielená. V krátkej dobe sa dostanú na trh nové diagnostické technológie (PCR sa už dnes využíva v rutínnej laboratórnej medicíne). Výsledky genomiky sa premietnu do úspešnej **génovej terapie** bežných ochorení a do vývoja nových liekov (**farmakogenetika**).

TAB. 5.3.

GENOMIKA A ZMENA V CHÁPANÍ POJMU CHOROBA

19. storočie	Príznak ⇒ choroba	Cukor v moči = diabetes mellitus
20. storočie	Patogenéza ⇒ choroba	Autoimunitná deštrukcia B buniek = diabetes 1. typu
21. storočie	Genetické pozadie, patogenéza ⇒ choroba	Mutácia v géne pre glukokinázu = MODY 2. typu

Poznámka: MODY je zvláštna forma diabetu (Maturity onset diabetes of the young). Predpokladáme, že behom krátkej doby bude objasnené genomické pozadie diabetu 2. typu, ktorý postihuje viac ako 200 miliónov ľudí na svete.

¹ Informácia z DNA sa prepisuje na RNA a na základe RNA sa syntetizuje polypeptid. Prepisovanie nie je vždy jednotné, čo zvyšuje variabilitu kódovanej informácie. Premena polypeptidových reťazcov na funkčné bielkoviny je takisto zložitá. Posttranskripčné a posttranslačné pochody sú pod kontrolou ďalších génov.

² Rozdiely medzi genómom šimpanza a človeka sú minimálne, číselne len asi 1,5%. Keďže šimpanz nie je človek, aj tento údaj svedčí o tom, že takáto primitívna matematika je zavádzajúca. vyššími živočíchmi a medzi zvieratami a človekom spočíva práve v komplexite genómu. 30 000 génov je len o niečo viac ako 20 000, ale kombináciou zapnutých a vypnutých génov v jednom prípade vzniká $2^{20\,000}$, v druhom $2^{30\,000}$ možností. Ak uvažujeme o genóme ako o komplikovanej informačnej sieti, sme schopní pochopiť aj to, že napriek všetkým podobnostiam vo funkcii génov, biochémii a fyziológii sa predsa zásadne líšime od zvierat.

5.2. OD GENOTYPU K FENOTYPU

Je zrejme, že rôzne chyby v zložitom systéme genómu môžu zapríčiniť chorobu, ale cesta vedúca od chyby v genetickom kóde po konkrétnu chorobu je spravidla veľmi komplikovaná. Teoreticky by každá chyba v hociktorom štruktúrnom alebo regulačnom géne mohla viesť k chorobe, ale počet geneticky podmienených chorôb (napriek ich vysokému počtu) je oveľa nižší. Vysvetlenie je v niektorých prípadoch pomerne jednoduché, v iných oblastiach (napr. interakcia génov s prostredím) sa zatiaľ opierame o teórie a hypotézy.

Mutácie – zmeny v genóme a v jednotlivých génoch

Mutácie sú zmeny genómu. Je možné ich deliť z rôznych aspektov (tab. 5.4). Základné delenie je na génové mutácie, chromozómové aberácie a genómové mutácie. Mnohí autori pod pojmom „mutácia“ rozumejú len génové mutácie a v tom prípade ich definícia je užšia: *Sú to zmeny v poradí nukleotidov v génoch*. V tejto časti kapitoly je rozbor **génových mutácií**, chromozómové aberácie a nesprávny počet nukleotidov sú vysvetlené v podkapitolách 5.12 až 5.14 a nedávno objavené zvláštne dynamické mutácie v podkapitole 5.9.

Somatické a gametické mutácie

Nesmierne dôležité je pochopenie rozdielu medzi možnými následkami mutácií génov v **somatických bunkách** oproti **gametickým** mutáciám. Genetická informácia je prakticky totožná vo všetkých somatických bunkách organizmu, ktoré obsahujú jadro. Je diploidná, jedna sada génov pochádza od otca, druhá od matky. Za morfológickými a funkčnými rozdielmi jednotlivých typov buniek (nervová, pečeneňová, biela krvinka) stojí odlišný vzor génovej expresie, čiže **tkanivovo špecifická génová expresia**. Genóm zrelých gamét sa líši od genómu somatických buniek v tom že obsahuje informáciu v haploidnej podobe.

Ak mutácia vzniká v somatickej bunke, spravidla sa nič nestane. Pri poškodení nekódujúcej oblasti alebo vypnutého génu je to samozrejme. Ak mutácia znemožní funkciu génu, ktorý je pre danú bunku potrebný (napr. gén pre enzým energetického metabolizmu) a chyba nemôže byť vyvážená druhou alelou (génom na druhom chromozóme), daná bunka podľahne apoptóze, ale nevzniká choroba. Jediným reálnym nebezpečenstvom je mutácia génu (génov), ktoré kontrolujú bunkový cyklus. Takéto mutácie môžu viesť k nádorovému rastu. Úvahy o účasti somatických mutácií v procese starnutia nie sú vedecky jednoznačne podložené. Najdôležitejšie je však to, že somatické mutácie neprejdú do ďalšej generácie – nie sú dedičné.

Dedičné môžu byť jedine gametické mutácie, a to len v tom prípade, ak sa gaméta (spermium alebo vajíčko) s poškodeným génom podieľa na vzniku zygóty (oplodnené vajíčko). Jediniec sa vyvíja z tejto jedinej bunky a preto *všetky jeho somatické a zárodočné bunky* sa stanú nositeľmi chybného génu. To ešte stále neznamená chorobu, pretože mutácia môže byť v nekódujúcej časti genómu alebo ide o mutáciu, ktorá sa prejaví len ak je poškodená aj druhá alela génu (recesívna dedičnosť). Takáto gametická mutácia sa však prenesie do ďalších generácií, pretože polovica gamét takého jedinca obsahuje mutáciu. Z mutácie, ktorá zasiahla zárodočnú bunku v jednej generácii, sa stane základ dedičnej choroby ďalších generácií.

Vrodené a dedičné choroby

Dedičné choroby nie sú vždy vrodené a opačne (tab. 5.5). Väčšina, ale nie všetky monogénové dedičné choroby, sa manifestuje hneď, alebo skoro po narodení. Tieto choroby sú *dedičné a vrodené* [A]. Niektoré dedičné choroby sa manifestujú v neskoršom veku, hoci chybný gén je prítomný od narodenia (napr. Huntingtonova choroba, polycystické obličky, hemochromatóza, trombofília a i.[B,C]). Tieto choroby sú *dedičné, ale nie sú vrodené (kongenitálne)*. Je možné sem zaradiť aj veľkú skupinu chorôb s genetickým pozadím [D] Chromozómové aberácie, ktoré sa manifestujú u novorodencov, môžu mať pôvod v poškodení alebo v chybnom rozdelení chromozómov počas meiózy gamét alebo počas prvých delení oploďneného vajíčka. Sú to *vrodené poruchy* a chyby v genetickom materiáli, ale *nie sú dedičné* v zmysle klasických zákonov genetiky [E] a sem patria aj rôzne formy poškodenia plodu počas intrauterinného života [F].

TAB. 5.4.
ZÁKLADNÉ FORMY MUTÁCIÍ

1. DELENIE PODĽA ÚROVNE POSTIHNUTIA
1.1. Génové mutácie 1.2. Štruktúrne abnormality chromozómov 1.3. Genómové mutácie – chybný počet chromozómov
2. DELENIE GÉNOVÝCH MUTÁCIÍ PODĽA TYPU POSTIHNUTÝCH BUNIEK
2.1. Somatické génové mutácie 2.2. Gametické génové mutácie
3. DELENIE BODOVÝCH MUTÁCIÍ (VÝMENA JEDNÉHO NUKLEOTIDU)
3.1. Tiché mutácie (silent) – nemajú za následok výmenu aminokyseliny (25%) 3.2. Mutácie s chybným významom (missense) – majú za následok výmenu aminokyseliny (70%) 3.3. Mutácie bez zmyslu (nonsense) – zmenený triplet nekóduje aminokyselinu a funguje ako stop kodón (5%). Ak sa to stane na začiatku génu, žiadna bielkovina sa netvorí. 3.4. Bodové mutácie v nekódujúcich oblastiach nie je možné takto posudzovať. Nazývajú sa ako SNP (single nucleotide polymorphism)
4. ZMENA POČTU NUKLEOTIDOV V GÉNOCH
4.1. Pridanie alebo vypadnutie troch (alebo 6, 9, atď) nukleotidov znamená pridanie alebo chýbanie jednej (2, 3, atď) aminokyseliny v bielkovine 4.2. Pridanie alebo vypadnutie hocikakého počtu nukleotidov, čo nie je deliteľné tromi sa nazýva ako posunová (frameshift) mutácia. Po takej mutácii celá ďalšia sekvencia nukleotidov sa stáva nezmyselnou. Skôr či neskôr sa objaví stop kodón a translácia sa zastaví (žiadna bielkovina ako v 3.3).
5. GENÓM JE NESMIERNE ZLOŽITÝ – NIE VŠETKO SA DÁ KLASIFIKOVAŤ: Zložitejšie mutácie sú veľmi rozmanité. Patria sem väčšie delécie a inzercie, inverzie, duplikácie génov, vznik hybridných génov, atď. Prechod medzi väčšími génovými mutáciami a malými štruktúrnymi aberáciami chromozómov je plynulý. Zaradenie dynamických mutácií do tejto zjednodušenej schémy nie je možné. Ani obyčajné bodové mutácie nie sú také jednoduché, ako sa na prvý pohľad zdá. Najčastejšia (až tretina všetkých bodových mutácií) je premena cytozínu na tymín, a to vtedy, ak vedľa cytozínu je guanín (CG ⇒ TG). V génoch sú miesta, kde je frekvencia mutácií vyššia (tzv. hot spots) ako inde. Pre vznik mutácií nie je jedno, v ktorej fáze cyklu sa bunka nachádza. Mutácie môžu vzniknúť aj v G ₀ (kludovej) fáze, ale to je málo pravdepodobné. Chyby počas replikácie sú častejšie, ale tieto môžu byť eliminované kontrolnými a reparačnými systémami nukleových kyselín. Pri zrýchlenom delení buniek (vznik nádorov) alebo pri poruchách kontrolných a reparačných mechanizmov replikácie dochádza k významnému zrnženiu počtu neopravených mutácií. Veľmi citlivým časovým úsekom z hľadiska zmien v génoch je prvá profáza meiotického delenia pri gametogenéze. Vtedy dochádza ku crossing over , čo je výmena genetického materiálu medzi homológnyimi chromozómami. Tieto nie sú bodové mutácie. V poslednej dobe bolo objavené, že genetický kód môže byť poškodený aj počas transkripcie. Nesprávny gén sa môže dostať do DNA aj pomocou reverznej transkripcie (napr. z vírusov) Delenie mutácií na spontánne a indukované (podľa väčšiny učebníc) je problematické, pretože nie je medzi nimi principiálny rozdiel. Nikto nepochybuje o tom, že rôzne vonkajšie faktory (ionizujúce žiarenie, chemické mutagény) indukujú zvýšený počet mutácií. Príčiny spontánnych mutácií sú tie isté, len ich nevieme identifikovať.

TAB. 5.5
DEDIČNÉ A VRODENÉ CHOROBY

[A] Dedičné a vrodené	Kosáčiková anémia Cystická fibróza Vrodené poruchy metabolizmu Hemofília A	Monogénové choroby s recesívnou dedičnosťou Dedičnosť viazaná na X chromozóm
[B] Dedičné s neskorou manifestáciou (vždy)	Huntingtonova choroba	Monogénová dominantná dedičnosť, dynamická mutácia
[C] Dedičné, manifestácia závisí od vonkajších faktorov	Hemochromatóza Vrodená trombofília	Monogénové choroby s neúplnou penetranciou
[D] Dedičné pozadie, o manifestácii rozhodujú vonkajšie faktory	Predčasná ateroskleróza Skorý nástup Alzheimerovej choroby Diabetes mellitus 2. typu Niektoré zhubné nádory	Zložitá interakcia medzi jedným alebo viacerými génmi a faktormi prostredia
[E] Vrodené, nie dedičné	Downova choroba Turnerov syndróm	Chromozómové aberácie zapríčinené chybami počas meiózy. Nie sú dedičné, ale súvisia s chybami genetického materiálu
[F] Vrodené, nie dedičné	Kongenitálne malformácie srdca	Vplyv vonkajších činiteľov na vývoj plodu

TAB. 5.6
POŠKODENIE PLODU POČAS VÝVOJA

<p>FYZIKÁLNE ČINITELE Úrazy počas ťarchavosti Ionizujúce žiarenie</p> <p>CHEMICKÉ ČINITELE Alkohol Fajčenie Lieky, napr. thalidomid - malformácie končatín</p> <p>BIOLOGICKÉ ČINITELE Virózy, napr. rubeola - malformácie srdca Diabetická hyperglykémia – veľký plod až malformácie plodu</p>

Ani ďalšia skupina kongenitálnych patologických stavov nie je dedičná. Vonkajšie faktory (tab. 5.6) môžu nepriaznivo ovplyvniť vývoj plodu počas vnútromaternicového života a viesť k ťažkým vrodeným poruchám a malformáciám, ktoré sú *vrodené, ale nie sú dedičné*. V prípade týchto malformácií sú to vonkajšie škodliviny, ktoré narušili bezchybnú realizáciu genetickej informácie somatických buniek počas vývoja jedinca (ontogenézy).

Génové mutácie prítomné v genóme človeka (tj. následky gametických mutácií predošlých generácií) nevedú bezpodmienečne k chorobe. Úvaha o vzťahu medzi chybami v génoch a chorobami vychádza z klasického predpokladu **ústrednej dogmy molekulevej biológie**, ktorá tvrdí, že:

Zmena v genetickom kóde³ má za následok syntézu bielkoviny so zmenenou štruktúrou a chybná bielkovina má za následok chorobu. To je pravda, ale:

K zmene štruktúry bielkoviny dôjde len vtedy, ak mutácia je v kódujúcej časti génu (v exónoch)⁴. O význame mutácií, ktoré sa nachádzajú v nekódujúcich častiach genómu, vieme veľmi málo. Bodové mutácie sa nachádzajú u každého človeka pozdĺž celého genómu a v nomenklatúre genomiky sa nazývajú „SNP“, čo je skratka výrazu *single nucleotide polymorphism*. Väčšina z nich nesúvisí príčinne s chorobami, ale sú užitočnou pomôckou pri výskume individuálnych rozdielov genómu a preto majú aj medicínsky význam.

³ Pre jednoduchosť uvažujeme len o bodových mutáciách.

⁴ Alebo na rozhraní exónu a intrónu, čo môže mať za následok chybné vyrezanie intrónov z iRNA.

Nie všetky bodové mutácie v kódujúcich častiach génov vedú k zmene štruktúry bielkoviny. Genetický kód je *degenerovaný*, tj. tú istú aminokyselinu kóduje viac tripletov, ktoré sa líšia vo väčšine prípadov v nukleotide na treťom mieste. Bodové mutácie v exónoch, ktoré nevedú k zmene štruktúry kódovanej bielkoviny (nedochádza k zámene aminokyseliny) sa nazývajú ako *tiché (silent) mutácie*.

Ak mutácia nie je tichá (*missense alebo nonsense*), kódovaná bielkovina má chybnú štruktúru.

Bielkovina s nesprávnou štruktúrou už môže mať za následok chorobu, ale nie vždy:

Chybná genetická informácia má za následok syntézu bielkoviny s chybnou štruktúrou. Zmenená, nefungujúca alebo chýbajúca bielkovina vedie k chorobe u *homozygotov* pre daný znak. U *heterozygotov* sa choroba manifestuje len v prípade dominantnej dedičnosti. Pri recesívnej dedičnosti druhá, nepoškodená alela génu kóduje správnu bielkovinu, čo stačí na zabezpečenie danej biochemickej alebo fyziologickej funkcie.

Syntéza bielkoviny so zmenenou štruktúrou u klasických monogénových ochorení (kosáčiková anémia, cystická fibróza, hemofília, Huntingtonova choroba) jednoznačne determinuje danú chorobu. U iných (hereditárna hemochromatóza, vrodená trombofília) sa choroba prejaví len za určitých okolností. U väčšiny ochorení (hypertenzia, ischemická choroba srdca, diabetes mellitus 2. typu) zmenené gény znamenajú len zvýšené riziko vzniku choroby a vonkajšie faktory majú v ich manifestácii rozhodujúcu úlohu.

Poznáme aj také stavy, keď je chybný gén, zmenená bielkovina, zmenená fyziologická funkcia a následok nepovažujeme za chorobu. Bolo by prehnané označiť 8 % mužov za chorých len preto, že nevedia dobre rozoznať zelenú a červenú farbu⁵ (daltonizmus). Ak sa na ľudstvo dívame z hľadiska syntézy kyseliny askorbovej (vitamínu C), všetci sme mutanti – väčšina zvierat túto látku syntetizuje bez problémov, my (a morčatá) sme túto schopnosť stratili niekedy behom vývoja.

Nie každá zmena génov je patologická. (Náš medicínsky pohľad je skreslený – ako pohľad poisťovacieho agenta, ktorý vidí len havarované autá.) Viac ako 25 % génov je **polymorfných**. Genetický polymorfizmus zodpovedá za rozdiely v telesnej stavbe, farbe vlasov a kože, za jednotlivé krvné skupiny a za rozmanitosť v rámci HLA systému, ktorá úzko súvisí s imunitnou odpoveďou. Vývoj druhu (fylogénéza) sa zakladá na prirodzenom výbere nositeľov náhodných mutácií a genetický polymorfizmus je predpokladom prežívania druhu. Ak by sme mali všetci tie isté gény HLA systému, jediná vírusová infekcia by mohla vyhubiť celé ľudstvo.

O tom, že vzťah medzi zmenami génov a chorobami je nesmierne zložitý, svedčí aj posledný príklad. Downova choroba zapríčinená trizómiou jedného z najmenších chromozómov je veľmi ťažké ochorenie. Mentálna retardácia, typický vzhľad, predčasné starnutie a postihnutie mnohých orgánov vznikajú napriek tomu, že *všetky gény na troch chromozómoch č. 21 sú bezchybné!*

5.3 MONOGÉNOVÉ CHOROBY – KLASIFIKÁCIA A VŠEOBECNÉ PRAVIDLÁ ICH DEDIČNOSTI

Monogénové choroby zapríčinené mutáciou génov môžu byť rozdelené podľa typu dedičnosti a chromozómov, na ktorom sa daný gén nachádza, na:

- Autozómové dominantne dedičné choroby a znaky
- Autozómové recesívne dedičné choroby a znaky
- Choroby a znaky viazané na pohlavné chromozómy

Dominantné vlastnosti sú vyjadrené u každého nositeľa znaku, t.j. aj u heterozygotov. **Recesívne** znaky sa manifestujú len u homozygotov, ale tieto pojmy nie sú absolútne a závisia aj od úrovne analýzy. Kosáčiková anémia vedie k ťažkým klinickým príznakom len u homozygotov (recesívna dedičnosť), ale prítomnosť hemoglobínu S je možné dokázať aj v červených krvinkách heterozygotov. Z biochemického aspektu je prítomnosť Hb S **kodominantne** dedený znak.

Počet známych monogénových ochorení je veľmi vysoký, ale tieto choroby sú pomerne zriedkavé (tab. 5.7). V niektorých prípadoch ide o novú mutáciu, ktorá nastala v gamétach predošlej (dominantne dedičné a X-viazané choroby) alebo niektoorej z predošlých generácií.

⁵ Samozrejme pri výbere zamestnania (vodič z povolania) nie je možné ich považovať za úplne zdravých.

TAB. 5.7.
VÝSKYT MONOGÉNOVÝCH CHORÔB, PRÍKLADY

TYP DEDIČNOSTI	VÝSKYT	POZNÁMKA
KLASICKÁ DOMINANTNÁ DEDIČNOSŤ		
Familiárna hypercholesterolémia	1/500	Vysoký LDL cholesterol od detstva, rýchly rozvoj aterosklerózy
Marfanov syndróm	1/10 000	Vrodená porucha kolagénu
DOMINANTNÁ DEDIČNOSŤ, ZVLÁŠŤNA FORMA		
Huntingtonova choroba	1/15 000	Chybný počet tripletov v géne
RECESÍVNA DEDIČNOSŤ		
Kosáčiková anémia	1/625	Černosi USA, Afrika
Cystická fibróza	1/2000	Európa
Fenylketonúria	1/5000	Vrodená porucha metabolizmu
KLASICKÁ DEDIČNOSŤ VIAZANÁ NA X CHROMOZÓM		
Hemofília A	1/10 000	
DEDIČNOSŤ VIAZANÁ NA X CHROMOZÓM, ZVLÁŠŤNA FORMA		
Martinov – Bellov syndróm	1/1250 muži 1/2500 ženy Premutácia 1/400 u žien	Chybný počet tripletov v géne
KODOMINANTNÁ DEDIČNOSŤ		
Hereditárna hemochromatóza	2 – 10%	Manifestácia u heterozygotov závisí od spôsobu stravovania a iných faktorov
Vrodená trombofília – faktor V Leiden	heterozygotov	

Autozomové dominantne dedičné znaky a choroby

Podľa Mendelových zákonov genetiky jeden z rodičov potihnutého jedinca je manifestným nositeľom choroby alebo znaku. Pravdepodobnosť manifestácie choroby u potomkov je 50 %. Muži a ženy sú postihnutí v rovnakom počte.

Intenzita príznakov a vek manifestácie vykazuje u väčšiny autozomálne dominantných porúch veľkú variabilitu, čo svedčí o zložitosti dráhy vedúcej od genotypu k fenotypu. Dominantne sa môžu dediť len znaky a choroby, ktoré nevedú k smrti postihnutého pred dosiahnutím reprodukčného veku. Len tak je možný prenos chybného génu na ďalšie generácie. Niekedy sa stane, že dominantný znak sa vyskytne v homozygotnej forme. Príkladom je **familiárna hypercholesterolémia**. Nosiči jedného chybného génu pre LDL-receptor majú zvýšené riziko aterosklerózy v strednom veku, homozygoti majú extrémne koncentrácie cholesterolu už v mladosti a následky aterosklerózy sa u nich manifestujú veľmi skoro.

Autozómové recesívne dedičné choroby

Rodičia sú zdraví (nemajú klinicky zjavné príznaky). Potomkovia dvoch heterozygotov majú 25 %-nú pravdepodobnosť choroby (Interpretácia, že každé štvrté dieťa bude choré, je chybná.) Pravdepodobnosť stať sa heterozygotom v ďalšej generácii je 50%. Muži a ženy sú postihnutí v rovnakom počte.

Manželstvo medzi príbuznými (konsangvinita) zvyšuje pravdepodobnosť výskytu týchto ochorení. Nesmieme zabudnúť, že každý človek má niekoľko chybných génov vo svojom génóme. Počet polymorfizmov (SNP) je oveľa vyšší, ale tie väčšinou nemajú za následok chorobu.

Mnohé z recesívne dedičných ochorení sú totožné s **vrodenými poruchami metabolizmu** (zapríčinenými enzýmovými deficitmi), ale patria sem aj **hemoglobínopatie, poruchy receptorov, abnormality krvných bielkovín a i.** Sú to spravidla zriedkavé, ale ťažké ochorenia. Ak postihnutí nie sú liečení, umierajú spravidla v mladom veku a neprenášajú chybný gén ďalej. Ten sa však dostane do ďalších generácií prostredníctvom zdravých nosičov, heterozygotov na daný znak.

Dedičnosť viazaná na pohlavné chromozómy

Najčastejšie sa stretávame s recesívnou dedičnosťou viazanou na X chromozóm: Choroba sa manifestuje u mužov, lebo majú len jeden X chromozóm. Postihnutý muž prenáša chybný gén svojim dcéram (jeho synovia dostávajú od neho Y-chromozóm). Heterozygotné ženy sú spravidla bez klinických príznakov, ale sú nosičmi chybného génu. Nosičky odovzdávajú gén svojim synom s 50%-nou pravdepodobnosťou.

V niektorých prípadoch aj heterozygotné ženy majú mierne príznaky choroby. Súvisí to s tým, že v somatických bunkách žien je aktívny len jeden z X chromozómov, druhý je inaktívovaný náhodným výberom počas skorého intrauterinného života. V časti somatických buniek žien je aktívny jeden, v druhej druhý X chromozóm. Biochemický nález závisí od pomeru aktívnych normálnych a chybných X chromozómov.

Okrem pomerne častých porúch a chorôb tohoto typu (porucha farbocitu, hemofília A a B, deficit enzýmu G6PD v červených krvinkách a i.) existujú aj dominantné znaky viazané na X chromozóm. V tomto prípade znak sa manifestuje aj u heterozygotných žien. Patrí sem dedičnosť jedného typu antigénov krvných skupín a rachitída rezistentná na vitamín D.

Na Y chromozóme (holandrické gény) sú lokalizované gény, ktoré určujú mužské pohlavie (SRY pre rozvoj semenníkov) a jeden z antigénov, ktorý sa zúčastní na rejekcii transplantovaných orgánov. Tieto gény sa prenášajú z otca na syna.

Pohlavné chromozómy neurčujú len pohlavie a naopak – nie každý znak súvisiaci s mužským alebo ženským pohlavím je kódovaný na pohlavných chromozómoch. Sklon k predčasnej plešivosti je autozomálne dominantný znak, ale jeho manifestácia závisí od produkcie testosterónu, a preto sa vyskytuje u mužov.

5.4 HEMOGLOBINOPATIE A TALASÉMIE – PRÍKLADY MONOGÉNOVÝCH CHORÔB S RECESÍVNOU DEDIČNOSŤOU

Prítomnosť abnormality v genóme je rozhodujúcim činiteľom manifestácie a výskytu týchto chorôb, ale aj faktory vonkajšieho prostredia majú na ne vplyv. Ako príklad je možné uviesť kosáčikovú anémiu. Chybný gén je častý v tých oblastiach sveta, kde malária bola, alebo je endemická. Kosáčiková anémia je dobrým príkladom na sledovanie jednotlivých článkov patogenetického reťazca (cesty od genotypu k fenotypu). Na začiatku reťazca je bodová mutácia a na konci ťažká anémia, trombózy, hypoxia, zlyhanie orgánov a smrť v detskom veku.

Štruktúra hemoglobínu a gény globínov

Hemoglobín zdravého dospelého človeka sa skladá z dvoch alfa (α) a z dvoch beta (β) globínových reťazcov (hemoglobín A; $\alpha_2\beta_2$). Vo vnútri každého globínu je zložitá heterocyklická zlúčenina – **hém**. V strede každého hému je atóm dvojmocného železa, ktorý viaže molekulu kyslíka. Gény pre globínové reťazce sú na rôznych chromozómoch (α na 16-om a β na 11-om). Na 16.-om chromozóme sú vedľa seba dva gény pre alfa reťazec, čo znamená, že zdravý človek má 4 alfa gény. Pred génmi, ktoré sú zapnuté v dospelosti sú gény exprimované počas vývoja človeka a nefunkčné globínové pseudogény⁶. Počas ontogenézy sa jednotlivé gény zapínajú postupne. Tesne pred narodením sú už zapnuté gény pre reťazec α ale namiesto reťazcov β sa syntetizujú reťazce γ . Výsledkom je fetálny hemoglobín, (Hb F; $\alpha_2\gamma_2$), ktorý silnejšie viaže kyslík ako Hb A. Po narodení dôjde k prepnutiu génov a namiesto syntézy gama reťazcov sa začnú syntetizovať beta reťazce.

Kosáčiková anémia (sickle cell disease)

Kosáčiková anémia je príkladom autozómovo recesívne dedičnej vrodenej choroby, ktorá je zapríčinená jedinou bodovou mutáciou. Ťažká choroba, ktorá postihuje detí v Afrike a černochoch v USA bola opísaná na začiatku minulého storočia. Molekulovú podstatu anémie, ktorá je charakterizovaná deformovanými červenými krvinkami objasnili Pauling a Ingram v rokoch 1948 – 1956⁷, keď zistili, že príčinou kosáčikovej anémie je zmenená štruktúra beta reťazcov. Na 6. mieste β

⁶ Pseudogény sú nefunkčné gény - pozostatky fylogenézy. Možno ich prirovnať k vrakom potopených lodí alebo ku starým knihám v knižnici, ktoré nepoužívame, pretože máme ich novšie vydanie.

⁷ Ich metódy sa nedajú porovnať s dnešnými. Neboli automaty na sekvenovanie peptidov a nukleových kyselín. Na analýzu abnormálnej bielkoviny chromatografiou a elektroforézou potrebovali veľké množstvo biologického materiálu.

reťazca je namiesto kyseliny glutámovej valín. Výmena je následkom bodovej mutácie v géne pre β reťazec.

Biochemický následok výmeny aminokyseliny je znížená rozpustnosť hemoglobínu pri nízkom parciálnom tlaku kyslíka. Hemoglobín na konci kapilár a vo venózne krvi sa vyzráža, erytrocyty sa deformujú, sú rigidné a majú veľmi krátku životnosť.

Klinický následok nie je len ťažká anémia. Rigidné krvinky upchávajú kapiláry a tvoria mikrotromby, ktoré vedú k hypoxii, k následnému odumieraniu tkanív a k poškodeniu orgánov. Tieto vazookluzívne krízy sú navyše bolestivé, podľa udania postihnutých „*Like having your hand caught in a car door – ako keď niekto privrie svoju ruku vo dverách auta*“. Homozygoti umierajú v detskom resp. mladom veku, u heterozygotov je možné nájsť Hb S v krvi, ale nemajú klinické príznaky. Kosáčiková anémia je príkladom „*dlhej cesty od genotypu k fenotypu*“. Jediná bodová mutácia v konečnom dôsledku vedie k porušenej funkcii každého orgánu a k smrti v mladom veku.

Kosáčiková anémia a malária – príklad selekčného tlaku

Kosáčiková anémia sa prakticky nevyskytuje u ľudí bielej pleti. Počet heterozygotov u černochovo v USA a v rovníkovej Afrike je vysoký, 5 - 20 % celej populácie. (Homozygotov je okolo 1/625 až 1/400) Najvyšší výskyt je v oblastiach, kde v minulosti bola malária endemická. Plazmódia malárie sú intracelulárne parazity, ktoré sa množia v červených krvinkách. V erytrocytoch s Hb S je nízka koncentrácia draslíka a to nie je dobré prostredie pre parazity. Homozygoti na Hb S umreli na kosáčikovú anémiu, ale heterozygoti boli relatívne rezistentní na maláriu. Úmrtnosť na maláriu u ľudí s čistým Hb A bola vyššia ako úmrtnosť heterozygotov na Hb S. Tento **selekčný tlak** je zodpovedný za to, že kosáčiková anémia je v porovnaní s ostatnými hemoglobinopatiami pomerne časté ochorenie.

Koľko hemoglobinopatií existuje ?

Hypotetický počet hemoglobinopatií je astronomický, pretože v jednom globínovom reťazci je viac ako 160 aminokyselín a každá by mohla byť vymenená na hociktorú inú. Skutočnosť je iná, ale počet známych globínových variant je aj tak viac ako 400. Väčšina z nich je veľmi zriedkavá, a preto z hľadiska praktickej medicíny nepovažujeme ich za samostatné choroby. V tabuľke 5.8 sú uvedené príklady hemoglobinopatií podľa rozdelenia na základe zmenenej funkcie prenášača kyslíka.

TAB. 5.8

RÔZNE FORMY HEMOGLOBINOPATIÍ

CHARAKTERISTIKA	PRÍKLAD
Znížená rozpustnosť	Hb S, Hb C
Zvýšená kyslíková afinita	Hb F, Hb Chesapeake
Znížená kyslíková afinita	Hb Seattle, Hb Torino
Methemoglobíny	Hb M (viac foriem)
Nestabilná molekula	Hb H (β_4)

Talasémie

Grécke slovo thalassos znamená more. V medicíne talasémie sú hemoglobinopatie, ktoré nie sú zapríčinené bodovými mutáciami, ale deléciami väčších úsekov tých oblastí chromozómu 11 alebo 16, kde sú globínové gény. Tieto choroby boli pôvodne opísané v oblastiach okolo Stredozemného mora a odtiaľ pochádza ich pomenovanie. Talasémie sa klinicky prejavujú ako hemolytické anémie.

Pri delécii génu pre β reťazec organizmus rieši situáciu tým spôsobom, že nevypne exprimáciu génu pre γ reťazec a syntetizuje fetálny hemoglobín aj po narodení (*HPFH – hereditary persistence of fetal hemoglobin*). Ak delécia zasiahne aj gén pre γ globín, bunky v kostnej dreni sú nútené poskladať hemoglobín zo 4 α reťazcov, čo je však funkčne menejcenná a labilná molekula.

Delécia jedného génu pre α reťazec spravidla nemá klinicky zjavné následky. Ostatné tri stačia na zabezpečenie syntézy dostatočného množstva hemoglobínu. Rôzne stupne talasémie typu alfa sa objavujú pri vyradení funkcie 2 – 4 génov (tab. 5.9). Talasémia alfa je dobrým príkladom na dedičnú monogénovú chorobu, ktorá zdanlivo nezodpovedá Mendelovým zákonom. Na základe vedomostí o počte génov pre alfa reťazec však nejde o žiadnu výnimku zo zákonov molekulovej biológie.

TAB. 5.9.
DELÉCIA GÉNOV PRE ALFA REŤAZEC A STUPNE TALASÉMIE

GENOTYP	FENOTYP
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	norma
$\alpha\alpha/\alpha-$	asymptomatický nosič
$\alpha-/ \alpha-$ alebo $\alpha\alpha/--$	asymptomatický nosič alebo mierna anémia
$\alpha/--$	chronická hemolytická anémia, Hb H = 4 β globíny
$--/--$	hydrops fetalis (nezlučiteľné so životom)

Talasémie nie sú veľmi zriedkavé choroby. Výskyt nosičov chybného génu pre α reťazec v Grécku je 1/14, na Cypre až 1/6. Druhá forma sa vyskytuje najčastejšie v Ázii (Vietnam, Kambodža a Tajsko).

5.5 CYSTICKÁ FIBRÓZA

Cystická fibróza (mukoviscidóza) je najčastejšie monogénové recesívne dedičné a vrodené ochorenie, ktoré sa vyskytuje v Európe. Výskyt heterozygotov v našej populácii je skoro 5% (1/22), čo znamená, že približne z každého 500-ého manželstva sa môže narodiť postihnuté dieťa. Tomu zodpovedá aj počet chorých homozygotov: 1/2000 – 1/2500.

Hlavnou charakteristikou choroby sú husté viskózne sekréty žliaz v dýchacom a tráviacom systéme a zvýšená koncentrácia NaCl v pote. Husté sekréty upchávajú vývody žliaz a malé bronchioly v pľúcach. V poškodených orgánoch sa usadzujú patogénne mikroorganizmy. Vznikajú opakované infekcie a nakoniec dochádza k zlyhaniu orgánov. Pre osud postihnutých je rozhodujúce poškodenie pľúc. Staré anglické porekadlo tvrdilo, že „*woe to that child which when kissed on the forehead tastes salty he is bewitched and soon must die*“, čo vo voľnom preklade znamená, že deti, ktoré majú slaný pot, sú zakliate a skoro zomrú.

Gén zodpovedný za cystickú fibrózu sa nachádza na 7. chromozóme. Patrí medzi veľké gény – obsahuje až 26 exónov. Kóduje bielkovinu, ktorá bola pomenovaná ako CFTR a v neporušenej podobe slúži na spätný transport chloridu zo sekrétov do buniek. V poslednom čase sa zistilo, že táto zložitá transmembránová bielkovina má aj iné funkcie – zasahuje aj do transportu bikarbonátu cez membránu a reguluje aj iné transportné systémy.

V géne pre CFTR boli nájdené mnohé mutácie, ale až 60 % postihnutých má tú istú mutáciu – deléciu 3 nukleotidov, čo má za následok vypadnutie jednej aminokyseliny (fenylalanínu na 508. mieste) z bielkoviny. Všetky ostatné aminokyseliny sú na správnom mieste, ale chýbajúci fenylalanín stačí na vyradenie CFTR z funkcie.

Biochemická diagnostika cystickej fibrózy je založená na stanovení koncentrácie NaCl v pote. Dnes je možná aj presná genetická diagnostika mutácie. Choroba v budúcnosti bude liečená **génovou terapiou** – už dnes sa skúša infekcia epitelu dýchacích ciest neškodným vírusom, ktorý do jadra buniek vpraví bezchybný gén pre CFTR. Efekt takejto liečby je ešte veľmi slabý – gén sa nemusí dostať na správne miesto v genóme a epitelové bunky neodovzdajú nový gén do svojich dcériných buniek. Napriek tomu v posledných rokoch sa dosiahol významný pokrok v terapii choroby aj bez génovej terapie. Včasná a cieleňá liečba infekcií, fyzioterapia a iné moderné liečebné postupy (vrátane transplantácie pľúc) predĺžili priemernú dobu života postihnutých z 5 – 10 na 35 rokov.

5.6 HEMOFÍLIA A DALTONIZMUS – DEDIČNOSŤ VIAZANÁ NA POHLAVNÉ CHROMOZÓMY

Hemofília A a niektoré ostatné poruchy krvácania.

Ťažká dedičná krvácavosť postihuje skoro výlučne chlapcov. Výskyt je 1/5 000 - 10 000. Pravidlá tejto formy dedičnosti je možné sledovať na slávnom a dobre známom príklade potomkov anglickej kráľovnej Viktórie (nar. 1819, kráľovná 1837 – 1901). Mala 9 detí, z toho jedného postihnutého chlapca a dve dcéry nosičky. Jedna z nosičiek chybného génu bola matkou Alexandry, manželky posledného ruského cára Mikuláša II. Cárská rodina mala 4 dcéry a chorého syna Alexisa. Ďalšiemu šíreniu chybného génu týmto smerom zabránila revolúcia v Rusku, konkrétne Vladimír Iljič Lenin

(Uljanov), keď v roku 1917 dal zavraždiť celú rodinu. Syn Viktórie, Edward VII. (vládol v rokoch 1901 – 1910) nebol postihnutý a preto choroba sa nevyskytuje ani u členov rodiny kráľovnej Alžbety II.

Hemofília A je zapríčinená chýbaním plazmatického koagulačného faktora VIII (antihemofilný globulín). Tento faktor (funguje ako proteolytický enzým) je v krvi zdravých ľudí vo veľkom nadbytku a ťažké krvácanie vzniká len vtedy, ak aktivita faktora VIII je menej ako 1 % normy. U týchto ľudí sú časté dlhotrvajúce krvácania aj bez zjavnej príčiny. Už obyčajná chôdza vedie ku krvácaniam do kĺbov dolných končatín. Hematómy sa organizujú a vedú k imobilizácii kĺbov. Časté sú krvácania do vnútorných orgánov. Krvácania z malých rán a po extrakcii zubov boli v minulosti často fatálne, podobne ako krvácanie do mozgu. Straty krvi vedú k chronickej anémii.

Výskum molekulovej podstaty hemofílie A viedol k zaujímavému výsledku. Typická mutácia vedúca k hemofílii A je *inverzia* veľkej časti génu. Z toho je zrejmé, prečo je aktivita faktora VIII u väčšiny postihnutých prakticky nulová. Informácia kódovaná v otočenej časti génu nemôže viesť k syntéze funkčnej bielkoviny. Takáto zvláštna mutácia môže nastať počas gametogenézy. Takto sa dá vysvetliť aj to, že až u tretiny postihnutých nenájdeme v rodinnej anamnéze výskyt hemofílie – sú to pravdepodobne nové mutácie, ktoré vznikli v gamétach matiek prvého postihnutého chlapca.

Hemofília B sa svojou dedičnosťou klinicky podobá na hemofíliu A. Ide o vrodené chýbanie XI. faktora, výskyt u chlapcov je 1/30 000. **Hemofília C** je zriedkavá autozómová recesívne dedičná choroba.

von Willebrandova choroba v minulosti bola považovaná za ľahšiu formu hemofílie. Von Willebrandov faktor totiž v krvi zdravých ľudí stabilizuje faktor VIII a staršie biochemické metódy neboli schopné oddeliť tieto dve bielkoviny (a ich deficit) od seba. Choroba je dominantne dedičná a autozómová. Podľa niektorých údajov postihuje až 1 – 3 % populácie, ale vo väčšine prípadov nemá manifestné klinické príznaky. Sklon ku krvácaniu sa môže objaviť v tom prípade, ak ku skrytej abnormalite pridá iný faktor (dlhodobé podávanie aspirínu, aplikácia antikoagulancií), ktorý znižuje koaguláciu.

Poruchy farbocitu

Gény štyroch bielkovín, ktoré zachytávajú fotóny viditeľného svetla, sa nachádzajú na dvoch chromozómoch. Gény rodopsínu a opsínu pre modré svetlo sú na 7. chromozóme. Gény opsínov pre zelené a červené svetlo sú na X chromozóme. Tieto dva gény sú blízko seba a navyše ich nukleotidové sekvencie sú na 98 % totožné, čo umožňuje ich kombináciu počas meiózy. Výsledkom chybných génov sú poruchy farbocitu. Delécia génu pre niektorý z opsínov znamená farboslepotu na danú farbu. U mužov bielej pleti sa najčastejšie vyskytuje (5%) *deuteranomália* – chybné vnímanie zelenej farby. Chybné vnímanie červenej farby je *protanomália*, farboslepotu pre zelenú a červenú farbu sa volá *deuteranopia* a *protanopia*. Výskyt každej z týchto porúch je asi 1%. Porucha farbocitu pre modrú farbu je enormne zriedkavá.

Deuteranomáliou trpel slávny anglický prírodovedec J. Dalton (1766 – 1844). Zaoberal sa farebným videním, ale nebol schopný vysvetliť, prečo vidí farby ináč ako ostatní ľudia. Vo svojej záveti odkázal svoje oči pre vedcov ďalších generácií. Genetici na univerzite v Manchesteri z jeho formalínom konzervovanej retiny v roku 1995 izolovali gény a identifikovali mutáciu v gène pre zelený opsín.

Častý výskyt porúch farbocitu u človeka sa dá vysvetliť dvoma mechanizmami. Jeden je na úrovni nukleových kyselín – dva skoro totožné gény vo vzájomnej blízkosti sa veľmi ľahko skombinujú počas meiózy. Druhá príčina je to, že porucha farbocitu nie je choroba, ktorá by negatívne ovplyvnila bežné životné funkcie – chýba **selekčný tlak** na elimináciu chybného génu z populácie.

5.7. HEMOCHROMATÓZA A VRODENÁ TROMBOFÍLIA, MONOGÉNOVÉ CHOROBY S VÝZNAMNOU ÚLOHOU FAKTOROV VONKAJŠIEHO PROSTREDIA

Hereditárna hemochromatóza

Hereditárna hemochromatóza (HH) je dedičná porucha charakterizovaná zvýšenou rezorbciou železa a ukladaním železa do rôznych orgánov. Hemochromatóza donedávna bola považovaná za zriedkavú chorobu. V posledných desaťročiach sa ukázalo, že výskyt mutantného génu u príslušníkov európskych národov je 5 – 15% (heterozygoti). Počet homozygotov je 3 – 7/1000. V Afrike a v Ázii, u domorodcov Austrálie a Ameriky sa mutantný gén prakticky nevyskytuje. Chybný gén sa nachádza na

6. chromozóme a v roku 1996 bola identifikovaná bielkovina, ktorá reguluje rezorbciu železa z čriev do krvi. Viac ako 80% postihnutých má jednu bodovú mutáciu, ktorá má za následok výmenu cysteínu na pozícii 282 na tyrozín.

HH je ochorenie s neúplnou penetranciou. Biochemická abnormalita je prítomná od narodenia, ale klinické symptómy sa objavujú neskôr a ich manifestácia závisí od troch hlavných faktorov:

1. **Vek.** Akumulácia železa v tkanivách je dlhodobý proces a k zjavnému poškodeniu činnosti orgánov dôjde až vo veku 30 – 50 rokov.
2. **Pohlavie.** Ženy (počas menštruácie, pôrodu a kojenia) strácajú viac železa ako muži a preto HH je manifestná len u 12% žien s chybným génom oproti 50% mužov.
3. **Strava.** Vyvážené množstvo železa v strave môže zabrániť akumulácii železa v organizme. Užívanie alkoholu zrýchľuje vývoj choroby.

HH je spravidla diagnostikovaná príliš neskoro - na základe klinických symptómov, ktoré sa však objavujú až v štádiu ireverzibilného poškodenia orgánov (tab. 5.10). Pečeň v tomto štádiu môže obsahovať 50 – 100-krát vyššie množstvo železa ako v norme a v ostatných orgánoch je zvýšenie koncentrácie železa 5 – 10 násobné.

TAB. 5.10 POŠKODENIE ORGÁNOV A PRÍZNAKY HEREDITÁRNEJ HEMOCHROMATÓZY

Bronzové sfarbenie kože Zväčšenie pečene, neskôr cirhóza pečene Diabetes mellitus – „bronzový diabetes“ Kardiomyopatia Poškodenie kĺbov Únavový syndróm Strata libida, impotencia

Včasná diagnostika choroby a preventívne opatrenia sú možné aj bez analýzy génov. Pri podozrení na chorobu stačí vyšetriť ukazovatele metabolizmu železa a pri zvýšenej saturácii transferínu odporúčať vyšetrenému vegetariánsku stravu a zákaz konzumácie alkoholu.

HH pravdepodobne vznikla ako nová mutácia u niektorého z prvých obyvateľov Európy a neskôr sa rozšírila po celom kontinente (*founder effect*). Je možné uvažovať aj o tom, že táto biochemická porucha bola v období rozšíreného deficitu železa v Európe (nedostatok mäsa a iných dobrých zdrojov železa) výhodná. Naša dnešná strava obsahuje viac ako dostatočné množstvo železa a umožňuje manifestáciu HH.

Vrodená trombofília

To, že mutácia v géne pre faktor zrážania krvi vedie ku krvácaným stavom, je ľahko pochopiteľné. V prípade vrodenej trombofílie bodová mutácia v géne pre V. faktor vedie k opačnému stavu – k zvýšenému sklonu k trombóзам. Pri zrážaní krvi totiž musí byť zabezpečené aj odstránenie zrazeniny (fibrinolýza). Pri tejto chorobe následkom bodovej mutácie je syntetizovaná zmenená bielkovina (**faktor V Leiden**), ktorý je koagulačne plne aktívny, ale je rezistentný na účinok hlavného fibrinolytického enzýmu, plazmínu. Mutácia (výmena arginínu na 506. pozícii na glutamín) sa vyskytuje u 2 – 7% európskej populácie, najviac je u Grékov na Cypre (až 13 %)⁸. Klinický význam chybného génu je možné hodnotiť aj z opačného pohľadu: Faktor V Leiden je prítomný až u 30% ľudí s familiárnou trombotickou chorobou.

Tento genetický rizikový faktor u heterozygotov sám nestačí na trombózu. Tá sa spravidla objaví vtedy, ak sú prítomné iné faktory zvyšujúce zrážanie krvi. U mladých žien to môže byť hormonálna kontracepcia. Príklad na zvýšenie rizika je uvedený v tabuľke 5.11.

⁸ Pravdepodobne aj vrodená trombofília je súčasťou nášho spoločného európskeho genetického dedičstva.

TAB. 5.11.**RIZIKO TROMBÓZY U ŽIEN – HETEROZYGOTOV A HOMOZYGOTOV NA FAKTOR V LEIDEN**

Genotyp	Relatívne riziko trombózy bez orálnej kontracepcie	Relatívne riziko trombózy pri orálnej kontracepcii
Zdravá žena	1	4
Faktor V Leiden, heterozygot	7	15 – 48
Faktor V Leiden, homozygot	80	150 – 480

5.8. FRAGILNÝ X-CHROMOZÓM, HUNTINGTONOVA CHOROBA A DYNAMICKÉ MUTÁCIE**Syndróm fragilného X chromozómu (Martinov – Bellov syndróm).**

Martinov – Bellov syndróm je druhou najčastejšou príčinou mentálnej retardácie u mužov (po m. Down, výskyt medzi 1/1000 – 1250) U žien je syndróm menej častý (1/2500). Cytogenetické pozadie choroby bolo objasnené v roku 1977. V elektrónmikroskopickom obraze vidieť, že špička dlhého ramena X chromozómu je spojená s ostatnou časťou chromozómu tenkým vláknom. Toto miesto je veľmi nestabilné a chromozóm sa môže rozlomiť. Postihnutí jedinci sú vysokí, majú veľkú hlavu, dlhú tvár, veľkú prominujúcu bradu a zväčšené testes (makrorchizmus). V detskom veku sú hyperaktívne, ťažko a neskoro sa učia hovoriť. Sú mierne až stredne ťažko mentálne retardované.

Dedičnosť tohoto syndrómu sa čiastočne riadi pravidlami pre dedičnosť viazanú na X chromozóm, ale 20 - 50% mužov s opísaným morfológickým nálezom je asymptomatických. Prenášajú defekt svojim dcéram (sú tiež bezpríznakové) a u ich detí sa rozmery poškodenej časti chromozómu zväčšujú. Biochemická analýza ukázala, že tieto fragilné miesta obsahujú viac metylovaných nukleotidov ako zdraví ľudia. V roku 1991 bola objavená molekulová podstata syndrómu. Ide o úplne nový typ mutácií – na jednom mieste v géne sa nachádza veľký počet opakovaní tripletu CGG. Zdraví ľudia majú na tom mieste 10-50 kópií tripletu, bezpríznakový prenášači 50 - 200 (**tzv. premutácia**) a chorí až 2000. Počet kópií pri prenose cez matku na ďalšiu generáciu rastie a príznaky sa zvirazňujú (**anticipácia**). Tento zvláštny typ genetickej zmeny sa nazýva **dynamická mutácia**. Nedá sa vysvetliť podľa klasických predstáv o genetike a molekulovej biológii.

Huntingtonova choroba (chorea)

Ťažká degeneratívna a smrteľná choroba nervového systému (výskyt 1/15 000). Donedávna bola zaradená medzi autozómne dominantné choroby, čo formálne platí aj dnes. Dnes vieme aj to, že Huntingtonova choroba je zapríčinená dynamickou mutáciou génu na chromozóme 4. Gén kóduje veľkú bielkovinu „*huntingtin*“. Pomenovanie bielkoviny svedčí o tom že jej funkcia v čase objavu bola neznáma. Dnes už vieme, že ide o bielkovinu cytoskeletu, a mutančný huntingtin tvorí v bunkách nerozpuštné agregáty.

Gén zdravých ľudí na jednom mieste obsahuje 10 – 29 opakovaní tripletu CAG (kód pre kyselinu glutámovú), postihnutí 39 – 100. Je zaujímavé, že úplne chýbanie génu je príčinou inej (veľmi zriedkavej, vrodenej a v mladom veku smrteľnej) choroby, syndrómu Wolf – Hirschhorn.

Huntingtonova choroba sa začína vo veku 30 – 50 rokov poruchami hybnosti (chorea znamená nekoordinované samovoľné pohyby končatín) a končí ťažkou demenciou. Histologicky ide o zánik neurónov v bazálnych gangliách. Manifestácia a progresia choroby súvisí s počtom opakovaní tripletu CAG – čím viac ich je, tým je nástup príznakov skorší a priebeh choroby rýchlejší.

Veľký problém Huntingtonovej choroby je to, že síce existuje metóda na diagnostikovanie dynamickej mutácie u bezpríznakových nosičov chybného génu ale v prípade pozitívneho nálezu je osud človeka spečatený – choroba je dnes ešte neliečiteľná. Platí to aj pre jednu z najvýznamnejších výskumníkov choroby, Nancy Wexlerovej a jej sestry Alice. Ich matka zomrela na Huntingtonovu chorobu. Nancy a Alice sa rozhodli nechať si urobiť test. Obidve majú 50 %-nú pravdepodobnosť ochorieť.

5.9. IMPRINTING

Podľa pravidiel klasickej genetiky a (dnes už) klasických základných princípov molekulovej biológie homológne autozómy pochádzajúce od otca a od matky sú úplne rovnocenné. To isté by malo platiť aj o génoch, ktoré sú na homológnych chromozómoch. Moderná genetika a genomika však neustále prináša nové prekvapenia – všetko je zložitejšie, ako sa na prvý pohľad zdá.

Imprinting⁹ je rozdielna expresia génov homológnych chromozómov pochádzajúcich od otca a od matky. U človeka imprinting spolu s deléciami určitých génov hrá úlohu v patogenéze dvoch zriedkavých chorôb (Praderov – Williho a Angelmanov syndróm). Najnovšie výsledky výskumu poukazujú na to, že imprinting niektorých génov u človeka nie je zriedkavý a má úlohu aj v patogenéze bežných ochorení.

Zdravý jedinec musí mať otca aj matku - uniparentálne dizómie chromozómov nefungujú

Pochopenie imprintingu je možné na základe úvahy o vývoji jedinca zo zygóty. Zdravá žena má 22 párov autozómov a dva X chromozómy, zdravý muž má takisto 44 autozómov, jeden X a jeden Y chromozóm. Občas v gametogenéze dôjde k chybe a zygóta môže získať dve kompletne sady chromozómov od toho istého človeka. 46, XX od matky alebo 46, XY od otca. Takéto stavy nazývame **maternálnou alebo paternálnou dizómiou**. Z pohľadu genetiky a molekulovej biológie nič nebráni tomu, aby sa zo zygóty s takou konšteláciou chromozómov vyvinul normálny jedinec. Nie je tomu tak.

Zo zygóty s dvoma sadami chromozómov *od matky* sa napriek karyotypu 46, XX nevyvinie dievča, ale chaotická zmes buniek a tkanív – **teratóm**. Nie je vyvinutá ani placenta. Pre reguláciu normálneho vývoja zrejme chýbajú určité gény z *otcovských* chromozómov

Zo zygóty s dvoma sadami chromozómov *od otca* (46,XY) sa nevyvinie chlapec, ale **mola hydatidóza** – degenerovaný plodový koláč naplnený tekutinou a bez embrya. Tu asi chýbajú určité gény *materských* chromozómov, ktoré riadia normálny sled vývoja tkanív.

Z uvedeného vyplýva, že vo vývoji jedinca majú niektoré gény otcovských chromozómov iné funkcie ako gény materských chromozómov. Gény v oboch sadách chromozómov sú totožné, ale ich expresia nie je rovnaká. Pravdepodobne ide o imprinting – chromozómy prinášajú so sebou do ďalšej generácie akýsi otisk podľa pohlavia rodiča.

Tento popis je didaktickým zjednodušením – uvedená teória bola potvrdená na pokusoch s uniparentálnymi myšami. Nevieme presne, ktoré gény ktorých chromozómov sú imprintované u človeka a nevieme, ktoré z nich majú význam pre vývoj plodu a ktoré pre vznik chorôb v postnatálnom živote. Niektoré gény X chromozómov otca a matky sú určite rozdielne exprimované počas embryonálneho života, ale u žien je situácia ešte zložitejšia. Plody ženského pohlavia majú dva X chromozómy, ale z nich jeden je inaktívny (náhodná inaktívacia jedného z X chromozómov sa volá Lyonizácia). U mužov proti materskému X chromozómu stojí otcovský Y.

Teratóm a mola hydatidóza sa vyskytujú aj u ľudí, ale genetické pozadie týchto stavov je komplikované. Isté je však, že pre vývoj normálneho jedinca sú potrebné dva pohlavné chromozómy od **dvoch** rodičov a dve sady autozómov takisto od **dvoch** rodičov. Nedávno bol objavený jeden imprimovaný gén na 11. chromozóme. Kóduje rastový faktor IFG2 a je exprimovaný len na otcovskom chromozóme počas vývoja plodu. Materské chromozómy exprimujú antagonistu tohoto rastového faktora H19 a za normálnych okolností IFG2 a H19 sú v rovnováhe. Dva chromozómy 11 od otca vedú k Beckwithovho – Wiedemannovho syndrómu, pri ktorom je nadmerný rast tkanív pečene a srdca. IFG2 je rastový faktor a pri dizómii chromozómu 11 je v nadbytku.

Tá istá delécia má za následok dve choroby.

Praderov – Williho syndróm je zriedkavé (PWS, výskyt 1/10000-15000) ochorenie, postihuje obidve pohlavia. Základným príznakom je hypotónia svalov, čo skomplikuje pôrod a po narodení sa manifestuje slabými alebo chýbajúcimi reflexmi, zaostávanie motorického vývoja (sed vo veku 1 rok, chôdza vo veku 2 rokov). Hypotónia neskôr čiastočne ustupuje.

⁹ Imprinting (slovenský preklad by mohol byť „otlačok“) sa bežne vyskytuje u rastlín a nižších živočíchov. U človeka bol dokázaný len nedávno.

V neskoršom vývoji ostáva mierna svalová hypotónia, slabé svaly, nízky vzrast bez akcelerácie v puberte. Je prítomný hypogonadizmus, infertilita, osteoporóza. Zaostávanie mentálneho vývoja so zvýšenou chuťou do jedla – zjedia všetko čo vidia, aj skazené jedlo zo smetia. Telesný zdravotný stav a dĺžka života (okrem obezity a jej následkov) sú normálne.

Výskyt **Angelmanovho** syndrómu (AS) je podobný, ale príznaky sú iné. Starší výraz „Happy puppet syndrome“ vystihuje situáciu, ale z etických dôvodov sa nemá používať. Výrazné zaostávanie mentálneho a motorického vývoja. Deti majú malú hlavu a veľký jazyk. Nenaučia sa hovoriť, ale šťastne sa usmievajú aj na neadekvátne podnety. V noci nespia, sú agresívne a hyperaktívne. Z neurologických príznakov je prítomná ataxia, kŕče (a abnormality na EEG). Dĺžka života je pravdepodobne normálna¹⁰.

Problém genetikov vznikol vtedy, keď zistili, že obidve choroby sú zapríčinené *deléciou tej istej časti* dlhého ramienka 15. chromozómu (ďalej len CH15). Presnejšia analýza odkryla, že PWS je zapríčinený deléciou na otcovskom CH15, AS deléciou na materskom CH15. Vysvetlenie je možné len vtedy, ak predpokladáme, že na danom úseku CH15 je iná expresia génov na materskom a otcovskom chromozóme.

Väčšina detí nemá ani PWS ani AS, pretože súhrou génov exprimovaných na materskom a otcovskom CH15 je zabezpečený normálny vývoj svalov a nervového systému. Deťom s PWS chýbajú gény, ktoré sú exprimované *len* na otcovskom chromozóme, deťom s AS chýbajú gény zapnuté na materskom chromozóme. Dôkaz tejto teórie pochádza z analýzy prípadov, keď choroba nie je zapríčinená deléciou časti CH15 chromozómu, ale jeho uniparentálnou dizómiou. Dieťa, ktoré má dva bezchybné CH15 od otca bude mať AS a dieťa s dvoma CH15 PWS. Súhrn tejto komplikovanej úvahy je v tabuľke 5.12

TAB. 5.12
DELÉCIA A UNIPARENTÁLNA DIZÓMIA 15. CHROMOZÓMU

ZDRAVÉ DIEŤA	CH 15 od otca, CH 15 od matky	Bezchybná expresia génov
PRADEROV - WILLIHO SY. Svalová hypotónia, hyperfágia	Delécia časti CH15 od otca <i>Alebo</i> Dva CH15 od matky	Chýbajú gény exprimované na CH15 od otca
ANGELMANOV SY. „Happy puppet“, agresivita	Delécia časti CH15 od matky <i>Alebo</i> Dva CH15 od otca	Chýbajú gény exprimované na CH15 od matky

Čo sa deje s imprintovanými génmi v ďalšej generácii?

Zdravé ženy a zdraví muži majú vo svojich somatických bunkách niekoľko imprintovaných génov, napríklad na CH15. To znamená, že jeho homológne CH15 sú z hľadiska expresie génov rozdielne, akoby označené, že pochádzajú od otca alebo od matky. Toto označenie by mohlo viesť k poruchám v ďalšej generácii. Preto pred alebo počas gametogenézy „značkovanie“ otcovských a materských chromozómov musí byť odstránené a musí byť zavedené nové označenie podľa toho, či daný človek bude *otcom alebo matkou* ďalšej generácie. Zjednodušene je to znázornené v tabuľke 5.13).

TAB. 5.13
ZMENY IMPRINTINGU POČAS GAMETOGENÉZY

Somatické bunky zdravého muža	CH15 „o“ CH15 „m“
Somatické bunky zdravej ženy	CH15 „o“ CH15 „m“
Niekedy pred ukončením gametogenézy	CH15, otcovský alebo materský otisk je odstránený a je zavedený nový – podľa pohlavia rodiča
Zrelé spermie zdravého muža	CH15 „m“
Zrelé vajíčka zdravej ženy	CH15 „o“
Ich zdravý syn alebo dcéra	CH15 „o“ CH15 „m“

„m“ a „o“ znamenajú imprinting podľa toho, či chromozóm pochádza od matky alebo od otca

¹⁰ Obrazy oblečenej a nahej príšery (La Monstrua vestida, La Monstrua desnuda od J. C. de Mirandy) zobrazujúce dievča s PWS visia v múzeu Prado v Madride.

Čo je molekulovo biologická podstata imprintingu?

Molekulovým mechanizmom imprintingu je metylácia DNA, najmä cytozínov regulačných sekvencií v blízkosti génov. Vo všeobecnosti platí, že oblasti s nízkym počtom metylovaných báz (*hypometylácia*) sú aktívne, kým v hypermetylovaných oblastiach je expresia génov potlačená. Nezodpovedanou otázkou je, čo rozhoduje o metylácii génov, ale isté je, že sú to gény niekde v našom genóme a ich bielkovinové produkty.

5.10. MITOCHONDRIOVÁ DEDIČNOSŤ

Genetický materiál (DNA) sa nenachádza len v jadre, ale aj v mitochondriách. Organizácia mitochondriálnej DNA (mtDNA) sa podobá na bakteriálnu DNA. Je to dvojvláknová kruhová molekula. Mitochondriálne gény neobsahujú intróny a medzi génmi je minimálne množstvo nekódujúcej sekvencie. Zdá sa, že vyššie formy života vznikli kedysi veľmi dávno spojením buniek, ktoré nevedeli využívať kyslík na tvorbu energie s mikroorganizmami schopné premeniť kyslík a vodíky na vodu a energiu (terminálna oxidácia).

Mitochondriálna DNA kóduje informáciu pre 13 podjednotiek bielkovín terminálnej oxidácie a pre ribozomálnu a transferovú RNA. Ostatné enzýmy a bielkoviny terminálnej oxidácie (27) sú kódované v jadre.

Mitochondriálna genetika sa líši od klasickej

Klasická mendelovská genetika je založená na čísle 2. Mendel nevedel nič o chromozómoch a génoch, ale jeho pozorovania sa dali vysvetliť jedine tak, že z faktorov určujúcich fenotyp je v každej bunke jeden pár. V prípade mitochondrií tento predpoklad neplatí, pretože:

- V jednej bunke je len jadro, ale veľa mitochondrií (až 100) a
- v jednej mitochondrii nie je jeden pár chromozómov, ale viac kruhových molekúl DNA (až 10).
- Mitochondrie sa dedia výlučne od matky. Spermie obsahujú málo mitochondrií, ktoré nezasahujú do rozvoja zygóty.

Ďalšou zvláštnosťou mitochondriálnych génov je to, že frekvencia mutácií je v nich oveľa vyššia ako v génoch jadra. Vysoká „polyploidia“ a „heteroplazmia“ daná veľkým počtom mitochondrií a molekúl mtDNA v jednej bunke je určitým kompenzačným mechanizmom proti častým mutáciám.

Chyby mitochondriálnych génov sú príčinou niektorých nie príliš častých dedičných chorôb s nemendelovskou dedičnosťou. Mitochondrie majú za úlohu vyrábať ATP pre životné funkcie a preto príznaky týchto chorôb sú predovšetkým zo strany energeticky náročných tkanív, ako sú svaly, zmysly a nervový systém.

Príklady mitochondriálnych chorôb, ktoré spravidla majú komplikované názvy¹¹:

- MELAS je skratka príznakov: *mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, stroke-like episodes*, tj. mitochondriálna porucha svalov, poškodenie mozgu hormadenie kyseliny mliečnej a epizódy podobné mozgovej porážke.
- DIDMOAD – *Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optická atrofia a hluchota (deafness)*.

Podľa jednej hypotézy postupná akumulácia chýb v mitochondriálnych génoch je hlavnou príčinou starnutia a niektorých chorôb spojených so starobou.

5.11. AKO SI ZVÝŠIŤ CHOLESTEROL? GENETICKÉ POZADIE KOMPLEXNÝCH CHORÔB

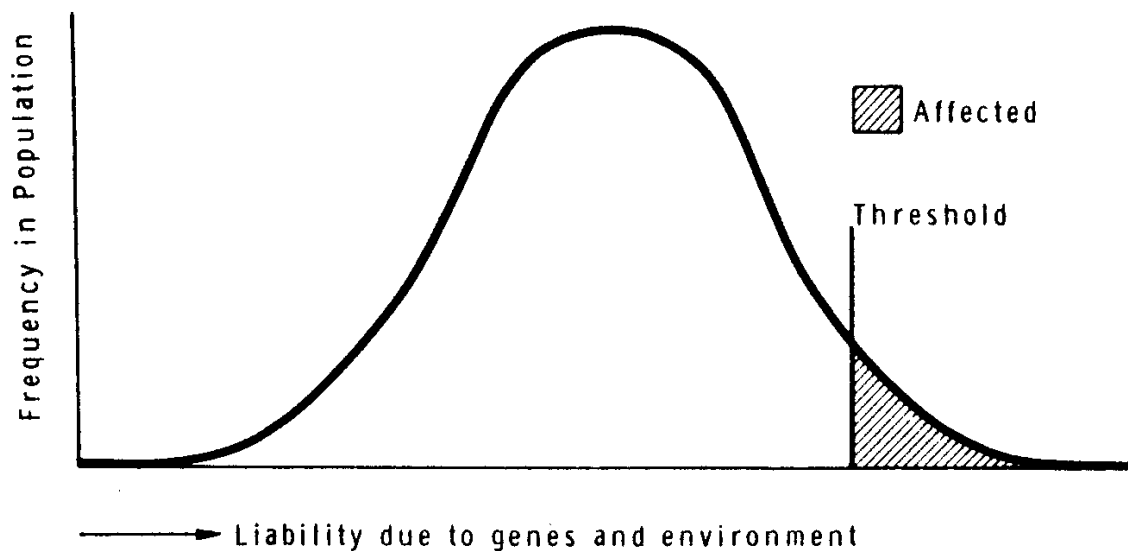
Väčšina znakov fenotypu (napr. telesná výška alebo tlak krvi) je determinovaná spoluprácou produktov mnohých génov a interakcie génov s vonkajším prostredím. Kvantitatívne hodnotenie týchto znakov vo veľkej populačnej vzorke dáva krivku zvonovitého tvaru (obr. 5.2). To isté platí o rozložení hodnôt cholesterolu alebo krvného cukru v populácii.

Porucha metabolizmu lipidov vedie k ateroskleróze a k ischemickej chorobe srdca a preto je dôležité vedieť, ktoré faktory môžu zvýšiť koncentráciu LDL cholesterolu. Táto frakcia cholesterolu je

¹¹ Aj v tom prípade platí, že čím dlhší je názov nejakej choroby, tým menej o nej vieme.

jeden z najdôležitejších rizikových faktorov ischemickej choroby srdca. Jedna z možností patrí ku klasickým monogénovým ochoreniam, druhá je zložitejšia:

1. V našej populácii jeden človek z 500 je nositeľom chybného génu pre LDL receptor, bielkovinu, ktorá sa nachádza v membráne buniek a pomáha vychytávať LDL lipoproteínové častice z krvi. Heterozygoti postihnutí touto mutáciou (familiárna hypercholesterolémia, dominantne dedičné ochorenie) majú v membráne buniek polovičný počet receptorov a dvojnásobnú koncentráciu LDL cholesterolu oproti svojim rovesníkom bez tejto mutácie¹². Títo ľudia majú vysokú pravdepodobnosť infarktu myokardu a navyše v mladšom veku ako ostatní. Tento jediný gén má na hladinu cholesterolu veľký vplyv a choroba sa dedí podľa Mendelových zákonov.
2. Vysoký LDL cholesterol má veľa ľudí (štvrtina až tretina dospelých populácie). U nich porucha metabolizmu lipidov je výslednicou kumulácie nepriaznivých vonkajších faktorov (vek, mužské pohlavie, fajčenie, obezita, strava bohatá na tuky a chudobná na esenciálne mikronutrienty, atď) a polymorfných génov (gén pre apoproteín E4 a iné), ktoré však majú malý účinok na hladinu cholesterolu. Genetická analýza u členov týchto rodín nevedie k žiadnemu výsledku v zmysle Mendelových zákonov.



OBR. 5.2

ROZLOŽENIE HODNÔT ZNAKU URČOVANÉHO MNOHÝMI GÉNMI A FAKTORMI VONKAJŠIEHO PROSTREDIA

Uvedený príklad má význam aj z hľadiska prevencie a liečby. U ľudí s familiárnou hypercholesterolémiou je potrebná veľmi prísna životospráva a cieľená farmakologická liečba na zníženie cholesterolu. Členovia druhej skupiny by sa mali o svoje zdravie starať predovšetkým sami. Správnou životosprávou a racionálnou výživou sú schopní zabezpečiť normálnu hladinu LDL cholesterolu napriek tomu, že nezdedili optimálne gény riadiace metabolizmus lipidov.

Od genomiky je možné očakávať najdôležitejšie výsledky práve v oblasti výskumu genetickej predispozície bežných chorôb s multifaktoriálnou etiológiou. Tieto dnes považujeme za **komplexné choroby**. O niekoľko rokov bude možné stanoviť gény malých účinkov, ktoré u väčšiny ľudí zvyšujú (alebo znižujú) riziko diabetu, hypertenzie, osteoporózy, Alzheimerovej choroby, duševných chorôb, atď. Tieto choroby sa nebudú liečiť génovou terapiou a klónovaním, ale cieľenou a individuálnou prevenciou a terapiou založenou na poznatkoch o ich genetickom pozadí. Víťaz súťaže o sekvenovanie ľudského genómu, Craig Venter už založil novú spoločnosť s výstižným názvom TCAG, čo je jedná skratka nukleotidov v DNA a zároveň skratka názvu firmy – The Center for Advanced Genomics. Hlavnou úlohou spoločnosti je nájsť gény bežných ochorení v úzkej spolupráci s univerzitami a výskumnými ústavmi.

¹² Počet homozygotov je oveľa menší (1/2,5 milión ľudí), majú extrémne vysoký cholesterol.

5.12. CHROMOZÓMOVÉ ABERÁCIE

Chromozómové poruchy je možné deliť do dvoch skupín, podľa toho, či je zmenený **počet** alebo **štruktúra** chromozómov. Prvá skupina je ďalej delená na dve podskupiny – zmeny v počte autozómov a pohlavných chromozómov.

Abnormality v počte chromozómov môžu vznikáť nondisjunkciou počas meiózy, t.j. z poruchy putovania dvoch homológnych chromozómov k opačným pólom bunky pri prvom alebo druhom redukčnom delení. Nondisjunkcia môže nastať aj počas prvých delení zygóty, čo má za následok vznik **chromozómovej mozaiky** – jedinec s dvoma rôznymi karyotypmi v somatických bunkách. Abnormality chromozómov v oplodnených vajíčkach nie sú také zriedkavé, ako sa podľa klinicky zjavných abnormalít u novorodencov zdá. Obrovská väčšina týchto abnormalít je však eliminovaná počas vývoja plodu (tab. 5.12). V tejto tabuľke nie sú zahrnuté abnormality, ktoré sú eliminované po prvých deleniach zygóty, ktoré nie sú zachytené ako spontánne aborty.

Abnormality chromozómov môžu vznikáť aj počas mitóz – napríklad pri vzniku a rozvoja zhubných nádorov.

Abnormality štruktúry chromozómov

Abnormality štruktúry chromozómov vznikajú zlomením a (niekedy) opätovným spojením chromozómov. Najčastejšie zmeny sú **translokácie**, **inverzie** a **delécie**. Štruktúrna reorganizácia genetického materiálu môže byť **vyrovnaná** alebo **nevyrovnaná** podľa množstva genetického materiálu v bunke.

TAB. 5. 12

ABNORMALITY CHROMOZÓMOV A ICH ELIMINÁCIA POČAS VÝVOJA PLODU

	SPONTÁNNY ABORT 15 000	ŽIVÍ NOVORODENCI 85 000
NORMÁLNY KARYOTYP	7 500 (50%)	84 450 (> 99%)
ABERÁCIA	7 500 (50%)	550 (0.65%)
POLYPLOÍDIA	1 725	0
AUTOZÓMOVÉ TRIZÓMIE	3 877	143
CH 13	128	17
CH 18	223	13
CH 21	350	113
INÉ	3 176	0
GONOZÓMY	1 379	142
47,XYY	4	46
47,XXY	4	44
45,X	1 350	8
47,XXX	21	44
TRANSLOKÁCIE		
vyrovnané	141	64
nevyrovnané	225	51
INÉ ABNORMALITY	280	49

Pri vyrovnaných reorganizáciách časti chromozómu a gény kódované na danom úseku sú premiestnené na iný chromozóm, čo nemusí mať žiadne následky na činnosť bunky. Problémy vznikajú v ďalšej generácii. Príkladom je zvláštna forma Downovej choroby, kde u jedného rodiča 21. chromozóm sa pripojí na 14. Nositeľ translokácie je zdravý, ale dieťa môže dostať jeden 21. chromozóm od matky, druhý od otca a *tretí* od rodiča, ktorý na 14. chromozóme má prilepený 21. chromozóm.

Príkladom nevyrovnanej zmeny je delécia krátkeho ramienka chromozómu 5 (delécia 5p15.2), ktorý vedie k syndrómu **cri du chat** (syndróm mačacieho kriku). Postihnuté deti sú fyzicky a mentálne retardované a pre poruchu vývoja hrtana ich plač pripomína mňaukanie mačiek. Dožívajú sa dospelého veku, ale s ťažkou mentálnou retardáciou.

Niektoré chromozómové aberácie sú spojené s leukémiami a solidnými malignými nádormi. Príkladom je **filadelfský chromozóm**, čo je chromozóm 22 bez dlhého ramienka – častý nález pri chronickej myelodinej leukémii. Aj translokácie môžu viesť k vzniku maligných nádorov, pravdepodobne aktiváciou bunkových onkogénov, ktoré translokáciou sa vymania spod kontroly regulačných génov. Rýchle delenie rakovinových buniek zvyšuje pravdepodobnosť

Zvláštnou formou abnormálnej štruktúry chromozómov je ich fragilita. **Syndróm fragilného X chromozómu** (Martinov - Bellov syndróm) bol opísaný pri dynamických mutáciach. Fragilita chromozómov sa vyskytuje aj pri Fanconioho anémii a Bloomovom syndróme. Tieto choroby sú zapríčinené pravdepodobne poruchami reparačných systémov genetického kódu.

Zlomené chromozómy (1 – 2%) vidieť aj v karyotype zdravých ľudí. Ich počet je vyšší u osôb vystavených škodlivým účinkom prostredia (radiácie, jedovaté látky a i.).

5.13. ZMENY V POČTE POHLAVNÝCH CHROMOZÓMOV

Ak sa nondisjunkcia týka X chromozómov oocyty, vzniká po meióze jedna bunka s karyotypom **24,XX** a jedna s karyotypom **22,0**. Po oplodnení normálnym spermom (23,X alebo 23,Y) vznikajú tieto kombinácie: **47,XXY**; **47,XXX**; **45,Y**; **45,X**. Tri formy z týchto štyroch kombinácií sú zlučiteľné so životom a manifestujú sa ako definované syndrómy (tab. 5.13) Život bez X chromozómu nie je možný (**45,Y**).

Nondisjunkcia sa vyskytuje aj počas meiózy spermií (spermie **24,XY** a **22,0**). Po oplodnení vajíčka týmito spermiami vznikajú zygóty **47,XXY** a **45,X**. Stručný opis klinických príznakov jednotlivých abnormalít je v tabuľkách . 5.13 a 5.14.

TAB. 5.13.
FREKVENCIA ABNORMALÍT POČTU POHLAVNÝCH CHROMOZÓMOV

PORUCHA	FREKVENCIA NA 1000 PÔRODOV	KLINICKÝ SYNDRÓM
45,X	0,08	Turner
47,XXX	0,5	„superfemale“
47,XXY	1,0	Klinefelter
47, XYY	0,8	„supermale“

TAB. 5.14.
ZÁKLADNÉ CHARAKTERISTIKY PORÚCH POČTU POHLAVNÝCH CHROMOZÓMOV

Tunerov syndróm

Nízky vzrast, mierna mentálna retardácia, degenerácia ovárií, amenorea, sterilita, nevyvinuté sekundárne pohlavné znaky. Časté sú abnormality srdca, obličiek a skeletu. Liečba rekombinantným rastovým hormónom v detstve a substitučná liečba pohlavnými hormónmi od puberty.

Klinefelterov syndróm

Eunuchoidná stavba tela, bez spermatogenézy, hypogonadizmus, infertilita. Mentálna retardácia.

Superfemale

Vývoj pohlavných orgánov môže byť normálny alebo retardovaný. Fertilita je znížená. Potomkovia môžu mať aberácie gonozómov. Mierna mentálna retardácia.

Supermale

Nadpriemerná telesná výška, normálna fertilita. Porucha sa na potomkov neprenáša. Podľa nie celkom podložených údajov zvýšený sklon k agresivite. (Na to však často stačí jeden Y!).

5.14. ABNORMALITY V POČTE AUTOZÓMOV – DOWNOV SYNDRÓM

Len málo z 22 možných autozomálnych **trizómií** je zlučiteľných so životom a len pri jednej z nich (Downov syndróm) dosahujú niektorí postihnutí stredný vek. Trizómia 21. chromozómu bola objavená ako príčina Downovho syndrómu v roku 1959 Lejenuem a spolupracovníkmi. Výskyt v populácii je okolo 1,3 na tisíc živonarodených detí a zvyšuje sa so stúpajúcim vekom matky (tab. 5.15). Vo veku 36 rokov je incidencia abnormality 2,5 a vo veku 44 rokov 25 na tisíc pôrodov. Príčinou je asi vyššia pravdepodobnosť nondisjunkcie chromozómov vo vyššom veku v dôsledku kumulácie pôsobenia exogénnych faktorov. Trizómia je však častejšia aj u veľmi mladých žien a napriek jednoznačnej vekovej závislosti medzi chorobou a vekom matky v každom piatom prípade tretí chromozóm pochádza od otca.

Niektoré postihnuté deti majú iný karyotyp ako trizómia chromozómu 21. U nich je choroba zapríčinená **translokáciou** jedného 21. chromozómu na 14. chromozóm u niektorého z rodičov (častejšie u matky).

K fenotypovým prejavom Downovho syndrómu patrí mongoloidný tvar očí (časté je škúlenie), krátky široký nos s vpadnutým koreňom, rozštep podnebia, epikantus, brachycefalia, krátke prsty a iné malformácie končatín, hypogonadizmus, vrodené chyby srdca a ciev a nízka postava. IQ je spravidla pod 50.

Iné typy autozomálnej **aneuploídie** boli pozorované u spontánne potratených plodov – to znamená, že nie sú kompatibilné so životom. Výnimku tvoria trizómie 13. a 18. chromozómu, pri ktorých postihnuté deti žijú niekoľko týždňov až mesiacov. Na druhej strane **aneuploídiá** a **polyploídiá** v somatických bunkách (napr. v pečeni) nie sú zriedkavé, neovplyvňujú činnosť buniek a neprenášajú sa na ďalšie generácie.

TAB. 5.15.
VEK MATKY A PRAVDEPODOBNOŠŤ TRIZÓMIE 21

VEK MATKY	VÝSKYT TRIZÓMIE
20	1/2000
25	1/1200
30	1/885
35	1/365
40	1/110
45	1/32
50	1/12

PRÍLOHA 5.1.
ZJEDNODUŠENÝ VÝKLAD MENDELOVÝCH ZÁKONOV DEDIČNOSTI

Mendel svoje pozorovania, ktoré získal štúdiom vplyvu kríženia na rôzne znaky hrachu siatedého (*Pisum sativum*) v priebehu mnohých generácií vysvetľoval takto: Rôzne páry kontrastných znakov (červený - biely kvet) sú výsledkom faktoru, ktorý má rôzne formy (*dnes to nazývame alelami génov*). Každá rastlina obsahuje *dvojicu* faktorov určujúcich daný znak, od každého rodiča po jednom. Faktory sa v rastlinách nemiešajú a prenášajú sa v nezmenenej podobe prostredníctvom gamét na potomstvo. Rôzne znaky sa dedia nezávisle od seba.

Znenie Mendelových zákonov podľa klasickej genetiky a ich podstata.

1. Zákon o jednotnosti prvej generácie krížencov
Po skrížení hrachu s červenými a bielymi kvetmi sa objavili rastliny s červenými kvetmi. Gén určujúci červenú farbu je dominantný oproti génu, ktorý určuje biele kvety. Na červenú farbu stačí, aby produkt (červené farbivo) sa syntetizoval na základe transkripcie jedného génu.
2. Zákon o nerovnosti druhej generácie krížencov
Štvrtina potomkov rastlín s červenými kvetmi mala biele kvety. 25% kvetov boli homozygoty s dominantným génom, 50% heterozygoty a 25% homozygoty s recesívnym „bielym“ génom.
3. Zákon o voľnej kombinovateľnosti alel
Farba kvetov sa dedí nezávisle od tvaru plodov. V jadre je viac chromozómov.