



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace předmětu

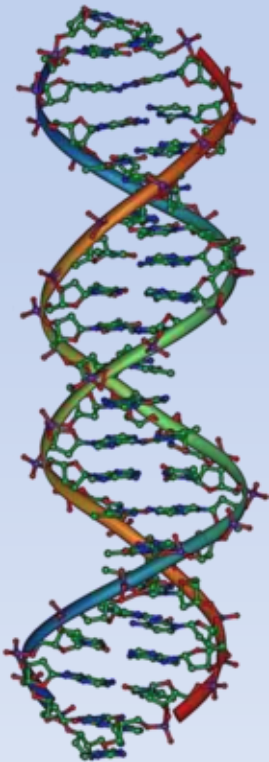
Genetika člověka GCPSB

„Propojení výuky oborů
Molekulární a buněčné biologie
a Ochrany a tvorby životního
prostředí.“

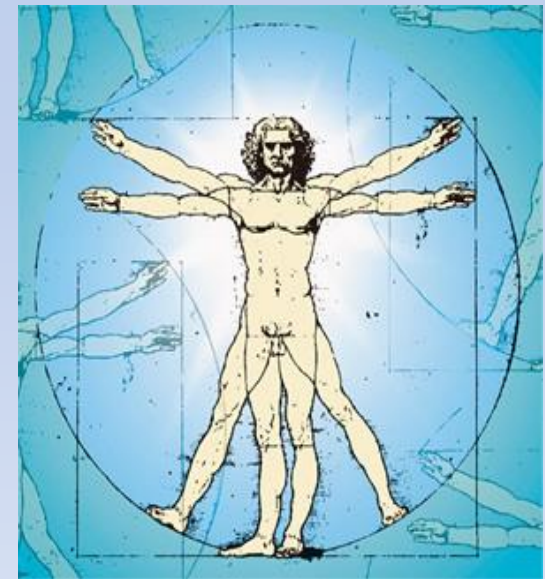
Reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

Genetika člověka / GCPSB

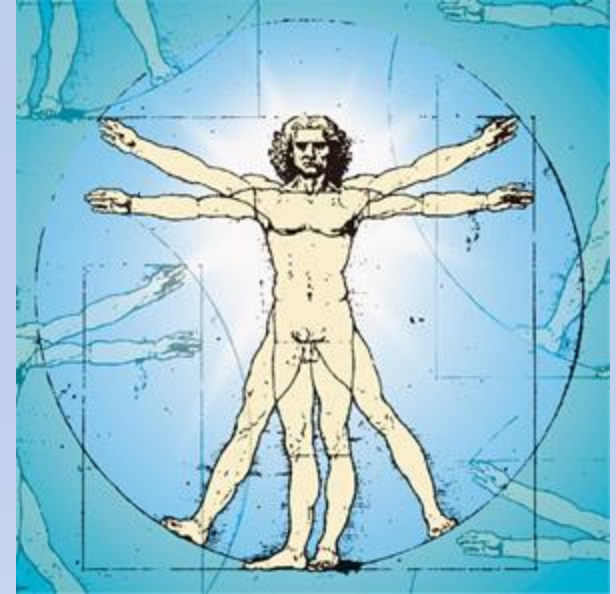
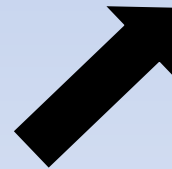
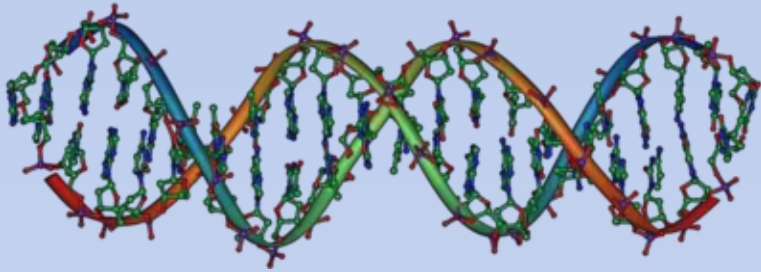
6. Genetika mitochondriálních chorob, Farmakogenetika



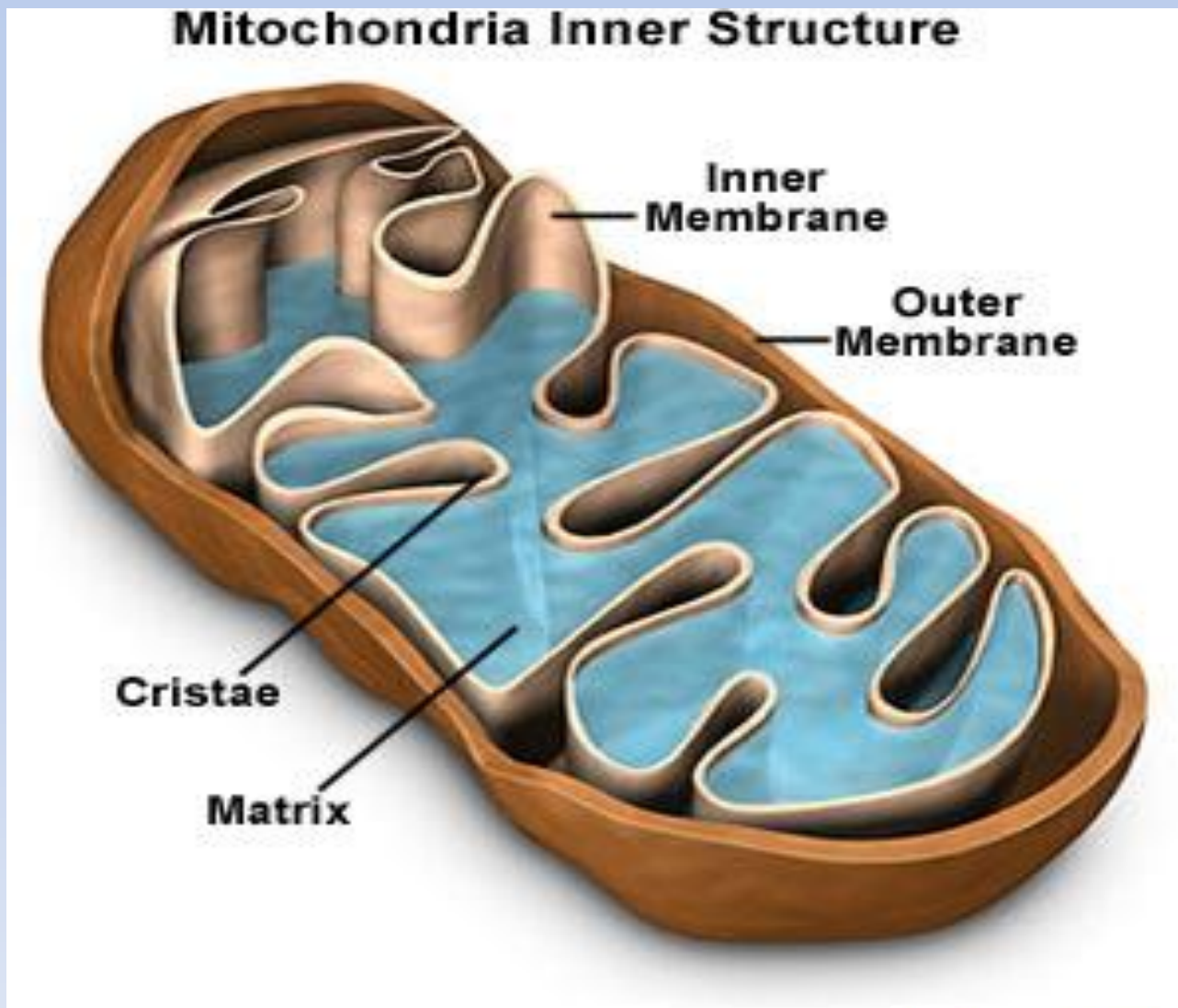
Radim Vrzal
2015



Část I. - Genetika mitochondriálních chorob



Mitochondrie - struktura



Proteiny zodpovědné za Oxidativní Fosforylaci (OXFOS)

Multiproteinové komplexy

Komplex I (NADH : ubichinon oxidoreduktasa) – 46 proteinů

- **oxidace NADH**

Komplex II (sukcinát : ubichinon oxidoreduktasa) – 4 proteiny

- **oxidace sukcinátu**

Komplex III (ubichinol : cytochrom c oxidoreduktasa) – 11 proteinů

- **převod elektronů z CoQ**

Komplex IV (cytochrom c oxidasa) – 13 proteinů

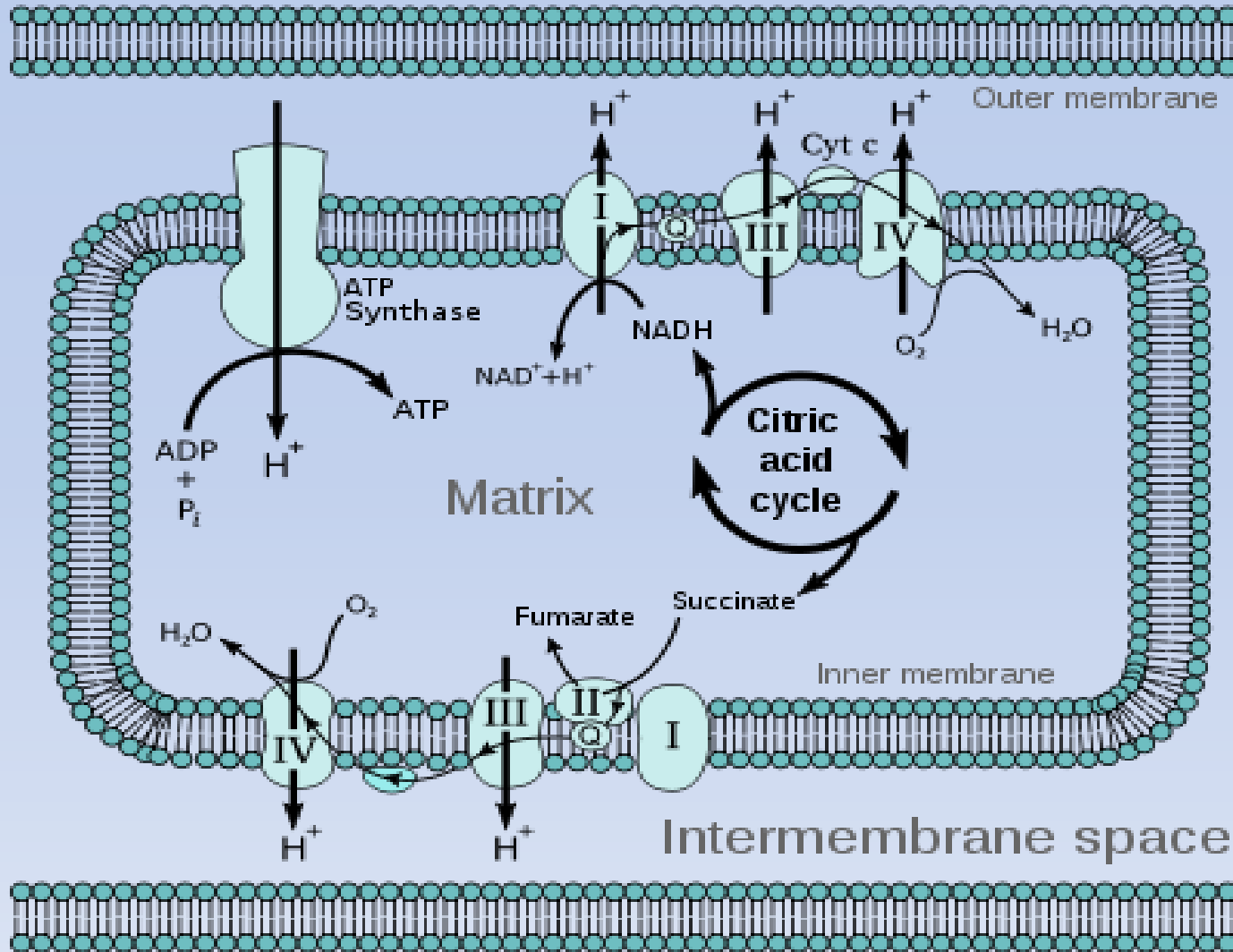
- **produkce vody**

Komplex V (ATP synthasa) – 16 proteinů

- **produkce ATP**

- **Okyselení mezimembránového prostoru → nárůst H⁺**

Oxidativní fosforylace v akci



Potenciální energie H⁺ → produkce ATP

ATP vynášen pomocí přenašeče adeninového nukleotidu (**adenine nucleotide translocator – ANT**) výměnou za ADP z matrix

Mitochondriální DNA (mDNA)

Mitochondrie - semiautonomní

- cca 16,5 kb = 2 rRNA, 22 tRNA,
13 mRNA

- mRNA translatována v matrix

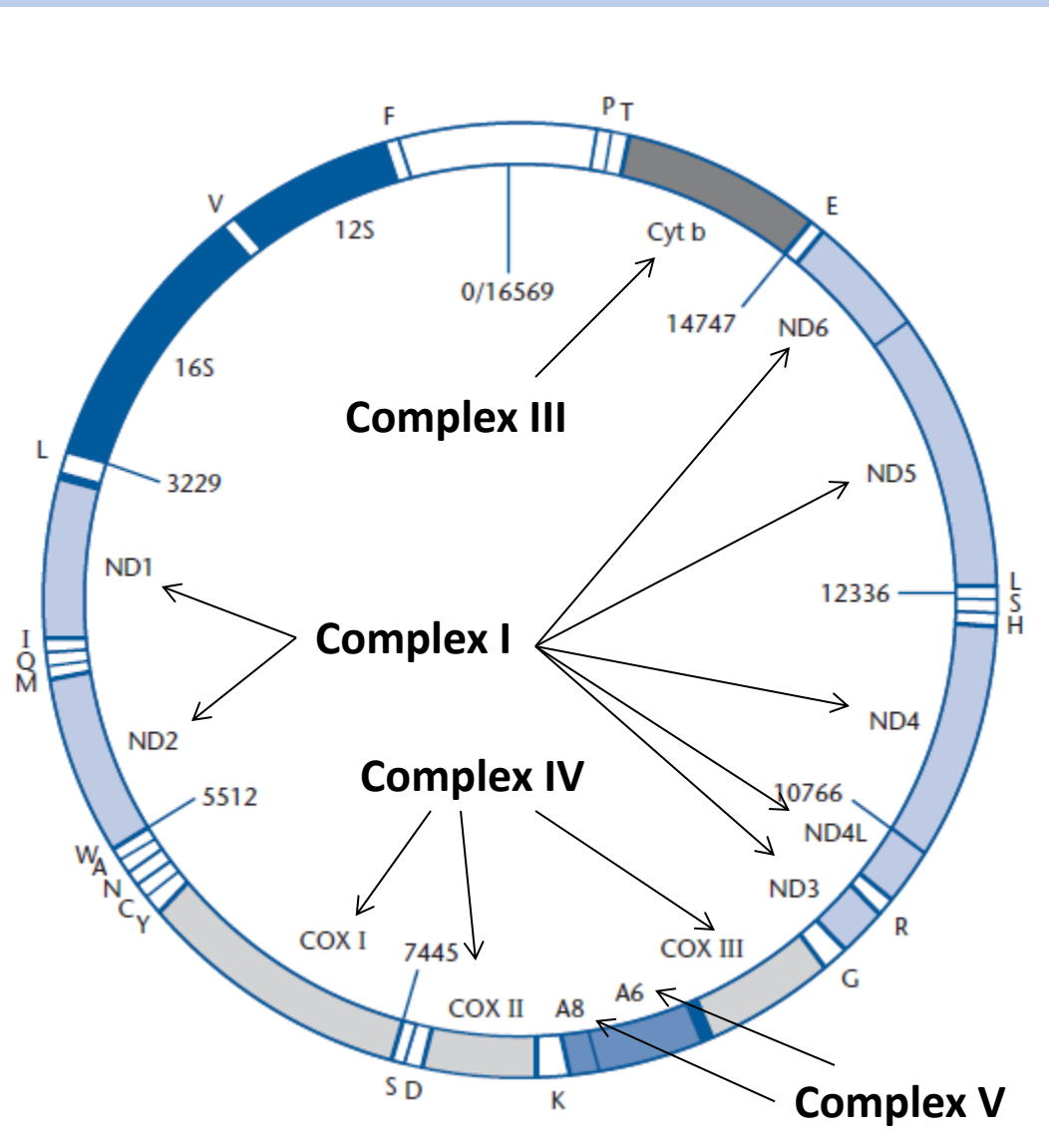
- dalších cca 70 proteinů
(OXFOS) kódováno **jadernými
geny**

- cca 1 000 dalších proteinů se
podílí na metabolismu MK,
citrátovém cyklu, transportu,
atd.

V matrix – 2 až 10 genomů

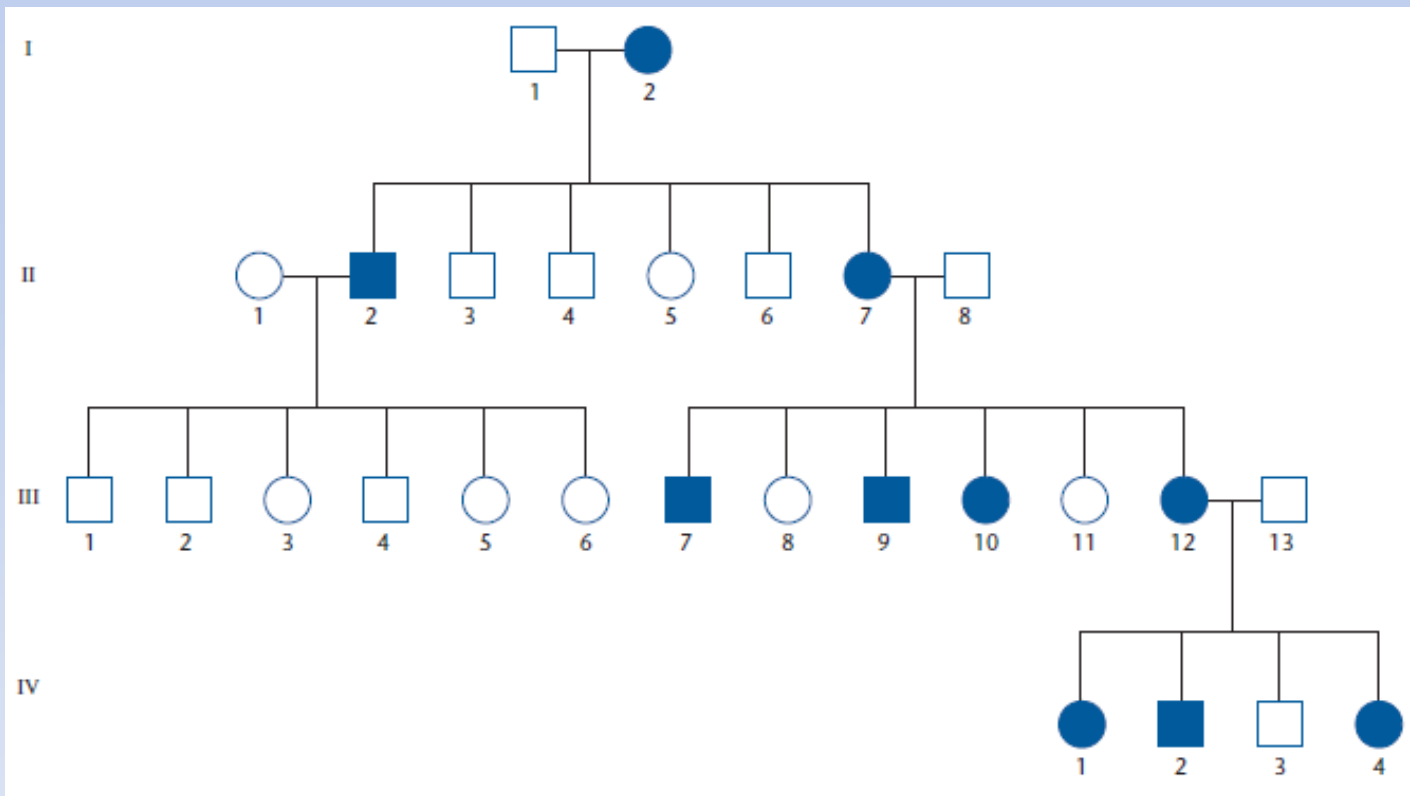
Po replikaci každý náhodně
přenesen do dceřiných buněk.

Způsob dědičnosti neodpovídá
Mendelovým zákonům.

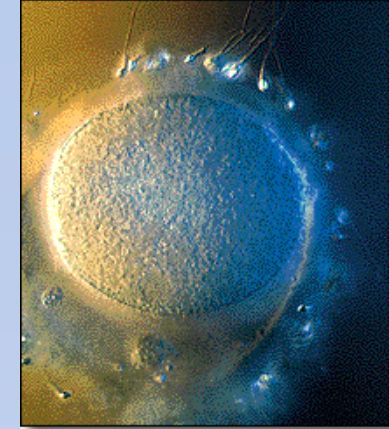


Mitochondriální genetika

- Mitochondrie zygoty pochází z vajíčka → z matky → **mateřská dědičnost**
- Stejný soubor příznaků je děděn pouze z postižených žen → vysoká pravděpodobnost mutace v genech mitochondriální DNA
- Mutantní gen z jádra může být děděn AR, AD, XL



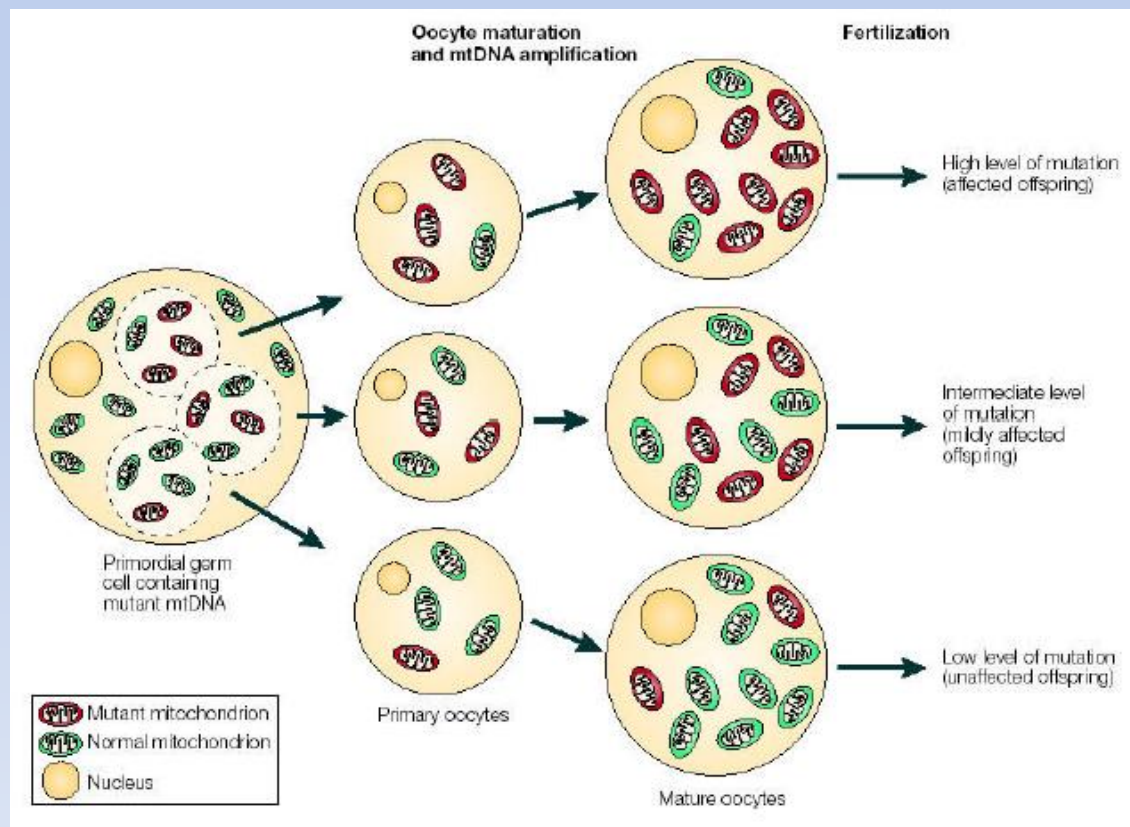
Mitochondriální genetika



- Lidské vajíčko – cca 100 000 mitochondrií, při dozrání je značná část ztracena (odhad 10–100) = „**genetic bottleneck**“
- Během prvních dnů embryonálního vývoje se vytvoří i víc jak 10 000 mitochondrií na buňku

- Náhodná segregace do dceřiných → progenitorové buňky s rozličným kvalitativním obsahem mtDNA → některé tkáně obsahují mutovanou mtDNA → **snížená hladina produkce energie**

- Poměr mutované a wt mtDNA = mitochondriální mutační náklad (**mitochondrial mutation load**)



Mitochondriální genetika

- **Homoplasmie** – všechny mitochondrie stejný genom (mutovaný nebo wt)
- **Heteroplasmie** – různé genomy mitochondrií v buňce či tkáni (mutovaný i normální)
 - mutace snižující produkci ATP u homoplasmických buněk s vysokými požadavky na energii → vážné poškození
 - pro buňky s malými energetickými požadavky → minimální dopad
 - u heteroplasmických buněk – poměr normální vs. mutované DNA určuje zda dojde k energetickému nedostatku



Práh pro expresi fenotypu – závisí na potřebách tkáně

- **Mozek, srdce, játra, svaly** – citlivé na mutaci v mtDNA
- Stejně tak mutované jaderné geny kódující mitochondriální proteiny

Mitochondriální poruchy

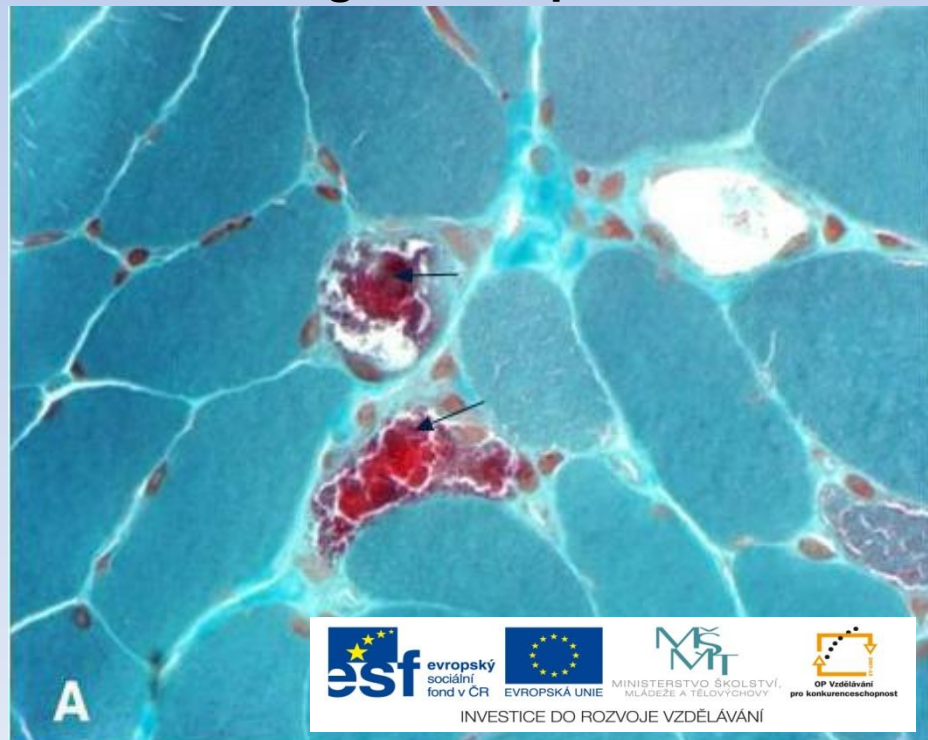
- Známo víc než 50 jednoduchých mutací asociovaných s multisystémovými poruchami
- Celkový výskyt 1 : 10 000
- Následky – myopatie, cardiomyopatie, demence, myoclonus epilepsy (náhlé nekontrolované svalové kontrakce), hluchota, slepota, anemie, diabetes
- Defekty odvozené od určitého mitochondriálního onemocnění závisí na:
 - mutovaném mitochondriálním genu
 - rozsahu segregace v časných stadiích vývoje jedince
 - množství mutovaného genu v určité tkáni
 - prahové hodnotě mutované mtDNA vedoucí ke klinické manifestaci
- Klíčem je **mateřská dědičnost**
- Velké změny mtDNA → neprojde „hrdlem“

Myoklonální epilepsie a roztrhaná červená vlákna / Myoclonus epilepsy and ragged red fibers (MERRF)

- vzácná, heteroplasmická multisystémová porucha
- děděná mateřskou cestou
- Klinická manifestace - přechodné záchvaty (**myoclonus epilepsy**), neschopnost koordinovat pohyby svalů (ataxie), ztráta svalových buněk (myopatie), a do jisté míry hluchota, demence a degenerace páteřních nervů

- Temín „**roztrhaná červená vlákna**“ (ragged red fibers) – označuje shluky mitochondrií, které se hromadí převážně v kosterním svalstvu a barví se červeně barvičkou specifickou pro komplex II.

- Nástup nemoci obvykle během dětství



Myoklonální epilepsie a roztrhaná červená vlákna

- Většina MERRF – výsledek bodové mutace (A8344G) v genu pro **transferovou RNA** (Lys) mtDNA



- Nese-li 90 % mitochondrií mutaci v buňkách nervů a svalů → definitivní symptomy
- **Mutace sníží syntézu mitochondriálních proteinů**
- Množství všech komplexů s výjimkou komplexu II je sníženo

Mitochondriální encefalomyopatie s mléčnou acidosou a epizodami podobnými mrtvici (MELAS)

- nejčastější mitochondriální onemocnění děděné po matce
- klinická manifestace - vracející se mrtvice před 40 rokem života, myopatie, myoklonus, demence, hluchota
- **nárůst koncentrace kyseliny mléčné**
- **velké shluky abnormálních mitochondrií ve stěnách malých arterií a kapilár mozku a svalů**
- ***MTTL1**MELAS3243G** – přes 80 % případů, mutace v genu pro **tRNALeu** – heteroplasmické
- Ve více než 90 % buněk svalů → zvýšená pravděpodobnost vracejících se mrvic, demence, epilepsie
- Mutace 3243 – redukce syntézy mitochondriálních proteinů
– snižuje aminoacylaci a poločas rozpadu tRNA

Kearnův-Sayrův syndrom (KSS)

- Oftalmoplegie a degenerace sítnice
- Často zahrnuje i hluchotu, demenci, ataxii, nástup před 20. rokem života
- Nevykazuje konsistentní vzor dědičnosti
- **Analýzy svalové mtDNA odhalily delece a duplikace**
- 1/3 případů asociována s 4977bp dlouhou delecí v oblasti A8 až ND5 mtDNA
- **Při deleci/duplikaci mtDNA v progenitorech krevních elementů → Pearsonův syndrom** (neschopnost využívat Fe, sideroblastická anemie) – u přeživších se vyvine KSS později



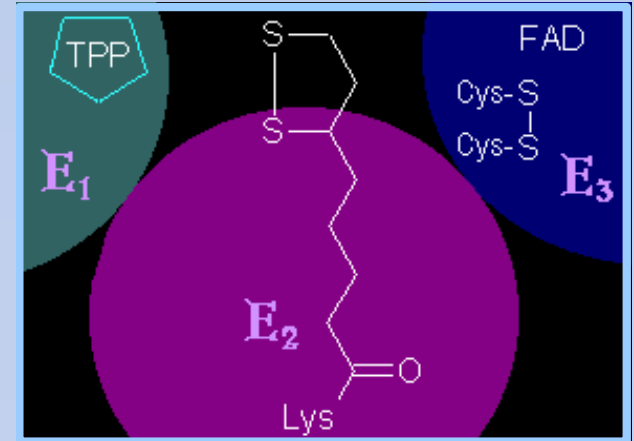
Jadernými geny kódované mitochondriální poruchy

- Protein má 15-30 AK sekvenci na N-konci – vazba na receptor na povrchu vnější mitochondriální membrány

Defekty vstupu mit. proteinů

- *pyruvátdehydrogenasový komplex (PDHC)* –
složení: E1 – pyruvát dekarboxylasa
E2 – dihydrolipoyl transacetylasa
E3 – dihydrolipoyl dehydrogenasa

E1 = tetramer, PHDA1 kóduje E1a, lokalizace Xp22.1



Substituce basí v obou alelách PHDA1 → **neschopnost vstupu do mitochondrie**

Fenotyp – oční abnormality, degenerace CNS

- *Ornitin aminotransferasa (OAT)* – monomerní enzym katalyzující přeměnu ornitinu na glutamový γ -semialdehyd
 - nedostatek spojen se slepotou jako následek degenerace sítnice a cévnatky
 - OAT gen na 10q26, missense mutace (AR) - zabraňuje vstupu OAT do mitochondriální matrix

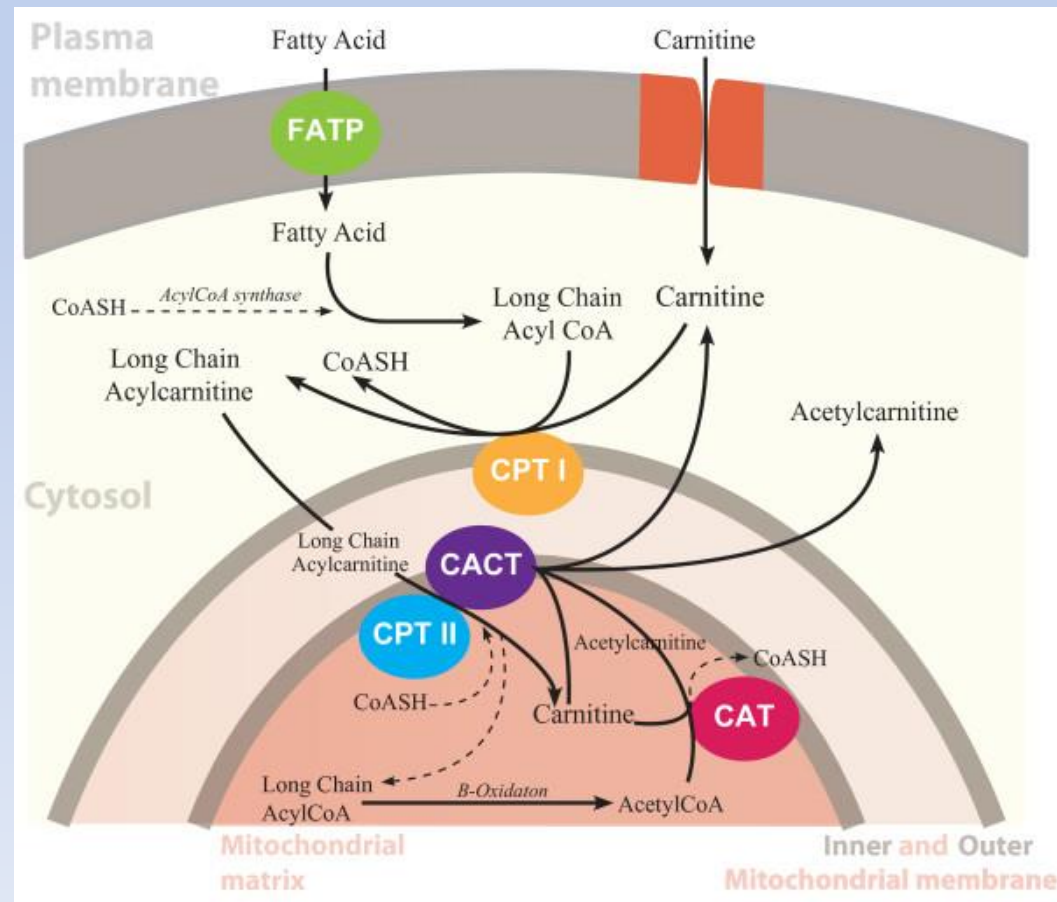
Jadernými geny kódované mitochondriální poruchy

Defekty v transportu substrátů

oxidace FA je důležitá pro získávání energie v srdci a kosterním svalstvu především při cvičení

- defekty v mnoha genech pro β -cyklus - fenotyp je podobný, zahrnuje **abnormality jater, srdce a svalů**

- např. defektní enzym karnitin-acylkarnitin translokasa (gen **CACT**) – dlouhé FA nejsou přenášeny do mitochondrií a smrt nastává během několika dnů až měsíců po narození



Jadernými geny kódované mitochondriální poruchy

Defekty v utilizaci substrátů

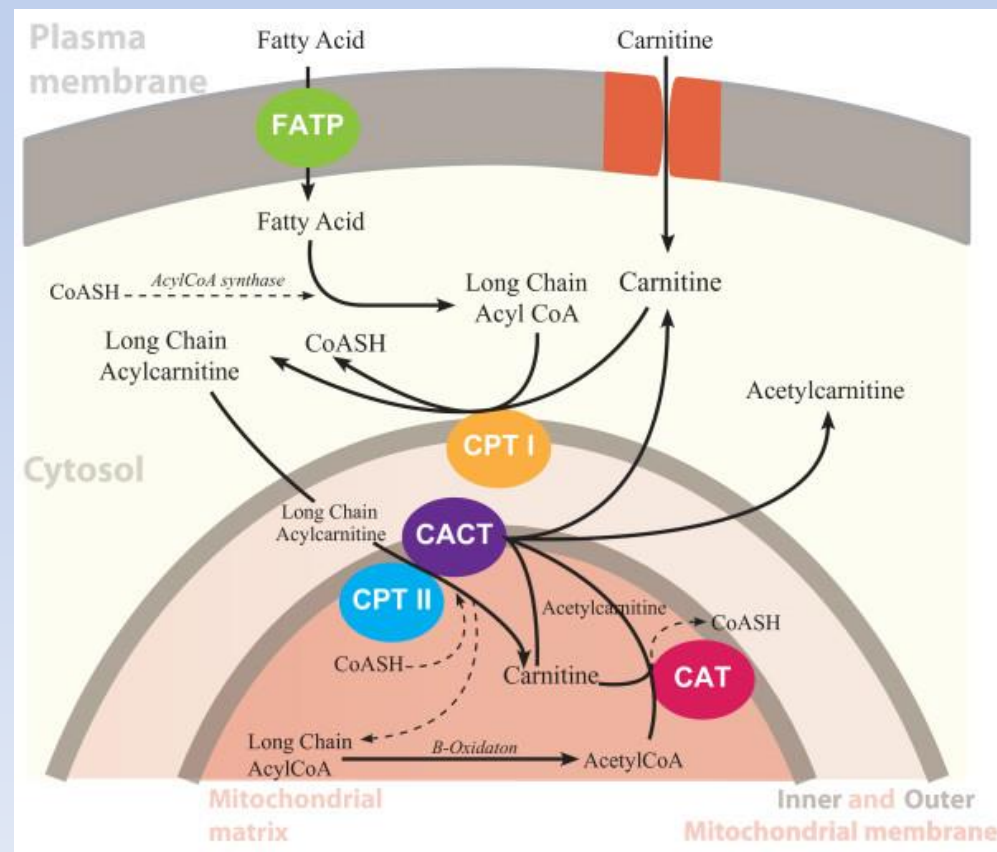
karnitin palmitoyl transferasa (CPT2 gen, 1p32) – mutace produkuje dva fenotypy
- **nástup v dospělosti** - svalová bolest a slabost po náročné práci či půstu

- **nástup v dětství** – horší, letální –
ovlivňuje játra, srdce, svaly

- oba případy - narušená oxidace
dlouhých FA CPT2 enzymem
vázaným do mitochondriální
membrány

defekty Krebsova cyklu – vzácné

- deficience fumarát dehydrogenasy
(FH) – smrt dětí, děděný AR znak,
následek mutace *FH* genu na 1q42.1



Jadernými geny kódované mitochondriální poruchy

- Defekt v transportu Fe

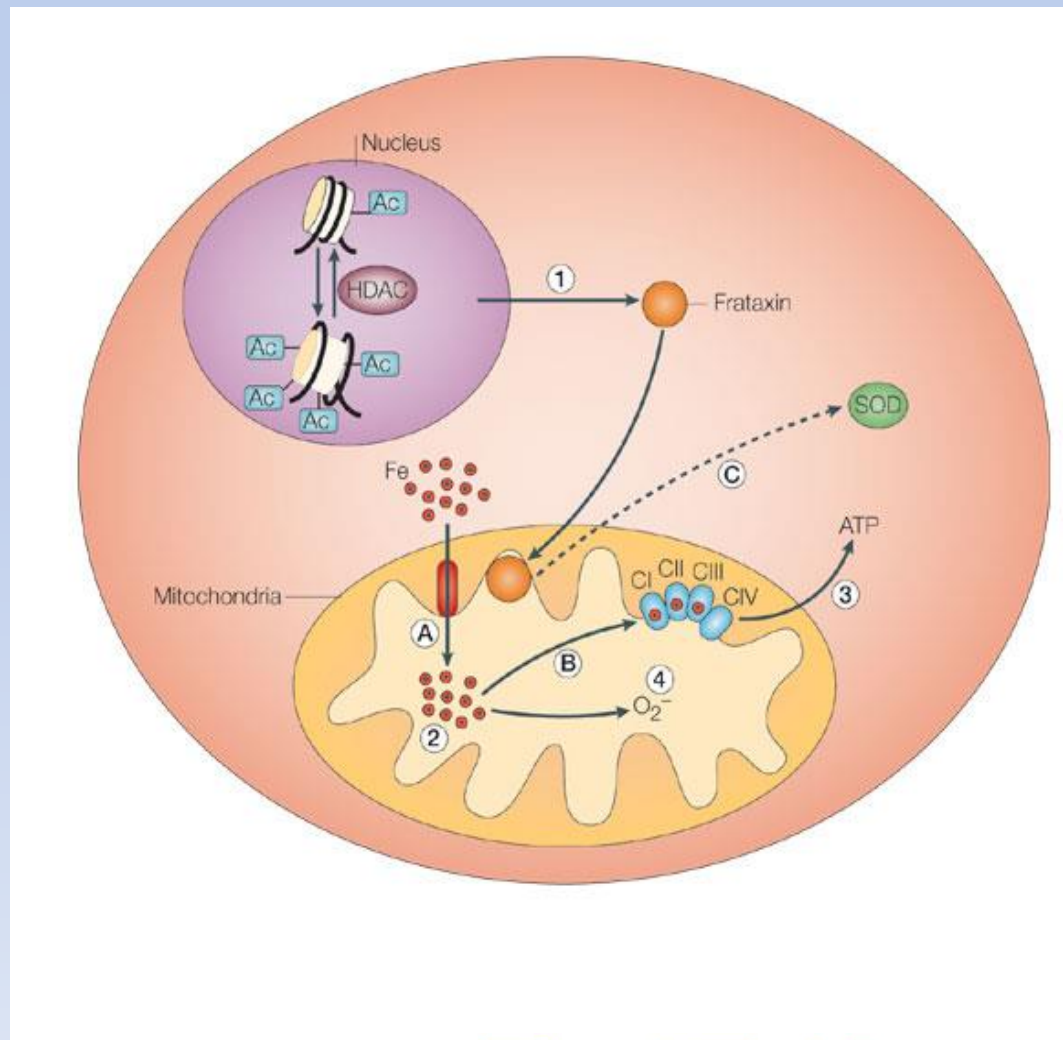
Friedreichova ataxie (FRDA)

– expanze trinukleotidové
repetice, AR

- selhání pohybu končetin,
v menší míře slepota,
hluchota, cukrovka

- produkt *FRDA* genu –
frataxin – situován buď do
membrány, nebo matrix

- vychytávání komplexů Fe-S
(součást komplexů
dýchacího řetězce) není
správně regulováno →
akumulace Fe



Jadernými geny kódované mitochondriální poruchy

Defekty řetězce transportu elektronů

- mutace v genu **NDUFS4 (5q11.1)** podjednotky (**AQDQ**) komplexu I
- **fatální**
- **homozygotní 5-bp duplikace – zvracení, hypotonie**
- **abnormality již v dětském věku, brzká smrt**
- **mutace v jiných NDUFSx genech vedou obvykle k Leighovu syndromu (Subakutní nekrotizující encefalopatie) s kardiomyopatií**

Defekty mtDNA

AD Progresivní externí oftalmoplegie (adPEO)

- ptosis, slabost kosterních svalů, náhlá smrt
- nástup se čtvrtou dekádou života
- delece genomu různé délky
- *ANT1* (4q35) – směňuje ADP za ATP, transportér
- *PEO1* (10q24) - vazba na mDNA, helikasa
- *POLG* (15q26.1) – mDNA polymerasa



Syndrom z vyčerpání mtDNA (MDSs)

- vzácné AR poruchy – ztráta všech mtDNA určité tkáně
- > 88 % úbytku DNA – dítě obvykle zemře do 3 let po narození
- 66 - 88 % - nástup encefalopatie, mléčné acidosis během pozdního dětství
- 2 geny – *DGUOK* (2p13) – mitochondriální deoxyguanosine kinase (dGK) –
deplece mtDNA jaterních buněk
 - *TK2* (16q22.1) – mitochondriální thymidin kinasa – ztráta svalové mtDNA

Slovo závěrem..



**At' se vám volně dýchá,
nejen na buněčné
úrovni ...**



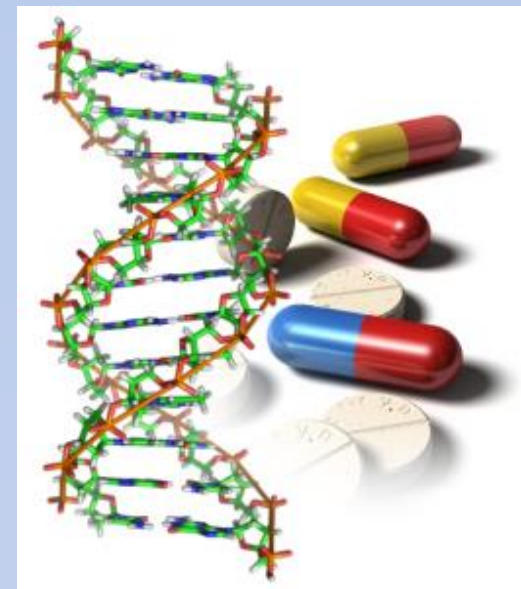
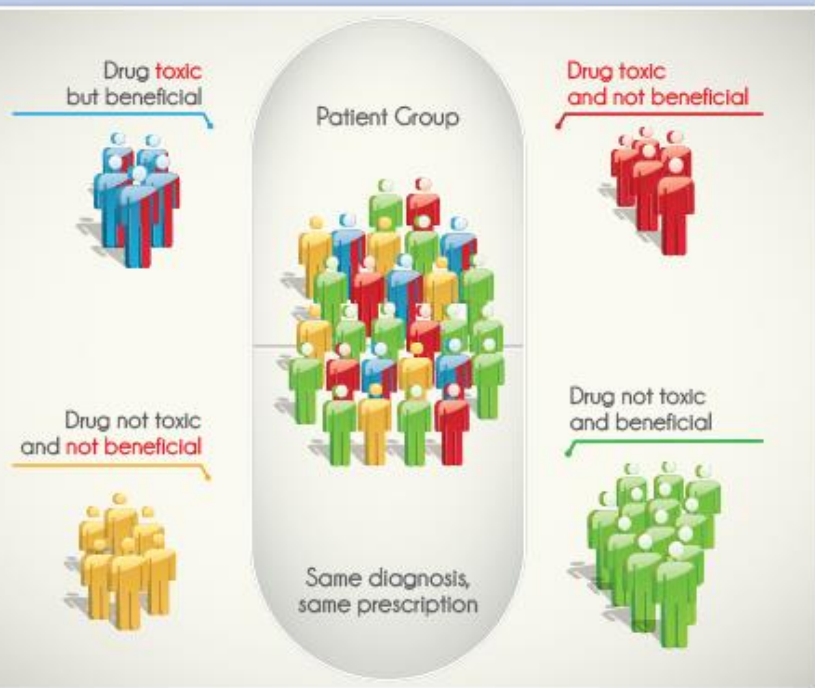
Část II. - Farmakogenetika

Cíl – identifikace genetických rozdílů mezi pacienty, které ovlivňují odpověď na léčbu

Proč Farmakogenetika?

- Stanovení genetického činitele v odpovědi na léčbu

Drug Prescription and Diagnosis Among the same Patient Group

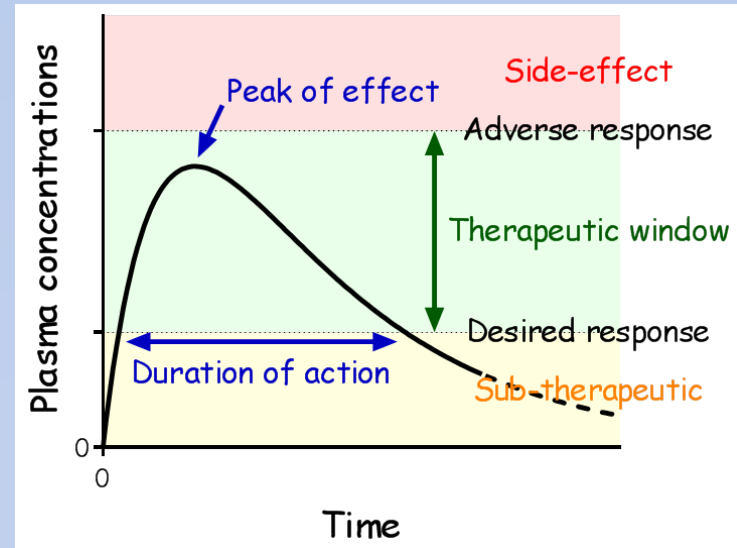


3 typy fenotypové odpovědi:

- Účinnost
- Bezpečnost
- Dávka

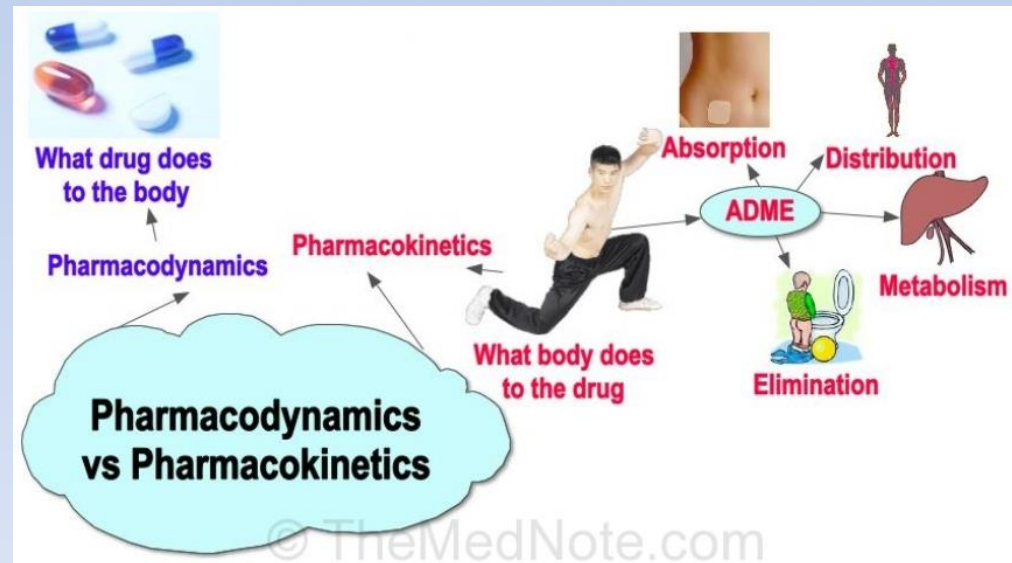
Základy Farmakologie

**Terapeutické okno /
Terapeutický index** –
dávka léku, který účinně léčí
nemoc

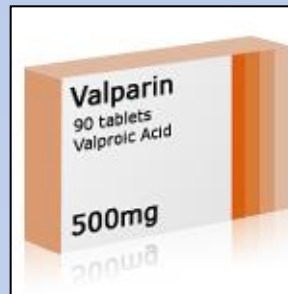


Farmakokinetika –
určení osudu léku v živém
organismu

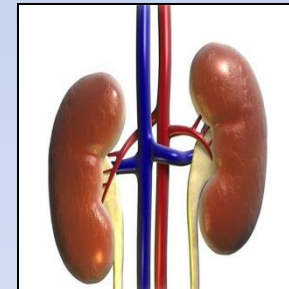
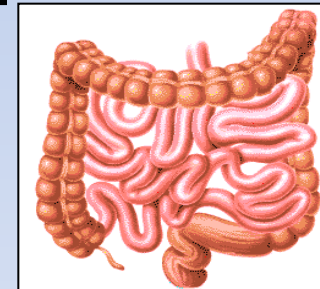
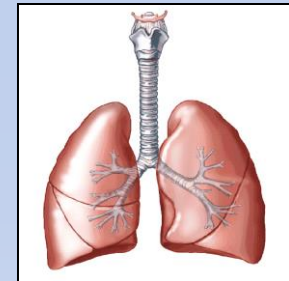
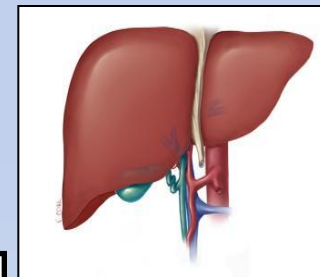
Farmakodynamika –
vazba na receptory a
mechanismus účinku



Základy Farmakologie



Biotransformační mašinerie



Oxidoreduktázy
Hydrolázy

Fáze I.

Konjugační
enzymy

Fáze II.

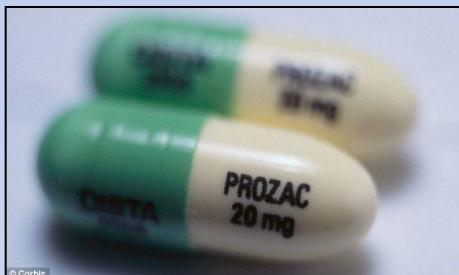
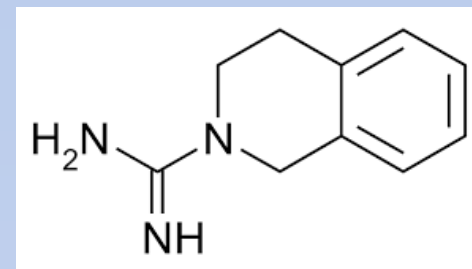
Transportéry

Fáze III.

Pharmakogenetika v praxi

CYP2D6 – polymorfismus **debrisoquinu**
(antihypertenzivum)

- vysoce polymorfní (> 70 alel)
- metabolizace ~25 % léčiv
- antidepressiva, neuroleptika

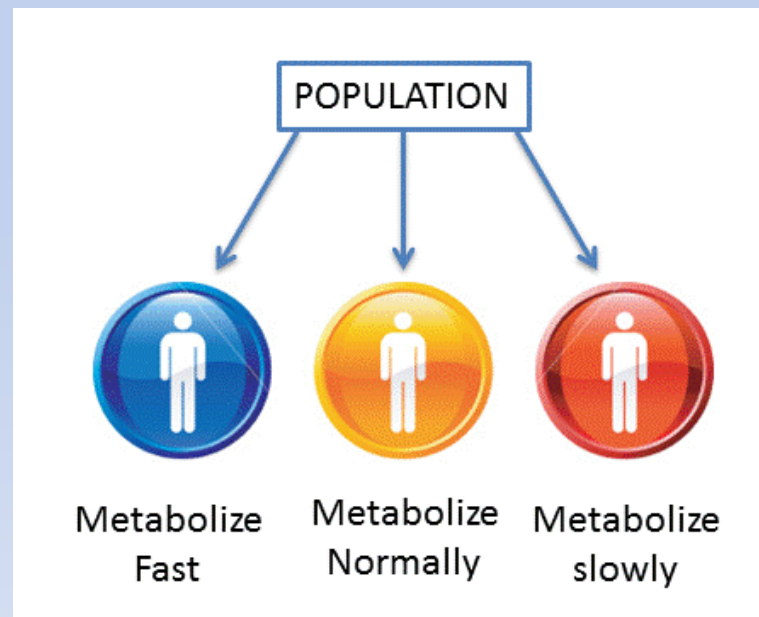


Fluoxetin



- vztah mezi sérovou hladinou a fenotypem PM
- směrnice pro některá léčiva a určitý fenotyp

(<https://www.pharmgkb.org/index.jsp>)

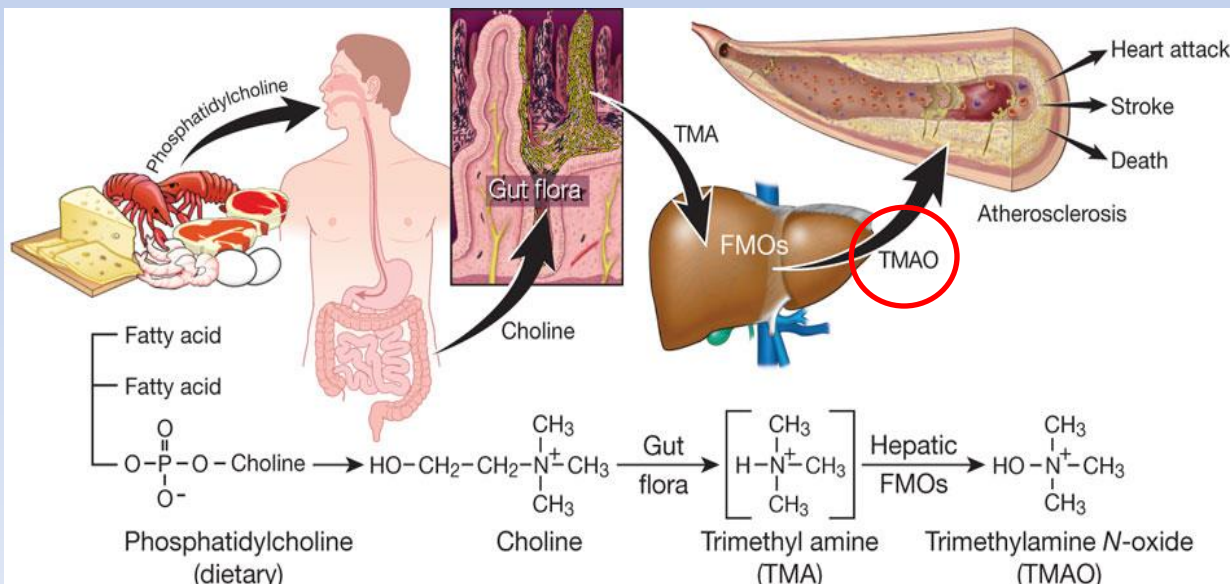
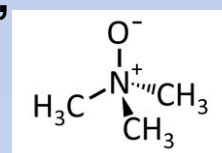


EM – extenzivně metabolizující jedinci
PM – pomalu metabolizující jedinci

Pharmakogenetika v praxi

Trimethylaminurie – „syndrom rybího zápachu“

- Deficience **FMO3** (flavin obsahující monooxygenázu, typ 3), AR
- snížená/nepřítomná N-oxygenace trimethylaminu
- nepříjemný tělesný zápach po požití ryb, hrachu, cholinu, lecithinu



Výhoda proti ateroskleróze ???

Korelace hladiny TMAO s rizikem kardiovaskulárních nemocí !!!

Pharmakogenetické objevy

Polymorfismus N-acetyltransferasového genu (NAT2)

- polyneuritida po aplikaci **isoniazidu**
- FA(fast acetylators) + SA (slow acetylators) = PM
- hypomorfní alela → pomalá acetylace
- rozdíly mezi etniky



antituberkulotikum

~50 % Afro-Američanů



< 20 % Asiátů

~65 % Evropanů

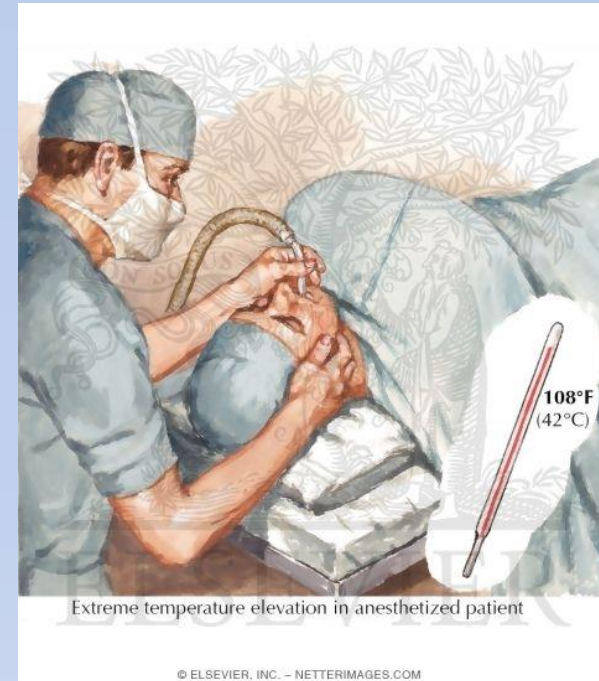
Pharmakogenetické objevy

Maligní hypertermie – komplikace anestezie, častá smrt pacienta, AD

- děti - 1/12 000
- dospělí - 1/100 000
- nežádoucí reakce na inhalační anestetika

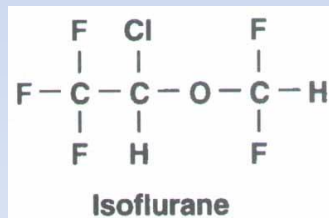
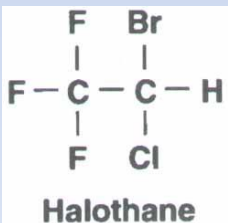


Teplota > 42 °C



Geny

- RYR1 – ryanodinový receptor
- CACNA1S – Ca²⁺ kanál (kosterní sval)



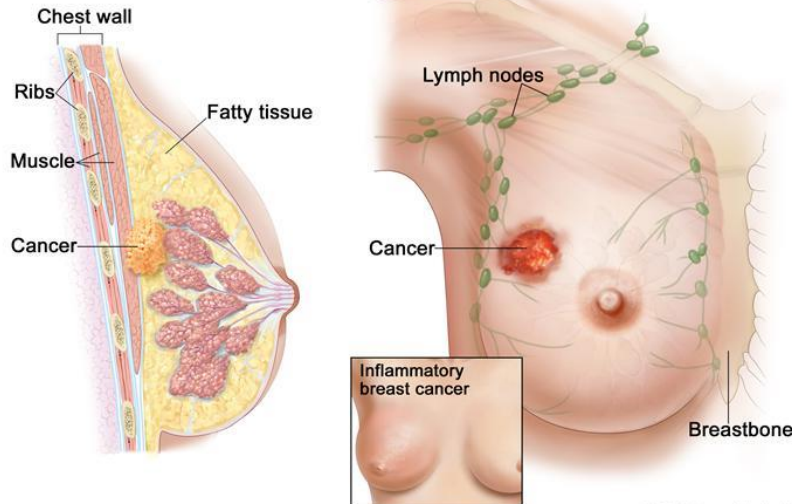
Farmakogenetika rakovinné terapie

- nejnižší účinnost léčby v klinických testech

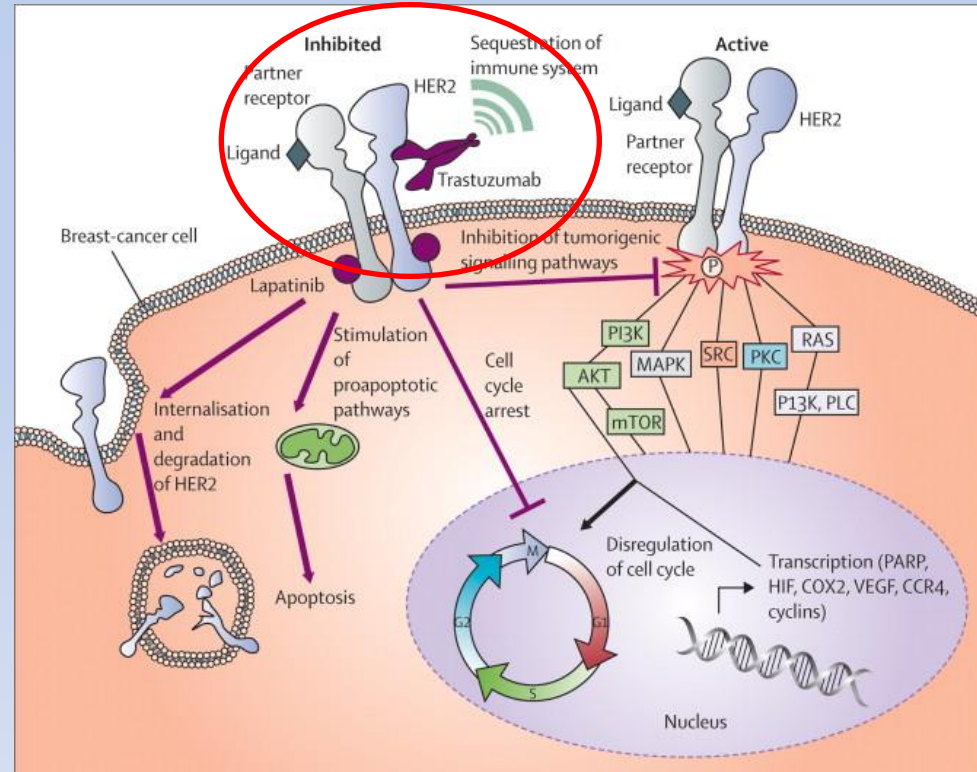
Rakovina prsu – 25-30 % amplifikace – HER2/ERBB2

- trastuzumab (Herceptin)

Stage IIIB Breast Cancer

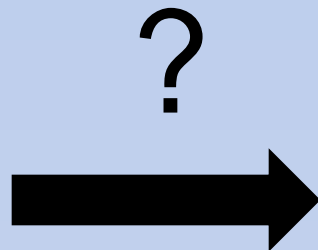


© 2012 Terese Winslow LLC
U.S. Govt. has certain rights



Použití pro tumory overexprimující HER2 !!!

Slovo závěrem..



**Vaše
jedinečnost
určuje Vaši
léčbu !**

