

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



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



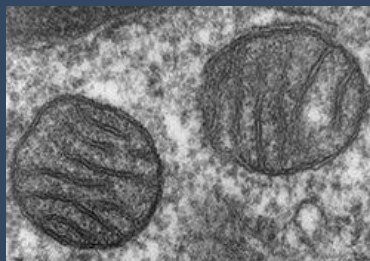
OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Genetika člověka / GCPSB

Lekce 5

- Mitochondrie



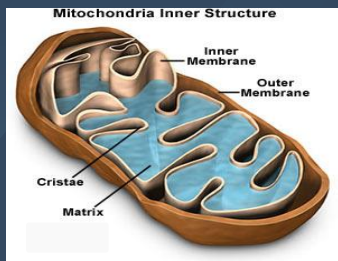
- Farmakogenetika



Genetika mitochondriálních chorob

Úkoly mitochondrie

Zajištění energie – jak a proč?



Oxidativní Fosforylace (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

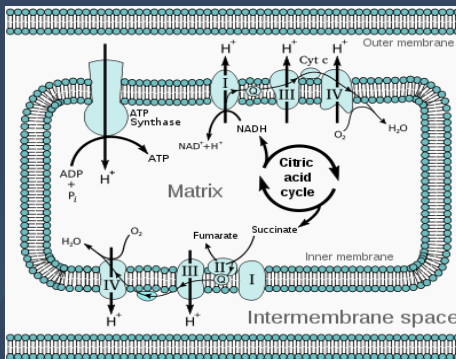
Komplex IV (cytochrom c oxidasa) – 13 proteinů

- produkce vody

Komplex V (ATP synthasa) – 16 proteinů

- **produkce ATP**

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

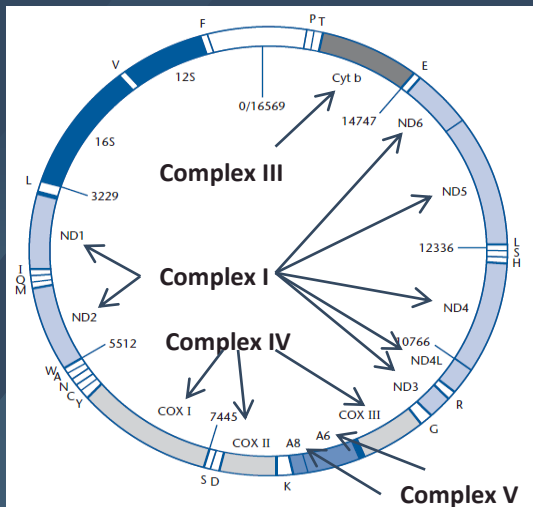


Potenciální energie H^+ → produkce ATP

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

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.

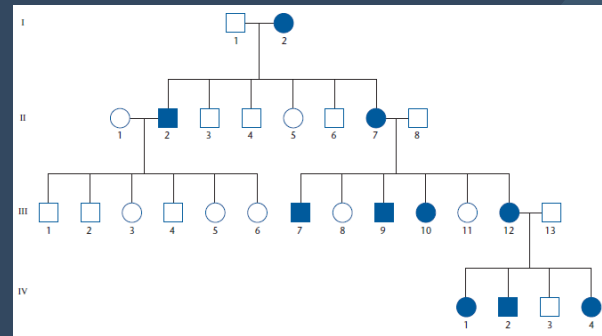
V matrix buňky – 2 až 10 genomů

McfDNA – mitochondrial cell-free DNA – cca 50 000x víc než jaderné DNA → biomarker (trauma, rakovina, cukrovka)

Po replikaci každý náhodně přenesen do dceřiných buněk.

Způsob dědičnosti neodpovídá Mendelovým zákonům.

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



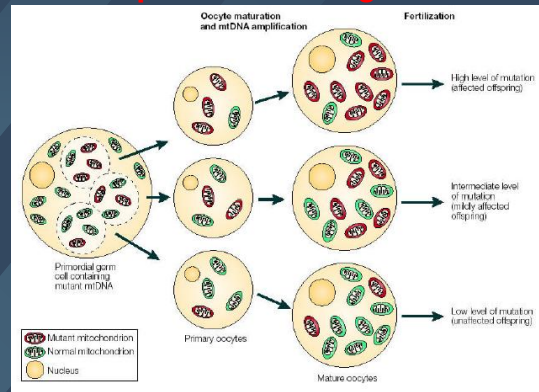
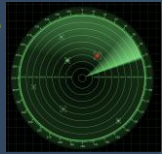
Lidské vajíčko – cca 100 000 mitochondrií, při dozrávání je značná část ztracena (odhad 10–100) = „genetic bottleneck“
- Během prvních dnů embryonálního vývoje se vytvoří i víc jak 10 000 mitochondrií na buňku

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

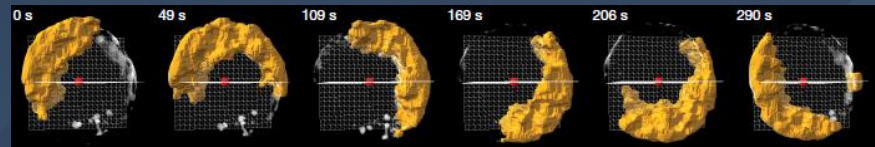
- **Náhoda** = pasivní proces

2021 – interakce s aktinem - navázání do „kabelové struktury“ - točení se v buňce (radar)

- vazba do mračka – omezení mobility
- vznik kometě podobnému ocasu → rychlejší pohyb



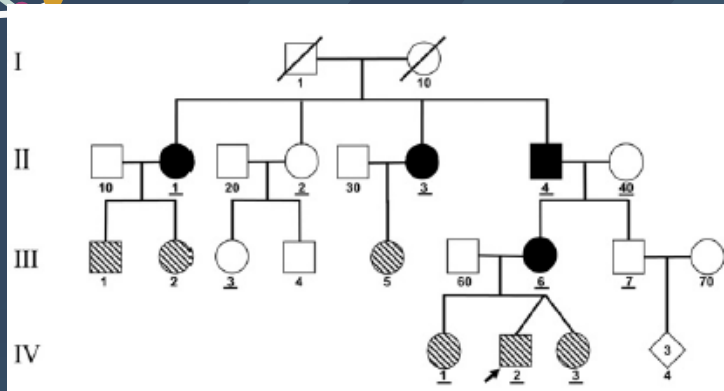
Poměr mutované a wt-mtDNA = mitochondriální mutační náklad (mitochondrial mutation load)



2021, Andrew S Moore et al: Actin cables and comet tails organize mitochondrial networks in mitosis, Nature

Výjimka potvrzující pravidlo

Luo et al. Biparental Inheritance of Mitochondrial DNA in Humans, PNAS, 2018

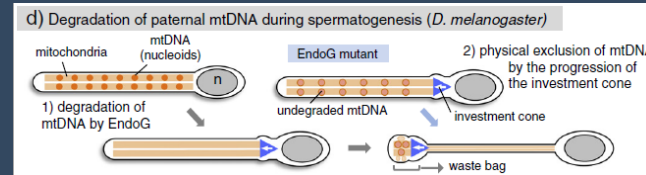
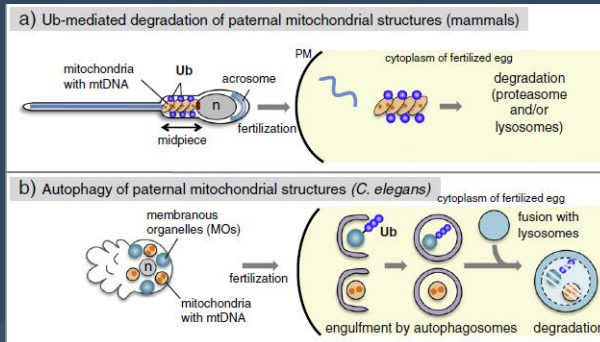


IV-2 – proband – 4-letý chlapec –
únava, hypotonie, ptosis, svalová
bolest → podezření na
mitochondriální chorobu

mtDNA sekvenování → II-1, II-3, II-4,
III-6 = biparentální mtDNA přenos

Otcovská mtDNA může přecházet na
potomky → vysoký stupeň heteroplasmie

Jak unikne otcovská mtDNA ?
- Rozdílné dle druhů



???

- 1) Ub-Prohibitin
- 2) TFAM – downregulace
- 3) Relokace Endonukleázy G

Mitochondriální genetika

Homoplasmie – všechny mitochondrie stejný genom (mutovaný nebo wt)

Heteroplasmie – různé genomy mitochondrií v buňce či tkáni (mutovaný i normální)



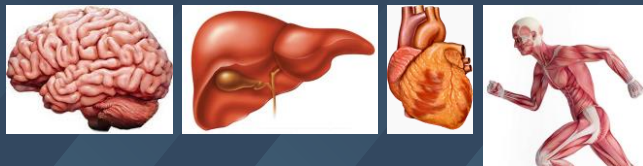
- mutace snižující produkci ATP u homoplasmických buněk s vysokými požadavky na energii → **vážné poškození**
- pro buňky s malými energetickými požadavky → **minimální dopad**

- 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

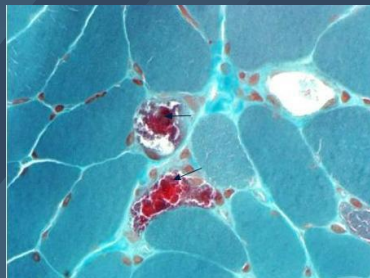
Projevy – myopatie, cardiomyopatie, demence, myoclonus epilepsy (náhlé nekontrolované svalové kontrakce), hluchota, slepota, anemie, diabetes

Závisí na:

- mutovaném mitochondriálním genu
- rozsahu segregace v časných stádiích 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

- 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 snižuje syntézu mitochondriálních proteinů
- Množství všech komplexů (vyjma komplexu II) je sníženo

Leberova hereditární optická neuropatie (LHON)

Porucha funkce komplexu I → únik elektronů, méně ATP, nadbytek ROS → smrt retinálních ganglií

Nejčastější mutace v mtDNA: 11778G>A, 3460G>A, 14484T>C

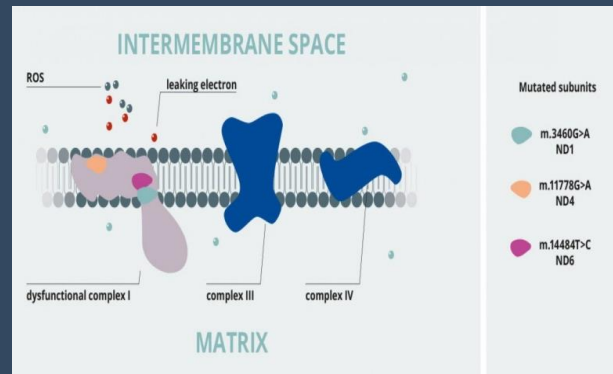
První projevy: 27-34 let života

Rychlá progresse – do 6.týdnů – úplná ztráta zraku (bezbolestná)
– projevy převážně u mužů

Homoplazmická mutace → diagnóza vyšetření krve

- V ČR od 1992 – 2013 - víc jak 150 pacientů

- Léčba: analog koenzymu Q₁₀, vitaminy C a E



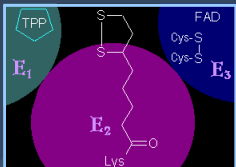
Jadernými geny kódované mitochondriální poruchy

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

Defekty vstupu mit. proteinů

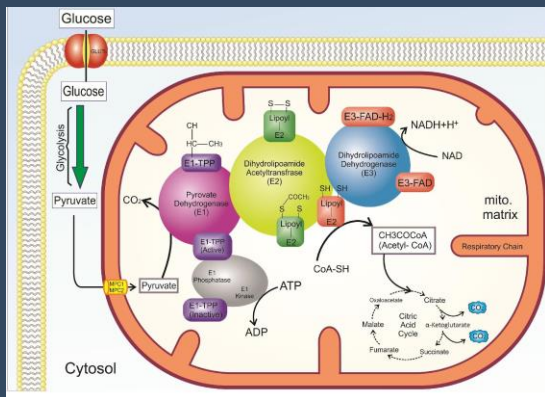
pyruvátdehydrogenasový komplex (PDHC) –

složení: E1 – pyruvát dekarboxylasa
E2 – dihydrolipoyl transacetylasa
E3 – dihydrolipoyl dehydrogenasa
E1 = tetramer, PHDA1 kóduje E1a, lokalizace Xp22.1



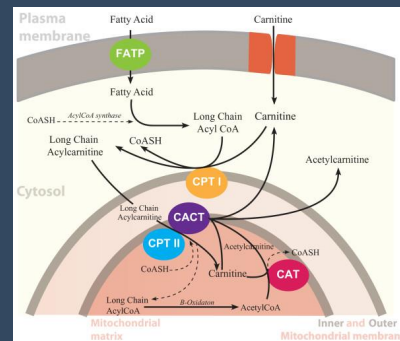
Substituce bází v
obou alelách PHDA1
→ neschopnost
vstupu do
mitochondrie

Fenotyp – oční
abnormality,
degenerace CNS



Defekty v transportu substrátů

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



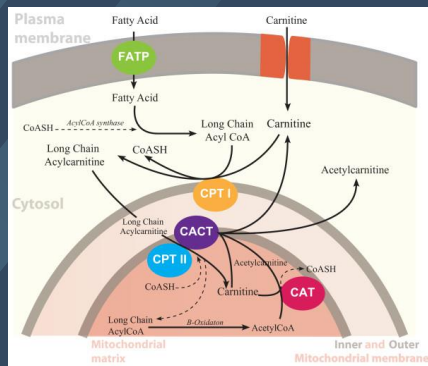
- defekty v mnoha genech pro β -cyklus -
fenotyp je podobný, zahrnuje abnormality jater,
srdce a svalů

- 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

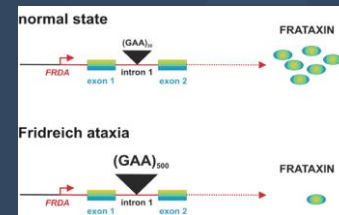
- karnitin palmitoyl transferasa (CPT2 gen, 1p32) – mutace produkuje dva fenotypy
- nástup v dospělosti - svalová bolest a slabost po náročné práci či půstu
 - nástup v dětství – horší, letální – ovlivňuje játra, srdce, svaly
 - oba případy - narušená oxidace dlouhých FA CPT2 enzymem vázaným do mitochondriální membrány



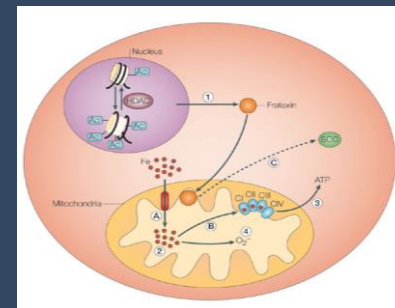
- defekty Krebsova cyklu – vzácné
- deficience fumarát dehydrogenasy (FH) – smrt dětí, děděný AR znak, následek mutace FH genu na 1q42.1

Defekt v transportu Fe

- Friedreichova ataxie (FRDA) – expanze trinukleotidové repetice, AR
- selhání pohybu končetin, v menší míře slepota, hluchota, cukrovka
 - produkt *FRDA* genu (9q21) – *frataxin* – situován buď do membrány, nebo matrix
 - vychytávání komplexů Fe-S (součást komplexů dýchacího řetězce) není správně regulováno → **akumulace Fe**



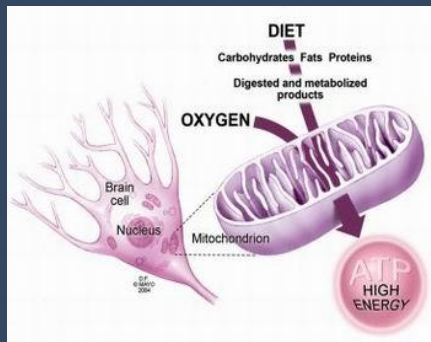
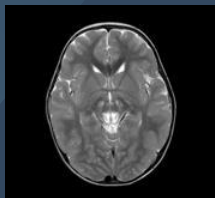
- Léčba: podpůrná (podpěry pro ruce, nohy), fyzická terapie



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 (Twinkle)** (10q24) - vazba na mtDNA, helikasa
- **POLG** (15q26.1) – mtDNA polymerasa (katalytická podjednotka)



Syndrom z vyčerpání mtDNA (MDSs)

- **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**

DGUOK (2p13) – mitochondriální deoxyguanosine kinase (dGK) – **deplece mtDNA jaterních buněk**
TK2 (16q22.1) – mitochondriální thymidin kinasa – **ztráta svalové mtDNA**

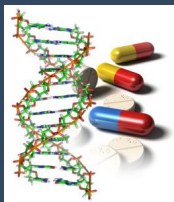
Slovo závěrem části I.

**Ať se vám volně dýchá,
nejen na buněčné
úrovni ...**



Farmakogenetika

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

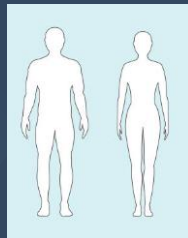
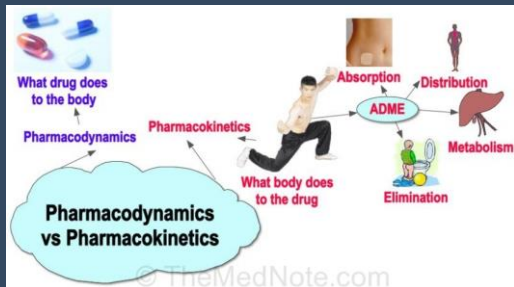
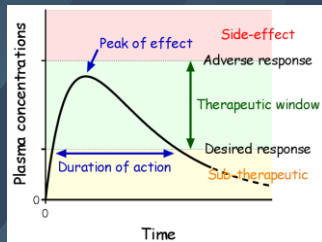


Proč Farmakogenetika?
Určení genetického činitele v odpovědi na léčbu

Terapeutické okno /
Terapeutický index –
rozmezí dávek léčiva,
které účinně léčí nemoc

Farmakokinetika –
určení osudu léku v
živém organismu

Farmakodynamika –
vazba na receptory a
mechanismus účinku



- Účinnost (biotransformační enzymy)
- Bezpečnost (molekulární cíle)
- Dávka – jak moc???

Farmakogenetika v praxi

CYP2D6 – (SNP) polymorfismus debrisoquinu (antihypertenzivum)

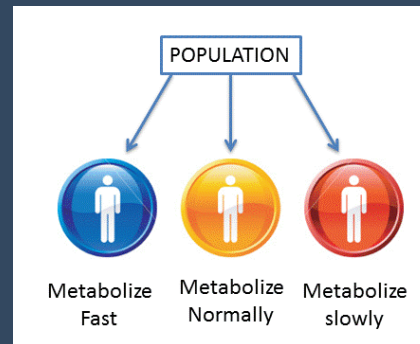
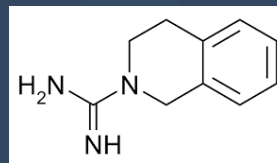
- vysoce polymorfní (> 70 alel)
- metabolizace ~25% léčiv
- antidepressiva, neuroleptika



Fluoxetin

- vztah mezi sérovou hladinou a fenotypem PM
- směrnice pro některá léčiva a určitý fenotyp
(<https://www.pharmgkb.org/index.jsp>)

	Homozygous SNP	Heterozygous SNP
Paternal allele	AACTGGACTT G AAGCATCTACGTT A TCCATGAAG	
Maternal allele	AACTGGACTT G AAGCATCTACGTT C TCCATGAAG	
Frequency in population:	G 51% T 49% (minor allele)	A 90% C 10% (minor allele)



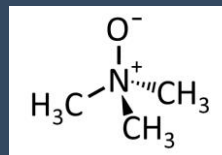
EM – extenzivně metabolizující jedinci

PM – pomalu metabolizující jedinci

Farmakogenetika v praxi

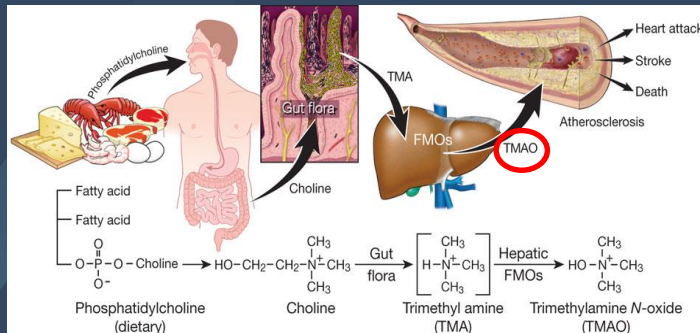
Trimethylaminurie – „syndrom rybího zápachu“

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



TMAO

?



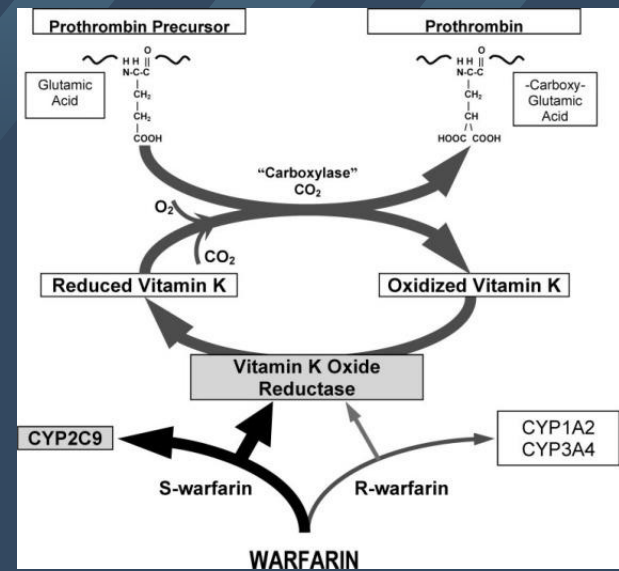
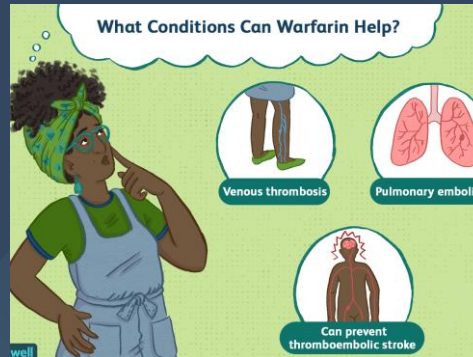
Výhoda proti ateroskleróze ???

Korelace hladiny TMAO s rizikem kardiovaskulárních nemocí !!!

Farmakogenetika v praxi

Metabolismus warfarinu

- Deficience VKOR1 nebo CYP2C9
- Farmakodynamický cíl – VKORC1 (SNP – c.-1639G>A = snížená exprese
- Farmakokinetický cíl – CYP2C9
- CYP2C9*2 – c.430C>T – záměna Arg za Cys – pokles aktivity o 30-40%
- CYP2C9*3 – c.1075A>C – záměna Ile za Leu – pokles aktivity o 80-90%
- Nevhodné dávkování → zvýšená krvácivost až smrt



Farmakogenetické objevy

Polymorfismus N-acetyltransferasového genu (NAT2)

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



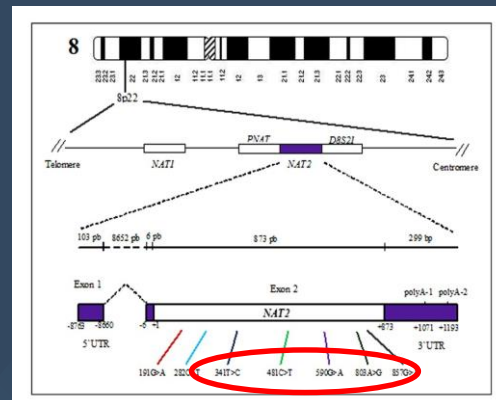
antituberkulotikum

~ 50% Afro-
Američanů



~65% Evropanů

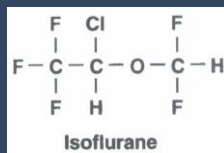
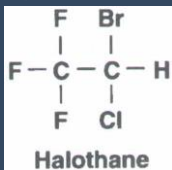
< 20%
Asiatů



Farmakogenetické objevy

Maligní hypertermie – komplikace anestezie, častá smrt pacienta, AD

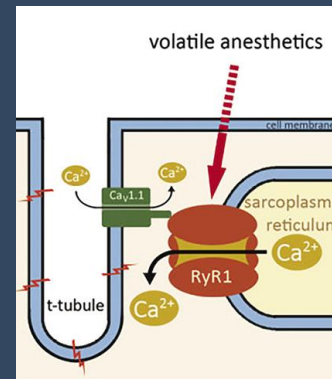
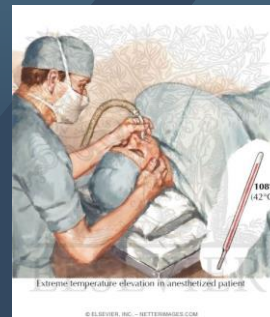
- děti - 1/12 000
- dospělí - 1/100 000
- nežádoucí reakce na inhalační anestetika



Teplota > 42°C

Geny

- RYR1 – ryanodinový receptor
- CACNA1S – Ca^{2+} kanál (kosterní sval)

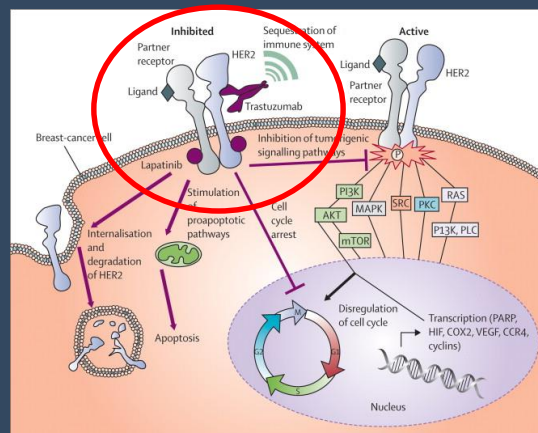
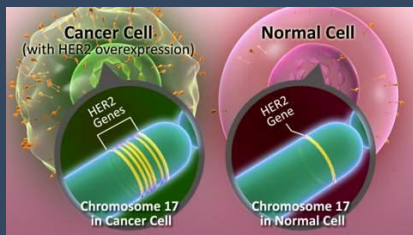
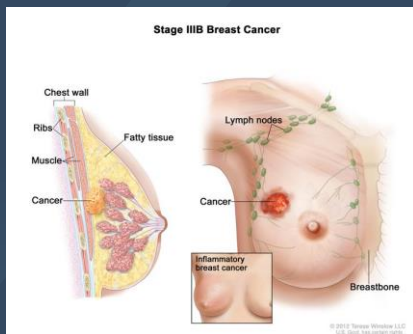


Farmakogenetika rakovinné terapie

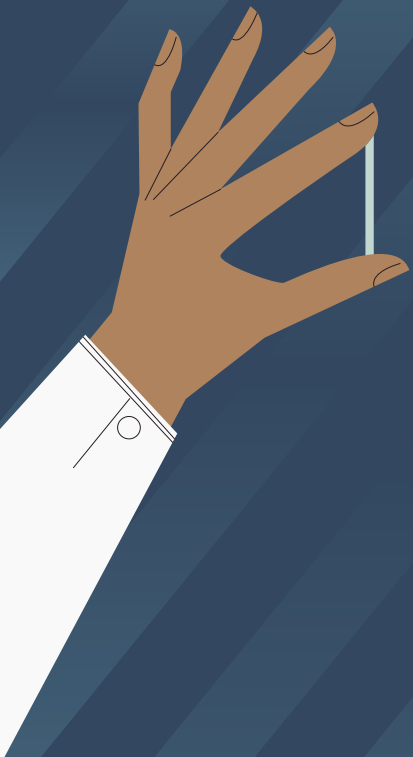
Rakovina = nejnižší účinnost léčby v klinických testech

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

- trastuzumab (Herceptin)



Použití pro tumory
overexprimující HER2 !!!



Thanks!

Do you have any questions?

youremail@freepik.com

+91 620 421 838

yourcompany.com

CREDITS: This presentation template was created by **Slidesgo**, including icons by **Flaticon**, and infographics & images by **Freepik**

Please keep this slide for attribution