

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 6

- Genetika svalových poruch
- Determinanty svalové činnosti



Svaly...kam se podíváš



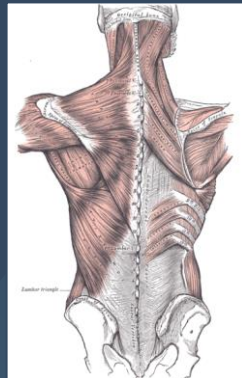
V těle cca 650 svalů

- pohyb
- postoj
- stání na nohou
- podpora vnitřních orgánů
- produkce tepla
- uzavírání/otevírání chlopní a jiných vstupů/výstupů

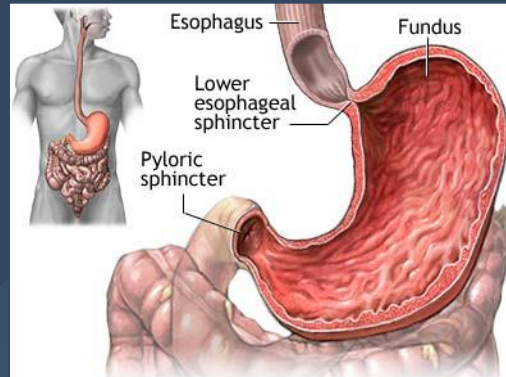
3 typy svalové tkáně

- kontrakce
- ovládáno nervovými pulsy

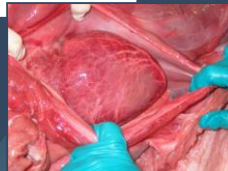
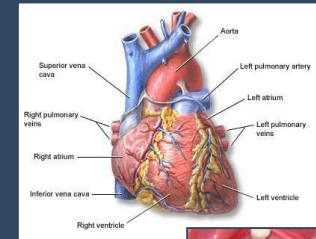
Kosterní – zajišťuje pohyb, vůlí říditelný



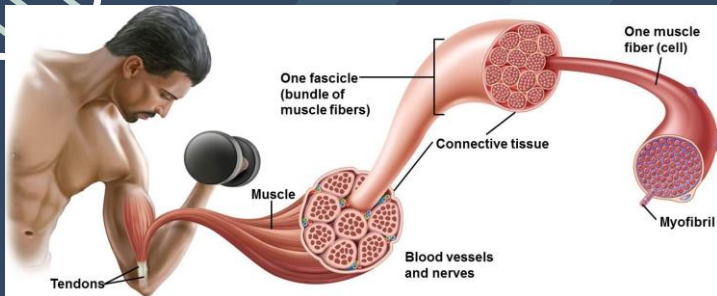
Hladká – lemuje vnitřní orgány, reflexní



Srdeční – jen srdce, pumpuje krev, reflexní



Struktura kosterního svalu

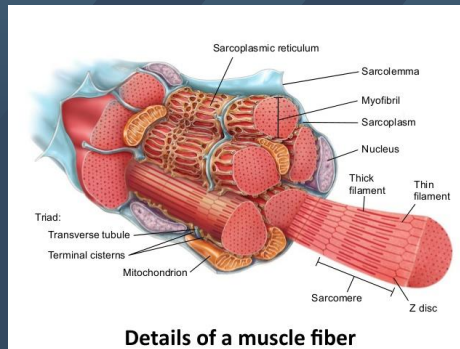


- svalové buňky - délka až 20 cm, průměr 10 - 100 μm
- uvnitř svalové buňky – dlouhé proteinové molekuly (myofibrily)

Myofibrily se skládají z myofilament (proteinových řetězců)
– po histologickém barvení - světlé a tmavé proužky = tlustá a tenká myofilamenta

Základní jednotka myofibrily - sarkomera - ohraničena Z-liníí (diskem) – ukotvení tenkých (aktinových) filament

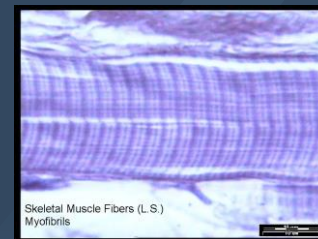
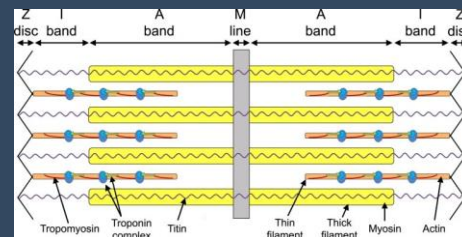
- paralelně tlustá (myosinová) filamenta – spojena M-zónou
- proužky A – zónu H – místo, kde se myofilamenta nepřekrývají



- svalový snopec (fascicle)
= soubor/balíček svalových buněk (vláken / fibers)

Svalová buňka (myocyt) je mnohojaderná.

Membrána = sarkolema
Cytoplasm = sarkoplasma
Mitochondrie = sarkosomy



Rozdělení svalu na proužky
- A (anizotropní)
- I (izotropní)



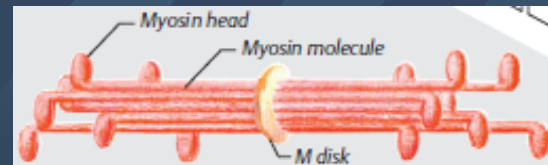
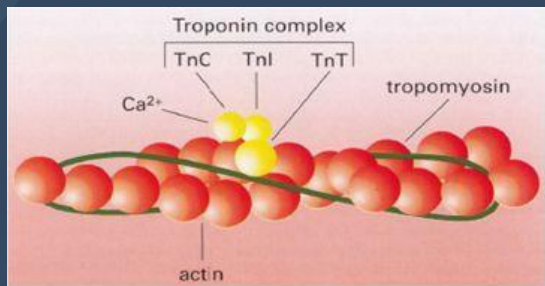
Žíhaný /
Příčně
pruhovaný
vzhled

Molekulární struktura kosterního svalu

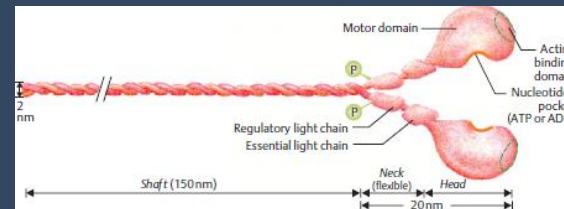
Tlustá filamenta se skládají z velkého počtu svázaných **myosinových** molekul seřazených v překrývajících se polích.

Tenké filamentum (F-actin) – dvoušroubovice vláknitého F-aktinu tvořeného kulovitými monomery (G-aktin)

- Tropomyosin – vláknitý protein
- Troponin – 3 podjednotky
 - vazba Ca^{2+}
 - vazba troponinu a tropomyosinu
 - zabraňuje interakci myosinu s aktinem v klidu



Myosinové filamentum: Myosin – hexamer, 2 identické těžké řetězce, 2 páry lehkých řetězců



Molekulární podstata kontrakce

1) Nervový signál vede ke zvýšení koncentrace Ca^{2+}

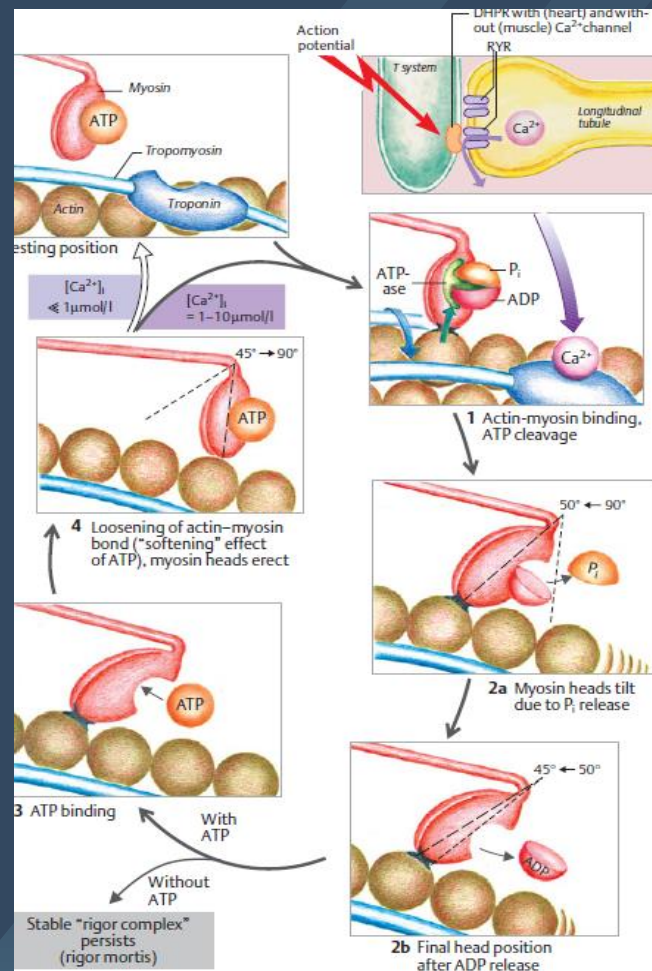
2) Ca^{2+} se váže na troponin → konformační změny – hlubší zasunutí tropomyosinu do štěrbin mezi vlákny aktinu

3) Zpřístupnění hlav myosinu na aktinová vazebná místa

4) Aktivace ATPasy – stěpení ATP (Mg^{2+}) – konformační změna a ohnutí hlavy myosinu

5) Funkce páky a napětí krčku se přenesou na aktin a myosin. Po uvolnění ADP – rigorový komplex

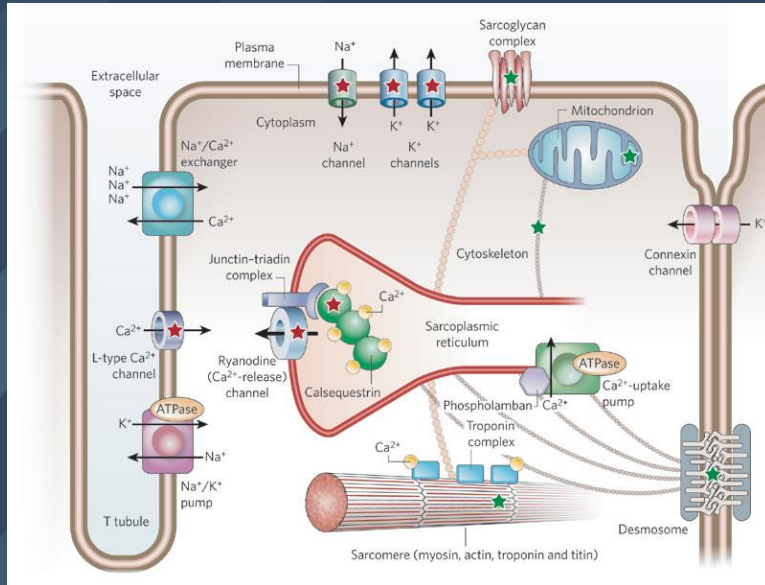
Pohyb a síla jsou důsledkem cycklické interakce myosinových hlav s aktinovými filamenty.



Srdeční svalovina

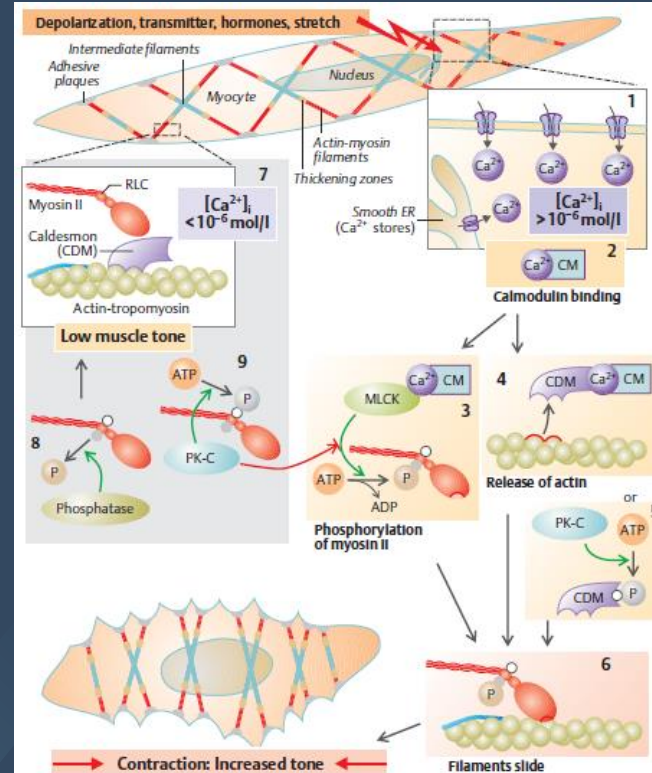
Kardiomyocyty

- v průměru 10 - 20 μm , délka 50 – 100 μm
- jednoduché jádro
- myofibrily a proteiny svalové kontrakce - podobné jako v kosterních svaích
- mnoho proteinů kódováno specificky exprimovanými geny



Hladká svalovina

- dlouhé a vřetenovitě tvarované buňky
- obklopují krevní cévy, trávicí orgány, žaludek, měchýř, dělohu



Myofilamenta nejsou organizována v paralelních polích

Buňky nemají troponinový komplex.

Vzájemná spojení hladkých buněk (gap junctions) umožňuje přenos depolarizace z jedné na druhou

Dědičné svalové poruchy

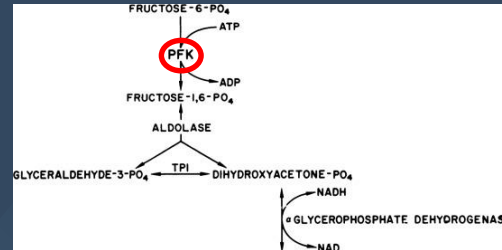
Microarray analýzy detekovaly kolem 3 500 exprimovaných genů

Většina klinicky důležitých dědičných nemocí zahrnuje mutaci genu kódující:

- enzym účastnící se rozkladu glykogenu / tuku (glycogen storage disorder)
- protein zajišťující integritu a mechanické vlastnosti svalové buňky
- protein, který reguluje či se účastní procesu kontrakce

Disorder	Gene	Site	Protein activity	Onset (yr)	Symptoms
Phosphorylase deficiency; McArdle disease	PYGM	11q13.1	Glycogen phosphorylase; catalyzes and regulates conversion of glycogen to glucose-1-phosphate	~5-16	Exercise-induced myopathy; cramps; muscle stiffness
Acid maltase deficiency; Pompe disease	GAA	17q25.3	α -Glucosidase; breakdown of glycogen to glucose-1-phosphate	~2-20	Weakness of upper leg and arm, trunk, and respiratory muscles; enlarged liver, heart, and tongue
Phosphofructokinase deficiency; Tarui disease	PFKM	12q13.3	Phosphofructokinase; converts fructose-6-phosphate to fructose 1,6-bisphosphate	~5	Muscle fatigue; severe cramps; nausea, vomiting; myopathy
Debrancher enzyme deficiency; Cori or Forbes disease	AGL	1p21.2	Amylo-1,6-glucosidase; 4- α -glucanotransferase; glycogen debranching enzyme	~5	Myopathy; muscle weakness; hypoglycemia; enlarged liver
Phosphoglycerate kinase deficiency	PGK1 PGK2	Xq13 6p12.3	1,3-Bisphosphoglycerate + ADP to 3-phosphoglycerate + ATP	~5-18	Muscle pain and weakness; exercise-induced myopathy
Phosphoglycerate mutase deficiency	PGAM2	7p13	3-Phosphoglycerate to 2-phosphoglycerate	~5-20	Muscle pain and weakness; exercise-induced myopathy
Lactate dehydrogenase deficiency	LDHA	11p15.1	Lactate + NAD to pyruvate + NADH	~5-20	Exercise-induced myopathy

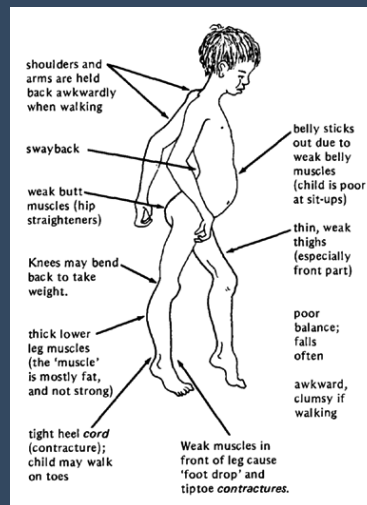
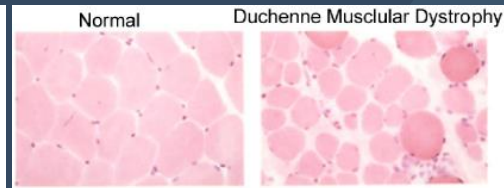
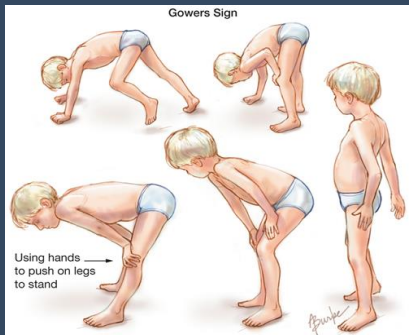
Tarui disease – deficiencie fosfofruktokinasy



- Svalová slabost, křeče, nauzea, zvracení
- Gen PFKM, 12 chr., AR

Duchennova muskulární dystrofie (DMD)

- XR, svaly vyčerpávající nemoc, ovlivňující asi 1 z 3 300 živě narozených chlapců
- Nástup je mezi 4 - 5 rokem života
- Svalová slabost v bocích, neschopnost běhat, extrémní nárůst objemu lýtek v důsledku akumulace kolagenu a tuku
- Svaly ramen a pánve ochabují dříve než paže a stehy
- Pacienti uvěznění na invalidní křeslo; smrt v důsledku selhání svalů plic a srdce



Charakteristický biochemický marker DMD = zvýšená hladina kreatin fosfokinasy (CPK) v séru
→ svalová degenerace

Ženy nosičky / heterozygotky

- většinou nevykazují svalovou ochablost i přes slabě zvýšenou hladinu CPK



Beckerova muskulární dystrofie (BMD)

- mírná forma DMD, 1 : 30 000 živě narozených mužů, X-vázaná
- myopatie v pozdější etapě života, průběh nemoci variabilní
- délka života větší než pro DMD

Duchennova muskulární dystrofie (DMD)

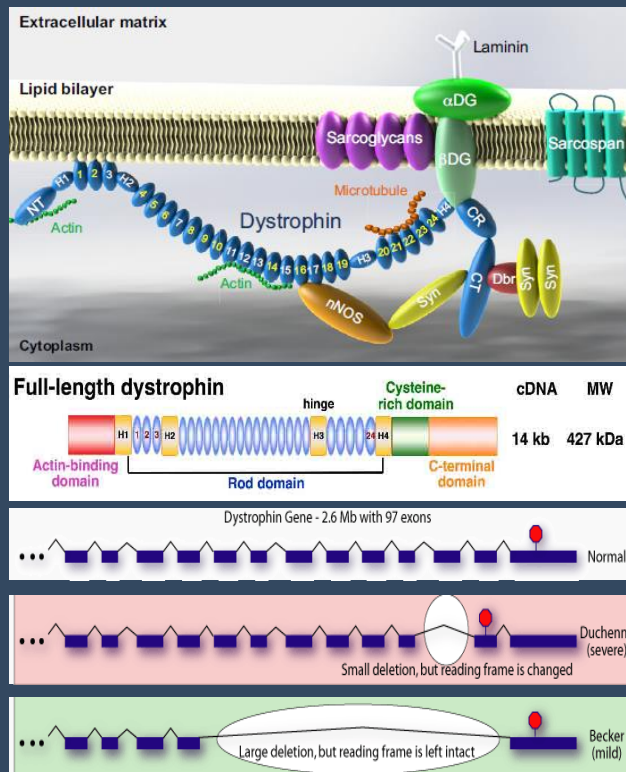
DMD gen – Xp21.2 – 79 exonů, 2400 kb
= kóduje strukturní protein – dystrofin
= 4 funkční domény

- 1. doména (N-konec) váže F-aktin
- 2. doména tvoří většinu molekuly (9-63 exonů)
- 3. doména váže β -dystroglykan
- 4. doména váže syntrofin, α -dystrobrevin, aj.

Změny v DMD:

- mutace bazí (C3304Y) – brání vazbě dystrofinu na β -dystroglykan
- duplikace exonů
- cca 65 % DMD - delece částí genu = **porušený čtecí rámec = DMD**

- neporušený čtecí rámec = **BMD** - částečně funkční protein $\rightarrow$ BMD = méně vážná alelická forma DMD



Dystrofin, α -dystrobrevin
– most mezi vnitřním
cytoskeletem a
extracelulární matrix

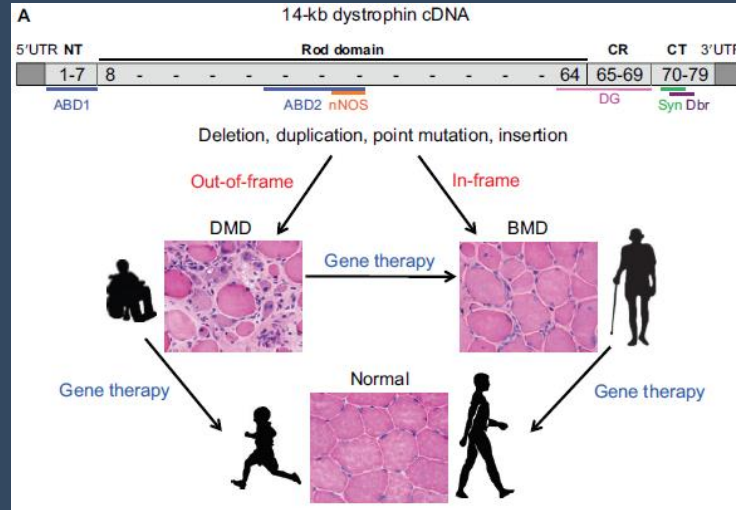
DMD pacienti

- deficience dystrofinu
- snížené i ostatní proteiny asociované s dystrofinem
- není most mezi vnitřním kontraktilním systémem a extracelulární matrix

Duchennova muskulární dystrofie (DMD)

Léčba: – podpůrná:

- Kortikosteroidy
- vitamin D
- aminoglykosidy



- Transplantace alogenních kmenových buněk

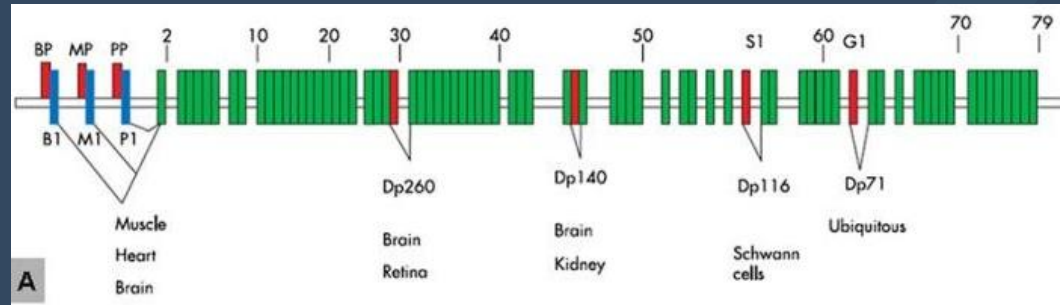
- Genová terapie – změna na „BMD fenotyp“

- CRISPR/Cas9 – testy pouze na myších

- 2020 – provedeno na prasatech

Tkáňově specifické formy dystrofinu - v mozku, srdci, Purkyňových buňkách - pocházejí z rozdílných promotorů, každý s jedinečným prvním exonem

Pro isoformy menší než kompletní dystrofin - transkripty syntetizovány z 4 promotorů uvnitř intronů třetí a čtvrté dystrofinové domény - tyto „malé dystrofiny“ se nacházejí v očních, embryonálních a nervových buňkách



Limb-Girdle Muscular Dystrophy (LGMD)

(Svalová dystrofie končetin a pasu)

- AD / AR - značná fenotypická variabilita
- počáteční oslabení pánve a ramen následované ztrátou svalů horních paží a steh
- LGMD – geneticky heterogenní soubor nemocí
- 2 kategorie – LGMD1 vs LGMD2, dominantní vs. recesivní; typu přiřazeno velké písmeno dle pořadí objevu

Type	Gene	Site	Protein	Function
LGMD1A	TTID	5q31	Titin immunoglobulin domain protein; myotilin	Thin filament-associated Z-disk protein; binds to α -actinin, filamin c, and F-actin; stabilizes and anchors thin filaments
LGMD1B	LMNA	1q21.2	Lamins A/C	Intermediate filament of inner nuclear membrane
LGMD1C	CAV3	3p25	Caveolin-3	Sarcolemma component; intracellular routing; protein assembly; mediates signal transduction pathways
LGMD2A	CAPN3	15q15.1	Calpain-3	Intracellular protease; binds to myofibrils
LGMD2B	DYSF	2p13.2	Dysferlin	Sarcolemma fusion and repair
LGMD2C	SGCG	13q12	γ -Sarcoglycan	Sarcoglycan complex
LGMD2D	SGCA	17q21	α -Sarcoglycan	Sarcoglycan complex
LGMD2E	SGCB	4q12	β -Sarcoglycan	Sarcoglycan complex
LGMD2F	SGCD	5q33.3	δ -Sarcoglycan	Sarcoglycan complex
LGMD2G	TCAP	17q12	Titin cap protein; telethonin	Thin filament-associated Z-disk protein; substrate for titin kinase
LGMD2H	TRIM32	9q33.2	Member of tripartite motif family	Possibly, enzymatic addition of ubiquitin to proteins (E3-ubiquitin ligase)
LGMD2I	FKRP	19q13.3	Fukutin-related protein	Glycosylation of α -dystroglycan; possibly phospholipid transferase
LGMD2J	TTN	2q31.2	Titin	Very large skeletal muscle protein (3700 kDa) with binding sites for many muscle proteins; component of thick filaments

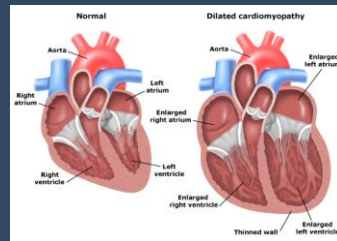
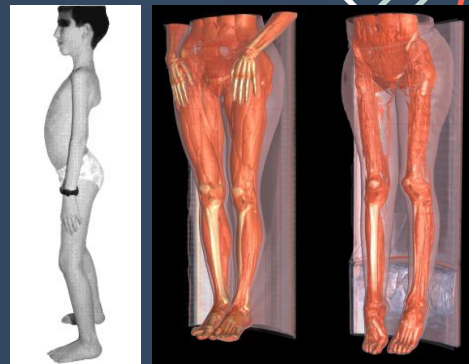
LGMD

-mutace rozličných genů produkují stejný fenotyp – jakýkoliv člen souboru tkáňově specifických interagujících produktů genů je defektní

-mutace jednoho genu je v některých případech zodpovědná za odlišné poruchy

např. LGMD1B – mutace v LMNA genu - **dilatační kardiomyopatie (CMD1A)** či syndromu Hutchinson-Gilfordova (HGPS, **progérie**) předčasného stárnutí

2021 – ABE testován na myších – in vivo - testován CRISPR



Vrozená muskulární dystrofie (CMD)

- klinicky a geneticky heterogenní, AR, ovlivňuje svaly novorozenat, u některých dětí způsobuje poškození mozku a nervů
- svaly permanentně napjaté a oslabené, klouby deformované jako následek dlouhodobé kontrakce
- varie ve velikosti svalových buněk a velká množství extracelulární tkáně

Proteiny genů asociovaných s rozličnou formou CMD:

- vazba sarkolemy a extracelulární matrix (LAMA2)
- tvoří součást matrix (COL6A1)
- množství glykosylovaných α -dystroglykanů (FCMD),

aj.

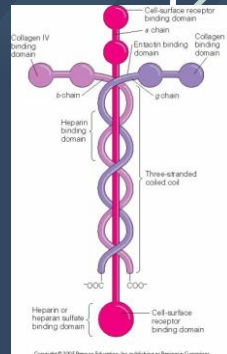
Disorder	Gene	Site	Protein	Function
Laminin $\alpha 2$ deficient-CMD (MDC1A)	LAMA2	6q22.33	$\alpha 2$ Subunit of laminin-2	Links α -dystroglycan to extracellular matrix
Fukuyama CMD	FCMD	9q31.1	Fukutin; phosphoryl ligand transferase	Glycosylation of α -dystrophin and possibly other muscle cell proteins
Integrin $\alpha 7$ deficiency	ITGA7	12q13.2	Integrin $\alpha 7$	Subunit of integrin $\alpha 7 \beta 1$; sarcolemma protein binds to extracellular matrix
Muscle-eye-brain disease	POMGNT1* (MGAT1.2)	1p34-p33	O-mannose $\beta 1,2$ -N-acetylglucosaminyltransferase	O-mannosylation
Walker Warburg syndrome	POMT1	9q34.13	Protein O-mannosyl transferase	O-mannosylation
Rigid spine syndrome	SEPN1	1p36.13	Selenoprotein N	Possibly prevents oxidant damage
MDC1C	FKRP	19q13.3	Fukutin-related protein; phosphoryl ligand transferase	Glycosylation of α -dystrophin and possibly other muscle cell proteins
MDC1D	LARGE	22q12.3	Glycosyltransferase	Glycosylation of muscle protein(s)
Ullrich syndrome 1	COL6A1	21q22.3	$\alpha 1$ collagen chain of collagen VI	Component of extracellular matrix
Ullrich syndrome 2	COL6A2	21q22.3	$\alpha 2$ collagen chain of collagen VI	Component of extracellular matrix
Ullrich syndrome 3	COL6A3	2q37.3	$\alpha 3$ collagen chain of collagen VI	Component of extracellular matrix

*Not an approved gene symbol.

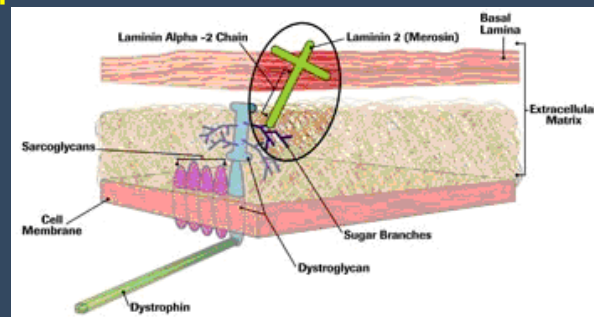
Laminin-2 - heterotrimer = těžký řetězec ($\alpha 2$) a dva lehké ($\beta 1/\gamma 1$)

- ve svalech se laminin $\alpha 2$ váže na -dystroglykan a extracelulární matrix

- $\frac{1}{2}$ narozených s CMD má nedostatek $\alpha 2$ podjednotky (LAMA2 - 6q2) – většina mutací způsobuje zkrácení proteinu



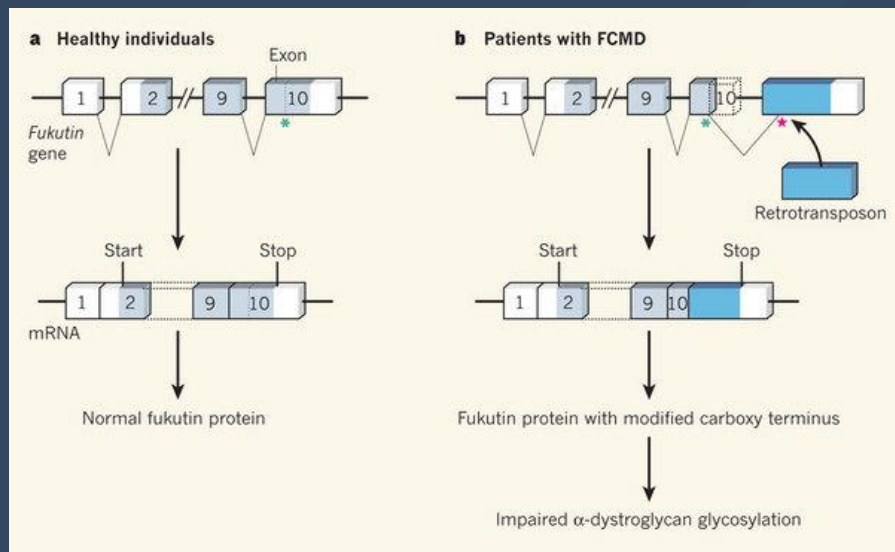
- laminin $\alpha 2$ – syntéza svaly, neurony;
- mechanismus není znám



Fukuyama-typ CMD (FCMD)

- 9q31.1 – vážná CMD s poruchami nervového systému (mentální retardace)
 - délka života zřídka delší než 20 let
 - 1:10 000 – na živě narozených Japonců
 - cca 80 % japonské populace nese mutaci v FCMD genu
 - retrotransposomální 3-kb insert uvnitř 3'-nepřekládané oblasti FCMD genu u postižených jedinců
 - znak 3-kb insertu FCMD genu = hexanukleotid opakovaný 41krát

- protein FCMD genu = fukutin – exprimován v mozku, kosterním svalstvu, srdci, pankreatu
- u postižených jedinců nelze nalézt mRNA → 3-kb insert vytváří nové splicingové místo = špatný sestřih mRNA
- fukutin (protein Golgiho aparátu) má glykosylační aktivitu a pravděpodobně modifikuje α -dystroglykan

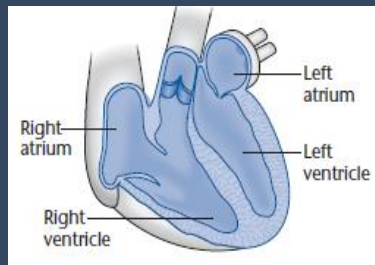


Poruchy svalů srdce

Lidské srdce – síně a komory – komory jsou ze silné svaloviny, zejména levá komora

Dilatační kardiomyopatie (DCM)

- nemoc srdečního svalu (myokardu)
- zvětšení komor, zúžení stěn, ztráta kontraktility srdečního svalu;
oslabující, často fatální s okamžitým následkem smrti; hlavní příčina
vedoucí k transplantaci srdce



Gene	Site	Protein	Function
ACADM	1p31.1	Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase	Oxidation of stored medium-chain fatty acids
CPT2	1p32.3	Carnitine palmitoyltransferase II	Transports long-chain fatty acids to mitochondria
TTN (CMD1G)	2q31	Titin	Associated with myosin filaments and attached to Z disk
TAZ (G4.S, CMD3A)	Xq28	Tafazzin	Unknown
ACTC	15q14	Cardiac muscle α -actin	Thin filament
DMD	Xp21.2	Dystrophin	Dystrophin-glycoprotein complex
LMNA	1q22	Lamins A/C	Component of inner nuclear membrane
TNNI2 (CMD1D)	1q32	Cardiac troponin T	Thin filament
DES (CMD1D)	2q35	Desmin	Cytoskeleton
SGCD	5q33.3	δ -Sarcoglycan	Sarcolemma transmembrane glycoprotein
TPM1	15q22.2	α -Tropomyosin	Thin filament
MYBPC3	11p11	Cardiac myosin binding protein C	Thick filament
MYH7	14q12	β -Myosin heavy chain	Thick filament

DCM je konečný výsledek mnoha rozdílných stavů.

- cca 50 % případů – obstrukce v koronárních arteriích, virální infekce, nutriční deficience, myokardiální toxiny (alkohol)
- ostatní příčiny – idiopatické – u některých pacientů porucha elektrické vodivosti srdce

- AR, AD, GR typ dědičnosti

- AR – řídké, kardiomyopatie jako minoritní symptom celkového fenotypu – mutace jaderných genů podílejících se na tvorbě energie z FA - úbytek ATP oslabí rozsah svalové aktivity (např. deficience CPT2) – výskyt kardiomyopatie spolu s ostatními komplikacemi jako nízká glukosa (hypoglykemie), zvracení, koma

- AD + GR – myopatie hlavní fenotypický projev

Poruchy svalů srdce

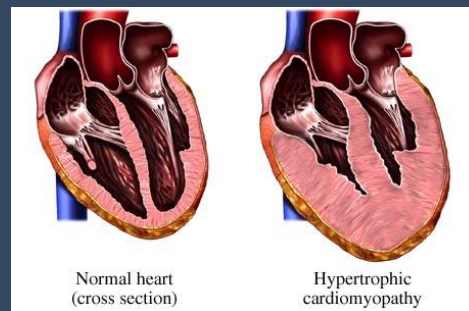
Hypertrofická kardiomyopatie (HCM)

- smrtelné AD onemocnění srdce s výskytem 1 : 5 000 - znakem nemoci je nezvykle zvětšená stěna levé komory
→ snížení objemu komory
- svalové buňky jsou zvětšené a disorganizované
- HCM je zodpovědná za náhlou smrt cca 35 % atletů
- cca 60 % HCM – rodinná podstata – fenotyp variabilní s rozdílnými výstupy uvnitř jedné rodiny
- vysoká genetická heterogenita – ovlivněny proteiny specifické pro srdce

Většinou jako AD → defektní protein brání správnému seskupení filament

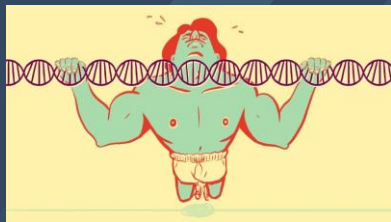
→ buňky dizorganizované

→ hypertrofie



Gene	Site	Protein	Function
MYH7	14q11.2	Cardiac β -myosin heavy chain	Thick filament
MYBPC3	11p11.2	Cardiac myosin-binding protein C	Thick filament
MYH6	14q11.2	Cardiac α -myosin heavy chain	Thick filament
MYL3	3p21.31	Essential myosin light chain, ventricular isoform	Thick filament
MYL2	12q24.11	Cardiac regulatory myosin light chain	Thick filament
TTN	2q31.2	Titin	Thick filament
ACTC	15q14	Cardiac actin	Thin filament
TNNT2	1q32.1	Cardiac troponin T	Thin filament
TPM1	15q22.2	α -Tropomyosin	Thin filament
TNNI3	19q13.42	Cardiac troponin I	Thin filament
CSRP3	11p15.1	Cardiac LIM protein	Cytoskeleton; sarcomere stabilization

Genetické determinanty sportovní činnosti



Existuje sportovní gen?

Jaké geny ovlivňují sportovní výkonost?

- Angiotensinový systém
- Imunita
- Složky sarkomery
- Diferenciace
- Hormonální receptory
- Adrenergní receptory

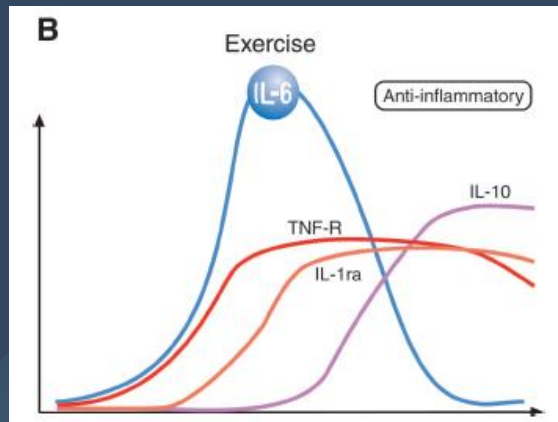
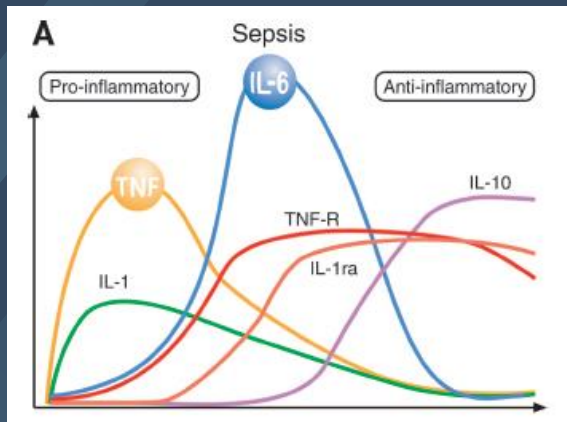


Genetické determinanty sportovní činnosti

Angiotensinový systém

- **ACE** (angiotensin konvertující enzym) – „gen vytrvalosti“ – podílí se na regulaci krevního tlaku a hospodaření s vodou a sodíkem
- gen obsahuje v intronu 16 insercí/deleci (I/D) o velikosti 287 bp
→ genotyp II je spojen s vyšší úrovní výkonosti u testovaných triatlonistů, běžců, horolezců, veslařů

Imunita – cvičení je provázáno protizánětlivou reakcí



IL-6 – polymorfismus -174C/G
mění transkripci IL-6
- Předpoklad pozitivního vlivu
alely -174G na krátkodobé
intenzivní činnosti

Genetické determinanty sportovní činnosti

Složky sarkomery

- **MLCK (myosinkinasa – lehký řetězec)** – některé polymorfismy mohou ovlivňovat fosforylaci svalových vláken a tím snižovat schopnost odolávat zátěži

Diferenciace

- **MSTN (Myostatin; GDF8)** – deficiencie vede k mohutné svalovině = popsáno dosud u jednoho chlapce
- polymorfismus **K153R** asociován s nižší úrovní síly, vyšší výskyt alely u afroameričanek

Hormonální receptory

- **Glukokortikoidní receptor (NR3C1)** – polymorfismus **ER22/23EK** byl asociován s větším množstvím svalové hmoty

Adrenergní receptory

- **Beta-2 adrenergní receptor (ADRB2)** – vyšší frekvence **Arg16Gly** a **Gln27Glu** u rychlostně silových sportovců



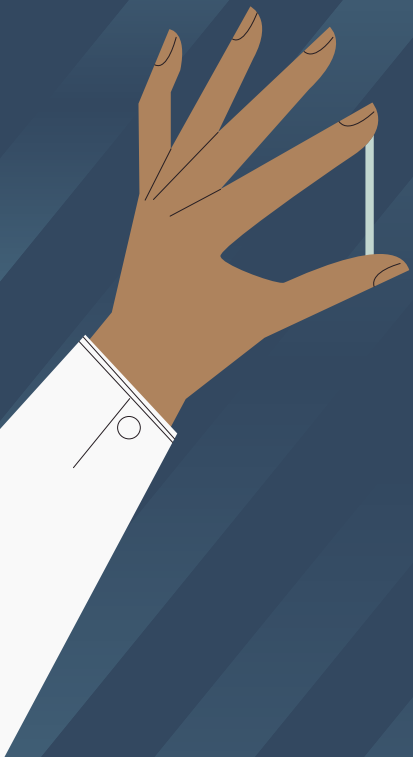
Závěr

Poruchy kosterních svalů a srdce, stejně tak i sportovní „nadání“ mají genetický základ.



Pro většinovou populaci však platí nutnost snahy, zejména pro sportovní činnost !!





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