

Genetika

Soubor kapitol ze stránek <http://www.genetika-biologie.cz/>

Verze 1.0 (11.9.2011)

MUDr. Antonín Šípek jr. (Azrael)



Uvedená práce (dílo) podléhá licenci [Creative Commons Uveďte autora-Nevyužívejte dílo komerčně-Zachovejte licenci 3.0 Česko](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/cz/)

1. Základy genetiky

1) Genetika obecně

Genetika je věda zabývající se dědičností a proměnlivostí živých soustav. Patří mezi **biologické vědy** a vyděluje se podle hlediska studia organismů (podobně jako anatomie - která se zabývá tělesnou stavbou nebo fyziologie - která se zabývá jednotlivými pochody a procesy v organismu). Genetika sleduje variabilitu, rozdílnost a přenos druhových a dědičných znaků mezi rodiči a potomky i mezi potomky navzájem. S genetikou a jejími principy se člověk setkával již od pradávna. Umění dávných šlechtitelů bylo s principy genetiky neomylně provázáno. Genetika - jako samostatná vědní disciplína - ovšem vzniká až relativně pozdě. Její historie se začala psát až v 19. století. K velkému rozvoji došlo ve druhé polovině 20. století a dá se očekávat, že rychlý rozvoj bude pokračovat i ve století 21. (a zatím tomu skutečně tak je...).

Genetika je jednou z nejdůležitějších (ne-li přímo nejdůležitější) teoretických věd z hlediska popisu jakékoli živé soustavy. U genetické informace je počátek každého současného živého organismu. Genetická informace určuje budoucí anatomickou stavbu organismu, určuje jaké látky budou účastníky biochemických a fyziologických procesů v organismu a v neposlední řadě je nepostradatelnou součástí pohlavního i nepohlavního rozmnožování. Poznatky genetiky jsou velmi důležité pro celou řadu přírodovědných oborů, například evoluční biologii, antropologii, mikrobiologii a mnoho dalších. V oboru **molekulární biologie** se kombinují poznatky genetiky, biochemie a buněčné biologie.

Genetika je sice původem **teoretickou** vědou, ale již dnes má velmi mnoho možností **praktického** uplatnění. Mimo lékařství nachází genetika využití v zemědělství při šlechtění nových odrůd rostlin stejně jako při chovu (nejen) hospodářských zvířat. S rozvojem **biotechnologií** a genetického inženýrství se objevují i geneticky upravené hospodářské organizmy, které se stávají přínosem, ale i ekologickou a etickou otázkou. Díky genetickému inženýrství, je dnes možné vyrábět řadu tzv. rekombinantních látek (a mnoho takových látek nachází uplatnění v terapii různých chorob). Využití genetiky pro různé biotechnologické metody a postupy je již dnes na denním pořádku a do budoucna se i toto uplatnění jistě dále rozšíří.

Velký význam pro člověka má lékařská neboli klinická genetika. Zkoumá člověka, různé genetické choroby a vady, jejich četnost a genetickou determinaci různých lidských znaků. Klinická genetika je dnes samostatným lékařským oborem, oddělení lékařské genetiky najdete dnes ve většině fakultních a krajských nemocnic; existuje také řada soukromých pracovišť.

Genetika se uplatňuje při výzkumu rakovinného bujení, imunitního systému a imunitních reakcí a v mikrobiologickém výzkumu.

Samostatnou kapitolou se pak stává **klonování**, kde vyvstávají ekologické a etické otázky již při klonování zvířat, natož při klonování člověka. Úplnou revoluci v medicíně pak může přinést ovládnutí genové terapie. Dnes již nelze ani opomenout význam genetiky ve **forenzních metodách**. Genetické testy pomáhají při usvědčování zločinců, při identifikaci tělesných ostatků nebo ztracených osob. V současné době také přichází do módy genetické testy otcovství.

Mezi podobory genetiky patří například: molekulární genetika, cytogenetika, imunogenetika, onkogenetika, populační genetika, klasická (Mendelovská) genetika, genetika rostlin (bakterií, virů...), evoluční genetika, a lékařská (klinická) genetika.

V genetickém výzkumu se používá mnoho rozličných metod. Jde zejména o metody biochemické, fyzikální, mikroskopické, metody analytické chemie a bioinformatiky. Mnoho specifických metod bylo objeveno výhradně pro genetický výzkum - zejména různé sekvenovací a značkovací metody.

2) Historie genetiky

Genetika je vědou poměrně mladou. Za zakladatele genetiky je považován **Johann Gregor Mendel** (1822 - 1884). Tento augustiniánský mnich z brněnského kláštera se v 2. polovině 19. století zabýval hybridizačními pokusy u rostlin. Za své působiště si zvolil zahrádku kláštera a za objekt svého zájmu hrách. Při následném křížení sledoval 7 dědičných znaků (tvar semen a lusků, zbarvení děloh, květů a nezralých lusků, délku stonku a postavení květů). Po matematickém zhodnocení výsledků zjistil, že se nedědí přímo znaky, ale "vlohy" pro ně. Mendel tak dal za vznik klasické genetiky. Mendelovy zákony a mezialelární vztahy patří k základům a dodnes mají své využití třeba i v medicíně u sledování monogenně dědičných onemocnění. Mendel vydal roku 1866 o svých pozorováních práci nazvanou **Versuche über Pflanzenhybriden** (Pokusy s rostlinnými kříženci). Ve své době však neměla jeho práce vůbec žádný ohlas a byla dokonce zapomenuta.

Ke znovuoobjevení Mendelovy práce a ke vzniku genetiky jako plnohodnotného vědního oboru tak dochází až na počátku 20. století. Dochází zde k potvrzení pravdivosti Mendelových zjištění. To je spojeno se jmény holandského profesora Huga de Vriese (1848 - 1935), rakouského profesora Ericha Tschermaka von Seysenegg (1871 - 1962) a profesora Carla Corrense (1863 - 1933). Mezi další významné vědce patří anglický profesor **William Bateson** (1861 - 1926), který jako první použil termín genetiky (1906), heterozygot a homozygot. Dán Wilhelm Johannsen (1857 - 1927) zase jako první zavádí pojmy gen, genotyp a fenotyp.

Větší pozornost si zaslouží Američan **Thomas Hunt Morgan** (1866 - 1945) a jeho práce o chromozomech (Chromosomes and heredity). Jako modelový organismus používal octomilku (*Drosophila melanogaster*). Přinesl spoustu nových poznatků o genech a genové vazbě. Roku 1933 se stal prvním genetikem, který získal Nobelovu cenu.

Klíčovým okamžikem byl samozřejmě objev DNA. Jako nositelka genetické informace byla prokázána již v roce 1944 týmem Američana Oswalda T. Averyho. Další poznatky ohledně komplementarity bází přinesl Erwin Chargaff. Na jejich práci navazují **James D. Watson** a **Francis H. Crick**, kteří onoho památného roku 1953 předložili strukturní model dvoušroubovice DNA. Významným dílem k tomuto objevu přispěly i RTG studie DNA **Maurice H. F. Wilkinse** a **Rosalindy Franklinové**. Roku 1962 se Watson, Crick a Wilkins dočkali Nobelovy ceny. Crick se dále věnoval proteosyntéze a genetickému kódu.

Zanedlouho je potvrzen tripletový genetický kód. Japonec Reiji Okazaki (1930 - 1974) osvětluje diskontinuální syntézu opožděného řetězce při replikaci DNA. Roku 1966 jsou k jednotlivým tripletům přiřazeny aminokyseliny, které kódují. V roce 1956 je stanoven počet chromosomů v lidské buňce a roku 1959 Francouz Jerome Lejeune (1926 - 1994) odhaluje chromosomální podstatu Downova syndromu. Nastává rozvoj i na cytogenetické úrovni. Objev moderních sekvenovacích principů umožnil sekvenování genomů jednoduchých organismů (1965 - genom kvasinky), s rozvíjejícím se technickým pokrokem bylo možné sekvenovat stále větší genomy, což vyvrcholilo **sekvenováním lidského genomu** (draft roku 2001, kompletní sekvence roku 2003).

I v současné době probíhá výzkum, zaměřený zejména na využití znalostí lidského genomu např. v oblasti farmakogenomiky nebo genové terapie. Využívá se stále dokonalejších bioinformatických technologií. Intenzivní výzkum probíhá v oblasti genetiky nádorového bujení. Nových objevů se v oblasti genetiky budeme dočkávat každým dnem...

2. Cytogenetika

1) Eukaryotní buňka

Většinu dnešních organismů (kromě bakterií, archebakterií a sinic) řadíme do podříše *Eucaryota*. Eukaryotní organismy jsou tvořeny buňkami (nebo buňkou) eukaryotního typu. Ty jsou značně složitější než prokaryotní buňky. Obsahují i membránové organely jako mitochondrie, Golgiho aparát, endoplazmatické retikulum, vakuoly / lyzosomy či plastidy, které u prokaryot nenajdeme. Značně se také liší samotné jádro, jak je popsáno níže.

Jádro

Jádro je většinou největší organelou buňky a je odděleno membránou - **karyoplastem** (ve skutečnosti je membrána dvojí a mezi jednotlivými membránami je tzv. perinukleární prostor). Velkou část jeho hmoty tvoří **chromatin** - hmota složená z nukleozómů, které nejsou nic jiného než DNA a **histony** (bílkoviny - rozeznáváme 5 typů: H1, H2A, H2B, H3, H4). Rozlišujeme světlý chromatin - *euchromatin* - dekonenzovaný, je místem aktivní transkripce, a tmavý, kondenzovaný chromatin - *heterochromatin*.

Dále jádro obsahuje **jadérko (nucleolus)**, které může být zastoupeno i ve více exemplářích. Je tvořeno především RNA a proteiny. Jeho součástí jsou také části DNA z chromosomů tzv. organizátory nukleolu, což jsou sekvence bází, které kódují ribozomální RNA. Dozrávající ribozomy v jadérku tvoří malá granula, která označujeme jako pars granulosa - granulózní část.

Další buněčné organely

Mitochondrie

Mitochondrie jsou kulovité až podlouhlé organely sloužící jako energetické centrum buňky. Probíhají zde významné metabolické pochody jako citrátový cyklus a β -oxidace mastných kyselin. Mitochondrie jsou ohraničeny dvojitou membránou; vnitřní membrána vybíhá v hojně výběžky - **kristy**. Vnitřní hmotu mitochondrie označujeme jako **mitochondriální matrix**. Mitochondrie patří mezi tzv. **semiautonomní organely** - část svých proteinů si díky své kruhové molekule DNA a vlastnímu proteosyntetickému aparátu mohou nasyntetizovat samy. Nejen pro podobnost této kruhové molekuly s genetickou informací bakterií se uvažuje, že mitochondrie jsou z hlediska evoluce heterotrofní bakterie, které nejen přežily uprostřed cytoplasmy jiné buňky, ale dokázaly s ní navázat trvalé soužití (tzv. **endosymbióza**).

Plastidy

Plastidy jsou organely rostlinných buněk. Taktéž o plastidech se uvažuje, že vznikly procesem **endosymbiózy** a obsahují vlastní genetickou informaci.

Leukoplasty - neobsahují barviva; zato se v nich ukládají různé zásobní látky.

Chromoplasty - obsahují různé, především žluté, oranžové nebo červené pigmenty - **karoteny** a **xantofyly**.

Chloroplasty - mají zelené zbarvení díky pigmentu **chlorofylu**. Jsou ohraničeny dvojitou membránou; vnitřní membrána vybíhá v ploché váčky - **tylakoidy**, které jsou uspořádány ve sloupečcích (**grana**). Hlavní úlohou chloroplastů je samozřejmě **fotosyntéza**.

Endoplazmatické retikulum

Jde o organelu membránovou, sestávající se ze systému plochých váčků. Rozlišujeme endoplazmatické retikulum **drsité** (granulární), nazvané podle přítomnosti ribozomů na jeho

povrchu, ve kterém dochází především k posttranslační úpravě proteinů, a endoplazmatické retikulum **hladké** (agranulární), které na povrchu ribozomy nemá, a které se např. hojně zapojuje v metabolických procesech. Přesná funkce endoplazmatického retikula je často typická pro konkrétní buňky (např. v určitém orgánu atd.).

Golgiho aparát

Jde o membránovou organelu, složenou z plochých cisteren a různých váčků. V Golgiho aparátu se dokončuje modifikace produktů syntetizovaných buňkou (přicházejících např. z endoplazmatického retikula), které se potom pomocí transportních váčků dostávají na místo určení (často jde o produkty určené na export z buňky). Organela je strukturně i funkčně polarizována - na jednom pólu vstupují "suroviny" dovnitř, z opačného pólu pak vychází již hotové produkty.

Váčkovité útvary

V eukaryotních buňkách se vyskytuje velké množství stavebně i funkčně různých váčkovitých útvarů. Jde o různě veliké, membránou ohraničené organely, sloužící k transportu nebo uchovávání různých látek, tvořících jejich obsah.

Vakuoly - organely typické zejména pro rostliny, v jejichž buňkách se často vyskytují velké vakuoly se zásobní funkcí. Drobné vakuoly se ovšem vyskytují i u živočichů, např. v tukových tkáních obsahují lipidy.

Lyzosomy - obsahují celou škálu různých hydrolytických enzymů a účastní se tak zejména nitrobuněčného trávení. "Nové" lyzosomy, vznikají odškrcením od Golgiho aparátu a dokud nevstoupí do trávicího procesu, je označujeme jako primární; tudíž lyzosomy, ve kterých již trávicí proces probíhá, označujeme jako sekundární.

Fagozomy - jsou membránovité útvary, které vznikly endocytózou (tedy fagocytózou, ale třeba i pinocytózou) různého materiálu z vnějšího prostředí buňky. Většinou dochází k jejich splynutí s lyzosomy, které přináší potřebné trávicí enzymy, případě látky pro snížení Ph, aby byla aktivita těchto enzymů nejvyšší.

Peroxisomy - slouží k ochraně buňky před škodlivým vlivem peroxidu vodíku pomocí specifických enzymů.

Ribozomy

Ribozomy jsou malé zrnkovité útvary skládající se z proteinů a rRNA. Vyskytují se volně v cytoplazmě, a to osamoceně nebo v nakupeninách (nazývaných polyribosomy) nebo přidružené ke granulárnímu endoplazmatickému retikulu. Ribozomy eukaryot se skládají ze dvou podjednotek - větší a menší. Menší podjednotka je tvořena asi 33 proteiny a 1 molekulou rRNA (18S rRNA), zatímco větší podjednotka je tvořena asi 49 proteiny a 3 molekulami rRNA (5S rRNA, 5.8S rRNA a 28S rRNA). Ribozomy jsou místem translace, přičemž malá podjednotka se podílí na navázání mRNA a velká podjednotka na vzniku peptidové vazby mezi jednotlivými aminokyselinami.

Cytoskelet

Cytoskelet tvoří jakousi opěrnou a pohybovou soustavu buňky - pomáhá udržovat tvar buňky a podílí se na pohybech organel i celé buňky. Jako složky cytoskeletu označujeme **mikrotubuly** (trubicovité útvary) a **mikrofilamenta** (jemné, vláknité útvary).

Řasinky a bičíky - jsou pohyblivé útvary na povrchu buňky, které mohou sloužit k jejímu pohybu nebo k rozkmitání okolního prostředí buňky. Mají stejnou strukturu, kterou je 9 párů mikrotubulů (jsou tak těsně u sebe, že mají společnou část stěny), tvořících kruh okolo centrální dvojice mikrotubulů, která je umístěna ve středu útvaru.

Centrioly - jsou válcovité útvary, vyskytující se v jednom či ve dvou (v dělicí se buňce) exemplářích v buňce. Skládají se z 9 trojic mikrotubulů, které jsou uspořádány do tvaru ozubeného kolečka. Před dělením buňky se centriol zdvojí a oba pak putují k opačným pólům buňky, kde se podílejí na vzniku dělicího vřeténka.

Buněčné inkluze

Jde o různé látky, které se nachází rozptýleny volně v cytoplazmě, bez membránového ohraničení. Mohou to být kapénky lipidů, shluky sacharidů nebo třeba různé pigmenty.

2) Chromozomy

Genetická informace v buňkách eukaryotních organismů není uložena v jediné molekule DNA. Namísto toho je rozdělena do několika úseků. Tyto úseky DNA tvoří komplex s různými proteiny a existují v jádře jako určité funkční jednotky. Je to podobné, jako když máme v počítači data uložená na několika pevných discích a ne pouze na jednom. Tyto jednotky obecně nazýváme **chromozomy**. Název pochází z řečtiny a je složeninou výrazů *chroma* a *soma* a doslova znamená **barevné tělísko**. Chromozomy jsou nejlépe pozorovatelné až v průběhu buněčného dělení, během kterého se spiralizují a získávají svůj známý tvar. Jako první uceleně popsal chromozomy a jejich chování v průběhu mitózy německý vědec **Walther Flemming**.

Makrostavba chromozomů

V průběhu interfáze se jednotlivé chromozomy nachází v buněčném jádře v rozvolněném - **despiralizovaném** stavu a nemůžeme je mikroskopem pozorovat. To se mění v průběhu buněčného dělení (typicky v mitóze), kdy se chromozomy **spiralizují** a získají svůj typický tvar, který již v mikroskopu pozorovat můžeme (pozorování metafázických chromozomů je jednou z klasických vyšetřovacích metod klinické genetiky).

V průběhu metafáze vypadá chromozom jako podlouhlý objekt se dvěma rameny (či chcete-li raménky), mezi nimiž je ztenčená oblast (primární konstriktce - **centromera**. Koncová část ramen se potom označuje jako **telomera**. Ramena často nebývají stejně dlouhá - proto na chromozomu (podle polohy centromery) rozlišujeme krátké rameno (**p rameno**) a dlouhé rameno (**q rameno**). Při pozorování chromozomu v metafázi si rovněž všimněte, že je tvořen **dvěma chromatidami**, spojenými v oblasti centromery, neboť jde o fázi buněčného dělení kdy již došlo k replikaci DNA.

Obecně pak chromozomy podle uložení centromery (přesněji - podle tzv. centromerického indexu) dělíme na chromozomy:

- **Telocentrické** (pouze s 1 ramenem, u člověka se nevyskytují)
- **Metacentrické** (s přibližně stejně dlouhými rameny)
- **Submetacentrické** (jedno raménko je mírně kratší)
- **Akrocentrické** (jedno raménko je extrémně kratší)

Akrocentrické chromozomy mají typicky velmi krátká ramena, na kterých je (sekundární konstriktí) oddělena speciální struktura - tzv. **satelit**. Tato struktura tvoří tzv. organizátor nukleolu (podílí se tedy na stavbě jádérka) a obsahuje geny pro syntézu rRNA.

Tvar, velikost a počet chromozomů v buňce jsou poměrně charakteristické a konstantní druhové znaky. Např. člověk má 23 párů chromozomů, žížala - 18 párů, pes - 39 párů. Soubor chromozomů v buňce označujeme jako **karyotyp**. O lidském karyotypu se dočtete více v kapitole karyotyp člověka.

Mikrostavba chromozomů

Jak již bylo zmíněno, chromozomy jsou ve skutečnosti komplexem složeným z nukleové kyseliny (DNA) a proteinů (histonové a nehistonové proteiny). Základní stavební jednotkou chromozomu jsou tzv. **nukleozomy** - malé útvary tvořené 8 histony, které jsou obtočeny přibližně 146 páry bazí molekuly DNA. Spiralizací těchto nukleozomů vznikají **chromatinová vlákna** a další spiralizací těchto vláken vznikají již celé chromozomy.

Histony jsou specifické bazické bílkoviny, které tvoří komplex s DNA. Rozeznáváme 5 typů histonů: H1, H2A, H2B, H3, H4. V rámci 1 nukleozomu je histonový otamer tvořen dvojicí každého z těchto typů histonů: H2A, H2B, H3 a H4. Poslední typ - H1 - je umístěn mimo tento oktamer.

Autozomy a gonozomy

Mezi chromozomy existují ještě určité rozdíly a to vzhledem k pohlaví. Chromozomy se totiž dělí na chromozomy somatické (**autozomy**, které tvoří homologní (shodné) páry a jejich přítomnost není specifická pro určité pohlaví, a dále na chromozomy pohlavní (**gonozomy**), které určují pohlaví jedince a jsou heterologní (liší se svou stavbou). Například u člověka nacházíme 22 párů autozomů a 1 pár gonozomů - přičemž pohlavní chromozomy označujeme písmeny **X** a **Y**. Chromozomální určení pohlaví a dědičnost pohlavně vázaných znaků je podrobněji rozebrána v kapitole dědičnost.

3) Buněčný cyklus

Buněčný cyklus je cyklus, kterým prochází buňka mezi svými děleními. Doba trvání cyklu se nazývá generační doba. Buněčný cyklus se skládá z několika fází přípravných (souborně nazývaných jako **interfáze** - tj. období mezi dvěma následnými mitózami) a vlastního buněčného dělení. **Časy zde uvedené jsou pouze orientační** a liší se druh od druhu a i buňku od buňky (tyto přibližně odpovídají dělící se modelové lidské buňce).

Regulaci buněčného cyklu má na starosti velké množství látek enzymové i neenzymové povahy (**Cykliny** a **CDK proteinkinázy**). Obecně existují faktory, které dělení buňky urychlují, a faktory, které naopak dělení buňky zpomalují, či zcela zastavují. Ve složitém mnohobuněčném organismu (jakým je například člověk) je přísná regulace buněčného dělení zcela nezbytná, neboť jen tak lze dosáhnout harmonické funkčnosti organismu, kde se dělí pouze ty buňky, u kterých je to momentálně potřeba. Nekontrolované buněčné dělení nacházíme u různých nádorových onemocnění. Naopak i omezení schopnosti dělení může mít závažné následky (vzpomeňme například na sníženou produkci krevních elementů u pacientů po cytostatické léčbě).

G0 fáze - fáze, kdy se buňka již dále nedělí, zastavení buněčného cyklu. Setkáváme se u diferencovaných buněk. Její nástup je ovlivněn kontrolním uzlem, umístěným na počátku G1 fáze. Pokud se již buňka nemá dále dělit, vstoupí do G0 (nula) fáze, místo do G1 fáze. Plně diferencované buňky (např. neurony) se dále již nedělí. Naopak některé jiné buňky (např. jaterní buňky - hepatocyty) jsou schopny v případě potřeby přejít z G0 fáze do G1 fáze a začít se opět dělit.

G1 fáze - Nazývána též postmitotická. Období růstu buňky, přípravná fáze na další dělení. Dochází zde ke kontrole a opravám DNA, před její budoucí replikací v následující fázi. Trvá asi 10 - 12 hodin.

S fáze - DNA se replikuje na dvojnásobné množství. Každý chromozom je od této doby zdvojený, tvořený párem **sesterských chromatid**. Trvá asi 6 - 8 hodin.

G2 fáze - Zdvojování organel, tvorba struktur potřebných pro dělení buňky. Trvá asi 2 - 4 hodiny.

M fáze - Skládá se z jaderného dělení (mitózy či meiózy) a vlastní cytokineze. Trvá asi 1 - 2 hodiny.

Dělení buňky se skládá ze 2 fází. Karyokineze (jaderné dělení) a cytokineze (dělení celé buňky).

4) Mitóza

Jaderné dělení je nedílnou součástí komplexního buněčného cyklu. Mitóza je poté nejčastější typ jaderného dělení (karyokineze). V průběhu mitotického dělení vznikají z jedné buňky mateřské dvě zcela rovnocenné buňky dceřiné, což mimo jiné znamená, že mateřská i dceřiná buňka mají stejné

množství genetické informace a stejný počet chromozomů (čímž se významně liší od meiózy). Proto se mitóze také říká **ekvační** či také homotypické dělení. Mitóza má celkem 4 fáze:

1) Profáze Rozpuštění jaderné membrány a jadérek, vznikají 2 centrioly -> vzniká dělicí vřeténko (mikrofilamenta, mikrotubuly), z chromatinu a jadérek vznikají pětlicovité **chromozomy**. (Touto dobou je již dávno po S fázi a veškerý genetický materiál je tudíž znásobený. Chromozomy jsou zdvojené, jsou ale stále spojeny v **centromere**, než budou v anafázi roztrženy). Přechodná fáze mezi profází a metafází se někdy specificky označuje jako **prometafáze**.

2) Metafáze Chromozomy se seřazují do rovníkové (ekvatoriální) roviny. Dělicí vřeténko se navazuje na centromery chromozomů. Chromozomy zůstávají spojeny jen v centromerách.

3) Anafáze Roztržení chromozomů v centromerách zkracováním mikrotubulů dělicího vřeténka. Chromozomy putují k pólům buňky.

4) Telofáze Zánik dělicího vřeténka, despiralizace chromozomů, vzniká jaderná membrána a jádérka, počátek cytokineze.

Je třeba si uvědomit, že může dojít k chybnému rozestupu chromozomů (nondisjunkci). Pokud se tak stane, potom vznikající buněčné linie budou nést určité **chromozomové aberace** (nebo buňky zahynou, pokud je vzniklá kombinace pro buňku letální).

Následuje samotná cytokineze. Při cytokynezi vzniká přepážka mezi dceřinými buňkami trojím způsobem:

a) Pučením typické pro některé prvoky, kvasinky. Na mateřské buňce se vytvoří pupen (nestejně množství cytoplazmy), který se oddělí a teprve později doroste.

b) Rýhováním živočišné buňky. Dostředivé dělení. Buňka se jakoby "zaškrť" od krajů do středu.

c) Přehrádečným dělením rostlinné buňky. Přehrádka mezi buňkami vzniká od středu ke kraji. Odstředivé dělení.

5) Meióza

Meiotické neboli **redukční dělení** (dříve také **heterotypické**) dává za vznik haploidních buněk (což jsou typicky pohlavní buňky). Jejím cílem je tedy zajistit, aby buňka získala pouze polovinu genetického materiálu. Pokud má mateřská buňka celkem $2n$ chromozomů, potom dceřinné buňky budou mít pouze n chromozomů, tedy přesně polovinu původního počtu. Původní počet $2n$ chromozomů se obnoví až splynutím dvou gamet v průběhu oplození. Dalším rozdílem oproti mitóze je skutečnost, že výsledkem kompletní meiózy jsou celkem 4 buňky (oproti 2 buňkám u mitózy). Meióza má 2 hlavní fáze, a to 1. a 2. meiotické dělení.

1. Meiotické dělení Homologní chromozomy tvoří v ekvatoriální rovině tzv. tetrády. Může mezi nimi dojít k rekombinaci genetického materiálu (**crossing-over** - výměna genů mezi homologickými, avšak nesesterskými chromatidami). Chromozomy nejsou roztrhávány, k pólům buňky putují celé sady. Na každém pólu tak zůstane vlastně 2krát jedna polovina genetického kódu. Redukčním dělením je tak vlastně právě a pouze první část meiotického dělení (meióza I).

Profázi I ještě můžeme dělit na následující fáze:

Leptoten - vláknité chromozomy se začínají kondenzovat

Zygoten - párování homologních chromozomů, vznik bivalentů

Pachyten - pokračuje kondenzace, čtveřice chromatid jsou dobře patrné jako tzv. tetrády, dochází ke **crossing-overu**

Diploten - tetrády se rozestupují, místa překřížení chromatid (po crossing-overu) lze pozorovat jako tzv. chiasmata

Diakineze - chiasmata zanikají (terminalizace chiasmát), rozpadá se jaderný obal, profáze končí

2. Meiotické dělení Navazuje na první meiotické dělení. Mezi nimi již NEDOCHÁZÍ k další replikaci DNA. Probíhá téměř stejně jako normální mitóza. Výsledkem jsou tedy 4 dceřinné buňky, každá s jednou polovinou genetické výbavy.

Stejně jako u mitózy i v průběhu meiózy může dojít k chybnému rozestupu chromozomů. Situace je o to vážnější, že pohlavní buňka se špatnou chromozomální výbavou dává za vznik zygotě, ze které vzniká celý plod, jehož každá buňka ponese příslušnou chromozomovou aberaci (nebo jeho vývoj bude předčasně ukončen).

6) Diferenciace buněk

U vícebuněčných organismů dochází k procesu diferenciace (viz G0 fáze v kapitole buněčný cyklus), díky němuž se buňky svou stavbou přizpůsobují roli, kterou mají v organismu vykonávat. Všechny buňky organismu jsou sice vybaveny stejnou genovou výbavou, ale v konkrétní buňce dochází k realizaci pouze části genetické informace (např. působením hormonů, různých růstových faktorů apod.; které geny nakonec budou v buňce přepisovány závisí na přítomnosti specifických transkripčních faktorů). V průběhu vývoje organismu je takováto diferenciace nesmírně důležitá, neboť jen plně vyvinuté tkáně mohou plnit svoji fyziologickou úlohu na 100 %.

V časných embryonálních stádiích jsou ještě buňky nediferencované, mají schopnost změnit se prakticky v jakýkoliv typ buňky (tato schopnost se označuje jako **totipotence**). V průběhu vývoje se buňky stále více specializují a diferencují až se z nich nakonec stávají plně diferencované buňky. Typickým příkladem plně specializované buňky, která se již dále nemění a nevyvíjí je nervová buňka - neuron. I u dospělého organismu nacházíme buňky, které jsou stále schopné diferenciace do několika různých typů buněk. Patří sem například **kmenové buňky krvetvorné kostní dřeně**, ze kterých se mohou vyvinout různé typy krevních buněk (krvinek). Schopnost diferencovat se v několik různých typů buněk (ovšem v omezené množství typů) se označuje jako **pluripotence**.

V průběhu ontogenetického vývoje jedince i v průběhu života dochází k velkému "koloběhu" buněk, kdy řada buněk hyne, nebo je dokonce cíleně odstraňována. Tyto nepotřebné, staré nebo poškozené tedy potom hynou nekrózou nebo apoptózou.

7) Buněčná smrt

V mnohobuněčném organismu, jakým je i člověk, se každý den vytvoří obrovské množství nových buněk a na druhé straně jich i obrovské množství zahyne v procesu nazvaném buněčná smrt. A zatímco proces vzniku - buněčné dělení - probíhá relativně stejně u všech buněk organismu, buněčná smrt probíhá dvěma hlavními cestami a to nekrózou a apoptózou.

Nekróza

Nekrózu je třeba chápat jako patologický proces. Je vyvolána různými vlivy na buňku, ať již mechanickými, chemickými či tepelnými. Nekrózu také může vyvolat virová infekce buňky, různé bakteriální toxiny nebo třeba i náhlé vyčerpání buněčných energetických zásob (například vlivem ischemie).

Důležité je, že při nekróze dochází k narušení integrity cytoplazmatické membrány, což vede k narušení rovnováhy vnitřního prostředí buňky. To vede k objemovým změnám (edém) jak celé buňky, tak některých organel (mitochondrie, endoplazmatické retikulum). Celý proces nakonec vede k enzymatickému poškození buňky (náhodné štěpení jaderné DNA) a jejímu rozpadu. Celé vnitřní prostředí buňky se tak uvolní do okolí, přičemž enzymy takto uvolněné mohou indukovat nekrózu okolních buněk a způsobit tak "řetězovou reakci", kdy dojde k rozsáhlejšímu poškození tkáně a následnému zánětu.

Různé patologické externí vlivy nemusí vyústit pouze v nekrózu, ale při určité konstelaci mohou spustit i apoptotický proces.

Apoptóza

Apoptóza, neboli programovaná buněčná smrt je zcela fyziologický děj. Na rozdíl od nekrózy, která postihne víceméně náhodnou buňku, která měla zrovna smůlu a byla vystavena nepříznivým vlivům, je apoptóza indukována naprosto cíleně a buňka je usmrcena a následně odstraněna takovým způsobem, že nedojde k poškození okolních buněk. Je to tedy organizovaný a přísně regulovaný děj.

Apoptóza může být indukována signálem zvenčí i z buňky samotné. Podnětem zvenčí může být například akce cytotoxického (CD8+) T lymfocytu, kterému se buňka určitým způsobem znelíbila (nádorové a virem infikované buňky). Jiným signálem může být naopak absence jakéhokoli signálu. Buňka izolovaná od kontaktu s ostatními buňkami a bez stimulace určitými cytokiny tak může také podlehnout apoptotickému procesu.

Buňka sama pak může apoptózu spustit například při neopravitelném poškození jaderné DNA.

Vlastní průběh apoptózy využívá enzymatické regulační kaskády buňky. Uplatňují se zde tzv. kaspázy, které se nacházejí v buňce v neaktivním stavu a jejich aktivace proapoptotickým signálem vede k dějům, kterými se buňka připravuje na svou smrt. Dochází k fragmentaci jaderné DNA, na rozdíl od nekrózy je však fragmentace nenáhodná a fragmenty jsou stejně dlouhé. Buňka se také trochu smrští a změní se i charakter různých organel. Zdá se, že významnou úlohu v apoptóze hrají mitochondrie. Celý proces končí rozpadem buňky do apoptotických tělísek, což jsou membránou ohraničené buněčné fragmenty, které jsou následně fagocytovány bílými krvinkami (makrofágy). Důležité je, že nitrobuněčné enzymy nepoškodí okolní buňky.

Apoptóza se nejvíce uplatňuje v prenatálním vývoji jedince, kdy celé skupiny buněk hynou apoptózou během vývoje tkání a orgánových soustav (například rozestup tkání během vývoje prstů). Za života potom dochází například k "probírání" dozrávajících T lymfocytů v brzlíku, kdy autoreaktivní klony T lymfocytů (buňky, které by spouštěly imunitní reakci proti buňkám vlastního těla) hynou apoptózou, stejně jako klony, které naopak reakce s antigenem nejsou schopny vůbec.

8) Genetika mitochondrií

Mitochondrie jsou zajímavé orgány eukaryotických buněk. Slouží jako energetické centrum buňky. Obsahují vlastní genetickou informaci a dokonce i vlastní proteosyntetický aparát.

Mitochondrie jsou kulovité až podlouhlé orgány široké asi 1 μm a dlouhé až 10 μm. Jsou uzavřeny 2 membránami - vnější mitochondriální membránou a vnitřní mitochondriální membránou, která vybíhá v četné výběžky - tzv. **kristy**. Prostor mezi oběma membránami označujeme jako intramembranózní, prostor ohraničený vnitřní membránou označujeme jako interkristální. V prostoru mezi kristami najdeme **matrix mitochondrie** - amorfni hmotu, obsahující proteiny, koncentrovanou směs enzymů (včetně enzymů Krebsova cyklu a β-oxidace mastných kyselin), mitochondriální genom, speciální mitochondriální ribozomy a RNA. Většina buněk obsahuje alespoň 1000 mitochondrií.

Mitochondrie je energetické centrum buňky. Probíhá zde cyklus kyseliny citrónové (Krebsův cyklus, citrátový cyklus), kde je oxidován získaný acetylkoenzym A (acetyl-CoA). Cyklus vydává CO₂ a energii ve formě vysokoenergetických elektronů. Ty jsou z cyklu vyneseny nosiči (NADH, FADH₂), které v dýchacím řetězci (elektrontransportní řetězec) odevzdávají tyto elektrony za vzniku vody a syntézy ATP díky protonovému gradientu, získanému transportem elektronů vnitřní membránou. Bez mitochondrií by buněčné zásoby ATP byly odkázány jen na méně účinné metody získání energie, jako je např. glykolýza.

Díky částečné nezávislosti mitochondrií na zbytku buňky je označujeme jako tzv. **semiautonorní organelly**. Z evolučního hlediska je považujeme za bakteriální buňky, které pronikly do jiné buňky a tomuto prostředí se dokázaly přizpůsobit (tzv. **endosymbióza**). Pro bakteriální původ hovoří např. dvojitá membrána, cirkulární molekula DNA nebo přehrádečný typ dělení, který lze pozorovat u dělících se mitochondrií.

Nyní k vlastnímu genomu mitochondrie. Bylo prokázáno, že tento je jako u bakterií tvořen kruhovou molekulou DNA (mtDNA) o velikosti (u člověka) 16569 nukleotidových párů, které představují 37 genů, z toho 24 genů kóduje různé části proteosyntetického aparátu mitochondrie (2 typy rRNA a 22 tRNA) a zbytek se podílí na malé části enzymatické výbavy mitochondrie. Naprostá většina mitochondriálních proteinů je ale kódována v jádře buňky a tyto sem musí být přeneseny z místa vzniku v cytosolu. Stejně jako u bakterií, nejsou v mitochondriálním genomu nekódující sekvence (introny).

Proteosyntetický aparát mitochondrie se také výrazně liší od normálního aparátu eukaryotické buňky. Liší se např. velikostí ribozomálních podjednotek, menším počtem typů molekul tRNA (pouhých 22!) a odlišnosti najdeme i v genetickém kódu, zejména v kódování methioninu a stop-kodonů.

Přes zdánlivou nepodstatnost mohou být mutace v mtDNA zdrojem různých závažných chorob. Vzhledem k tomu, že všechny mitochondrie v zygotě jsou z vajíčka (všechny mitochondrie ze spermie jsou odbourány), mluvíme zde o tzv. **maternální dědičnosti** (tedy jeden z typů neMendelovské dědičnosti). Jinými slovy, pokud je matka přenašečkou mutace v mtDNA, pak tuto předá všem svým potomkům, zatímco pokud je přenašečem otec, pak tuto mutaci žádnému potomkovi předat nemůže. Další zvláštností je, že při dělení buňky nedochází k žádné kontrolované segregaci mitochondrií do dceřiných buněk. Proto je mtDNA mezi nové buňky distribuována zcela náhodně a dceřiné buňky tak mohou získat zcela různý počet normálních a mutací zatížených mitochondrií. Stav, kdy buňka obdrží pouze normální mitochondrie, či naopak pouze mutované mitochondrie se nazývá **homoplazmie**. Stav, kdy obdrží směs normálních a mutovaných mitochondrií, se nazývá **heteroplazmie**. Případná nefunkčnost mitochondrií je neslučitelná se životem, ale vzhledem k tomu, že fenotypový projev závisí na podílu normálních a zmutovaných mitochondrií v buňce, je život takového jedince nejen možný, ale v případě malého počtu zmutovaných mitochondrií v buňce, se tato skutečnost nemusí projevit vůbec. Proto se u pacientů s těmito mutacemi mitochondrií setkáváme s variabilní expresivitou choroby a její neúplnou penetrací v rodokmenu (a aby to nebylo jednoduché, existuje mezi jadernou DNA a mtDNA poměrně těsný vztah a byly pozorovány takové interakce, které v rodokmenu následně vykazují AD či AR dědičnost).

Existují různorodá onemocnění, podmíněná mutací v mtDNA. Uvedu zde několik příkladů:

Leberova hereditární optická neuropatie

Náhlá a rychlá nekróza optického nervu s pregresivní ztrátou zraku vedoucí k úplné slepotě. Projeví se zejména u mužů a to mezi 16 - 25 lety věku.

Hluchota

Pregresivní hluchota, jen málo případů dědičné hluchoty je způsobeno mutací v mtDNA.

NARP

MELAS

Pearsonův syndrom

3. Mikrobiologie

1) Viry

Viry jsou nebuněčné (skupina *subcellulata*) parazitické organismy. Samy o sobě jsou neaktivní a k rozmnožování potřebují hostitelskou buňku (nemají vlastní proteosyntetický aparát). Při tomto "využití" často způsobí smrt napadené buňky. Proto jsou viry označovány jako vnitrobuněční parazité.

Stavba viru je velmi jednoduchá. Základní část (jakousi obdobu buněčného jádra) tvoří nukleová kyselina a okolo ní je bílkovinný obal - **kapsida**. Dále mají některé viry ještě membránový obal (obalené viry), jeden nebo více bičíků (např. některé bakteriofágy) nebo si v kapsidě dokonce přinášejí některé enzymy, potřebné pro rozmnožení viru (např. reverzní transkriptáza u retrovirů). Důležité jsou povrchové glykoproteiny viru, díky kterým se virová částice může vázat na specifické receptory buněk.

Genetická informace u virů

Genetickou informaci u virů tvoří DNA nebo RNA (ale nikdy oba typy naráz). Tato DNA může být jednořetězcová i dvouřetězcová (častěji), lineární i cyklická. I RNA najdeme jako jednořetězcovou nebo dvouřetězcovou molekulu (lineární nebo segmentovaná podoba).

Pokud má virus DNA (**DNA viry**), dochází k přímým transkripčním a translacím virových genů. Má-li jednovláknovou RNA (**RNA viry**), může tato RNA sloužit přímo jako mRNA pro proteosyntézu (**pozitivní RNA viry**), nebo je nejprve zreplikována za vzniku komplementárního RNA vlákna, které teprve plní roli mRNA (**negativní RNA viry**). Přepis je katalyzován RNA dependentní RNA polymerázou, která je do buňky přinesena v kapsidě virionu. Pokud je informace kódována dvouvláknovou RNA, dochází přímo k přepisu do mRNA. DNA viry se většinou replikují v buněčném jádře, zatímco RNA viry volně v cytoplazmě. Translaci zajišťuje vždy proteosyntetický aparát infikované buňky.

Mimo transkripce virových genů si musí virus zajistit replikaci své původní genetické informace, která bude použita při stavbě nových virových částic.

U **reovirů** nacházíme dvouvláknovou RNA. U **poxvirů** pouze jednovláknovou DNA.

Zvláštní skupinou jsou **retroviry**, jejichž RNA je po vpravení do hostitelské buňky nejprve přepsána do DNA. Na tomto procesu se podílí enzym reverzní transkriptáza, který je schopen katalyzovat reverzní transkripci, tj. přepis informace z RNA do DNA. Reverzní transkriptáza, schopná přepsat virovou RNA do DNA se v hostitelské buňce nenachází, a proto musí být přinesena v kapsidě retroviru. Některé retroviry jsou schopny takto vyrobenou DNA dokonce včlenit do genomu buňky, která tak stále produkuje další viry. Pokud se infikovaná buňka dělí, dělí se s ní i virová informace. Retroviry mohou sloužit jako vektory genetické informace v biotechnologiích a uvažuje se o nich i jako vektorech pro genovou terapii. Mezi retroviry patří i virus **HIV** (původce **AIDS**).

Virus hepatitidy B (HBV) je DNA virus se zvláštním replikačním cyklem. Ačkoliv se jedná o DNA virus, je do nově syntetizovaných virových částic uzavírána komplementární sekvence RNA, podle které je teprve později virovým enzymem s aktivitou reverzní transkriptázy vytvořena virová DNA.

Bakteriofágy jsou viry napadající bakterie. Podobně jako retroviry umí integrovat svou genetickou informaci do bakteriálního chromozomu. Umožňují i šíření části bakteriální DNA mezi jednotlivými bakteriemi - tzv. **transdukce**.

Průběh virové infekce

Každý virus má svůj vlastní infekční cyklus, během kterého se pomnoží uvnitř určitých buněk a dále uvolní do okolí. Jedná se však o relativně komplikovaný proces, neboť každý virus má svá specifika, především co se týká vnímavých buněk a průniku do nich, replikace a realizace genetické informace a uvolňování z buňky. Obecně lze ovšem průběh infekce shrnout do několika základních bodů.

- **Průnik do buňky** - viry jsou závislé na specifických receptorech buněk, které jsou důležité pro zprostředkování kontaktu viru s cílovou buňkou. Viry jsou schopny infikovat pouze buňky s příslušným receptorem, což vysvětluje proč určitá virová onemocnění poškozují pouze určité a vždy stejné tkáně (například virus HIV cíleně infikuje T_H lymfocyty - neboť specificky rozeznává jejich CD4 receptor). Samotný průnik viru do buňky probíhá většinou endocytózou (u některých bakteriofágů ale například proniká pouze nukleová kyselina).
- **Zpřístupnění genomu** - po průniku do buňky se virus musí zbavit veškerých obalů okolo své genetické informace. Tím je umožněna transkripce virových genů.
- **Replikace** - nejdříve dochází k transkripcím genů časných virových proteinů (rozdíly mezi templáty transkripce u různých typů virů jsou uvedeny výše). Časně virové proteiny modifikují metabolismus buňky tak, aby usnadnil replikaci viru a zároveň umožňují transkripci genů pozdních virových proteinů. Tyto pozdní proteiny jsou převážně strukturní proteiny kapsidy a virových receptorů, případně i virové enzymy, které budou spolu s nukleovou kyselinou (musí tedy dojít i k replikaci původní virové genetické informace) zabudovány do kapsidy.
- **Únik virových částic z buňky** - po zkompletování virových částic jsou tyto uvolňovány z buňky do okolí, což může vést i k smrti infikované buňky. Obalené viry se při opuštění buňky ještě obalí buněčnou membránou (může jít nejen o cytoplazmatickou membránu, ale třeba i o jadernou membránu nebo membránu endoplazmatického retikula).

Je třeba si uvědomit, že ne vždy vede infekce buňky virem k okamžité replikaci virových částic a lýze buňky. Pokud není buňka pro replikaci viru zcela vhodná, umí se některé DNA viry podobně jako retroviry stát součástí buněčného genomu, případně perzistovat v buňce v podobě samostatných DNA molekul. Tato schopnost virů je využívána v genové terapii, kde viry slouží jako vektory nesoucí příslušnou DNA. O retrovirech v této souvislosti již byla řeč, z DNA virů se využívají **adenoviry**.

Určité viry jsou spojeny se vznikem určitých nádorů. Tyto tzv. onkogenní viry fungují jako biologické kancerogeny (avšak pro vznik nádoru je potřeba i spoluúčast dalších faktorů). Uvedeme si několik klinicky významných případů:

- **Lidský papillomavirus** - je spojený s rizikem karcinomu děložního čípku
- **Virus Ebsteina-Barrové** - je spojený s Burkittovým lymfomem, nazofaryngeálním karcinomem, nebo Hodgkinovými nádory
- **Virus hepatitidy B a hepatitidy C** - jsou spojeny s karcinomem jater

2) Prokaryota a bakterie

Prokaryota obecně

Prokaryotní organismy jsou tvořeny tzv. prokaryotní buňkou, která má mnohem jednodušší stavbu než buňka eukaryotní. Její jedinou membránou je plazmatická membrána, tvořící povrch buňky. Neobsahuje tudíž membránové organelly (vakuoly, mitochondrie, plastidy), jejichž funkce je různě nahrazována (např. metabolické děje volně v cytoplazmě, jádro bez obalu, tylakoidní útvary u fotosyntetizujících prokaryot se tvoří z vychlípenin plazmatické membrány apod.).

Se samotným zařazením těchto organismů bývá někdy potíž, proto se můžete v různé literatuře setkat s určitými rozdíly. Mně osobně se nejvíce líbí toto zařazení: Prokaryota tvoří samostatnou nadříši živých organismů s prokaryotickou buňkou. Mezi ně patří archebakterie, bakterie a sinice.

Právě na bakterie bychom se zde nyní zaměřili.

Bakterie

Co je vlastně na bakteriích tak zajímavého, že se o nich tolik mluví v genetických souvislostech? Bakterie jsou totiž neuvěřitelně vhodné pro genetický výzkum. Rozmnožují se sice nepohlavně, ale velmi rychle se množí a ve velmi krátké době lze vytvořit mnohamiliónové populace, a to přesně za těch podmínek, které jsme chtěli navodit. Je to mnohem jednodušší než u vyšších organismů, u kterých by se navíc neúměrně zvýšily finanční náklady na tyto pokusy. Mnohamilionové populace nám také zvyšují šanci na vznik velmi vzácných mutací, které by se u menších populací téměř jistě neprojevyly. Některé bakteriální enzymy - tzv. **restrikční endonukleázy** umožnily vznik technologiím rekombinantní DNA. Bakteriální populace se používají i pro **klonování DNA**, nebo pro uchovávání **DNA knihoven**.

Bakteriální chromozom a jeho replikace

Chromozom bakterií je tvořen jedinou, kruhovitě sevřenou dvouvláknovou šroubovicí deoxyribonukleové kyseliny (DNA). Tím, že obsahuje pouze jeden chromozom, je bakteriální buňka trvale haploidní. Tato struktura je označována jako **nukleoid** (neplést s nucleus - eukaryota) a funkci tak odpovídá buněčnému jádru. Při replikaci nedochází k meioze ani k mitoze. Chromozom bakterií neobsahuje introny a z funkčního hlediska jej tedy můžeme považovat za jediný exon (introny, exony viz. transkripce). Bakteriální chromosom obsahuje nepostradatelnou genetickou informaci. Jeho replikace probíhá souměrně, symetricky a z jednoho místa (narozdíl od eukaryot, kde se při replikaci tvoří replikačních počátků více). Hlavním enzymem replikace je opět **DNA polymeráza** (u bakterií rozlišujeme polymerázu I, II a III), rozpletení šroubovice i případné nadšroubovice mají na starosti **topoizomerázy** a **helikázy**, vznik RNA primeru nutného pro iniciaci replikace katalyzuje **DNA primáza** a spojení Okazakiho fragmentů na opožděném řetězci provede **DNA ligáza**.

Mimo nukleoid je genetická informace obsažena i jinde. Jde především o plasmidy a genomy bakteriálních virů (bakteriofágů).

Plasmidy

Plasmidy jsou nezávisle se replikující molekuly cirkulární DNA, které mohou existovat mimo chromosom bakterie a mohou nést různé informace. Tyto informace nejsou pro bakterii životně nezbytné, ale mohou ji určitým způsobem zvýhodňovat, například pokud plasmid kóduje rezistenci na některá antibiotika.

Za zmínku stojí především plasmidy F, které geneticky umožňují **konjugaci** - tedy způsob přenosu genetické informace mezi bakteriemi. Bakterie s F plasmidy tvoří tzv. pohlavní pilus, který zprostředkuje kontakt s další bakterií. Mezi oběma bakteriemi vznikne cytoplazmatický můstek, kterým prochází jedno vlákno z dvoušroubovice plasmidu. V buňce donorové i recipientní je pak vlákno dosyntetizováno zpět na dvoušroubovici. Přenos plasmidové DNA je tak stejně jako replikace DNA semikonzervativní proces. Bakterie, která takto získala F plasmid, může nadále konjugaci sama iniciovat. Plasmidy se mohou přenášet i mezi bakteriemi různých druhů, přesto zde však platí různá omezení (grampozitivní bakterie většinou neumí předat plasmidy gramnegativním bakteriím a naopak).

Transdukce a transformace

Transformace - Transformací nazýváme přenos volné DNA do bakteriální buňky. Je to aktivní proces, který je limitovaný schopností bakterie tuto DNA přijímat (membránové receptory, enzymatická výbava), ale i velikostí transformované DNA. Pokud bakterie fragment DNA přijme - může být tento integrován do bakteriálního chromosomu.

Transdukce - Transdukce je přenos genetické informace zprostředkovaný bakteriofágy. Bakteriofágy mají schopnost integrovat svou genetickou informaci do bakteriálního chromosomu. Tato informace může být z chromosomu opětovně vyštěpena a virus opouští buňku. Pokud nedojde k přesnému vyštěpení této DNA - potom s sebou virus přenáší i část původně bakteriální DNA. Jakmile tento virus infikuje další bakterii - přenesou se i tato část genetické informace.

Konjugace, transformace a transdukce jsou děje, při kterých dochází k šíření genetické informace i mimo klasickou cestu - tj. dělení bakteriálních buněk. Tyto děje označujeme jako **parasexuální děje**. Transformace a transdukce mají velké uplatnění při různých biotechnologických metodách.

Transkripce u prokaryot

Mezi nejdůležitější rozdíly oproti transkripci u eukaryot patří absence transkripčního komplexu. Transkripci zde uskutečňuje DNA dependentní RNA polymeráza a její podjednotka - **σ faktor (sigma faktor)**. σ faktor je zodpovědný za rozpoznání **promotoru** (tedy zastává roli eukaryotních transkripčních faktorů). Za ukončení transkripce je opět odpovědná signální sekvence - **terminátor**.

Translace u prokaryot

Stejně jako u eukaryot, probíhá i u bakterií translace na ribozomech. Ty mají však mírně odlišnou stavbu - **velká podjednotka (50S)** je tvořena přibližně 30 proteiny a 2 molekulami rRNA (5S rRNA a 23S rRNA), zatímco malá podjednotka (30S) je tvořena přibližně 20 proteiny a molekulou 16S rRNA.

Transkripty mRNA neprocházejí u prokaryot žádnými dalšími úpravami, ani nemusí překonávat jadernou membránu (která u prokaryot neexistuje). U prokaryot se tak často setkáváme se spřažením dějů transkripce a translace, kdy může být na jednom konci mRNA stále elongována během transkripce, zatímco na druhý - již volný - konec mRNA začínají nasedat ribozomy a je zde zahájena translace. To vede ke značnému urychlení proteosyntézy.

Za iniciaci translace je odpovědná malá podjednotka ribozomu a tRNA nesoucí (formyl)methionin (nasedající na AUG kodon). Prokaryotní mRNA nemá čepičku (CAP), místo toho je však v mRNA před AUG kodonem speciální signální sekvence pro navázání ribozomální podjednotky. Translace tedy může začínat i zprostředkovaně mRNA, z jedné molekuly mRNA tak může vzniknout i několik polypeptidových vláken (umožňuje translaci operonů - viz níže).

Další zvláštností prokaryot jsou tzv. **operony**. Operony jsou geny, které jsou přepisovány do jedné molekuly mRNA. Tyto geny jsou společně regulovány - buď jsou přepisovány všechny - nebo žádný. Nejznámějším příkladem je lac operon u bakterií. Jedná se o tři geny, jejichž exprese umožní bakterii použít laktosu jako zdroj energie v situaci, kdy je jiných energetických zdrojů nedostatek. Naopak - pokud o primární zdroje není nouze - k expresi lac operonu nedochází.

3) Onkogenní viry

Úloha virů v procesu maligní transformace

Z hlediska kancerogeneze (podrobněji popsáno v kapitole Onkogenetika) je třeba viry řadit mezi biologické kancerogeny. Viry jsou nitrobuněční parazité, kteří využívají vnitřního prostředí a organel buňky k replikaci sebe sama. Během virové infekce buňky dojde k proniknutí virové částice (někdy jen některých částí; vždy proniká virová dědičná informace) do buňky, obnažení virové dědičné informace a zahájení exprese této informace. Různé viry mají různé replikační potřeby a mechanismus replikace se u různých virů samozřejmě liší (nejmarkantnější rozdíly jsou např. mezi DNA a RNA viry). V každém případě však virová dědičná informace a virové proteiny představují cizorodé molekuly, které mohou reagovat s buněčnými proteiny i buněčným genomem. Tato interakce může mít různé následky, vzhledem k tématu práce se budeme dále soustředit na mechanismy, kterými virová infekce může spustit proces maligní transformace.

Pro retroviry je typický následující postup při replikaci. Virová RNA je přepsána specifickou RNA-dependentní DNA-polymerázou (reverzní transkriptázou) do DNA (dvouvláknové). Jako ostatní DNA polymerázy potřebuje i reverzní transkriptáza pro syntézu primer - za tímto účelem slouží molekula tRNA, kterou si retrovirus přináší s sebou v kapsidě. Tato dvouvláknová DNA je následně inkorporována do jaderného genomu hostitelské buňky jako tzv. provirus. Následné transkripce virových genů probíhají pouze pomocí enzymů hostitelské buňky.

U modelového retroviru nacházíme 3 geny (nejedná se přímo o pouhé 3 geny, jde spíše o 3 oblasti virového genomu), které označujeme gag, pol a env. Jedná se o základní genetickou informaci, která zajišťuje replikaci virové částice (gag kóduje antigenní proteiny kapsidy, pol kóduje virovou polymerázu - reverzní transkriptázu a gen env především strukturní proteiny kapsidy a virového obalu). Produkty těchto genů transformační účinek nemají.

Proto tyto retroviry mají většinou nízkou transformační aktivitu. Označují se také jako pomalu transformující retroviry. Jejich transformační účinek je způsoben náhodnou integrací proviru do buněčného genomu, kde naruší sekvenci nějakého buněčného protoonkogenu. Vlastní mechanismus transformace je pak způsoben silným virovým promotorem, který aktivuje transkripci (a tím pádem i zvýšenou expresi) příslušného protoonkogenu (který již nyní vystupuje jako onkogen).

Existují však i retroviry, v jejichž genomu se nachází další gen - označovaný jako src. Toto označení pochází od viru Rousova sarkomu, u kterého byl poprvé tento extra gen objeven. Tento gen není důležitý pro vlastní replikaci viru a jeho případné mutace replikační cyklus nikterak neovlivňují. Podobných genů bylo později objeveno mnohem více - viz dále.

Během dalšího výzkumu se zjistilo, že v buněčném genomu (je třeba podotknout, že jde o buňky organismu, na který má příslušný virus primární transformační účinek - u Rousova sarkomu jde například o kuřata) existují homologní úseky k těmto virovým genům. Tak byly objeveny buněčné protoonkogeny (původ těchto genů je opravdu buněčný a do virového genomu se dostává při chybném "vyštěpení z buněčného genomu; jde o podobný mechanismus šíření genetické informace jakým je transdukcí bakteriálních buněk pomocí bakteriofágů). V kontextu virové transformace potom o buněčném protoonkogenu mluvíme jako o c-src (obecně c-onc) a o jeho virové formě jako v-src (obecně v-onc). Jest třeba připomenout, že buněčné (proto)onkogeny jsou standardní součástí buněčného genomu a mají introny (na rozdíl od virových onkogenů, které introny nemají).

Virové onkogeny vykazují určité rozdíly ve svých sekvencích (jak již bylo řečeno, exprese těchto genů neovlivňuje replikační cyklus viru, a tak mutace těchto genů mají minimální selekční tlak; buněčné (proto)onkogeny naopak mají vysoce konzervativní sekvence); často v nich (či v jejich blízkosti) nacházíme variabilní repetitivní sekvence, které se zde vytvořily během formování proviru (tyto sekvence se nacházejí i v jiných genových oblastech proviru). Obecně se tyto sekvence označují jako LTR (long terminal repeats) a označují aktivní promotorová místa s enchancerovou aktivitou.

Virový onkogen integrovaný do buněčného genomu představuje nadbytečnou sekvenci buněčného (proto)onkogenu. Tato nadbytečná kopie by již sama od sebe mohla mít transformační aktivitu, která je ovšem umocněna silným virovým promotorovým místem a případně i mutovanou sekvencí. Retroviry s takovými geny mají značnou transformační aktivitu, proto je označujeme jako rychle (rapidně) transformující retroviry.

Následující seznam obsahuje některé nejznámější (rychle transformující) retroviry a jejich virové onkogeny.

Retroviry a virové onkogeny

Virus	V-onkogen

virus Fujinamiho sarkomu	v-fps
virus Harveyho myšího sarkomu	v-Ha-ras
virus Kirstenova myšího sarkomu	v-Ki-ras
virus Moloneyho myšího sarkomu	v-mos
virus opičího sarkomu	v-sis
virus ptačí erytroblastózy	v- erbA, v-erbB
virus ptačí myelomatózy	v-myc
virus Rousova sarkomu	v-src

Kromě onkogenních retrovirů se setkáváme i s dalšími RNA i DNA viry, které mají vliv na transformaci buňky. Stejně jako u retrovirů se může virová genetická informace integrovat do buněčného genomu a narušit tak sekvenci některého buněčného (proto)onkogenu (tato "taktika" je častá například při virové infekci nepermissivních buněk, ve kterých virus nemůže dokončit svůj replikační cyklus a namísto toho v buňce perzistuje). Dále se zde však uplatňuje řada dalších transformačních mechanismů.

Jmenujme například interakci produktů virových genů s buněčnými tumor-supresorovými geny (respektive jejich produkty), které jsou touto interakcí inaktivovány, čímž se otevírá cesta transformačnímu procesu (uvedme si alespoň inaktivaci p53 a p105-Rb proteinu u infekcí vyvolaných některými variantami lidského papillomaviru). Virové proteiny mohou interagovat i se základními regulačními proteiny buněčného cyklu (cykliny a CD-kinázami); případně mohou přímo ovlivňovat transkripci a tím i expresi určitých buněčných genů (obojí opět ve smyslu maligní transformace). Kromě podpory buněčné proliferace se rovněž setkáváme s antiapoptotickým účinkem.

Dalším, velmi zajímavým mechanismem, kterým některé viry napomáhají transformačnímu procesu, je zvýšení telomerázové aktivity v buňce. Telomery jsou nukleoproteinové terminální části eukaryotních chromozomů, které hrají důležitou roli ve stabilitě příslušných chromozomů, a to především během buněčného cyklu. V průběhu každého dělení buňky se telomery zkracují (dle určitých, dnes většinou přijímaných teorií existuje přímý vztah mezi délkou telomer a stářím buňky; po určitém počtu dělení buňky by se tak buňka již dále nedělila). Enzym telomeráza umožňuje telomery prodlužovat a tím prodlužovat i další schopnost buňky dělit se. Telomerázová aktivita je fyziologicky v buňkách přítomna během prenatálního vývoje a v ojedinělých skupinách buněk (např. buňky hemopoetické řady) i během života jedince. V normálních somatických buňkách je telomerázová aktivita takřka nedetekovatelná.

V posledních třech letech byl objeven vztah mezi zvýšenou aktivitou telomerázy a infekcí lidským papillomavirem (HPV 16), herpesvirem HHV8 nebo EB virem. V genomu těchto virů však nebyla žádná komponenta telomerázy identifikována.

Prvním virem, u kterého byl objeven gen kódující subjednotku telomerázy (vTR), je MD (Marek's disease) virus, který způsobuje maligní T-lymfomy u kuřat.

Na konec ještě poznámka - přestože dnes již existují přesvědčivé důkazy o transformačním účinku některých virů - v konkrétním případě nádorového bujení u člověka nelze prokázat, že přítomnost viru v transformovaných buňkách byla opravdu onou příčinou maligní transformace.

V následující části budou blíže probrány nejvýznamnější onkogenní viry, způsobující maligní transformaci u člověka.

Významné lidské onkogenní viry

Lidský papillomavirus (HPV)

Viry > dsDNA viry > Papillomaviridae

Jedná se o DNA virus vyskytující se v mnoha různých subtypech (identifikováno více než 70 subtypů). Má vysokou afinitu k epitelíím kůže a sliznic a keratinocytům. Kromě toho, že způsobuje bradavice, je papillomavirus spojován s řadou benigních hyperplazií a tumorů a s některými vysoce maligními tumory - jakým je karcinom děložního čípku. Přenáší se tělesným kontaktem nakažených částí těla - nejčastěji při sexuálním styku, přičemž narušení integrity povrchu může přenos znatelně usnadnit.

Transformační aktivita jednotlivých subtypů se tedy liší - s mírnou dysplazií jsou většinou asociovány subtypy 6 a 11 (jsou identifikovány až v 90% případů genitálních bradavic); s těžšími maligními neoplaziemi jsou spojeny subtypy 16, 18, 31 a 33, 35 a 51 (některý z těchto subtypů nacházíme až u 85% případů karcinomu čípku děložního).

Transformační aktivita je pravděpodobně spojena s integrací virového genomu do genomu buňky. Zatímco v benigních hyperplaziích nacházíme virovou genetickou informaci v epizomech mimo buněčný genom, v případě karcinomů je virový genom integrován do buněčného genomu. Tato integrace je náhodná, avšak v případě mnohobuněčného karcinomu nacházíme virus integrován ve všech buňkách na stejném místě, z čehož lze usuzovat, že tato integrace předcházela klonální expanzi původní infikované - a následně transformované buňky.

Vlastní transformační účinek pravděpodobně obstarají produkty virových genů. Integrace virové genetické informace do buněčného genomu otevře čtecí rámec virového genu E2 a způsobí jeho transkripci. To následně způsobí zvýšenou expresi virového E6 a E7 genu. Virový protein E6 ovlivňuje buněčný protein p53, který buď inaktivuje nebo zajistí jeho zvýšenou degradaci, dále aktivuje telomerázu, inaktivuje inhibitor CDK p16(INK4) a interaguje i s dalšími buněčnými proteiny. Virový protein E7 interaguje s buněčným p105-Rb proteinem a narušuje jeho vazbu na E2F transkripční faktor, čímž odblokovává buněčný cyklus. Dále inaktivuje buněčný protein p21 (což vede ke stejnému účinku jako interakce s p105-Rb) a negativně ovlivňuje transkripční aktivitu buněčného TP53 genu. Objevují se přímo i mutace ve struktuře buněčného TP53 genu. Celkový účinek by se dal shrnout pod několik hesel: zvýšení proliferační aktivity, zablokování apoptózy, získání nesmrtelnosti, změny morfologické a zvýšení genetické nestability.

Na druhou stranu je třeba zmínit, že podle současných průzkumů je infekce (i potenciálně nebezpečným subtypem) papillomavirem pouze počátkem celého transformačního procesu a musí se vyskytnout další faktory, které jsou nezbytné pro dokončení transformačního procesu. Mezi tyto faktory patří například kouření, souběžné bakteriální infekce, špatná výživa nebo hormonální změny.

Jelikož karcinom děložního čípku je celosvětově druhou nejčastější (po rakovině prsu) příčinou úmrtí žen na nádorové onemocnění, existuje již delší dobu snaha o vyvinutí účinné očkovací látky proti určitým subtypům papillomaviru. Většina vyvíjených vakcín se snaží svým protektivním účinkem pokrýt zejména nejnebezpečnější subtypy HPV 16 a 18. Využívá se především imunizačního účinku virového L1 proteinu. Ačkoliv klinické studie běží již několik let a v některých zemích (včetně ČR) již byly zahájeny první zkušební programy na očkování obyvatelstva, existuje stále mnoho nezodpovězených otázek. Jelikož největší protektivní účinek lze očekávat u osob, které doposud nepřišly do kontaktu s HPV (který má schopnost v nakažených jedincích perzistovat po dlouhou dobu), provádí se očkování především u mladých dívek (řádově 16 - 26 let), které doposud neměly pohlavní styk (a tudíž se s HPV pravděpodobně doposud nesetkaly; u mladé - sexuálně aktivní dívčí populace lze HPV diagnostikovat až v 30% případů). Existuje možnost rozšířit očkování i na starší ženy, které rovněž dosud neměly pohlavní styk, nebo byly po delší dobu sexuálně zdrženlivé. Nicméně uvažuje se, že některé vakcíny by mohly mít i přímý "terapeutický efekt", kdy by i očkování sexuálně aktivní populace mohlo přinášet přínosné účinky.

Ačkoliv se mluví většinou pouze o očkování žen, u vakcín pokrývajících i spektrum subtypů HPV 6 a 11 (subtypy asociované se vznikem genitálních bradavic) by mělo jistě smysl očkovat i mužskou populaci. Nicméně tato

varianta není zajisté tak aktuální jako očkování žen proti nebezpečným formám, spojených se vznikem karcinomu děložního čípku.

Rovněž je třeba si uvědomit, že karcinom děložního čípku je problémem především rozvojových zemí (odkud pochází až 80% případů tohoto onemocnění), ve kterých je zavádění plošného očkování většinou problematické, nejen z finančních důvodů (a finanční náklady na očkování proti HPV jsou stále poměrně vysoké).

Virus Ebsteina-Barrové (EBV)

Viry > dsDNA viry > Herpesviridae > Gammaherpesvirinae > Lymphocryptovirus

Patří mezi Herpesviry. Je znám jako původce infekční mononukleózy i jako virus spojený se vznikem řady nádorových onemocnění. Jedná se především o Burkittův lymfom, nazofaryngeální karcinom, různé Hodgkinovy i neHodgkinské nádory a snad i o některé nediferencované karcinomy žaludku.

Největší afinitu má EB virus k epiteliálním buňkám orofaryngu a B lymfocytům (méně pak i k T lymfocytům a NK buňkám). Do B lymfocytů proniká virus díky povrchové molekule CD21; replikuje se a způsobuje latentní infekci, kdy ve formě epizomů přetrvává v B lymfocytech (podle odhadů má tuto latentní infekci až 90% populace v ČR).

Transformační účinek EB viru je komplexní a není přímo spojený s inaktivací tumor-supresorových genů jako transformace HPV. Zahrnuje interakci řady virových proteinů s buněčnými molekulami, které vedou k immortalizaci a k transformaci infikovaných buněk.

Jmenujme alespoň aktivaci cyklinu D2 (člen rodiny SRC proteinů, aktivuje přechod buňky z G0 do G1 fáze), aktivaci antiapoptotického bcl-2 proteinu a aktivaci některých růstových faktorů (IL-6 a 10). Podobně jako u infekcí HPV nestačí samotná infekce k dokončení maligní transformace infikované buňky.

Burkittův lymfom je nádor z B lymfocytů, vyskytující se nejčastěji ve střední Africe a na Nové Guinei, kde tvoří nejčastější dětské nádorové onemocnění. Jedná se o první lidské nádorové onemocnění, u kterého byla prokázána souvislost s virovou infekcí.

Nacházíme zde jednu z nejznámějších chromozomových přestaveb u nádorových onemocnění a to sice translokaci mezi osmým a čtrnáctým chromozomem t(8;14). Při bližším průzkumu zjistíme, že při této translokaci je buněčný protoonkogen c-myc z 8. chromozomu přemístěn na chromozom č. 14, kde se dostává pod vliv aktivního promotoru genu pro těžký imunoglobulinový řetězec. Tato varianta chromozomální aberace se nachází přibližně v 75% případů; u zbylých přestaveb nacházíme zejména translokace t(2;8) a t(8;22), kde je c-myc přemístěn k promotoru genu pro kappa (respektive lambda) lehký řetězec imunoglobulinu.

Endemický i sporadický (mimo Afriku se vyskytující) Burkittův lymfom je často spojován s některou z těchto chromozomálních přestaveb. Až u 90% případů endemické varianty rovněž nacházíme genom EB viru, naopak u sporadického Burkittova lymfomu je genom EB viru identifikován sotva ve 20% případů.

Zdá se, že existuje spojitost mezi výskytem malárie v endemických oblastech střední Afriky a zvýšenou transformační schopností EBV infekce. Uvažuje se o určité "vyčerpanosti" imunitního systému malárií, díky které dostávají nesmrtelné a proliferačně aktivnější lymfocyty selekční výhodu.

V případě nazofaryngeálního karcinomu nacházíme genom EB viru údajně ve 100% případů. Tato infekce je endemická v oblasti jižní Číny a v některých afrických a arktických oblastech (sporadicky se vyskytuje celosvětově).

Viry hepatitidy B a C (HBV, HCV)

Viry > dsDNA Retroviry > Hepadnaviridae > Orthohepadnavirus (HBV)

Viry > ssRNA+ Viry > Flaviviridae > Hepacivirus (HCV)

Ačkoliv jsou taxonomicky odlišné (HBV = DNA virus; HCV = RNA virus), jelikož oba způsobují určitou formu virové hepatitidy a u obou je uvažována spojitost se vznikem karcinomu jater, budou popsány spolu.

U HBV existuje mnohem silnější podezření z transformačního účinku infekce než u HCV. Úloha HBV v procesu maligní transformace není stále zcela zřejmá, nicméně genom viru je izolovatelný z nádorových buněk téměř ve všech případech karcinomu jater spojeného s HBV infekcí. Podobně jako u infekcí HPV - i zde nacházíme genom viru integrovaný v genomu buněk (na stejném místě, což odpovídá klonální expanzi transformované buňky).

Dále jmenujme účinek virového Hbx proteinu, který ovlivňuje transkripci určitých buněčných genů (většinou jde o geny, jejichž produkty podporují buněčnou proliferaci) a může interagovat i s p53 proteinem. Transformace HBV virem je však pravděpodobně nepřímá a celkově multifaktoriální.

V případě HCV je transformační účinek podpořen pouze výsledky epidemiologických studií, z transformovaných buněk jeho genom izolován nebyl. U virových hepatitid typu C je obecně zvýšená proliferační-regenerační aktivita jaterních buněk, což je často dáváno do spojitosti s možným transformačním účinkem HCV infekce.

Pravděpodobně se zde rovněž uplatňuje multifaktoriální vliv - často zmiňovaný je například synergizmus HBV - HBC - aflatoxiny.

V případě HBV je třeba zmínit se o existenci účinné očkovací látky, která spolehlivě chrání před HBV infekcí a tím i před karcinomem jater touto infekcí způsobeným. Jedná se o první "protinádorovou" očkovací látku na světě.

Virus lidské T - buněčné leukémie (HTLV-1, HTLV-2)

Viry > ssRNA Retroviry > Retroviridae > Orthoretrovirinae > Deltaretrovirus

V obecné části byla uvedena řada retrovirů s prokazatelným onkogenním účinkem, ovšem pouze virus lidské T - buněčné leukémie (lymfomu) je spojen s častějším transformačním účinkem u lidí. Jako první byla identifikována HTLV-1 forma z kožního lymfomu; HTLV-2 forma byla identifikována později v Japonsku z vlasatobuněčné leukémie. Endemickými místy infekce je oblast jižního Japonska, dále karibská oblast a některé oblasti Afriky. Ve zbylých oblastech světa je výskyt sporadický (v Evropě byla infekce diagnostikována pouze u imigrantů).

Jedná se o klasický retrovirus, jehož transformační aktivita je pravděpodobně založena na účincích virového TAX proteinu (produkt virového TAX genu). Mezi tyto účinky patří inaktivace p16 proteinu, aktivace D2 cyklinu, zvýšení exprese některých buněčných genů podporujících proliferaci a snížení stability buněčného genomu. Tento retrovirus tedy neobsahuje onkogen, nýbrž podobně jako u DNA virů je onkogenní aktivita viru způsobena účinkem virového proteinu.

Lidský herpes virus 8 = virus Kaposiho sarkomu (KSHV)

Viry > dsDNA viry > Herpesviridae > Gammaherpesvirinae > Rhadinovirus

Jedná se o herpesvirus, který je asociovaný s výskytem Kaposiho sarkomu zejména u jedinců s imunosupresivní léčbou nebo imunodeficitem (v popředí s AIDS). Existují však i endemické (v Africe) či sporadické formy Kaposiho sarkomu.

Ačkoliv je genom KSHV izolovatelný téměř ze všech nádorových buněk, existuje stále mnoho nezodpovězených otázek ohledně transformačních mechanismů. Je téměř jisté, že infekce KSHV je sama o sobě nedostatečná k transformaci buňky a je třeba dalších kofaktorů.

Zdá se, že takovým kofaktorem může být například imunosuprese u HIV infekce, či samotná infekce HIV (potom se ovšem nabízí otázka, co je oním kofaktorem u HIV negativních jedinců s Kaposiho sarkomem).

Jako možné transformační mechanismy KSHV je uváděn homolog cyklinu D virového původu a různé inaktivátory p53 proteinu.

Další onkogenní viry

V této kapitole uvedu několik virů, u nichž není přímý onkogenní účinek prokázán, uvádějí se však jako "kofaktory" transformační aktivity jiných virů. Nicméně i klasifikace viru jako nádorového kofaktoru je problematická, neboť se většinou jedná o viry, u kterých nelze přímý onkogenní účinek prokázat a jsou uváděny spíše z hlediska "setrvačnosti" některých autorů, i když přímý onkogenní účinek je již přisuzován jinému viru.

Na pomyslných stranách hranice mezi onkogenními viry a jejich kofaktory tvoří HCV, u nějž se nyní autoři přiklání k přímému účinku a HIV, u kterého se spíše počítá s nepřímým účinkem navozením imunodeficitu - viz dále.

Na závěr této kapitoly se krátce zmíním i o problematice zvířecích onkogenních virů.

Virus lidského imunodeficitu (HIV)

Viry > ssRNA Retroviry > Retroviridae > Orthoretrovirinae > Lentivirus

Tento retrovirus je znám jako původce AIDS u lidí. Tento syndrom je spojený i s výskytem určitých nádorových onemocnění (jde například o Kaposiho sarkom, některé ne Hodgkinské B-lymfomy a karcinomy děložního čípku či rekta).

Přesto se zdá, že přímý onkogenní potenciál HIV nemá a za transformaci jsou odpovědné jiné viry (KSHV, EBV respektive HPV), přičemž HIV pouze "usnadňuje práci" navozením imunodeficitu.

Virus Herpes simplex typ II (HSV-2)

Viry > dsDNA Viry > Herpesviridae > Alphaherpesvirinae > Simplexvirus

U tohoto viru se předpokládala asociace s karcinomem děložního čípku, kde měl působit jako kofaktor HPV. Pravděpodobně je to však pouze HPV, který má přímou transformační aktivitu.

Lidský Cytomegalovirus (HCMV)

Viry > dsDNA Viry > Herpesviridae > Betaherpesvirinae

Zde se předpokládá pomocný účinek při vzniku Kaposiho sarkomu (a rovněž karcinomu čípku děložního). Momentálně se hlavní úloha při vzniku Kaposiho sarkomu přisuzuje KSHV.

Onkogenní viry u zvířat

Virů s prokazatelným onkogenním účinkem je celá řada, tato práce je však psána s ohledem na lékařskou mikrobiologii, a proto zde byly rozebrány pouze nejvýznamnější viry z hlediska lidské medicíny.

Pokud budeme zjišťovat i onkogenní potenciál některých virů na zvířecích modelech, dojdeme k dalším rozsáhlým objevům a závěrům.

Pro zajímavost se odvolávám na výčet rychle transformujících retrovirů v obecné části této práce, dále vzpomeňme různé adenoviry, které mají u zvířat vysokou transformační aktivitu. Onkogenně u zvířat působí i některé polyomaviry, včetně lidského polyomaviru JC.

4. Molekulární genetika

1) Nukleové kyseliny

Nukleové kyseliny jsou nositelkami dědičné informace. Díky nim dochází k přenosu dědičných znaků na potomstvo a k evoluci. Jejich nejdůležitější vlastností je schopnost replikace.

Nukleové kyseliny se skládají z mnoha stavebních jednotek - **nukleotidů**, patří tedy mezi tzv. **biopolymery**. Nukleotidy se skládají z pětiuhlíkatého cukru (pentózy), zbytku kys. fosforečné (H_3PO_4) a dusíkatých bází. Na cukr se váže v pozici 5' onen zbytek kys. fosforečné (esterová vazba) a v pozici 1' N-báze (N-glykosidická vazba). V poloze 3' je pak pentóza připojena přes sousední zbytek kyseliny k sousední pentóze. Vzniká polynukleotidové vlákno.

O konkrétních zástupkyních nukleových kyselin, tedy o **DNA** a **RNA** se více dočtete v jednotlivých kapitolách.

2) DNA

DNA, neboli kyselina deoxyribonukleová. Její molekula je tvořena dvěma polynukleotidovými řetězci (přitom jeden řetězec má směr fosfodiesterových vazeb 5' » 3' a druhý 3' » 5' => hovoříme o 3' případně 5' konci). Její cukerná složka je 5C cukr **2-deoxy-D-ribóza** (oproti normální ribóze jí v poloze 2' chybí kyslík). Jakožto dusíkaté báze jsou zastoupeny deriváty purinu (**Adenin, Guanin**) a pyrimidinu (**Cytosin, Thymin**). Mezi N-bázemi protějších vláken dochází k vazebným interakcím. Mluvíme zde o zákonu komplementarity, Spolu se váží vždy jen 2 specifické N-báze (vždy 1 báze pyrimidinová a 1 purinová) a to sice Adenin a Thymin (spojeny 2 vodíkovými můstky) a Cytosinem a Guaninem (3 vodíkové můstky). Z toho plyne, že platí tato rovnice $(A+C)/(T+G)=1$, naopak $(A+T)/(C+G)$ bývá asi 0,25 - 0,75. Mezi sousedními bázemi navíc působí van der Waalsovy síly (pomáhají k celkové stabilitě molekuly).

Obě polynukleotidová vlákna (primární struktura DNA) vytváří (nejčastěji) pravotočivou šroubovici označovanou jako double helix (sekundární struktura DNA).

Jako **denaturaci** DNA označujeme jev, kdy dojde (např. zvýšenou teplotou, extrémním pH...) k oddělení obou vláken od sebe. Nejde přitom o permanentní oddělení - vlákna se mohou opět připojit k sobě (nebo se mohou spojit s jiným komplementárním vláknem) - to označujeme jako **hybridizaci**. Hybridizace nachází využití v metodách molekulárně genetické diagnózy nebo metodách rekombinantní DNA.

V eukaryotní buňce existuje ještě nadstavbová struktura DNA v komplexu s bílkoviny - vizte kapitolu o stavbě chromozomů.

Replikace DNA

Jak již bylo řečeno, právě replikace DNA je schopnost zajišťující dědičnost. Pro rozmnožování je nezbytné, aby potomek dostal plnohodnotnou genetickou informaci. Při replikaci vzniknou z jedné mateřské molekuly DNA dvě naprosto stejné DNA dceřiné (každá s jedním vláknem z původní DNA). Klíčovou roli při replikaci DNA mají enzymy (DNA polymerázy). U člověka se vyskytuje 5 druhů enzymů označované jako DNA dependentní DNA polymerázy. Při své práci vždy postupují od konce 5' ke konci 3'. Aby DNA polymeráza mohla zahájit připojování nukleotidů nového vlákna DNA, musí být vodíkové můstky = vazby mezi oběma vlákny nejprve narušeny (využití DNA dependentní RNA polymerázy). Místa, kde tato narušení vzniknou, jsou označovány jako replikační počátky. U bakterií bychom takovýto počátek našli pouze jeden, zatímco mnohem větší lidská DNA vytváří takovýchto

počátků okolo 10 000. To jí umožňuje zreplikovat se také v poměrně krátké době. Poté co jsou k předlohovým (templátovým) vláknům dosyntetizována vlákna nová, je replikace DNA dokončena. DNA polymeráza udělá 1 chybu asi na 10^7 zreplikovaných bází (teoreticky mohou vznikat i dvojice G-T a A-C, jsou ovšem mnohem méně stabilní), navíc má sama korekční funkci. Replikace DNA je semikonzervativní děj, neboť v obou nově vzniklých DNA je jedno vlákno z původní dvoušroubovice.

V eukaryotních buňkách rozlišujeme několik typů DNA polymeráz - (α , β , γ , δ). Vzhledem k tomu, že polymerázová aktivita je pouze ve směru od 5' konce ke 3' konci (je důležité si uvědomit, že polymeráza čte matrici - vlákno DNA - ve směru **3' → 5'**, zatímco syntéza RNA řetězce probíhá ve směru **5' → 3'**) - může tímto směrem probíhat replikace pouze na jednom vlákně. Na tomto vlákně probíhá replikace kontinuálně a označujeme je jako **vedoucí řetězec**. Na druhém řetězci je situace složitější. Replikace zde probíhá proti směru rozplétání dvoušroubovice a to **diskontinuálně** po menších úsecích. Tyto části se nazývají **Okazakiho fragmenty** a celý řetěz nazýváme **opoždující se řetězec**. Takto vzniklé fragmenty napojí k sobě do jednolitého vlákna enzym **DNA ligáza**. Posledním enzymem, který je nezbytný pro replikaci je **DNA primáza**. DNA polymeráza totiž neumí zahájit polymeraci od jediného nukleotidu - proto zde nastupuje právě DNA primáza (což je vlastně DNA dependentní RNA polymeráza), která nasyntetizuje krátký úsek RNA - tzv. primer - od kterého už může DNA polymeráza zahájit polymeraci. Takovýto primer vznikne nejen na vedoucím řetězci, ale musí vzniknout i před každým Okazakiho fragmentem na opoždujícím se řetězci. Primery jsou posléze vyštěpeny - chybějící úseky dosyntetizovány a vlákno je spojeno DNA ligázou.

3) RNA

RNA = kyselina ribonukleová. Její molekula je tvořena jen jedním (není zcela pravda, existují i dvouřetězcové RNA, např. u některých virů) polynukleotidovým vláknem. Sacharidovou složku tvoří 5C cukr **D-ribóza**, N-báze tvoří Adenin, Cytosin, Guanin a **Uracil** (zařazován místo Thyminu, pyrimidinová báze). RNA (díky OH skupinám v poloze 2' i 3') může sama vykonávat i některé enzymatické funkce (štěpení esterové vazby, katalýza polymerace ...). Také díky tomu se usuzuje, že u prvních praorganismů byla nositelkou genetické informace právě RNA. RNA je narozdíl od DNA nestabilní v alkalickém prostředí.

Vyskytují se 3 základní typy RNA:

mRNA: messenger RNA neboli informační. Přenáší informaci o pořadí aminokyselin z jádra k místu proteosyntézy.

tRNA: transferová RNA. Přináší aminokyseliny na proteosyntetický aparát buňky. Funkčně se na nich rozlišuje několik míst, nejdůležitější je antikodon se specifickou trojicí bází (různým antikodonům odpovídají různé aminokyseliny) a místo kde je samotná aminokyselina navázána.

rRNA: ribozomální RNA. Tvoří stavební složku ribozomálních podjednotek. Vyskytuje se několik velikostně odlišných typů. Více viz kapitoly eukaryota, prokaryota.

4) Transkripce

Transkripce rozumíme přepis genetické informace z DNA do mRNA. Jedná se v drtivé většině o informaci z jednoho genu, sloužící k tvorbě 1 specifické bílkoviny, kterou buňka zrovna potřebuje. Poté, co je informace přepsána, je díky mRNA přenesena na proteosyntetický aparát, kde se podle opsaného pořadí zahájí proteosyntéza.

Iniciace a přepis

Transkripce je opět enzymatický proces, tentokrát je jako enzym využívána **DNA dependentní RNA-polymeráza** (U eukaryot rozeznáváme typ I, II a III). Prozkoumávání řetězce má opět směr od konce 5' ke konci 3'. Rna-polymeráza hledá v DNA startovní sekvenci nukleotidů, tzv. **promotor** (jde o

některé specifické sekvence nukleotidů, umístěných v řetězci několik desítek bází před začátkem transkripce - např. TATA [sekvence opakujících se A a T] box nebo CAT [CCAAT] box). Ke správnému navázání polymerázy je nutná přítomnost **transkripčních faktorů**, které jakožto další makromolekuly, vytvoří s polymerázou trojrozměrný komplex, který pak zajistí správné nasazení polymerázy na sekvenci, od které má být zahájena transkripce.

Ačkoli je molekula DNA dvouřetězcová, je promotor asymetrický, z čehož plyne, že dochází vždy k přepisu jen z jednoho vlákna (tzv. vlákno pracovní, negativní či antikódující), zatímco druhé vlákno pro transkripci tohoto genu význam nemá (tzv. vlákno paměťové, kódující či pozitivní). Druhé vlákno má samozřejmě zase smysl při transkripci jiných genů. Po rozpoznání promotoru a rozpojování vodíkových můstků se podle komplementarity bází k pracovnímu vláknu DNA nasyntetizuje RNA vlákno (pozor: místo T je U). Jakmile polymeráza narazí na stop sekvenci v řetězci (terminátor - specifická sekvence DNA), dojde k zastavení přepisu a uvolněná RNA může putovat dále.

Regulace transkripce

Ačkoli mají buňky vícebuněčného organismu stejnou genetickou informaci - dochází ke tvorbě určitých specifických proteinů pouze v některých tkáních. Tvorba těchto produktů tedy musí být "zapnuta" pouze někde. Pro regulaci tvorby určitých produktů byl vyvinut mechanismus **regulace exprese**. Tato regulace může být na úrovni transkripce, translace i sestřihových úprav.

Co se týče regulace transkripce u eukaryot - je ovlivněna dvěma typy molekul, které se vážají na specifické úseky DNA (často několik tisíc bází před regulovaným genem) a podílí se svojí strukturou na vzniku transkripčního komplexu s RNA polymerázou (nebo naopak znemožňují jeho vznik). Podle funkce dělíme tyto faktory na **enchancery** (podporují transkripci) a **silencery** (utlumují transkripci).

Posttranskripční úpravy

U bakterií a prokaryot obecně k žádným posttranskripčním úpravám mRNA nedochází. Zato u eukaryotních buněk je situace značně složitější. Primární transkript prochází tzv. **sestřihem**, kdy jsou z něj odstraněny nekódující sekvence. Lasovitým stáčením primárního transkriptu dochází k odstřižení **intronů** (části řetězce nekódující žádné aminokyseliny). Kódující úseky (**exony**) jsou pak pospojovány do finálního řetězce. Opět se zde uplatňují specifické sekvence, které označují hranice mezi introny a exony. Odstřižené introny jsou ihned odbourávány. Primární transkript je na 5' konci vybaven tzv. čepičkou vytvořenou zvláštním nukleotidem (7-methylguanosin, připojený třemi zbytky kyseliny fosforečné) a na opačném 3' konci je vybaven tzv. polyadenilovým koncem (několik set adeninových zbytků).

5) Translace

Translace je vlastně přenos genetického kódu mRNA do pořadí aminokyselin v polypeptidovém vláknu. K proteosyntéze (tj. biosyntéze bílkovin) dochází na ribozómech (stavba eukaryotního ribozomu - vizte ribozomy). Kromě mRNA vzniklých transkripcí jsou zapotřebí i tRNA z cytoplazmy. Základní popis platí pro eukaryotní buňky, zvláštnosti prokaryot a virů jsou probrány v příslušných kapitolách.

Genetický kód

Po řadě pokusů bylo dokázáno, že genetický kód je **tripletový**, to znamená, že každá trojice bází kóduje jednu aminokyselinu. Tyto trojice na mRNA se nazývají **kodony**. Celkem jsou 4 báze, takže pro kombinaci máme celkem $4 \times 4 \times 4 = 64$ možností. Důležitý je triplet **AUG**, neboť jde o triplet iniciační (zároveň kóduje methionin) a triplet **UAA**, **UAG** a **UGA**, které jsou označovány jako tripletety terminační, neboli beze smyslu. Genetický kód je degenerovaný, protože pro asi 20 aminokyselin existuje mnohem více kódujících kodonů, z toho plyne, že některé aminokyseliny jsou kódovány více tripletety. Na druhou stranu tento genetický kód je platný pro všechny organismy na Zemi (existují ale i

výjimky - např. u genetického kódu lidských mitochondrií). Tato degenerace má své výhody - například pokud dojde k bodové mutaci (substituci) na třetí pozici kodonu - je ve většině případů zařazena stejná aminokyselina.

Tabulka genetického kódu

Tabulka určuje druh aminokyseliny, který je při proteosyntéze přinesen pomocí tRNA na ribozóm. Určující je pořadí nukleotidů v tripletu na mRNA, každému odpovídá nějaká aminokyselina. Některé aminokyseliny jsou kódovány více než jednou možností. Speciální význam mají triplety AUG, který zahajuje proteosyntézu a triplety UAA, UAG a UGA, které ji ukončují.

Obrázek 1 - Tabulka genetického kódu

	U		C		A		G	
U	UUU	fenylalanin	UCU	serin	UAU	tyrosin	UGU	cystein
	UUC	fenylalanin	UCC	serin	UAC	tyrosin	UGC	cystein
	UUA	leucin	UCA	serin	UAA	stop	UGA	stop
	UUG	leucin	UCG	serin	UAG	stop	UGG	tryptofan
C	CUU	leucin	CCU	prolin	CAU	histidin	CGU	arginin
	CUC	leucin	CCC	prolin	CAC	histidin	CGC	arginin
	CUA	leucin	CCA	prolin	CAA	glutamin	CGA	arginin
	CUG	leucin	CCG	prolin	CAG	glutamin	CGG	arginin
A	AUU	izoleucin	ACU	treonin	AAU	asparagin	AGU	serin
	AUC	izoleucin	ACC	treonin	AAC	asparagin	AGC	serin
	AUA	izoleucin	ACA	treonin	AAA	lysin	AGA	arginin
	AUG	metionin	ACG	treonin	AAG	lysin	AGG	arginin
G	GUU	valin	GCU	alanin	GAU	kys.	GGU	glycin
	GUC	valin	GCC	alanin	GAC	asparagová	GGC	glycin
	GUA	valin	GCA	alanin	GAA	kys.	GGA	glycin
	GUG	valin	GCG	alanin	GAG	glutamová	GGG	glycin

Proteosyntéza

Proteosyntéza je zahájena iniciační tRNA, to jest tou, která nese methionin. Ta se naváže na malou ribozomální podjednotku a začne pomalu projíždět molekulu mRNA od 5' konce. Jakmile objeví iniciační sekvenci AUG - naváže se a translace začíná. Na další sekvence (kodony) nasedají další tRNA podle komplementarity bází (systém kodon na mRNA - antikodon na tRNA). Mezi přinesenými aminokyselinami vznikají peptidové vazby. Za tuto část translace - elongaci - je zodpovědná zejména velká ribozomální podjednotka. Jakmile zbývá již jen kodon beze smyslu (terminační) je proteosyntéza ukončena a vzniklé polypeptidové vlákno může být dále v buňce upravováno na požadovanou bílkovinu.

Drsné endoplazmatické retikulum (s ribozomy) je specializováno pro tvorbu transmembránových proteinů (různé iontové kanály či receptory) nebo proteinů určených "k zabalení", které se zabudují do

vnitřku membrán (sekreční granula, lyzosomy). Naopak volné ribozomy se podílejí především na tvorbě cytoplazmatických proteinů (enzymy, atd.).

Posttranslační úpravy

Vzniklé polypeptidové vlákno je v buňce samozřejmě dále upravováno, ať již v endoplazmatickém retikulu nebo v Golgiho systému. V endoplazmatickém retikulu je to již výše zmíněné zabudovávání neno "balení" do membrán a zahájení procesu glykosylace. Velké množství proteinů není ve své finalní podobě čistými proteiny, ale tzv. **glykoproteiny**, což jsou proteiny s navázanými řetězci oligosacharidů (vícečetných cukrů). To je velmi důležité pro finální 3D strukturu výsledného produktu. V Golgiho aparátu je proces glykosylace jemnějšími prostředky dokončen. Velké množství produktů proteinové povahy nemá biologickou aktivitu, dokud z něj nejsou odštěpeny určité části řetězce. To se může dít extra- i intracelulárně. Příkladem budiž některé trávicí enzymy, které jsou buňkami produkovány v neaktivní formě a jsou aktivovány až v patřičné části trávicího traktu, kde již jejich účinek neohrožuje okolní tkáň.

6) Enzymy v genetice a molekulární biologii

Enzymy jsou biokatalyzátory a jako takové katalyzují obrovské množství biochemických reakcí. Z hlediska genetiky jsou zajímavé zejména ty enzymy, které katalyzují takové procesy jako je replikace DNA nebo transkripce z DNA do RNA. Z hlediska genetiky klinické jsou potom zajímavé enzymy, jejichž deficit, způsobený mutací v genetické informaci jedince, je odpovědný za vznik některých dědičných onemocnění. Uvedený seznam není rozhodně vyčerpávající a je pouze ilustrační.

Adenosindeamináza

Katalyzuje přeměnu z adenosinu na inosin. Její deficit se projevuje jako těžká kombinovaná imunodeficiencie (**SCID** - Severe Combined ImunoDeficiency) s úbytkem T- i B-lymfocytů.

Aminoacyl-tRNA-syntetáza

Katalyzuje připojení příslušné aminokyseliny na 3' konec příslušné tRNA (s příslušným antikodonem).

A-transferáza

Účastní se syntézy aglutinogenu A (krevní skupiny). Připojuje N-acetyl-galaktosamin na antigen H.

B-transferáza

Účastní se syntézy aglutinogenu B (krevní skupiny). Připojuje D-galaktosu na antigen H.

DNA-dependentní DNA-polymerázy

Skupina enzymů, které katalyzují polymeraci DNA řetězce, přičemž jako matrice je využíváno vlákno DNA. Během polymerace postupují pouze od 5' konce ke 3' konci (matrice je čtena opačným směrem) a potřebují mít volný 3' konec předchozího nukleotidu s OH skupinou. Nejdůležitější funkcí je tedy replikace DNA. Některé typy mají i 5' -> 3' exonukleázovou aktivitu. Rozlišujeme některé prokaryotické a eukaryotické DNA-dependentní DNA-polymerázy

Prokaryotické DNA-polymerázy

Typ	Funkce
-----	--------

polymerázy	
Polymeráza I	Vyštěpení RNA primerů na opoždujícím se řetězci a dosyntetizování vlákn, reparační funkce
Polymeráza II	?? Reparační funkce ??
Polymeráza III	Hlavní replikační enzym prokaryot

Eukaryotické DNA-polymerázy

Typ polymerázy	Funkce
Polymeráza α	Replikace na opoždujícím se řetězci
Polymeráza β	Reparační funkce
Polymeráza γ	Replikace mitochondriální DNA
Polymeráza δ	Replikace na vedoucím řetězci

DNA-dependentní RNA-polymerázy

Skupina enzymů, které katalyzují transkripci, tedy přepis z DNA do RNA. Během polymerace postupují pouze od 5' konce ke 3' konci (matrice je čtena opačným směrem). Nevyžadují volný 3' konec.

U prokaryot nacházíme pouze **jeden typ** DNA-dependentní RNA-polymerázy. U eukaryot nacházíme typy tři, které odlišujeme na základě produktů transkripce.

Eukaryotické RNA-polymerázy

Typ polymerázy	Produkt transkripce
Polymeráza I	45S pre-RNA (Základ pro 5.8S, 18S a 28S rRNA)
Polymeráza II	pre-mRNA (všechny)
Polymeráza III	snRNA, 5S rRNA, 7S RNA, pre-tRNA (všechny)

DNA-fotolyáza

Účastní se reparační DNA tím, že vyštěpuje nukleotidové dimery (např. dimery thyminu). Její aktivita je závislá na světelné energii.

Fenylalaninhydroxyláza

Katalyzuje přeměnu fenylalaninu na tyrosin. Deficit tohoto enzymu podmiňuje **fenylketonurii** (viz genetické choroby).

Fukosyltransferáza

Účastní se syntézy antigenu H tím, že přenáší L-fukosu na konec 4-cukerného řetězce. Antigen H je prekurzorem pro vznik antigenů A a B (viz krevní skupiny).

Galaktosa-1-fosfáturidylyltransferáza

Enzym se účastní metabolismu galaktosy (obousměrná přeměna glukosy-1-fosfátu a galaktosy-1-fosfátu). Jeho deficiencie je příčinou **galaktosemie**.

Glukosa-6-fosfátdehydrogen

Je hlavním enzymem pentosafosfátové metabolické dráhy glukosy. Její deficiencie se projevuje hemolýzou, zejména po podání určitých léčiv (sulfonamidy, antimalarika) nebo favových bobů (**favismus**).

Helikáza

Helikázy jsou schopny rozplétat dvoušroubovici DNA a zpřístupnit tak jednotlivá vlákna dalším enzymům (účastní se tak například replikace DNA).

Ligáza

Ligáza je enzym napojující nespojené konce nukleové kyseliny (účastní se tak například spojování Okazakiho fragmentů; velký význam má v genetickém inženýrství pro konstrukci rekombinantní DNA). Existují DNA- i RNA-ligasy.

Methylentetrahydrofolátreduktáza

Enzym známý pod zkratkou **MTHFR** se účastní metabolismu kyseliny listové a přeměny homocysteinu na methionin. U matek s deficitem tohoto enzymu je vyšší riziko narození dítěte s defektem neurální trubice (**NTD**).

Nukleázy

Jde o enzymy štěpící nukleové kyseliny. Může jít o enzymy s degradační funkcí (trávicí) nebo funkcí reparační (vyštěpování chybných úseků DNA). Podle substrátu rozlišujeme **ribonukleázy** (RNA) a **deoxyribonukleázy** (DNA), podle způsobu štěpení pak **exonukleázy** a **endonukleázy**. Zvláštní skupinou jsou restriční endonukleázy - viz níže.

Peptidyltransferázy

Katalyzuje vznik peptidové vazby mezi dvěma aminokyselinami během tvorby polypeptidového řetězce na ribozomu.

PolyA-polymeráza

Připojuje okolo 200 adeninových nukleotidů (poly-A konec) na 3' konec mRNA u eukaryot.

Primáza

Je to vlastně DNA-dependentní RNA-polymeráza. Jako taková je schopná bez volného 3' konce nasyntetizovat krátký úsek RNA (primer) a od jeho 3' konce již může polymeraci provádět příslušná DNA-dependentní DNA-polymeráza. Uplatňuje se při replikaci DNA.

Restriční endonukleázy

Původem bakteriální enzymy mají dnes největší využití v genetickém inženýrství. Štěpí DNA v určitých specifických sekvencích (často jde o palindromické sekvence) a u bakterií slouží jako ochrana před cizorodou DNA.

Reverzní transkriptáza

Je to RNA-dependentní DNA polymeráza. Umožňuje tedy přepis z RNA do DNA. Jde o enzym typický pro **retroviry**. Jako DNA-polymeráza potřebuje pro zahájení primer jako zdroj volného 3' konce.

RNA-dependentní RNA-polymeráza

Jde o enzym negativních RNA virů. Provádí přepis z virové RNA do mRNA, která je využitelná pro syntézu virových proteinů.

Topoizomerázy

Tyto enzymy pracují s nadšroubovicí DNA, kterou ruší nebo znovu vytvářejí. Za tímto účelem jsou schopny rozpojovat a znovu napojovat vlákna DNA.

Tyrozináza

Katalyzuje přeměnu tyrozinu na Dopa. Z této metabolické cesty vzniká melanin (pigment), proto deficience tohoto enzymu způsobuje jednu z forem **albinismu**.

Ribozymy

Bylo zjištěno, že katalytickou (lépe řečeno autokatalytickou) funkci má i RNA. Taková RNA se označuje jako **ribozym**. Tento objev je významný z evolučního hlediska, neboť nabízí způsob, jakým docházelo ke katalýze nejdůležitějších procesů nukleových kyselin bez komplexnějších proteinových enzymů, které musely vzniknout až později. Proto se dnes předpokládá, že současnému světu DNA organismů předcházela svět jednoduchých RNA organismů.

7) *Mutace*

Mutace jsou **změny v genotypu** organismu oproti normálu. Velká většina mutací vzniká náhodnými mechanismy, cílená mutagenese se používá téměř výhradně pro vědecké účely.

Typy mutací

Mutace je možné rozdělit hned z několika úhlů pohledu.

- Podle okolností jejich vzniku dělíme mutace na **spontánní** a **indukované**.
- Podle úrovně, na které genetickou informaci ovlivňují, dělíme mutace na **genomové, chromozomové** a **genové**.
- Z pohledu **evoluce** dělíme mutace na **evolučně výhodné, nevýhodné** a **neutrální**.
- Z pohledu typu postižených buněk u vyššího organismu (například u člověka) dělíme mutace na **somatické** a **gametické**.

Podrobnější dělení naleznete u popisu jednotlivých typů mutací.

Spontánní a indukované mutace

Mutace vzniklé díky chybě při replikaci DNA se nazývají **mutace spontánní** (dochází k nim bez zásahu z vnějšího prostředí). DNA polymeráza je ovšem velmi přesná, navíc má samoopravnou funkci. Pravděpodobnost jedné takovéto chyby se pohybuje v řádech asi 10^{-7} . Četnost těchto mutací je

tedy velice nízká, navíc buňky jsou do jisté míry schopné tyto chyby díky reparačním enzymům likvidovat. Většina mutací je tedy tzv. **indukovaných**, tj. vyvolaných vnějšími mutagenními faktory.

Mutace genomové

Genomové mutace jsou nejrozsáhlejší typy mutací, týkající se celého genomu nebo jeho velkých částí (celých chromozomů).

Nejrozsáhlejší změnou je **znásobení celé chromozomální sady**. Takovýto stav se nazývá **polyploidie** - za normálních podmínek jsou vyšší organizmy **diploidní** ($2n$), polyploidní jedinec je $3n$ (triploidní), $4n$ (tetraploidní) nebo i více. Tento stav je relativně běžný u některých rostlin, ovšem u člověka (a vyšších živočichů obecně) **není slučitelný se životem**. Běžně polyploidní jsou ty buňky, které mají více jader (syncytia - např. příčně pruhované svalové vlákno) nebo u buněk, kde je velmi vysoká metabolická aktivita, která vyžaduje velkou transkripční aktivitu (příkladem mohou být jaterní buňky - hepatocyty). Druhým extrémem pak mohou být červené krvinky - erytrocyty, které jako terminální buňky nemají jádro a postrádají tak jadernou genetickou informaci (tento stav by se mohl nazývat nuliploidie).

Stav, kdy chybí - nebo naopak přebývá - pouze některý chromozom z celé chromozomální sady se nazývá **aneuploidie**. Pokud v diploidní buňce (normální stav je tedy **dizomie**) chybí jeden chromozom z páru, nazýváme tento stav **monozomie**; pokud naopak jeden chromozom daného páru přebývá (je navíc), označujeme tento stav jako **trizomie**. Tyto abnormality vznikají díky chybě rozestupu chromozomů při buněčném dělení - tzv. **nondisjunkci**. Podrobnosti o těchto odchylkách u člověka a klinických syndromech naleznete v kapitole chromozomální aberace.

Mutace chromozomové

Chromozomové mutace jsou strukturní změny na úrovni jednotlivých chromozomů. Obecně se označují jako chromozomové aberace. Strukturní změny chromozomů vznikají jako následek chromozomální nestability (**chromozomálních zlomů**), způsobené nadměrnou expozicí jedince mutagenům, nebo zhoršenou funkcí reparačních mechanismů. Následky těchto odchylek závisí na tom, zda je i po strukturní přestavbě zachováno normální množství genetické informace. Pokud ne, potom dochází k fenotypovým projevům, které se odvíjejí od toho, která část genomu chybí nebo je strukturně poškozena, či naopak přebývá.

Strukturní změny chromozomů tedy můžeme rozdělit na:

- **Balancované** - kde je zachováno původní množství genetické informace.
- **Nebalancované** - kde původní množství genetické informace zachováno není a jejich nositel může mít různě závažné fenotypové projevy.

Podle mechanismu vzniku klasifikujeme chromozomální přestavby takto:

Duplikace

Znásobení úseku chromozomu. Může být způsobeno **nerovnoměrným crossing-overem**, jehož následkem dojde na jednom chromozomu k duplikaci sledovaného úseku, zatímco na druhém je tentýž úsek deletován (vizte níže).

Delece

Část chromozomu chybí. Deletován může být konec raménka (potom jde o terminální delecii) nebo střední část některého z ramének chromozomu (intersticiální delecii). Delece vznikají jako následek chromozomální nestability nebo nerovnoměrného crossing-overu (viz výše).

Inzerce

Inzerce vzniká jako následek minimálně 3 chromozomálních zlomů, kdy dojde k začlenění části chromozomu (vyštěpené z určitého chromozomu) do jiného chromozomu.

Inverze

Při inverzi dochází vlivem chromozomové nestability k vyštěpení části chromozomu, jejímu převrácení a následnému napojení. Například následkem inverze na chromozomu s původní sekvencí A-B-**C-D-E-F**-G-H by byla sekvence A-B-**F-E-D-C**-G-H (pokud je na invertované části chromozomu centromera, potom je inverze označována jako pericentrická; pokud na invertovaném úseku centromera není - jde o inverzi paracentrickou).

Translokace

Při translokaci je část chromozomu vyštěpena z původního chromozomu a připojena k jinému chromozomu. Translokace mohou být **balancované** (kdy je zachováno stejné množství genetické informace v buňce) nebo **nebalancované** (kdy původní množství není dodrženo).

Reciproké translokace jsou vzájemné translokace mezi dvěma nehomologními chromozomy. Chromozomy si vymění nehomologní úseky, počet chromosomů však zůstane stejný.

Robertsonské translokace jsou zvláštní případy translokace, kdy dochází k fúzi dvou akrocentrických chromozomů (po ztrátě krátkých ramen). Jedinec s takovouto balancovanou translokací má o chromozom méně, ale původní množství genetické informace - proto většinou nemá žádné fenotypové projevy. Současně má však velmi velké riziko, že jeho děti budou postiženy nebalancovanými chromozomálními aberacemi.

Izochromozom

Isochromozom je chromozom, který má pouze dlouhá, či naopak pouze krátká raménka. Vzniká chybným mitotickým rozestupem chromozomů, kdy nedojde k rozestupu chromatid, ale do jedné dceřiné buňky se dostanou obě krátká raménka a do druhé obě raménka dlouhá.

Ring chromozom

Pokud dojde u chromozomu k delecí konců obou ramének (telomer), může se tento chromozom stočit, koncové části se spojí a vznikne "kolečko" - tedy kruhový chromozom (*ring chromosome*).

Fragmentace

Fragmentace je krajní případ chromozomové aberace, kdy vlivem silných mutagenů a vysoké chromozomální nestability dojde k rozpadu chromozomu na fragmenty. Buňka s takovýmto chromozomem se nemůže dále mitoticky dělit a může u ní být navozena apoptóza.

Marker chromozom

Marker chromozom je malý chromozomální fragment, který získal schopnost existovat samotně jako chromozom i v průběhu mitotického dělení. Musí mít tedy funkční centromeru, jako kterýkoliv jiný chromozom.

Podrobnosti o těchto odchylkách u člověka a klinických syndromech naleznete v kapitole chromozomální aberace.

Genové mutace

Probíhají **na úrovni vlákna DNA**. Jsou to tedy takové změny, které mění pořadí nukleotidů oproti normální sekvenci (normálnímu pořadí). Genové mutace, týkající se změny v rozsahu jednoho jediného nukleotidu také označujeme jako **mutace bodové**. Genové mutace mohou vzniknout jak v **kódujících**, tak v **nekódujících** oblastech genomu.

Podle mechanismu vzniku rozlišujeme hned několik typů genových mutací:

Adice (inzerce)

Zařazení jednoho nebo více **nadbytečných** nukleotidových párů. Pokud je zařazen takový počet nukleotidů, který není celočíselným násobkem čísla 3 ($3n$), potom dojde k **posunu čtecího rámce** (tzv. *frameshift mutation*) a následně k syntetizování zcela odlišného polypeptidu nebo dokonce k předčasnému ukončení proteosyntézy vznikem terminačního kodonu. Zařazení $3n$ nukleotidů (nenarušujících původní čtecí rámec) obecně prodlužuje polypeptidový řetězec o n aminokyselin podle inzertované sekvence.

Delece

Jde o **ztrátu** jednoho nebo více nukleotidů původní sekvence. Účinek je podobný jako u adicí, pouze místo prodloužení polypeptidového řetězce dochází ke zkracování. Delece mohou rovněž vést k posunu čtecího rámce.

Substituce

Substituce je **náhrada** (či záměna) báze původní sekvence bází jinou. Pokud jde o záměnu purinové báze za purinovou bázi, nebo o záměnu pyrimidinové báze za pyrimidinovou bázi - pak je tato substituce označena jako **transice**. Záměna purinové báze za bázi pyrimidinovou nebo naopak se označuje jako **transverze**. Následky substituce mohou být různé, podle toho, na které pozici kodonu k substituci došlo.

Několik příkladů genových mutací na malém úseku (jednoho) vlákna DNA:

Původní sekvence:

A-A-A-G-G-G-C-C-C-T-T-T

Adice:

A-A-A-G-G-T-T-G-C-C-C-T-T-T

Delece:

A-A-A-G- -G-C-C-C-T-T-T

Substituce:

A-A-A-G-A-G-C-C-C-T-T-T

Budeme-li ovšem uvažovat, že k mutaci došlo v kódujícím úseku DNA, můžeme si dále genové mutace rozdělit podle toho, jak ovlivní proteosyntézu.

- **Mutace neměníci smysl** (synonymous, silent mutation), které těží z degenerace genetického kódu (tedy z faktu, že některé aminokyseliny jsou kódovány různými triplety), neboť je i přes mutaci zařazena stejná aminokyselina. Jsou způsobeny substitucemi na třetí pozici tripletu.
- **Mutace měnící smysl** (missense mutation), které mění smysl polypeptidového vlákna. Jsou způsobeny zejména takovými substitucemi, které způsobí zařazení odlišné aminokyseliny při proteosyntéze. Záleží ovšem také na tom, k jaké záměně aminokyseliny nakonec dojde (některé aminokyseliny mají podobné vlastnosti - záměna tedy může být víceméně konzervativní)
- **Nesmyslné mutace** (nonsense mutation), které zapříčiní vznik předčasného terminačního kodonu v sekvenci DNA. Syntéza takového polypeptidu pak není dokončena a výsledkem je zcela nefunkční protein. Tyto mutace jsou způsobeny delecí nebo inzercí určitého množství bází, pokud nejde o $3n$ násobek.

Dynamické mutace

Dynamické mutace jsou speciálním typem mutací. Jsou spojené s fenoménem **expanze repetitivních sekvencí** (typicky jde o expanzi *trinukleotidových repetit*). Bylo zjištěno, že u některých chorob (**Huntingtonova chorea, syndrom fragilního X chromozomu, myotonická dystrofie** či **Friedrichova ataxie**) nalézáme oproti normálu zvýšený počet trinukleotidových repetit (existují i dinukleotidové a jiné repetice) na specifickém úseku genomu. Vinou **nepřesností při replikaci** tohoto úseku, může docházet ke **zvyšování** počtu trinukleotidových repetit. V rámci jedné rodiny se tak může počet repetit z generace na generaci zvyšovat. Pokud nepřesáhne počet repetit kritické číslo (k rozvoji choroby), ale je oproti normálu zvýšen, označuje se tento stav jako **premutace**. Jakmile je tento kritický počet dosažen či překročen, dojde k **plné mutaci** a u jedince se manifestuje příslušná choroba.

Pokud k nondisjunkci dojde při meiotickém dělení (při I. nebo II. meiotickém dělení) během vzniku pohlavních buněk (nondisjunkce na germinální úrovni), potom bude mít zygota k jejímuž vzniku přispěla tato aberovaná gameta nestandardní počet chromosomů a tím pádem každá buňka jedince, který z této zygoty vznikne (tedy pokud vůbec bude vývoj dále pokračovat...), bude mít aberovaný karyotyp. Pokud k dojde k nondisjunkci až během mitózy - vzniká chromosomová mozaika - viz níže.

Somatické a gametické mutace

Somatické mutace jsou mutace, které postihují somatické ("tělové") - tedy nepohlavní buňky organismu v průběhu jeho života. Mutace v těchto buňkách vedou k lokálnímu postižení - poškozené buňky hynou apoptózou či nekrózou, případně mutace mohou nastartovat proces maligní transformace, který povede ke vzniku nádorového onemocnění. Důležité je, že mutace v somatických buňkách se **nepřenáší na další generace**.

Gametické mutace jsou mutace vzniklé v gametách - pohlavních buňkách organismu. Nebezpečí těchto mutací spočívá v tom, že jakmile dojde s pomocí mutované gamety k oplození a ke vzniku zygoty - bude se příslušná mutace následně i v této zygotě nacházet. Jelikož ze zygoty vznikají v průběhu vývoje všechny buňky těla (somatické buňky i gamety) - bude se příslušná mutace nacházet **ve všech buňkách organismu** což se typicky projevuje fenotypem příslušné gentické choroby a navíc se tato mutace může **přenášet do dalších generací**.

Význam mutací

Z hlediska klinické genetiky, jsou to právě mutace, které způsobují genetické choroby, vývojové vady nebo nádorové bujení. Ovšem vzhledem k tomu, že jen malá část lidského genomu (asi 1,5 %) skutečně kóduje proteiny, dochází k většině mutací v nekódujících oblastech. I zde však mohou mutace působit negativně, pokud změní sekvenci promotoru, regulační oblasti transkripce nebo signální sekvenci pro sestřih pre-mRNA. Závažnější projev mají mutace v kódujících oblastech.

Z pohledu **evoluce** jsou mutace velmi **užitečné**. Dříve byly dokonce považovány za hybnou sílu evoluce, dnes jim již tak obrovský význam přiznáván není. Mutace mohou být z evolučního hlediska nevýhodné, neutrální nebo výhodné. Největší šanci udržet se a následně zasáhnout do evoluce mají mutace výhodné, ani ty se však nemusí udržet a mohou být z genofondu vyeliminovány.

8) Mutageny

Mutageny jsou faktory, které jsou schopny způsobovat mutace, tedy měnit genetickou informaci organismu. Mutageny jsou předmětem i nástrojem genetického výzkumu. Mutace můžeme i uměle indukovat, což se využívá k pokusům na modelových organismech, zejména pro studium exprese genů. Experimentálně se také testují potencionální mutagenní účinky nových chemických látek. Z pohledu klinické genetiky jde pak především o nežádoucí faktory vnějšího prostředí, které mohou poškodit genetickou informaci člověka.

Rozdělení mutagenů

Mutageny jsou faktory různé povahy. Obecně se proto rozdělují do tří hlavních skupin:

- **Fyzikální mutageny**
 - UV záření - zdrojem je Slunce, nebezpečné je zejména vzhledem ke slábnoucí ozonové vrstvě
 - Ionizující záření - radioaktivní nebo RTG záření. Může způsobovat chromozomové zlomy (mutageny způsobující chromozomální zlomy se obecně označují jako **klastogeny**).
- **Chemické**
 - Aromatické uhlovodíky - v tabákovém kouři a produktech spalování vůbec
 - Barviva - např. akridinová barviva
 - Organická rozpouštědla
 - Některé dříve běžně užívané látky - např. součásti plastů (PCB), hnojiv, herbicidů, insekticidů (DDT) nebo i léčiv
 - Bojové látky - např. yperit
- **Biologické**
 - Viry - některé viry (retroviry) se mohou inkorporovat do genetické informace infikované buňky, čímž mohou porušit sekvenci některého strukturního genu, nebo jeho regulační oblasti, promotor aj.
 - Mobilní genomové sekvence - transpozony a retrotranspozony - mohou působit stejným mechanismem jako retroviry - tj. inzercí na "nesprávné" místo v genomu.

Další dělení mutagenů rozlišuje, zda mutagenně působí samotný mutagen, nebo zda působí zprostředkovaně.

- **Přímé mutageny** - působí mutagenně přímo.
- **Nepřímé mutageny** - nepůsobí mutagenně přímo, nejprve musí být v buňce přeměněny na vlastní mutagenní formu, nebo vedou ke vzniku faktorů, které již jsou samy o sobě mutagenní.

Mutageny a klinická genetika

Působení mutagenů na lidského jedince se může projevit několika různými způsoby.

- U dospělého člověka mohou některé mutageny působit jako **karcinogeny** a způsobit tak zhoubné bujení (rakovinu). Principem nádorové transformace je vznik mutací v somatických (tělních) buňkách.
- Pokud mutageny způsobí mutace v pohlavních buňkách (gametách), dojde ke vzniku mutace, která se u příslušné osoby neprojeví, ale projeví se u potomka, který z gamety s příslušnou mutací vznikne. Takovéto případy "**nové mutace**" (ani jeden z rodičů příslušnou genetickou chorobu nemá) jsou relativně častou příčinou vzniku různých monogenních chorob (například achondroplázie).
- Některé mutageny mohou mít účinkovat i jako **teratogeny** - tedy způsobovat poruchy prenatálního vývoje jedince (čímž vznikají vývojové vady).

Ne každá látka (či faktor) s mutagenním účinkem se ovšem zároveň uplatňuje jako karcinogen nebo teratogen. Naopak - ne každý teratogen či karcinogen musí být zároveň i mutagen. Proto nelze tyto pojmy v žádném případě považovat za synonyma.

Testování genotoxicity

Pro ověřování genotoxických (mutagenních) účinků různých vnějších faktorů existuje skupina specializovaných testů. Ověřuje se jak mutagenní potenciál samotných látek (např. chemikálií) – *in vitro*, tak i současný stav jedince po expozici mutagenům – testy *in vivo*.

Amesův test je klasickým testem pro stanovení mutagenního potenciálu různých chemikálií. Původní provedení tohoto testu počítá se speciálním kmenem bakterie *Salmonella typhimurium*, který má mutovaný gen, jež bakterii umožňuje syntetizovat aminokyselinu histidin. Jelikož bakterie roste na živné půdě, která tuto aminokyselinu neobsahuje, nemá bakterie k této aminokyselině přístup a nepřežívá. Test probíhá tak, že tento kmen bakterie je vystaven působení zkoumané látky. Poté je sledován růst těchto kolonií na oné živné půdě bez histidinu. Procento přežívajících kolonií ukazuje na mutagenní potenciál zkoumané látky – nastane totiž "mutace mutace" – tedy zpětná mutace, kdy vlastně dojde k opravě původně defektního genu, čímž bakterie získá opět schopnost syntetizovat histidin (a přežít).

Test ZCHA (ZCA), neboli Získaných Chromozomálních Aberací nám umožňuje zhodnotit vliv mutagenů na struktury in vivo. Provedení testu je velmi jednoduché. Po odběru periferní krve a kultivaci získaných lymfocytů hodnotíme procento aberantních buněk, tj. buněk s chromozomální aberací. Tato metoda informuje o expozici vyšetřovaného jedince mutagenům v průběhu několika posledních měsíců. Hodnoty (přibližně) do 3 % jsou normální, mezi 3 % a 5 % hraniční a nad 5 % vysoké. Toto vyšetření se může provádět například i v rámci preventivních prohlídek zaměstnanců pracujících v prostředí s vyšším rizikem genotoxicity.

Další příklady genotoxických testů naleznete v kapitole genetické testy.

5. Základy dědičnosti

1) Geny a dědičné znaky

Gen je specificky uložená jednotka dědičné informace. Z molekulárního hlediska jde o úsek nukleové kyseliny se specifickým pořadím nukleotidů, které podmiňuje strukturu a funkci genového produktu. Do jeho struktury patří i regulační sekvence, jako je promotor nebo terminátor, které jsou rozeznávány polymerázami a umožňují tak správné a ohraničené zpracování dědičné informace nesené konkrétním genem (více v sekci molekulární genetiky).

Jako **pseudogen** označujeme "mrtvý" gen, který není aktivní a jehož informace není realizována (důvodem inaktivity jsou většinou nefunkční nebo chybějící regulační sekvence).

Geny můžeme rozdělit podle jejich účinnosti při realizaci dědičného znaku.

a) Monogenní Geny velkého účinku, na tvorbě znaku se podílí málo genů (často jen jeden), většinou jde o znak kvalitativní. Jsou rozhodující pro monogenní typ dědičnosti.

b) Polygenní Geny malého účinku, na tvorbě znaku se podílí více genů, nezanedbatelný je i vliv vnějšího prostředí, většinou ovlivňuje kvantitativní znaky. Jsou rozhodující pro polygenní typ dědičnosti

Dále se geny dělí podle jejich funkce:

a) Strukturní Kódují strukturu bílkoviny.

b) Regulační Podle nich vytvořené bílkoviny regulují expresi strukturních genů, ovlivňují diferenciaci buněk.

c) RNA geny Dle nich se syntetizuje tRNA a rRNA.

Umístění genů a genová vazba

Geny jsou uloženy na chromosomech za sebou - ve specifickém a neměnném pořadí. Každý gen tak má své unikátní místo na určitém chromosomu a na jeho určité části - toto místo označujeme jako **genový lokus**.

O genech uložených na 1 chromozomu říkáme, že jsou spolu v **genové vazbě**. Podle Mendelova zákona o nezávislé kombinovatelnosti alel se dva různé geny dědí nezávisle na sobě. To ovšem zcela platí pouze o genech uložených na různých chromosomech. Geny, uložené na jednom chromosomu, by se tedy měly dědit společně. Ani to však nemusí být pravda - díky procesu zvanému **crossing-over**. Jde o proces vzájemné rekombinace některých genů navzájem mezi párem homologních chromosomů během meiózy. Pravděpodobnost, se kterou proběhne crossing-over tak, aby se dva různé geny z jednoho chromosomu přenesly nezávisle na sobě, označujeme jako **sílu genové vazby**.

Jako první se touto problematikou zabýval **Thomas Hunt Morgan** (1866 - 1945, Nobelova cena za lékařství a fyziologii 1933). Čím je vzdálenost mezi geny na chromosomu větší, tím je větší i pravděpodobnost rekombinace mezi nimi a síla genové vazby klesá. Naopak, pokud jsou oba sledované geny na chromosomu velmi blízko sebe, stoupá síla genové vazby a klesá pravděpodobnost rekombinace. Sílu vazby lze při známých výsledcích křížení vypočítat z rekombinačního zlomku:

θ = počet rekombinovaných jedinců / počet všech jedinců

Jednotkou genové vzdálenosti je na Morganovu počest **1 Morgan - M**, respektive se užívá centimorgan - cM.

Centrální dogma

Centrální dogma představuje základní pohled na přenos realizaci genetické informace. Základní schéma tohoto dogmatu muselo být několikrát modifikováno, my se jej předvedeme v jednodušší formě, zachycující realizaci znaku:

DNA (Gen) -> *transkripce* -> **mRNA** -> *translace* -> **protein** -> *uplatnění proteinu* -> **dědičný znak**

Pokud je v genu přítomná mutace, syntetizuje se pozměněný nebo vůbec žádný protein, což má za následek odlišný projev dědičného znaku a tím tato mutace může podmiňovat vznik některých genetických chorob.

Dědičné znaky

Dědičné znaky jsou vlastnosti organismu vzniklé expresí genů. Jejich soubor v rámci jednoho organismu se nazývá **fenotyp**. Některé mohou být pozorovatelné, některé jsou zjistitelné pouze za pomoci speciálních vyšetření. Z hlediska uplatnění je dělíme na:

a) Anatomicko - morfologické

b) Fyziologické

c) Psychologické

Dále je možné znak dělit podle jejich "měřitelnosti":

a) Kvalitativní Znaky neměřitelné, tvoří několik odlišných variant. Např. krevní skupiny v AB0 systému (skupina A, B, AB nebo 0).

b) Kvantitativní Znaky měřitelné, tvoří plynulou řadu variant, možno vyjádřit Gaussovou křivkou. Např. výška jedince (lze změřit a vyjádřit v cm).

2) Alely

V diploidní buňce existují pro jeden gen 2 alely, tedy konkrétní formy genu. Alelu (případně alely), která se vyskytuje běžně v populaci a podmiňuje normální (zdravý) fenotypový znak nazýváme alelou divokou. Alela, jejíž sekvence nukleotidů byla změněna mutací (a může tak podmiňovat patologický znak), pak označujeme jako alelu mutovanou.

V případě diploidního organismu, jakým je třeba i člověk, nacházíme v buňce vždy 2 alely příslušného genu. Pokud jsou tyto stejné - je takovýto jedinec označený jako **homozygot**. Pokud jsou tyto alely různé - označuje se tento jedinec jako **heterozygot**.

U heterogametického pohlaví existují učitelné geny uložené na gonozomech, které se u daného jedince vyskytují pouze v jedné kopii - pro tyto geny se příslušný jedinec označuje jako **hemizygot**.

V klinické genetice se v souvislosti s genetickými chorobami používá výrazu **složený heterozygot**, což označuje stav, kdy má jedinec obě své alely mutované, ovšem v každé alele je tato mutace jiná.

V populaci se pro daný lokus může vyskytovat více než jedna alela. Pokud se méně častá alela vyskytuje alespoň v 1% lokusů, potom je populace pro daný lokus **polymorfní**. Pokud je to v méně než 1% lokusů - potom jde o vzácnou variantu.

Například pro krevní skupiny AB0 systému u člověka se v populaci běžně vyskytují alely A, B a 0. Takovýto stav, kdy se pro daný lokus běžně v populaci vyskytuje více alel, se nazývá **mnohotná alelie**.

Mezialelické vztahy mezi alelami stejného genu

Úplná dominance a recesivita - Dominantní alela úplně potlačí projev recesivní alely. Dominantní alela je tedy taková, která se projeví i v heterozygotní kombinaci. Ukažme si to například na dědičnosti krevních skupin u člověka: A - tvoří se aglutinogen A (krevní skupina A); 0 - netvoří se žádný aglutinogen (krevní skupina nula); homozygot AA - krevní skupina A; homozygot 00 - krevní skupina nula; heterozygot A0 - krevní skupina A (aglutinogen A se tvoří).

Poznámka: Je zvykem dominantní alelu označovat velkým písmenem (A) a recesivní alelu písmenem malým (a). Divoká (wild type) alela (tedy normální varianta vyskytující se ve volné přírodě) se označuje symbolem + (plus).

Neúplná dominance a recesivita - Dominantní alela nepotlačuje recesivní alelu úplně, recesivní alela se také částečně projeví. Uvedeme si příklad na barvě květů u hypotetické květiny: A - červená barva; a - bílá barva; homozygot AA - červená barva; homozygot aa - bílá barva; heterozygot Aa - růžová barva.

Kodominance - Obě přítomné alely se u heterozygota projeví v celé míře a navzájem se neovlivňují. Opět uvedeme příklad s lidskými krevními skupinami. Alely A a B jsou vůči sobě kodominantní a vůči alele 0 dominantní. Heterozygot A0 - skupina A; heterozygot B0 - skupina B; heterozygot AB - skupina AB (tvoří se oba aglutinogeny); homozygot AA - skupina A; homozygot BB - skupina B; homozygot 00 - skupina nula.

Superdominance - Heterozygot (Aa) vykazuje silnější formu znaku než oba typy homozygotů (aa, AA).

Genové interakce

V předcházejícím textu jsme si ukázali, jakým způsobem se alely jednoho genu mohou podílet na konečném vyjádření dědičného znaku. Existují však i interakce mezi různými páry alel (nealelické interakce nebo interalelické interakce), které teprve určí konečnou expresi dědičného znaku. Uvedeme si příklady na vztahu dvou alelových párů (tedy na dihybridismu, jak jej popisuje 3. Mendelův zákon):

Komplementarita - Znak se projeví, pokud je přítomná alespoň jedna dominantní alela od každého z obou genů. Znak tedy najdeme u jedinců s genotypem AaBb, AABb, AaBB, AABB. Naopak u jedinců, kde je jedna alela v homozygotně recesivní kombinaci, znak nepozorujeme - aabb, aaBb, Aabb, AAbb. Rozdělení fenotypů by tudíž nebylo klasických 9:3:3:1, ale **9:7**.

Epistáze - Je jev, kdy jeden gen je přímo nadřazený druhému genu a ovlivňuje tak jeho projev. Je to vlastně taková analogie ke vztahu dominance a recesivity dvou alel jednoho genu (viz výše).

U **recesivní epistáze** recesivně homozygotní kombinace nadřazeného genu úplně potlačí případný projev genu podřazeného. Je to taková situace jako kdybyste sice měli červenou barvu na plot (projev podřazeného genu), ale neměli žádný plot (projev nadřazeného genu v recesivně homozygotní kombinaci). Potom byste sice měli předpoklad pro červený plot (červenou barvu), ale protože žádný plot nemáte - potom se to nemůže projevit. Přesně takto funguje tzv. Bombay fenotyp u lidských krevních skupin. Pokud se nesyntetizuje H antigen (genotyp hh), potom se nemůže projevit gen kódující krevní skupinu ABO systému (například skupinu A - třeba genotyp AA). Jedinec tedy nebude mít na erythrocytech antigeny A, ačkoli má alelu pro jeho tvorbu. Očekávaný štěpný poměr je **9:3:4**.

U **dominantní epistáze** je situace obdobná, pouze nadřazený gen potlačuje projev podřazeného genu, pokud je přítomna alespoň jedna jeho dominantní alela (může tedy být v heterozygotní i dominantně homozygotní kombinaci). Očekávaný štěpný poměr je **12:3:1**.

3) Zákony dědičnosti

Dědičnost je ojedinělá vlastnost živých organismů. Díky ní dochází k přenosu určitých znaků z rodičovské generace na generaci potomků. Tento přenos z generace na generaci označujeme jako **vertikální přenos** dědičné informace (shora dolů - jak můžeme pozorovat v rodokmenu). Mimo to existuje i **horizontální přenos** dědičné informace (mezi jedinci téže generace), což je typické například pro bakterie (více v příslušné kapitole).

Budeme-li se zabývat dědičností znaků, je důležité si uvědomit, jakým způsobem se příslušný druh rozmnožuje. Například u člověka, který se rozmnožuje pohlavně, získává nový jedinec polovinu genetické informace od otce a polovinu od matky. Nopak třeba u bakterií, nebo i u jiných nepohlavně se rozmnožujících organismů, vzniká nový jedinec z jedince původního. V případě bakterie vzniknou dělením mateřské buňky dvě identické buňky dceřinné. V případě tasemnice, vznikají potomkové různí, neboť tasemnice je hermafrodit, který tvoří samčí i samičí gamety (pohlavní buňky). Dědičná informace v těchto gametách však může být různá (viz dále) - potomci tasemnice tak nejsou všichni identičtí, jak je tomu v případě bakterie.

Bakterie a ostatní prokaryotní organismy mají ještě jednu zvláštnost. Jsou **trvale haploidní** - tudíž mají pouze jednu kopii od každého svého genu. Dceřinné bakteriální buňky vzniklé dělením buňky mateřské získají navlas stejnou dědičnou informaci. V případě vyšších - eukaryotních organismů (které jsou diploidní) je dědičnost většinou založena na tvorbě gamet. Ty vznikají redukčním dělením - meiózou, která dává za vznik haploidním gametám. V praxi to znamená to, že rodič může potomkovi předat pouze některé své geny - z každého genového páru pouze jeden (v tomto případě je již přesnější mluvit o alelách).

Uvedeme si příklad - u diploidního organismu budeme sledovat vybrané 3 geny a bude nás zajímat, jaké gamety bude tento organismus tvořit:

Gen 1 - genotyp: AA

Gen 2 - genotyp: Bb

Gen 3 - genotyp: cc

V případě genu 1 a genu 3 se jedná o homozygota; v případě genu 2 o heterozygota. U genů, ve kterých je daný organismus homozygotem, je situace jednoduchá - do gamety je vždy předána stejná alela (jinou alelu nemá organismus k dispozici). Naopak pokud je organismus v daném genu heterozygotem, existuje pro každou alelu z páru 50% šance, že se dostane do gamety a tudíž bude předána do další generace.

V našem hypotetickém případě by tak organismus s genotypem AABbcc tvořil gamety s následujícím genotypem:

1. možnost: ABc (pravděpodobnost 50 %)

2. možnost: Abc (pravděpodobnost 50 %)

V následujících odstavcích se již budeme věnovat základním zákonitostem dědičnosti (vztahených na eukaryotní organismy).

Autozomální dědičnost kvalitativních znaků

Autozomální dědičnost se týká dědičných znaků uložených na autozomech. V klasickém pojetí, které je nazýváno **Mendelovská dědičnost**, uvažujeme právě tuto dědičnost, bez ohledu na genovou vazbu.

U každého diploidního potomka se alelní pár skládá z jedné alely otcovské a jedné alely mateřské. Přenos alel na potomky podléhá základním pravidlům kombinatoriky. Jako první vyřešil tuto problematiku právě Mendel. Od něj také pochází kombinační (Mendelovské) čtverce. Jeho poznatky shrnují 3 Mendelovy zákony:

1. Mendelův zákon

Zákon o uniformitě F1 (1. filiální = první generace potomků) generace. Při vzájemném křížení 2 homozygotů vznikají potomci genotypově i fenotypově jednotní. Pokud jde o 2 různé homozygoty jsou potomci vždy heterozygotními hybridy.

	A	A
a	Aa	Aa
a	Aa	Aa

Při křížení dvou homozygotů (dominantního - AA a recesivního - aa) vzniká jednotná generace potomků - heterozygotů se stejným genotypem (Aa) i fenotypem.

2. Mendelův zákon

Zákon o náhodné segregaci genů do gamet. Při křížení 2 heterozygotů může být potomkovi předána každá ze dvou alel (dominantní i recesivní) se stejnou pravděpodobností. Dochází tedy ke genotypovému a tím pádem i fenotypovému štěpení = segregaci. Pravděpodobnost pro potomka je

tedy 25% (homozygotně dominantní jedinec) : 50% (heterozygot) : 25% (homozygotně recesivní jedinec). Tudíž genotypový štěpný poměr 1:2:1. Fenotypový štěpný poměr je 3:1, pokud je mezi alelami vztah kodominance, odpovídá fenotypový štěpný poměr štěpnému poměru genotypovému (tj. 1:2:1).

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

Obrázek představuje kombinační čtverec, znázorňující křížení dvou heterozygotů. Genotypový štěpný poměr je 1:2:1, fenotypový štěpný poměr je 3:1 při úplné dominanci nebo 1:2:1 při neúplné dominanci.

3. Mendelův zákon

Zákon o nezávislé kombinovatelnosti alel. Při zkoumání 2 alel současně dochází k téže pravidelné segregaci. Máme-li 2 dihybridy AaBb může každý tvořit 4 různé gamety (AB, Ab, aB, ab). Při vzájemném křížení tedy z těchto 2 gamet vzniká 16 různých zygotických kombinací. Některé kombinace se ovšem opakují, takže nakonec vzniká pouze 9 různých genotypů (poměr 1:2:1:2:4:2:1:2:1). Nabízí se nám pouze 4 možné fenotypové projevy (dominantní v obou znacích, v 1. dominantní a v 2. recesivní, v 1. recesivní a v 2. dominantní, v obou recesivní). Fenotypový štěpný poměr je 9:3:3:1. Tento zákon platí pouze v případě, že sledované geny se nacházejí na různých chromozomech, nebo je jejich genová vazba natolik slabá, že nebrání jejich volné kombinovatelnosti.

Rozdělení genotypů

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

1:2:1:2:4:2:1:2:1

Obrázek představuje kombinační čtverec, znázorňující poměr genotypů při dvojnásobném křížení. Stejně zabarvení značí stejný genotyp.

Rozdělení fenotypů

	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

9:3:3:1

Obrázek představuje kombinační čtverec, znázorňující poměr fenotypů při dvojnásobném křížení. Stejně zabarvení značí stejný fenotyp.

Gonozomální dědičnost

Gonozomální dědičnost se týká dědičných znaků, uložených na gonozomech - tedy na chromozomech pohlavních. Jde tedy primárně o znaky určující pohlaví.

Pohlaví gonochoristických organismů bývá určeno vzájemnou kombinací gonosomů (X a Y). Existují různé typy určení pohlaví:

a) Savčí typ (drosophila): Je nejčastější - savci, plazi, obojživelníci, většina hmyzu a dvoudomých rostlin. Samičí pohlaví XX (samičí gameta vždy jen chromozóm X). Samčí pohlaví XY (samčí gameta nese chromozom X nebo Y, šance 50:50). Podrobnosti o determinaci pohlaví u člověka naleznete v kapitole Určení pohlaví člověka.

b) Ptačí typ (abraxas): Vyskytuje se u ptáků, motýlů a některých ryb. Samice XY, samec XX.

Navíc některé řady hmyzu nemají chromozom Y, samčí pohlaví je určeno přítomností jednoho chromozomu X. U jiných druhů hmyzu zase pohlaví jedince může být určeno vnějšími znaky (včela).

Gonozomálně se dědí ovšem i další dědičné znaky uložené na gonosomech, navíc i některé choroby. Často uváděným příkladem je hemofilie = chorobná nesrážlivost krve. Chorobu podmiňuje recesivní alela z chromozomu X.

Možnosti jsou takovéto (X - zdravá alela, x - mutovaná alela) - Muž: XY-zdravý, xY-nemocný; žena XX-zdravá, Xx-přenašečka, xx-nemocná. Je tedy jasné, že tato choroba postihuje především muže, u žen přenašeček se choroba neprojevuje.

Základní typy dědičnosti s příklady znaků (chorob) a rodokmeny najdete v kapitole Genealogie.

4) Genealogie

Mezi nástroje genetického výzkumu člověka patří i metoda genealogická. Pomocí ní můžeme sestavit rodokmen a sledovat výskyt sledovaného znaku v rodinách. Na základě výskytu, četnosti opakování a pohlaví nositelů znaku potom můžeme vyvodit způsob dědičnosti tohoto znaku a také se pokusit odhadnout výskyt znaku v další generaci. Největší využití tak má tato metoda v klinické genetice, kde slouží pro predikci rizika, na základě rodinné anamnézy (tedy výskytu choroby v rodině). Klinický genetik na základě známého typu dědičnosti sledované choroby a základních kombinatorických pravidel může stanovit požadovaný odhad rizika. K sestavení rodokmenu se užívá několika jednoduchých mezinárodních symbolů.

Symbyly

Nejprve si ukážeme symbyly pro jednotlivé jedince. Vzájemně se liší s ohledem na pohlaví - čtverec značí muže, kruh ženu a kosočtverec označuje neurčené pohlaví (běžně se užívá například pro znázornění plánovaného dítěte, u kterého pohlaví pochopitelně neznáme). Pokud chceme vyjádřit, že jedinec je postižený sledovanou chorobou (obecně, že je nositelem sledovaného znaku), vyplníme jeho symbol černou barvou. Občas se můžeme setkat i s napůl vyplněnými symbyly, které označují heterozygoty, či přenašeče znaku.

Obrázek 1 - Základní genealogické symboly I

	Muž	Žena	Neurčené pohlaví
Zdraví jedinci			
Postižení jedinci			
Heterozygoti			
Žena přenašečka			

Pod znak každého jedince si můžeme poznamenat jeho věk. V případě, že jedinec už nežije - znázorníme to přeškrtnutím jeho symbolu a uvedeme jeho věk v době úmrtí. Pokud znázorňujeme potrat - můžeme tak učinit pomocí malého symbolu příslušného pohlaví, často se však znázorňují jen malým plným kolečkem nebo trojúhelníčkem.

Obrázek 2 - Základní genealogické symboly II

Zemřelí jedinci		
Spontánní potrat		

Jedinec, který dal podnět k sestavení rodokmenu a od kterého se rodokmen sestavuje se nazývá **proband** a označuje se šipkou. Z hlediska genetické konzultace se někdy používá označení konzultant, označení je stejné.

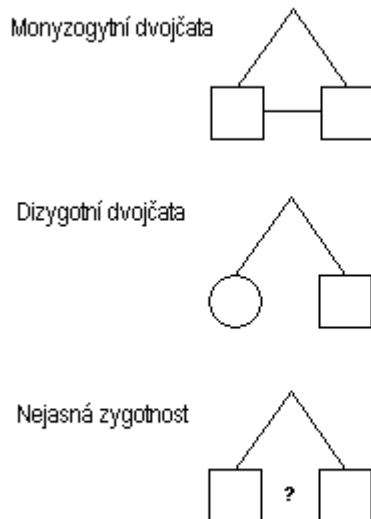
Pokud se v rodině vyskytuje jedinec, který byl do rodiny adoptován (popřípadě z ní adoptován), odlišíme jej pomocí hranatých závorek.

Obrázek 3 - Základní genealogické symboly III

Proband (označen šipkou)	
Adoptovaný jedinec	

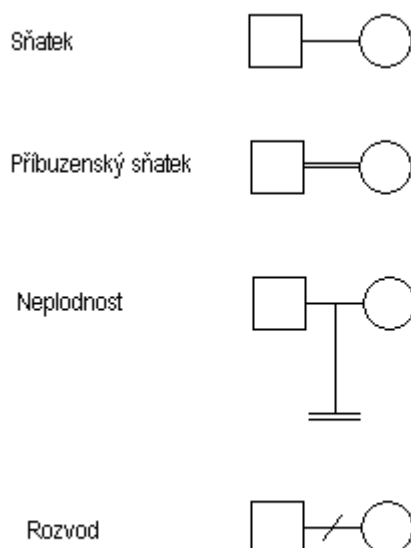
Existuje pak několik dalších speciálních značek, například pro znázornění dvojčat, která mohou být monozygotní (jednovaječná), nebo dizygotní (dvojvaječná). U některých dvojčat není (nebylo) možné určit, zda jsou monozygotní či dizygotní.

Obrázek 4 - Základní genealogické symboly IV



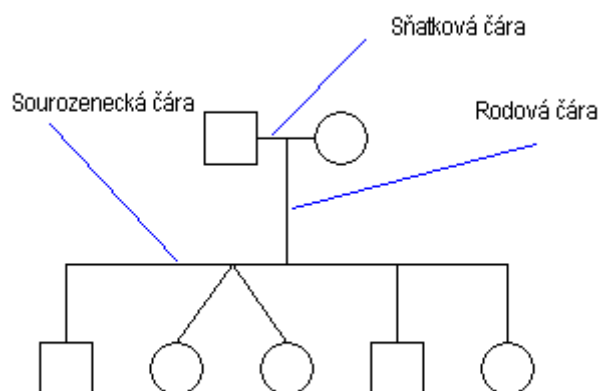
Nakonec si ukážeme, jak se označuje sňatek, což obecně značí dva lidi, kteří spolu mají děti. Jednoduchý sňatek znázorníme rovnou čarou (sňatková čára), kterou spojíme muže a ženu. Dvojitá čára značí, že tento sňatek byl uzavřen mezi příbuznými jedinci. Rozvod znázorníme přeškrtnutím této rodové čáry a sňatek, který je neplodný (tedy jeden nebo oba jeho členové nejsou plodní) označíme "uzemňujícím" symbolem.

Obrázek 5 - Základní genealogické symboly V



Takový jednoduchý rodokmen pak může vypadat například takto:

Obrázek 6 - Schéma jednoduchého rodokmenu.

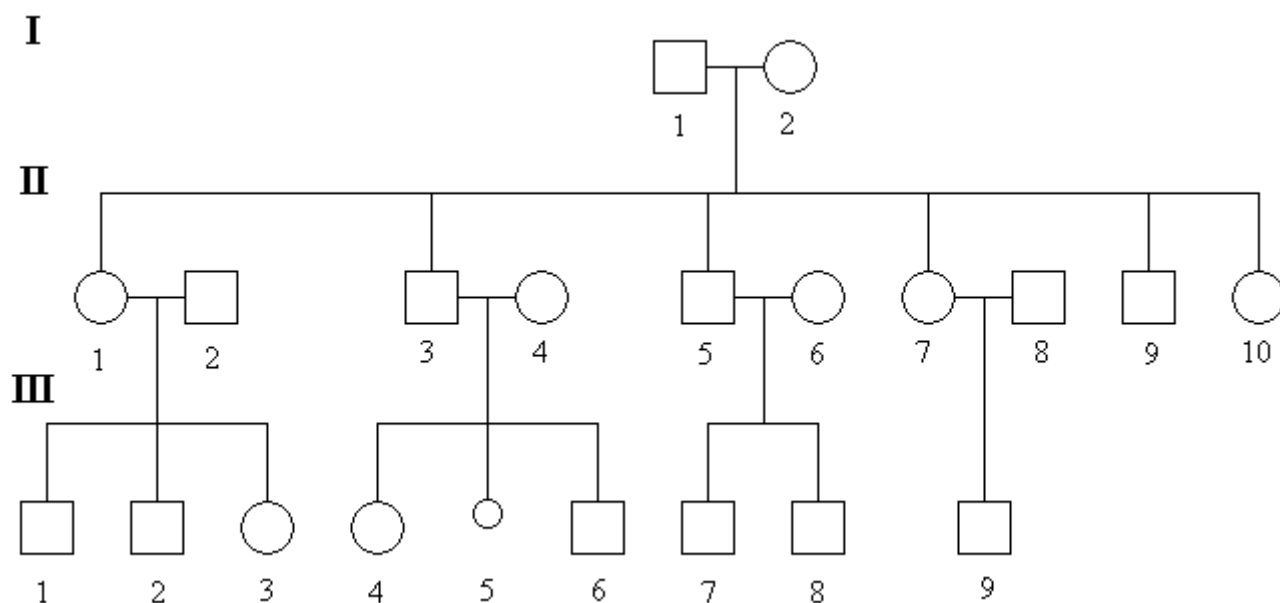


Vidíme zde otce a matku (I. generace) a jejich děti (II. generace) - od nejstaršího po nejmladší (tedy zleva doprava - pokud je to možné, bývá zvykem toto pořadí dodržet) syn, dvojvaječná dvojčata (dívky), syn, dcera. Všimněte si vyznačení sňatkové, rodové a sourozenecké čáry. Bývá zvykem jednotlivé generace i jedince číslovat, jak si ukážeme na dalších rodokmenech.

5) Typy dědičnosti v rodokmenu

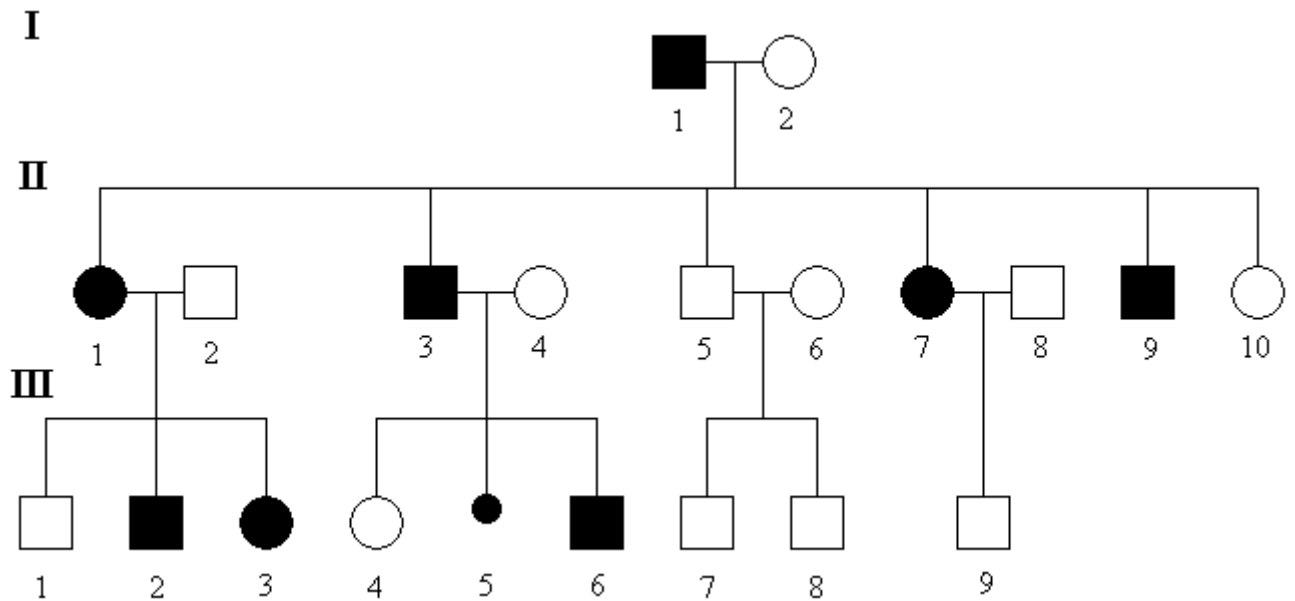
Příklady rodokmenů

Ukážeme si zde jeden hypotetický rodokmen o 3 generacích:



Nyní si na tomto stejném rodokmenu předvedeme jednotlivé typy dědičnosti. Využijeme některých známých genetických chorob.

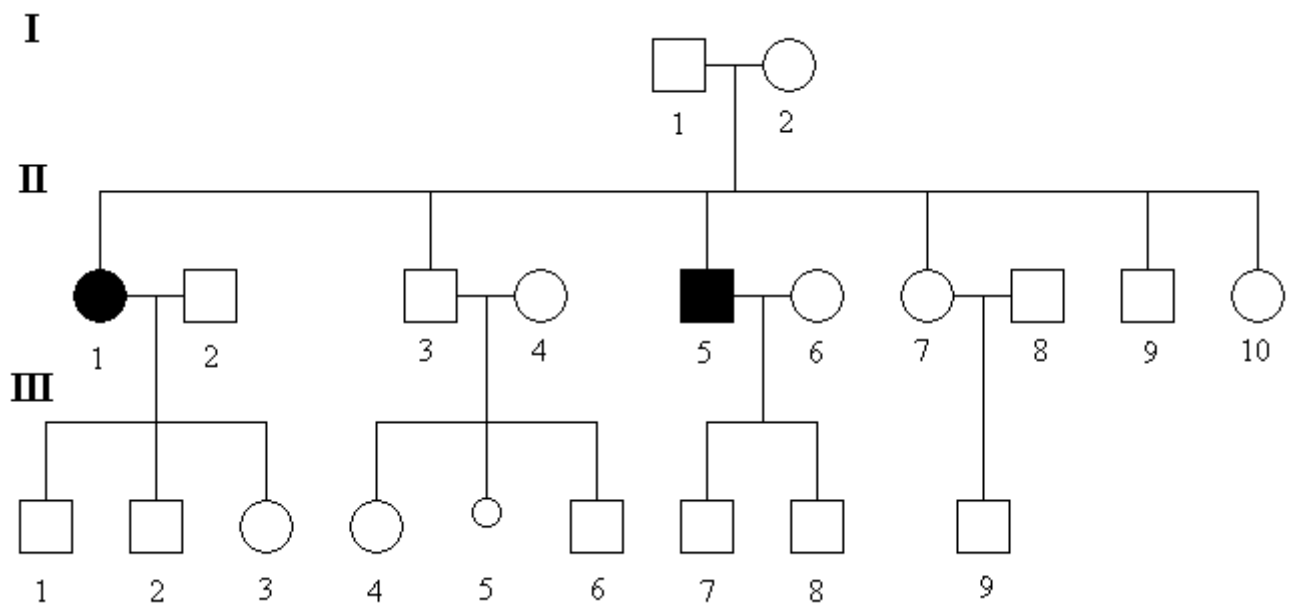
Autozomálně dominantní typ dědičnosti (polydaktylie)



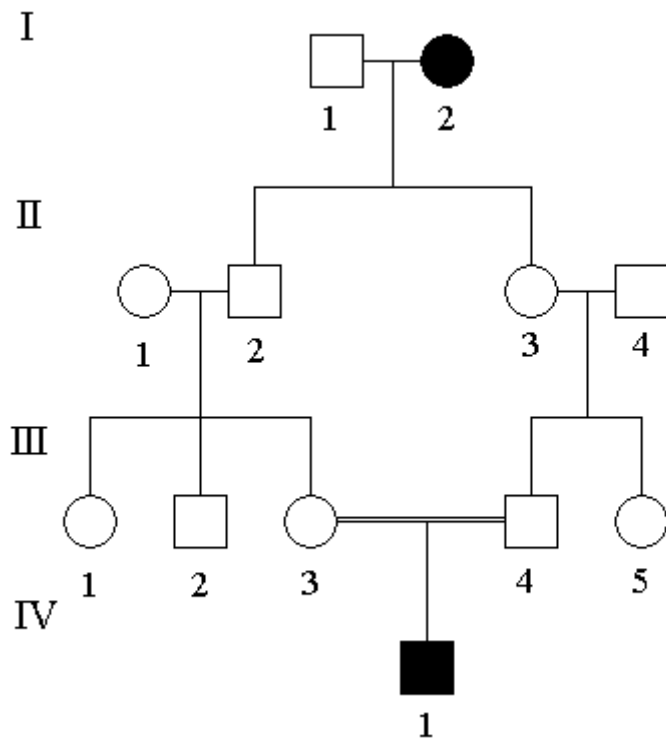
U autosomálně dominantního typu dědičnosti vidíme postižené jedince v každé generaci. Vidíme, že postižení jedinci jsou mužského i ženského pohlaví. Pro postiženého rodiče obecně platí, že každé jeho dítě bude v 50 % případů postiženo stejnou chorobou. Proto v rodokmenu nacházíme autosomálně dominantní chorobu u zhruba poloviny potomků postiženého jedince. Pokud jedinec není nositelem mutované alely, potom nejen že se u něj choroba neprojeví, ale nemůže se projevit ani u jeho potomků, protože není nosičem mutace.

Poznámka: U dominantních chorob jsou postižení jedinci většinou heterozygoti. Homozygoti často vykazují mnohem těžší formu postižení. Pro potomky takového jedince (homozygota pro mutovanou alelu u dominantní dědičnosti) platí 100% ! riziko postižení jeho potomků (může jim předat pouze mutovanou alelu).

Autosomálně recesivní typ dědičnosti (fenylketonurie)

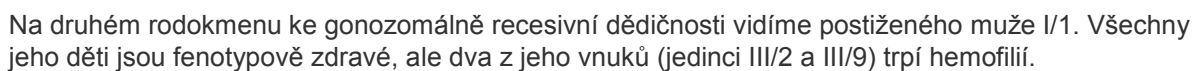


Pro autosomálně recesivní typ dědičnosti je typické, že postižení se nevyskytují v každé generaci. Vyskytují se spíše "ob generaci" a my můžeme v rodokmenu pozorovat, že postižení jedinci se rodí fenotypově zdravým jedincům. Pokud se dvěma fenotypově zdravým rodičům narodí dítě s autosomálně recesivně dědičnou chorobou, musíme uvažovat, že oba rodiče jsou **přenašeči**. Dva přenašeči budou mít postižené dítě ve 25 % procentech případů, kdy se v zygotě sejdou chromozomy s oběma mutovanými alelami, neboť recesivně dědičná onemocnění se projeví pouze v homozygotní kombinaci.



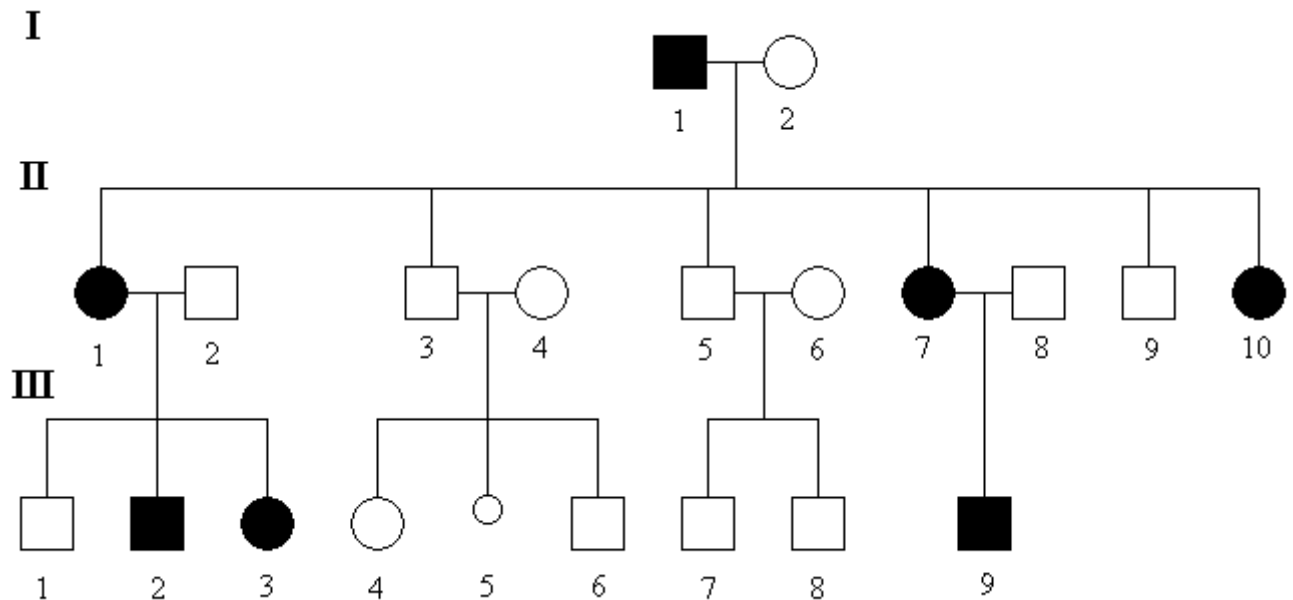
Druhý rodokmen ukazuje **příbuzenský sňatek** mezi bratrancem a sestřenicí. Z tohoto sňatku se narodil syn (IV/1) postižený fenyketonurií. Stejnou chorobou trpěla prababička (I/2) tohoto chlapce. Z nakresleného schématu můžeme uvažovat, že jedinci druhé generace II/2 a II/3 jsou přenašeči, stejně jako jsou přenašeči rodiče postiženého chlapce (jedinci III/3 III/4). Riziko příbuzenských sňatků tkví tedy v tom, že je zde větší šance vzniku takovýchto recesivně dědičných chorob, neboť je zde riziko, že oba příbuzní jedinci nesou mutovanou alelu, kterou zdědili od společného předka.

Gonozomálně recesivní typ dědičnosti (X-vázaná dědičnost) (hemofilie A)



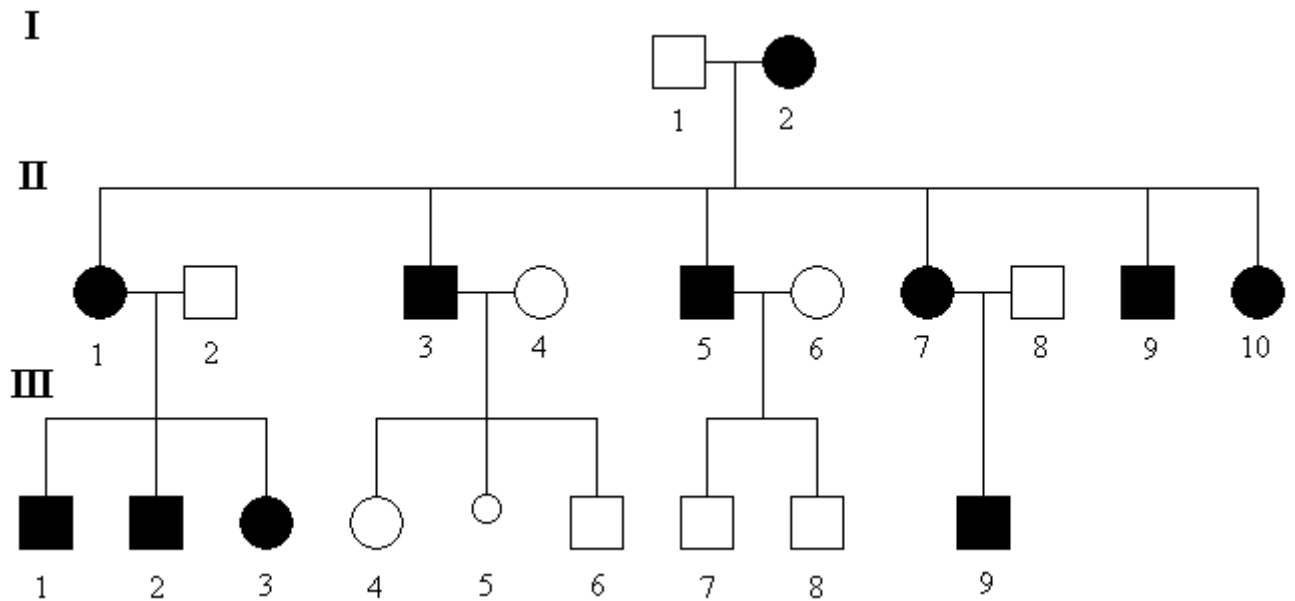
Všimněme si, že postižený muž nikdy nemůže předat X-vázanou mutaci svému synovi. Otec svým synům zásadně předává chromosom Y, tam se však gen pro hemofilii nenachází. Proto jsou všichni synové muže I/1 zdraví. Svým dcerám potom předá ve 100 % případů X chromosom s mutovanou alelou - proto jsou všechny jeho dcery přenašečky, ale jsou fenotypově zdravé. Nicméně synové těchto dcer mají 50% riziko, že budou postiženi hemofilií, jak je již vysvětleno u předcházejícího rodokmenu.

Gonozomálně dominantní typ dědičnosti (X-vázaná dědičnost) (vitamin-D rezistentní křivice)



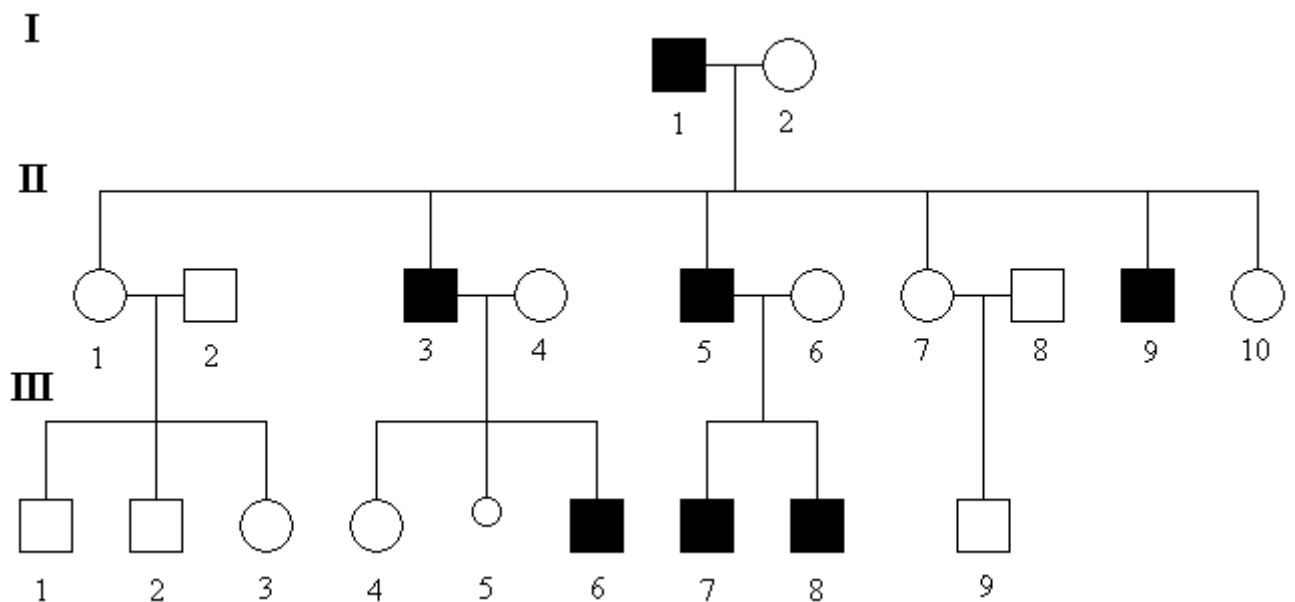
Gonozomálně dominantní typ dědičnosti je v zásadě podobný gonozomálně recesivnímu typu dědičnosti, akorát i ženy heterozygotky jsou běžně postiženy. V našem rodokmenu je postižen muž I/1. Jak jsme si již řekli, otec nikdy nepředá X chromosom svému synovi - proto jsou všichni synové ve II. generaci zdraví. Na straně druhé, otec předá dcerám vždy jen X chromosom s mutovanou alelou - proto jsou všechny jeho dcery postiženy. Děti postižených dcer pak mají jednotné 50% riziko (pro chlapce i pro dívky), že zdědí od matky X chromosom s mutovanou alelou a tím i příslušné dědičné onemocnění.

Mitochondriální typ dědičnosti (maternální dědičnost) (LHON - Leberova atrofie optiku)



Mitochondriální dědičnost je speciální typ dědičnosti, kdy se genetická informace (lokalizovaná v DNA mitochondrií) dědí **pouze po matce**. Všechny mitochondrie zygoty totiž pochází z vajíčka (spermie sice několik mitochondrií přináší, ty však zanikají a v zygotě tak zbudou pouze mateřské mitochondrie). Případnou mutaci v mtDNA (mitochondriální DNA) tak po matce získají **všechny** její děti. Naopak otec nemá možnost, jak tuto mutaci dále předávat, proto všechny děti otce s mitochondriálně dědičnou chorobou budou zdravé.

Y-vázaný typ dědičnosti (Holandrická dědičnost)



Y-vázaná dědičnost je vcelku jednoduchá na rozpoznání. Protože Y chromozom se přenáší pouze z otce na syna, pak všechny ženy jsou nepostižené, zatímco všichni synové postižené otce získají spolu s Y chromozomem i ono postižení. Na lidském Y chromozomu je lokalizováno relativně málo genů a víceméně neexistuje choroba, která by se dala označit jako Y-vázaná. Tradičně uváděným Y-vázaným znakem je zvýšené ochlupení části ušního boltce - tato hypotéza však byla postupem času zpochybněna a dnes se již neuvádí.

6) Polygenní dědičnost

Dědičnost kvantitativních znaků:

Je mnohem složitější, než dědičnost znaků kvalitativních. Na vzniku znaku se podílí více genů malého účinku a nezanedbatelný vliv zde má i vnější prostředí (potrava, světlo, teplota...) - odpovídá tedy multifaktoriální dědičnosti - viz níže. Alely buď mohou mít podíl na základní hodnotě znaku (**neutrální alely**), nebo tuto základní hodnotu nějakým způsobem upravují (**aktivní alely**). Pro přenos těchto alel opět platí pravidla monohybridismu. Projev znaku v generaci vyjadřuje Gaussova křivka. Průměrné hodnoty tudíž mají v populaci největší procento zastoupení, jedinců s extrémními hodnotami (ať již nízkými či vysokými) je mnohem méně. Mezi takovéto znaky, patří například výška jedince či průměrná hodnota krevního tlaku.

Polygenní a multifaktoriální dědičnost

V předchozím odstavci jsme se věnovali obecně dědičnosti kvantitativních znaků. Tato dědičnost může být **polygenní** či **multifaktoriální**. Oba tyto typy dědičnosti se významně liší od monogenního typu dědičnosti (kterému se věnujeme výše, v odstavcích věnovaných dědičnosti kvalitativních znaků). Rozdíl mezi pojmy polygenní a multifaktoriální dědičnost se leckdy stírá a považují se za synonyma. Ne ní to však zcela pravda. Zatímco **polygenní dědičnost** odkazuje na typ dědičnosti podmíněný pouze více geny, u **multifaktoriální dědičnosti** se zásadním způsobem uplatňují i vlivy prostředí, které pak "dotvoří" finální podobu znaku. Správně pak můžeme mluvit například o multifaktoriálním znaku s polygenní dědičností.

Heritabilita čili dědivost znaků

Pro výzkum polygenní a multifaktoriální dědičnosti lidských dědičných znaků je obzvláště užitečné **sledování dvojčat**. Dizygotní dvojčata, vyrůstající ve stejném prostředí, nám podávají obrázek o tom, jak působí stejné vnější faktory na dva jedince s odlišným (byť mírně) genotypem. Naopak monozygotní dvojčata nám poskytují unikátní možnost hodnotit dva jedince se stejným genotypem. Pokud tato monozygotní dvojčata navíc vyrůstají každé v jiném prostředí, můžeme hodnotit vliv různého prostředí na jedince se stejným genotypem. Obecně hodnotíme konkordanci (shoda - oba jedinci mají sledovaný znak) nebo diskordanci (neshoda - jedno z dvojčat daný znak nemá) pro určitý znak. Porovnáváním těchto konkordancí či diskordancí můžeme zjistit, jaká je heritabilita sledovaného znaku.

Heritabilita neboli **dědivost** je hodnota, udávající, do jaké míry je hodnota znaků závislá na genotypu jedince a nakolik je konečná hodnota znaku výsledkem působení vnějších faktorů. Označení heritability je h^2 .

6. Klinická genetika

1) Genetické poradenství

Obecně

Lékařská genetika tvoří samostatný lékařský obor. Vychází z poznatků obecné a experimentální genetiky, které využívá na zkoumání vlivu genetických a vnějších faktorů na vznik různých chorob a vad. Snaží se ovlivněním lidské reprodukce dosáhnout zdravého vývoje budoucích generací. Do budoucna se uvažuje i o možnosti ovlivňovat genetickou informaci již narozeného člověka. Klinická genetika není omezena pouze na genetické poradny. Díky provázanosti genetiky téměř se všemi dalšími obory lze očekávat, že v budoucnosti se s genetikou budeme setkávat i na dalších odděleních (již dnes najdeme genetiky např. na odděleních onkologických).

Úkoly lékařské genetiky

Prevence

I přes pokroky v [genové terapii](#), není dnes většinou možné cíleně modifikovat genetickou informaci člověka. Proto je prevence stále nejdůležitějším úkolem lékařské genetiky. Prevence souvisí se zjišťováním genetického rizika různých vad nebo chorob. Zjišťují se i rizika případných vnějších faktorů, které by mohly mít na genetickou informaci vliv. V rámci prevence vrozených vad je důležitá i role gynekologa. Na základě zjištěných fakt je hledáno optimální řešení situace.

Diagnostika

Úkolem diagnostiky je odhalit [vrozené vývojové vady](#) nebo [geneticky podmíněné choroby](#). **Prenatální diagnostika** se týká vyšetření ještě nenarozeného jedince. Naopak **postnatální diagnostika** se týká jedinců již narozených. Existují různá vyšetření biochemická, cytogenetická, molekulárně genetická či zobrazovací, na základě kterých je možné vady či choroby diagnostikovat. Vyšetřuje se **inosičství** určitých chorob, kdy jedinec sám chorobou postižen není, ovšem může tento dědičný předpoklad předat svým potomkům. Různé vady, choroby či syndromy nemusí jako první diagnostikovat genetik (bývá to třeba pediatr či internista), ovšem často je pro potvrzení diagnózy požadováno i genetické vyšetření. Řadu informací o genetickém testování najdete v kapitole [Genetické testy](#)

Léčba vad a chorob

Léčba geneticky podmíněných chorob na úrovni molekulární (tedy na úrovni DNA či RNA) je stále ve stádiu vývoje. Proto i dnes jde stále jen o péči symptomatickou, kdy se snažíme omezit projevy choroby, aniž bychom léčili její příčinu (kterou je mutace v DNA). Řadu strukturálních vrozených vad je možné řešit chirurgicky, rozhodující je leckdy časná diagnóza (například u vrozených vad srdce). Mimo chirurgie se při léčbě uplatňují i obory další.

Registrace

Výskyt vrozených vývojových vad je v České republice, stejně jako ve většině vyspělých zemí, registrován za účelem lepšího povědomí o stavu populace a úspěšnosti prenatální diagnostiky, stejně jako za účelem objevu nových faktorů vzniku těchto vad.

Informace o registraci vrozených vývojových vad v ČR najdete na stránkách www.vrozene-vady.cz

Genetická konzultace

Lékařská genetika je do velké míry založena na komunikaci s pacientem. Proto je genetická konzultace tak důležitá. Pokud má člověk obavy o případnou genetickou zátěž svých potomků, potom

by měl určitě navštívit genetika. Toho vám může doporučit váš obvodní lékař, nebo gynekolog. Jinak velké množství informací lze najít na internetových stránkách různých genetických ordinací, stačí jen do vyhledavače zadat "lékařská genetika" nebo "genetické poradenství". Také můžete zkusit nějaký z odkazů na genetická pracoviště. Naopak se nedoporučuje hledat informace na veřejných diskusích, které nejsou kontrolovány nějakým odborníkem. Informace jsou často nepřesné a mohou být zavádějící.

Důležité je si uvědomit, že veškeré informace, které lékaři poskytnete, jsou důvěrné. Genetik vás poté informuje o výsledcích vyšetření a o vašich možnostech. Genetik vám nemůže nic nařizovat, pokud si ale nevíte rady - může poradit. Vy se však v žádném případě nemusíte jeho radou řídit. Tento systém je doposud brán s mírnou nedůvěrou, neboť Češi stále nejsou zvyklí sami rozhodovat o svém zdraví, což je v tomto případě nutnost. Ke všem vyšetřením a případným zákrokům je totiž nutný souhlas pacienta. Rozhodně není důvod, mít z návštěvy genetika sebemenší obavy.

Průběh genetické konzultace je samozřejmě pokaždé jiný. Přesně vymezit nějaké schéma konzultace tedy není možné, ovšem většinou se můžeme připravit na následující:

Základním poznatkem je **rodinná anamnéza**. Genetik se zajímá o všechny členy rodiny, aby mohl vytvořit rodokmen, do kterého zaznamená výskyt chorob v této rodině. Pacient či pacientka (respektive proband či probandka) by měli být na tuto část konzultace připraveni. Určitě je dobré podat co nejkompletnější informace o své rodině. Co genetika zajímá nejvíce:

- Věk, pohlaví a zdravotní stav příbuzných probanda.
- U zemřelých jedinců příčina smrti
- Zda není některý z příbuzných tzv. nevlastní
- U nádorových onemocnění bližší určení choroby (např. zda se jedná o rakovinu prsu, prostaty atd.)

Jedná-li se o genetickou konzultaci u těhotné ženy, jsou důležité nejen informace o její rodině, ale i o rodině otce dítěte. Někdy je potřeba ještě vyžádat dokumentaci od praktického či odborného lékaře. Na základě anamnézy si genetik udělá prvotní obraz o situaci.

Po prvotním zhodnocení situace genetik může indikovat **specializovaná vyšetření**, která jsou často pro pokračování diagnostického procesu nezbytná. Někdy proband již s výsledkem určitého vyšetření ke genetikovi přichází na první konzultaci. Speciální metody prenatální diagnostiky jsou uvedeny níže. V postnatální diagnostice se nejčastěji uplatňuje **odběr periferní krve** za účelem **vyšetření karyotypu** nebo **molekulárně-genetického vyšetření**.

Při výpočtu konkrétního rizika genetik vychází ze známých typů dědičnosti (u monogenních onemocnění) nebo z modifikovaného populačního rizika a různých studií (u polygenních či multifaktoriálních onemocnění). Ne vždy je možné se ke konkrétnějšímu riziku dopracovat. Vzhledem k obrovskému množství genů, vrozených vad, dědičných chorob, potenciálních teratogenů apod. je možné, že se genetik bude muset obrátit na specializovanější pracoviště s žádostí o pomoc při zhodnocení rizika či při navržení postupu. Po zhodnocení všech vyšetření a získaných informací musí genetik pacienta seznámit s výsledky. Určité genetické souvislosti mohou být složité a je velmi důležité, aby genetik dokázal vše srozumitelně vysvětlit. Situace leckdy vyžaduje závažné rozhodnutí a pacient by měl mít k dispozici co nejvíce informací (kvantita by ale neměla být na úkor srozumitelnosti). Pacient by měl mít možnost času na rozmyšlenou, zejména v případě závažného rozhodnutí (například v případě žádosti o umělé přerušení těhotenství). Znovu je vhodné zopakovat, že rozhodující je vždy přání pacienta.

Prenatální diagnostika

Biochemický screening

Biochemické vyšetření krve, odebrané matce. Hlavní úlohou screeningu je odhalení numerických chromozomových aberací, zejména pak **Downova syndromu**. Sleduje se krevní hladina několika specifických látek, nejčastěji alfafetoproteinu (AFP), choriového gonadotropinu (HCG) a nekonjugovaného estriolu (uE3). Vyšetření těchto tří markerů se označuje jako **Triple test** (existují i jiné varianty biochemického screeningu), označovaný též jako **screening druhého trimestru**. Zvýšení AFP může ukazovat na kůži nekrytou vrozenou vývojovou vadu - například spinu bifidu (rozštěp páteře).

V současné době se i v ČR stále častěji setkáváme s tzv. **prvotrimestrálním screeningem** či též **kombinovaným screeningem**. Tento typ screeningu společně hodnotí určité biochemické markery (nejčastěji tzv. PAPP-A a beta podjednotku HCG) dohromady s výsledky ultrazvukového vyšetření (typickým markerem je **NT** neboli *Nuchal translucency*, česky *šíjové projasnění*).

Další proměnné, které rovněž ovlivňují výslednou hodnotu rizika jsou věk matky, hmotnost matky a četnost těhotenství. Screening je tzv. pozitivní při překročení určitého stanoveného rozmezí hodnot. Samotná pozitivita screeningu ovšem ještě **neznačená**, že plod je vrozenou vývojovou vadou poškozen. Screening tedy slouží jako ukazatel, že něco nemusí být zcela v pořádku. Ženám s pozitivním screeningem se doporučuje návštěva v genetické poradně pro bližší zhodnocení situace a postupu.

Amniocentéza (AMC)

Invazivní metoda, kdy je pomocí tenké jehly odebrán vzorek plodové vody přes břišní stěnu (probíhá pod ultrazvukovým dohledem). Umožňuje chromozomální a biochemické vyšetření kultivovaných i nekultivovaných buněk plodové vody (důležitý je fakt, že se jedná o buňky nesoucí genetickou informaci plodu). Riziko spontánního potratu (komplikace většinou souvisí s únikem plodové vody) je výrazně malé (cca 0,5-1,0%).

Poznámka - Často se přechází fakt, že v průběhu těhotenství stále existuje šance, že dojde k potratu. Toto riziko závisí mimo jiné na věku matky. Provedení AMC či jiné invazivní metody toto riziko zvyšuje, ovšem neprovedení AMC neznámá, že riziko potratu je nulové.

Amnio-PCR

Amnio-PCR je variantou vyšetření známého jako **QF-PCR** (kvantitativní fluorescenční PCR - více o metodě PCR v kapitole Základní metody genetického inženýrství). Toto vyšetření je zajímavým doplňkem ke standardní amniocentéze, kdy se čekání na výsledky karyotypu může protáhnout až na několik týdnů. Výsledek z amnio-PCR je naproti tomu k dispozici již do 2 dnů. Vyšetření odhalí numerické chromozomální aberace určitých chromozomů - dle použitých sond (většinou jde o chromozomy 13, 18, 21, X a Y). Vyšetření však neodhalí numerické aberace ostatních chromozomů či strukturální aberace - proto je pro definitivní diagnózu stále nutný karyotyp z kultivace.

Odběr choriových klků (CVS)

CVS (Chorionic Villus Sampling) je také invazivní metoda, která je prováděna podobným stylem jako amniocentéza. Místo plodové vody se odebírají buňky choriových klků, tzv. trofoblastu (i tyto buňky mají genetickou informaci stejnou jako plod). Za mírně zvýšené riziko komplikací oproti amniocentéze získáme materiál, ze kterého můžeme získat karyotyp mnohem rychleji než u materiálu z amniocentézy.

Jistou nevýhodou této metody je tzv. placentární mozaicismus - fenomén, kdy v malém procentu případů vznikají chromozomální abnormality v choriových klcích, ne však ve vyvíjejícím se plodu.

Kordocentéza

Kordocentéza (punkce - protětí pupečníku) je invazivní metoda sloužící k odebrání krve plodu. Z této krve je možné nejen získat lymfocyty pro cytogenetické vyšetření, ale lze provést i další testy (hematologické či biochemické).

Fetoskopie

Poslední z invazivních metod, dnes je již využívána zcela výjimečně. Do dělohy je zaveden optický nástroj (podobně jako při endoskopických operacích), díky kterému můžeme pozorovat přímo plod. Dnes je metoda většinou plnohodnotně zastupitelná ultrazukovým vyšetřením, své opodstatnění může mít stále u těžších vrozených vad s postižením kůže.

Ultrazukové vyšetření

Jedná se o neinvazivní vyšetření, které nikterak neohrožuje plod ani matku. Probíhá minimálně dvakrát v průběhu těhotenství, přesné termíny a počet vyšetření se liší dle jednotlivých pracovišť (v případě potřeby se ultrazuková vyšetření mohou opakovat). Může odhalit mnoho odchylek od normálu i přímé fyzické znaky vrozené vady. Pokud je vyšetření podstoupeno cíleně, může zachytit velké množství různých vad, jako je třeba anencefalie, Downův nebo Turnerův syndrom. Ultrazukové vyšetření se neustále vylepšuje, nicméně některé vady či některé případy určitých vad jsou na ultrazuku neidentifikovatelné.

Preimplantační genetická diagnostika (PGD)

Preimplantační genetická diagnostika je metoda, která umožňuje provést vyšetření karyotypu či genotypu embrya před jeho implantací do placenty. Těto metody je možno využít pouze při mimotělním oplodnění (IVF - In Vitro Fertilization). Na diagnostiku se odebírá jedna buňka - blastomera (či v některých případech pólóvé tělísko), jejíž genotyp a karyotyp je příslušným způsobem vyšetřen. Pokud je vše v pořádku, může být embryo implantováno. Díky této metodě je možné zachytit embrya s mutací ještě před jejich implantací do dělohy.

Poznámka - dle platné legislativy je v České republice možné umělé přerušení těhotenství na přání matky (i bez udání důvodu) pouze do 12. týdne těhotenství. Ze zdravotních důvodů - například pro těžkou vývojovou vadu plodu, je možné těhotenství ukončit až do 24. týdne těhotenství.

2) Genetické testy

Genetické testování; testy DNA a podobné pojmy se pomalu staly běžnou součástí nejen odborných textů, ale pronikly i do médií a běžného podvědomí nás všech. Přitom samotný pojem genetického testu je velice široký a leckdy nejde jen o test DNA. Za účelem lepší orientace v záplavě různých termínů byla vytvořena tato kapitola.

Genetické testy v rámci prenatální diagnostiky

Testování ještě nenarozeného jedince zaujímá specifické místo ve schématu zdravotní péče. Některé základní pojmy a informace k této problematice najdete v kapitole Genetické poradenství, nebude je proto zde zmiňovat.

Úplně nejčastějším "genetickým vyšetřením" je ve skutečnosti vlastně vyšetření biochemické. V rámci tzv. **biochemického screeningu**, který se zpracovává z periferní krve odebrané budoucí matce, se určuje případné zvýšené riziko vybraných vrozených vad. Nejedná se ovšem o genetické vyšetření, ačkoliv matky často říkají "brali mi krev na genetiku" apod.

Dalším vyšetřením ve schématu prenatální diagnózy je **vyšetření karyotypu** plodu. Materiál se získává pomocí některé **invazivní metody**, ať již amniocentézy, biopsie choriových klků či kordocentézy. Vyšetření karyotypu je genetické vyšetření, přesněji **vyšetření cytogenetické** (neboť se vyšetřují chromozomy), ovšem nejedná se o test DNA.

Novinkou v této problematice (vyšetření karyotypu) je tzv. **Amnio-PCR** (odnož metody QF-PCR; o metodě PCR viz kapitola Rekombinantní DNA). Zde se jedná o molekulárně genetické vyšetření, kde opravdu testujeme DNA. Vyšetřují se specifické markery na několika chromosomech (jedná se o chromozomy, jejichž aneuploidie – nesprávný počet – se v patogenezi chromozomálních aberací uplatňují nejčastěji – tedy 13, 18, 21, X a Y; možné jsou mírné obměny). Hodnotí se počet (respektive poměr) těchto markerů v získaném vzorku – lze tak odhalit změny v počtu těchto chromozomů, například trizomii apod. Výhodou tohoto vyšetření je jeho rychlost (oproti klasickému vyšetření karyotypu), ovšem pro svou značnou omezenou vypovídací hodnotu při identifikaci jiných typů abnormalit je nutné toto vyšetření vždy doplnit i klasickým cytogenetickým vyšetřením.

Testy DNA se v prenatalní diagnostice provádějí méně často, ovšem i s nimi se lze běžně setkat. Indikací k takovýmto testům je prokázané **nosičství mutace** (viz kapitola Mutace) příslušného genu u některého z rodičů dítěte. Materiál k těmto testům je opět nutné získat pomocí některé z invazivních metod prenatalní diagnostiky. Jedná se potom o standardní test DNA, prováděný za účelem potvrzení či vyvrácení přítomnosti hledané mutace v DNA plodu (respektive zda jde o heterozygotní či homozygotní kombinaci apod.).

Postnatální genetické testy

Po narození člověka je genetické testování o poznání snadnější. Především odpadá potřeba složitých invazivních metod pro získání vzorku. Většinou si vystačíme s pouhým odběrem periferní krve, čímž získáme vhodný materiál jak pro molekulárně genetické, tak pro cytogenetické vyšetření. Dnes se pro molekulárně genetické vyšetření stále častěji používá i stěru z bučální sliznice, který je zcela neinvazivní a je snadno proveditelný i neodborníkem (nesmí však vzorek kontaminovat). Po narození a vůbec v dospělosti se nabízí spousta možností jak a hlavně proč testovat. Testuje se z medicínských důvodů, testuje se z forenzních důvodů a dnes se testuje i z důvodů osobních, či tzv. rekreačních.

Vyšetření karyotypu

Téma vyšetření karyotypu a jeho indikace bylo již zmíněno v kapitole Chromozomy. Karyotyp je ověřován například z důvodu podezření na některý ze syndromů (viz. Chromozomální aberace), při podezření na nosičství balancované translokace či při poruchách sexuálního vývoje, **neplodnosti** nebo po několika **spontánních potratech** (vyšetřujeme oba partnery). K vyšetření samotnému jsou nejčastěji využity bílé krvinky z odebrané krve, které se ve speciálním médiu pomnoží, jejich dělení je poté přerušeno a po nabarvení jsou chromosomy připravené k pozorování v mikroskopu a vyhodnocení.

S rozvojem **molekulární cytogenetiky** (která vznikla díky zavedení molekulárně-genetických metod do cytogenetiky) se otevřela cesta k novým způsobům detekce mikrolezí a jiných chromosomálních mutací malého rozsahu, které byly předtím jen obtížně detekovatelné. Metoda **FISH (fluorescentní in situ hybridizace)** je založena na hybridizaci fluorescentně značené sondy se svým cílovým místem na příslušném chromosomu. Sonda ve fluorescenčním mikroskopu barevně září. Navržena může být tak, že pokrývá specifický úsek či sekvenci, ale třeba i celý chromosom (využitelné pro detekci komplexních přestaveb karyotypu v cytogenetice nádorových buněk).

Vyhledávání genových mutací

V rámci genetiky člověka již bylo identifikováno obrovské množství monogenně dědičných chorob (viz Genetické choroby). Aktualizovaný seznam genů a monogenních chorob nabízí databáze OMIM. V klinické praxi se však na přítomné mutace rutinně vyšetřuje pouze malá část z těchto genů. Rovněž spektrum vyšetřovaných mutací je zpravidla menší, než počet všech známých mutací v konkrétním genu. To je do jisté míry způsobeno známým fenoménem, kdy výzkum jde mílovými kroky dopředu, ovšem jeho aplikace do klinické praxe je velmi zpomalená (hlavně z příčin ekonomických). Řada genů, mutací a polymorfismů objevených v experimentu má navíc stále klinicky ne zcela jasný význam a proto jejich testování není zatím přínosné. Pro klinickou genetickou praxi většinou stačí vyšetření

základních mutací u nejčastějších geneticky podmíněných chorob. Pro ověřování vzácnějších mutací je třeba vyhledat takovou laboratoř, která patřičné vyšetření nabízí (často je nutné kontaktovat zahraniční laboratoře; celosvětovou databázi laboratoří najdete na stránce www.geneclinics.org).

Vyšetření samotné je založené na **izolaci DNA** ze vzorku, která se většinou namnoží pomocí metody **PCR** (pro bližší popis této a dalších metod – viz kapitola Základní metody genetického inženýrství). Pro vlastní identifikaci mutace je pak možné použít metody přímé či nepřímé DNA diagnostiky. Nabízí se možnost alelově specifické PCR, RFLP, HA, DGGE, TGGE, SSCP, přímé sekvenaci konkrétního genu aj.

Důležité je, že takovéto genetické testování musí být vázáno na **kvalitní genetické poradenství**. Testovaný jedinec musí být poučen o přínosu testu, jeho výpovědní hodnotě a o možnostech dalšího postupu v případě pozitivního výsledku testu.

Z etického hlediska **je nesprávné tímto způsobem testovat malé děti**, pouze na přání rodičů. Každý člověk by měl mít právo se svobodně rozhodnout, zda si takovýto test přeje, či nikoliv (ne každý si přeje vědět, že má vysoké riziko vzniku určitého typu rakoviny). V případě nemocí, u kterých nehrozí riziko z prodlení, by se měly testovat až osoby od 18, případně alespoň od 15 let věku (kdy už jsou tyto osoby schopné pochopit důsledky takového testu). Naopak u takových chorob, kde je možné časnou diagnostikou zamezit dalšímu poškození jedince, jsou tyto testy **plně opodstatněné** i u malých dětí (jedná se především o různé poruchy metabolismu).

Poznámka: Pozitivní výsledek testu v biomedicínském výzkumu a praxi znamená, že bylo nalezeno to, co se hledalo. Pokud tedy testujeme pacienta na určitou mutaci, potom pozitivní výsledek testu znamená, že testovaný tuto mutaci má (a z hlediska psychologického je pro něj výsledek testu vlastně negativní).

Testování genotoxicity

Pro ověřování **genotoxických** (mutagenních) účinků různých vnějších faktorů existuje skupina specializovaných testů. Ověřuje se jak mutagenní potenciál samotných látek (např. chemikálií) – in vitro, tak i současný stav jedince po expozici mutagenům – testy in vivo.

Amesův test je klasickým testem pro stanovení mutagenního potenciálu různých chemikálií. Původní provedení tohoto testu počítá se speciálním kmenem bakterie *Salmonella typhimurium*, který má mutovaný gen, jež bakterii umožňuje syntetizovat aminokyselinu **histidin**. Jelikož bakterie roste na živné půdě, která tuto aminokyselinu neobsahuje, nemá bakterie k této aminokyselině přístup a nepřežívá. Test probíhá tak, že tento kmen bakterie je vystaven působení zkoumané látky. Poté je sledován růst těchto kolonií na oné živné půdě bez histidinu. Procento přežívajících kolonií ukazuje na mutagenní potenciál zkoumané látky – nastane totiž "mutace mutace" – tedy **zpětná mutace**, kdy vlastně dojde k opravě původně defektního genu, čímž bakterie získá opět schopnost syntetizovat histidin (a přežít).

Test ZCHA (ZCA), neboli **Získaných Chromosomálních Aberací** nám umožňuje zhodnotit vliv mutagenů na strukturu in vivo. Provedení testu je velmi jednoduché. Po odběru periferní krve a kultivaci získaných lymfocytů hodnotíme procento aberantních buněk, tj. buněk s chromosomální aberací. Tato metoda informuje o expozici vyšetřovaného jedince mutagenům v průběhu několika posledních měsíců. Hodnoty zhruba do 3% jsou normální, mezi 3% a 5% hraniční a nad 5% vysoké. Toto vyšetření se může provádět například i v rámci preventivních prohlídek zaměstnanců pracujících v prostředí s **vyšším rizikem genotoxicity**.

Dalšími metodami v genotoxikologii jsou:

Comet assay (kometový test) - spočívá v elektroforéze celých buněk, přičemž malé fragmenty jaderné DNA (které vznikly působením mutagenních faktorů) mají tendenci vycestovat z jader, což po vizualizaci dává výsledek obrazu komety.

Sister chromatid exchange (výměna sesterských chromatid) - spočívá v pozorování výměn genetického materiálu mezi sesterskými (identickými) chromatidami (což je umožněno různým barvením), které je úměrné expozici genotoxické látky.

Micronucleus test (mikrojádrový test) - spočívá v pozorování fragmentovaného jaderného materiálu, tzv. mikrojader, které vznikly působením genotoxických faktorů.

Testy ve forenzní genetice

Testy DNA mají dnes své místo i v kriminalistice a soudním lékařství. Genetické metody dnes nabízejí dříve netušené možnosti v oblasti identifikace osob, nicméně ne vše funguje vždy tak snadno jako v televizních seriálech. Například kontaminace materiálu či jeho nedostatek, respektive nevhodnost pro genetickou analýzu, mohou způsobit, že i ty nejlepší metody selžou. S namnožením genetického materiálu pro analýzu pomáhá metoda PCR.

V rámci identifikace osob a určování příbuzenského poměru (viz testy otcovství níže) se využívá tzv. **STR (Short Tandem Repeats)** – krátkých tandemových repetit (někdy označované jako **mikrosatelity**). Jde o specifické sekvence DNA, které se vyskytují (ve velkém množství) rozptýlené v genomu. Jedná se o repetice (nejčastěji CA dvojice nukleotidů) jejichž počet opakování v konkrétním lokusu je pro každého jedince specifický. Konkrétní počet repetit se zjistí díky metodě PCR a následné elektroforéze fragmentů. Lze tedy vytvořit spolehlivý genetický profil jedince. Přesnost je velmi vysoká – hovoří o tom jak neoficiální název této metody (**DNA fingerprinting** – doslova genetické otisky prstů), tak skutečnost, že jde o soudy běžně uznávaný důkaz.

Základní dva úkoly forenzní genetiky jsou **identifikace pachatele** a **identifikace oběti**. Pro identifikaci pachatele lze použít veškerý genetický materiál (krev, vlasy, sperma...), zanechaný na místě činu, na těle oběti apod. Genetický profil takto získaného vzorku je třeba porovnat s materiálem získaným od podezřelého, či z DNA registru pachatelů (je-li v příslušné zemi zřízen).

Pokud není možná identifikace těla oběti standardními metodami (vizuální identifikace, otisky prstů, zubní karta aj.), je možné použít test DNA (opět za předpokladu, že lze zajistit dostatečné množství genetického materiálu vhodného pro analýzu). K porovnání je třeba nalézt vzorek DNA prokazatelně patřící oběti, nejčastěji zanechaný na osobních předmětech (hřeben, oděv, hygienické potřeby...). V případě, že takový vzorek nelze zajistit, je možné porovnat vzorek DNA oběti se vzorkem od některého z příbuzných (musí jít samozřejmě o pokrevního příbuzného).

Poznámka: získávání materiálu pro test DNA z mrtvých těl není výsadou pouze forenzní genetiky. I v klinické genetické praxi je občas nutné (v rámci komplexního vyšetřování širší rodiny; k tomuto postupu se přistupuje zejména u rodinného výskytu nádorového onemocnění s možnou dědičnou příčinou) požádat o vzorek tkáně zemřelého (s takovou žádostí je nutné se obrátit na patologický ústav, kde byl zemřelý pitván, a kde je šance, že byly uloženy tkáňové bločky určené pro histologické vyšetření); pokud však nebyla provedena pitva či nebyly uschovány vzorky tkáně, potom nezbývá než se bez vzorku tohoto jedince obejít.

Testy otcovství

Tímto názvem se označuje nejčastěji prováděná varianta příbuzenských testů. Vychází ze starého známého pravidla – matka je vždy známá, otec je neznámý. Nicméně v potřebném případě (třeba při identifikaci biologické matky adoptovaného dítěte) lze tento typ testů provést i jako "test mateřství". Princip je totiž stejný a většinou odpovídá výše uvedenému genetickému profilu, získaného pomocí PCR amplifikace STR repetit. Jelikož potomek získává polovinu své celkové genetické informace od každého z rodičů, můžeme vysledovat, po kterém rodiči má které STR repetice. S každým z rodičů by měl potomek mít právě 1/2 shodné DNA (v tomto případě STR repetit). Pokud analýza prokáže, že rodič nemá s potomkem shodné STR repetice – je otcovství (respektive mateřství) vyloučeno.

Testy otcovství jsou dnes běžně nabízeny řadou soukromých firem (více či méně) specializovaných na genetické testování. Test stojí několik tisíc korun a je běžné provést jej anonymně. Testovací sadu (obsahující nejčastěji pomůcky k provedení bukalního stěru pro dvě osoby – dítě a testovaného rodiče) je možné objednat si přes internet a materiál k vyšetření je možné zaslat poštou. To sice zvyšuje komfort zákazníka, při špatném zacházení ale může dojít ke kontaminaci vzorku. Obecně je (vzhledem k závažnosti možných následků testu) dobré na tomto testu nešetřit a raději si zaplatit dražší test, ovšem u **certifikované firmy**, která má v této oblasti již určité zkušenosti.

Etická otázka těchto testů je problematická. Testy otcovství mají totiž řadu odpůrců, kteří tvrdí, že podobné testy vedou často k rozvratu jinak spokojených rodin. Na druhou stranu je nutné si uvědomit, že jedinou vadou správně provedeného testu otcovství je ta skutečnost, že dokáže odhalit pravdu.

Genografické testy

Jde o relativní novinku v oblasti genetického testování. Tyto testy, které lze objednat u soukromých firem, mají přiblížit území, ze kterého nejpravděpodobněji pocházel váš předek a další doplňující informace. Praktické využití této informace není velké (ačkoliv v budoucnosti možná i tyto informace budou přínosem pro personalizovanou medicínu), ovšem pro zájemce (genealogy či antropology, byť jen amatérské) může mít cenu velkou.

Pro tyto testy je zapotřebí izolovat z DNA takové sekvence, které se za mnoho století relativně nezměnily, a jejichž přenos z rodičů na děti po mnoho generací dnes funguje jako pojítko s minulostí.

U mužské linie se používá několik vybraných **haplotypů z chromosomu Y**. Tento chromosom se dědí výhradně z otce na syna a tyto sekvence zůstávají v průběhu generací (téměř) neměnné.

U žen je možné stopovat **mitochondriální DNA (mtDNA)**, která se pro změnu dědí pouze po matce (dostávají ji všechny děti oné matky).

Prediktivně-genetické testy

Prediktivní genetika je odvětví genetiky specializující se na **odhad rizik** (určitých chorob) na základě vyšetření DNA. V budoucnosti se dá očekávat, že by na základě komplexního genetického vyšetření bylo možné předpovědět riziko vzniku určitých **multifaktoriálně dědičných chorob** (jako jsou choroby kardiovaskulárního systému apod.).

Již dnes je možné si podobné testy u některých firem objednat. Řada vědců a odborných společností ovšem upozorňuje, že problematika komplexních chorob je stále nedořešená. Výpovědní hodnota takovýchto testů je tedy nejistá a odborníci před nimi prozatím varují.

Mikrobiologické testy

Na závěr je vhodné zmínit se o genetických testech, využívaných v klinické mikrobiologii. Diagnostika různých patogenních mikroorganismů pomocí molekulárně-genetických metod (nejčastěji pomocí metod PCR, LCR aj.) výrazně urychlila diagnostiku některých chorob, respektive přítomných patogenů. Na druhou stranu, při klasické kultivaci bakterií na agaru lze rovnou zjistit citlivost patogenu na antibiotika, což metoda PCR nedokáže.

3) Vyšetření karyotypu

Indikace k vyšetření karyotypu

V rámci klinické genetiky se karyotyp vyšetřuje relativně často. Toto vyšetření je u dospělého člověka (či dítěte) relativně nenáročné, neboť stačí odebrat krev (viz výše). Komplikovanější je vyšetření karyotypu plodu, neboť buněčný materiál je potřeba získat pomocí některé z invazivních metod

prenatální diagnostiky (viz Genetické poradenství). Toto vyšetření je zcela dobrovolné a vázané na poučený souhlas.

Vyšetření karyotypu indikujeme u:

- těhotných žen, u kterých je **zvýšené riziko vrozené vývojové vady** (v případě pozitivního biochemického či ultrazvukového screeningu či pozitivní rodinné anamnézy)
- těhotných **žen nad 35 let**, u kterých je obecně zvýšené riziko chromosomálních aberací, zvláště pak Downova syndromu (u této a předcházející možnosti se samozřejmě provádí vyšetření karyotypu plodu)
- novorozenců a dětí, u kterých je důvodné **podezření na některou chromosomální aberaci**.
- dospívajících a dospělých, u kterých nacházíme **poruchy puberty či pohlavního vývoje**
- **neplodných** párů, u kterých byly vyloučeny jiné příčiny neplodnosti, nebo u párů s několika **spontánními potraty**
- zájemců o **dárcovství vajíček či spermií**

4) *Geneticky podmíněné choroby*

Monogenní genetické choroby jsou důsledkem mutací, jejich ovlivnění vnějším prostředím bývá minimální. Databáze **OMIM** (Online Mendelian inheritance in man), přístupná na adrese <http://www.omim.org/>, obsahuje v současnosti přes 5000 popsanych monogenních chorob.

Samotná podstata genetických chorob může být různá. V některých případech metabolických chorob je na vině nedostatek enzymu, který katalyzuje určitou metabolickou dráhu (případ klasických metabolických chorob jako jsou fenylketonurie nebo galaktosemie). V jiných případech může být na vině porucha syntézy strukturní částice buňky (např. membránových kanálů u cystické fibrózy nebo membránových receptorů u familiární hypercholesterolemie) nebo je poškozena syntéza strukturního proteinu, což se dotýká celých tkáňových systémů (osteogenesis imperfecta, svalové dystrofie). Často lze následek deficitu produktu mutovaného genu odvodit logicky (mutace v genech pro syntézu globinových řetězců způsobují příslušné hemoglobinopatie; nedostatek některých srážecích faktorů způsobuje hemofilii atd.).

Je třeba si uvědomit, že ne vždy negativně působí deficit produktu, ale díky mutaci se může syntetizovat pozměněný produkt, který může mít mnohem negativnější vliv, než jeho samotný nedostatek. V potaz je také nutno brát všechny biochemické a fyziologické interakce, které se týkají sledovaného produktu.

Choroby autozomálně recesivně dědičné

Fenylketonurie: (PKU, Hyperfenylalaninémie, Föllingova nemoc, fenylketonurická oligofrenie)

Vrozená porucha metabolismu aminokyseliny fenylalaninu (nelze nasyntetizovat příslušný enzym - fenylalaninhydroxylasu), který nemůže být přeměněn na tyrosin, a tudíž jeho hladina v krvi stoupá a odbourává se na jiné produkty (kyselina fenylmléčná, fenylpyrohroznová a fenylloctová). To vede k poškození CNS a následné mentální zaostalosti. U postižených jedinců musí být dodržována přísná dieta, potom je onemocnění relativně bezproblémové. Neléčené onemocnění může CNS způsobit těžké defekty. Existují i varianty způsobené deficitem jiných enzymů, nebo lehčí varianty s částečně zachovanou enzymovou aktivitou. Matky i s lehčí formou onemocnění musí během těhotenství dietu přísně dodržovat, jinak hrozí poškození vývoje plodu. Výskyt onemocnění v populaci je asi 1 : 10000. Dědičnost - **autozomálně recesivní**

Galaktosemie: Chybí enzym pro trávení galaktosy (často Galaktosa-1-fosfáturydyltransferasa), která se hromadí v organismu a alternativní cestou se metabolizuje na galaktitol. Ten působí toxicky na játra, mozek (vznik mentální retardace), ledviny a oční čočky a může vést k jejich poškození až slepotě. Neléčené onemocnění vede až ke smrti jedince. Galaktosa je mléčný cukr a proto musí být nemoc u novorozenců rychle diagnostikována a jako terapie nasazena bezmléčná dieta.

Výskyt asi 1 : 60000.

Dědičnost - **autozomálně recesivní**

Cystická fibrosa: Viníkem choroby je mutace CFTR (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) genu, díky které je kódován vadný protein, a ten způsobí nefunkčnost membránových iontových kanálů v postižených buňkách. Jde o jedno z nejčastějších autozomálně recesivních onemocnění člověka (asi 1 : 2500). Postihuje žlázy s vnitřní sekrecí (pankreas, játra). V plicích se navíc tvoří vazký hlen, vedoucí k respiračním potížím. Sekundární infekce dýchacích cest může vést až k vážnému poškození plic, i smrti. Ucpávání žlučových vod zase vede k poruchám trávení. U postižených žen je plodnost snížena, muži bývají neplodní.

Dědičnost - **autozomálně recesivní**

Leprechaunismus: (Syndrom Donohue, Dysendokrinismus) Velmi vzácné onemocnění, poprvé popsáno v roce 1954. Postižení mají silné rty, velká ústa, vyhublý obličej s "groteskním" výrazem. Dále byly popsány zvětšené pohlavní orgány, psychomotorická retardace a hyperinzulinemie. Většina postižených umírá v prvních měsících (až letech) života.

Dědičnost - **autozomálně recesivní**

Friedreichova ataxie: Patří mezi onemocnění vyvolaná zmnožením trinukleotidových repetitiv (vyvolaná dynamickými mutacemi). Projevem je ataxie - poškozená je koordinace motorických pohybů, snížena je funkce šlachových a vřetenkových reflexů a některých částí sensitivity. Ztížena je i řeč.

Dědičnost - **autozomálně recesivní**

Choroby autozomálně dominantně dědičné

Familiární hypercholesterolemie: Způsobena mutací genu, kódujícího membránový receptor pro LDL (low density lipoproteins). LDL jsou skupina lipoproteinů, která transportuje většinu cholesterolu. Při absenci membránových receptorů pro LDL dochází ke kumulaci LDL a cholesterolu v krevním řečišti a poškození cév. Postižení jedinci mají mnohem vyšší riziko vzniku infarktu myokardu, než zbytek populace. Většinu postižených jedinců tvoří heterozygoti, homozygoti pro mutovanou alelu jsou obzvláště těžce postiženi.

Dědičnost - **autozomálně dominantní** (neúplná dominance)

Syndaktylie, polydaktylie: Srůst, respektive znásobení několika prstových článků. Onemocnění je relativně časté, ale dá se velmi dobře řešit chirurgickou cestou v raném věku.

Dědičnost - **autozomálně dominantní** nebo dle příslušného asociovaného syndromu

Brachydaktylie: Projevuje se krátkými, zavalitými prsty. Často též malý vzrůst + krátké ruce a nohy. Rozsah je velmi variabilní.

Dědičnost - **autozomálně dominantní** nebo dle příslušného asociovaného syndromu

Arachnodaktylie: Hlavním projevem jsou nepřírozeně dlouhé a tenké prsty. Taktéž celé končetiny mohou být abnormálně dlouhé a tenké. Vyskytuje se i jako součást různých syndromů (viz Marfanův syndrom)

Dědičnost - **autozomálně dominantní** nebo dle příslušného asociovaného syndromu

Huntingtonova chorea: Onemocnění je způsobeno zmnožením CAG tripletů (vzniká dynamickou mutací). Onemocnění se projevuje, pokud počet repetitiv přesáhne 40. Onemocnění má značně pozdní nástup až mezi 35. a 45. rokem věku. Po nástupu choroby dochází k degenerativním změnám na mozku, což se projevuje motorickými poruchami (neúčelné pohyby, chorea) a progresivní demencí. Dochází k celkovým změnám osobnosti a postižení umírají.

Dědičnost - **autozomálně dominantní**, při mezigeneračním přenosu často dochází k dalšímu zmnožení repetitiv

Marfanův syndrom: Mezi příznaky patří arachnodaktylie (dlouhé a tenké prsty), nadměrný vzrůst, dlouhý a úzký obličej s prominujícím nosem, dlouhé a tenké končetiny. Vyskytují se srdeční vady. Délka života bývá zkrácena, někdy se vyskytují náhlá úmrtí.
Dědičnost - **autozomálně dominantní**

Leidenská mutace: (Faktor V Leiden) Dědičná trombofilie (zvýšená srážlivost krve). Při delším znehybnění mají trombofilici vysoké riziko tromboembolické choroby (TEN). V cévách se utváří tromby (krevní sraženiny), které se mohou utrhnout - vzniká embolus, který způsobí embolii a tím i smrt postiženého.
Nejvýznamnější mutací, způsobující dědičnou trombofilii, je tzv. "Leidenská mutace" (vzniká tzv. FVL - Faktor V Leiden, což je pozměněný faktor V hemokoagulační kaskády). Heterozygoti mají zvýšené riziko vzniku tromboembolie, homozygoti jsou zatíženi mnohem vyšším rizikem oproti běžné populaci.
Dědičnost - **autozomálně dominantní**

Osteogenesis imperfecta: Jde o dědičnou poruchu tvorby kolagenu. Vyznačuje se vysokou náchylností kostí k frakturám a deformitami kostry (skolióza, trojúhelníkovitá tvář). Přítomné mohou být i vady kardiopulmonálního systému. Existuje několik různě závažných typů této choroby.
Dědičnost - **autozomálně dominantní**

Choroby gonozomálně dědičné:

Gonozomálně dědičné choroby jsou vázány na gonozomech. V drtivé většině jde o choroby vázané na **chromozomu X**. Proto také někdy gonozomální dědičnost označujeme jako dědičnost **X-vázanou**.

Gonozomálně recesivní choroby postihují většinou muže. Ženy bývají častěji přenašečky a jen zřídka jsou samy postiženy (recesivní homozygotky). Vzhledem k tomu, že u ženy je v každé buňce jeden z X chromozomů inaktivován (a to zcela náhodně, bez ohledu na to, zda nese mutovanou alelu nebo ne), mohou i heterozygotky vykazovat určité příznaky onemocnění, s ohledem na to, kolik buněk obsahuje inaktivovaný X chromozom se zdravou alelou.
Gonozomálně dominantní choroby postihují obě pohlaví, postižený otec však nikdy nepředá nemoc svému synovi, zatímco všechny jeho dcery budou postiženy (samozřejmě uvažujeme X-vázanou dědičnost).

Hemofilie: Hemofilie je vrozená nesrážlivost krve. Rozlišuje se hemofilie A, podmíněná dysfunkcí srážlivého faktoru VIII (jeden z faktorů hemokoagulační kaskády, která je zodpovědná za srážení krve) a hemofilie B, způsobená nedostatkem faktoru IX. Klinicky jsou oba typy stejné, projevují se krvácením do měkkých tkání, svalů i kloubů.
Dědičnost - **gonozomálně recesivní**

Daltonismus: Jedna z vrozených příčin barvosleposti. U postižených chybí, nebo je omezena schopnost rozlišit červenou a zelenou barvu.
Dědičnost - **gonozomálně recesivní**

Svalové dystrofie: Duchennova (DMD) a Beckerova (BMD) svalová (muskulární) dystrofie jsou X-vázané poruchy syntézy dystrofinu, což je jeden ze strukturních proteinů svalových tkání. U postižených se v raném dětství začne projevovat svalová slabost, která začíná progresivně omezovat motoriku jedince. Charakteristickým projevem jsou hypertrofická lýtka.

Duchennova svalová dystrofie má závažnější prognózu; úbytek hybnosti je rychlý a postižení umírají okolo 20. roku života na srdeční nebo respirační selhání.

Beckerova svalová dystrofie má mírnější a více variabilní průběh.
Dědičnost - **gonozomálně recesivní**

Syndrom fragilního X chromozomu: Jde o jednu z nejčastějších příčin vrozené mentální retardace (po Downově syndromu). Jak název napovídá, je příčina nemoci spojena s fragilním místem na X chromozomu (Xq27). U jedinců s tímto syndromem nacházíme v těchto místech zmnožení

trinukleotidových repetit, přičemž 200 repetit se považuje za hraniční limit pro manifestaci onemocnění. Kromě středně těžké mentální retardace patří k projevům onemocnění i hyperaktivita, charakteristický vzhled (protažený obličej, zvětšené ušní boltce, prominující brada, zvětšená varlata). Onemocnění postihuje především chlapce, mírnou mentální retardaci mohou vykazovat i některé ženy - přenašečky.

Dědičnost - **gonozomálně recesivní**

Vitamin D rezistentní rachitis: Jde o jeden z typů křivice, která je rezistentní vůči léčbě vitamínem D. Jedna z menšího množství gonozomálně dominantních chorob. Projevem je klasická křivice s možnými dalšími kostními deformitami.

Dědičnost - **gonozomálně dominantní**

Globinová onemocnění:

Hemoglobin je červené krevní barvivo, schopné vázat (prostřednictvím atomu dvojmocného železa) kyslík. Skládá se z prostetické skupiny hemu a proteinové složky - globinu. Rozlišuje se několik typů hemoglobinů, obecně embryonální, fetální a dospělé typy, které se liší jednotlivým zastoupením globinových řetězců a afinitou ke kyslíku. Hemoglobin A (HbA), který tvoří naprostou většinu hemoglobinu u dospělých jedinců, se skládá ze dvou řetězců α a dvou řetězců β .

Srpková anemie: (Sickle cell anemia) Těžká, dědičná forma hemolytické anemie. Příčinou je bodová mutace v β globinovém řetězci, díky které se syntetizuje pozměněný produkt (hemoglobin se označuje jako HbS). Erytrocyty pacientů se za určitých podmínek zkroucí do srpkovité podoby. Dochází k ucpávání kapilár a zvětšení sleziny, která má sníženou funkci. Onemocnění je recesivně dědičné, heterozygoti jsou zdraví, pouze za výjimečných okolností se u nich mohou objevit nějaké potíže. Heterozygoti jsou mnohem odolnější proti malárii, než zdraví jedinci; v oblasti výskytu malárie tvoří heterozygoti až polovinu populace.

Dědičnost - **autozomálně recesivní**

Thalasémie: Jedny z nejobvyklejších monogenních chorob světa, časté především ve středomoří. Rozlišuje se **alfa-thalasémie** a **beta-thalasémie**, podle toho, který řetězec hemoglobinu má poškozenou syntézu. Druhý řetězec se syntetizuje v normálním množství, vzhledem k situaci je však v relativním nadbytku. Zatímco alfa řetězec je kódován v genomu 4 alelami, pro beta řetězec jsou k dispozici pouze alely 2. Proto může mít thalasémie variabilní rozsah postižení, v závislosti na tom, kolik alel kterého řetězce je mutováno. Projevem je různě těžká hemolytická anémie.

Dědičnost - **autozomálně recesivní** (Při posuzování projevu je třeba mít na paměti o který typ thalasémie se jedná)

Mitochondriálně dědičné choroby

Mitochondriálně dědičné choroby jsou způsobeny mutacemi v mitochondriální DNA (mtDNA) a dědí se pouze po matce. Většina takovýchto mutací je spojena s poruchou energetické funkce mitochondrie, proto se tyto mutace projevují zejména poruchami energeticky náročných orgánů, jako je třeba nervový systém nebo zrakové ústrojí. Většinou mají pozdější nástup (až v dospělém věku.)

Leberova atrofie optiku: Jde o onemocnění s nástupem na začátku dospělosti a projeví se rychlým, progresivním a oboustranným ubýváním zraku a následnou slepotou. Dochází k atrofii zrakového nervu (*n. opticus*). Onemocnění je častější u chlapců.

Dědičnost - **maternální** (mitochondriální)

5) Chromozomové aberace

Chromozomové aberace jsou mutace na chromozomální úrovni. Můžeme je rozdělit na strukturní (jako jsou různé delecce či inverze chromozomů), nebo numerické. K numerickým aberacím řadíme buď **euploidie**, kdy je znásobena celá chromozomová výbava (**triploidie**, **tetraploidie**)

nebo **aneuploidie**, kdy se početní odchylka týká pouze některého chromozomu (**trizomie**, **monozomie**).

Podrobnosti o jednotlivých typech chromozomových mutací najdete v příslušné kapitole.

Strukturní aberace jsou následkem chromozomových zlomů, na které následuje určitá přestavba. Mohou vznikat spontánně nebo jako následek působení různých vnějších faktorů. Dělíme je na balancované (kdy je zachováno původní množství genetického materiálu) a nebalancované (kdy část genetického materiálu chybí či přebývá).

Numerické aberace vznikají díky chybě při rozchodu chromozomů do dceřiných buněk během buněčného dělení (tzv. **nondisjunkce**). Tetraploidie jsou s životem neslučitelné a embryo se přestane vyvíjet poměrně záhy; i triploidie v drtivé většině případů končí časným spontánním potratem. Taktéž trizomií a monozomií přežívá jen malé procento (jde o aberace určitých chromozomů - vizte dále).

Numerické odchylky autozomů

Downův syndrom: Způsoben trizomií 21. chromozomu (vyskytují se i mozaiky a Robertsonské translokace). Výskyt asi 1 / 700. Riziko výskytu Downova syndromu se prudce zvyšuje s věkem matky, určitou hranicí k podrobnějšímu vyšetřování je u nás 35. rok věku matky. Manifestace: zpomalený vývoj, hypotonie, různý stupeň mentální retardace, velký jazyk, široké ruce, krátké prsty, malý nos a ústa. Délka života může dosáhnout až normálních hodnot, největšími riziky jsou případné vrozené vady srdce a zvýšené nebezpečí vzniku leukémie.

Edwardsův syndrom: Trizomie 18. chromozomu. Výskyt se pohybuje okolo hodnoty 1 / 8000. Manifestace: malformace některých vnitřních orgánů (malformované srdce), malá ústa a nos, duševní zaostalost, prominující záhlaví, malformace ušních boltců. Typické je postavení prstů na ruce, kdy 2. a 5. prst jsou překříženy přes 3. a 4. 90% postižených umírá do 6 měsíců po narození.

Patauův syndrom: Trizomie 13. chromozomu. Výskyt 1 / 20000 - 1 / 25000. Manifestace: časté rozštěpy rtu a patra, častá polydaktylie, anomálie obratlů, malformace ušních boltců, těžké vrozené vady vnitřních orgánů (srdce, ledviny pohlavní orgány), hluchota, psychomotorická retardace. Prognóza je velmi špatná, asi polovina postižených umírá do konce prvního měsíce po narození.

Numerické odchylky gonozomů

Turnerův syndrom: Karyotyp 45,X - monozomie chromozomu X (časté jsou i jiné genotypy - v úvahu přichází např. mozaika, strukturní aberace druhého X chromozomu atd.). Výskyt asi 1 / 10000 narozených dívek (velké množství případů tohoto syndromu končí spontánním potratem). Manifestace: opožděný sexuální vývoj, malá postava, většinou sterilita, absence sekundárních pohlavních znaků. Syndrom není spojen s poruchou intelektu.

Klinefelterův syndrom: Podmíněno karyotypem 47,XXY (může být i třeba 48,XXXY, 48,XXYY nebo 49,XXXXY). Výskyt asi 1 / 1000 narozených chlapců. Manifestace: Neplodnost, průměrný až vysoký vzrůst, u všech forem hypogonitismus (zmenšené pohlavní orgány), gynekomastie.

Syndrom 3X (Triple X): Karyotyp 47,XXX (opět s možností výskytu dalšího nadpočetného X chromozomu). Dříve známý jako Superfemale (doslova "superžena") Výskyt asi 1 / 1000 narozených dívek. Manifestace: mírná mentální retardace (avšak vzácně), omezená plodnost (způsobená nadpočetným X chromozomem). Většina případů není diagnostikována pro minimální fenotypový projev.

Syndrom XYY: Karyotyp 47,XYY (dříve známý jako Supermale - doslova "supermuž"). Výskyt asi 1 / 1000 narozených chlapců. Manifestace: může být vyšší postava, snížená plodnost (způsobená nadbytečným Y chromozomem), vzácně mírná mentální retardace. Dřívější předpoklady o zvýšených sklonech k agresi nebyly potvrzeny. Většina případů není diagnostikována pro minimální fenotypový projev.

Strukturní aberace

Syndrom Cri du Chat: Syndrom kočičího křiku. Způsoben delecí na p raménku (krátkém raménku) 5. chromozomu. Manifestace: pláč připomínající mňoukání kočky, malformované ušní boltce, mentální retardace, vrozené vady srdce.

Mikrodeleční syndromy

Mikrodeleční syndromy jsou způsobeny chyběním (delecí) malých chromozomálních úseků. V podstatě jde tedy o strukturní aberace.

Praderův-Williho syndrom: Způsoben delecí úseku 15q11-q13 na **paternálním** chromozomu (nebo uniparentální dizomií mateřského chromozomu 15 - stavem, kdy oba pacientovy chromozomy jsou od jednoho rodiče, v tomto případě od matky). Tento fenomén je způsoben vlivem genetického **imprintingu**.

Vlastním projevy syndromu jsou hypotonie, strabismus, psychomotorická retardace a přejídání, které způsobuje progresivní obezitu.

Angelmanův syndrom: Způsoben delecí úseku 15q11-q13 na **maternálním** chromozomu (případně uniparentální dizomií otcovského chromozomu). Charakterizován těžkou mentální retardací, poruchami růstu a vývoje. Postižení jedinci mají "veselý" výraz obličeje (syndrom je někdy označován jako happy puppet syndrome) a vykazují křečovitě neúčelné pohyby.

Syndrom Charcot-Marie-Tooth: Jedna z forem tohoto syndromu může být způsobena delecí či duplikací úseku 17p12. Syndrom je charakteristický degenerací motorických i senzitivních nervových zakončení distálních částí končetin, spojený se svalovou atrofií v příslušných oblastech.

Di-Georgův syndrom: Způsoben delecí úseku 22q11. U postižených nacházíme srdeční vady, mentální retardaci, malformace v obličejové krajině, absenci thymu a příštítných tělísek (asociace CATCH 22).

Cat eye syndrom: Způsoben duplikací úseku 22q11. Kromě charakteristického vzhledu očí může být přítomna mentální retardace a různé malformace v obličeji.

6) Vrozené vývojové vady

Vrozené vývojové vady (**VVV**) jsou defekty orgánů, ke kterým došlo během prenatálního vývoje plodu a jsou přítomny při narození jedince. Postihují v různém rozsahu okolo 3 % novorozenců. Prevenci vrozených vývojových vad a jejich včasnou diagnostikou se zabývá genetické poradenství.

Příčiny vzniku

Příčinou vzniku VVV mohou být změny genetické informace - tedy mutace nebo různé vnější vlivy. Tyto vnější faktory, které VVV způsobují (mají teratogenní účinek), označujeme jako **teratogeny**.

Příklady vrozených vývojových vad

Spina bifida

Patří mezi poruchy vývoje neurální trubice, která dává za vznik CNS. Rozštěp páteře - porucha splynutí obou polovin obratlového oblouku, což může mít za následek prolaps obsahu páteřního kanálu. Existují dvě formy, lehčí - uzavřená forma Spina bifida occulta a těžší forma - Spina bifida cystica, která již postihuje i míchu. K nejzávažnějším komplikacím patří

hydrocefalus a možnost infekce nervové soustavy. Prognóza závisí na míře i místě postižení míchy. Původ neznámý - uvažuje se o kombinaci dědičných i nedědičných faktorů.

Anencefalus

Anencefalie je další typ postižení neurální trubice, který se vyznačuje různě velkou absencí mozku a v extrémním případě i míchy. Součástí jsou často malformace dalších orgánů (končetin, zažívacího traktu...). Setkáváme se s deformitami lebky (acrania - chybění calvy). Jde o vadu neslučitelnou se životem, postižení jedinci se rodí mrtví nebo umírají během několika dní po narození. Dědičnost není zcela známa, nejpravděpodobnější je multifaktoriální dědičnost, uvažuje se i o autozomálně recesivní či X-vázané dědičnosti.

Encefalokéla

Taktéž jde o defekt neurální trubice, tentokrát jsou poškozeny membránové i kostěné obaly, které obalují mozek. Část mozku se tímto defektem dostává skrze lebku v útvaru krytém kůží i mozkovými plenami. Často je tato vada spojená s mikrocefalií (abnormálně malou calvou), poměrně častý je i hydrocefalus. Míra úmrtnosti závisí na závažnosti, pohybuje se mezi 60 - 100% (u extrémně komplikovaných případů).

Hydrocefalus

Hydrocefalus je vrozená vada charakterizovaná nahromaděním většího množství mozkomíšního moku v komorovém systému mozku (hydrocefalus internus) nebo mezi mozkem a dura mater (hydrocefalus externus). To je často spojeno s deformitami lebky (makrocefalie - nadprůměrně velká calva). V důsledku toho se sekundárně zvětšuje velikost hlavičky plodu a dochází k poškození dalšího vývoje mozku (atrofie mozku). Existuje řada příčin vzniku. Vrozený hydrocefalus se může vyskytovat samostatně nebo jako součást různých syndromů. Může být zapříčiněn i prodělanými infekcemi během těhotenství (toxoplazmóza) nebo hypersekrecí mozkomíšního moku.

Omfalokéla

Omfalokéla je defekt břišní stěny, který je charakteristický vyhrěznutím střevních kliček do pupečníku. Defekt je způsoben nedokonalou repozicí fyziologické hernie (střevní kličky se nevrátí zpět z pupečního stvolu při vývoji gastrointestinálního traktu). Omfalokéla může být doprovázena vadami srdce a vylučovací soustavy.

Gastroschíza

Jde taktéž o defekt břišní stěny s výhřezem orgánů dutiny břišní. Na rozdíl od omfalokély je postižena paraumbilikální krajina (není zasažen pupek). Asi ve čtvrtině případů je gastroschíza doprovázena další vadou gastrointestinálního traktu.

VVV srdce

Vrozené vývojové vady srdce jsou jedny z nejčastějších vůbec. Velmi častou vadou je defekt předsíňového nebo komorového septa, tyto defekty se však často ani neprojeví. K život ohrožujícím VVV srdce patří např. stenóza plicnice, transpozice velkých tepen nebo koarktace aorty.

Do skupiny vrozených vývojových vad se řadí i některé další [genetické choroby](#) a [chromozomové aberace](#).

Prevence

V rámci prevence vrozených vývojových vad je nutné mít na paměti několik doporučení. Rodiče by se měli před početím dítěte pokud možno co nejdéle vyvarovat kontaktu s různými mutageny (například různá riziková pracoviště s vystavením záření, chemikáliím atd.), které by mohly poškodit genetickou

informaci pohlavních buněk. Během těhotenství by se pak matky měly pokud možno vyhýbat všem teratogenním faktorům, měly by těhotenství přizpůsobit svůj životní styl (tedy stravu, psychickou i fyzickou zátěž) a neměly by vynechávat pravidelné kontroly u gynekologa. Zvláště ženy by pak neměly pořízení potomka zbytečně odkládat po 35. roku věku, po kterém znatelně stoupá riziko vzniku VVV, zejména různých chromozomových aberací.

Kyselina listová

Kyselina listová (*Acidum Folicum*) je součástí komplexu vitamínů B. Bohatými zdroji jsou kvasnice, játra a listová zelenina. Uvádí se, že její nedostatek ve stravě ženy může způsobovat vrozené vady neurální trubice (anencefalus, spina bifida....); někteří autoři uvádějí i vliv na vznik rozštěpových vad obličeje. Denní dávka by se měla pohybovat mezi 0,4 mg (denní minimum) a 4mg (u rizikových případů).

Při zvyšování vitamínových dávek je vhodné se o množství poradit s odborníkem, protože i vyšší příjem vitamínů může působit nepříznivě a větší množství vitamínu A může mít dokonce prokázané teratogenní účinky.

7) Onkogenetika

Nádorová onemocnění obecně

Nádorová onemocnění jsou stále velkým problémem moderní medicíny. I v dnešní době jsou jednou z nejčastějších příčin úmrtí. Stále diskutovanou otázkou pak je, nakolik jsou nádorová onemocnění způsobována negativními vnějšími vlivy během života a nakolik jsou podmíněny dědičně.

Vznik nádorového onemocnění je složitý, mnohastupňový proces. Tedy aby buňka prošla procesem **maligní transformace**, je nutná účast mnoha faktorů. Nádorová buňka se oproti normální liší především svou nekontrolovanou schopností dělit se. Buněčný cyklus je velmi přesně a citlivě regulovaný děj. Na regulaci se podílí velké množství genů a jejich produktů. Narušení určitých genů tedy může "odblokovat" kontrolní mechanismy buněčného cyklu a způsobit nekontrolované dělení oné buňky.

V nádorových buňkách tudíž nacházíme mutace v určitých genech (typy zúčastněných genů - viz níže). Tyto mutace mohou být vrozené (familiární výskyt určitých nádorů) nebo jsou způsobeny až během života jedince různými mutageny - **kancerogeny**.

Kancerogeny (karcinogeny) jsou mutagenní faktory, které svým účinkem způsobují (nebo napomáhají vzniku) nádorového onemocnění. Kancerogeny dělíme (stejně jako obecně mutageny) na:

- Fyzikální (např. různé formy záření)
- Chemické (různé chemikálie, např. aromatické uhlovodíky)
- Biologické (především různé onkogenní viry)

Protoonkogeny a onkogeny

V buněčném genomu se vyskytují geny, jejichž narušení (mutací) má přímý vliv na proces maligní transformace. Jedná se o geny, které mají za normálních podmínek určitou strukturní funkci (příklady - viz níže). V tomto stádiu se nazývají **protoonkogeny**; plní svoji obvyklou funkci a nemají žádné negativní vlivy na buňku. Je však třeba si uvědomit, že i normální vliv protoonkogenů je většinou promitotický (tedy podporující dělení buňky); narozdíl od tumor - supresorových genů (viz níže), které svým normálním účinkem naopak dělení buňky brání.

Onkogeny jsou tytéž strukturní geny, ovšem již určitým způsobem mutované. Jak již název napovídá, je jejich vliv na buňku čistě negativní ("rakovinotvorný"). Ačkoliv se v genomu buňky každý gen

vyskytuje ve dvou kopiích, u protoonkogenů stačí mutace v jedné kopii genu k odstartování maligní transformace (můžeme se setkat s označením - dominantní onkogeny).

Jak jsme již řekli, protoonkogeny fungují jako normální strukturní geny buňky. Kódují především:

- Různé růstové faktory a jiné látky, ovlivňující růst buněk
- Receptory pro růstové faktory
- Faktory zúčastněné při přenosu signálu v buňce (transdukční mechanismy)
- Faktory zúčastněné při regulaci genové exprese (transkripční faktory)

Připomeňme si, že základní osa regulace buněčného růstu a dělení je tato:

Syntéza růstového faktoru → růstový faktor → příslušný receptor → přenos biosignálu z receptoru → výkonné mechanismy, často interagující s jadernou DNA → výsledné ovlivnění buněčného cyklu

Jak vidíme, mutace protoonkogenu tak může tento proces narušit v kterékoli jeho fázi. Nicméně v každém případě je modifikován výstup tohoto procesu a tím je kontrola buněčného cyklu.

Mezi protoonkogeny patří například: SRC, FOS nebo JUN

Nejčastěji u protoonkogenů dochází k těmto typům mutací:

- Bodovým mutacím, které naruší původní sekvenci nukleotidů a způsobí zařazení odlišné aminokyseliny nebo předčasné ukončení translace (vznik STOP kodonu)
- Chromosomovým přestavbám, kdy dochází k narušení sekvence genu, nebo k přemístění genu k vysoce aktivní promotorové sekvenci (gen bude přepisován mnohem častěji než za normálních podmínek)
- Znásobením (amplifikací) sekvence genu v genomu buňky

Mutace v buněčném genomu vedoucí k maligní transformaci mohou být způsobeny také onkogenními viry (nejčastěji jde o retroviry – viz onkogenní viry).

Pomalou transformující viry naruší inzercí své sekvence do genomu buňky sekvenci některého z protoonkogenů (inzerce vysoce aktivního genového promotoru způsobí zvýšení transkripce). Maligní transformace buňky po infekci těmito viry je pomalejší než u rychle transformujících virů - viz níže.

Rychle transformující viry obsahují přímo ve své virové genetické informaci některý z onkogenů (dostal se do kapsidy při chybném vyštěpení vložené virové sekvence při resyntéze virových částic v průběhu virové infekce buňky). Inzercí této genetické informace do dalších infikovaných buněk dojde k amplifikaci sekvence určitého onkogenu v buňce a k rychlejšímu nástupu maligní transformace.

Některé viry nemodifikují přímo genom buňky, ale mají onkogenní účinek díky působení virových proteinů na regulátory buněčného cyklu a další faktory.

Tumor - supresorové geny

Jak již název napovídá, **tumor - supresorové geny** potlačují vznik nádorového onemocnění. Jejich prvotní funkcí je tedy regulace buněčného cyklu, čímž zabraňují, aby se buňka začala nekontrolovaně dělit. Na rozdíl od onkogenů, musí být obě kopie tumor - supresorového genu v buňce vyřazeny z funkce (proto se můžeme také setkat s označením - recesivní onkogeny), aby mohlo dojít k procesu maligní transformace.

Tyto geny hrají důležitou roli při dědičnosti nádorových onemocnění. V normální zdravé buňce je zapotřebí, aby mutace postihla postupně obě kopie konkrétního tumor - supresorového genu. Pokud

však jedinec po některém z rodičů zdědí již jednu kopii tumor - supresorového genu mutovanou (lze ho tedy považovat za heterozygota), potom stačí aby mutace postihla jen jednu kopii genu - tu zdravou (V této souvislosti se hovoří o tzv. **Knudsonově teorii dvojího zásahu**, kdy prvním zásahem je myšleno "zdědění" první mutované kopie po některém z rodičů a jako zásah druhý je označována mutace druhé kopie genu v průběhu života).

Lidé s těmito dědičnými předpoklady mají znatelně zvýšenou šanci, že u nich dojde k rozvoji určitého nádorového onemocnění.

Nejznámější tumor - supresorové geny jsou TP53 a RB1.

TP53 gen a jeho produkt - **protein p53** zastávají velmi významnou úlohu při regulaci buněčného cyklu. Především zajišťují, aby se buňka nezačala dělit, pokud je její jaderná DNA nějakým způsobem poškozena. Pokud není genetická informace buňky v pořádku - dochází činností p53 především ke dvěma typům odpovědi:

Prvním typem odpovědi je pozastavení buněčného dělení a pokus o opravení poškozené DNA (zde se uplatňuje především **protein p21**).

Druhým typem odpovědi je potom navození apoptózy, pokud se ukáže, že poškození DNA je příliš velké a neopravitelné (zde se uplatňují induktory apoptózy např. **bax**).

Pro velký význam pro zachování stability genetické informace se genu TP53 přezdívá "**strážce genomu**".

RB1 gen je důležitý pro udržení buňky v klidovém stavu (v interfázi). Zabraňuje nechtěnému spuštění procesu dělení buňky. Jeho produkt - **protein p105 RB** (či jednoduše **RB protein**) - váže v normálním stavu faktor potřebný k přechodu do S fáze buněčného cyklu (E2F transkripční faktor). Při fyziologické aktivaci buňky k dělení je potom inhibiční aktivita RB proteinu inaktivována fosforylací. Fosforylovaný RB protein je neaktivní.

RB1 gen je rovněž známý díky své úloze při vzniku retinoblastomu - viz níže.

Další geny

Na vzniku nádorového onemocnění se mohou dále uplatnit další geny. Jsou to především **geny udržující stabilitu genomu** (s reparační funkcí, někdy též nazývané "**mutátorové geny**") a **geny regulující apoptózu**.

Při ztrátě funkce mutátorových genů (obou kopií) dochází k častějšímu poškození DNA a riziko vzniku nádorového onemocnění tak stoupá.

Poškozená regulace apoptózy se může negativně projevovat jak nepřiměřeně častým spouštěním apoptózy, tak i sníženou schopností (či neschopností) buněk apoptotický proces spustit (právě tato skutečnost zvyšuje riziko maligní transformace buňky, které nezahyne při poškození DNA apoptózou).

Vznik a růst nádoru

Předchozí řádky se převážně věnovaly genetickým procesům, které způsobují, že se normální buňka přemění v buňku nádorovou. Již výše bylo uvedeno, že vznik nádorového onemocnění je mnohastupňový proces. Ve skutečnosti je zapotřebí třeba i 5 či 6 zásahů do normálního stavu buňky, aby se tato změnila na buňku rakovinnou. Tyto zásahy pak zahrnují výše popsané mutace protoonkogenů i tumor - supresorových genů, dále genů mutátorových, regulujících apoptózu či určitým způsobem regulujících buněčný cyklus. Jen vzácně způsobí jediná mutace maligní transformaci sama o sobě.

Nádorové buňky se od normálních buněk liší zejména:

- Schopností neomezeného růstu (ztráta kontaktní inhibice pozorovatelná *in vitro*, schopnost invazivního růstu *in vivo*)
- Schopností růstu i bez stimulace růstovými faktory
- Nesmrtelností (nádorové buňky se nedělí jen po omezený počet generací jako normální buňky)
- Tvorbou určitých membránových antigenů, specifických pro nádorové buňky (TAA - Tumor associated antigen). Naopak tvorba normálních antigenů může být potlačena.
- Pro nádorové buňky je typická vysoká chromosomální nestabilita. Nádorové buňky mají často změněný počet chromosomů a vykazují i časté chromosomální přestavby.

V živém organismu je růst nádoru zpočátku prudký, později se zpomaluje. Největším nebezpečím u zhoubných nádorů je jejich schopnost **metastázovat**. Metastázování je schopnost nádorových buněk cestovat lymfatickým nebo krevním řečištěm z místa primárního nádorového ložiska, uchytit se a na tomto novém místě vytvořit sekundární nádorové ložisko. Dochází tak k šíření nádorových buněk po celém těle.

Vybraná onemocnění

Retinoblastom - Jedná se o maligní nádor sítnice. Jedná se o závažné onemocnění, které neléčené končí až ztrátou zraku nebo dokonce smrtí. Existují sporadicky se vyskytující případy retinoblastomu (většinou unilaterální forma - postiženo je jen jedno oko), stejně jako rodinný výskyt, kdy retinoblastom vykazuje dědičnost (zde jde většinou o oboustrannou - bilaterální formu).

Familiární forma retinoblastomu je onemocnění způsobené mutací **RB1 genu**. Pokud jedinec dostane od rodiče již jednu kopii RB1 genu mutovanou, potom má neúměrně vyšší šanci, že se u něj onemocnění rozvine - proto je bilaterální forma retinoblastomu tak častá u postižených s dědičnými předpoklady. Jde tedy o recesivní mechanismus vzniku onemocnění - příznačný pro dědičná nádorová onemocnění, způsobená mutací tumor - supresorového genu. V rodokmenu se potom toto onemocnění projevuje jako autozomálně dominantní s neúplnou penetrancí (jde tedy o to, že již jedna mutovaná alela z páru přináší tak vysoké riziko vzniku nádoru, že v rodokmenu potom vykazuje dominantní typ dědičnosti; nádor se však nemusí rozvinout vždy, protože je zde stále nutnost vyřazení i druhé alely).

Li-Fraumeni syndrom - Li-Fraumeniův syndrom je dědičné onemocnění, způsobené mutací **TP53 genu**. Fenotypově je onemocnění velice variabilní - projevy zahrnují nádory prsů, mozku, jiných měkkých tkání nebo třeba i leukémii. Na tomto onemocnění je dobře patrné, jak důležitou a rozsáhlou funkci má TP53 jako tumor - supresorový gen.

Neurofibromatóza - Existují dva typy neurofibromatózy. Typ 1 (syndrom von Recklinghausen) je způsoben mutací **NF1 genu**. Projevuje se hlavně vznikem benigních nádorů (tzv. neurofibromů) a bílými až kávovými skvrnami na kůži. Zvýšené je riziko vzniku různých maligních nádorů.

Typ 2 je způsoben mutací **NF2 genu**. Projevuje se například nádory nervové tkáně (hluchota, mentální postižení, poruchy rovnováhy).

Hereditární karcinom prsu - Většina karcinomů prsu se vyskytuje sporadicky (tedy bez přímé souvislosti s dědičností). Existují však i formy s významnou dědičnou komponentou. V této souvislosti potom nacházíme nejčastěji mutace genů **BRCA1** a **BRCA2**.

Familiární adenomatózní polypóza - Jde o jednu z nejčastějších forem rakoviny tlustého střeva. Vznik tohoto onemocnění je dlouhodobý a zahrnuje několik různých kroků, než se onemocnění finálně rozvine. Typickým znakem je mutace **APC genu**, spojená s mutací **DCC genu**. U postižených jedinců se v tlustém střevě vytváří velké množství útvarů - polypů, které jsou z počátku benigní, ale časem začnou být i maligní a onemocnění se stává nebezpečnějším.

Hereditární nepolypózní karcinom tlustého střeva - Toto onemocnění je vzácnější formou karcinomu tlustého střeva, která se neprojevuje vznikem polypů. Příčinou je mutace v některém z mutátorových genů (například **MLH1**, **MLH3**, **MSH2**, **MSH6**, **PMS1**, nebo **PMS2**). Pokud je postiženo pouze tlusté střevo - označuje se onemocnění jako **Lynchův syndrom I**. Pokud jsou postiženy i další orgány (žaludek, žlučník, pankreas), používá se označení **Lynchův syndrom II**.

Burkittův lymfom - Jde o monoklonální lymfom z B-lymfocytů. Příčinou je translokace onkogenu **c-myc** z 8. chromosomu na jiný chromosom, kde se vloží do genu, který kóduje část molekuly imunoglobulinu (tyto geny jsou na chromosomech 2, 14 a 22; translokace tedy probíhá mezi 8. a některým z těchto chromosomů.); rozvoj malignity souvisí s velkou transkripční aktivitou těchto imunoglobulinových genů. Zdá se, že vznik Burkittova lymfomu může zapříčinit i infekce virem Epsteinova a Barrova (EBV).

Chronická myeloidní leukemie - Toto onemocnění je charakteristické recipročnou translokací mezi dlouhými raménky 9. a 22. chromosomu - t(9;22) - tato přestavba se nazývá **Filadelfský chromosom**. Touto přestavbou vzniká hybridní gen, jehož produkt je zcela nefyziologický a prokazatelně způsobuje maligní transformaci.

Syndromy chromosomální nestability - Jedná se o autozomálně recesivně dědičné choroby, způsobené mutacemi v DNA reparačních genech. Tato neschopnost reparace způsobuje nejen přímý projev choroby, ale zároveň u všech těchto onemocnění nacházíme zvýšenou pravděpodobnost vzniku maligního nádoru.

Patří sem například:

- Ataxia teleangiectasia
- Bloomův syndrom
- Fanconiho anémie
- Xeroderma pigmentosum

Rozsáhlejší informace naleznete v kapitole hereditární nádorové syndromy.

8) Hereditární nádorové syndromy

Hereditární nádorové syndromy představují skupinu nádorových onemocnění, u kterých lze pozorovat silný vliv dědičnosti na jejich rozvoj. Určité diagnózy nádorových onemocnění opravdu mají tendenci vyskytovat se v určitých rodinách opakovaně. Typicky se jedná například o nádory prsu či tlustého střeva. Důležité je ovšem upozornit, že naprostá většina nádorů není dědičných, ale vznikají tzv. **sporadicky**, tedy bez rozhodující dědičné příčiny.

Samotný proces onkogeneze (vizte též kapitolu Onkogenetika) je zdlouhavý a mnohostupňový; genetická predispozice může tento proces podstatně urychlit; jako jiné predispozice se ale rovněž uplatnit nemusí. V případech hereditárních nádorových syndromů je ovšem genetická predispozice často natolik silná, že vede k rozvoji příslušného onemocnění ve velké většině případů.

Pro hereditární nádorové syndromy jsou (oproti sporadickým výskytům) charakteristické následující projevy:

- Opakovaný výskyt příslušného nádorového onemocnění v rodině.
- Nízký věk při diagnóze nádorového onemocnění (často 35 let i méně!).
- Vícenásobný či opakovaný výskyt nádorového onemocnění u postižené osoby.

Z hlediska genetické patogeneze jsou hereditární nádorové syndromy spojeny s:

- Mutacemi tumor-supresorových genů
- Mutacemi mutátorových genů

- Některými geneticky podmíněnými chorobami a komplexními syndromy

Typicky jde zejména o mutace tumor-supresorových genů. Tyto mutace mají recesivní charakter, tedy ke kompletnímu vyřazení tumor-supresorového genu je zapotřebí vyřazení (mutace) obou alel tohoto genu (vizte dále - Knudsonova teorie dvou zásahů). z hlediska klinické genetiky se tyto hereditární nádorové syndromy ovšem dědí **autozomálně dominantně** (byť s neúplnou penetrancí). Důvodem je skutečnost, že vrozená (zárodečná) mutace příslušného tumor-supresorového genu je výrazným rizikem pro rozvoj příslušného onemocnění, které se tak rozvíjí u naprosté většiny osob s příslušnou zárodečnou mutací.

Knudsonova teorie dvou zásahů

Klasická teorie vzniku hereditárního nádorového onemocnění vyslovená Knudsonem pracuje s tzv. **dvěma zásahy**. Tumor-supresorový gen je totiž zcela vyřazen z funkce až mutací obou jeho alel. V případě sporadického výskytu nádorového onemocnění je potřeba, aby byla buňka postižena dvěma zásahy po sobě, které postupně vyřadí obě alely příslušného genu. Naopak, pokud člověk již mutaci jedné alely příslušného genu zdědil (první zásah) - stačí pak v každé tělesné buňce jakýkoliv další zásah ke kompletnímu vyřazení funkce příslušného genu (druhý zásah).

Riziko u jiných syndromů

Zvýšené riziko vzniku nádorového onemocnění může být i u jiných komplexních syndromů - např.:

- Downův syndrom (až 20x vyšší riziko vzniku leukémie)
- Turnerův syndrom
- Syndrom fragilního X chromozomu

Nejčastější hereditární nádorové syndromy

Retinoblastom (OMIM: [180200](#))

- Vzácný maligní nádor vycházející z retiny
- Mutace **RB1** (13q14.1-14.2) tumor-supresorového genu
- 40% pacientů má vrozenou mutaci; častěji bilaterální forma
- Manifestace do 5 let věku
- Příznaky: Leukokorie, strabismus
- Bez léčby je onemocnění smrtelné, ale léčba je úspěšná až u 95% pacientů
- Zvýšené riziko sekundárního nádorového onemocnění - sarkomy měkkých tkání a osteosarkomy, nádory mozku, plic a prsu
- Rb protein (p105 Rb) váže v defosforylovaném stavu E2F transkripční faktor a blokuje tak vstup do S-fáze buněčného cyklu
- Úloha proteinu p16 (inhibitor CDK)

Syndrom Li-Fraumeni (OMIM: [151623](#))

- Syndrom zvýšeného rizika vzniku nádorového onemocnění
- Mutace **TP53** (17p13.1) tumor-supresorového genu
- Vysoce variabilní fenotyp:
 - Osteosarkomy a sarkomy měkkých tkání
 - **Karcinom prsu**
 - Adenokarcinom dřeně nadledvin
 - Nádory CNS
 - Leukémie
 - Častý výskyt nádorů v rodině ("nádorové rodiny")
- Velmi **časný nástup** nádorového onemocnění
- Možná i asociace s mutací CHEK2 genu (22q12.1)
- TP53 - "strážce genomu"

- Protein p53 reaguje na poškození jaderné DNA:
 - Zastavením buněčného cyklu v G1 fázi (via p21 - CDK inhibitor)
 - Indukce opravy DNA (via GADD45)
 - Indukce apoptózy (via BAX)

Hereditární karcinom prsu a ovarií (OMIM: [114480](#))

- Hereditární karcinom prsu tvoří asi jen 10% všech případů
- Nejčastěji způsoben mutacemi genů **BRCA1** (17q21) a **BRCA2** (13q12.3)
- Zhruba v 10 - 20% procentech případů jde o jiné geny (např. TP53, PTEN, PALB2, STK11, hMSH2, hMLH1)
- Riziko vzniku karcinomu vaječníků (vyšší u BRCA1 než u BRCA2)
- U mutace BRCA2 genu existuje riziko vzniku dalších nádorů - karcinom prostaty, žaludku, vejcovodu, pankreatu
- Odpovídá rovněž zhruba za 10 - 20% karcinomu prsu u mužů

Neurofibromatóza typ 1 (OMIM: [162200](#))

- Syndrom von Recklinghausen
- Různě závažné onemocnění podmíněné mutací **NF1** genu (17q11.2)
- Typické projevy:
 - Skvrny "**café-au-lait**" (světlehnědé, v 90% se objeví do 5 let věku)
 - **Neurofibromy** (mnohočetné uzlíky; kutánní, subkutánní a plexiformní)
 - Lischovy uzlíky (hamartomy iris)
 - Dále kostní změny, poruchy pigmentace, gliomy n. opticus, postižení intelektu, epilepsie nebo stenózy a. renalis
- Rizika vzniku různých nádorových onemocnění: gliomy CNS, neurofibrosarkom, rhabdomyosarkom, feochromocytom, leukémie

Neurofibromatóza typ 2 (OMIM: [101000](#))

- Centrální neurofibromatóza; vzácnější než NF typu 1
- Mutace **NF2** genu (22q12.2)
- Nádory CNS (meningeomy, astrocytomy, ependymomy, schwannomy míšních kořenů), hamartomy sítnice
- Typický - **bilaterální neurinom akustiku**, mnohočetné meningeomy
- Nacházíme zde skvrny "café-au-lait" ale ne Lischovy uzlíky
- Celkově vyšší morbidita a mortalita než u NF typu 1

Wilmsův tumor (OMIM: [194070](#))

- Častý solidní tumor dětského věku, ovšem jen přibližně 1% případů má hereditární příčinu
- Mutace **WT1** genu (11p13)
- **Nádor ledviny** (uni/bilaterální) charakterizovaný shluky buněk embryonálního nefrogenního blastému
- Možná asociace se sporadickou aniridií (WAGR syndrom)
- Někdy v asociaci s Neurofibromatózou typu 1, mutací BRCA1 genu či Bloomovým syndromem
- WT1 tumor - supresorový gen kóduje transkripční faktor (zinc finger) zúčastněný v diferenciaci urogenitálního traktu

Familiární adenomatózní polypóza (OMIM: [175100](#))

- Kolorektální karcinom na základě mnohočetných adenomatózních polypů u mladých jedinců
- Mutace v genu **APC** (5q21-q22)
- Mnohostupňový proces maligní transformace x až 100% penetrance
- Výskyt polypů je typický i pro vyšší oddíly GIT (např. duodenum)
- Dále možný výskyt hepatoblastomu, nádorů CNS a štítné žlázy

Hereditární nepolypózní kolorektální karcinom

- Heterogenní skupina chorob
- Dělení dle OMIMu:
 - **HNPCC typ 1** (OMIM: [120435](#); gen MSH2; 2p22-p21)
 - **HNPCC typ 2** (OMIM: [609310](#); gen MLH1; 3p21.3)
 - **HNPCC typ 3** (OMIM: [600258](#); gen PMS1; 2q31-q33)
 - **HNPCC typ 4** (OMIM: [600259](#); gen PMS2; 7p22)
 - **HNPCC typ 5** (OMIM: [600678](#); gen MSH6; 2p16)
 - **HNPCC typ 6** (OMIM: [190182](#); gen TGFBR2; 3p22)
 - **HNPCC typ 7** (OMIM: [604395](#); gen MLH3; 14q24.3)
- Familiární výskyt **nepolypózního kolorektálního karcinomu**
- Mutace především v genech udržujících stabilitu genomu (mutátorové geny)
- Dříve označováno jako syndromy Lynch I a Lynch II
- Kromě nepolypózního kolorektálního karcinomu zahrnuje i výskyt dalších maligních nádorů:
 - Nádory endometria
 - Nádory ovarií
 - Nádory žaludku
 - Nádory tenkého střeva
 - Nádory pankreatu

Syndrom Von Hippel - Lindau (OMIM: [193300](#))

- Onemocnění s mnohočetnými projevy; mutace genu **VHL** (3p25)
- Angiom retiny
- **Hemangioblastomy** mozečku, míchy a prodloužené míchy
- Karcinom ledviny
- Feochromocytom
- Nádory pankreatu

Mnohočetná endokrinní neoplázie

- Heterogenní skupina chorob
- MEN1
 - Mnohočetná endokrinní neoplázie typ 1A (OMIM: [131100](#)) - Mutace MEN1 genu (11q13)
 - Mnohočetná endokrinní neoplázie typ 1B (OMIM: [610755](#)) - Mutace CDKN1B genu (12p13)
 - Nádorové onemocnění různých endokrinních orgánů
 - Postihuje především: Příštítná tělíska (hyperkalcémie), Adenohypofýzu, Langerhansovy ostrůvky
 - Dále také: duodenální gastrinomy, karcinoidy, nádory štítné žlázy
 - Většina nádorů produkuje příslušné hormony (jsou hormonálně aktivní)
 - Příčina až 50% případů Zollinger-Ellisonova syndromu
 - Příčina až 20% případů primárního hyperaldosteronismu
- MEN2
 - Mnohočetná endokrinní neoplázie typ 2A (OMIM: [171400](#)) - Mutace RET (MEN2) protoonkogenu(!) (11q13)
 - Mnohočetná endokrinní neoplázie typ 2B (OMIM: [162300](#)) - Mutace RET (MEN2) protoonkogenu(!) (11q13)
 - Nádorové onemocnění různých endokrinních orgánů
 - Medulární karcinom štítné žlázy z parafolikulárních buněk
 - Feochromocytom
 - Adenom (hyperplázie) příštítných tělísek
 - U typu **MEN2B** se navíc vyskytuje charakteristické postižení periferního nervového systému, autonomních nervových plexů v oblasti střev a muskuloskeletární abnormality

Familiární maligní melanom (OMIM: [155600](#))

- Mimo maligní melanom je onemocnění často provázeno i dalšími nádorovými projevy
- Spojeno s mutacemi různých genů:
 - CMM1 (1p36)
 - **CMM2** (9p21) – produktem je protein **p16** respektive p14
 - CMM3 (12q14)
 - CMM4 (1p22)

Cowdenův syndrom (OMIM: [58350](#))

- Mutace genu **PTEN** (10q23.31) nebo BMPR1A (10q22.3)
- Karcinom prsu; folikulární karcinom štítné žlázy

Peutz–Jeghersův syndrom (OMIM: [175200](#))

- Mutace genu **STK 11** (19p13.3)
- Karcinomy GITu, karcinomy gonád

Hereditární papilární karcinom ledviny (OMIM: [164860](#))

- Mutace protonkogenu (!) **MET** (7q31)
- Karcinom ledviny; někdy **papilokarcinom**

Familiární karcinom žaludku (OMIM: [192090](#))

- Mutace genu **CDH1** (16q22) – kóduje **E-kadherin**
- **Karcinom žaludku** (jedna z variant!)

Névoidní basocelulární karcinom (OMIM: [109400](#))

- Mutace genu **PTCH1** (9q22.3)
- **Basaliom kůže**, meduloblastom, fibromy ovaria

Tuberózní skleróza (OMIM: [#91100](#))

- Mutace genu TSC1 (9q34) nebo TSC2 (16p13) (případně TSC3 či TSC4)
- Tvorba **hamartomů** v mnoha orgánových systémech

Syndromy chromozomální nestability

Ataxia teleangiectasia (OMIM: [208900](#))

- Mutace v genu **ATM** (11q22.3) – kóduje Fosfatidylinositol 3-kinasu (enzym je součástí signální dráhy reagující na poškození DNA)
- Onemocnění je autozomálně recesivně dědičné
- **Mozečková ataxie**; přítomnost teleangiektazií; **imunodeficit**
- Zvýšená citlivost na ionizující záření (chromozomální zlomy)
- Až o 38% větší riziko vzniku nádorového onemocnění – nejčastěji **leukémie**; později epiteliální nádory

Bloomův syndrom (OMIM: [210900](#))

- Mutace v genu BLM (15q26.1) – kóduje RECQ PROTEIN-LIKE 3 (protein má mimo jiné DNA – helikasovou aktivitu)
- Onemocnění je autozomálně recesivně dědičné
- Nízká porodní hmotnost; trpaslictví; **imunodeficit**; fotosenzitivita
- Zvýšené riziko vzniku nádorového onemocnění

- **Lymfoproliferativní onemocnění**
- Karcinomy ve všech oddílech GIT

Fanconiho anémie (OMIM: [227650](#))

- Mutace v některém ze skupiny genů (FANCA, FANCB, -C, -D1, -D2, -E, -F, -G, -J, -L, -M, -N)
- Produkty těchto proteinů se zúčastňují reparace DNA
- Onemocnění je autozomálně recesivně dědičné
- **Pancytopenie**; poruchy růstu; mentální poruchy; možná i hluchota
- Sklon k maligní transformaci; nejčastější jsou **leukémie**

Xeroderma pigmentosum

- Heterogenní skupina onemocnění
- Mutace v některém ze skupiny genů (XP-A, -B, -C, -D, -E, -F, -G)
- Produkty těchto proteinů se zúčastňují reparace DNA
- Jejich mutace způsobuje **výraznou fotosenzitivitu** (UV záření)
- Onemocnění je autozomálně recesivně dědičné
- Hlavními projevy jsou makulózní **hyperpigmentované skvrny**
- Dále pak **hyperkeratózy, keratomy, fibromy, keratosarkomy**
- Riziko kožních nádorů je u postižených osob až 2 000x (!) vyšší
- Je zvýšené i riziko vzniku dalších malignit (karcinomy, sarkomy, melanomy, neurinomy, adenokarcinomy)

Nové poznatky

Nové geny

U řady hereditárních nádorových syndromů je patogeneze komplexní a nelze ji simplifikovat na účinek základních genů. Komplexní patogeneze nádorových syndromů je nadále předmětem výzkumu a jsou objevovány nové a nové geny, kterou mohou mít pro rozvoj příslušného nádorového onemocnění významnou roli.

Příklad – **Hereditární karcinom prsu** – geny BRCA1 a BRCA2

Genokopie – **Li Fraumeni sy.** (TP53); **Cowdenův sy.** (PTEN); **Peutz-Jegherův sy.** (STK11)

Další zúčastněné geny u hereditárního karcinomu prsu (dle OMIMu): BRCA3, BRCATA, RAD54L, CASP8, BARD1, PIK3CA, HMMR, NQO2, RB1CC1, SLC22A1L, ATM, KRAS, XRCC3, AKT1, RAD51A, PALB2, CDH1, TP53, PHB, PPM1D, BRIP1, CHEK2

Souhrnná tabulka

Nádorové onemocnění	Mutace v genu
Retinoblastom	Rb1
Li-Fraumeni syndrom	TP53
Hereditární karcinom prsu a ovarií	BRCA1, BRCA2
Neurofibromatóza typ 1 a 2	NF1, NF2
Wilmsův tumor	WT1

Familiární adenomatózní polypóza	APC
Hereditární nepolyp. kolorektální karcinom	hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2
Von Hippel-Lindau syndrom	VHL
Mnohočetná endokrinní neoplázie typ 1 a 2	MEN1, MEN2
Ataxia teleangiectasia	ATM
Bloomův syndrom	BLM
Fanconiho anémie	FANC (skupina genů: -A, -B, -C ...)
Xeroderma pigmentosum	XP (skupina genů: -A, -B, -C ...)

9) *Primární imunodeficiency*

Genetické podmíněné choroby jsou způsobeny mutacemi v lidské DNA. Tyto mutace mohou mít různé následky. Z hlediska imunologie jsou zajímavé takové mutace, které způsobí poruchy syntézy proteinů, určitým způsobem se podílejících na funkci imunitního systému. Důsledky těchto mutací jsou různě závažné vrozené dysfunkce imunitního systému, označované jako **primární imunodeficiency**. Imunodeficiency je stav, kdy vlivem určité příčiny není imunitní systém jedince stoprocentně funkční a tento jedinec je náchylnější k infekčním onemocněním. Na rozdíl od sekundárních imunodeficiencí, u kterých je příčina choroby získána až v průběhu života jedince, je tedy u primárních deficiencí příčina přítomná již od samého počátku a závisí pouze na charakteru onemocnění, kdy a jak se projeví.

Příčiny primárních imunodeficiencí

V současné době je již popsáno více než 100 primárních imunodeficiencí. Pokroky posledních let v molekulární diagnostice a v identifikaci genů pomohly definitivně lokalizovat zodpovědný gen a osvětlit mechanismus vzniku u řady chorob.

Většina těchto imunodeficiencí vykazuje recesivní typ dědičnosti; dominantní typ dědičnosti je známý, ale velmi vzácný. U některých velmi vzácných typů primárních imunodeficiencí byl zaznamenán pouze sporadický výskyt bez popsaného familiárního výskytu. Existují i typy s předpokládanou multifaktoriální dědičností, které tak stojí na rozhraní mezi primárními a sekundárními imunodeficiencemi. Relativně velké množství zodpovědných genů je lokalizováno na X chromosomu. To u člověka v praxi vede k tomu, že chlapci bývají až dvakrát častěji postiženi primárními imunodeficiencemi než dívky. Nicméně i u dívek - přenašeček se mohou některé klinické projevy příslušné imunodeficiency manifestovat; jako u ostatních X-vázaných chorob, i zde toto závisí na tom, jak proběhl u konkrétní dívky proces lyonizace. Ostatní geny zodpovědné za vznik primárních imunodeficiencí jsou lokalizovány na autosomech.

Z příčin nelze opominout ani některé komplexní syndromy, mezi jejichž projevy patří i určité dysfunkce imunitního systému. Vzhledem k příčině jde o některé mikrodeleční syndromy či syndromy spontánní chromosomové nestability.

Primární imunodeficiency snižují funkčnost imunitního systému, a tím i obranyschopnost organismu, který je tak náchylnější k rozličným patogenům.

Jak již bylo řečeno, příčinou těchto deficiencí je mutace v genetické informaci člověka. Dosazením do centrálního dogmatu molekulární genetiky pak získáme následující schéma (zjednodušené):

Mutovaná DNA → mRNA s nestandardní sekvencí → dysfunkční (eventuelně žádný) protein → poškozená funkce

Podle poškozené funkce, která může být součástí systému specifické i nespecifické imunity, jsou potom primární imunodeficiency klasifikovány. Rozlišujeme:

- Protilátkové deficiency
- Buněčné deficiency
- Kombinované deficiency
- Poruchy komplementového systému
- Poruchy apoptózy
- Poruchy fagocytózy
- Deficiency jako součásti jiných typických syndromů
- Jiné (např. poruchy cytokinů a cytokinových receptorů)

Pro přesné pochopení projevu příslušné mutace je potřeba brát v úvahu komplexnost imunitního systému. Defekt jedné části imunitního systému se může projevit současným defektem i jiné části, jejíž syntéza není přímo mutací narušena. Například u některých kombinovaných imunodeficiencí nenacházíme T-lymfocyty. B-lymfocyty se sice tvoří v normálním množství, ale bez možnosti interakce s T-lymfocyty je i jejich funkce narušena.

Z hlediska genetického poradenství a prenatální diagnostiky jsou zajímavé následující skutečnosti:

- U řady primárních imunodeficiencí známe přesně zodpovědný gen, jeho lokalizaci a sekvenci. Můžeme tak přesně identifikovat mutaci a potvrdit diagnózu pomocí metod přímé DNA diagnostiky.
- Díky známému typu dědičnosti můžeme na základě rodinné anamnézy odhadnout případná rizika pomocí genealogické metody. Pro upřesnění odhadu můžeme využít i metod nepřímé DNA diagnostiky (RFLP).
- U autosomálně recesivně dědičných primárních imunodeficiencí je třeba dbát zvýšeného rizika pro sňatky příbuzných jedinců a pro sňatky v populačních izolátech.
- U X-vázaných primárních imunodeficiencí je nutné počítat s odlišným výskytem u chlapců a dívek. Stanovení pohlaví plodu tak může mít velký význam pro zodpovězení otázky, zda narozené dítě bude trpět příslušnou imunodeficiencí.
- Kordocentéza je velmi přínosná metoda pro prenatální diagnostiku primárních imunodeficiencí, protože ze získané pupečníkové krve můžeme nejen izolovat DNA pro DNA diagnostiku (pro tento účel se zpravidla volí jiné invazivní metody, které lze použít s menším rizikem a dříve - AMC, CVS), ale získáme i buněčné elementy plodu, které lze vyšetřit po fenotypové stránce.
- I u diagnostiky primárních imunodeficiencí je budoucnost v rutinním používání DNA čipů, díky kterým bude možné provést test (nejen) na řadu různých typů imunodeficiencí naráz.

Diagnostika primárních imunodeficiencí

Jelikož jsou primární imunodeficiency vrozené vývojové vady, je jejich příčina přítomna od narození. Projevy některých imunodeficiencí tak mohou být rozpoznány již ve velmi raném dětství. Nástup příznaků je u různých typů imunodeficiencí různý - těžké kombinované poruchy se projeví velmi časně a razantně, zatímco některé poruchy komplementu a fagocytózy mohou zůstat neodhaleny až do dospělosti. U protilátkových deficiencí je nástup projevů opožděn díky období, kdy je novorozenec stále chráněn mateřskými protilátkami.

Komplexní syndromy (spojené s poruchou imunitního systému) jsou často diagnostikovány na základě svých dalších projevů, které se imunitního systému netýkají.

Pokud se v rodině již příslušná imunodeficiency vyskytuje, bývá diagnóza známa a u narozeného dítěte mohou být rovnou provedeny příslušné testy (pokud prenatální diagnostika nebyla z nějakého důvodu provedena, nebo nepřinesla uspokojivé výsledky). U případů nových mutací se nemůžeme opírat o rodinnou anamnézu, a proto je třeba provést komplexní vyšetření.

Obecně slouží jako podněty pro vyšetření časté a opakované infekce, děti často neprospívají a jsou menšího vzrůstu než jejich zdraví vrstevníci. Dalším příznakem je opakovaně komplikovaný průběh infekčních onemocnění, která relativně špatně odpovídají na standardní terapii.

Metody vyšetření jsou různé, zahrnují vyšetření diferenciálního krevního obrazu, stanovení koncentrace jednotlivých typů imunoglobulinů nebo složek komplementu v séru či funkční testy imunokompetentních buněk. Přínosná jsou i mikrobiologická vyšetření, kdy průkaz určitého konkrétního mikroorganismu může být důležitým vodítkem ke stanovení konečné diagnózy.

Velké možnosti pro diagnózu primárních imunodeficiencí nabízí DNA diagnostika, kdy můžeme pomocí hybridizačních sond jednoznačně potvrdit některou ze známých mutací a definitivně stanovit diagnózu. U neznámých mutací přichází v úvahu i zjištění sekvence určitých genů.

Včasná a správná diagnostika imunodeficiencí je důležitá kvůli včasnému nasazení léčby a kvůli správnému přístupu k očkování postižené osoby.

Pro osobu s imunodeficiencí může být podání vakcíny nebezpečné, zejména pokud jde o živou vakcínu. Proto je podání veškerých živých vakcín u osob s vrozenými imunodeficiencemi kontraindikováno. U nás jde zejména o BCG vakcínu proti tuberkulóze, která je podávána již krátce po narození (od čtvrtého dne) (*Aktualizace - povinné očkování proti TBC bylo v ČR v nedávné době zrušeno*). Vzhledem k tomu je to právě reakce na tuto vakcínu, která může upozornit na imunodeficienci. U dětí z rodin, kde je možné díky rodinné anamnéze některou z primárních imunodeficiencí očekávat, je vhodné s užitím BCG vakcíny vyčkat do provedení příslušných diagnostických testů.

Další v ČR běžně užívané živé vakcíny jsou vakcíny proti spalničkám, zarděnkám a příušnicím (TRIVIVAC vakcína) či poliomyelitidě.

Kontraindikace ostatních vakcín je závislá na typu primární imunodeficiency. U některých typů imunodeficiency je naopak vhodné doplnit základní o některá nadstandardní očkování.

Možnosti terapie

U genetických chorob jako jsou primární imunodeficiency neexistuje pravá kauzální terapie. Ta by spočívala v cílené opravě mutovaného genu. Pokroky v genové terapii dávají naději pro budoucnost; současné metody genové terapie však nejčastěji využívají retrovirových nosičů, které insertují sekvenci do genomu víceméně náhodně.

U X-vázané SCID (těžké kombinované imunodeficiency) byla jako u první lidské choroby provedena genová terapie. Nicméně u některých takto léčených pacientů došlo k následnému rozvoji leukémie, pravděpodobně díky narušení tumor-supresorových genů retrovirovými nosiči. Kvůli těmto komplikacím není prozatím možné uvedení této terapie do běžné praxe.

S určitými úspěchy se setkala i experimentální léčba genovou terapií u deficiency ADA (adenosindeaminasy).

Nejrozšířenější léčbou u těžkých primárních deficiencí tak zůstává transplantace kmenových buněk kostní dřeně. Tato metoda je náročná zejména kvůli zajištění vhodného dárce s co největší shodou v HLA antigenech. Jako dárce jsou preferováni rodinní příslušníci, zejména stejného pohlaví. Nalezení nepříbuzného dárce je velmi náročné a navíc nelze očekávat uspokojivou shodu v minor HLA antigenech.

Jelikož jde o transplantaci imunoaktivní tkáně, je třeba počítat s rizikem **GVH reakce** (GHVR = graft versus host reaction - reakce štěpu proti hostiteli).

Substituční léčba zahrnuje intravenózní podávání imunoglobulinů; existují i terapie založené na substituci defektního enzymu, jak je tomu třeba u deficiency ADA.

Vhodnou součástí terapie bývá preventivní podávání antibiotik, případně i virostatik či antimykotik. Podle typu imunodeficiency pak lze uvažovat některé nadstandardní vakcinace. Pokud pacienta ohrožují autoimunitní projevy choroby, přichází na řadu i imunosupresivní terapie.

Vybrané protilátkové imunodeficiency

Brutonova agamaglobulinemie ([+300300](#))

(X-vázaná agamaglobulinemie, X-vázaná hypogamaglobulinemie, XLA)

Brutonova agamaglobulinemie byla první popsanou genetickou imunodeficiencí (Bruton, 1952). Jako abnormální produkt byla identifikována proteinkinasa **BTK** (Bruton tyrosine kinase), která je ve velkém množství exprimována v prekurzorech T lymfocytů. Za normálního stavu dochází při vývoji B-lymfocytů nejprve k přeskupení genů pro těžký řetězec imunoglobulinu, které je následováno přeskupením genů pro lehké řetězce. Ukazuje se, že pokud je BTK mutována, končí vývoj přeskupením genu pro těžký řetězec imunoglobulinu. Lehké řetězce se nesyntetizují a molekuly imunoglobulinů nemohou být zkompletovány. BTK kinasa je odpovědná za přenos biosignálu z receptorů B-lymfocytů (a jejich prekurzorů) k efektorovým mechanismům.

Nemoc se začíná plně projevovat až po 6. měsíci věku, neboť do té doby je novorozenec alespoň částečně chráněn mateřskými imunoglobuliny. Projevy zahrnují především opakované bakteriální infekce dýchacího systému (bronchitidy, otitidy, pharyngitidy, sinusitidy...); téměř vždy zúčastněnými patogeny jsou *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* nebo *Staphylococcus aureus*. Velká je i náchylnost k virovým infekcím, způsobovaných například enteroviry (polioviry, echoviry, coxsackieviry).

Klasickým nálezem je zřetelné snížení (či úplná absence) B-lymfocytů, plazmatických buněk a všech tříd imunoglobulinů v periferní krvi. Hladiny T-lymfocytů jsou normální nebo zvýšené.

Kritickým úsekem u této choroby je část dlouhého raménka X chromosomu - **Xq21.3-q22**. Existují různé alelické varianty; u některých je popsána asociace s dalšími projevy, například hluchotou, deficitem růstového hormonu nebo různým neurologickým postižením.

Léčba zahrnuje substituční terapii imunoglobuliny, případně profylaktické podávání antibiotik či virostatik

Agamaglobulinemie, autosomálně recesivně dědičná ([#601495](#))

(NeBrutonovská agamaglobulinemie)

Existují i vzácné, autosomálně dědičné varianty agamaglobulinemie, které mohou postihovat ve větší míře i dívky. Fenotypově se však projevují jako klasická X-vázaná agamaglobulinemie. Autosomálně recesivně dědičné formy mohou být způsobeny mutací v genu pro těžký řetězec μ IgM (**IGHM**, lokalizace **14q32.33**), v genu pro κ 5 lehký řetězec (**IGLL1**, lokalizace **22q11.21**) nebo v genu pro adaptovaný protein **BLNK** (lokalizace **10q23.2**), jehož aktivita je spojena s BTK kinasou.

Byla popsána i autosomálně dominantně dědičná forma, způsobená narušením **LRRC8** genu (Leucine-rich repeat-containing protein 8; lokalizace **9q34.13**) balancovanou translokací 9. a 20. chromosomu.

Běžná kombinovaná imunodeficiency ([#240500](#))

(CVID, Běžná kombinovaná hypogamaglobulinemie)

Běžná kombinovaná imunodeficiency neboli **CVID** (Common variable immunodeficiency) je označení pro heterogenní skupinu imunodeficiencí. Etiologie není jednotná, jednotným hlediskem je však pro různé CVID fenotyp podobný Brutonově agamaglobulinemii. Oproti Brutonově agamaglobulinemii je však celkový průběh u CVID méně závažný a nástup onemocnění je oddálen až do období mezi 1. a 5. rokem života, mezi 16. a 20. rokem života nebo až po 30. roku života (nástup onemocnění může nastat prakticky kdykoli). U pacientů

nacházíme snížené hladiny imunoglobulinů (většinou všech typů) a normální či jen mírně sníženou hladinu B-lymfocytů. Počet T-lymfocytů může být snížený a mohou vykazovat určité funkční defekty. Relativně častou komplikací je výskyt granulomů v různých částech organismu. Může se vyvinout i maligní transformace. Někteří pacienti vykazují i poruchy autoimunitního rázu.

Přesná příčina onemocnění není doposud známa. Kromě genetických faktorů se do značné míry uplatňuje i vliv zevního prostředí. Genů, mutovaných u pacientů s CVID, je více. Mutace byly objeveny například v úseku III. třídy hlavního histokompatibilního komplexu (**MHC III,6p21.3**). Další kandidátské geny jsou například: **BTk (Xq21.3-q22)**, **SH2D1A (Xq25)**, **CD40LG (Xq26)**, **CD40 (20q12-q13.2)**, **AID (12p13)** či **TNFRSF13B (17p11.2)**.

Selektivní deficit IgA ([%137100](#))

(Deficit imunoglobulinu IgA)

Jedná se o jednu z nejčastějších imunodeficiencí, nicméně stejně jako v případě CVID není její příčina přesně známa. Genetická složka je pravděpodobně jako v případě CVID zastoupena mutací v úseku pro III. třídu **HLA (6p21.3)**. Vzácně může být příčinou i mutace přímo v genu pro těžký řetězec IgA (**IGHA1**, lokalizace **14q32.33** nebo **IGHA2**, lokalizace **14q32.33**). Vzniklý defekt nastává již na úrovni kmenových buněk. Choroba může vykazovat dědičnost autosomálně recesivního typu, i zde však může být značný vliv vnějších faktorů na nástup choroby. Přesné rozlišení CVID a selektivního IgA deficitu může být někdy obtížné.

Nemoc se projevuje snížením sérových IgA pod hladinu 0,5 g/l a současnou absencí sekrečních IgA. Jelikož deficit IgA ve slizniční imunitě může být do jisté míry nahrazen sekrečním IgM nebo IgG, nemusí se onemocnění vždy plně manifestovat. Projevy pak zahrnují různé opakované infekce horních cest dýchacích. Nejvýraznější výskyt infekcí bývá v dětství. Dále nemocní vykazují vyšší náchylnost ke vzniku autoimunitních onemocnění.

Syndrom hyperimmunoglobulinemie IgM, typ 1 ([#308230](#))

(Hyper-IgM imunodeficit X-vázaný, HIGM1, XHIM)

Jde o X-vázanou imunodeficienci, způsobenou mutací v genu pro antigenní ligand CD40 (**CD40LG**, lokalizace **Xq26**). Tento ligand je zásadně důležitý pro interakci T a B-lymfocytů před zahájením izotypového přesmyku z tvorby IgM na ostatní třídy imunoglobulinů. Studie ukázaly, že defektní jsou T-lymfocyty, neboť B-lymfocyty nosiček (heterozygotních žen) jsou správně stimulovány i pomocí malého množství nedefektních T-lymfocytů.

Manifestace zahrnuje vysoké hladiny IgM a absenci ostatních imunoglobulinových tříd (IgG, IgA). Kromě protilátkového deficitu je zde přítomen i deficit buněčný - díky defektním T-lymfocytům a autoimunitně vznikající neutropenii (sklon ke vzniku autoimunitních onemocnění). Projevy zahrnují náchylnost k různým bakteriálním a virovým infekcím, včetně infekcí oportunních (typické jsou například průjmy způsobené *Cryptosporidium parvum*).

Syndrom hyperimmunoglobulinemie IgM, typ 2 ([#605258](#))

(HIGM2)

Kromě nejčastější X-vázané formy způsobené mutací v genu pro CD40 ligand existuje ještě několik vzácných forem IgM hyperglobulinémie. Základní klinické příznaky (vysoká hladina IgM a žádná nebo nízká hladina ostatních Ig) jsou u všech forem stejné.

Tato forma je způsobená mutací **AICDA** genu (**Activation-induced cytidine deaminase**, lokalizace **12p13**). Narozdíl od HIGM1 formy je zde pravděpodobně defekt v B-lymfocytech a pacienti nemají sklon k oportunním infekcím. Dědičnost je autosomálně recesivní.

Syndrom hyperimmunoglobulinemie IgM, typ 3 ([#606843](#))

(HIGM3)

Tato forma je způsobena mutací v genu pro antigen **CD40** (lokalizace **20q12-q13.2**). Dědí se autosomálně recesivně. Narušen je tak stejný pochod jako u HIGM1, nedochází k izotypovému přesmyku a nastávají obdobné klinické projevy.

Syndrom hyperimmunoglobulinemie IgM, typ 4 ([608184](#))

(HIGM4)

O této formě víme zatím nejméně. Projevy jsou podobné jako u HIGM2 - aktivita AICDA je však zachována a celkový průběh je lehčí (zachována částečná produkce IgG). Pravděpodobně půjde o poruchy regulace izotypového přesmyku nebo defekty reparačních mechanismů DNA.

Syndrom hyperimmunoglobulinemie IgM, typ 5 ([608106](#))

(HIGM5)

Tato forma je způsobena mutací **UNG** genu (**Uracil-DNA glycosylase**, lokalizace **12q23-q24.1**). I zde nacházíme defekt v izotypovém přesmyku a fenotyp nejvíce odpovídající HIGM2 formě.

Vybrané kombinované a buněčné imunodeficiency

Kombinovaná imunodeficiency (CID)

Kombinované imunodeficiency (**CID** - Combined immunodeficiency) jsou heterogenní skupinou primárních imunodeficiencí. Od SCID se CID liší zachovanou přítomností T-lymfocytů (ty jsou přesto přítomny jen ve snížených hladinách). Hlavními projevy jsou chronické infekce respiračního a urogenitálního traktu. Časté jsou i infekce kůže a chronické průjmy. Ačkoli je celkový průběh lehčí než u SCID, stále se jedná o chorobu se závažnou prognózou a mnoho pacientů umírá v dětském věku (přežívají však déle než pacienti se SCID)

Deficit purin nukleosid fosforylasy ([+164050](#))

(PNP deficit)

Purin nukleosid fosforylasa (**PNP**) je enzym, který se, podobně jako ADA (viz dále), zúčastňuje metabolismu purinů. Gen kódující PNP je lokalizován v oblasti **14q13.1**. Dědičnost je autosomálně recesivní. Narozdíl od deficitu ADA nepozorujeme u pacientů skeletální abnormality, vyskytují se však potíže neurologické a autoimunitní choroby.

Defekt alfa řetězce IL-2 receptoru ([606367](#))

(IL2RA deficit, CD25 deficit)

Toto onemocnění je způsobeno mutací v genu pro alfa řetězec receptoru pro interleukin-2 (**IL2RA**, lokalizace **10p15-p14**). U postiženého byla pozorována normální hladina B-lymfocytů, avšak zvýšená hladina T-lymfocytů (ovšem bez CD25), které infiltrovaly ve značné míře různé tkáně (což bylo doprovázeno atrofií těchto tkání). Potvrzena byla náchylnost k mnoha různým infekčním onemocněním.

X-vázaná kombinovaná imunodeficiency ([312863](#))

(CID X-vázaný, CIDX)

Tato forma je způsobena mutací v genu pro gama řetězec receptoru interleukinu-2 (**IL2RG**, lokalizace **Xq13.1**). Stejnou mutací je způsobena jedna z forem SCID (viz dále) - tento typ choroby se však v mnohém liší. Počty B-

lymfocytů a NK buněk jsou v normálu, zatímco počty CD4+ a CD8+ T-lymfocytů jsou sníženy (ovšem buňky jsou přítomny). Hladiny imunoglobulinů jsou v normálu. Průběh onemocnění je méně závažný než u příslušného typu SCID, postižení pacienti byli ve věku od 1,5 do 34 let. Zůstává však výrazná citlivost vůči infekčním onemocněním, především respiračního traktu.

Těžká kombinovaná imunodeficeience (SCID)

Těžké kombinované imunodeficeience (**SCID - Severe Combined Immunodeficiency Diseases**) jsou nejzávažnější z primárních imunodeficiencí. Představují skupinu heterogenních genetických onemocnění, která postihují buněčnou i protilátkovou složku imunitního systému. Postižení jedinci jsou extrémně citliví vůči široké škále patogenů (zejména intracelulárních), včetně oportunních mikroorganismů (např. *Candida albicans*, *Pneumocystis carinii*...). Závažnou komplikací může být očkování pacienta živou vakcínou (BCG vakcína). Těžké, chronické infekce jsou tak prvním a nejzávažnějším projevem těchto chorob, které bez adekvátní léčby (v současné době jde pouze o transplantaci kostní dřeně; genová terapie je stále ve stadiu experimentů) končí smrtí do jednoho roku věku. Přes shodné projevy je příčina u jednotlivých typů těžké kombinované imunodeficeience různá, způsobená různými mutacemi lidského genomu. Nicméně 50-60% mutací je lokalizováno na X chromosomu, což způsobuje znatelně vyšší procentuální zastoupení chlapců mezi pacienty s těžkou kombinovanou imunodeficiencí.

SCID T-, B-, NK+ (#601457)

Tato forma těžké kombinované imunodeficeience je charakteristická absencí T i B lymfocytů a přítomností NK buněk (T-B-NK+). Onemocnění je autosomálně recesivně dědičné, způsobené mutací **RAG1** (RAG1 - Recombination activating gene-1; lokalizace **11p13**) či **RAG2** (RAG2 - Recombination activating gene-2; lokalizace **11p13**) genu. Rekombinázy produkované těmito geny aktivují proces V(D)J rekombinace (přeskupování genových segmentů V, J případně i D) a jsou tedy zodpovědné za tvorbu **TCR** (T cell receptor) a **BCR** (B cell receptor) receptorů.

SCID citlivý vůči ionizačnímu záření (#602450)

(SCID T-, B-, NK+ citlivý vůči ionizačnímu záření, RS-SCID, Athabaskan SCID)

Tato, relativně nedávno popsaná, forma těžké kombinované imunodeficeience je autosomálně recesivně dědičné onemocnění, způsobené mutací genu *Artemis* (lokalizace **10p**; produktem je **DCLRE1C - DNA cross link repair protein 1C**). Buňky (zejména fibroblasty a kmenové buňky kostní dřeně) pacientů s touto mutací vykazují zvýšenou citlivost vůči ionizačnímu záření. Důvodem je neschopnost opravovat přerušení dvoušroubovice DNA (takovéto přerušení nastává i u V(D)J rekombinace, kdy dochází k sestřihu DNA).

SCID způsobený deficiencí adenosindeaminasy (#308380)

(SCID T-, B-, NK- způsobený deficiencí ADA)

Jde o autosomálně recesivně dědičnou formu, kterou nacházíme přibližně u 15% pacientů s diagnózou SCID (a u přibližně třetiny pacientů s autosomálně recesivně dědičnou formou SCID). Adenosindeaminasa (**ADA**) je enzym zúčastňující se metabolismu purinů, který je kódován genem v oblasti **20q13.11**. Přesný mechanismus působení není doposud znám, předpokládá se, že vznikající alternativní metabolity (2-deoxyadenosin a jeho deriváty) působí toxicky na vyvíjející se lymfocyty, především na T typ. Hlavním a nejzávažnějším projevem je tak těžká lymfopenie. Další asociované projevy zahrnují různé kostní deformity, především abnormality hrudního koše a různé defekty osteochondrálních spojení.

Častější je forma s časným nástupem, ale známe i formy s opožděným nebo dokonce pozdním nástupem, u kterých může být aktivita ADA i částečně zachována.

SCID X-vázaný (#300400)

(SCIDX1, SCID T-, B+, NK-)

U této nejčastější X-vázané formy SCID nacházíme mutaci v genu pro gama řetězec receptoru interleukinu-2. Tento gen je označován jako **IL2RG** a je lokalizován do oblasti **Xq13.1**. Ukázalo se, že tento řetězec je společný i pro receptory dalších interleukinů (jmenovitě IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 a IL-21). Nejzávažnějším se ukazuje defekt v receptoru pro IL-7, jelikož tento interleukin je u člověka důležitý pro vývoj buněk lymfocytové řady, zejména však prekurzorů T-lymfocytů. Následkem je minimální počet T-lymfocytů, a ačkoli je počet B-lymfocytů většinou normální, je jejich funkce omezena právě díky absenci lymfocytů T.

SCID způsobený deficiencí JAK3 kinasy (#600802)

(SCID T-, B+, NK-)

Tato forma SCID je fenotypově velmi podobná předcházející X-vázané formě (nízké nebo dokonce žádné T a NK buňky, B buňky přítomny). Na rozdíl od ní je však tato forma autosomálně recesivně dědičná a způsobená mutací **JAK3** genu (**19p13.1**), kódujícího Janusovu kinasu 3. Tento enzym je proteinkinasa, která je zodpovědná za přenos a realizaci biosignálu po navázání patřičné signální molekuly na receptor, jehož součástí je i gama řetězec cytokinových receptorů (právě s ním je asociována aktivita JAK3 kinasy, což vysvětluje fenotypovou shodu této formy s výše popsanou mutací IL2RG genu).

SCID T-, B+, NK+ (#608971)

Jde o autosomálně recesivně dědičnou formu SCID, která se od dvou výše uvedených variant liší zachovanou přítomností NK buněk. Může být způsobena mutací v různých genech - např. mutací genu pro receptor interleukinu-7 (**IL-7R**, lokalizace **5q17**), pro CD45 antigen (LCA, lokalizace 1q31-q32) a pro CD3 delta (**CD3D**, lokalizace **11q23**) či CD3 epsilon antigen (**CD3E**, lokalizace **11q23**).

Retikulární dysgeneze (%267500)

(De Vaalova nemoc, hematopoetická hypoplasie)

Jde o jednu z nejzávažnějších forem těžké kombinované imunodeficiency. Charakteristickým nálezem je vrozená agranulocytóza a lymfopenie spojená s hypoplasíí thymu a lymfatických uzlin. Granulocyty a lymfocyty chybí v periferní krvi i kostní dřeni, postižení diferenciace je již na úrovni kmenových buněk (a postihuje myeloidní i lymfoidní řadu).

Choroba se dědí autosomálně recesivně, molekulární podstata však doposud není známa.

Omennův syndrom (#603554)

(Familiární retikuloendotelióza s eosinofilií, těžká kombinovaná imunodeficiency s hypereosinofilií)

Omennův syndrom je autosomálně recesivně dědičné onemocnění, způsobené mutacemi RAG1, RAG2 či Artemis genu. Syndrom je charakterizován infiltrací kůže a střevní sliznice (endotelu) aktivovanými T lymfocyty oligoklonálního charakteru. Mimo eosinofilii (kterou způsobují T lymfocyty pomocí IL-4 a IL-5 interleukinů) u nemocných pozorujeme různě rozsáhlé postižení kůže (erythrodermie), hepatosplenomegalii a urputné průjmy.

Wiskott-Aldrichův syndrom (#301000)

(WAS, imunodeficiency s trombocytopenií a ekzémem)

Wiskott-Aldrichův syndrom je X vázané onemocnění charakterizované trombocytopenií, ekzémem a zvýšenou náchylností k infekčním chorobám. Odpovědný gen (**WAS**) byl lokalizován na X chromosom (úsek **Xp11.22-p11.23**). Protein kódovaný tímto genem (**WASP -Wiskott-Aldrich syndrome protein**) se pravděpodobně podílí na spojování membránových receptorů se součástmi cytoskeletu, přesný význam proteinu pro funkci trombocytů a lymfocytů nebyl doposud objasněn.

U pacientů (vzhledem k tomu, že jde o X-vázané onemocnění, jsou téměř všichni pacienti mužského pohlaví) se syndrom projevuje trombocytopenií (charakteristická je malá velikost trombocytů), která se projevuje zvýšenou krvácivostí. Dalším projevem je ekzém, který se objevuje již krátce po narození.

Počty T-lymfocytů jsou zpočátku normální, jejich počet však posléze klesá kvůli jejich zhoršené proliferační schopnosti. V séru prokazujeme snížené hladiny IgM, ovšem normální hladiny IgG. Hladiny IgA a IgE jsou paradoxně zvýšeny. Jsou popsány i autoimunitní reakce.

Prognóza není dobrá, smrt nastává nejčastěji na následky masivního krvácení nebo kvůli chronickým infekcím. Dochází i ke vzniku maligních nádorů z lymfatického systému.

Jedinou léčbou je transplantace kostní dřeně; splenektomie může pomoci při léčbě trombocytopenie.

X-vázaný lymfoproliferativní syndrom ([#308240](#))

(Purtillov syndrom, Duncanova nemoc, Citlivost na EBV)

Jedná se o X-vázané dědičné onemocnění způsobené mutací genu **SH2D1A** (též zvaný **SAP**, lokalizace **Xq25**). Tato mutace vede k nekontrolovaným reakcím cytotoxických T-lymfocytů na virus Ebsteina-Barrové (EBV). Poškozena je funkce molekuly **SLAM** (Signaling lymphocyte activation molecule), která ovlivňuje spolupráci T a B-lymfocytů.

Postižení jedinci jsou zdraví až do prvního kontaktu s EBV, který může vyústit ve tři různé reakce:

- infekční mononukleóza s těžkými, často fatálními následky (50% případů)
- lymfoproliferativní syndrom (postihující především B-linii, 25% případů)
- hypogamaglobulinémie (25% případů)

U jednoho pacienta se v průběhu času mohou vyskytnout i všechny tři stavy. Celková prognóza není příznivá, 70% chlapců umírá do 10 let života.

Vybrané imunodeficiency způsobené poruchami fagocytózy

Chédiak-Higashiho syndrom ([#214500](#))

(CHS)

Onemocnění je způsobeno mutací **LYST** genu (lysosomal trafficking regulator, lokalizace **1q42.1-q42.2**). Jak již název napovídá, produkt toho genu se účastní na formování lyzosomů, především ovlivňuje složení jejich obsahu, které je v případě mutace genu defektní. Lyzosomy i melanosomy jsou zvětšené (někdy až do obřích rozměrů) a dysmorfické.

Postižení jedinci mají sníženou pigmentaci - kůže je světlá a vlasy mají světlý až stříbrný nádech. Přítomná je fotofobie a zvýšená citlivost na sluneční záření. Příčinou jsou defektní granula melanocytů.

Defektní složení granul neutrofilních granulocytů způsobuje neúčinnost fagocytárního mechanismu, což způsobuje zvýšenou vnímavost vůči určitým infekcím, především bakteriálním a mykotickým.

Abnormální granula jsou zodpovědná i za defekty T-lymfocytů a NK buněk. U rozvinutého syndromu může dojít k infiltraci tkání následkem lymfoproliferace.

Deficit glukosa-6-fosfát dehydrogenasy ([+305900](#))

(Hemolytická anémie způsobená deficitem G6PD)

Glukosa-6-fosfát dehydrogenasa katalyzuje úvodní reakci pentosafosfátové metabolické dráhy, kde přeměňuje glukosu-6-fosfát na 6-fosfoglukonolakton za současného vzniku NADPH. Vzniklý NADPH je nezbytný pro funkci jiného enzymu - glutathionperoxidasy, který v erytrocytech pomáhá odstraňovat škodlivé oxidové radikály.

Gen pro glukosa-6-fosfát dehydrogenasu (**G6PD**) je lokalizován na dlouhém raménku chromosomu X (**Xq28**). Pokud jsou obě alely tohoto genu mutovány (onemocnění se tedy dědí autosomálně recesivně), netvoří se dostatek redukovaných NADPH. To se projevuje zejména v erytrocytech, kde dochází k precipitaci hemoglobinu a vážnému poškození erytrocytární membrány, která nakonec praská. Následkem je hemolytická anémie.

Na pozadí tohoto závažnějšího projevu však můžeme pozorovat i poruchu účinnosti fagocytárního mechanismu, neboť NADPH je nezbytný i pro funkci enzymů, odpovídajících za proces "respiračního vzplanutí" (viz dále). Můžeme tak identifikovat i imunodeficitní složku tohoto onemocnění.

Chronická granulomatózní choroba X-vázaná (#306400)

(CGD)

Jde o chorobu způsobenou mutací **CYBB** genu (lokalizace **Xp21.1**), kódujícího Cytochrom b(-245). Ten je se podílí na funkci respiračního vzplanutí u leukocytů (hlavní zúčastněný enzymový systém těchto procesů je NADPH oxidasa). Porucha tvorby oxidových radikálů pak ovlivňuje i schopnost ovlivňovat pH ve fagolysosomech, což může omezit i aktivaci dalších proteolytických fagosomárních enzymů. To je značné oslabení fagocytů, které tak mají jen omezenou schopnost likvidovat fagocytovaný materiál.

Snížená obranyschopnost se projevuje již od raného věku hnisavými infekcemi. Zvýšená citlivost je zejména na mikroorganismy produkující katalasu.

Terapie zahrnuje profylaktické podávání cotrimoxazolu a itraconazolu. V těžkých případech připadá v úvahu transplantace kostní dřeně.

Chronická granulomatózní choroba autosomálně recesivní Typ 1 (#233700)

(CGD cytochrom b- pozitivní 1)

Tato autosomálně recesivně dědičná forma chronické granulomatózní choroby je způsobena mutací **NCF1** genu (lokalizace **7q11.23**). Produktem genu je p47-phox protein, což je oxidasa zúčastněná při tvorbě oxidových radikálů v leukocytech. Respirační vzplanutí opět nenastává, ačkoliv aktivita cytochromu b- je zachována. Klinický projev je podobný projevu X-vázané formy.

Chronická granulomatózní choroba autosomálně recesivní Typ 2 (#233710)

(CGD)

Další autosomálně recesivně dědičná varianta chronické granulomatózní choroby je způsobena mutací v genu pro jinou oxidasu: p67-phox (**NCF2**, **1q25**).

Kostmannův syndrom (#202700)

(Těžká vrozená neutropenie, SCN)

Jde o autosomálně recesivně dědičné onemocnění charakterizované vrozenou agranulocytózou. Genetickým podkladem je mutace **ELA2** genu (**Elastase 2**, lokalizace **19p13.3**), případně mutace v protoonkogenu **GFI1** (**Growth factor-independent 1**, lokalizace **1p22**).

Diferenciace je zastavena ve fázi promyelocytů. Počty cirkulujících neutrofilních granulocytů jsou velmi výrazně sníženy. Projevy onemocnění zahrnují nekrotizující záněty sliznic a kůže, které se objevují již krátce po narození.

Pacienti dobře reagují na léčbu růstovým faktorem G-CSF. V případě neúspěchu této léčby připadá v úvahu transplantace kostní dřeně.

Shwachmanův syndrom ([#260400](#))

(Shwachman-Bodian-Diamondův syndrom, SDS, Vrozená lipomatóza pankreatu)

Jedná se o komplexní syndrom s mutací v oblasti 7q11 a projevy zahrnujícími především poruchu funkce exokrinní části pankreatu (exokrinní část pankreatu je nahrazena tukem, endokrinní část - Langerhansovy ostrůvky - jsou však normální), abnormalitami skeletu a abnormalitami hematologické povahy. Popsáno je zvýšené riziko vzniku maligních transformací, především leukémie. Dědičnost je autosomálně recesivního typu.

Z imunologického hlediska pozorujeme u pacientů neutropenii, navíc pozorujeme poruchy chemotaxe u polymorfonukleárních leukocytů. Absolutní počty lymfocytů bývají normální, procentuální zastoupení B-lymfocytů však může být nízké, nebo tyto vykazují různé defekty. Relativně častá bývá i trombocytopenie. Zodpovědný gen ani molekulární podstata nejsou doposud známy, v kostní dřeni však prokazatelně dochází ve zvýšené míře k apoptóze.

Vybrané imunodeficiency způsobené poruchami komplementu

Deficit lektinu vázajícího manosu ([+154545](#))

Manosu vázající lektin (**MBL2**, lokalizace **10q11.2-q21**) je přirozenou součástí séra a účastní se aktivace komplementového systému, když se váže na cukerné složky na povrchu různých patogenů, jako jsou bakterie, viry i plísňe. V případě deficitu tohoto proteinu tak nastává zvýšená vnímavost vůči infekcím včetně větší náchylnosti k autoimunitním a alergickým onemocněním. Obecně však nenastává nikterak závažná imunodeficiency.

Dědičnost je autosomálně recesivní.

Hereditární angioedém ([#106100](#))

(Deficit C1 inhibitoru)

Toto vrozené onemocnění komplementu se dědí autosomálně dominantně. Nejedná se o klasickou imunodeficiency, kdy by byl postižený jedinec vystaven vyššímu riziku infekčního onemocnění, ale jedná se o genetickou chorobu imunitního systému, kdy mutace v genu pro jednu z komponent imunitního systému svého nositele poškozuje.

Mutace postihuje gen pro inhibitor C1 složku komplementu (**C1NH**, lokalizace **11q11-q13.1**). Produkt mutovaného genu se buď netvoří vůbec nebo je nefunkční. Tato skutečnost znamená, že každý (byť minimální a neškodný jako třeba drobné poranění) podnět vede k aktivaci celé komplementové kaskády. Navenek se onemocnění projevuje otoky podkoží a sliznic. Nebezpečné mohou být otoky sliznic respiračního traktu, postižení sliznic trávicího traktu se může projevit zažívacími obtížemi, u postižení sliznice močového traktu hrozí retence moči. Nejlepší léčbou je exogenní C1 inhibitor. Onemocnění má pozdější nástup, někdy až v dospělém věku.

Vybrané imunodeficiency způsobené poruchami apoptózy

Autoimunitní lymfoproliferativní syndrom ([#601859](#))

(Canale-Smithův syndrom)

Syndrom je způsoben mutací v genu pro **FAS** nebo **FAS ligand**. FAS antigen neboli **CD95** je kódován genem **TNFRSF6**, lokalizovaným v úseku **10q24.1**. FAS ligand (**CD95L**) je kódován

genem **TNFSF6** lokalizovaným na **1q23**. Syndrom se dědí autosomálně recesivně, ačkoli ani autosomálně dominantní typ nelze úplně vyloučit.

Klinické projevy mohou být různé. V zásadě dochází k poruchám apoptózy s různými následky na celkový stav organismu. Nástup onemocnění může být již v prenatálním období stejně jako až po několika letech života.

Nejčastějším projevem je lymfoproliferativní syndrom, nejčastěji doprovázený splenomegalií. Hepatomegalie a zvětšení lymfatických uzlin nejsou vždy přítomny. Zmnožení cirkulujících lymfocytů není konstantní, převážně zmnožené jsou B-lymfocyty. T-lymfocyty infiltrují některé tkáně (jde o tzv. dvojité negativní T-lymfocyty CD4- CD8-).

Dalším typickým projevem jsou autoimunitní reakce. Byly popsány tvorby protilátek proti buňkám hematopoetických řad, což výústuje v případnou trombocytopenii, neutropenii či anemii.

Imunodeficience jako přímý projev autoimunitního lymfoproliferativního syndromu však bývá relativně vzácná.

Vybrané syndromy chromosomální nestability

Ataxia teleangiectasia ([#208900](#))

(Syndrom Louis-Barové)

Jde o komplexní syndrom s neurologickými, imunologickými, jaterními, kožními a endokrinologickými abnormalitami. Dědičnost syndromu je autosomálně recesivní, zúčastněný gen (**ATM**) byl lokalizován do oblasti **11q22-q23**. Normální produkt genu je DNA-dependentní proteinkinasa, která se účastní regulace buněčného cyklu a v interakci s p53 proteinem i reakcí buňky na genotoxický stres. Při mutaci tohoto proteinu jsou oslabeny reparační mechanismy DNA, což se projevuje zvýšenou citlivostí buněk na ionizační záření a náchylností k rozvoji maligní transformace.

Proces genetické rekombinace (V(D)J rekombinace) při vývoji T a B lymfocytů tak může být narušen neschopností opravovat dvojzlomy v DNA. Typickým imunologickým obrazem tvoří výrazně snížené hladiny IgE a zejména IgA. Snížení se může týkat i imunoglobulinů IgM a IgG2 (či celkových IgG). Z morfologického hlediska pozorujeme hypoplasii thymu a lymfatických uzlin.

Dalšími projevy jsou mozečková ataxie, teleangiektazie malých cév a zvýšené riziko vzniku rakoviny.

Bloomův syndrom ([#210900](#))

(BLM, BLS)

Taktéž se jedná o autosomálně recesivně dědičný syndrom chromosomální nestability. Zodpovědný gen (**BLM**) se nachází v oblasti **15q26.1**. Normálním produktem genu je jeden typ DNA helikasy (**RECQL3**).

Již v prvním roku života se u postižených vyvíjí teleangiektatický erytém, který je citlivý na sluneční světlo. Imunologické projevy zahrnují poruchy B-lymfocytů s nízkými hladinami imunoglobulinů IgG, IgA a IgM s následnou náchylností k infekcím.

U buněk dále pozorujeme sklony ke vzniku cytologických abnormalit, které často vyústí v maligní transformaci.

Vybrané mikroleční syndromy

DiGeorgův syndrom ([#188400](#))

(Hypoplazie thymu a příštítných tělísek, Velokardiofaciální syndrom, Asociace CATCH 22)

DiGeorgův syndrom patří mezi takzvané mikroleční syndromy či syndromy genů naléhajících na sebe (SNG - contiguous gene syndromes).

Nejčastější příčinou tohoto syndromu je delece na dlouhém raménku 22. chromosomu (úsek **22q11**), která je přítomná u 90% pacientů s DiGeorgovým syndromem. Stejnou delecí nacházíme i u dvou dalších, fenotypově téměř totožných syndromů - Takaova syndromu a Shprintzenova syndromu. Pro samotný DiGeorgův syndrom je pak nejtypičtější delece úseku **22q11.2 (DGCR - DiGeorge syndrome chromosome region)**. Popsány byly případy s mutací T-BOX 1 genu (**TBX1**) - tedy specifického transkripčního faktoru.

Vzhledem k podobným fenotypovým projevům (obecně velokardiofaciální anomálie) a stejné delecí jsou v poslední době DiGeorgův, Shprintzenův a Takaův syndrom řazeny pod označení **CATCH 22** (Cardiac abnormality / abnormal facies, T cell deficit due to thymic hypoplasia, Cleft palate, Hypocalcemia due to hypoparathyroidism resulting from 22q11 deletion; akronym CATCH 22 je inspirován názvem knihy Catch-22 od Josepha Hellera).

DiGeorgův syndrom je porucha vývoje třetí a čtvrté žaberní výchlípký, jejímž následkem je omezený vývoj (až úplná absence) thymu a příštítných tělísek. Narušen může být i vývoj štítné žlázy a ultimobranchiálního tělíska. Typické jsou rovněž vrozené vady srdce a velkých cév a různé abnormality v obličejové krajině včetně rozštěpů. Relativně častá je i mentální retardace.

Postižení je variabilní a jeho závažnosti je úměrný deficit T lymfocytů, které jsou přítomny pouze v nízkých hladinách a v některých případech T lymfocyty zcela chybí. Redukovány jsou i orgánové thymodependentní oblasti jako parakortikální zóny lymfatických uzlin. Deficit T lymfocytů má sklon se s věkem normalizovat a okolo 5 let věku mohou T lymfocyty dosáhnout normálních hodnot. Mimo poruchy imunity a náchylností především k některým virovým a mykotickým infekcím se syndrom vyznačuje i hypokalcémií (kvůli nepřítomnosti parathormonu z příštítných tělísek) a případnou tetanií.

Léčba je symptomatická, v těžších případech je možnost transplantace kostní dřeně s periferními lymfocyty či transplantát z kultivované thymové tkáně. Obličejové a srdeční vady je možno řešit chirurgickou cestou.

Syndrom se vyskytuje většinou sporadicky, popsány jsou však i případy familiárního výskytu, kde syndrom vykazoval autosomálně dominantní typ dědičnosti. Mimo vlastní delecí 22q11 byly popsány i translokace - např. t(2; 22), t(4; 22) či t(20; 22). Charakteristické příznaky tohoto syndromu byly popsány i u delecí na jiných chromosomech, než v oblasti 22q11 - například del(10p13), del(18q21.33) či del(4q21.3-q25).

7. Genetika člověka

1) Člověk a genetika

Člověk samozřejmě patří k vyšším organismům, jeho genom je diploidní, rozdělený do 23 párů chromozomů a obsahuje přibližně 3 miliardy párů bazí. Odhad celkového počtu genů se neustále vyvíjí, v současné době se uvažuje o 20 - 25 000 genů. Genetické principy u člověka se nijak neliší od genetických principů u dalších vyšších živočichů.

Genetické zkoumání člověka se ovšem od zkoumání jiných organismů značně liší. Ruce vědců jsou totiž svazovány několika skutečnostmi.

- Na člověku nelze z etických důvodů provádět některé experimenty a selekci
- Člověk má většinou za život velmi malé množství potomků
- Fenotyp je do velké míry ovlivňován vnějším prostředím (sociální podmínky) - polygenní znaky
- Generační doba člověka je velmi dlouhá. Genetik může sledovat maximálně 4 generace
- Složitost lidského genomu

U člověka je navíc zvláštností, že se často kříží (tedy spíše křížil - v minulosti) pouze s jedinci z určité populace (stejný národ, společenská vrstva, jedinci stejného vyznání). Naopak dnes má díky moderním dopravním prostředkům takové možnosti migrace, které žádné jiné zvíře nemá.

Nejčastější metodou studia lidské dědičnosti je **metoda rodokmenová**. Ta využívá sestavení rodokmenu několika generací pomocí mezinárodních symbolů. V rodokmenu potom můžeme sledovat, kteří jedinci měli sledovaný znak a z toho můžeme vyvodit i typ dědičnosti. Přehled symbolů a ukázky rodokmenů najdete v kapitole genealogie.

Geminologická metoda, neboli metoda zkoumání dvojčat je velmi přínosná. Zkoumáme dvojvaječná i jednovaječná dvojčata. Obzvláště zajímavý je výzkum jednovaječných dvojčat. Jednovaječná dvojčata jsou vlastně přírodní klony (vznikají z jedné zygoty - mají stejnou genetickou informaci). Jsou to jediné dva jedinci na světě, kteří mají naprosto shodnou DNA (až na některé možné rozdíly mitochondriální DNA). Přesto tento shodný genotyp automaticky neznamená stejný fenotyp obou jedinců (ani jednovaječná dvojčata nemají shodné otisky prstů). Právě zaznamenávání takovýchto rozdílů nám pomáhá zjistit, co nám a do jaké míry ovlivňují geny a co nám závisí na podmínkách, ve kterých jedinec vyrůstá. Další možnosti výzkumu nám nabízí základní metody populační genetiky.

Projekt HUGO

Pro člověka má také velký význam projekt **HUGO** (Human Genome Mapping Organization) <http://www.hugo-international.org/>; zabývá se objasněním přesného složení lidského genomu, tj. souhrnné sekvence bází genomu, obsahujícího kolem 3 mld. párů bazí, což mělo být asi 100000 genů. S postupujícím výzkumem se číslo neustále snižuje - současný počet genů se odhaduje na **20000-25000**. Projekt byl zahájený na počátku 90. let 20. století, s předpokládaným ukončením v roce 2005. Přesto byl draft lidského genomu publikován již v únoru roku 2001. Mezinárodní tým vědců oznámil dokončení plné identifikace lidského genomu 14. dubna 2003 (k 50. výročí objevu dvoušoubovice DNA).

Ve skutečnosti pouze asi 1,5% lidské DNA přímo kóduje proteiny. Až 97% celé sekvence DNA je tvořeno tzv. nekódující DNA (Junk DNA), jejíž význam - pokud nějaký vůbec je - není zatím známý (patří sem například "mobilní sekvence" - transposony, retrotransposony).

Na webu [NCBI](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) můžete prozkoumat několik databází, které se týkají genetiky člověka:

- [Entrez Genome](#) - Mapa lidského genomu
- [Entrez Gene](#) - Databáze genů
- [Entrez Protein](#) - Databáze proteinů
- [OMIM](#) - Databáze lidských monogenních chorob
- [dbSNP](#) - Databáze SNP (jednonukleotidových polymorfismů)

Eufenika

Eufenika je věda, která se snaží zlepšit lidský fenotyp. Jedná se zejména o léčení dědičných chorob s fenotypovým projevem. Nevýhodou je, že takovéto zásahy mohou zhoršovat genetickou výbavu populace (dysgenetický efekt). Jedinci, kteří by bez lékařské péče brzy zemřeli, nyní nejen přežijí, ale mohou se třeba i dále rozmnožovat.

Eugenika

Eugenika je věda, která se snaží zlepšit skladbu lidské populace. Největší rozkvět zažila před druhou světovou válkou. Šlo o tzv. negativní eugeniku, která měla zamezit rozmnožování vybraných osob (dědičné choroby). Nacistická ideologie dovedla eugeniku do extrémů (snaha o vyšlechtění "čisté" árijské rasy a vymýcení rasy židovské). Z těchto důvodů se po válce od eugeniky **upustilo** a byla spolu s rasizmem odsouzena. Později se ještě můžeme setkat s tzv. Eugenikou pozitivní, která si kladla za cíl vytvořit "skupinu jedinců nejvhodnějších pro rozmnožování". Tito jedinci by potom měli zplodit nové, "geneticky lepší", generace.

Příbuzenské sňatky

Příbuzenské sňatky (obecně **inbreeding**) jsou v povědomí brány jako etický problém. Panuje zde velký strach z narození postiženého dítěte. Je nutno podotknout, že takové riziko u těchto sňatků opravdu existuje a není zanedbatelné.

Příbuzní jedinci jsou ti, kteří mají alespoň jednoho společného předka. Pro zjednodušení se z hlediska klinické genetiky jako příbuzní jedinci označují ti, kteří mají společného předka nejvýše ve stupni prarodiče. U vzdálenějších příbuzných pak velice klesá koeficient příbuznosti, který udává pravděpodobnost, že náhodná alela těchto jedinců je tzv. IBD alela (ibd = Identical by descent = společná původem = zděděná od společného předka).

Celkově zde nejde o nutnost narození postiženého dítěte, jde jen o nezanedbatelně zvýšené riziko.

Jsou to jednak zvýšená rizika vzniku recesivně dědičných chorob (u příbuzenských sňatků je v potomstvu obecně vyšší zastoupení homozygotů oproti heterozygotům pro sledovaný - třeba mutovaný - gen) a potom rizika vzniku polygenně dědičných chorob (pokud jsou v rodině pro vznik takovýchto chorob předpoklady). Také většinou dochází ke snížení genotypové rozmanitosti jedince, což může být na škodu.

2) Karyotyp člověka

Karyotyp člověka se skládá z 23 párů chromozomů (celkem jde tedy o 46 chromozomů). Z toho 22 chromozomů jsou nepohlavní chromozomy (autozomy) a tvoří homologní páry, zatímco poslední pár je heterologní a je tvořen pohlavními chromozomy (gonozomy). Autozomy jsou označeny arabskými číslicemi od 1 do 22, gonozomy jsou označeny písmeny X a Y.

Lidské chromozomy - skupiny

Chromozomy člověka dělíme podle jejich makrostavby do několika skupin:

A - Chromozomy 1, 2, 3 jsou velké metacentrické.

B - Chromozomy 4, 5 jsou velké submetacentrické.

C - Chromozomy 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 jsou střední submetacentrické, svou stavbou do této skupiny náleží i pohlavní chromozom X.

D - Chromozomy 13, 14, 15 jsou střední akrocentrické.

E - Chromozomy 16, 17, 18 jsou malé submetacentrické.

F - Chromozomy 19, 20 jsou malé metacentrické.

G - Chromozomy 21, 22, jsou malé akrocentrické, řadí se sem i chromozom Y, který satelity nenese.

U člověka je **mužské pohlaví** primárně určeno přítomností chromozomu Y (podrobnosti o genetickém určení pohlaví najdete v kapitole Určení pohlaví). Jakmile v zygotě tento chromozom přítomen není - začne se dále vyvíjet jedinec ženského pohlaví. U ženského zárodku dojde velmi časně ve všech buňkách k inaktivaci jednoho X chromozomu (proces probíhá náhodně - tento X chromozom může být původně od matky i od otce) a k jeho kondenzaci. Tato struktura se označuje jako **Barrovo tělísko** (nebo také sex chromatin, případně X chromatin) a dá se (z historického hlediska - dnes se již nevyužívá) využít k diagnostice pohlaví, či různých chromozomových aberací chromozomu X. Proces inaktivace X chromozomu je po své objevitelce (genetičce Mary Lyonové) pojmenován jako **lyonizace**.

V průběhu buněčného dělení tvoří i pohlavní chromozomy pár. Pokud jsou v buňce dva chromozomy X (u ženy), není tato představa nikterak obtížná a párování se odehrává stejně jako u autozomů. Nicméně páruje se i dvojice X a Y. Toto párování umožňují tzv. **pseudoautozomální oblasti** těchto chromozomů, což jsou speciální oblasti na krátkém i dlouhém raménku obou chromozomů, na kterých jsou uloženy stejné geny a mají tedy stejné sekvence.

Je důležité si uvědomit, že zatímco žena má dva chromosomy X (a má veškeré geny z chromosomu X ve dvou kopiích), muž má chromosom X jenom jeden. Muž tak má řadu genů z chromosomu X **pouze v jedné kopii** (hovoříme o tom, že muž je pro tyto geny **hemizygotní**). Z toho plyne, že mutace v takovémto genu je pro muže závažnější než pro ženu, protože nemá druhou - potenciálně zdravou - kopii genu (alelu), která by mohla negativní účinek mutované kopie kompenzovat (viz Genetické choroby). Existují však i tzv. **pseudoautosomální oblasti** na chromosomu X a Y. Tyto oblasti obsahují homologní (tedy vlastně stejné) geny. Tato skutečnost má dva základní významy. Jednak jde o geny, které nacházíme ve dvou kopiích u mužů i u žen (a proto - v souladu s pojmem pseudoautosomální - se jejich dědičnost řídí podobnými pravidly jako dědičnost autosomální) a jednak jsou tyto oblasti důležité pro párování (jinak morfologicky značně odlišných) chromosomů X a Y do páru v průběhu buněčného dělení.

Cytogenetická nomenklatura

Již od samotných počátků klinické cytogenetiky zde byla potřeba univerzálního a jednotného návodu k zápisu cytogenetických nálezů.

V cytogenetické praxi se provádí zápis karyotypu tímto stylem:

celkový počet chromosomů + "," + gonosomový komplex (tj kombinace přítomných gonosomů)

V praxi tedy:

46,XY (Muž)

46,XX (Žena)

V tomto zápise je samozřejmě možné znázornit veškeré možné chromosomální mutace v konkrétním karyotypu. Pro bližší přehled doporučuji přímo příslušnou normu (ISCN 2009).

Pro vyšetření karyotypu je nutné zachytit buňky (při vyšetření karyotypu člověka se používají kultivované, dělící se leukocyty, odebrané z periferní krve) při mitóze (nejlépe v metafázi), k čemuž se dodnes používá vřetenkový jed - **kolchicin**. Dále se chromosomy znázorní třeba některou z pruhovacích technik, jako je Q pruhování nebo G pruhování (Ale dnes se již běžně používá řada modernějších metod pro zkoumání karyotypu - např. **FISH** = Fluorescent In Situ Hybridization).

3) Krevní skupiny

Krevní skupiny obecně

Objev krevních skupin patří mezi významné objevy lékařství počátku 20. století. Jako první objevil krevní skupiny (přesněji krevní skupiny AB0 systému) vídeňský lékař Karl Landsteiner již v roce 1900 (identifikoval však pouze 3 skupiny). Za svůj objev obdržel v roce 1930 Nobelovu cenu za medicínu a fyziologii. Spolu s Alexandrem Wienerem se podílel i na objevu Rh systému v roce 1937. Objev krevních skupin je však pevně spjat i se jménem českého lékaře Jana Janského (1873 - 1921). Jan Janský jako první zjistil, že člověk má jednu ze 4 krevních skupin (jako první tedy popsal všechny 4 skupiny), a to na základě křížových pokusů s krevními séry. Bez ohledu na objevitele - tento poznatek měl obrovský význam pro transfuze, které postupem času přestaly být smrtelným rizikem pro pacienta.

Podle čeho se vlastně krevní skupiny určují? Na membránách erytrocytů se vyskytují různé **antigeny** bílkovinné podstaty zvané **aglutinogeny** (příslušné reakce s těmito antigeny způsobují shlukování - aglutinaci - krve). Nejvýznamnější jsou právě aglutinogen A a aglutinogen B. Podle toho, které z těchto aglutinogenů jsou přítomny, se určuje krevní skupina:

Skupina A - Tvoří se pouze aglutinogen A.

Skupina B - Tvoří se pouze aglutinogen B.

Skupina AB - Tvoří se oba aglutinogeny.

Skupina 0 - Netvoří se žádný aglutinogen.*

** Přesněji řečeno - netvoří se aglutinogen (antigen) A nebo B. Nalézt zde však můžeme tzv **antigen H**, což je vlastně prekurzor pro antigen A i B. V některých textech je proto skupina 0 nazývána skupinou H.*

V krevní plazmě jsou naopak obsaženy bílkovinné protilátky zvané **aglutininy** (anti-A, anti-B). O tom, které typy protilátek jsou v krvi obsaženy, opět rozhoduje krevní skupina člověka.

Skupina A - Tvoří se pouze aglutinin anti-B.

Skupina B - Tvoří se pouze aglutinin anti-A.

Skupina AB - Netvoří se žádný aglutinin.

Skupina 0 - Tvoří se oba aglutininy (tj. anti-A i anti-B).

Pokud při transfúzi dostane pacient s krevní skupinou A sérum od dárce s krevní skupinou B, začnou pacientovy anti-B protilátky shlukovat krev a pacient pravděpodobně zemře. Vzhledem k několika dalším faktorům, **neplatí** ani známá poučka o krevní skupině 0 jako o univerzálním dárce, či o krevní skupině AB jako o univerzálním příjemci (pokud se jedná o transfúzi plné krve). Pro účely transfúze je

dnes vyšetření kompatibility mnohem složitější a zahrnuje i další antigenní systémy. Pro úplnost ale uvádím klasický diagram, znázorňující transfúzní komaptibilitu krevních skupin AB0 systému.

Dědičnost krevních skupin

Dědičnost je velmi jednoduchá. Uplatňují se různé alely jednoho genu (AB0 gen; 9q34; OMIM: [110300](#)). Alely podmiňující tvorbu aglutinogenu (buď A nebo B) jsou dominantní vůči alele, která nepodmiňuje tvorbu žádného aglutinogenu. Mezi sebou jsou kodominantní. Jak to tedy funguje?

Fenotyp - krevní skupina A - Genotyp AA nebo AO

Fenotyp - krevní skupina B - Genotyp BB nebo BO

Fenotyp - krevní skupina AB - Genotyp AB

Fenotyp - krevní skupina 0 - Genotyp OO

V některých případech tedy můžeme vyloučit rodičovství na základě znalosti krevních skupin rodičů a dítěte. V praxi známe ovšem pouze fenotyp, nikoli genotyp jedince - tudíž musíme uvažovat všechny možné genotypy, určující daný fenotyp. Máme následující možnosti:

Rodiče A X A - Dítě - A nebo O

Rodiče A X B - Dítě - A, B, AB nebo O

Rodiče B X B - Dítě - B nebo O

Rodiče A X O - Dítě - A nebo O

Rodiče B X O - Dítě - B nebo O

Rodiče AB X AB - Dítě - A, B nebo AB

Rodiče AB X A - Dítě - A, B nebo AB

Rodiče AB X B - Dítě - A, B nebo AB

Rodiče AB X O - Dítě - A nebo B

Rodiče O X O - Dítě - pouze O

Rh faktor

Kromě systému antigenů AB0 se rozlišuje ještě velké množství dalších systémů (Rh, MNSs, Lewis, P atd.). Nejznámější je systém Rh, objevený Wienerem na základě pokusu s krví opice druhu *Maccacus Rhesus*. Podle tohoto systému dělíme osoby na Rh pozitivní (Rh+) a Rh negativní (Rh-). Význam zde mají zejména antigeny C, D, E / c, d, e. Rozhodující je vliv antigenu D. Pokud je u jedince přítomen antigen D - je jedinec Rh pozitivní. Jedinci s antigenem d jsou Rh negativní (ve skutečnosti d není specifický antigen - vyjadřuje se tak nepřítomnost antigenu D).

Protilátky proti Rh pozitivní skupině (**anti-D protilátky**) se u Rh negativního jedince nevyskytují přirozeně (narozdíl od AB0 systému), ale objeví se až v případě **imunizace** jedince Rh pozitivní krví (např. při nevhodné transfuzi nebo při inkompatibilním těhotenství - viz dále). V ČR jsou přibližně čtyři pětiny obyvatelstva Rh pozitivní.

Na dědičnosti Rh systému se podílí dva geny: RHD (1p36.2-p34, OMIM: [111680](#)), který určuje přítomnost / nepřítomnost antigenu D, a RHCE (1p36.2-p34; OMIM: [111700](#)), který určuje antigeny C/c a E/e. Jak již bylo řečeno, pro Rh+ fenotyp je rozhodující přítomnost antigenu D. Můžeme tedy zjednodušeně říci, že Rh+ se dědí dominantně a osoby Rh negativní jsou recesivní homozygoti.

Rodiče Rh+ X Rh+ = Dítě Rh+ nebo Rh-

Rodiče Rh+ X Rh- = Dítě Rh+ nebo Rh-

Rodiče Rh- X Rh- = Dítě pouze Rh-

Hemolytická nemoc novorozenců (Fetální erytroblastóza)

Při inkompatibilním těhotenství, kdy matka je Rh-, zatímco dítě zdědilo po otci Rh+, dochází k tzv. **Fetální erytroblastóze**.

Fetální erytroblastóza (nyní označovaná jako hemolytická nemoc novorozenců) je stav, kdy matčin imunitní systém bojuje proti plodu (plod je Rh+, matčin imunitní systém tento antigen nezná a považuje jej za cizorodý), začne vytvářet protilátky, které u plodu způsobí různé formy novorozenecké žloutenky (rozklad krve), v horším případě také různé nervové poruchy.

První těhotenství většinou rizikové nebývá (díky placentární bariéře nedochází k mísení krve matky s krví plodu), krev novorozence se do matčina oběhu dostane až při samotném porodu. Ovšem toto množství stačí k imunizaci matky, proto každé další nekompatibilní těhotenství by bylo mnohem rizikovější. V současné době se tomuto zamezuje podáváním anti-D protilátek do 72h po porodu (případně i po potratu nebo po provedení amniocentézy).

V patogenezi této choroby se však může uplatňovat i inkompatibilita v jiných krevně - skupinových systémech.

Podskupiny

Antigenita u skupiny A nemusí být jednotná. Rozlišujeme několik podskupin (A1 - A6) podle antigenity těchto skupin (nejsilnější antigenitu a tudíž nejsilnější reakci s anti-A protilátkami má skupina A1, nejslabší A6). Nižší antigenita je podmíněna nižším procentuálním zastoupením erytrocytů s antigenem A (zbylé erytrocyty mají pouze antigen H).

Obdobná je situace u skupiny B. V případě skupiny AB rozlišujeme podskupiny rovněž - můžeme se setkat například se skupinou A2B1.

Chemická podstata aglutinogenů a aglutininů

Aglutinogeny jsou antigenové struktury na membránovém povrchu. Základní stavební jednotkou je oligosacharid, vzniklý kombinací 4 monosacharidů (L-fukosa, D-galaktosa, N-acetylglukosamin, N-acetylgalaktosamin). Antigen H (jakožto prekurzor antigenů A i B) je tvořen 5 monosacharidy; pokud je k těmto navázán ještě 6. monosacharid - jedná se o antigen A nebo B - podle toho, který monosacharid je navázán.

Aglutiny patří mezi imunoglobuliny (γ-globuliny). Přirozené protilátky (jako třeba anti-B protilátky u skupiny A) patří mezi IgM protilátky, zatímco protilátky, které vznikly až při imunizaci jedince (např. anti-D protilátky), jsou typu IgG.

Fenotyp Bombay

I tvorba antigenu H je geneticky podmíněna. Může dojít k vzácnému případu, že jedinec je hh recesivní homozygot a netvoří tedy antigen H. Protože tento antigen je prekurzorem pro tvorbu

antigenů A i B, může být syntéza antigenů A či B přerušena již v tomto kroku. Ve výsledku bude mít jedinec fenotyp skupiny 0 (nebude u něj prokázán antigen A, respektive antigen B), ačkoli jedinec může nést geny pro tvorbu některého z těchto antigenů (A či B, případně obou). Představme si situaci, že jedinec má genotyp AA ale zároveň i hh. Fenotypově mu bude určena krevní skupina 0 (právě tento fenotyp se označuje jako fenotyp Bombay). Pokud bude mít potomka s jiným jedincem se skupinou 0 - tentokrát ovšem jde o jedince s genotypem 00 a HH - potom bude mít tento potomek krevní skupinu A (genotyp A0 Hh). Výsledkem bude tedy situace, která odporuje základním pravidlům dědičnosti krevních skupin. Jedná se však o velmi vzácný fenomén, poprvé identifikovaný právě v Indii.

4) *Imunogenetika a imunitní systém*

Imunitní systém člověka

Imunitní systém člověka zajišťuje obranu lidského organismu před různými parazitickými organismy (bakterie, viry, houby, parazitičtí červi a prvoci atd.). Imunitní reakce je reakce organismu na přítomnost **antigenu** - chemická nebo tělísková struktura vyvolávající imunitní reakci. Může jím být cizorodý patogen, nebo i buňky vlastního organismu, jak je tomu při některých autoimunitních onemocněních. Jako antigenní výbava se označují i systémy krevních skupin, jako je systém AB0 nebo Rh.

Imunitu můžeme dělit jednak podle doby nástupu a specifčnosti (Specifická X Nespecifická imunita) a hlavního efektorového mechanismu (Protilátková X Buněčná imunita).

Buněčnou složku imunity tvoří bílé krvinky - neboli **leukocyty**. Průměrné množství leukocytů u dospělého člověka je $4-9 \cdot 10^9$ /l krve a to u obou pohlaví. Zvýšený počet může signalizovat infekční onemocnění. Znatelně vyšší počet leukocytů najdeme u novorozenců. Obecnou vlastností bílých krvinek je schopnost vystupovat z krevního řečiště (kde se normálně nacházejí a cirkulují) do tkání, kde se uplatňují. Tato schopnost se označuje jako **diapedéza**.

Protilátkovou složku imunity zajišťují protilátky - **imunoglobuliny** (viz dále).

Pokud mluvíme o imunitním systému, nesmíme zapomenout na lymfatické tkáně a orgány, které vytváří s leukocyty a protilátkami komplexně-funkční celek. Jako primární lymfatické orgány označujeme takové, ve kterých dochází ke vzniku a vývoji bílých krvinek - u člověka jde o **kostní dřeň** a **brzlík** (*thymus*). Sekundární lymfatické orgány (lymfatické uzliny, krční a nosní mandle, slezina či lymfatická tkáň střev a žaludku) jsou potom lokalizovány různě po těle a slouží jako "strážní stanice" - neboť jimi protéká lymfa (lymfatické uzliny) respektive krev (v případě sleziny) - případné patogeny jsou tak přímo vystaveny účinkům buněk specifické i nespecifické imunity, které tvoří převážnou část hmoty těchto orgánů.

Nespecifická imunita

Jedná se o imunitu neadaptivní, je vrozená a její mechanismy mohou být v případě infekce použity okamžitě. Jedná se především o různé mechanické zábrany (pokožka, řasinky v nose), imunitu sliznic (hlen, přítomnost symbiotických bakterií), zvyšování tělesné teploty (pyrogeny), přítomnost baktericidních látek v některých tělních tekutinách (slzy, sliny, žaludeční šťávy - HCl), aktivace komplementu (skupina proteinů z krevního séra) a především schopnost fagocytózy (pohlcování cizorodých částic) některých bílých krvinek (makrofágy, a neutrofilní granulocyty).

Mimo některé leukocyty se na nespecifické imunitě nejvíce podílí následující faktory:

- **Přirozené bariéry** - neporušený povrch kůže a sliznic brání v průniku patogenních organismů hlouběji do organismu. Může být různými způsoby porušena - například infekce otevřené rány nebo přenos patogenů při poštípání komárem nebo klíštětem.

- **Nepříznivé prostředí** - souvislá vrstva hlenu na sliznicích zabraňuje adhezi (přilnutí) patogenních virů a bakterií. Pohybem řasinek (například u buněk výstelky dýchacích cest) mohou být zachycené patogeny dokonce odklizeny pryč. Uchycení patogenních bakterií může bránit i fyziologická flóra ("přátelské bakterie"), neboť jejich přítomnost nedovolí přichycení bakterií patogenních (není pro ně místo).

Fyziologická flóra ve vagině ženy (Döderleinův laktobacil) vytváří kyselé pH (kyselina mléčná), které je pro většinu potenciálních patogenů nevhodné.

Přirozeným baktericidním (bakterie smrtícím) účinkem působí enzym lysozym, který je obsažen ve slinách a slzách; kyselina chlorovodíková (HCl) ze žaludku je schopná zlikvidovat řadu bakterií i obalených virů.

- **Zánět a pyrogeny** - **Zánět** je nespecifická reakce organismu na poškození škodlivinou (nemusí se jednat pouze o bakterii či virus). Účastní se ho různé leukocyty i jiné buňky a celá řada chemických látek (hodně z nich jsou tzv. cytokiny - viz dále). Zánět se typicky projevuje bolestí - začervenaním - zvýšením teploty - otokem - poškozením funkce (*dolor - rubor - calor - tumor - functio laesa*)
Pyrogeny jsou látky produkované buď přímo organismem (opět jde o různé cytokiny) nebo mohou být například i bakteriálního původu. Jejich působením dochází k nastavení optimální tělesné teploty na vyšší teplotu, než je obvyklé (to se navenek projevuje zvýšenou teplotou nebo dokonce horečkou) - zvýšení teploty má za úkol zabránit dalšímu množení patogenních mikroorganismů. Jakmile účinek pyrogenů ustane, dojde opět ke snížení tělesné teploty (což se projevuje například pocením).
- **Komplement** - komplement je soubor bílkovin z krevní plazmy, který může být aktivován komplexy antigenu a protilátek nebo třeba specifickými povrchovými znaky některých bakterií. Aktivovaný komplex komplementových bílkovin má lytický účinek na cytoplazmatickou membránu, do které vytváří póry (účinkuje tak na různé - především gramnegativní bakterie, obalené viry nebo i tělu vlastní buňky při některých autoimunitních onemocněních). Mimo to mají některé komplementové bílkoviny chemotaktický a opsonizační účinek - obojí viz níže.

Mezi leukocyty, které se podílejí na nespecifické imunitě, patří bílé krvinky s charakteristickými granulami (**granulocyty** - patří sem neutrofilní, eosinofilní a bazofilní granulocyty) a buňky bez zřetelných granul (**agranulocyty** - mezi ně patří především monocyty a tkáňové makrofágy a speciální lymfocyty - NK buňky).

- **Neutrofilní granulocyty** - jejich granula se zřetelně nebarví ani eosinofilními ani bazofilními barvivy. Jedná se o buňky, jejichž hlavní úlohou je **fagocytóza** cizorodého materiálu (v průběhu fagocytózy bílá krvinka cizorodou částicí obklopí svými výběžky, následně pohltí a zlikviduje pomocí účinných enzymů). Fagocytóza je významný mechanismus nespecifické imunity, který může fungovat i bez protilátek. Nicméně pokud je cizorodá částice obklopena specifickými protilátkami nebo částmi komplementu, je jejich pohlcení usnadněno. Tomuto specifickému obalení se říká **opsonizace**.

Další významnou vlastností neutrofilních granulocytů je schopnost reagovat na koncentraci určitých látek bakteriálního nebo vlastního původu. Neutrofilny mají schopnost migrovat k místu s největší koncentrací těchto látek. Tento proces "nalákávání" neutrofilů se označuje jako **chemotaxe**. Chemotaktický účinek mají různé molekuly bakteriálního původu, některé cytokiny nebo určité části komplementu.

Neutrofilní granulocyty mohou fagocytovat pouze jednou, potom buňka zahyne. Je jich nejvíce ze všech granulocytů i ze všech bílých krvinek. Vytéká-li z rány hnis - je tento tvořen především mrtvými neutrofilny.

- **Eozinofilní granulocyty** - jejich granula se barví červeně eozinofilními barvivy. Stejně jako neutrofilní granulocyty mají schopnost fagocytózy, není to však jejich hlavní úloha. Tou je obrana proti různým parazitárním (prvoci, tasemnice, hlístice) onemocněním, proti kterým

bojují eosinofily enzymy ze svých granul. Dále se eozinofily uplatňují při alergických reakcích - jejich množství se u alergií může znatelně zvyšovat.

- **Bazofilní granulocyty** - jsou nejméně četné ze všech granulocytů i bílých krvinek. Jejich granula se barví bazofilními barvami temně modře až modrofialově. Jejich granula obsahují především heparin a histamin, což jsou látky účastníci se především zánětlivé odpovědi a alergických reakcí. Teoreticky jsou schopné i fagocytovat.
- **Žírné buňky** (heparinocyty, mastocyty) jsou jakousi obdobou bazofilních granulocytů, která se vyskytuje v tkáních a pojivu. Stejně jako bazofilní granulocyty obsahují heparin a histamin.
- **Monocyty a makrofágy** - Monocyty jsou největší ze všech leukocytů. Jsou to opět fagocytující buňky jako neutrofily, oproti nim však mohou fagocytovat opětovaně a mají rozsáhlejší "arsenál" látek, kterým mohou degradovat pohlcený materiál (proto se jim občas říká profesionální fagocyty). Monocyty vycestovávají z krevního řečiště, kde vyžívají ve své aktivní formě - **tkáňové makrofágy**. Takové makrofágy najdeme například v játrech, v plicích, ve slezině nebo v kůži (jako tzv. dendritické buňky).
- **NK-buňky** - Patří do nespecifické imunity, ale budou probrány níže spolu s lymfocyty.

Specifická imunita

Tato část imunitního systému je zajišťována **lymfocyty**, které dělíme na dvě skupiny - a to sice B-lymfocyty a T-lymfocyty. Specifická imunita nastupuje později než imunita nespecifická. Specifická se jí říká proto, neboť buňky specifické imunity specificky rozeznávají antigeny, které nejsou tělu vlastní. Rychlost a efektivnost specifické imunity je (na rozdíl od nespecifické imunity) závislá na tom, po kolikáté se imunitní systém s konkrétním antigenem setkává.

Nutno podotknout, že celá problematika specifické imunitní odpovědi je velice složitá a její detailní popsaní by si vyžádalo celé takovéto stránky. Následující text je proto zjednodušený a zkrácený.

Buňky lidského těla jsou vybaveny různými antigeny. Jsou to určité látky, nejčastěji glykoproteinové povahy, které vyčnívají z buněčné membrány do okolí (srovnejte s kapitolou - krevní skupiny). Hlavní antigenní systém se označuje jako **MHC** (Major Histocompatibility Complex) – hlavní histokompatibilní komplex; v případě člověka se používá také označení **HLA** (Human Leukocyte Antigens). Existují dva základní druhy MHC glykoproteinových antigenů - **MHC I** (které se dělí ještě na klasické a neklasické) a **MHC II**. Komplex genů, který MHC I a II kóduje, se nachází na krátkém raménku 6. chromozomu.

MHC antigeny I. třídy se vyskytují na všech buňkách těla. V lidské populaci se vyskytuje řada alelických variant MHC I genů, které se mohou navzájem kombinovat, z čehož plyne **ohromná rozmanitost** antigenních systémů u různých lidí (proto je tak obtížné nalézt vhodné dárce například při transplantacích). Pro daného člověka je však antigenní systém MHC I již neměnný a imunokompetentní buňky jej považují za standard (tělu vlastní buňky nevyvolávají imunitní odpověď). Ovšem v případě nádorových nebo virem infikovaných buněk mohou být MHC I antigeny pozměněny, nebo dokonce chybět. Takové buňky jsou rozpoznávány jako tělu cizí a spouštějí specifickou imunitní odpověď (viz dále).

MHC antigeny II. třídy nemají všechny buňky v těle. Mají je speciální buňky, které označujeme jako **antigen prezentující buňky** (APC). Jak již název napovídá, jedná se o buňky, které nějakým způsobem předkládají antigen imunitnímu systému. To umí například makrofágy nebo ony zmiňované dendritické buňky. Jak jsme si již řekli, tyto buňky mohou opakovaně fagocytovat a tento fagocytovaný materiál destruovat pomocí své bohaté enzymové výbavy. Některé částičky pohlcených a degradovaných antigenů jsou následně fagocytující buňkou **využity při syntéze MHC II**. Výsledný MHC II antigen, který je umístěn do cytoplazmatické membrány fagocytující buňky, tak předkládá příslušným imunokompetentním buňkám "vzorek" antigenní struktury patogenního mikroorganismu, který napadl lidský organismus.

Proto jsou zapotřebí obě třídy MHC antigenů. Zatímco první třída slouží jako identifikace tělu vlastních buněk, přesná komformace antigenů druhé třídy se mění na základě fagocytovaného materiálu a

nemusí být (a také není) vždy stejná. MHC I antigeny jsou rozpoznávány cytotoxickými T-lymfocyty a MHC II antigeny jsou rozpoznávány pomocnými T-lymfocyty.

Lymfocyty

Lymfocyty jsou buňky specifické imunity. Dělíme je na **T-lymfocyty** (tyto lymfocyty po vzniku v kostní dřeni putují do brzlíku (thymus - odtud T-lymfocyty) a **B-lymfocyty** (u ptáků se stěhují do kloakálního výběžku zvaného Fabriciova bursa - odtud B-lymfocyty). T lymfocyty dále dělíme na cytotoxické T - lymfocyty (T_c) a pomocné T - lymfocyty (T_h). Dále sem patří i výše zmiňované **NK** (Natural Killers) buňky.

- **Cytotoxické T-lymfocyty** - Základní receptor T buněk TCR je stejný pro cytotoxické i pomocné T-lymfocyty. Pro rozpoznání MHC antigenu správné třídy jsou důležité tzv. koreceptory. V případě Cytotoxických T-lymfocytů jde o CD8 koreceptor, díky kterému T_c rozeznávají MHC I. Pokud má buňka MHC I antigen pozměněný (virem infikovaná nebo nádorová buňka), má T_c buňka prostředky (perforiny a granzymy) **k usmrcení buňky** tím, že navodí [apoptózu](#).
- **Pomocné T-lymfocyty** - Jejich koreceptorem je CD4 (tento receptor specificky rozeznává virus HIV, který napadá právě T_h lymfocyty), díky kterému mohou T_h lymfocyty rozpoznávat MHC II antigeny na antigen prezentujících buňkách. Díky tomuto rozpoznání mohou T_h lymfocyty usměrňovat imunitní odpověď a aktivovat další buňky imunitního systému. První podtyp T_h lymfocytů - T_h1 lymfocyty aktivují makrofágy (aktivované makrofágy účinněji likvidují fagocytovaný materiál); T_h2 lymfocyty aktivují B-lymfocyty (viz dále) k tvorbě příslušných specifických protilátek. Role T_h lymfocytů je velmi důležitá, o čemž svědčí příznaky syndromu AIDS, neboť virus HIV napadá právě T_h lymfocyty a snižuje jejich počty.
- **B-lymfocyty** - Zajišťují imunitu založenou na protilátkách - imunoglobulinech (detailnější popis - viz níže). I jejich hlavní receptor - BCR je membránově vázaná protilátka (třídy IgD nebo IgM). Aktivace B-lymfocytu probíhá buď po navázání antigenu na membránový receptor (BCR) nebo (a v tomto případě jde o účinnější stimulaci) pomocí T_h2 lymfocytu, který předtím rozeznal antigen na antigen prezentující buňce. Po aktivaci se B - lymfocyty pomnoží, většina se jich diferencuje na **plazmatické buňky**, které začnou produkovat velké množství protilátek; vytvoří se ovšem také určité množství **paměťových buněk**, které urychlí protilátkovou imunitní odpověď při příštím setkání se stejným antigenem.
- **NK buňky** - Vypadají jako velké lymfocyty s četnými granuly, postrádají však klasické receptory TCR i BCR. Jsou však schopné rozeznávat buňky, které nemají (nebo mají velmi málo) MHC I antigeny ve své membráně (Jedná se o některé nádorové nebo virem infikované buňky, které se tímto "maskují" před T_c lymfocyty). Po rozpoznání takovéto buňky NK buňka tuto buňku zahubí, podobným způsobem, jako to dělají T_c lymfocyty - proto označení NK buněk - přirození zabijáci. Nutno podotknout, že tento mechanismus patří spíše do nespecifické imunity.

Primární a sekundární imunitní odpověď

Primární imunitní odpověď nastává, pokud se organismus setkává s konkrétním antigenem poprvé. Po prodělané infekci však v organismu zůstávají paměťové buňky (diferencují se z B i T-lymfocytů). Proto je při opakované infekci tím samým antigenem potřebná kratší doba k rozvinutí plnohodnotné imunitní odpovědi, neboť imunitní systém "má náskok". Tohoto faktu se využívá při **aktivní imunizaci**, které dosahujeme vakcinací, čili očkováním (aktivní imunizaci také označujeme proděláním příslušné choroby). Princip vakcinace je založen na podání látky s mrtvým nebo oslabeným mikroorganismem (nebo jen jeho částí), na kterou organismus odpoví imunitní reakcí, při které dojde ke vzniku protilátek a oněch paměťových buněk. Důležitými předpoklady pro očkovací látku je fakt, že jejich podání nesmí způsobit onemocnění, ale zároveň podaná látka musí být dostatečně tzv. imunogenní, aby se protilátky a paměťové buňky vůbec vytvořily.

Imunoglobuliny

Imunoglobuliny jsou proteiny s globulární terciální strukturou. Existuje jich 5 základních typů, do kterých se rozdělují podle svého těžkého řetězce. Základní stavba - dva lehké řetězce a dva těžké řetězce spojené disulfidickými (S-S) můstky je však u všech typů stejná. Těžké řetězce mohou být typu alfa (α), delta (δ), epsilon (ϵ), gamma (γ) nebo mí (μ). Lehké řetězce mohou být dvou typů - kappa (κ) a lambda (λ). Podle těžkého řetězce tedy rozlišujeme IgA, IgD, IgE, IgG a IgM. Každá molekula imunoglobulinu má oba těžké i oba lehké řetězce vždy stejné. O antigenní specifitě protilátek (o tom, jaké bude mít prostorové uspořádání a jaké bude tím pádem rozpoznávat antigeny) se rozhodne během vývoje B - lymfocytu, stejně jako o tom, jestli bude mít kappa nebo lambda lehké řetězce. Co se týče typů protilátek - nejdříve jsou B - lymfocytem produkovány protilátky třídy IgM, teprve později po další stimulaci dojde k produkci dalších typů (třeba IgG).

Obecnou schopností protilátek je vázat se svými vazebnými místy (epitopy) na vazebná místa antigenu (paratopy). Tato vazba epitop - paratop může být různě silná; jeden epitop může rozeznávat mnoho různých protilátek a jeden antigen může mít mnoho různých epitopů. Vazba protilátky na antigen usnadní jeho fagocytózu (opsonizace), případně může tato vazba antigen rovnou inaktivovat. Významná je například inaktivace různých toxických látek pomocí "obalení" protilátkami (například u tetanového nebo jiných bakteriálních toxinů). Některé typy protilátek umí aktivovat komplement (viz výše).

Pasivní imunizace je proces, při kterém do těla dodáváme již hotové protilátky proti určitému antigenu. Využívá se například v terapii různých onemocnění způsobených toxiny (tetanus, botulismus), kdy podáváme séra s protilátkami, která mají za úkol vyvázat molekuly toxinu a zneutralizovat je.

- **IgA** - Vyskytuje se v sekretech (slzy, sliny) a účastní se slizniční imunity. Sekreční forma je monomer (1 molekula imunoglobulinu), slizniční forma je dimer (2 molekuly spojené dohromady)
- **IgD** - Tvoří membránový receptor B - lymfocytů (BCR)
- **IgE** - Uplatňuje se při alergických reakcích a v imunitních reakcích zaměřených na parazity
- **IgG** - Nejhojnější forma v séru; prostupuje placentou
- **IgM** - Vyskytuje se ve formě pentameru (5 molekul Ig spojených dohromady); je to imunoglobulin časně protilátkové odpovědi

Genetická kontrola imunitní odpovědi

Genetika hraje obrovskou úlohu při regulaci imunitní odpovědi. Zatímco nespecifické imunitní mechanismy jsou relativně jednotvárné a jsou vytvářeny tak, aby nemohly ublížit vlastnímu organismu; musí být specifická imunita pod přísnou kontrolou, aby imunokompetentní buňky přesně rozlišovaly cizí od vlastního a aby byly schopné rozeznat co nejvíce cizích antigenů.

Těžký řetězec imunoglobulinu je kódován komplexem genů na 14q. Jedná se o velkou oblast, ve které se nachází řada variabilních (V), diverzifikačních (D), spojovacích (J) a konstantních úseků (C). Takzvaná VDJ rekombinace (přeskupení, či rearrangement) odpovídá změnám na somatické úrovni, kdy je zachován pouze jeden V segment, D segment a J segment (k vystřížení mezi VDJ dochází na úrovni DNA, úsek mezi J a C je vystřížen na úrovni mRNA). Typ konstantního řetězce je určen konstantním - C úsekem. Jelikož nejbližší úseku J je po VDJ rekombinaci C μ - tvoří se nejdříve IgM. Teprve později dochází pod vlivem určitých cytokinů k tzv. **izotypovému přesmyku**, během kterého jsou vyštěpeny určité konstantní úseky (B - lymfocyt tak může produkovat jiný typ imunoglobulinu než IgM, například IgG).

Podobným stylem jako rekombinace u těžkého řetězce dochází k rekombinaci i u lehkých řetězců (zde jde pouze o VJ rekombinaci - nejsou zde diverzifikační úseky). Imunoglobulin má buď oba lehké řetězce kappa (genový komplex na 2q) nebo oba lambda (genový komplex na 22q) - nikdy nemá jeden kappa a druhý lambda.

Po úspěšné V(D)J rekombinaci na jednom chromozomu se tento stane pro vyvíjející se B - lymfocyt standardem a exprese komplexu na druhém homologním chromozomu se potlačí - **alelická exkluze**. Pokud je rekombinace na prvním chromozomu neúspěšná (netvoří se funkční produkt) - pokračuje se s rekombinací na druhém chromozomu. Je-li i tato rekombinace neúspěšná - B - lymfocyt hyne apoptózou (v případě lehkých řetězců se nejprve zkouší rekombinace řetězců kappa, následně i lambda).

Co je důležité - je zamezit existenci autoreaktivních B - lymfocytů, které by produkovaly protilátky proti vlastním tkáním. Proto B - lymfocyty, které se v kostní dřeni vážou na okolní tkáň - jsou autoreaktivní, hynou řízenou apoptózou.

Pokud vezme v potaz všechny možné kombinace úseků v lehkém i těžkém řetězci, zjistíme, jaké obrovské množství výsledných struktur imunoglobulinové molekuly nám může vzniknout. To je velmi žádoucí, neboť každá molekula (která by samozřejmě neměla být autoreaktivní) může být klíčová pro rozpoznání příštího, zcela i nového antigenu. Podobná rozmanitost je velmi žádoucí i u TCR - viz dále.

TCR - receptor T - lymfocytů je složen vždy ze dvou podjednotek (alfa-beta nebo gama-delta). Tyto jednotky jsou kódovány komplexem genů, který je podobný komplexu genů pro imunoglobulinové řetězce. Komplex genů pro podjednotku alfa leží na 14q, beta na 7q a gama na 7p. Komplex genů podjednotky delta leží uprostřed komplexu podjednotky alfa. I zde dochází k přeskupování a vystřihávání mezi V, J, D a C řetězci, aby na konci byla hotová TCR molekula, která bude pro vyvíjející se T - lymfocyt typická a jediná. I zde dochází k likvidaci takových T - lymfocytů, které buď nejsou schopny rozeznávat MHC molekuly vůbec, nebo naopak reagují i s molekulami těla vlastními (existuje i teorie jakési "školky" pro vyvíjející se lymfocyty, kde je lymfocytům předkládána řada "ukázek" vlastních antigenů (i takových, se kterými by se v primárních lymfatických orgánech normálně nesetkaly); každá autoreaktivita je "odměněna" silným proapoptotickým signálem.

Pokud regulační úloha nějakým způsobem selže - například díky mutacím v DNA - dochází k různě závažným autoimunitním nebo imunodeficitním stavům - srovnej genetické poruchy imunity.

Cytokiny a interleukiny

Bavíme-li se o imunitním systému - nesmíme zapomenout na interleukiny, či přímo na cytokiny. Interleukiny je označení pro malé signální molekuly produkované různými leukocyty; označení cytokiny je širší a mimo interleukiny sem patří i produkty jiných buněk než bílých krvinek, například endotelu. Informační kaskády, řízené cytokiny a jejich receptory, jsou esenciální pro regulaci imunitní odpovědi i vývoje leukocytů, reakce endotelu a okolních buněk nebo i pro reakci systémovou. Uvedme si několik málo příkladů cytokinů:

- Prozánětlivé a pyrogenní: IL-1, IL-6, TNF α
- Protizánětlivé: IL-4, IL-10, TGF β
- Chemotaktické: IL-8
- Aktivující makrofágy: IFN γ
- Protivirové interferony: IFN α , IFN β
- Zúčastněné v krvetvorbě a diferenciaci krevních elementů: IL-2, IL-3, IL-7, erytropoetin, G-CSF, M-CSF, GM-CSF

CD molekuly

Systém CD (z Cluster of differentiation) molekul popisuje membránové struktury leukocytů. Jejich seznam je stále upravován aktuální verzi najdete například zde: <http://www.exactantigen.com/review/cd.html>.

5) Etika a genetika

Gen-etika

Každé odvětví lidské činnosti má své etické a právní aspekty. Některé jednodušší, některé složitější. Stejně tomu je i v případě genetiky, která patří k oborům se spíše složitějšími etickými otázkami (právní otázky jsou řešené platnou legislativou každého státu). Díky využití genetiky v lékařství – v rámci lékařské či klinické genetiky – se některé otázky stávají každodenní součástí dnešní medicíny. A s rozvojem biotechnologií bude těchto otázek jistojistě přibývat. Následující text není univerzálním pohledem na věc ani učebním textem etiky; spíše by měl ukázat na jednotlivé problémy a jejich možná řešení.

Kdy testovat?

Otázka načasování genetických testů není jednoduchá. Testy v rámci prenatalní diagnostiky mají za úkol odhalit případné vrozené vývojové vady či geneticky podmíněné choroby plodu a nabídnout matce další postup (umělé ukončení těhotenství, prenatalní či postnatální terapii apod.). V tomto období o testování rozhoduje matka dítěte.

S narozením dítěte se ovšem situace mění. Na každé dítě je nutné pohlížet jako na samostatného jedince, který má právo vědět i nevědět. Jde například o otázku testování **Huntingtonovy chorey**. Pro připomenutí – jedná se o autosomálně dominantně dědičnou chorobu, podmíněnou dynamickou mutací (zmnožením trinukleotidových repetecí), která nastupuje (z plného zdraví) až ve středním věku, kdy během několika let vede k progresivním neurologickým příznakům, změně osobnosti a nakonec ke smrti. Léčba této choroby neexistuje, proto je genetické potvrzení mutace u bezpříznakového jedince informací vskutku fatální. V rodinách, kde jeden z rodičů má příslušnou mutaci, existuje pro každé z jeho dětí 50% riziko, že tuto mutaci rovněž zdědilo. Genetické potvrzení diagnózy dává strašlivou jistotu, ovšem nejistota bez genetického vyšetření může být neméně strašlivá. V tomto případě je správné, aby si každý rozhodl sám, zda se nechá – či nenechá testovat. Takové rozhodnutí vyžaduje již zralou osobnost testovaného, která si musí být vědomá všech možných důsledků, které s sebou výsledek testu přinese. Věková hranice je vzhledem k testování individualit rovněž individuální, nebude však nižší než 18 (někdy 15) let věku; lze doporučit psychologické vyšetření pro posouzení duševní stránky vyšetřovaného.

A ještě v jednom případě můžeme mít problémy s právem nevědět. Opět použiju extrémní, ale velmi instruktivní příklad Huntingtonovy chorey. Vezměme si například dvacetiletého muže, který – ač jeho otec má prokázanou Huntingtonovu choreu – genetické testování odmítl. Tento muž se ožení a založí rodinu. Vynechme nyní (rovněž podnětnou) otázku, zda je správné, aby manželce o této chorobě v rodině řekl a konstatujme, že manželka byla o rodinné zátěži informována. Následkem toho je genetická konzultace páru, a jelikož manžel testování stále odmítá, tak se při prvním těhotenství manželka rozhodne pro DNA diagnostiku plodu (na což má plné právo i přes manželův nesouhlas). Manželka samozřejmě nikdo nebude nutit, aby se s výsledkem vyšetření plodu seznámil. Pokud bude plod zdravý, těhotenství bude zřejmě nadále pokračovat (příčemž fakt že plod nenese mutovanou alelu, ještě neznamená, že ji nenese jeho otec – tedy manžel těhotné; pravděpodobnost předání je pro autosomálně dominantně dědičnou chorobu obvyklých 50%); ovšem pokud se manželka najednou rozhodne pro umělé ukončení těhotenství (z důvodů, který se manžel nedozví, protože ho nechce slyšet), potom manžel musí nutně propadnout podezření, že plod nesl mutovanou alelu, což s velkou pravděpodobností znamená, že ji nese i on sám. Výsledek je tak téměř stejný, jako kdyby se manžel pro testování své osoby sám rozhodl.

Pokud by se manželka pro testování plodu nerozhodla, potom je zde stále možnost (ačkoliv proti ní hraje čas), že dítě jednoho dne dospěje a bude si přát vědět, zda náhodou po dědečkovi Huntingtonovu choreu nezdědilo. Otec, kterému v tuto dobu může být ke čtyřicítce, ještě žádné projevy mít nemusí. Výsledek testu se otec dozvědět nemusí, ale opět zde mohou být náznaky, které naznačí pozitivní či negativní výsledek testu dítěte. Na tomto případě jsem chtěl ukázat provázanost genetických vztahů v rodině, kde se právo nevědět jednoho nutně kryje s právem vědět druhého.

V případě Huntingtonovy chorey jsme mluvili o tzv. **presymptomatickém testování**. Jedná se o takové testování, kdy výsledek testu předchází objevení symptomů choroby, často i o několik let. Dalším případem presymptomatického testování jsou testy v rodinách s geneticky podmíněnými nádorovými syndromy. Jelikož i v tomto případě jde o závažné choroby, doporučuje se rovněž počkat s testováním alespoň do období dospívání. Tedy pokud zde nehrozí nebezpečí z prodlení...

Řada chorob se však může projevit i v raném dětském věku. Patří sem zejména různé metabolické poruchy, kde včasná diagnostika (ať již na základě genetického či biochemického vyšetření) často znamená i včasné zahájení léčby (např. dietní). V těchto případech je tedy testování dětí oprávněné.

Umělé ukončení těhotenství

Jedním z nejdiskutovanějších problémů, nejen genetiky, ale vlastně celé medicíny je umělé ukončení těhotenství. V každém státě existuje platná legislativa, která tento problém řeší z hlediska právního. Co je tedy legální v jednom státě, nemusí být legální jinde a naopak. Ovšem etické otázky zůstávají. Vynechejme teď základní otázku, zda má někdo vůbec právo předčasně ukončovat těhotenství a zaměřme se spíš na některé problémy současné lékařské genetiky.

Současná legislativa v České republice (viz níže) umožňuje umělé přerušení těhotenství z genetických důvodů **do ukončeního 24. týdne** těhotenství. Zákon přitom hovoří o závažných chorobách či vadách. (Doslova: *Po uplynutí dvanácti týdnů délky těhotenství lze uměle přerušit těhotenství, jen je-li ohrožen život ženy nebo je prokázáno těžké poškození plodu nebo že plod je neschopen života.*) Nicméně, zde se otevírá otázka definice závažné vady. Například **anencefalie** je letální vrozená vada centrálního nervového systému (ze skupiny rozštěpů neurální trubice – NTD), postižení umírají krátce po narození. Taková vada je jistě závažná a umělé ukončení těhotenství zde nebude překvapivé. Ovšem co takový Turnerův syndrom, způsobený monozomií chromozomu X (45,X), případně strukturální aberací druhého X chromozomu. Postižené ženy mají řadu komplikací, především nízký vzrůst (existuje terapie růstovým hormonem), opožděný a narušený vývoj sekundárních pohlavních znaků (existuje terapie pohlavními hormony) a většinou nemohou mít vlastní děti (existuje možnost donosit dítě z darovaného vajíčka); intelekt není narušen. Ženy s tímto syndromem mohou mít různé problémy a omezení, nicméně prožívají téměř plnohodnotný život. To platí zejména pro ženy s mosaikovou formou Turnerova syndromu, u které jen část buněk nese patologický karyotyp. Je tedy nutné i tuto vadu vždy ukončovat? Extrémním případem jsou pak rozštěpové vady rtu, čelisti či patra. Tyto vady jsou rovněž prenatalně diagnostikovatelné (především díky ultrazvukové diagnostice). Takový rozštěp je estetickou i funkční vadou, nicméně plastická chirurgie dnes zvládá i komplikovanější rozštěpy výborně korigovat. Někteří jedinci tak budou muset podstoupit sérii plastických operací a výsledek třeba nikdy nebude na úrovni nepostiženého jedince - je to však důvodem k umělému přerušení těhotenství?

Poznámka: tady je však potřeba se zamyslet i nad možností různých syndromů, u kterých může být obličejový rozštěp jedinou prenatalně diagnostikovanou odchylkou... A jiný příklad – jak na obličejový rozštěp, který je diagnostikován velmi časně – možnost velkého postižení, deviace septa, maxily....

S touto vadou rovněž souvisí otázka selekce podle pohlaví. V počátcích klinické genetiky byla selekce dle pohlaví běžnou metodou v případě závažných gonosomálně dědičných (X-vázaných) chorob (jako je například **Duchennova svalová dystrofie** či **Hemofilie**). Na plod ženského pohlaví se nahlíželo jako na nepostižený (plod mohl být v nejhorším případě přenašeč), zatímco plod mužského pohlaví byl z 50% postižený a proto bylo možné těhotenství z genetických důvodů ukončit. Tato metoda je dnes ve většině zemí již obsoletní, nicméně fenomén selekce dle pohlaví zde zůstává. Stále je zde riziko, že rodiče budou preferovat potomka určitého pohlaví a budou hledat určitou záminku k umělému ukončení těhotenství (přítomnost nezávažných genetických odchylek, varovné výsledky některých screeningových testů, cílená expozice mutagenním a teratogenním faktorům).

Asistovaná reprodukce

V roce 2008 oslavila **Louise Brownová** – první dítě ze zkumavky – své třicáté narozeniny. Metody asistované reprodukce (**IVF – In Vitro Fertilizace**) za tuto dobu prodělaly značný pokrok a umožňují mít vlastní děti i takovým párům, které by jinak zůstaly bezdětné. Přes obrovský přínos k léčbě neplodnosti, je zde řada složitých otázek, které je nutné brát v potaz.

Etické a právní aspekty rodičovství.

V řadě případů nelze pro umělé oplodnění použít partnerovy spermie či partnerčina vajíčka. Použití darovaných pohlavních buněk však zbavuje příslušného rodiče biologického rodičovství, se všemi psychologickými a sociálními aspekty. Dále existují určité normy pro dárce a dárkyně pohlavních buněk. Jak se vypořádat s názorem, že zde opět vytváříme skupinu zdravých, silných a inteligentních lidí hodných rozmnožování? Nevracíme se nenápadně k zavrženým eugenickým praktikám?

Poznámka: V ČR je v současné době spíše problémem dárce pohlavních buněk vůbec sehnat. Doporučována je tedy většina zdravých jedinců s normálním karyotypem a vhodnou osobní a rodinnou anamnézou.

Etické a právní aspekty samotného těhotenství.

Jak se postavit k fenoménu "pronajímání dělohy"? Určité ženy by byly ochotné (ať již za úplatu nebo ze solidarity) donosit dítě za jinou ženu. Pro některé ženy znamená těhotenství neúnosné zdravotní riziko - náhradní matka by jim pomohla k vlastnímu – biologickému dítěti. Co když si ale náhradní matka rozhodne dítě ponechat? Legislativa mnoha států nestíhá na medicínské a biotechnologické novinky reagovat a proto podobné případy znamenají nejen etické, ale i právní dilema. V současné době je aktuální i otázka umělého oplodnění lesbických žen. Momentálně je v ČR možné pouze umělé oplodnění ženy se souhlasem manžela (partnera). Mají mít právo na umělé oplodnění ženy bez partnera? Pokud ano, potom nic nebrání umělému oplodnění lesbických žen. A jak potom vysvětlit odmítání adopce dětí homosexuálním párům?

Etická a právní otázka uchovaných embryí.

Z procedury umělého oplodnění se získává třeba i okolo desítky embryí. Do dělohy se implantují většinou 2-3 embrya (dnes již často jen 1). Zbylá embrya je možné zamrazit a použít v případě, že se pár rozhodne mít další děti. Na takové embryo lze však nahlížet jako na budoucího člověka. Jak dlouho je možné tato embrya skladovat? Jak s nimi naložit, pokud si je rodiče nadále nepřejí skladovat? Máme právo takováto embrya zlikvidovat jako obyčejný biologický odpad? Máme právo na nepotřebných embryích provádět biomedicínský výzkum? Použít je jako embryonální kmenové buňky? Příliš mnoho otázek bez jasných odpovědí.

Navíc je zde ještě etické a právní hledisko nakládání s uchovanými embryi. Pokud se manželský či partnerský pár rozejde, nemůže tato embrya žádný z partnerů (tedy především žena) použít bez souhlasu toho druhého. Pokud rozchod probíhal ve zlém, mohou se embrya stát prostředkem nedůstojných naschválů a obstrukcí.

Etické a právní aspekty dědičné neplodnosti.

Dědičná neplodnost je vlastně takový oxymoron (tedy zdánlivý protimluv, něco jako zborcené harfy tón apod.). Neplodnost by neměla být vůbec dědičná, neboť neplodný člověk nemůže svou dědičnou informaci dále předávat. Přesto je dědičná neplodnost již realitou. Existují různé geneticky podmíněné poruchy, které ovlivňují plodnost postiženého jedince, nicméně některé z nich lze "obejít" pomocí metod asistované reprodukce. Existují tak například synové, kterým jejich otcové předali své dědičné aspekty neplodnosti. Tito jedinci budou v budoucnu s největší pravděpodobností rovněž muset využít asistované reprodukce, pokud budou chtít vlastní děti. Do jisté míry tak dochází ke zhoršování genofondu lidské populace. To není pouze problém asistované reprodukce, ale celé medicíny. Je to vlastně daň, za úspěchy moderní medicíny. Dnes přežívají jedinci s genetickými poruchami či vrozenými vadami, kteří by ještě před 100 lety zemřeli před obdobím dospělosti. Dnes je situace jiná a tito jedinci nejenže přežívají, ale rovněž mají děti. Frekvence škodlivých alel se tak zvyšuje. Tato situace představuje protiklad eugeniky a označuje se jako dysgenetika. Existují důvodné obavy, aby tato skutečnost nevedla k obnově eugenického hnutí, které by určovalo kdo a s kým může mít děti.

Možnost volby

Lékařská genetika je složitý **interdisciplinární obor**. Ne každý pacient zná byt i základní principy dědičnosti. Proto je zde mimořádně důležitá úloha genetického poradenství, kde není jediným cílem situaci správně vyhodnotit a diagnostikovat, ale rovněž se situací podrobně a srozumitelně seznámit i pacienta (případně pár). Možnost volby pacienta je zachována jen v případě, že pacient získá úplný obraz o své situaci a o jednotlivých možnostech dalšího postupu. Genetik by měl konzultaci vést co nejvíce nedirektivně, aby výsledné rozhodnutí bylo opravdu volbou pacienta a ne přenesenou volbou genetika. Nicméně je nutné podotknout, že na rozhodnutí pacienta se podílí i řada dalších a někdy i škodlivých vlivů. Jde například o názor třetí osoby, nejen partnera či partnerky, ale i příbuzných, přátel či celé společnosti (zakořeněné představy o "zodpovědnosti" či "správném" řešení). V určitých případech přichází pacient již ovlivněn různými, často i nepravdivými informacemi. Ani v tomto případě by genetik neměl opouštět taktiku **nedirektivního rozvoru**, přičemž by měl ovšem co nejvíce vysvětlovat a korigovat nepravdivé představy, případně povzbudit k "vlastnímu" rozhodnutí.

Rozhodnutí pacienta poté dokumentuje **informovaný (ne)souhlas**, kterým pacient potvrzuje, že získal všechny potřebné informace, plně jim porozuměl, a na jejich základě se bez časového nátlaku svobodně rozhodl k přijetí nebo odmítnutí vyšetření (či výkonu apod.).

Viz [doporučení k informovanému souhlasu na stránkách SLG ČLS JEP](#).

Určování otcovství

V současné době poměrně často rozebíraným tématem je i genetické testování rodičovství (především otcovství). Výsledky těchto testů mohou mít vskutku závažný dopad na vztahy v rodině, které mohly být do osudné chvíle v naprostém normálu. Proto je vhodné, aby žadatel o takovýto test (ať již dítě nebo rodič) neobjednával podobný test v rychlosti, či v rozčilení, nýbrž až po důkladné rozvaze a případné poradě s odborníkem. Test samotný pouze odkrývá pravdu.

Nicméně je zde ještě jeden zajímavý fenomén, který se týká odhalení nevěry. Na rozdíl od výše zmíněných testů otcovství, které jsou většinou nabízeny soukromými firmami jako samostatné produkty, jde tentokrát o vedlejší "přínos" klasického genetického testování v rámci klinické genetiky. Pokud se narodí dítě s určitou genetickou chorobou, potom jsou v některých případech pozváni rodiče k ověření nosičství mutace. V těchto případech může vyjít na povrch, že otec, který se s matkou dostavil ke genetickému vyšetření, není biologickým otcem postiženého dítěte. Pro hodnotícího klinického genetika pak vyvstává otázka, zda o tomto neplánovaném zjištění zpravit otce, matku či oba. V mnoha případech je nutné dovyšetřit skutečného biologického otce... Řešení těchto situací je někdy opravdu složité.

Genetická diskriminace

Novým fenoménem, spojeným především s tzv. prediktivně genetickými testy a genetickým profilováním je i genetická diskriminace. Existují totiž důvodné obavy, že banky a pojišťovny by mohly na základě genetických profilů svých klientů určité jedince znevýhodňovat, ačkoliv by klienti byli zatím i bez příznaků. Například i mladého klienta by mohla pojišťovna odmítnout pojistit (nebo za několikanásobnou cenu), neboť by měl dle svého profilu zvýšené riziko řekněme infarktu myokardu. Ze stejného důvodu by ho nemusela zaměstnat firma, neboť by na jeho místo raději přijala jiného zájemce bez tohoto rizika. Mají mít instituce právo na takovéto informace? Mohou mít právo své zákazníky či zaměstnance nutit k podstoupení takovýchto vyšetření? Nebo převládne názor, že tyto informace by neměly být institucím k dispozici? Například v USA je již ochrana těchto informací před zneužitím zakotvena i v zákoně ([podepsáno prezidentem G.W. Bushem 21.5. 2008](#)).

Genová terapie

Genová terapie je stále vesměs jen metodou experimentální a příslibem do budoucna, než v praxi užívaným léčebným postupem. Dnes je výzkum této terapie zaměřen především na závažné dědičné

choroby a vady, kde přesně známe příslušný gen a příslušnou mutaci. Dnešní techniky vesměs umí pouze doplnit do genomu novou – zdravou verzi genetické informace. Možnost přímo opravit mutovanou sekvenci, je zatím spíše jen teoretická. Předpokládejme však, že genová terapie bude jednoho dne reálnou a budeme moci opravit téměř jakýkoli gen. Zřejmě ani potom nepůjde o jednoduchou a levnou proceduru, nicméně – bude reálná. Jaké geny budeme moci opravovat? Budeme léčit pouze extrémně závažné genetické choroby – jako svalové dystrofie, či těžké defekty imunity? Nebo i méně závažné choroby, kterým lze do jisté míry vzdorovat např. dietou (fenylketonurie)? A co další, "nezávažné" choroby či vady? Dá se předpokládat, že s rozvojem genetiky budeme patrně schopni identifikovat i geny a mutace, podílející se na vzniku krátkozrakosti či pylové alergie apod. A jak se postavit k možnosti upravování člověka pomocí genové terapie? Nemusíme zrovna uvažovat geneticky modifikované "supervojáky". Stačí se podívat na příklad plastické a rekonstrukční chirurgie. Metody a techniky původně zavedené převážně pro korekci poúrazových či vrozených defektů dnes slouží pro všechny zákazníky, kteří mají zájem o vylepšení určité části svého těla. Státní a hlavně soukromé kliniky dnes za úplatu (kterou si nemůže dovolit každý) nabízejí celou škálu plastických výkonů, které nejsou z hlediska přežití či léčby nutné.

Ovšem představa, že se genová terapie jednoho dne stane jakousi plastickou chirurgií budoucnosti, je určitě varující. Především bychom neměli dopustit, aby k této situaci došlo dříve, než budeme mít dostatek informací o tom, jakým způsobem se s takovými zásahy jedinci i celé populace vyrovnají.

V současné době se uvažuje pouze o genové terapii somatických (tedy nepohlavních buněk). Takovéto zásahy jsou omezeny na konkrétního jedince a nepřenášejí se na jeho potomky. Dovolíme však i genetické manipulace na pohlavních buňkách? Nebo alespoň na embryích? Budou reprodukční kliniky budoucnosti nabízet děti "na objednávku"? A bylo by to vlastně špatně nebo dobře?

Tyto otázky zajisté zasluhují odpovědi. Bylo by vhodné, nalézt je s předstihem.

8. Zrození člověka

1) Určení pohlaví člověka

Člověk patří mezi **gonochoristy**, tedy druhy, u kterých je pohlaví odděleno - u jednoho jedince je přítomen pouze jeden typ pohlavních orgánů. Samčí pohlavní orgány jsou přítomny u mužů; samičí pohlavní orgány jsou přítomny u žen. Pro vznik nového lidského organismu je zapotřebí mužské pohlavní buňky (**spermie**) a ženské pohlavní buňky (**vajíčka**), které v procesu oplození splynou a vytvoří zygotu, ze které se vyvine nový lidský jedinec.

U člověka je pohlaví jedince jednoznačně určeno již momentem oplození vajíčka spermií. Rozhodující je přítom **kombinace pohlavních chromozomů** v zygotě. Jelikož žena má genotyp **XX**, může vajíčko nést pouze chromozom **X**. Naopak muž má genotyp **XY** - spermie tedy může s 50% pravděpodobností nést heterochromozom **Y** i heterochromozom **X**. O pohlaví budoucího jedince tak rozhoduje spermie.

Navzdory očekávání - není poměr narozených chlapců ku narozeným dívkám 1:1 - nýbrž chlapců se rodí o trochu více - statistiky uvádějí zhruba poměr **1,08 : 1,00** ve prospěch chlapců.

Při rozhodování o tom, zda se v embryu začnou zakládat mužské či ženské pohlavní orgány, hraje hlavní roli chromosom **Y** a to hlavně na něm lokalizovaný gen **SRY** (Sex region of chromosome Y). Přítomnost tohoto genu jednoznačně spouští kaskádu dějů, která zapříčiní vývoj zatím nediferencovaných pohlavních žláz ve varlata, která začnou produkovat **testosteron** (produkují jej **Leydigovy buňky** varlete) a ten zajistí správný (mužský) vývoj zevních pohlavních orgánů.

Zároveň je důležitá funkce **Sertoliho buněk** varlete, které produkují AMH - antiMüllerovský hormon (zvaný též MIH - Müller inhibiční hormon), které způsobí zánik parametonefrických (Müllerových) vývodů, ze kterých se u ženy vyvíjí vejcovody, děloha a horní část vagíny. Naopak metonefrické (Wolfovy) vývody dávají u mužského pohlaví za vznik chámovodu a měchýřkovým žlázám, zatímco u ženského pohlaví zanikají.

Pokud nebudeme uvažovat některé vzácné případy translokace SRY genu, potom nám Y chromozom jednoznačně určuje mužské pohlaví. Mužský fenotyp se nám tak vyvíjí u jedinců s Klinefelterovým syndromem (47,XXY), ačkoli ti jedinci mají X chromosom přítomen dvakrát. Naopak u jedinců s Turnerovým syndromem (45,X) se vyvíjí fenotyp ženský - díky nepřítomnosti Y chromozomu.

2) Pohlavní orgány ženy

Pohlavní orgány ženy dělíme na vnitřní a zevní:

Ženské vnitřní pohlavní orgány (*organa genitalia feminina interna*)

Vaječníky (*ovaria*)

Vaječník je vlastní párovou pohlavní žlázou ženy. Má oploštělý tvar a velikost okolo 4-5 cm. Vaječníky jsou uloženy v pánevní dutině ženy, zavěšeny na dvojitém listu pobřišnice (*mesovariu*). Na povrchu vaječníku nacházíme tzv. zárodečný epitel (jednovrstevný kubický; nemá nic společného se "zárodečnou" funkcí vaječníku) a pod ním vrstvu z tuhé vaziva (*tunica albuginea ovarii*). Dále nacházíme **kůru** (*cortex ovarii*), ve které se nacházejí **folikuly** v různém stupni vývoje a úplně ve středu orgánu je **dřeň** (*medulla ovarii*) s pletením krevních i mízních cév, nervů a snopců hladké svaloviny.

Hlavní funkce vaječníků jsou tvorba **vajíček** - tedy pohlavních buněk (*gamet*) a syntéza ženských pohlavních hormonů (**estrogeny, progesteron**).

Vejcovody (*tubae uterinae*)

Vejcovod je párová nálevkovitá trubice z hladké svaloviny, která zajišťují transport vajíčka po **ovulaci** směrem k děloze. Podobně jako vaječníky jsou i vejcovody fixovány pomocí pobřišnicové duplikatury (*mesosalpinxu*). Břišní ústí vejcovodu (*ostium abdominale tubae uterinae*) je širší a má roztřepený okraj - zachycuje uvolněné vajíčko po ovulaci; umí se "přicucnout" k vaječníku a nasát vajíčko dovnitř. Děložní ústí vejcovodu (*ostium uterinum tubae uterinae*) je úzké vyústění vejcovodu do rohu děložního. Vnitřek vejcovodu je vystlán sliznicí, která vybíhá v četné řasy a tvoří tak hustý labyrint.

K oplození vajíčka spermií dochází zpravidla v ampulární části vejcovodu. Při zánětech vejcovodu může dojít k zneprůchodnění slizničního labyrintu, což často způsobí neprůchodnost vejcovodu pro vajíčko; spermie jsou však mnohem menší než vajíčko a pokud jej dosáhnou a oplodní, začne se toto vyvíjet ve vejcovodu a vzniká **mimoděložní těhotenství**.

Děloha (*uterus*)

Děloha je nepárový dutý orgán hruškovitého tvaru. Rozeznáváme na ní **tělo** (*corpus uteri*), **úžinu děložní** (*isthmus uteri*) a **hrdlo děložní** (*cervix uteri*). Do **dutiny děložní** (*cavitas uteri*) ústí shora do dvou rohů děložních vejcovodů. Vespod v oblasti děložního hrdla ústí děloha do pochvy; zaoblený úsek, který vyčnívá do pochvy označujeme jako **děložní čípek** (*portio vaginalis cervicis*).

Na stavbě děložní stěny se podílejí 3 vrstvy:

Endometrium - Děložní sliznice s jednovrstevným cylindrickým epitelem a četnými žlázkami. Nasedá na podslizniční vazivo. Na sliznici probíhají cyklické změny vzhledem k fázím **menstruačního cyklu**.

Myometrium - Svalová vrstva je tvořena několika vrstvami různě uspořádané hladké svaloviny. Je nejtlustší vrstvou stěny děložní. Během těhotenství dokáže hladké svalové buňky svoji délku až zdesetinásobit. Svalovina se během porodu kontrahuje a vypuzuje plod; uplatňují se přitom i hormonální vlivy (**oxytocin**).

Perimetrium - Tenká vazivová vrstvička s pobřišnicí, která pokrývá dělohu.

Děloha je ve své pozici v pánvi fixována pomocí podpůrného aparátu - **parametria**, což jsou různé vazivové provazce, spojující dělohu s dalšími útvary v pánvi. Na fixaci se podílejí i svaly dna pánevního (zdvíhač dna pánevního - *m. levator ani*) a svaly hráze (*mm. perinei*).

V děložní sliznici se za fyziologických podmínek uchytí oplozené vajíčko (přesněji - již **blastocysta**); v děloze probíhá prenatální vývoj lidského jedince až do doby porodu.

Pochva (*vagina*)

Vagina je nepárová trubice, sloužící jako ženský kopulační orgán. Na horním konci přechází skrze čípek děložní do dělohy, na dolním konci ústí jako štěrbina poševní do předsíně poševní (viz níže - ženské zevní pohlavní orgány) na povrch těla. Pochva je okolo 9cm dlouhá a až 3cm široká. Je vystlána sliznicí s mnohvrstevným dlaždicovým epitelem; při sexuálních podnětech se sliznice zvlhčuje vodnatým sekretem.

Těsně před vyústěním pochvy do předsíně poševní nacházíme **panenskou blánu** (*hymen*), což je slizniční řasa variabilního rozsahu. Během první soulože se panenská blána natrhává (*deflorace*), definitivně jsou zbytky panenské blány rozrušeny při prvním porodu.

Ženské zevní pohlavní orgány (*organa genitalia feminina externa*)

Předsíň a štěrbina poševní (*vestibulum et ostium vaginae*)

Předsíň poševní je vkleslina mezi malými stydkými pysky, do které ústí štěrbinou poševní pochva. Před ústím pochvy je vyústění močové trubice (*ostium urethrae externum*).

Velké stydké pysky (*labia majora pudendi*)

Velký stydký pysk je tvořený vazivem s tukovou tkání a vrstvičkou hladké svaloviny. Je krytý kůží, která je na zevní straně silně pigmentována a pokryta tuhými chlupy.

Malé stydké pysky (*labia minora pudendi*)

Malý stydký pysk je tenká řasa, která je za normálních okolností zcela kryta velkým stydkým pyskem (jedna ze známek donošeného plodu).

Velké a malé vestibulární žlázy (*glandulae vestibulares majores et minores*)

Dvě větší párové a řada menších nepárových žlázek, vyúsťujících na různých místech do předsíně poševní.

Předsíňová topořivá tělesa (*bulbi vestibuli*)

Předsíňová topořivá tělesa jsou uložena v páru v hloubce pod malými stydkými pysky. Vpředu mají tělesa nepárové spojení. Díky bohatému prokrvení dochází při sexuálních podnětech k jejich zduření, vyloženě topořivou funkci tělesa nemají.

Poštěváček (*clitoris*)

Poštěváček je topořivé těleso, stavbou velmi podobné penisu muže. Stejně jako penis má i poštěváček **žalud** (*glans clitoridis*), bohaté cévní a nervové zásobení a erektivní (topořivou) tkáň, která způsobuje **ztopoření** (*erekci*) orgánu při sexuálním vzrušení (stejným mechanismem jako probíhá ztopoření u muže - viz dále).

3) Pohlavní orgány muže

Pohlavní orgány muže rozdělujeme na vnitřní a zevní:

Mužské vnitřní pohlavní orgány (*organa genitalia masculina interna*)

Varlata (*testes*)

Varle je mužská párová pohlavní žláza. Má lehce větší velikost a hmotnost než vaječník. Jeho funkcí je tvorba **spermii** a syntéza mužských pohlavních hormonů (**testosteron**). Na povrchu varlete je vrstva z tuhého vaziva (*tunica albuginea testis*), uvnitř je prostor vazivem rozdělen na malé lalůčky, kterými prochází řada stočených kanálků, kde probíhá vlastní tvorba spermií. Kanálky se spojují do větších kanálů, které vyúsťují do nadvarlete - viz níže.

Varlata se zakládají během vývoje jedince v dutině břišní, odkud teprve potom sestupují do **šourku**, kde jsou definitivně uložena. Stav, kdy jsou varlata nesestouplá, označujeme jako **kryptorchismus**.

Nadvarlata (*epididymides*)

Nadvarle je protáhlý párový orgán umístěný "nad varletem". Po jeho délce můžeme rozlišit 3 části, označované jako hlava, tělo a ocas nadvarlete (*caput, corpus et cauda epididymidis*). Do nadvarlete přicházejí spermie z varlete, aby zde dozrály a získaly schopnost pohybu.

Pokud nejsou nahromaděné spermie odvedeny do chámovodu (viz níže) při **ejakulaci**, po určité době se rozpadnou a resorbují.

Chámovody (*ductus deferentes*)

Chámovod je párová svalová trubice navazující na koncovou část (ohon) nadvarlete. Odvádí spermie z šourku skrze **tříselný kanál** (*canalis inguinalis*) do dutiny břišní, kde ústí do močové trubice (viz níže). Až do průchodu tříselným kanálem běží spolu s chámovodem nervy, cévy (krevní i mízní) a svalová tkáň (*musculus cremaster*) v útvaru zvaném **provazec semenný** (*funiculus spermaticus*).

Měchýřkové žlázy (*glandulae vesiculosae*)

Měchýřkové žlázy jsou párové žlázy umístěné za prostatou na zadní straně močového měchýře (ústí do chámovodů, těsně před jejich vyústěním do močové trubice). Tvoří alkalický sekret bohatý na bílkoviny a fruktosu (objemově se podílí zhruba na 1/2 až 3/4 celkového objemu ejakulátu!), který se mísí se sekretem nadvarlete se spermii. Tímto smísením vzniklou substanci již označujeme jako **ejakulát**.

Předstojná žláza (*prostate*)

Nepárová předstojná žláza je uložena těsně pod močovým měchýřem. Předstojnou žlázou prochází **močová trubice** (*urethra*), do které ještě v těle žlázy vyúsťují oba chámovody. Vlastní žlásky jsou umístěny v robustním svalově-vazivovém těle orgánu. Prostata obohacuje ejakulát o několik dalších látek (sekret předstojné žlázy tvoří asi 1/4 objemu ejakulátu).

Močová trubice (*urethra masculina*)

Na rozdíl od ženy, slouží močová trubice (respektive její část od vyústění chámovodů) u muže jako pohlavní cesta. Močová trubice začíná na spodku močového měchýře, prochází prostatou, skrze svalovinu dna pánevního a zanořuje se do nepárového topořivého tělesa penisu, na jehož konci ústí (viz níže).

Mužské zevní pohlavní orgány (*organa genitalia masculina externa*)

Pyj (*penis*)

Pyj neboli penis je mužský kopulační orgán. Prochází jím močová trubice, která je vývodnou trubicí pohlavních i močových cest. Rozměry penisu mají velkou individuální variabilitu; uvádí se délka 10-12cm u ochablého a 14-18cm u ztopořeného penisu.

Na stavbě penisu se podílejí 3 topořivá tělesa, cévy, nervy a močová trubice; celý orgán je krytý tenkou kůží na řídkém a pohyblivém podkožním vazivu. Topořivá tělesa - horní je párové, dolní je nepárové (v něm probíhá močová trubice) jsou tvořena houbovitou **erektilní tkání**. Při sexuálních podnětech dojde vlivem parasympatiku k zaplnění této tkáně krví - dochází k **erekci** - penis se vzpřimuje a prodlužuje.

Na konci je penis cylindrovitě rozšířený v útvar zvaný **žalud** (*glans penis*), který kryje volná kožní řasa - **předkožka** (*preputium*).

Šourek (*scrotum*)

Šourek je nepárový kožní vak, zavěšený v oblasti pod sponou stydkou. Funkcí šourku je dosáhnout optimální teploty pro tvorbu spermií (pod 35 °C). Kůže je silně pigmentována a vybavena tuhými chlupy. Pod kůží je vrstvička hladké svaloviny, která se může kontrahovat a přitáhnout tak šourek směrem k tělu (zvýšení teploty při zajišťování termoregulace). Uvnitř je prostor šourku rozdělen vazivovou přepážkou na dvě části - v každé části se nachází jedno varle.

4) Gametogeneze

Drtivá většina lidských buněk nese ve svém jádru dvě sady chromozomů (jsou **diploidní**). Polovina tohoto materiálu pochází od otce a druhá polovina pochází od matky. Za přenos rodičovské genetické informace jsou odpovědné pohlavní buňky - **gamety**. Splynutím gamety otcovské a mateřské vzniká **zygota**, která tak obsahuje genetickou informaci obou rodičů. Aby nedošlo při tomto přenosu k polyploidizaci (ke zmnožení chromozomových sad), musí být obě pohlavní buňky **haploidní** (tj. obsahovat pouze polovinu genetické informace), aby se po jejich splynutí v zygotu opět obnovilo standardní množství genetické informace (zygota je již opět diploidní). Haploidní gamety vznikají meiotickým dělením.

Vznik spermií

Spermie jsou mužské pohlavní buňky. Vznikají ve varlatech a to od puberty po celý zbytek života. Pro správný vývoj spermií je zapotřebí jak dostatečná stimulace pohlavními hormony (testosteronem), tak nižší teplota (která je docílena umístěním varlat v šourku). Důležitá je taky funkce Sertoliho buněk, které zajišťují správné prostředí pro vývoj spermií (zajišťují ochranu prekurzorových buněk či jejich výživu).

Na začátku vývojové řady spermie stojí **spermatogonie**. Ty fungují jako kmenové buňky, neboť se mitoticky dělí jednak aby doplnily své stavy (zachování spermatogonií pro neustálou spermatogenezi) a jednak jejich přeměnou vznikají **primární spermatocyty**. Primární spermatocyty jsou stále diploidní. Vstupují však již do prvního meiotického dělení, na jehož konci vzniknou 2 **sekundární spermatocyty**. Ty jsou již haploidní, ovšem stále mají zdvojené chromatidy. Záhy však navazuje druhé meiotické dělení, při kterém z každého sekundárního spermatocytu vznikají 2 **spermatidy**. Z každého primárního spermatocytu tedy vznikají celkem 4 spermatidy. Spermatidy jsou již plně haploidní a dále se nedělí.

Spermatidy potom prochází procesem zvaným spermiogeneze, kdy dochází ke kondenzaci jádra, vytvoření bičíku a ztrátě většiny cytoplazmy a některých organel. Vytváří se také akrosomový váček, obsahující několik hydrolytických enzymů, které usnadňují průnik spermie k vajíčku. Nezralé spermie jsou uvolněny do semenotvorných kanálků, odkud putují do nadvarlete, kde definitivně dozrávají. Zralé spermie jsou díky svému bičíku plně pohyblivé.

Vznik vajíček

Vajíčka neboli oocyty jsou ženské pohlavní buňky. Jejich vývoj začíná již v prenatálním období. Vlastní produkce zralých vajíček je potom omezena na "plodné období ženy", které trvá od puberty až do přechodu (menopauzy). I zde je zapotřebí příslušná stimulace pohlavními hormony.

Prekurzorovou buňkou v prenatálním období je **oogonie**. Ty se mohou mitoticky dělit a jejich přeměnou také vznikají diploidní **primární oocyty**. Okolo primárních oocytů se formuje jednovrstevný obal z folikulárních buněk. Tento útvar označujeme jako **primordiální folikul**.

Ještě v prenatálním období vstupují primární oocyty do prvního meiotického dělení. To však nedokončí, neboť je zastaveno již v průběhu profáze. V tomto stádiu (**diktyotenní stádium**) primární oocyty zůstávají až do puberty, kdy teprve vývoj pokračuje (viz dále).

V této souvislosti si je třeba uvědomit, že toto diktyotenní stádium může trvat třeba i přes 40 let, neboť meióza pokračuje až před ovulací příslušného vajíčka. Po celou tuto dobu je v buňce přítomen cytoskeletární mitotický aparát (dělicí vřeténko), který je zodpovědný za bezchybný rozestup chromozomů. Jelikož během této dlouhé doby na něj může působit řada nepříznivých vlivů, existuje riziko, že tento aparát nesplní zcela svůj úkol a dojde k chybnému rozestupu chromozomů (nondisjunkci). Čím je ona doba delší, tím je toto riziko vyšší - proto je u matek nad 35 let obecně vyšší riziko vzniku chromozomových aberací.

Z původních zhruba 2-3 milionů! primárních oocytů jich velká většina zaniká a do puberty jich zbude zhruba 300 tisíc. Z nich pouze okolo 450 vajíček je skutečně uvolněno (při ovulaci) v průběhu plodného období ženy.

V pubertě se nejprve zvětšují jak primární oocyty, tak okolní folikulární buňky. Okolo primárního oocytu se také objevuje vrstva glykoproteinové hmoty (**zona pellucida**). Vzniklý útvar se nazývá **primární folikul**, folikul s vícevrstevným obalem folikulárních buněk a dutinkou se potom nazývá **sekundární folikul**. Vrcholem vývoje folikulu je **Graafův folikul**, který je opět větší, vyplněný velkou dutinou s tekutinou. Vajíčko je na jedné straně spojeno s vrstvou folikulárních buněk (granulózní buňky), které tvoří obal folikulu (jako tzv. membrana granulosa). Nad vrstvou těchto buněk jsou potom buňky thekální.

Těsně před ovulací je dokončeno první meiotické dělení. Vzniká **sekundární oocyt** a **první pólóvé tělísko**. Při **ovulaci** dojde k prasknutí Graafova folikulu a k uvolnění oocytu. Ten je zachycen (či "nasát") vejcovodem, kterým putuje směrem k děloze. Po ovulaci vstupuje sekundární oocyt do profáze druhého meiotického dělení, které ale opět prozatím nedokončí. Teprve při oplození vajíčka spermií je dokončeno druhé meiotické dělení, které dá za vznik **druhému pólóvému tělísku** a **zralému oocytu**, tedy již vlastně oplozenému oocytu. Další průběh naleznete v kapitole oplodnění a těhotenství.

Primární oocyt je diploidní, sekundární oocyt je haploidní se zdvojenými chromatidami a teprve výsledný oocyt je haploidní s polovinou genetické informace. Pólóvá tělíska v drtivé většině případů beze zbytku zanikají (slouží pouze pro eliminaci chromozomů během meiózy); první pólóvé tělísko také může projít druhým meiotickým dělením a dát vzniku dvěma haploidním buňkám, které ale stejně zaniknou.

Hlavní rozdíly spermatogeneze a oogeneze

- Spermatogeneze probíhá od puberty po celý život; naproti tomu oogeneze probíhá v prenatálním období a poté pouze od puberty do menopauzy
- Vývoj od prekurzorové buňky po zralou gametu je mnohem kratší u spermatogeneze (okolo 60 dní) než u oogeneze (i přes 40 let)
- U spermatogeneze vznikají z primárního spermatocyту 4 spermie; u oogeneze vzniká z primárního oocyту jediný zralý oocyt (pólóvá tělíska zanikají)

5) Pohlavní hormony

Hormony obecně

Hormony jsou biologicky aktivní látky, které jsou využívány pro mezibuněčnou komunikaci. Jsou produkovány ohraničenými žlázami (žlázy s vnitřní sekrecí = endokrinní žlázy) nebo jednotlivými buňkami v různých tkáních. Endokrinní žlázy uvolňují hormony do krve, která hormony transportuje k cílovým tkáním (tento účinek je označován jako **endokrinní**). Hormony z rozptýlených buněk působí buď na okolní tkáň (**parakrinní** působení) nebo na tyto buňky samotné (**autokrinní** působení).

Hormony působí specificky na cílové buňky - tedy na ty buňky, které mají příslušný **receptor**. Receptor je prostorová molekulární struktura, umístěná na cytoplazmatické membráně nebo uvnitř buňky, která po navázání hormonu je schopná určité biologické aktivity s informační hodnotou (buňka na navázání hormonu na receptor určitým způsobem reaguje).

Hypotalamo - hypofyzární systém

Hypotalamo - hypofyzární systém je nejdůležitější součástí neuroendokrinního systému (systému, který spojuje nervové signály s endokrinními signály). Hypotalamus je součástí mozku, která je zodpovědná za velké množství vegetativních projevů organismu (řízení tělesné teploty, příjmu a výdeje tekutin a potravy, sexuální funkce). Hypofýza (podvěsek mozkový) se skládá ze dvou částí: přední - adenohypofýzy, ve které se hormony přímo tvoří (pod kontrolou hypotalamických hormonů -

statinů a liberinů) a zadní - neurohypofýzy, do které se hormony dostávají z hypotalamu (kde se tvoří). Přesný výčet hormonů a regulací hypotalamo - hypofyzárního systému je nad rámec této kapitoly; dále se zaměříme jen na hormony, které ovlivňují sexuální chování a pohlavní soustavu.

FSH a LH - hormony adenohipofýzy

FSH - folikuly stimulující hormon je glykoproteinový hormon, produkováný adenohipofýzou. U žen stimuluje vývoj folikulu a jeho růst (příprava na ovulaci). Zároveň podporuje produkci estrogenů (viz níže) v ovariu.

U mužů jsou cílem pro působení FSH Sertoliho buňky ve varleti (pomáhá modulovat spermatogenezi).

LH - luteinizační hormon je rovněž glykoproteinový hormon, produkováný adenohipofýzou. U žen napomáhá finálnímu vývoji folikulu a podmiňuje ovulaci. Ovlivňuje rovněž produkci ovariálních hormonů (zejména progesteronu).

U mužů působí LH na Leydigovy buňky varlete (ovlivnění produkce testosteronu).

Sekrece FSH a LH je modifikována sekrecí hypotalamického **gonadoliberinu** a zpětnými vazbami dle hladiny pohlavních hormonů v krvi.

Obecné vlastnosti pohlavních hormonů

Pohlavní hormony jsou steroidní povahy. Jejich receptory na cílových buňkách jsou především v cytoplasmě (steroidy volně difundují skrze cytoplazmatickou membránu) a po navázání hormonu se mohou vázat na jadernou DNA a ovlivňovat tak transkripci příslušných genů (vlastní mechanismus účinku). Lidské pohlavní hormony jsou zodpovědné za správný vývoj a funkci pohlavních orgánů, vývoj specifických sekundárních pohlavních znaků a sexuální chování a citění.

Mužské pohlavní hormony

Testosteron je nejvýznamnějším pohlavním hormonem muže. Jde o steroidní hormon (prekurzorem steroidních hormonů je cholesterol) o 19 uhlících (patří mezi skupinu **androgenů**). Testosteron je důležitý již v prenatálním období, kdy se díky němu začnou vyvíjet mužské zevní pohlavní orgány (bez přítomnosti testosteronu se automaticky začnou vyvíjet pohlavní orgány ženské). Později - v pubertě pak testosteron opět působí na pohlavní orgány a aktivuje jejich finální růst a vývoj. Mimo to způsobuje růst vousů a typicky mužského ochlupení, "zhrubnutí" hlasu, vyšší vzrůst a nárůst svalové hmoty (zneužívání při dopingu) a nakonec také ovlivňuje tvorbu erytrocytů (muži mají více červených krvinek než ženy).

Určité množství androgenů se tvoří i v kůře nadledvin a to i u žen.

Ženské pohlavní hormony

Estrogeny jsou skupinou ženských steroidních hormonů o 18 uhlících (nejvýznamnější jsou estriol a estradiol). Estrogeny jsou u žen tvořeny v ovariu granulózními buňkami. Mají zejména vliv na vývoj a růst ženských pohlavních orgánů. V pubertě podporují růst jak dělohy, pochvy a vaječníků, tak i vývoj zevních pohlavních orgánů. Ovlivňují distribuci podkožního tuku (růst prsů, širší boky u žen...). Estrogeny ovlivňují proliferační fázi menstruačního cyklu (růst děložní sliznice). Estrogeny také ovlivňují růst kostní tkáně (děvčata začínají růst dříve než chlapci, ale také dříve růst přestávají a jejich celkový vzrůst je nižší než u chlapců).

Určité množství estrogenů se tvoří i u mužů a to přímo ve varleti.

Progesteron je rovněž steroidní hormon (o 21 uhlících). U ženy je nezbytný pro přípravu a udržení těhotenství. Během sekreční fáze menstruačního cyklu (která odpovídá luteální fázi ovariálního cyklu) je progesteron tvořen buňkami žlutého tělíska (*corpus luteum*). Pokud dojde k oplodnění, přebírá časem produkci progesteronu vyvinuvší se placenta. Během těhotenství například podporují rozvoj mléčné žlázy. Určité množství hormonů produkuje také placenta v průběhu těhotenství.

6) Ženské cykly

U ženy probíhají cyklické změny vzhledem k funkci pohlavního ústrojí. Tyto změny se týkají především hladiny pohlavních hormonů, ovaria a děložní sliznice (endometria).

Ovariální cyklus

Jde o cyklické změny probíhající v ovariu ženy v závislosti na hladině pohlavních hormonů. Je úzce spojen s menstruačním cyklem, kdy hormony produkované cyklicky v ovariu přímo ovlivňují děložní sliznici.

- 1) **Folikulární fáze** - trvá prvních 14 dní cyklu. Během ní pod vlivem především FSH dochází k růstu náhodně vybraného folikulu (vzniká Graafův folikul - viz též kapitola gametogeneze) a vysoké produkci estrogenů. Ke konci této fáze se k FSH přidává i LH a napomáhá tak dozrání folikulu a především ovulaci.
- 2) **Ovulační fáze** - nastává zhruba 14. den ovariálního cyklu. Graafův folikul praská a vajíčko je uvolněno do břišní dutiny, kde je vzápětí zachyceno vejcovodem, kterým dále putuje směrem k děloze.
- 3) **Luteální fáze** - nastupuje po ovulaci, kdy dochází k přeměně ovariálních folikulárních buněk (prasklého folikulu) v tzv. **žluté tělísko** (*corpus luteum*). To začne produkovat velké množství progesteronu. Pokud však nedojde k oplození vajíčka, potom do 28. dne cyklu žluté tělísko zaniká a vznikne tzv. **bílé tělísko** (*corpus albicans*). Produkce progesteronu tak rapidně klesne

Menstruační cyklus

Jako menstruační cyklus označujeme cyklické změny děložní sliznice. Tyto změny jsou přísně závislé na hladině různých pohlavních hormonů (a tedy i na ovariálním cyklu). Délka cyklu je zhruba 21 - 35 dní, hodnoty se mohou individuálně lišit (průměrně jde o 28 dní). Menstruační cyklus začíná v pubertě (přibližně mezi 8. a 13. rokem) a končí v období menopauzy. Má následující fáze:

- 1) **Proliferační fáze** - trvá přibližně od 5. do 14. dne cyklu a navazuje na předchozí menstruační fázi. Probíhá pod stimulací estrogeny. Dochází k obnově děložní sliznice, růstu slizničního epitelu a k vývoji děložních žlázek.
- 2) **Ovulační fáze** - navazuje na proliferační fázi a trvá od 15. do 28. (27.) dne cyklu. Během ní dochází vlivem progesteronu (produkovaného žlutým tělískem) k bohaté sekreci děložních žlázek. Děložní sliznice je nyní bohatě prosycena živinami a připravena přijmout oplozené vajíčko.
- 3) **Ischemická fáze** - probíhá 28. den cyklu, kdy vlivem poklesu hladiny progesteronu (žluté tělísko zaniká) dochází ke kontrakci arterií děložní sliznice, která tak přestane být zásobena krví (ischémie).
- 4) **Menstruační fáze** - trvá v průměru 5 dní a navazuje na ischemickou fázi. Během ní se odlučují nedostatečně krví zásobené buňky sliznice a spolu s určitým množstvím krve opouští organismus ženy.

7) Průběh oplození

Živé organismy se rozmnožují pohlavně a nepohlavně. Člověk se jako ostatní vyšší obratlovci rozmnožuje pohlavně. Pro vznik nového lidského organismu je zapotřebí mužské pohlavní buňky (**spermie**) a ženské pohlavní buňky (**vajíčka**), které v procesu oplození splynou a vytvoří zygotu, ze které se vyvine nový lidský jedinec. Proces oplození a prenatální vývoj probíhají v těle ženy.

Pohlavní spojení

Nový lidský jedinec vzniká z oplozeného vajíčka. Vajíčko je ženská pohlavní buňka a oplodnit ji může pouze mužská pohlavní buňka - spermie. Jelikož k procesu oplození vajíčka dochází v těle ženy, musí být vyvinutý mechanismus k transportu mužské pohlavní buňky do těla ženy.

Tímto mechanismem je pohlavní spojení (*koitus*) které umožňují mužský (penis) a ženský (vagina) kopulační orgán, které jsou vzájemně komplementární. Během **sexuálního vzrušení** (které je navozeno drážděním erogenečních zón, nebo třeba vizuálními podněty či jen erotickými představami) dochází u muže k **erekci** penisu a u ženy ke zvlhčení (lubrikaci) vaginální sliznice. Erekce je nervově (parasymptikem) řízený proces, během kterého je zvýšen krevní přítok do topořivých těles penisu a zároveň je omezen odtok krve. Celý orgán se tak napřímí a zvětší jak na délku, tak v průměru. U ženy dochází k podobnému procesu u poštváčku a předsíňových topořivých těles.

Během kopulace potom dochází ke stupňování sexuálního dráždění, které je u muže vyvrcholeno ejakulací (doprovázené orgasmem). Ejakulace je nervově (sympatikem) řízený proces, při kterém je nejprve svalovými stahy chámovodu ejakulát dopraven do prostatické části močové trubice (tato fáze se označuje jako emise), odkud je teprve kontrakcemi svalů dna pánevního vypuzen ven z těla (vlastní ejakulace).

U žen nemusí být každý sexuální styk zakončen orgasmem, který u ženy není k oplodnění nutný. Pokud je přítomen, bývá spojen s kontrakcemi pánevního svalstva a dělohy.

Sexuální vzrušení po styku vymizí rychleji u muže, pomaleji u ženy

Oplození vajíčka

Do klenby poševní je při ejakulaci dopraveno průměrně 2-6ml ejakulátu, který obsahuje i přes 600 miliónů spermií. K oplození vajíčka je nutná pouze jedna spermie; přesto musí ejakulát obsahovat alespoň nad 20 miliónů spermií na 1 ml ejakulátu, jinak je pravděpodobnost oplození vajíčka velmi malá. Ejakulát reaguje zásaditě, což alespoň částečně kompenzuje kyselé prostředí, které je normálně ve vagině (a které spermie negativně ovlivňuje). Spermie jsou pohyblivé buňky s bičíkem a svého cíle - vajíčka - musí dosáhnout samy. Nejčastějším místem oplození vajíčka je **ampulární část vejcovodu**. Ovšem je nutné si uvědomit, že vajíčko lze oplodnit pouze do 12 hodin po ovulaci. Spermie naopak jsou schopné v těle ženy přežít a vajíčko oplodnit zhruba po dva dny.

Během cesty k vajíčku prochází spermie tzv. **kapacitací**, při které se "odjišťují" proteolytické enzymatické prostředky spermie, které jsou nutné v tzv. **akrosomální reakci**, kdy se spermie pomocí těchto proteolytických enzymů "provrtává" skrze buňky obklopující vajíčko.

Jakmile první spermie pronikne do vajíčka, dojde k tzv. **zonální reakci**, kdy se změnila vlastnosti obalu vajíčka a další spermie tak již dovnitř nemohou proniknout.

Vajíčko, do kterého pronikla spermie, dokončí druhé meiotické dělení a posléze duplikuje svůj genetický materiál. Tento genetický materiál ženské gamety tvoří **ženské prvojádro**.

Spermie ztrácí veškerou cytoplazmu a organely (mitochondrie spermie se nestanou součástí vajíčka, proto veškeré mitochondrie a tím pádem i mitochondriální DNA dostává potomek pouze po matce) mimo svého jádra. DNA spermie se rovněž zdvojnásobí a vytvoří **mužské prvojádro**.

Pokud si to zrekapitulujeme - tak každá gameta (spermie i vajíčko) je haploidní, tj. má přesně polovinu genetického materiálu. Po oplození vajíčka spermií je dosaženo standardního množství genetického materiálu (dvě sady - diploidní buňka). Pokud ovšem spermie i vajíčko při vzniku prvojader svou DNA zdvojnásobí, potom je v oplozeném vajíčku dvojnásobné množství genetické informace, stejně jako v každé buňce před mitózou. A to je právě to, na co se oplozené vajíčko, tedy zygota chystá. Dojde ke vzniku dělicího vřeténka a zdvojené chromozomy mužského i ženského prvojádra jsou rozděleny a zygota se tak poprvé dělí na dvě dceřiné buňky, které již mají standardní - diploidní množství genetické informace; polovinu ze spermie (od otce) a polovinu z vajíčka (od matky).

8) Poruchy oplození

Normální oplození

Klasický průběh u člověka je oplození jednoho vajíčka jednou spermií. Vajíčko je haploidní, tj. má pouze 23 chromozomů – pohlavní chromozom je vždy X. Spermie je rovněž haploidní, nese rovněž 23 chromozomů, ovšem pohlavní chromozom může být jak X tak Y. Pohlaví budoucího jedince tedy určuje spermie. Útvar vzniklý splynutím 2 gamet (vajíčka a spermie) nazýváme zygotou. Z jedné zygoty (která je již diploidní – má plný počet 46 chromozomů) vznikne jeden nový lidský jedinec. Tedy normální situace, jak byla popsána v kapitole – Oplození a těhotenství.

Dvojvaječná dvojčata

Dvojvaječná dvojčata vznikají oplozením dvou vajíček dvěma spermiemi. Situace podobná jako u normálního oplození, ovšem dojde k uvolnění dvou vajíček a každé z nich je oplozeno právě jednou spermií. Vyvíjí se dva zárodky, ze kterých vzniknou dvě lidské bytosti. Jejich genetická informace není stejná, geneticky jsou stejně blízcí jako dva různě staří sourozenci. Nutno upozornit, že ještě existují vzácné případy, kdy může dojít k oplození druhého pólóvého tělíška spermií a druhé dvojče tak vzniká touto cestou.

Jednovaječná dvojčata

Jedná se o tzv. „identická dvojčata“ neboť mají stejnou genetickou informaci. Vznikají totiž chybou při časném vývoji jednoho zárodku. Na počátku je tedy jedna spermie, jedno vajíčko a jedna zygota. V časně fázi vývoje však dojde k rozdělení a dále se již vyvíjejí zárodky dva. Existují různé možnosti, v jaké fázi k rozdělení dojde a podle toho pak mají dvojčata společné či oddělené plodové obaly a placentu (to už je ale nad rámec tohoto článku).

Moly

Moly jsou specifické vývojové anomálie vzniklé abnormální fertilizací. **Mola hydatidosa** neboli *zásněť hroznovitá* se vztahuje k placentě, která se cysticky mění (tvoří se v ní dutinky) až připomíná hrozen (jako to ovoce). Mola může být buď kompletní (kdy zbytek plodu již nenajdeme) nebo částečná (kdy najdeme i malý plod).

Kompletní mola

Kompletní moly bývají diploidní, tedy obsahují 46 chromozomů. Všechny chromozomy jsou paternálního původu – tedy pochází od otce. Mechanismus vzniku je asi takovýto – spermie oplodní prázdné vajíčko (vajíčko bez jádra), chromozomy spermie se zduplikují a vytvoří tak diploidní stav se 46 chromozomy (bývá to 46,XX). Ovšem absence maternální části genetické informace nedovolí normální vývoj a vzniká tak kompletní mola.

Částečná mola

Částečná mola bývá většinou triploidní. To znamená, že obsahuje tři sady chromozomů – tedy 69 kousků. Sada, která je navíc, může pocházet od otce i od matky. Mechanismů může být více – například oplození jednoho vajíčka dvěma spermiemi zároveň (nadpočetná sada je od otce) nebo oplození vajíčka s nevypuzeným druhým

polárním tělískem jednou spermií (nadpočetná sada pochází z polárního tělíška je tudíž od matky. Díky genetickému imprintingu nejsou mateřská a otcovská sada rovnocenné – mateřská genetická informace více ovlivňuje vývoj plodu, otcovská více ovlivňuje vývoj placenty a plodových obalů (srovnej – kompletní mola je tvořena pouze cystickou placentou, protože vzniká z buněk obsahujících dvě stejné sady otcovských chromozomů). Nicméně **triploidie** jako taková je známá i jako chromozomální aberace (viz Chromozomální aberace), přesněji numerická aberace. Plod je většinou maličký, s různými vývojovými odchylkami a časně umírá (triploidie tvoří velké množství časných spontánních potratů). Přežití až do porodu (či po porodu) je sice vzácně možné, nicméně jde o vadu se životem neslučitelnou.

Mozaicismus a mozaiky

Stejně jako chiméra (vizte níže) je i genetická mozaika tvořena liniemi buněk s různou dědičnou informací. Ovšem tyto linie vznikají **pouze z jednoho jedince**, neboť vznikají chybným dělením jádra (nondisjunkcí) v časných (no jak kdy...) fázích vývoje. Takže situace klasická – jedna spermie oplodní jedno vajíčko a vznikne nám 46,XX zygota. No a zygota se dělí a dělí a jedna buňka se nerozdělí správně a vzniknou nám další linie. Například z buňky 46,XX vznikne buňka 45,X a 47,XXX. Pokud jsou vzniklé kombinace životaschopné (a to v tomto případě jsou) – vyvine se jedinec jako genetická mozaika s karyotypem 46,XX/45,X/47,XXX. Existují mozaikové formy různých syndromů (kromě výše zmíněného případu s Turnerovým a Triple X syndromem může být například mozaiková forma Downova syndromu – Trizomie 21), které mají většinou mírnější klinické projevy než jejich „plné“ varianty.

Chiméry a chimérismus

Chiméra je takový organismus, který je tvořen buňkami z více než jednoho jedince. Je to tedy něco jako „dva organismy v jednom“ ačkoli takováto definice není úplně přesná. Z genetického hlediska je chiméra takový organismus, který je tvořen alespoň dvěmi buněčnými liniemi s odlišnou genetickou informací, která pochází z různých jedinců (právě to odlišuje chiméru od mozaiky).

Modelovým příkladem chiméry je člověk s transplantovaným orgánem. V jeho těle se vyskytují buňky cizího jedince (dárce), které nesou cizí dědičnou informaci. Z hlediska biologie se nejedná o přirozený stav, ovšem definici to vyhovuje.

Naopak považovat za chiméru těhotnou ženu (má v sobě plod, který nese jinou – jenom z poloviny stejnou dědičnou informaci) je již trochu přitažlivější za vlasy. Nicméně některé buňky plodu, mohou v matčině krevním řečišti existovat i delší dobu po porodu. Stav tedy přirozený, na druhou stranu však o pravý chimérismus nejde.

Nejlepším případem chiméry tak budou stavy vzniklé chybou oplodnění či časného prenatalního vývoje. Následující přehled je zaměřen na různé odchylky dokumentované u druhu *Homo sapiens*.

Tetragametická chiméra

Klasický příklad chiméry vzniká ze čtyř gamet. První fáze je podobná vzniku dvojvaječných dvojčat – dvě vajíčka jsou oplodněna spermiemi (každé vajíčko jednou) a začnou se dále dělit. Ovšem poměrně záhy na to dojde ke splynutí a promíchání buněk obou těchto zárodků. Jelikož v těchto časných stádiích jsou buňky zárodku ještě multipotentní a „plastické“ – nemusí být tento stav zábranou dalšího vývoje a „promíchaný jedinec“ – chiméra se může v klidu vyvíjet a může žít docela normální život. Problémy s imunitním systémem kupodivu nebývají příliš časté (což je zřejmě způsobeno tím, že imunitní systém chiméry je „vycvičen“ tak, aby obě linie buněk považoval za své vlastní, ovšem problém může nastat například v situaci, kdy chiméra vznikla ze zárodků s karyotypem 46,XY (chlapec) a 46,XX (dívka). Takový jedinec potom může mít různě vyvinuté pohlavní žlázy (existuje i smíšená pohlavní žláza známá jako ovotestis) a pohlavní znaky. Může být tedy pravým hermafroditem (*hermafroditus verus*).

V případě DNA testů můžeme u chiméry dostávat různé výsledky, pokud uděláme test z krve a kožních fibroblastů (což souvisí s různým rozmístěním obou buněčných linií v organismu chiméry).

Chiméra z druhého polárního tělíska

Stejně jako dvojvaječná dvojčata někdy vznikají díky oplození druhého pólového tělíska, může tímto stylem vzniknout i chiméra (což je usnadněno „blízkými polohovými poměry“).

Partenogenetická chiméra

Partenogenese, tedy vývoj neoplozeného vajíčka směrem k normálnímu jedinci je u některých druhů sice běžný (třeba u některých obojživelníků), ovšem u člověka k němu normálně nedochází (což má vzhledem ke genetickému imprintingu své opodstatnění – viz zmínka u částečné moly). Partenogenetická mola může vzniknout například tak, že vajíčko projde partenogenetickým dělením (zdvojí svou mateřskou genetickou informaci) a následně je ještě tato buňka, nebo třeba již další (odkazují na výše zmíněný článek) buňky oplozeny spermií (či spermii?!). Dochází k různým rekombinacím, kdy vzniknou různé linie, které obsahují buď pouze maternální nebo maternální i paternální sadu chromozomů. Výsledkem může být chimérický jedinec s normální a partenogenetickou linií (pouze maternální DNA).

Teratomy

Teratomy jsou skupinou nádorů, které vznikají do jisté míry podobným způsobem. Tedy ze zárodečných buněk matky s duplikovanou genetickou informací (karyotyp 46, XX). Jedná se o stavy, které nejsou vázány na oplodnění.

Androgenetická chiméra

Obdoba partenogenetické chiméry, ovšem tentokrát hraje svou roli buněčná linie se zdvojenou paternální chromozomální sadou. Modelový příklad vzniku je například takovýto: Dvě vajíčka, jedno plné (s jádrem) jedno prázdné (bez jádra). Každé oplodní jedna spermie. Z vajíčka s jádrem vzniká normální zygota s maternální i paternální dědičnou informací. V prázdném vajíčku oplozeném spermií dojde k replikaci otcových chromozomů a vzniká tak androgenetická buněčná linie. Nakonec obě buněčné linie splynou (tedy normální z plného vajíčka a androgenetická z prázdného vajíčka) a vzniká tak androgenetická chiméra.

K androgenetické a partenogenetické chiméře ještě třeba zmínit, že partenogenetická ani androgenetická buněčná linie nejsou plnohodnotné a mohou způsobovat ložiskové změny či vady jak v těle chiméry, tak v plodových obalech a placentě.

9) Průběh těhotenství

Začátek těhotenství

Oplozené vajíčko se ještě ve vejcovodu začíná **rýhovat**. Buňky vzniklé dělením zygoty se jmenují **blastomery**. Budoucí zárodek prochází stádiem **moruly**, kdy je tvořen jednolitou masou buněk. Následuje stádium **blastocysty**, kdy se v mase buněk objevuje dutina. Právě v tomto stádiu (asi 5. - 6. den po oplození) dochází k implantaci zárodku do děložní sliznice. Děložní sliznice je zrovna v sekreční fázi menstruačního cyklu, existují zde tedy nejvhodnější podmínky pro výživu a další vývoj zárodku.

Dále dochází k zanořování zárodku hlouběji do děložní sliznice, až je nakonec celý překryt. Začíná se vyvíjet placenta (3. týden), a to jak z mateřských buněk (buňky *decidua basalis*), tak z buněk plodu (buňky *chorion frondosum*).

Funkce placenty

Placenta je pro vyvíjející se plod životně důležitým orgánem. Spojení s placentou pomocí pupečníku zajišťuje plodu přívod živin a kyslíku a odsun nepotřebných látek a zplodin metabolismu.

Vyvinutá placenta má tvar koláče a dělí se na několik podobných oblastí. Z mateřské strany se do placenty otevírají děložní tepny a tepénky, které přivádí na živiny bohatou okysličenou krev. Ze strany

plodu jsou četné vychlípeniny (placentární klky), ve kterých probíhají artérie a vény s krví plodu (placenta je spojena s plodem pomocí 2 pupečnickových tepen a 1 pupečnickové žíly, které vedou v pupeční šňůře). Důležité je, že obě řečiště jsou od sebe oddělena a že **nedochází** k mísení mateřské krve a krve plodu (výměna živin a kyslíku tak probíhá difúzí nebo jinými transportními mechanizmy v placentě). Rovněž si je třeba uvědomit, že pupeční žíla obsahuje (vede z placenty) okysličenou krev, zatímco pupečnickové tepny (vedou do placenty) obsahují krev odkysličenou.

Přes placentu procházejí určitá léčiva, protilátky typu IgG a určité patogeny (*Toxoplasma gondii*, virus zarděnek, některé další viry apod.).

Kromě transportní funkce má placenty významnou funkci syntetickou, metabolickou a endokrinní. Endokrinní funkce zahrnuje především tvorbu **lidského choriového gonadotropinu (hCG)**, který udržuje funkci žlutého tělíska a jeho produkci progesteronu. Dále produkuje hlavní ženské pohlavní hormony, tj. estrogeny a progesteron a několik dalších hormonů (například hCS - lidský choriový somatomotropin).

Porod

Těhotenství trvá v průměru 40. týdnů (9 měsíců). Během porodu opouští plod tělo matky, následně odchází i placenta a plodové obaly. Během vypuzovacích svalových kontrakcí se silně uplatňuje vliv **oxytocinu**.

- 1. doba porodní (otevírací) trvá několik hodin (u prvorodiček je tato doba delší než u žen, které rodí již po několikáté). Bolestivé kontrakce se stupňují a hrdlo děložní se otevírá.
- 2. doba porodní (vypuzovací) trvá až hodinu u prvorodiček, u žen rodících po již po několikáté je mnohem kratší. Začíná úplným roztažením hrdla děložního a končí vypuzením dítěte ven.
- 3. doba porodní trvá většinou okolo čtvrt hodiny. Během této doby dojde k vypuzení placenty a plodových obalů.
- Následuje zotavování dělohy a děložní sliznice. Může docházet k mírnému krvácení, které by mělo za fyziologických podmínek rychle ustát. Organismus ženy regeneruje dalších 4 - 6 týdnů (šestinedělí).

9. Populace a evoluce

1) Genetika populací

Populace je definována jako skupina jedinců stejného druhu se společným genofondem, která obývá určitou oblast. Dále uvažujeme, že jedinci se mezi sebou mohou volně křížit a pochází ze stejného předka. Pojem populace tedy nejde dobře aplikovat na druh s převážně vegetativním rozmnožováním.

Druhy populací

Autogamická populace: Je vytvářena jedinci, kteří se rozmnožují **autogamií** (samooplozením). Každý jedinec (hermafrodit) tedy produkuje samčí i samičí gamety. Stejná situace nastává u samosprašných rostlin. Jelikož homozygotní jedinec (ať už homozygotně dominantní nebo homozygotně recesivní) může produkovat jen a jen homozygotní potomky a heterozygot produkuje heterozygoty pouze v 50 % případů (2. Mendelův zákon), vznikají zde postupem času dvě čisté linie homozygotů a heterozygotů neustále ubývá až téměř vymizí. Úplně však z populace nevymizí nikdy.

Alogamická populace: Vytvářejí ji organizmy, u kterých nový jedinec (potomek) vzniká splynutím 2 gamet od různých jedinců téhož druhu. Zvláštním případem této populace je populace panmiktická.

Panmiktická populace: Je ideálním případem alogamické populace. V této velmi rozsáhlé populaci (ideální je nekonečné množství jedinců) musí být zaručena stejná pravděpodobnost zkřížení jakýchkoli 2 jedinců v populaci.

Zákon Hardyho-Weinbergův

Na základě Hardyho-Weinbergova zákona můžeme vypočítat genotypovou skladbu panmiktické populace. Zákon platí za těchto podmínek (předpokladů):

- Populace musí být panmiktická a velmi početná
- Nedochází k mutacím (alespoň ne u sledovaného genu)
- Nedochází k selekci
- Nedochází k migraci

Nyní trochu kombinatoriky. Pokud dominantní alelu označíme jako **p** a recesivní alelu jako **q**, získáme vztah pro populaci **p + q = 1 (100 %)**.

Dále vyjádříme šanci setkání dvou dominantních alel (vznik dominantního homozygota) jako $p \times p = p^2$ a šance setkání dvou recesivních alel q jako $q \times q = q^2$. Šance vzniku heterozygota je $(p \times q) + (q \times p) = 2pq$. Celkové genotypové složení populace je tedy **$p^2 + 2pq + q^2 = 1$** - což odpovídá výrazu $(p + q)^2 = 1$.

Pokud se v daném lokusu vyskytují více než dvě alely, platí zákon obdobně - tedy:

$$p + q + \dots + n = 1$$

$$(p + q + \dots + n)^2 = 1$$

Pro 3 alely (např. AB0 krevní systém) by byl vzorec:

$$p + q + r = 1$$

$$(p + q + r)^2 = p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2qr = 1$$

Vlivy působící na genofond populace

a) Mutační tlak: Může docházet např. ke vzniku zcela nových alel či změně dominantní alely na recesivní i naopak. Mutace může být pro svého nositele nevýhodná (což je nejčastější), neutrální, nebo dokonce i výhodná. Četnost těchto jevů je velmi nízká a změny se během jedné generace téměř neprojevují. Podrobněji je téma mutací probráno v kapitole mutace.

b) Selektivní tlak: Selektce neboli přírodní výběr má velký vliv. Pokud alela svého nositele zvýhodňuje oproti jedincům bez této alely, bude frekvence této alely v následujících generacích postupně stoupat. Nevýhodné alely postupně ubývají (dominantní mizí poměrně rychle, recesivní mizí pomalu a úplně nevymizí nikdy), protože své nositele znevýhodňují (tzv. negativní selektce).

Zvýhodnění či znevýhodnění určitého genotypu vůči ostatním charakterizuje veličina **fitness** - **w**. Hodnota fitness vypovídá, jakou mírou přispívají jedinci s tímto genotypem do genofundu populace - tedy kolik mají procent potomků oproti jedincům s jinými genotypy.

Hodnoty fitness mohou nabývat hodnot od 0 do 1, přičemž hodnotu $w = 1$ nacházíme u "nejplodnějšího" genotypu.

Míru vlastní selektce proti určitému genotypu pak charakterizuje **koeficient selektce** - **s**.

Platí vztah $s = 1 - w$, kde w je fitness příslušného genotypu, pro který koeficient selektce stanovujeme. Hodnota $s = 1$ je typická pro genotypy, které jsou letální, nebo jejichž nositelé jsou infertilní - v obou případech do společného genofundu nepřispívají.

c) Migrace: Migrace (v širším smyslu stěhování) může znamenat obohacení genofundu o nové alely (ale i jeho ochuzení). Organismy žijí často na zcela specifickém místě, kde mohou tvořit více či méně izolované subpopulace. Pro výměnu genů (**genový tok**) mezi takovými populacemi je pak migrace nezbytná. Případné rozšíření těchto alel opět závisí na jejich adaptivní hodnotě (vliv selektce) - podmínky na původním a novém stanovišti se mohou lišit.

Zvláště v minulosti bylo vytváření izolovaných populací (**populačních izolátů**) typické i pro člověka. Při migraci na nové místo se pak někdy setkáváme s tzv. **efektem zakladatele**, kdy některý jedinec zakládající populace (která "přimigrovala" do nové oblasti - např. etnické skupiny, osadníci v Americe...) předal do dalších generací relativně vzácnou alelu, která se pak (například vlivem genetického driftu) rozšířila v této populaci natolik, že je její frekvence mnohem vyšší než v jiných částech lidské populace.

d) Genetický drift: Genetický drift neboli posun jsou náhodné posuny ve frekvenci jednotlivých alel v rámci genofundu dané populace. V praxi to znamená, že tyto změny frekvencí nepodléhají selektci, ale závisí vyloženě na náhodě při vzniku gamet a zygot (i nositel výhodné alely nemusí tuto alelu svým potomkům předat a tato se v další generaci neobjeví). Tyto změny jsou kumulativní - časem tak může dojít dokonce i k fixaci jedné alely a vymizení alely druhé. Genetický drift se uplatňuje v relativně malých populacích - čím je populace menší - tím výraznější je vliv driftu a tím častěji dojde k fixaci jedné z alel.

2) Evoluce

Úvod do evoluce

Teorie evoluce zcela vyvrací teorii kreační, propagovanou křesťanskou církví, podle které byla všechna stvoření stvořena Bohem při stvoření celého světa. Žádná zvířata se nevyvíjejí ani nemizí. Vzhledem ke značné církevní moci ve středověku bylo zpochybňování stvoření světa, i jiných

církevních dogmat existenčně nebezpečné. Proto se s prvními evolučními teoriemi setkáme až na konci 17. století, kdy církevní vliv již upadá. Velkým plusem pro vývoj evolučních teorií bylo období osvícenství, po kterém byl svět podobným přelomovým teoriím mnohem více nakloněn, než byl kdy předtím. Evoluci se věnovalo hned několik anglických, francouzských i německých vědců a filozofů; většinou se však literatura zmiňuje pouze o Lamarkismu a Darwinismu. Hlavní myšlenkou evolučních teorií byl fakt, že uvažují vymírání živočišných druhů, stejně jako vznik druhů nových. Mechanizmy, které se při vývoji uplatňují, byly nejčastějším zdrojem rozporů. K lepšímu pochopení mechanismů evoluce přispěl až rozvoj genetiky v první polovině 20. století. Evoluce je dodnes velmi diskutovaným tématem.

Lamarckismus

Autorem této první ucelené evoluční teorie je francouzský přírodovědec **Jean Baptiste Lamarck** (1774 - 1829). Své poznatky publikoval v díle **Philosophie zoologique** (Zoologická filosofie, 1809).

Základní myšlenkou Lamarckismu je, že každý živý organismus si vytváří svým úsilím určité výhodné znaky a jiné nevýhodné zase ztrácí. Tyto změny nezpůsobuje samo prostředí, to pouze vyvolává potřebu změny u organismu. Takto získané znaky se dědí na potomstvo, což umožňuje vývoj druhů. Pro takovéto vysvětlení však nejsou konkrétní důkazy, a proto se dnes přikláníme spíše k Darwinovi.

Tuto teorii evoluce odmítl další francouzský vědec **Georges Leopold Chrétien Dagobert de Cuvier** (1769 - 1832), známý rozdělením živočichů do 4 skupin (obratlovci, měkkýši, členovci a paprskatě souměrní). Cuvier změny fauny a flory vysvětloval hromadným zánikem při katastrofách světa a novým stvořením jiných forem (teorie katastrof). Tato teorie částečně vyhovovala církvi, neboť vysvětlovala nálezy prehistorických zvířat, jako pozůstatky tvorů, kteří žili před potopou světa, při níž zahynuli.

Darwinismus

Charles Robert Darwin, anglický přírodovědec a filozof, se narodil roku 1809 ve Shrewsbury a zemřel v roce 1882 na území dnešního Londýna. Účastnil se plavby kolem světa (1813 – 1836), kde shromáždil různé materiály pro své studie o vzniku druhů. Darwin vychází z evolučních myšlenek geologa Ch. Lyella, názorů sociologa T. R. Malthuse a práce A. R. Wallace. Všechny své názory shrnul v díle **On the Origin of Species by Means of Natural Selection** (O vzniku druhů přírodním výběrem, 1859). Nutno podotknout, že tímto dílem vzbudil veliký ohlas, ne však pouze kladný - zejména díky důslednému vztahování evoluce i na člověka. Mezi jeho další díla patří: **Voyage of a Naturalist round the World** (Cesta přírodovědce kolem světa, 1839), **The Variation of Animals and Plants under Domestication** (Změny zvířat a rostlin při domestikaci, 1868) a práce o vývoji člověka **The Descent of Man** (Vývoj člověka, 1871).

Základní myšlenky: Populace nejsou zcela identické - jedinci jednoho druhu se vždy trochu odlišují jejich znaky se přenášejí na další generace. Všechny druhy mají nadbytek potomstva. V boji o život přežívají pouze ti nejschopnější; méně schopní hynou a zmizí v selekčním tlaku. V důsledku selekce jsou ti lépe adaptovaní na podmínky prostředí, kde žijí. Změny prostředí tímto iniciují změny znaků, díky čemuž organismy podléhají evolučním změnám. Dlouhodobé působení výběru slouží jako vysvětlení veškeré evoluce. Současné organismy (i člověk), se vyvinuly z jednodušších předků (fylogenetický vývoj).

Samozřejmě i řada Darwinových myšlenek je dnes již překonaných; Darwin neměl k dispozici poznatky moderní genetiky, zejména nevěděl nic o problematice mutací. Proto dnešní upravenou vývojovou teorii označujeme jako **neodarwinismus**.

Neodarwinismus

Jako neodarwinismus byly označovány teorie z počátku 20. století, které vysvětlovaly evoluci na základě mutací (mutacionismus). Dnes je však stejný název používán i pro současnou **syntetickou** teorii evoluce (vychází ze syntézy mnoha moderních oborů - populační genetiky, matematiky, systematiky a paleontologie). Právě populační genetika ve 30. letech odstranila mýtus o všemocnosti mutací. Mutace se i nadále považují za hybnou sílu evoluce, ovšem berou se v úvahu i ostatní faktory ovlivňující populaci. V poslední době je oblíbená teorie tzv. sobeckého genu, podle které rozbíjí klasickou teorii o experimentování genu s organismem, zda se uchytí nebo ne. Pokud bude pro organismus znak vytvořený genem výhodný - organismus pravděpodobně přežije; pokud ne - pak organismus zemře, přičemž se snad ani nestihne rozmnožit. Podle Richarda Dawkinse jsou organismy pouze schránkami genů, které geny využívají ke své replikaci.

3) Vznik a vývoj člověka

Historický pohled

Otázka původu člověka fascinovala lidstvo již od pradávna. Snad každá kultura si vznik člověka nějakým způsobem vysvětlovala. Vesměs šlo o různé, více či méně fantastické, kreační teorie, kde většinou primární roli zastával Bůh, nebo hned Bohů několik. Teprve s rozvojem evolučních teorií se začala tvořit i vlastní teorie evoluce člověka. Zasloužil se o to především Charles Darwin svým dílem **O původu člověka** (*The Descent of Man*, 1871). Svým způsobem na něj reagovali i materialisté, např. dílem Bedřicha Engelse, přítele Karla Marxe, známým jako **Podíl práce na polidštění opice**.

V pozdější době se stále více uplatňovaly poznatky mnoha vědních oborů (antropologie, evoluční biologie, srovnávací anatomie, paleontologie, populační genetika, genomika atd.) až vznikla současná představa o evoluční linii člověka. Jak je diskutováno níže, nelze tento přehled rozhodně považovat za definitivní.

I řekl Bůh: "Učiňme člověka, aby byl naším obrazem podle naší podoby. Ať lidé panují nad mořskými rybami a nad nebeským ptactvem, nad zvířaty a nad celou zemí i nad každým plazem plazícím se po zemi."

Genesis 1, 26

Taxonomické zařazení člověka

Nadříše **Eukaryota** (*Eucaryota*) > Říše **Živočichové** (*Animalia*) > Podříše **Mnohobuněční** (*Metazoa*) > Oddělení **Triblastica** > Kmen **Strunatci** (*Chordata*) > Podkmen **Obratlovci** (*Vertebrata*) > Nadtřída **Čelistnatci** (*Gnathostomata*) > Třída **Savci** (*Mammalia*) > Podtřída **Živorodí** (*Theria*) > Nadřád **Placentálové** (*Placentalia*) > Řád **Primáti** (*Primates*) > Podřád **Vyšší primáti** (*Anthropoidea*) > Nadčeleď **Lidoopi a Lidé** (*Hominoidea*) > Čeleď **Lidé** (*Hominidea*) > Rod **Člověk** (*Homo*) > Druh **Člověk rozumný** (*Homo sapiens*) > Poddruh **Člověk rozumný vyspělý** (*Homo sapiens sapiens*)

Čeleď *Hominidae* obsahuje tři rody - *Homo*, *Australopithecus* a *Ramapithecus*.

Otázky vývoje

Vytvořit zcela nenapadnutelný přehled o vývoji člověka je velmi těžké, snad i nemožné. Přez všechny poznatky moderní vědy jsme v určitých bodech stále jen u předpokladů a skutečnou vývojovou linii člověka neznáme. Bohužel je stále více jasné, že onen vysněný "spojovací článek" mezi nižšími a vyššími primáty zřejmě neexistuje. Jistá příbuznost zde nepochybně je, ale rozhodně nejde o přímou vývojovou linii, jak je ještě dnes (a pravděpodobně chybně) mnohde uvedeno. Již dnes je jisté, že tyto rody patří mezi slepé vývojové větve: *Propliopithecus*, *Egyptopithecus*, *Dryopithecus*, *Gigantopithecus*.

Celou doposud prezentovanou vývojovou řadu člověka bude potřeba přehodnotit, protože je v ní mnoho neznámých a mnoho prázdných míst (např. mezi *Ramapithecem* a *Australopithecem* jde o téměř 5,25 miliónu let). Potom jsou zde otazníky z mladší doby kamenné, kdy došlo k rychlým změnám nejen fyzickým, ale i v sociálním chování člověka. Tento "zlom" je, s jistou dávkou fantazie, některými autory (např. známý Erich von Däniken) vysvětlován mimozemským zásahem. Doufejme, že na základě pokračujících molekulárně genetických analýz genomů současných zástupců primátů, získáme alespoň částečné odpovědi.

Tento přehled tedy není souhrnem posledních teorií a vědeckých objevů, ale spíše starší přehled, pokrývající základní požadavky středoškolské látky. Předcházející odstavec měl za úkol upozornit na možné rozpory s novými poznatky v oboru evoluce člověka.

Procesy vývoje

Proces **antropogeneze** (vývoj člověka) je spojen s procesy **hominizace** a **sapientace**.

Hominizace je termín, který označuje všechny vývojové změny, prokazatelné na kostře člověka. Těmito změnami se člověk odlišuje od opic. Patří mezi ně: rozšíření a zploštění hrudníku; změna pletence ramenního, umožňující rotaci paže; rozšiřování zubního oblouku; změny pánve, páteře a celé dolní končetiny v souvislosti s **bipedním** pohybem; posun týlního otvoru na spodek lebky; vývoj ruky; ústup ochlupení; zvětšování kapacity mozkovny a další změny na lebce (vznik brady, ústup nadočnicových oblouků).

Sapientace navazuje na proces hominizace. Tento proces se vyznačuje vývojem mozku a je přímo závislý na zvětšování mozkové části lebky (která v průběhu antropogeneze přesáhne kapacitou část obličejovou) a na **gyrifikaci** mozku, která zvětšuje plochu šedé kůry mozkové - centra vyšší mozkové činnosti. Díky tomu dochází k vývoji typicky lidských znaků, jakými je řeč nebo druhá signální soustava (schopnost pracovat s abstraktními pojmy). Přesné definice těchto pojmů však jsou poněkud problematické.

Předchůdci člověka

Ramapithecus - Nekontroverznější z našich předchůdců, přesto je i nadále za našeho předka označován. Žil v Africe a v Asii zhruba před 13 miliony let. Zubní oblouk lidského typu, mozkovna 350cm³.

Australopithecus - Tento rod se dělí na několik druhů. Jedná se s největší pravděpodobností o slepou vývojovou větev, a pouze u několika druhů se uvažuje jako o možných přímých předchůdcích dnešního člověka. Jako jejich předchůdce a snad první uznávaný předek člověka je druh *Ardipithecus ramidus* (asi před 4,5 milionu let). Do lidské vývojové větve je řazen *A. africanus* (140 cm, 45kg, mozkovna asi 500cm³) a v poslední době snad i nově objevený *A. garhi*. Další druhy: *A. afarensis*, *A. robustus*, *A. boisei*.

Homo habilis (člověk zručný) - První předek, řazený do rodu *Homo*, žil v Africe v období mezi 2,5 - 1,5 milionu let. Doloženy první vyrobené kamenné nástroje. Mozkovna 700cm³.

Homo erectus (č. vzpřímený) - Žil v Africe, Asii i Evropě a to v období od 1 milionu do 350 000 let př. n. l. (Evropa) / 100 000 př. n. l. (Jáva - Asie). Výška až 170cm, mozkovna i 1000cm³. Prokazatelně znal oheň. Dříve označován i jako: *Pithecanthropus erectus*, *Maueranthropus heidelbergensis* nebo *Sinanthropus pekinensis*.

Homo sapiens heidelbergensis - Pojmenován podle místa nálezů - Heidelberg v Německu. Starší předchůdce neandertálského člověka (před 400 000 - 200 000 lety), méně primitivních znaků než neandertálec, mozkovna asi 1200cm³.

Homo sapiens neanderthalensis - Klasičtí neandertálci, kteří vymřeli jako slepá vývojová větev (i když mohlo docházet, a snad i docházelo, ke křížení s prvními zástupci druhu *Homo sapiens sapiens*). Žil asi 150 000 - 50 000 lety. Výška asi 160cm, mohutný chrup a nadočnicové oblouky (primitivní znaky), mozkovna naopak mohla mít kapacitu v rozmezí od 1400 do 1700cm³, což je více než u soudobého člověka.

Homo sapiens sapiens - Současný člověk, který se fyzicky již téměř neliší od nás. První lidé tohoto typu (označováni jako předvěci - *typofosilis*) žili přibližně v rozmezí mezi 40 - 10 000 lety př. n. l. Za první příslušníky dnešního člověka (typ *recens*) se považují první zemědělci, opustivší kočovný způsob života.

10. Genetické inženýrství

1) Základní metody genetického inženýrství

Genetické inženýrství je fenomén, který má své počátky již hluboko v minulém století. Manipulace s nukleovými kyselinami jsou dnes již na denním pořádku. Na analýze nukleových kyselin je založena celá řada diagnostických metod. Manipulace a analýza nukleových kyselin je podstatou celé řady genetických výzkumných projektů.

Pod pojmem genetické inženýrství si dnes představuje hlavně manipulaci s nukleovými kyselinami a jejich případnou modifikaci. Zatímco pro klasickou dědičnost organismů je typický vertikální přenos DNA ("shora - dolů"; myšleno z generace na generaci), metody genetického inženýrství umožňují i tzv. horizontální přenos (přenos mezi jednou generací). Ovšem nejen to, neboť přenášenou DNA umíme již i upravovat a různě modifikovat, či dokonce syntetizovat uměle.

Restrikční endonukleázy

Restrikční endonukleázy jsou enzymy, které jsou schopny štěpit dvoušroubovici DNA v určitých specifických sekvencích. Byly objeveny v bakteriích, kde slouží jako ochrana před cizorodou DNA (především DNA bakteriofágů). Bakteriální DNA je před jejich účinkem zpravidla chráněna methylací DNA v místech rozpoznávaných sekvencí.

Místa rozpoznávané restrikčními endonukleázami jsou většinou **palindromatické** sekvence (palindromatické sekvence mají stejné pořadí nukleotidů čtené ve směru od 5' konce na obou dvou vláčkách DNA).

Příklad palindromatické sekvence u enzymu *EcoRI* (mezi červeně označenými nukleotidy dochází ke štěpení):

5' **GA**ATTC 3'

3' CTTA**AG** 5'

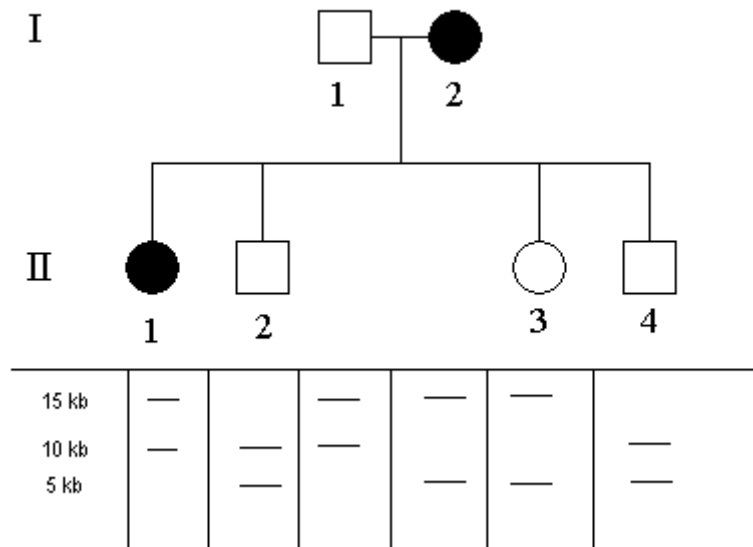
Jak vidíme v příkladu u enzymu *EcoRI* (zkratka *Eco* vychází z názvu bakterie, ze které je příslušná endonukleáza izolována; v tomto případě *Escherichia coli*), může docházet ke štěpení mezi nukleotidy, které neleží naproti sobě; konce rozštěpené dvoušroubovice jsou pak nestejně dlouhé. Takovéto konce označujeme jako lepivé (kohezní).

Pokud restrikční endonukleasa štěpí mezi protilehlými nukleotidy, potom jsou konce dvoušroubovice zarovnané - tupé konce.

Restrikční endonukleasy mají velký význam, neboť umožňují specificky vyštěpovat různé DNA sekvence. Existuje totiž relativně velké množství takovýchto endonukleas (izolovaných z různých bakterií), tudíž máme i velké množství možností na vyštěpování žádaných úseků DNA (existují tzv. restrikční mapy, kde jsou v genomových sekvencích naznačena místa, kde lze sekvenci určitou endonukleasou štěpit). Prvním významem je tudíž vyštěpování požadovaných (k dalšímu použití) DNA sekvencí z delšího úseku DNA.

V diagnostice dědičných chorob se potom využívá takzvané restrikční analýzy, založené na polymorfismu délky restrikčních fragmentů (**RFLP**- Restriction Fragment Length Polymorphism). Jedná se o to, že různí lidé mají různou DNA sekvenci (zvláště v nekódujících oblastech DNA, kde se různé varianty nijak fenotypově neprojevují), tudíž mají i různě umístěná místa, kde mohou restrikční endonukleasy štěpit. Zároveň se využívá skutečnosti, že při různých genetických mutacích mohou být určité sekvence DNA deletovány, nebo naopak přidány.

Výsledkem je již zmíněný (a z diagnostického hlediska užitečný) polymorfismus délky restrikčních fragmentů. Po štěpení určité sekvence DNA (ve které se nachází i sledovaný gen) restrikční endonukleasou získáme nestejně dlouhé fragmenty DNA, které můžeme elektroforeticky (viz níže) rozdělit a následně vyhodnotit.



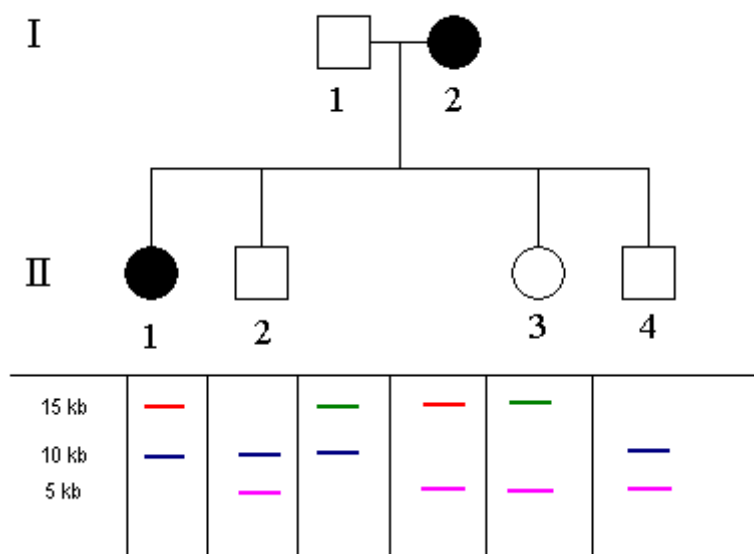
Na uvedeném hypotetickém příkladě si ukážeme základy restrikční analýzy. Matka (I/2) trpí hypotetickou autozomálně dominantní chorobou. V rodině je jedna další postižená osoba a to dcera (II/1). Byla provedena RFLP analýza (štěpení restrikční endonukleasou a následná elektroforéza fragmentů) a pod rodokmenem jsou prezentovány jejich výsledky. Pod každým jedincem jsou vidět dva fragmenty, jak byly rozděleny během elektroforézy (viz níže). Různá délka odpovídá různě dlouhému fragmentu po štěpení restrikční endonukleasou; 2 délkové varianty odpovídají dvěma kopiím DNA, které má každý jedinec.

Principem této analýzy je vysledovat, který rodič předal jaký fragment (více méně odpovídá segregaci chromosomů při tvorbě gamet).

Otec má fragmenty o délce 10 kb (kilobází) a 15 kb. Matka má fragmenty o délce 5 kb a 15 kb.

Nyní vysledujeme, kdo z potomků získal jaký fragment:

- Dcera (II/1) má fragmenty o délce 15 kb a 10 kb. Jeden z nich musí pocházet od otce a druhý od matky. Zatímco fragment 15 kb může pocházet od obou rodičů; fragment 10 kb může pocházet pouze od otce (matka jej nemá). Fragment 15 kb je tedy od matky.
- Syn (II/2) musí mít fragment 5 kb od matky (otec jej nemá) a tím pádem tedy fragment 10 kb je od otce (rovněž jediná možnost).
- Dcera (II/3) musí mít rovněž fragment 5 kb od matky; fragment 15 kb pochází od otce.
- Syn (II/4) má stejnou kombinaci fragmentů jako jeho bratr (II/2); fragment 10 kb od otce a fragment 5 kb od matky.



Pokud si původ fragmentů nějakým způsobem označíme (v tomto případě barevně), můžeme již vysledovat, který fragment je ve **vazbě s mutovanou alelou**.

To je účelem restrikční analýzy. Pokud můžeme tento fragment určit, potom označujeme analýzu jako informativní. Pokud však nedokážeme fragment ve vazbě s mutovanou alelou vystopovat, potom označujeme analýzu jako neinformativní.

Obě postižené osoby mají fragment délky 15 kb od matky (označen červeně). Právě tento fragment je tedy ve vazbě s mutovanou alelou (při zanedbání možnosti rekombinace crossing-overem).

Další enzymy

Při úpravách rekombinantní DNA se používají i další enzymy. Velký význam má zejména DNA ligasa, která umožňuje spojování různých DNA fragmentů (například různé fragmenty, vzniklé štěpením restrikčními endonukleázami).

Elektroforéza

Elektroforéza je dělicí metoda, založená na rozdílné pohyblivosti dělených struktur v elektrickém poli. Dělení DNA (i RNA) fragmentů je založeno na skutečnosti, že zbytky fosforečné kyseliny (jakožto součásti nukleotidů) mají záporný náboj. Nukleové kyseliny (NK) se tudíž v elektrickém poli chovají jako polyanionty (pohybují se ke kladnému pólu).

Elektroforetické dělení NK probíhá nejčastěji na agarosovém nebo polyakrylamidovém gelu. Menší částice (kratší úseky NK) se pohybují rychleji a urazí tedy delší vzdálenost. Stejně dlouhé fragmenty urazí tudíž stejnou dlouhou vzdálenost. Využití nachází elektroforéza NK (nejen) při restrikční analýze (viz výše).

Southern blotting

Southern blotting (přenos) je metoda, která umožňuje lépe vizualizovat výsledky elektroforézy nukleových kyselin. Kroky jsou následující:

- 1) Necháme proběhnout elektroforézu DNA fragmentů.

- 2) Pomocí alkalické kapaliny (pufru) necháme vzlínat molekuly DNA z gelu na fólii (nejčastěji z nitrocelulózy), kde se molekuly DNA fixují (teplem). V alkalickém prostředí zároveň DNA denaturuje (vlákna se oddělí, aby mohlo v příštím kroku dojít k hybridizaci se sondou).
- 3) Na fólii necháme působit další pufr s nukleotidovými sondami (v nadbytku), které hybridizují s komplementárními sekvencemi na fólii zachycených fragmentů DNA. Sondy jsou značeny radioaktivním izotopem nebo (nyní častěji) fluorescenčním barvivem.
- 4) Nyní již můžeme vizualizovat sondou značené fragmenty (podle použitého značení sondy buď autoradiografií nebo detekcí fluorescence). Získáme výsledek podobný tomu, jaký byl ukázán pod rodokmenem v příkladu s analýzou RFLP (viz výše).
- 5) Jako **Northern blotting** označujeme vizualizaci elektroforézy RNA, která probíhá obdobně jako v případě Southern blottingu.

Western blotting se používá při elektroforéze bílkovin, pro jejichž značení se využívají imunochemické metody.

Genové knihovny

V počátcích genového inženýrství bylo velmi obtížné namnožit (naklonovat) požadovaný úsek molekuly DNA. Za tímto účelem byla požadovaná DNA sekvence integrována do plazmidu (mimojaderná cirkulární DNA molekula u bakterií) a ten byl vnesen do bakteriální buňky. S namnožením bakterie došlo i k namnožení DNA fragmentu.

Tento postup měl své nevýhody (především pomalou rychlost klonování a obtíže se zpětným izolováním namnoženého DNA fragmentu), proto je v současnosti již zcela nahrazován metodou PCR (viz dále). Princip této metody však byl a stále je užíván při tvorbě **genových knihoven**.

Knihovny většinou obsahují velké množství informací. Genové knihovny obsahují velké množství genetických informací (genů). Představte si, že celý lidský genom rozštěpíte endonukleázami na obrovský počet fragmentů. Každý fragment potom budete klonovat v jedné bakteriální populaci (v plazmidech). Nakonec získáte velké množství bakteriálních populací a v každé z nich budete mít namnožený určitý fragment lidského genomu - bude se jednat o **genomovou knihovnu**.

Použitím reverzní transkriptasy (RNA - dependentní - DNA polymerasy) můžeme přepsat genetickou informaci z RNA do DNA. Běžně toto aplikují retroviry během svého životního cyklu, ale lze toho využít při syntéze **cDNA**. Písmenko **c** znamená "complementary" a vyjadřuje skutečnost, že vzniklá DNA je komplementární k RNA (nejčastěji mRNA). Pokud izolujeme všechny mRNA z určitého typu buňky (například z jaterní buňky - hepatocytu) a podle nich vytvoříme reverzní transkriptasou příslušné cDNA, které opět klonujeme v bakteriích, získáme **cDNA knihovnu hepatocytu**. Tímto způsobem zjišťujeme, jaké geny jsou v konkrétní buňce přepisovány. Protože je cDNA kopií mRNA, je tvořena sekvencí, která neobsahuje introny!

Mimo bakteriální plazmidy se pro uchovávání DNA dále používají například bakteriofágy nebo umělé chromosomy.

Využití bakterií pro syntézu proteinů

Bakterie lze rovněž využít pro produkci určitého proteinu. Jako první byl metodami rekombinantní DNA připraven lidský insulin. Nejprve musíme získat cDNA požadovaného proteinu (bakterie nemá schopnost odstraňovat z genu introny; vnesením celého lidského genu pro insulin bychom tak požadovaný produkt nezískali), kterou vložíme do bakteriálního plazmidu. Pro vysokou efektivitu produkce je vhodné před insulinový gen zařadit vysoce aktivní promotorovou sekvenci, která zajistí mohutnou transkripci vneseného genu.

Takto modifikované bakterie potom produkují vysoce kvalitní lidský insulin. Podobným způsobem lze však připravovat pouze jednoduché proteinové produkty, jejichž struktura je dána samotnou sekvencí

aminokyselin. Složité produkty z několika podjednotek a jinak modifikované bakterie syntetizovat nemohou.

Na vnesení genetické informace do buňky je založena i genová terapie.

PCR

PCR - Polymerase Chain Reaction (Polymerasová řetězová reakce) je metoda, díky které lze mnohonásobně naklonovat požadovaný úsek DNA, navíc v krátké době.

Pro provedení reakce potřebujeme:

- Vlákno DNA s úsekem, který chceme namnožit (existuje zde omezení délkou)
- Dva typy oligonukleotidů, které ohraničují z obou stran požadovaný úsek DNA a budou sloužit jako primery pro polymeraci
- Termostabilní DNA polymerasu
- Deoxynukleotid-trifosfáty pro stavbu budoucích řetězců DNA
- Kapalinu (pufr), ve které bude reakce probíhat
- Nástrojové, přístrojové a softwarové vybavení (moderní přístroje se nazývají cyklery)

Postup je zhruba následující:

- 1) Do zkumavky jsou přidány všechny potřebné součásti reakce (DNA vzor, primery, pufr, polymeráza)
- 2) Během prvního cyklu je v cykleru nejprve zvýšena teplota, čímž dojde k denaturaci vzorové DNA (dojde k narušení vodíkových můstků a vlákna se od sebe oddělí).
- 3) Po snížení teploty mohou komplementární úseky opět renaturovat. Jelikož primery jsou ve velkém nadbytku, je vysoce pravděpodobné, že dojde k hybridizaci primerů na komplementárních místech, ohraničující úsek určený k namnožení.
- 4) Od následujících primerů syntetizuje Dna-polymeráza zbytek sekvence (je důležité, aby šlo o termostabilní polymerasu, jinak by při zvýšené teplotě v první fázi cyklu došlo k její denaturaci a v této fázi by se po každém cyklu musela polymerasa opět přidat; využívají se polymerasy druhů bakterií, které žijí za vysokých teplot - např. *Thermus aquaticus*).

Po čtvrté fázi následuje opět denaturace zvýšenou teplotou. Již po několika cyklech získáme veliké množství požadovaného úseku DNA. Po 30 cyklech dojde k namnožení asi v řádu 10^9 .

PCR nachází využití mimo jiné při detekci viru HIV nebo při DNA diagnostice ve forenzní medicíně (či obecně při určování totožnosti).

Transgenní organizmy

Organizmy, do kterých jsou vneseny nové nebo pozměněné geny, označujeme jako transgenní. Na různých modelových organizmech jsou například používány metody **cílené mutageneze**, kdy se pozoruje fenotypový projev mutace určitého genu (někdy je nejlepším způsobem pro pochopení funkce genu jeho cílené vyřazení z funkce a následné pozorování následků).

Jako "**knock-out**" genu se označuje cílené vyřazení genu z funkce (například vytvořením STOP kodonu). Pokud je funkce genu jenom určitým způsobem snížena - jde o "**knock-down**" genu.

Na obdobném principu je založena i genová terapie, ovšem zde nevnášíme mutovanou genetickou informaci, ale naopak se snažíme minimalizovat následky vrozených mutací.

2) Mapování genomů

Mapování genomu určitého organismu je složitý proces. Pro co nejpřesnější představu o genové mapě zkoumaného organismu musíme zjistit následující fakta:

- Kolik má organismus chromozomů
- Na kterém chromozomu se jaký gen nachází
- V jakém pořadí jsou geny na chromozomu umístěny; jak jsou od sebe geny vzdáleny

V současné době je již běžné i **sekvenování genomů**, což je proces, během kterého zjistíme kompletní sekvenci nukleotidů jaderné molekuly DNA organismu.

Mapování genomu

Počet chromozomů lze stanovit běžnými mikroskopickými technikami pomocí vhodného cytogenetického barvení. Složitější již je umístění genů na jednotlivé chromozomy. Za tímto účelem byly vyvinuty speciální metody (hybridomová metoda), kdy se vytvářely buněčné kultury s kombinovanou chromozomovou výbavou (například člověka a myši). V těchto kulturách se postupně eliminovaly lidské chromozomy (nebo jejich části) a vyhodnocovala se přítomnost produktu sledovaného v závislosti na zbylých chromozomech (pokud v buňce zbyl pouze jeden lidský chromozom a produkt hledané genu se stále tvořil, potom bylo možné tento gen lokalizovat na onen chromozom). Tato metoda byla velmi zdoluhavá a vyžadovala velkou zkušenost.

Známe-li proteinový produkt genu, můžeme zkusit z primární struktury - tedy pořadí aminokyselin - sestavit sekvenci nukleotidů, které by toto pořadí kódovaly. Nyní můžeme zkusit, zda takto vytvořené sondy budou hybridizovat s nějakou sekvencí na některém chromozomu. Využíváme při tom metody *in situ* hybridizace, kdy necháváme hybridizaci proběhnout takříkajíc "na místě" - tedy například přímo na podložním sklíčku mikroskopu, ve kterém můžeme rovnou sledovat, zda na některém chromozomu značená (např. fluorescenčním barvivem) sonda hybridizuje.

Pro stanovení pořadí a vzdáleností genů na chromozomech se využívá zákonů genové vazby a třibodového pokusu.

Metody sekvenování

Pro určení přesné sekvence nukleotidů v úseku DNA byly vynalezeny dvě metody - **Sangerova** a **Maxam & Gilbertova**. Popíšeme si princip Sangerovy metody, neboť je více používaná.

Sangerova metoda využívá speciální vlastnosti speciálních nukleotidů - 2', 3' dideoxyribonukleotidtrifosfátů. Tyto nukleotidy (ddATP, ddCTP, ddGTP a ddTTP) nemají na 3' uhlíku ribosy OH skupinu, z čehož plyne, že na tento konec již nemůže být žádný další nukleotid navázán.

Nyní si představte, že máme v reakční směsi namnoženou jednovláknovou DNA (jejíž sekvenci chceme znát), DNA polymerasu, příslušné primery (aby DNA polymerasa mohla začít pracovat), dostatek deoxyribonukleotidtrifosfátů (dATP, dCTP, dGTP a dTTP) pro syntézu a ještě určité množství jednoho typu dideoxyribonukleotidtrifosfátu - dejme tomu ddATP. Co se stane - polymerasa začne od nasednuvších primerů doplňovat sekvenci druhého vlákna. Pokaždé, když polymerasa doplňuje dATP do řetězce, je určitá pravděpodobnost, že namísto dATP použije ddATP. Pokud je zařazen ddATP, potom polymerace na tomto místě končí. Necháme-li tedy takovouto reakci proběhnout, získáme velké množství různě dlouhých oligonukleotidů, které budou všechny končit adeninem (dojde k zastavení polymerace u ddATP).

Pokud necháme proběhnout stejnou reakci, tentokrát s ddCTP, ddGTP a nakonec i ddTTP, dostaneme 4 směsi oligonukleotidů, přičemž v každé směsi budou oligonukleotidy končit příslušnou bází.

Klasická metoda vyhodnocení spočívá v provedení elektroforézy, přičemž jsou v gelu vytvořeny 4 dráhy, každá pro jinou oligonukleotidovou směs.

Všimněme si, že díky rozdílné délce vzniklých oligonukleotidů, doputuje každý z nich rozdílně daleko. Budeme vyhodnocovat od spodu (od nejkratšího oligonukleotidu, který doputoval nejdál - pokud je start nahoře). Všimněme si, že nejnižší je oligonukleotid končící adeninem. O něco výše je oligonukleotid končící guaninem. Tímto způsobem můžeme přečíst celou sekvenci:

5' **ACGATTCGGCACT** 3'

V současné době existují moderní přístroje - sekvenátory - ve kterých se využívá dideoxyribonukleotidů, které jsou značeny různými fluorescenčními barvami (pro každou bázi je jiná barva). Výslednou sekvenci pak přístroj určuje na základě tohoto barevného značení.

Maxam & Gilbertova metoda se vyhodnocuje podobným způsobem (elektroforeticky), ovšem reakce, při které vznikají různé dlouhé oligonukleotidy, nevyužívá polymerace podle vzorového vlákna, ale specifického chemického štěpení DNA za určitými nukleotidy.

Výsledky mapování

Výsledky zkoumání genomu jsou různé (výsledky nejznámějšího projektu - přečtení lidského genomu - najdete v kapitole Genetika člověka). Existují genové mapy, které jsou vytvořeny na základě výpočtů, vycházejících ze zákonů genové vazby (vzdálenosti v centiMorganech - cM). Existují také fyzické mapy, založené na přesné pozici genu v sekvenci DNA (vzdálenosti v párech bází - pb). Znalost kompletní sekvence genomu je nesmírně užitečná, sama však pro přesnou lokalizaci všech genů nestačí. Velké množství genů (přesněji jejich mutovaných forem) bylo objeveno až jako původci různých dědičných onemocnění. I obecně platí, že nejlépe funkci genu poznáme, když mutací tento gen vyřadíme z funkce.

Vzhledem k tomu, že z etických důvodů nelze provádět cílenou mutagenézi a některé další pokusy na člověku, jsou pro další výzkum lidského genomu nedocenitelné výsledky získané u jiných organismů, které jsou potom porovnávány s dosavadními výsledky výzkumu u člověka (komparativní genomika).

3) Genová terapie

Možnosti genové terapie

Geneticky podmíněné choroby jsou stále velkým problémem moderní lékařské vědy. U velkého množství z nich již známe příčinu (tedy mutaci konkrétního genu - genů), ovšem tuto příčinu nejsme v současné době schopni vyléčit - **neexistence kauzální terapie**. Současná medicína nabízí mnoho možností symptomatické léčby, kdy se snažíme různými způsoby zlepšit průběh nemoci. Tato léčba však neléčí samotnou podstatu choroby a tak je pacient na této léčbě často závislý po celý život.

Symptomatická léčba zahrnuje:

- Dodání chybějícího enzymu u enzymopatií
- Dodání jiných chybějících látek (substrátů, proteinů...)
- Vyvarování se substrátu, který nelze správně metabolizovat (speciální diety)
- Chirurgické zákroky
- Farmakologické ovlivnění narušených fyziologických procesů
- Farmakologické zlepšení kvality života

- Jiné ovlivnění fyziologických procesů nebo kvality života (přístroje, pomůcky)
- Transplantace chorobou poškozeného orgánu

Během posledních let dochází k prudkému rozvoji molekulární biologie. Na přečtení lidského genomu navazují pokroky v proteomice a farmakogenomice. Nové znalosti nám umožňují nejen zlepšovat stávající léčebné postupy, ale dávají i naději do budoucna, kdy snad budeme schopni léčit přímo příčinu dědičných onemocnění. Genová terapie bude v budoucnosti možná léčit i většinu nádorových onemocnění.

Genová terapie znamená vpravení genetické informace do buněk za účelem léčebného účinku. Ačkoliv u některých pacientů byla již genová terapie úspěšně použita (jako první se pomocí genové terapie léčily určité typy těžkých imunodeficitů), stále se jedná spíše o experimentální terapii, která s sebou může nést řadu vedlejších efektů. Co vlastně musí být splněno, abychom mohli zahájit genovou terapii?

- 1) Musíme znát přesnou příčinu genetické choroby. Tedy musíme znát přesný gen(y), jeho umístění, povahu produktu a hlavně mechanismus **patologického účinku**. Patologicky totiž může působit jak deficit normálního genového produktu, tak i pozměněný produkt mutovaného genu. Samozřejmostí je znalost přesné sekvence zdravého genu. Pro současnou experimentální genovou terapii jsou vybírány choroby, pro které jiná léčba neexistuje a které mají velmi těžký, často letální průběh.
- 2) S ohledem na výše uvedené požadavky musíme mít správně vytvořenou strategii genové terapie. Pokud je patologický nedostatek genového produktu, potom stačí dodatečně zařazení nemutovaného genu kamkoliv do genomu příslušných buněk. Pokud však patologicky působí pozměněný produkt mutovaného genu, potom je nutné buď **opravit mutovaný gen** (to by byla pravá kauzální terapie - odstranění příčiny) nebo zablokování tohoto genu (odstranění genu, zamezení transkripce...). S tím souvisí i zajištění fyziologické aktivity tohoto genu (posílení, nebo utlumení transkripce, je-li potřeba).
- 3) Součástí strategie je i volba vhodného vektoru (nosiče) a vytipování cílových buněk genové terapie.
- 4) S ohledem na jistou kontroverznost této terapie je třeba provádět genovou terapii pouze pokud je úspěšně otestována a schválena k použití. K podstoupení experimentální terapie je vždy potřeba souhlas pacienta (či jeho zákonného zástupce). Pro užití genové terapie budou v budoucnosti pravděpodobně přijaty zákonné i podzákonné normy.

Samotné provedení genové terapie zahrnuje:

- 1) Vytvoření genetické informace (metodami rekombinantní DNA), která je určená pro transport do buněk.
- 2) Vytipování buněk, do kterých bude upravená genetická informace vnesena. Genová terapie se může provádět jak *in vivo* (kdy jsou cílové buňky po celou dobu součástí organismu), tak *in vitro* (kdy jsou cílové buňky z těla organismu nejprve odebrány a po provedení genové terapie opět vráceny na své místo v organismu).
- 3) Výběr vhodného vektoru (nosiče), který bude použit pro vpravení genetické informace do cílových buněk. Možností je mnoho - např. mechanické metody (mikrojekly), chemické či fyzikální metody (specifickým způsobem umožní průnik gen. informace cytoplazmatickou membránou), samotná DNA či DNA v komplexech s různými molekulami. V současnosti se však nejvíce využívá **virových vektorů** (jde zejména o adenoviry a retroviry, které mají schopnost inzerce své gen. informace do genomu hostitelské buňky). Do virových kapsid je zabudována terapeutická gen. informace (virová gen. inf. je odstraněna) a virové vektory jsou aplikovány.
- 4) Po provedení genové terapie je třeba pacientův stav pečlivě monitorovat a všimnout si jak zlepšování zdravotního stavu, tak i nástupu případných komplikací.

Nevýhody genové terapie

Výhody genové terapie se zdají být nesporné. Existují však i stinné stránky této metody (odvolávám se na současný stav; je snaha tyto negativa zmírnit či eliminovat). Je to například:

- Velmi vysoká finanční náročnost takovéto terapie.
- Technická a technologická náročnost.
- Nízká úspěšnost terapie, pokud jsou problémy s "uchycením" vnášené genetické informace.
- Při použití virových vektorů je genetická informace do genomu vložena víceméně náhodně. Vnesený gen tak může narušit sekvenci jiného genu (narušení protoonkogenu nebo tumor-supresorového genu může spustit maligní transformaci buňky).
- Genová terapie je eticky problematická.

V budoucnosti by genová terapie mohla nejen zachraňovat životy pacientům s těžkými genetickými chorobami či rakovinou, ale mohla by zpříjemnit život i mnoha dalším lidem, jejichž choroba sice není natolik závažná, ale stejně jsou odkázáni na podpůrnou terapii. Bude však potřeba přesně vymezit hranici mezi tím, na co je ještě etické genovou terapii použít a na co už ne. Budou v budoucnosti "děti na objednávku"? Budeme si moc určit barvu očí, vlasů či výšku našich dětí? Pokud budeme umět vytvářet děti bez genetických chorob - nemohly by tyto děti být také fyzicky zdatnější? Dočkáme se éry superlidí?

Odpověď nám dá až budoucnost. Dle mého názoru se však nesmíme dočkat doby, kdy by se z genové terapie stal takový obchod, jakým je dnes třeba plastická chirurgie. Vylepšení genomu na objednávku a jen pro majetné by bylo vyložené pošlapání současných nadějí.

11. Slovníček

A

Adenin

6-aminopurin; purinová báze, přítomná v DNA i RNA

AIDS

Acquired immunodeficiency syndrome - syndrom získané imunodeficiency, způsobený virem HIV (Human immunodeficiency virus)

Alela

Konkrétní forma genu, vyskytující se ve specifickém lokusu

AMC

viz Amniocentéza

Amniocentéza

Invazivní zákrok využívající k získání plodové vody a buněk k cytogenetickému vyšetření plodu

Anafáze

Fáze buněčného dělení, při které dochází k rozestupu chromosomů k pólům buňky

Apoptóza

Programovaná buněčná smrt; na rozdíl od nekrózy nepoškozuje okolní buňky

Arabidopsis thaliana

Huseníček rolní - rostlina z čeledi brukvovitých; modelový organismus genetického výzkumu

Autosomy

Somatické chromosomy - všechny chromosomy mimo chromosomy pohlavní

B

B generace

Generace zpětného křížení (backcross) - mezi jedincem F generace a P generace

Bakteriofág

Virus napadající bakterie

Barrovo tělísko

Optickým mikroskopem pozorovatelná "hrudka" chromatinu, která představuje inaktivovaný X chromosom (vyskytuje se u jedinců s více než jedním X chromosomem - běžně tedy u žen)

Bivalent

Sdružený pár homologních zdvojených chromosomů pozorovatelný během meiotické profáze; někdy též nazývaný tetráda

C

cDNA

Complementary DNA - DNA vzniklá zpětným přepisem z RNA do DNA; využívaná v cDNA knihovnách

Caenorhabdis elegans

Malá hlístice sloužící jako modelový organismus genetického výzkumu

Centromera

Místo primárního zaškrcení chromosomu, odděluje krátké a dlouhé raménko

Crossing-over

Proces rekombinace mezi homologními chromosomy během profáze meiotického dělení

CVS

Chorionic villus sampling - viz odběr choriových klků

Cytosin

2-oxo-4-aminopyrimidin; pyrimidinová báze, přítomná v DNA i RNA

D

Denaturace

Proces, při kterém se dvoušroubovice DNA (vlivem teploty nebo iontů solí) rozpojí na jednotlivá vlákna (zrušení vodíkových můstků)

DGGE

Denaturing gradient gel electrophoresis - jedna z metod přímé DNA diagnostiky, využívající elektroforézu na gelu s denaturačním činidlem

Dihydrouridin

Jedna z minoritních bazí, přítomná v D kličce tRNA

Diktyotene

Stádium klidu nedokončené meiotické profáze, ve kterém se lidský oocyt nachází až do případné ovulace

Diplotene

4. fáze profáze I. meiotického dělení

Disjunkce

Proces rozchodu chromosomů k opačným pólům buňky během buněčného dělení

Disrupce

Porucha prenatalního vývoje, způsobená negativním mechanickým vlivem vnějšího prostředí na normálně se vyvíjející orgán

DNA

Kyselina deoxyribonukleová

Drosophila melanogaster

Octomilka - malá muška sloužící jako modelový organismus genetického výzkumu

Dysplasie

Porucha prenatalního vývoje jedince, způsobená abnormálním uspořádáváním buněk ve vyvíjejícím se orgánu

E

Enzymy

Biokatalyzátory - je jim věnována kapitola Enzymy

Eufenika

Zlepšování fenotypu postižených jedinců

Eugenika

Zlepšování genofondu populace snižováním frekvence nežádoucích alel

Euchromatin

Dekondenzovaný chromatin (je zde transkripční aktivita), jeví se světle v optickém mikroskopu

Exon

Oblast genu přepisovaná do RNA, která obsahuje sekvence skutečně kódující proteiny

F

F1 generace

Filiální generace - vzniká křížením P generací; křížením F1 jedinců vznikají F2 jedinci atd.

Fenotyp

Soubor všech dědičných znaků jedince; více či méně pozorovatelný projev genotypu

Fetus

Plod; u člověka je jako plod označován vyvíjející se jedinec starší 3 měsíců

FISH

Fluorescent in situ hybridization - fluorescenční in situ hybridizace - metoda přímé detekce specifického úseku genomu pomocí fluorescenčně značené sondy

G

Gameta

Pohlavní buňka s haploidní sadou chromosomů; splynutím samčí a samičí gamety vzniká zygota

Gen

Specificky umístěná jednotka dědičné informace, kódující sekvenci pro tvorbu proteinového produktu

Genofond

Soubor všech genů v populaci určitého druhu

Genom

Soubor veškeré dědičné informace buňky nebo jedince

Genomika

Oblast genetiky, zabývající se genomem určitého organismu; úkolem bývá sekvenovat genom organismu a využívat tyto informace v dalších oblastech genomiky (proteomika, farmakogenomika, nutrigenomika...)

Genotyp

Genetická výbava jedince; podmiňuje fenotyp

Gonosomy

Pohlavní chromosomy; nejsou homologní; jejich kombinace v buňce podmiňuje pohlaví jedince

Guanin

2-amino-6-oxopurin; purinová báze, přítomná v DNA i RNA

H

HA

Heteroduplex analysis - heteroduplexová analýza; metoda přímé DNA diagnostiky, založená na tvorbě heteroduplexů mutovaného a nemutovaného vlákna

Haplotyp

Skupina alel na jednom chromosomu, které jsou děděny spolu (nedochází mezi nimi k rekombinaci)

Hemizygot

Jedinec pouze s jednou alelou sledovaného genu; typické pro muže vzhledem ke genům umístěným na X chromosomu

Heterochromatin

Kondenzovaný chromatin (neprobíhá zde transkripce), jeví se tmavě v optickém mikroskopu

Heterozygot

Jedinec, jehož alely sledovaného genu jsou navzájem různé

Histony

Bazické proteiny, spoluvytvářející stavbu chromatinu a celých eukaryotických chromosomů

HLP

Histon like proteins - histonům podobné proteiny - prokaryotické proteiny, které zastávají u prokaryot podobnou funkci jako histony u eukaryot

Homeoboxové geny

Geny s vysoce konzervovanou doménou (homeodoménou), která se relativně nezměněná vyskytuje u většiny organismů; HOX geny jsou významné morfogeny, určující ontogenetický vývoj jedince

Homozygot

Jedinec, jehož alely sledovaného genu jsou stejné

HUGO

Human Genome Organisation - organizace pro mapování lidského genomu - <http://www.hugo-international.org/>

Hybridizace

Proces spojování dvou komplementárních vláken DNA podle pravidel o párování bází; takto může například hybridizovat specifická sonda s vyšetřovaným vláknem DNA

Ch

Chiasmata

Překřížení, viditelná během meiotické profáze v místech, kde došlo ke crossing-overu

Chloroplast

Semiautonomní organela rostlin, schopná fotosyntézy; obsahuje vlastní genetickou informaci

Chromosom

Pentlicovitý útvar tvořený DNA a bílkovinami, nejlépe viditelný v kondenzovaném stavu během mitózy nebo meiózy eukaryotických buněk

I

Inbreeding

Křížení příbuzných jedinců

Imprinting

Specifické označování určitých sekvencí DNA pomocí methylace bází; díky tomuto fenoménu lze odlišovat, zda je takto označený chromosom mateřského nebo otcovského původu

Inosin

Nukleotid, obsahující deaminovaný adenin - hypoxanthin (6-oxypurin); vyskytuje se v menším množství v tRNA

Intron

Oblast genu přepisovaná do RNA, která neobsahuje sekvence skutečně kódující proteiny; je vyštěpena během posttranskripčních úprav u eukaryot

ISH

In situ hybridization - in situ hybridizace; metoda detekce specifické sekvence pomocí značené sondy in situ (třeba na podložním sklíčku)

IVF

In vitro fertilization - oplodnění ve zkumavce

K

Kancerogen

Látka schopná vyvolat nádorové bujení

Karyotyp

Chromosomální výbava buňky nebo jedince

Kinetochora

Úsek na centromere, do kterého se upínají mikrotubuly dělicího vřeténka během mitózy či meiózy

Kolchicin

Původem rostlinný alkaloid, používaný v cytogenetice jako "vřeténkový jed", schopný zadržet buňku v metafázi mitotického dělení (za účelem snadnějšího pozorování chromosomů)

L

Leptotene

1. fáze profáze I. meiotického dělení

Lokus

Místo (pozice) určitého genu na chromosomu

M

Malformace

Porucha prenatálního vývoje jedince, postihující zpravidla pouze jeden orgán; bývá podmíněna geneticky

Meióza

Redukční dělení (ve skutečnosti pouze I. meiotické dělení je redukční; II. meiotické dělení je stejně jako mitóza dělení ekvační); díky němu vznikají haploidní buňky (gamety)

Metafáze

Fáze buněčného dělení, během které se chromosomy staví do středové (ekvatoriální) roviny

Mitochondrie

Semiautonorní organela eukaryotických buněk; obsahuje vlastní genetickou informaci a slouží jako energetické centrum buňky

Mitóza

Ekvační dělení; vznikají jím buňky se shodnou chromosomální výbavou (diploidní)

mRNA

Messenger RNA - mediátorová RNA; slouží jako matrice pro proteosyntézu

mtDNA

Mitochondriální DNA - genetická informace, uchovávaná v kruhové molekule DNA mitochondrií

Mus musculus

Myš domácí - modelový organismus využívaný v genetickém výzkumu

Mutace

Změna v sekvenci DNA; pokud neznemožňuje rozmnožování jedince, pak je dědičná

Mutagen

Faktor vnějšího prostředí, schopný zapříčinit mutace v genetické informaci organismu

N

Nekróza

Neprogramovaná buněčná smrt, způsobená virovou nebo bakteriální infekcí, nebo jinými nepříznivými vnějšími vlivy; enzymy z rozpadlé buňky mohou poškozovat buňky okolní

Nondisjunkce

Proces chybného rozestupu chromosomů při mitóze nebo meióze

Nukleoid

Jaderný ekvivalent - prokaryotické "jádro" tvořené především jedinou cirkulární molekulou DNA

Nukleolus

Jadrko je součástí eukaryotického jádra, tvořená především RNA a proteiny, odpovědná za syntézu ribozomální RNA

Nukleosom

Základní struktura chromatinu, tvořená osmi histony, obtočenými DNA o délce 143 párů bází

Nukleus

Jádro; buněčná organela obsahující naprostou většinu buněčné genetické informace

O

Odběr choriových klků

Invazivní metoda sloužící k získání buněk s genetickou informací plodu z choriových klků. Je zatížena vyšším rizikem než amniocentéza, ale buňky se rychleji kultivují.

Onkogeny

Geny, jejichž mutace způsobí neřízené dělení buňky a stává se tak základem pro nádorové bujení; jediná funkční kopie onkogenu nestačí udržet buněčnou regulaci v normálu

Oocyt

Vajíčko; ženská gameta

Operon

Prokaryotická transkripční jednotka, kódující více proteinů najednou

P

P generace

Parentální generace - rodičovská generace

Pachytene

3. fáze profáze I. meiotického dělení

PCR

Polymerase chain reaction - polymerázová řetězová reakce; cyklická reakce, která umožňuje mnohonásobné namnožení požadovaného úseku DNA

PKU

Fenylketonurie - dědičná metabolická choroba způsobená deficiencí enzymu fenylalaninhydroxylasy

Polymorfismus

Pokud se v daném lokusu mohou v populaci vyskytovat minimálně dvě různé alely, z nichž vzácnější alela se objevuje alespoň v 1% případů, potom je tento gen polymorfní

pre-mRNA

Primární eukaryotická mRNA, která ještě neprošla postranskripčními úpravami

Profáze

První fáze buněčného dělení (u meiotického dělení se ještě rozděluje na další fáze), při které se chromosomy kondenzují a spiralizují

Prometafáze

Přechod buněčného dělení z profáze do metafáze, charakterizovaný rozpadem jaderného obalu

Promotor

Signální sekvence v DNA, která je důležitá pro nasednutí příslušné RNA-polymerasy a tím pádem pro rozeznání začátku transkripce

Proband

Jedinec, na jehož žádost je sestavováno genealogické schéma

Pseudouridin

Minoritní báze, přítomná v ψ klíče tRNA

R

Rattus norvegicus

Potkan - modelový organismus sloužící v genetickém výzkumu

Renaturace

Opětovná asociace denaturovaných vláken dvoušroubovice DNA (opětovná tvorba vodíkových můstků mezi vzájemně komplementárními úseky)

Retrovirus

Skupina RNA virů, schopné pomocí reverzní transkriptázy přepsat svou genetickou informaci do DNA, kterou následně mohou inzertovat do genomu hostitelské buňky

RFLP

Restriction fragment length polymorphism - polymorfismus délky restrikčních fragmentů; existence různě dlouhých fragmentů po štěpení DNA restrikční endonukleasou u různých osob; využitelné v nepřímé DNA diagnostice

Ribozom

Nemembránová organela, složená z větší a menší podjednotky, na které probíhá podle matrice mRNA proteosyntéza

RNA

Kyselina ribonukleová; nositelka dědičné informace u některých virů; u vyšších živočichů se podílí na realizaci genetické informace; bylo prokázáno, že má autokatalytickou funkci

rRNA

Ribozomální RNA; tvoří spolu s proteiny vlastní hmotu ribozomu

S

SCID

Severe combined immunodeficiency - těžká kombinovaná imunodeficiency; deficit T- i B-lymfocytů

Sex chromatin

viz Barrovo tělísko

Složený heterozygot

Tímto termínem označujeme jedince, který nemá ani jednu zdravou (nemutovanou) alelu, jeho 2 mutované alely však nejsou shodné

SNP

Single nucleotide polymorphism - polymorfismus jediného nukleotidu; jde o nejčastější formu polymorfismu v lidském genomu, vyskytující se asi jedenkrát na 1000 bází

snRNA

Small nuclear RNA - malé jaderné RNA; účastní se sestřihu pre-mRNA

Spermie

Mužská gameta

SSCP

Single strand conformation polymorphism - polymorfismus konformace jednovláknových částí DNA; metoda přímé DNA diagnostiky

Syncytium

Soubuní - útvar vzniklý splynutím několika buněk; bývá polyploidní

Syndrom

Mnohočetné vady s charakteristickým fenotypovým projevem, stejné etiologie

T

TATA-box

Jedna z nejčastějších promotorových sekvencí, tvořená charakteristickým uspořádáním adeninů a thyminů

Telofáze

Závěrečná fáze buněčného dělení, během níž se znovu tvoří jaderný obal a despiralizují chromosomy

Telomera

Koncové sekvence chromosomů; brání fúzi chromosomů

Teratogen

Látka (obecně vnější faktor), která je schopná v příslušném období těhotenství u matky s příslušným genotypem navodit příslušnou vrozenou vadu

Thymin

2,4-dioxo-5-methylpyrimidin; pyrimidinová báze, přítomná pouze v DNA

tRNA

Transferová RNA; přináší aktivované aminokyseliny na ribozom, kde se z nich podle matrice mRNA tvoří polypeptidové vlákno

Tumor-supresorové geny

Geny, které jsou zodpovědné za stabilitu genomu a zabraňují replikaci poškozené DNA; pokud jsou obě kopie tumor-supresorového genu mutovány, buňka se může začít dělit s poškozenou genetickou informací a proměnit se v nádorovou buňku

U

Uracyl

2,4-dioxypyrimidin; pyrimidinová báze, přítomná pouze v RNA

V

Vazba

Pokud jsou geny na stejném chromosomu, potom jsou ve vazbě, jejíž síla závisí na vzdálenosti obou genů na chromosomu

VNTR

Variable number of tandem repeats - variabilní počet tandemových opakujících se sekvencí; polymorfismy těchto opakujících se sekvencí (různí lidé mají různý počet opakujících se sekvencí) jsou využitelné v DNA diagnostice nebo forenzním lékařství (určování identity)

Z

Zygota

Zygota je buňka, vznikající splynutím dvou gamet; gamety jsou haploidní buňky, zygota se tak stává opět buňkou diploidní

Zygotene

2. fáze profáze I. meiotického dělení

12. Použitá a doporučená literatura

- 1) BRUCE, Alberts – BRAY, D – JOHNSON, A, et al. Základy buněčné biologie. 2. vydání. Ústí nad Labem : Espero Publishing, 2005. 740 s.
- 2) ČIHÁK, Radomír. Anatomie 1. 2. vydání. Praha : Grada, 2001. 516 s
- 3) ČIHÁK, Radomír – GRIM, Miloš. Anatomie. 2. 2. vydání. Praha : Grada, 2009. 470 s.
- 4) KAPRAS, Jan – KOHOUTOVÁ, Milada – OTOVÁ, Berta. Kapitoly z lékařské biologie a genetiky I. 1. vydání. Praha : Karolinum, 1996. 88 s.
- 5) KAPRAS, Jan – KOHOUTOVÁ, Milada. Kapitoly z lékařské biologie a genetiky III. 1. vydání. Praha : Karolinum, 1999. 101 s.
- 6) KOČÁREK, Eduard. Genetika: obecná genetika a cytogenetika, molekulární biologie, biotechnologie, genomika. 1. vydání. Praha : Scientia, 2004. 211 s.
- 7) KOČÁREK, Eduard – PÁNEK, Martin – NOVOTNÁ, Drahúše. Klinická cytogenetika I.: úvod do klinické cytogenetiky, vyšetřovací metody v klinické cytogenetice. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2006. 120 s.
- 8) OTOVÁ, Berta, et al. Lékařská biologie a genetika I. díl. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2008. 123 s.
- 9) OTOVÁ, Berta – MIHALOVÁ, Romana – VYMLÁTIL, Jiří. Základy biologie a genetiky. 2. vydání. Praha : Karolinum, 2006. 181 s.
- 10) PRITCHARD, Dorian J. – KORF, Bruce R.. Základy lékařské genetiky. 1. vydání. Praha : Galén, 2007. 182 s.
- 11) SNUSTAD, D. Peter – SIMMONS, Michael J.. Genetika. 1. vydání. Brno : Nakladatelství Masarykovy univerzity, 2009. 894 s.
- 12) SOUKUPOVÁ, Milena – SOUKUP, František. Kapitoly z lékařské biologie a genetiky II. 1. vydání. Praha : Karolinum, 1998. 98 s.
- 13) SRŠEŇ, Štefan – SRŠŇOVÁ, Klára. Základy klinické genetiky a jej molekulárna podstata. 4. vydání. Martin : Osveta, 2005. 445 s.
- 14) THOMPSON, James Scott – THOMPSON, Margaret Wilson – NUSSBAUM, Robert L, et al. Klinická genetika: Thompson & Thompson. 6. vydání. Praha : Triton, 2004. 426 s.

13. Obsah

1. Základy genetiky.....	2
1) Genetika obecně.....	2
2) Historie genetiky	3
2. Cytogenetika.....	4
1) Eukaryotní buňka.....	4
2) Chromozomy	6
3) Buněčný cyklus.....	7
4) Mitóza	7
5) Meióza	8
6) Diferenciace buněk.....	9
7) Buněčná smrt.....	9
8) Genetika mitochondrií.....	10
3. Mikrobiologie.....	12
1) Viry.....	12
2) Prokaryota a bakterie	13
3) Onkogenní viry.....	15
4. Molekulární genetiky	22
1) Nukleové kyseliny	22
2) DNA	22
3) RNA	23
4) Transkripce	23
5) Translace	24
6) Enzymy v genetice a molekulární biologii	26
7) Mutace	29
8) Mutageny	33
5. Základy dědičnosti.....	35
1) Geny a dědičné znaky	35

2)	Alely	37
3)	Zákony dědičnosti	38
4)	Genealogie	41
5)	Typy dědičnosti v rodokmenu	44
6)	Polygenní dědičnost	50
6.	Klinická genetika	51
1)	Genetické poradenství	51
2)	Genetické testy	54
3)	Vyšetření karyotypu	58
4)	Geneticky podmíněné choroby	59
5)	Chromozomové aberace	62
6)	Vrozené vývojové vady	64
7)	Onkogenetika	66
8)	Hereditární nádorové syndromy	70
9)	Primární imunodeficiencie	76
7.	Genetika člověka	89
1)	Člověk a genetika	89
2)	Karyotyp člověka	90
3)	Krevní skupiny	92
4)	Imunogenetika a imunitní systém	95
5)	Etika a genetika	101
8.	Zrození člověka	106
1)	Určení pohlaví člověka	106
2)	Pohlavní orgány ženy	106
3)	Pohlavní orgány muže	108
4)	Gametogeneze	110
5)	Pohlavní hormony	111
6)	Ženské cykly	113
7)	Průběh oplození	114
8)	Poruchy oplození	115

9)	Průběh těhotenství	117
9.	Populace a evoluce	119
1)	Genetika populací.....	119
2)	Evoluce	120
3)	Vznik a vývoj člověka	122
10.	Genetické inženýrství	125
1)	Základní metody genetického inženýrství	125
2)	Mapování genomů.....	130
3)	Genová terapie	131
11.	Slovníček	134
12.	Použitá a doporučená literatura.....	145
13.	Obsah	146