



Jesseniova lekárska fakulta UK Martin



GENETIKA DNEŠKA



UNIVERZITA
TRETIEHO VEKU
31.1.2012



Doc. RNDr. Ľudovít Mušák, PhD.

musak@jfmed.uniba.sk

Genetika



biologická veda, skúma zákonitosti
dedičnosti a premenlivosti živých
organizmov



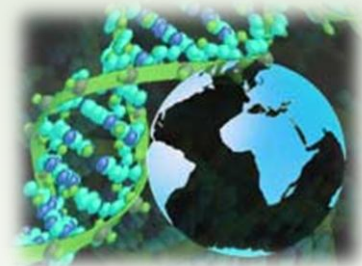
Dedičnosť

Schopnosť organizmu uchovávať súbor dedičných informácií (génov) a odovzdávať ich svojim potomkom



Premenlivosť

Tvarová a funkčná rozmanitosť živých organizmov a ich schopnosť reagovať na rôzne podmienky prostredia odlišným spôsobom



Podstata dedičnosti a premenlivosti je v schopnosti **rozmnožovať sa**

Rozmnožovanie - vznik potomkov s rovnakými druhovými vlastnosťami ako rodičia



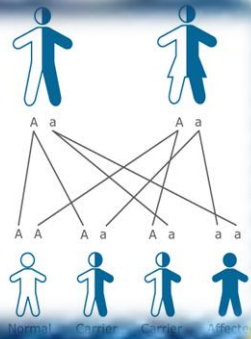
William Bateson



Thomas Morgan

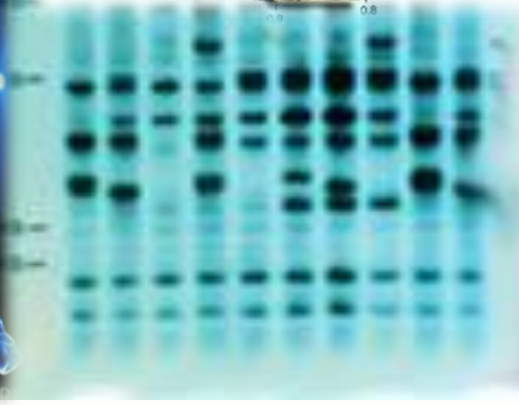
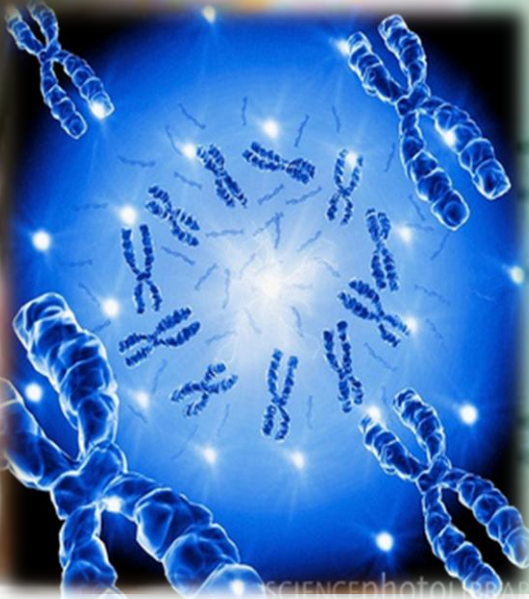
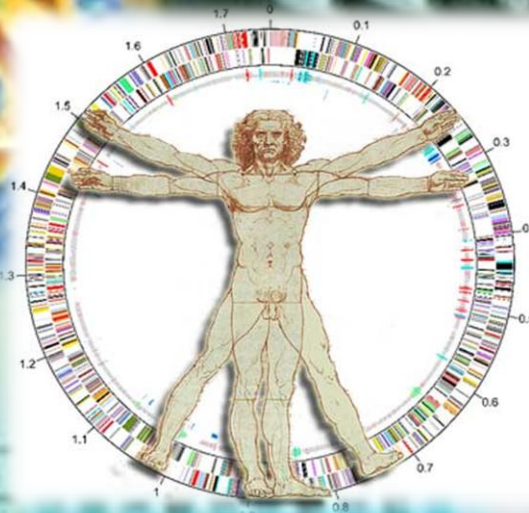
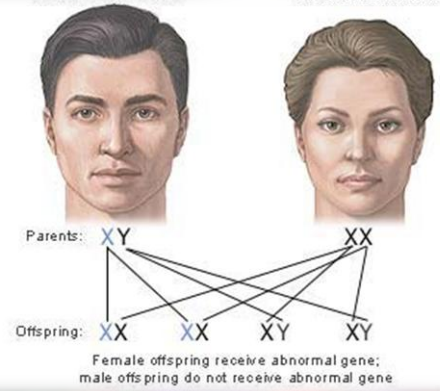


Gregor J. Mendel

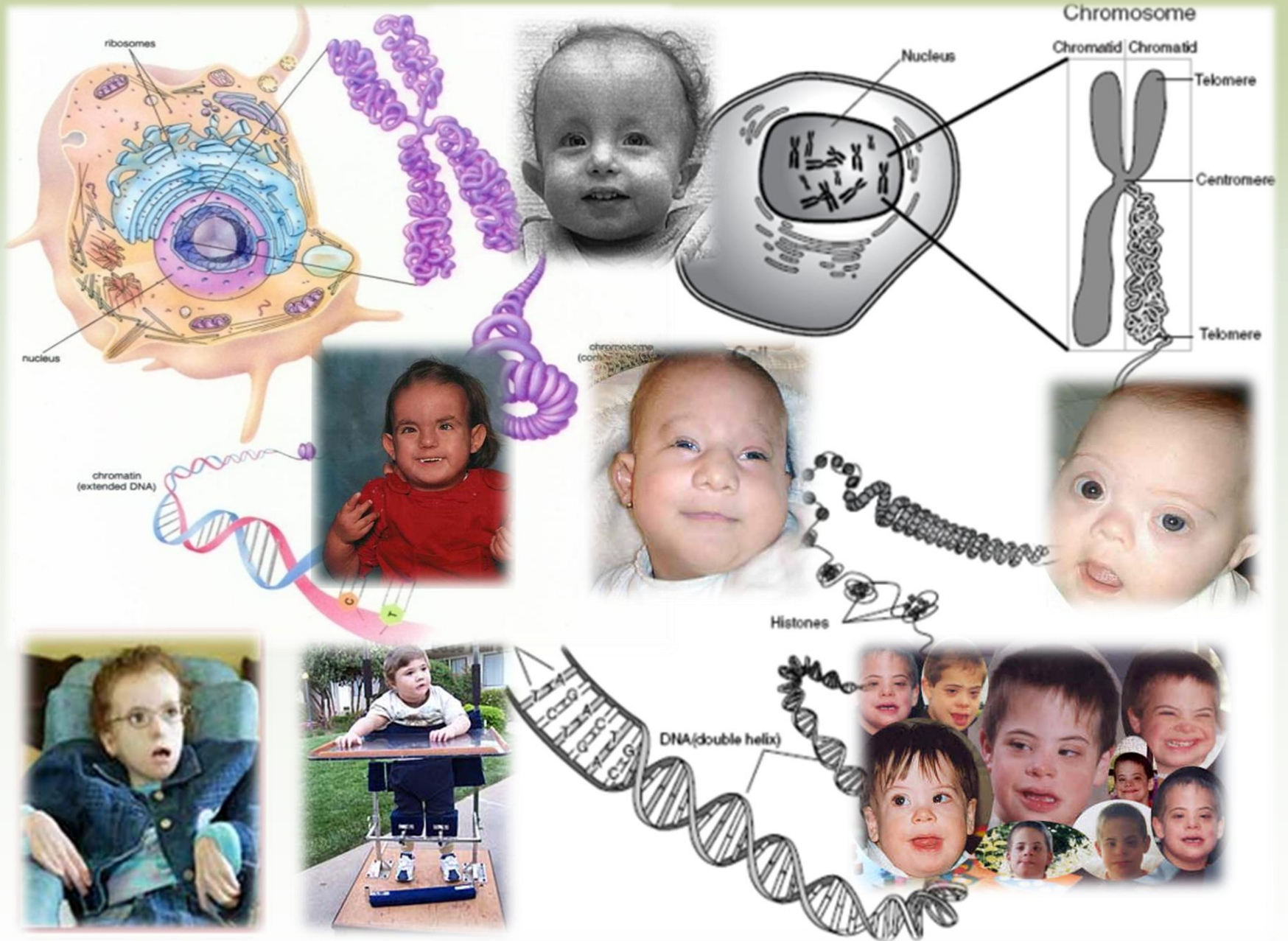


Father with abnormal gene
on X sex chromosome

Mother with normal
X sex chromosomes

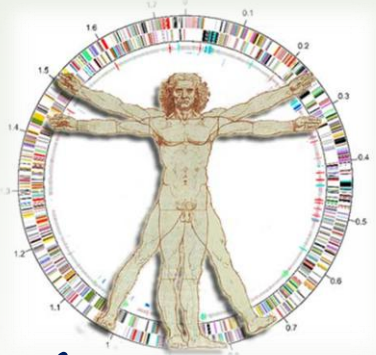
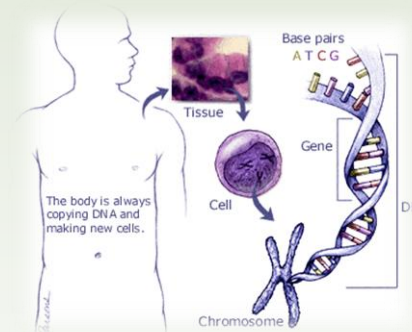
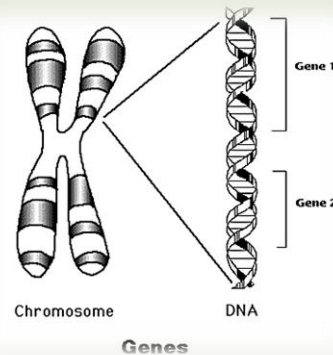
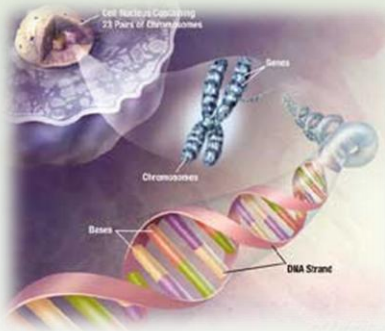
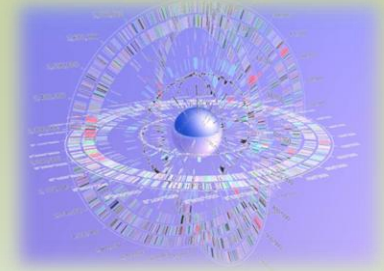


SCIENCEPHOTO.COM



Gén

- hmotná a dedične prenosná jednotka, ktorá určuje určitý znak
- úsek polynukleotidového reťazca (väčšinou DNA), ktorý nesie úplnú genetickú informáciu pre jeden znak

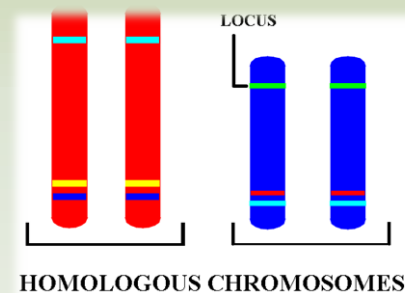
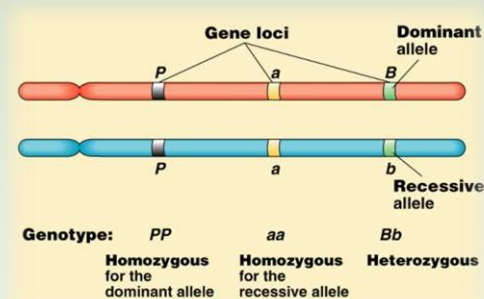
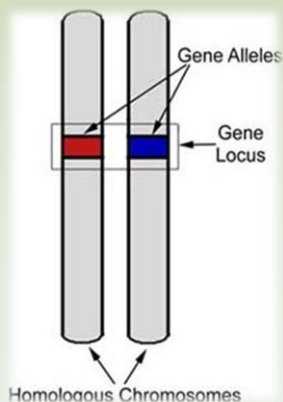


Genotyp

súbor všetkých génov živého organizmu, ktoré sa v ňom vyskytujú v konkrétnych formách (alelách)

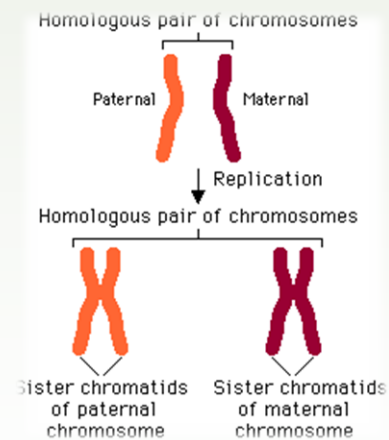
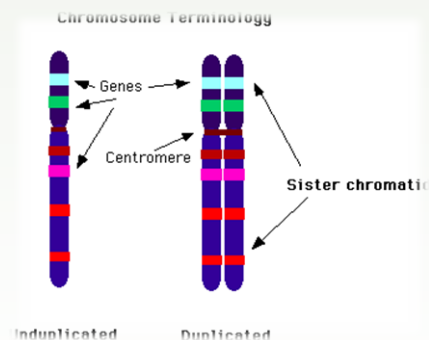
Lokus

miesto na chromozóme, kde je lokalizovaný určitý gén



Alela

konkrétna forma prejavu toho istého génu

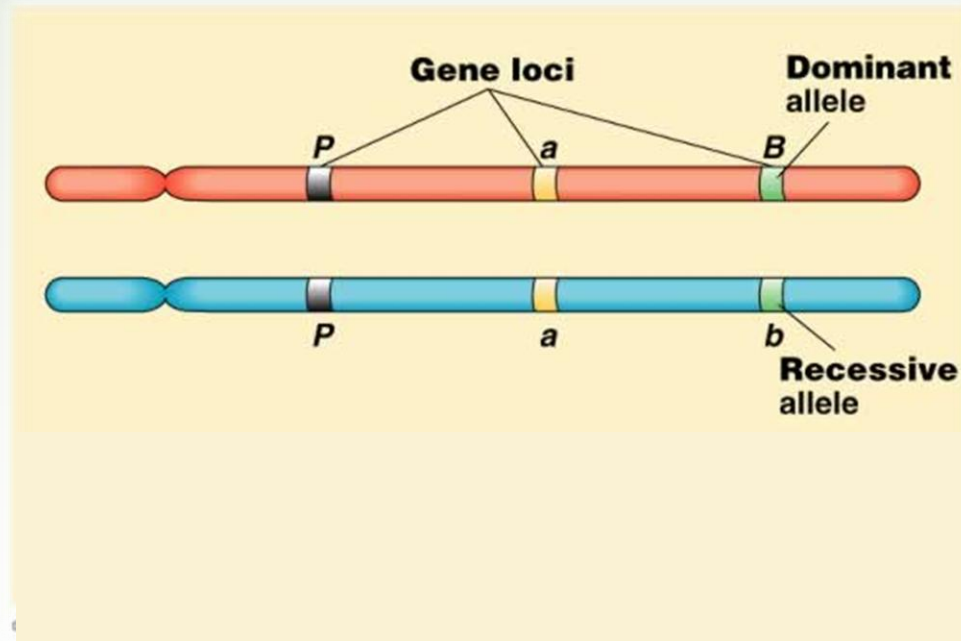


Dominantná alela

jej účinok prevláda nad účinkom druhej alely toho istého génu

Recesívna alela

jej účinok (prejav) je potláčaný účinkom druhej alely toho istého génu



Homozygot

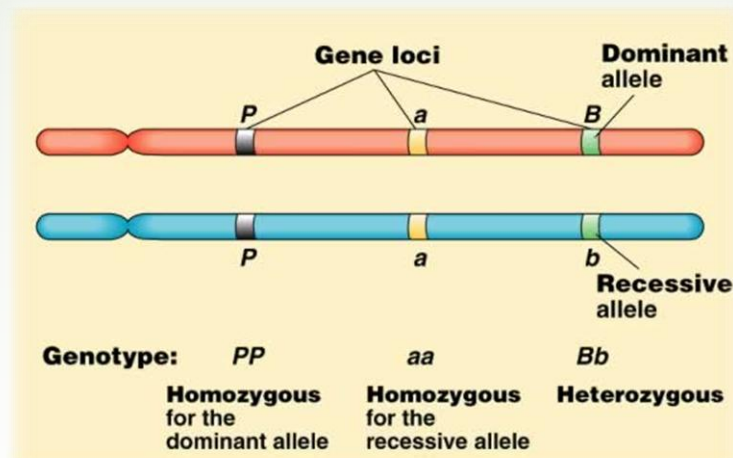
diploidný jedinec, ktorý má v homologických chromozómoch pre daný znak na rovnakom lokuse rovnocenné alely

a/ dominantný homozygot - dve dominantné alely (AA)

b/ recesívny homozygot - dve recesívne alely (aa)

Heterozygot

diploidný jedinec, ktorý má v homologických chromozómoch pre daný znak na rovnakom lokuse rôzne (dve odlišné) alely (Aa)



Znak

každá definovaná vlastnosť organizmu, vzniká expresiou génu

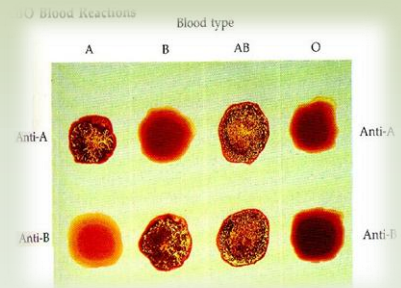
Kvalitatívny

podmienенý **génom veľkého účinku**

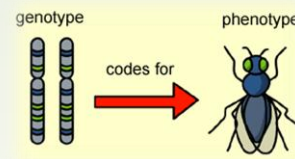
nie je ovplyvnený prostredím (krvné skupiny)

Kvantitatívny

podmienенý viacerými **génmi malého účinku**

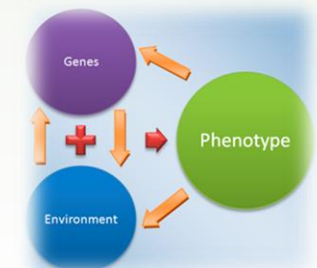


Eye Colors
Strum and Frudakis (2004) Trends in Genetics 20:327



Fenotyp

súbor všetkých znakov živého organizmu, prejavujú sa v konkrétnych kvalitatívnych formách alebo kvantitatívnych stupňoch



Molekulové základy dedičnosti

Nukleové kyseliny (DNA, RNA)

makromolekuly, tvorené z
nukleotidov (monomérov),
navzájom spojené
kovalentnými väzbami
do **polynukleotidového reťazca**,
majú nezastupiteľnú úlohu
v **kódovaní genetickej**
informácie a jej expresii (realizácii)

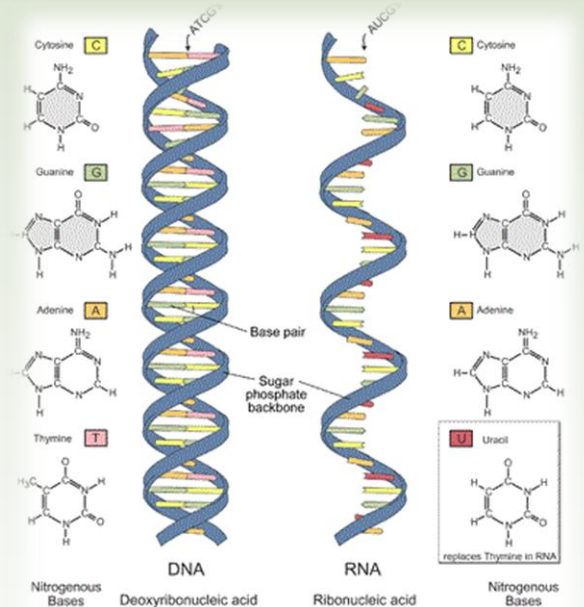


Image adapted from: National Human Genome Research Institute.

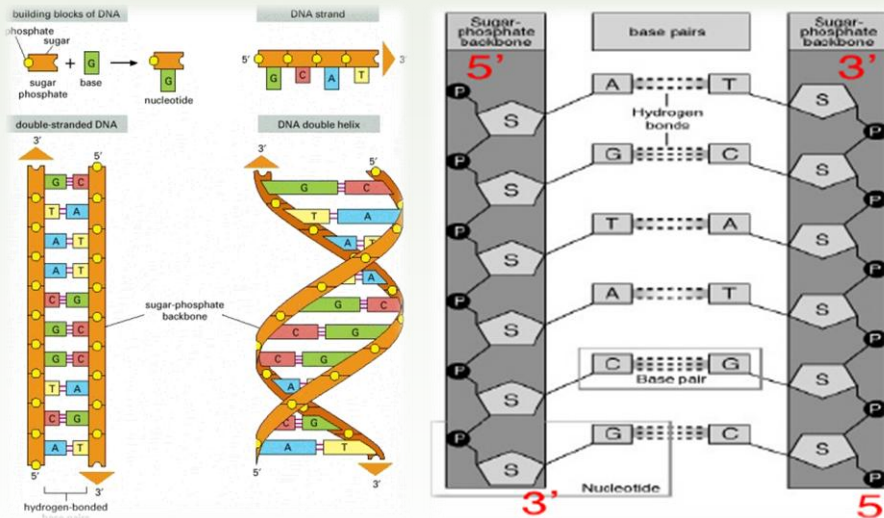
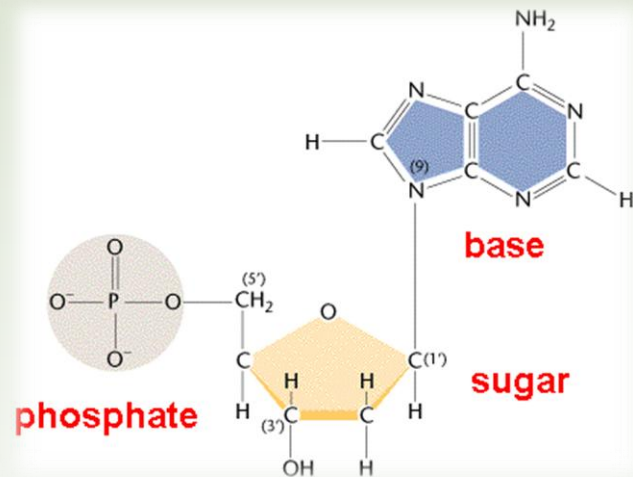
Primárna štruktúra NK

Nukleotid - základný stavebný prvok NK

cukor

organická dusíkatá báza

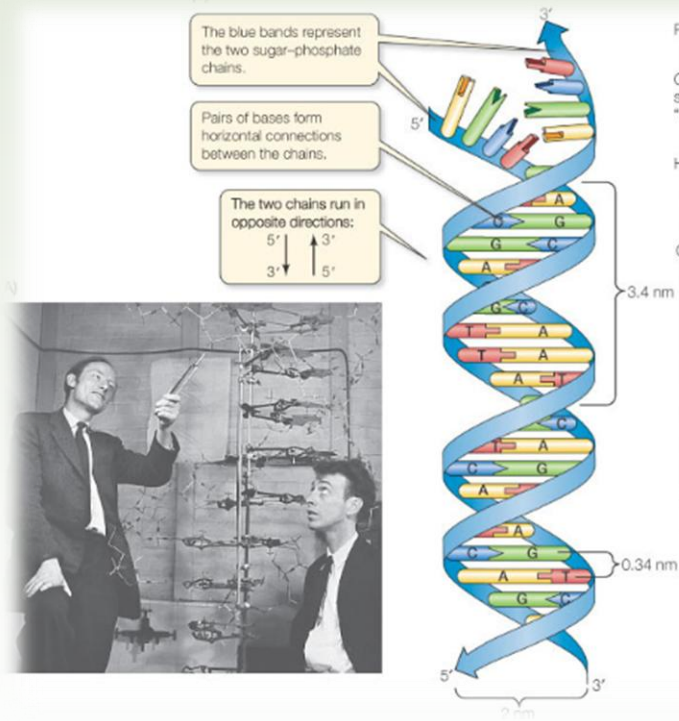
kyselina fosforečná



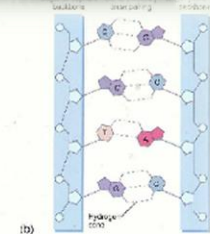
Sekundárna štruktúra DNA

1953 - Watson a Crick

dva polynukleotidové reťazce
vytvárajú dvojitú špirálu - duplex



Rosalind Franklinová

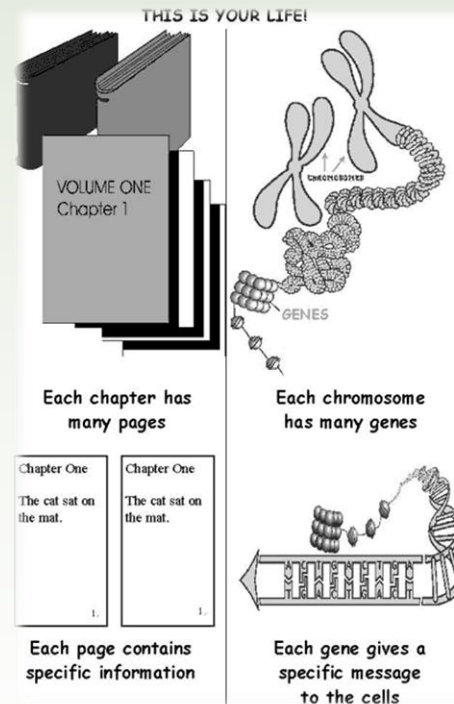


Genetická informácia

Informácia o utváraní biochemických znakov, ktorá je zapísaná v primárnej štruktúre nukleovej kyseliny podľa univerzálneho kódu

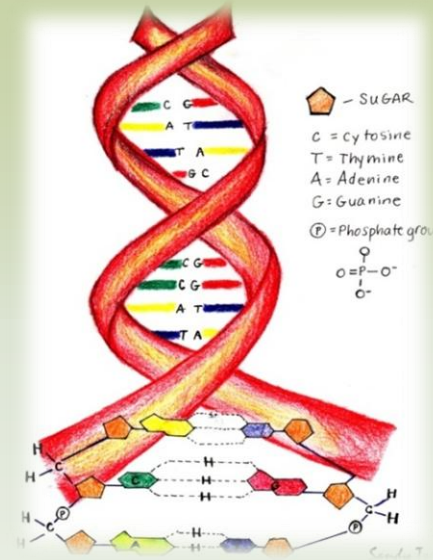
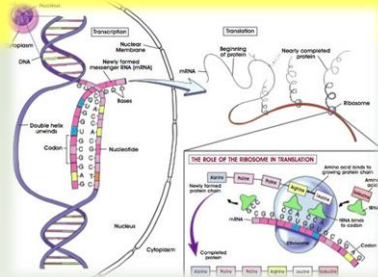
špecifická primárna štruktúra molekúl DNA nezmenená počas celého života bunky

v priebehu bunkového cyklu sa DNA replikuje, tzn. z každej molekuly vznikajú dve totožné s pôvodnou



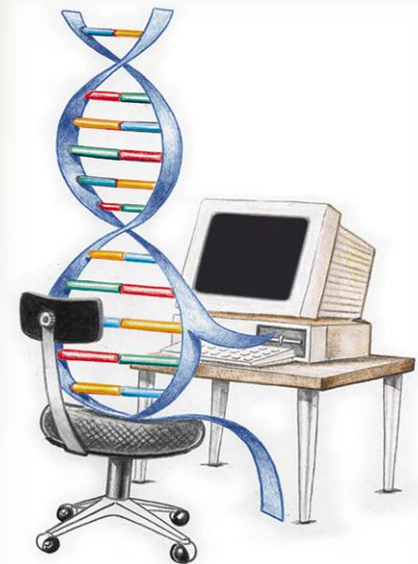
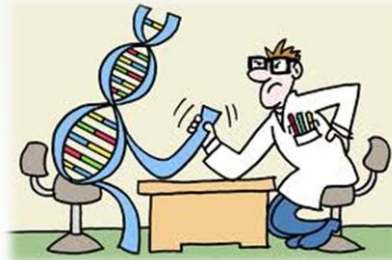
Genetická informácia

- lineárne poradie nukleotidov
- môže byť prečítaná a realizovaná do konkrétnych vlastností bunky



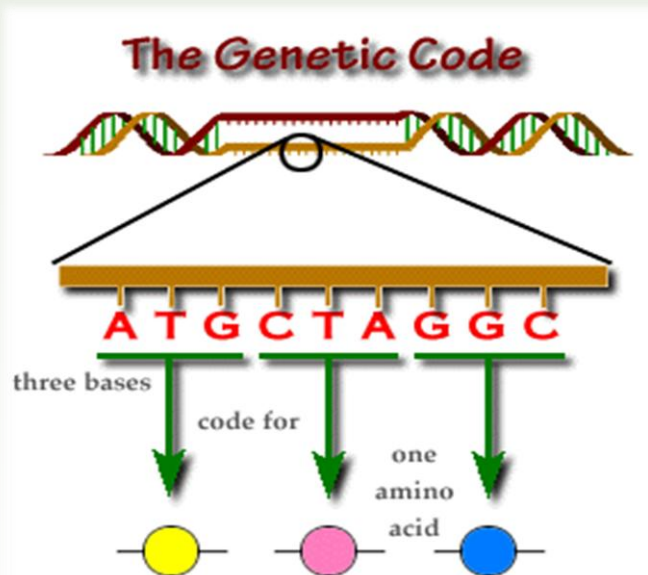
Fenotypové vyjadrenie

- najčastejšie prostredníctvom génových produktov - proteínov
- produkty nevznikajú priamo na DNA, ale prostredníctvom RNA kópie



Genetický kód

- genetická informácia zaznamenaná v DNA pomocou kódu, v ktorom tri susedné bázy (triplet) tvoria kodón a kódujú konkrétnu AK
- genetický kód tripletový - každá trojica báz kóduje jednu AK, pre tri bázy možných 64 kombinácií

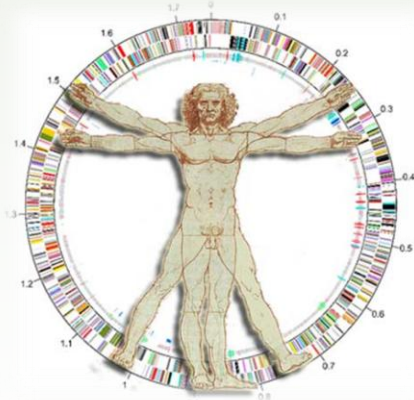
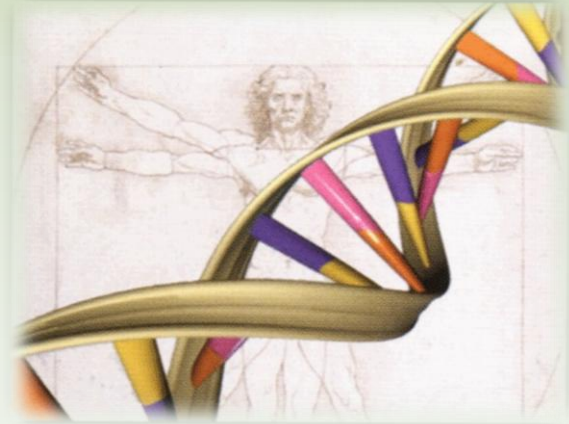


Veľkosť ľudského genómu

- prečítanie celého genómu by pri čítaní 3 báz/s
@ 8h/d - 7d/t trvalo 47,6 rokov

haploidný počet chromozómov

- 3 miliardy bázových párov
- 500 miliónov možných kodónov
- 23.000 génov kóduje proteíny
- 99.9% bp je rovnakých u každého človeka
- 15 miliónov bp je rozdielných medzi človekom a šimpanzom



Čo vlastne robí
človeka človekom?

Replikácia DNA

DNA univerzálny nosič genetickej pamäte

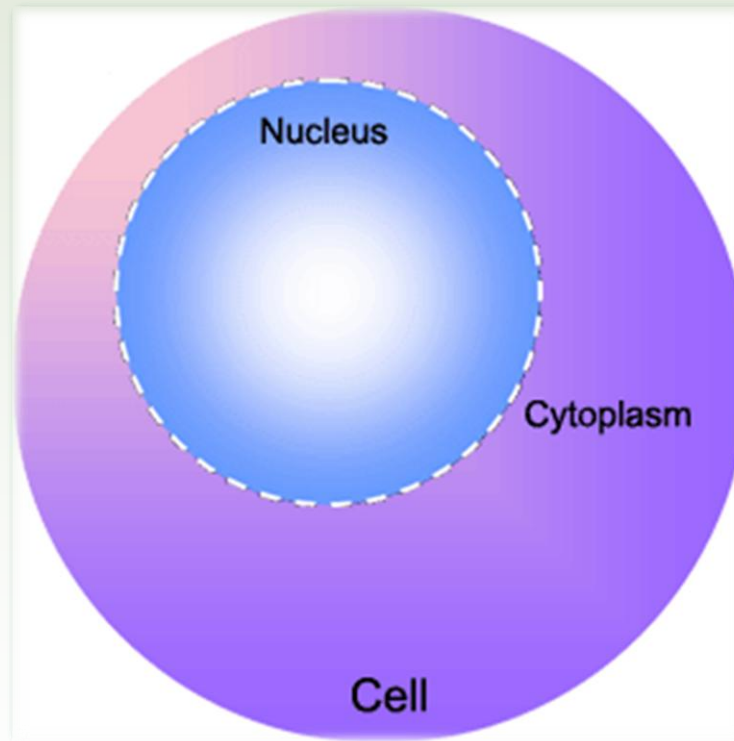
- obidva reťazce k sebe komplementárne
- po ich oddelení sa každý z nich môže doplniť komplementárnymi voľnými nukleotidmi
- vznik dvoch presných kópií pôvodnej dvojšpirály
- identická funkcia nukleotidových párov, rovnaká genetická informácia



Centrálna dogma molekulovej biológie

- jednosmerný tok genetickej informácie cez tri typy makromolekúl: DNA-RNA-proteíny

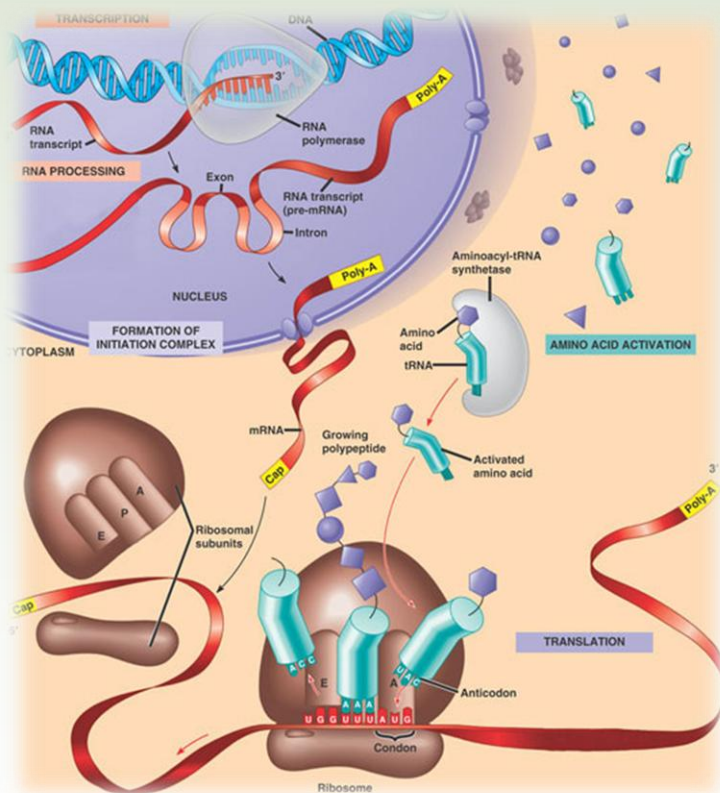
DNA → mRNA → proteín



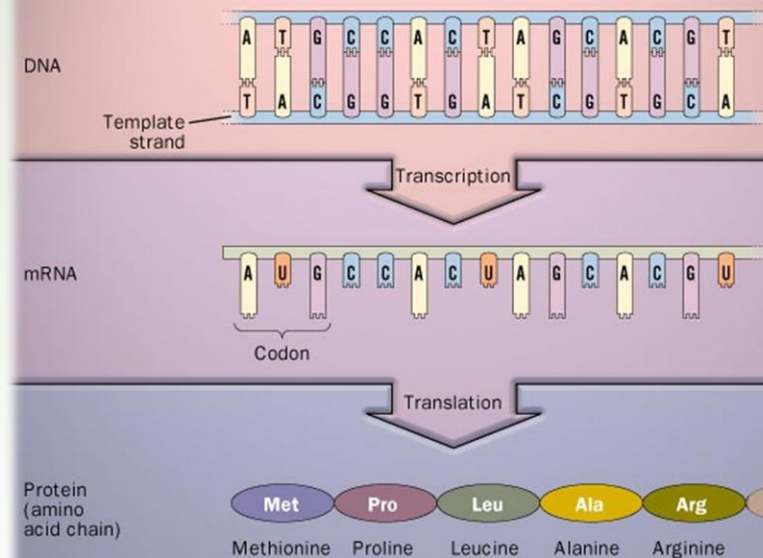
Expresia genetickej informácie

- sled procesov, počas realizácie genetickej informácie zapísanej v sekvencii nukleotidov
- tvorená dvomi procesmi: **transkripcia**

translácia



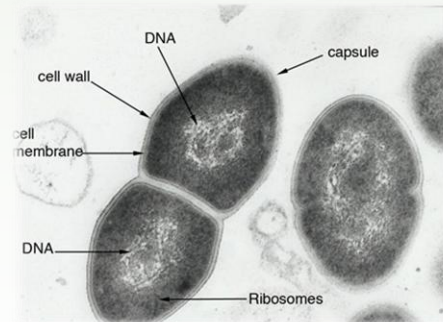
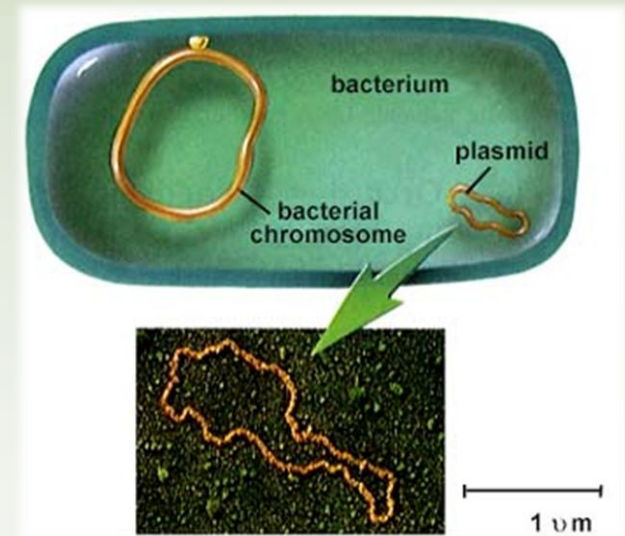
Gene expression



Bunkové základy dedičnosti

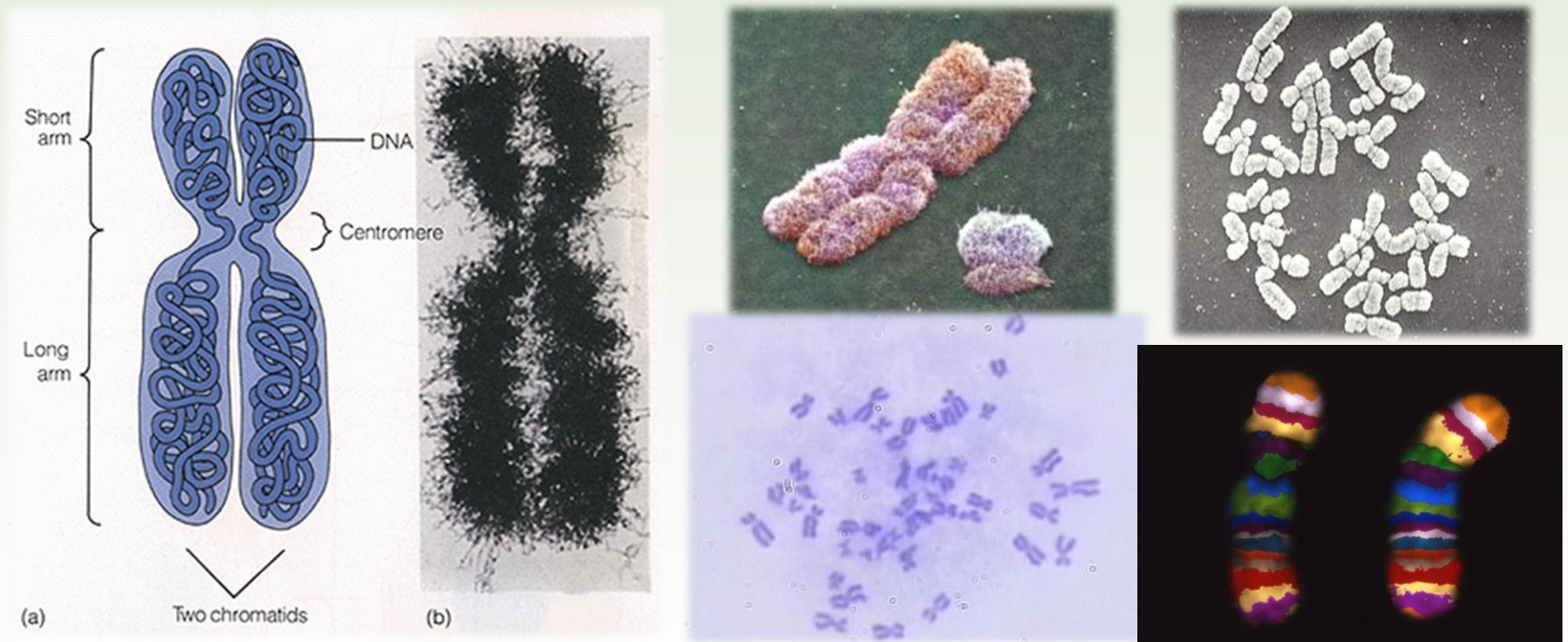
Prokaryotický chromozóm

- Jedna kruhová molekula DNA (m.h. $2,5 \times 10^9$, dĺžka 1mm)
- Stálou súčasťou sú proteíny
- Nie je od cytoplazmy oddelený membránou
- Je vždy pripojený na plazmatickú membránu



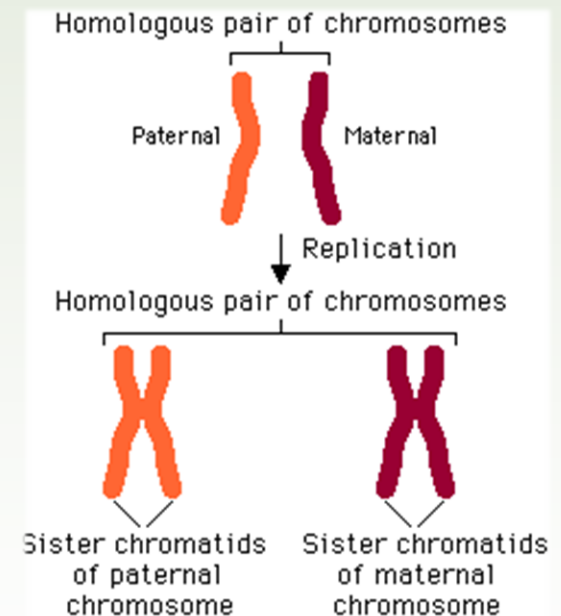
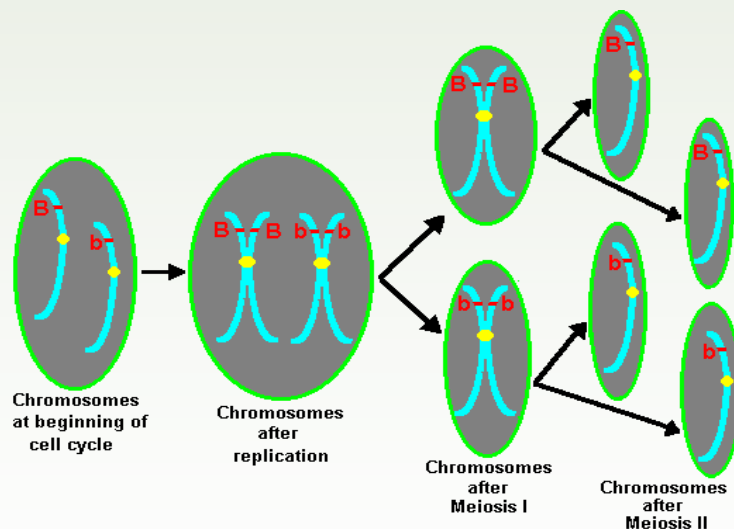
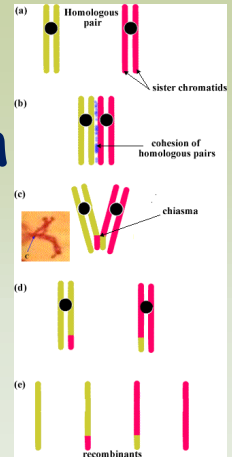
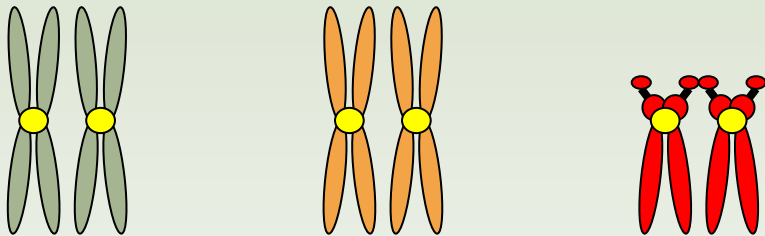
Eukaryotické chromozómy

- prítomné v jadre - obsahujú DNA a bielkoviny
- morfológicky odlišné v interfáze a počas bunkového delenia
- komplex DNA a bielkoviny - chromatín
- bielkoviny chromatínu - bázičský a kyslý charakter



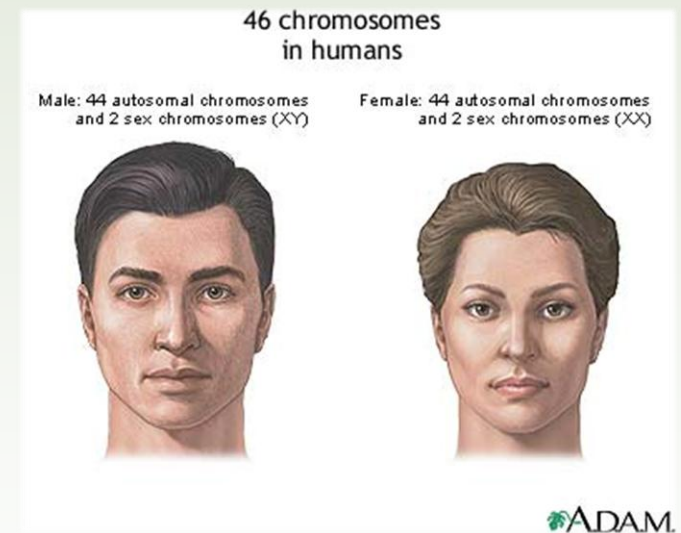
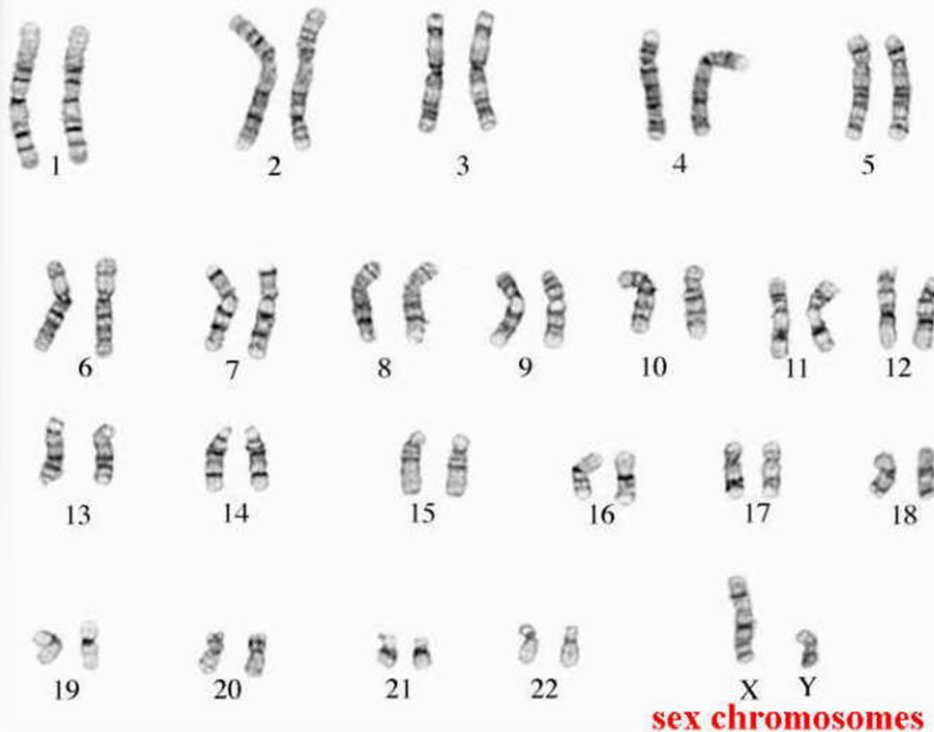
Chromozómový pár

- v diploidnej bunke výskyt chromozómov v pároch
- homologický pár - zhodný v tvare a štruktúre chromozómov



Karyotyp

- súbor chromozómov bunky jedinca, označenie počtu, druhu pohlavných chromozómov a prípadných aberácií
- počet a morfológia chromozómov - stabilné
- génová mapa sady chromozómov - druhovo špecifická



Počet chromozómov

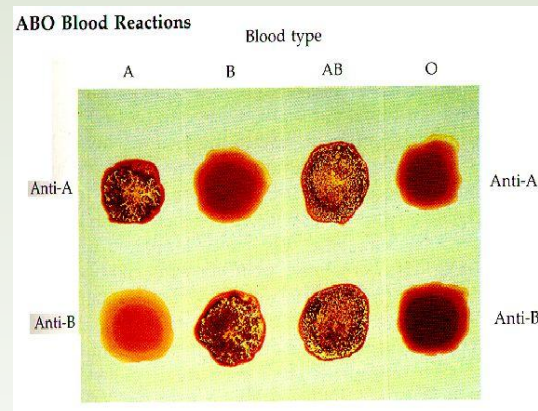
pre každý biologický druh je charakteristický

Živočíšny druh	Diploidný počet chromoz.
Mačka domáca	72
Pes domáci	78
Myš domová	40
Potkan obyčajný	42
Krava domáca	60
Ovca domáca	38
Kôň	66
Šimpanz	48
Človek	46

Dedičnosť krvných skupín



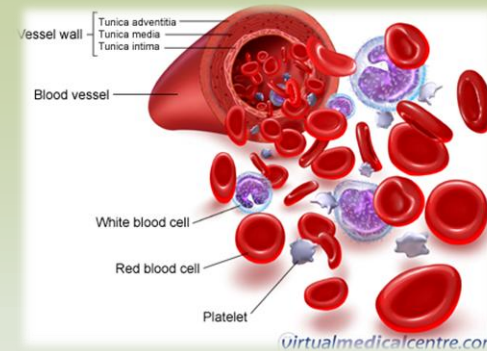
skupinový systém objavil r. 1901 Karl Landsteiner (1868-1943), 1930 Nobelova cena za fyziológiu a medicínu



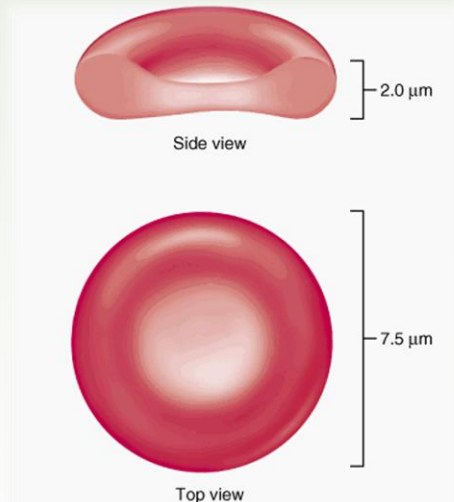
Jan Jánský (1873-1921) prvý popísal štyri základné krvné skupiny O, A, B a AB



Erythrocyty a ich antigény



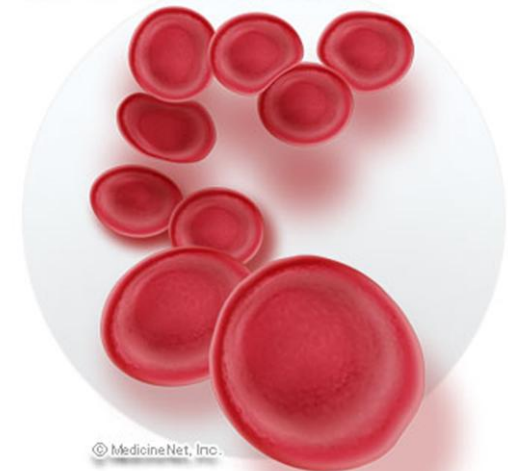
zrelé erythrocyty majú typický bikonkávny tvar, ktorý udržiava fixná väzba medzi transmembránovými a cytoskeletovými proteínmi



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.



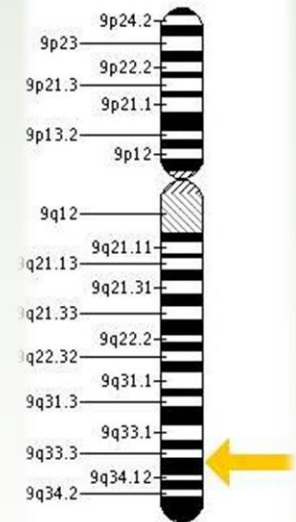
Red Blood Cells



ABO systém

- určujú ho sú 3 základné alely A, B, O
- gény pre ABO sú na q ramene 9 chromozómu (9q34)
- alely A a B sú dominantné nad alelou O
- medzi alelami A a B vzťah kodominancie
- alely A, B, O sa homozygotne a heterozygotne kombinujú a dávajú vznik 4 základným fenotypom A, B, O a AB

Fenotyp	Genotyp
O	OO
A	AA, AO
B	BB, BO
AB	AB



ABO systém

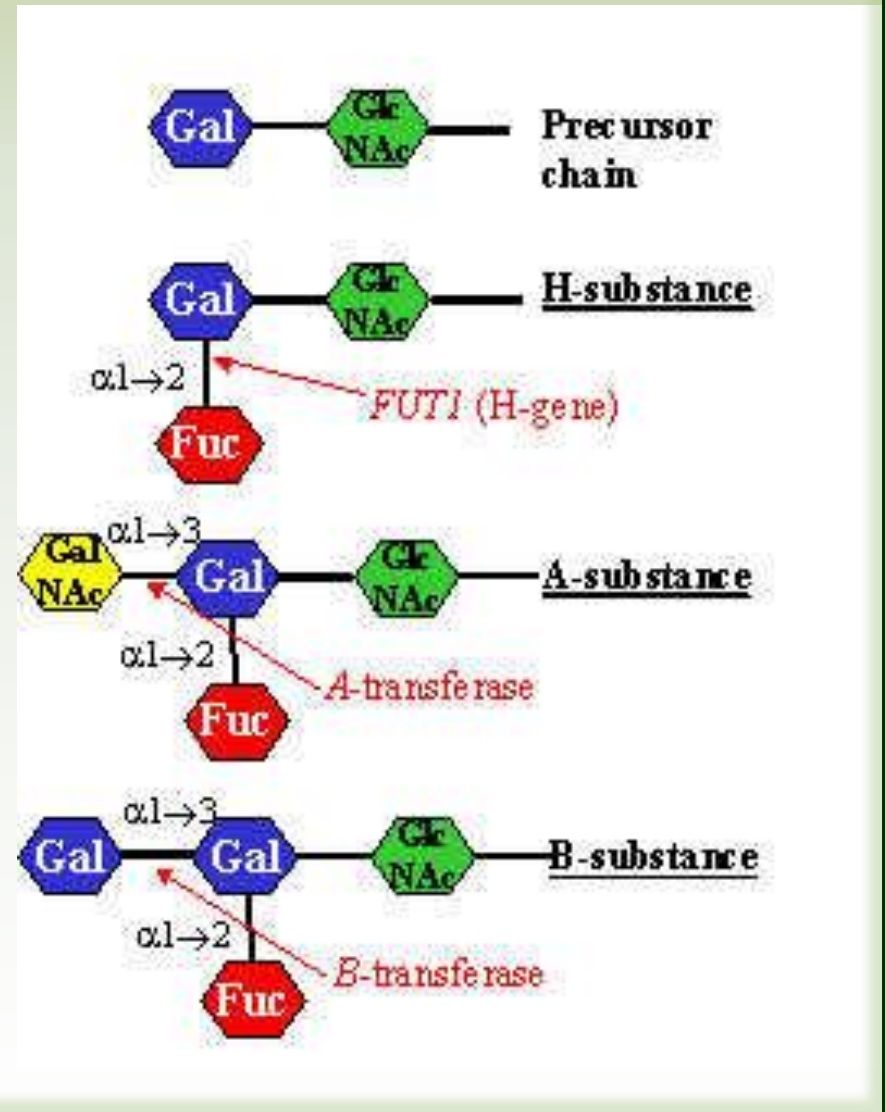
Krvnú skupinu určuje koncový determinant, pripojený k prekurzoru:

O - žiadny

A - N-acetylgalaktozamín

B - D-galaktóza

Koncové determinanty
krvných skupín pripájajú
príslušné enzýmy
transferázy



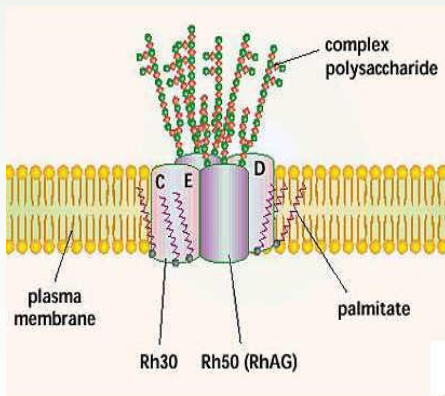
Krvný skupinový systém Rh

- Rh antigén kódujú dva gény: *RHD* a *RHCE*
- polymorfizmus

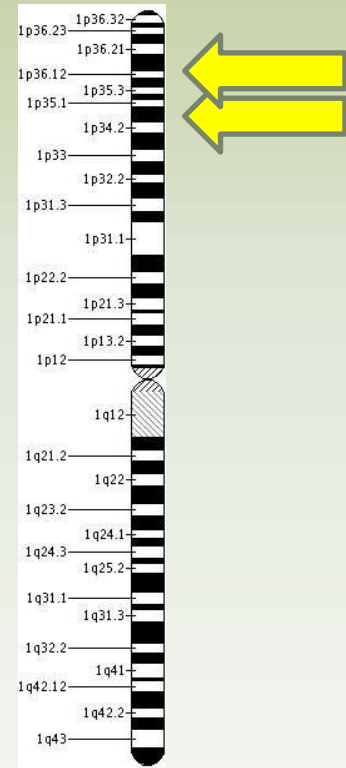
D/d - najčastejšie delécia celého génu

C/c - 4 polymorfizmy nukleotidov a zámény AK
špecifita antigénov C/c záměna AK (S103P)

E/e - jeden SNP (676G→C) záměna AK (A226P)



- Sériá génov pre Rh antigény je na **chromozóme 1** 1p34.3-p36.13

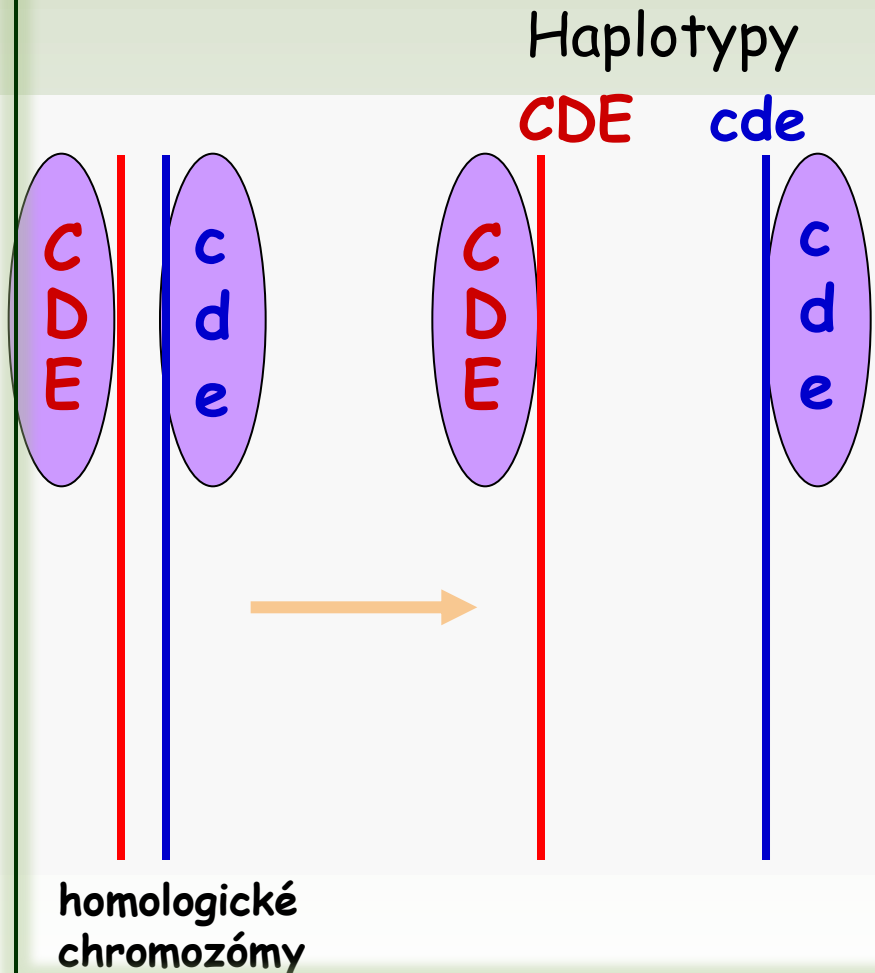


C/c záměna **serín** → **prolín**

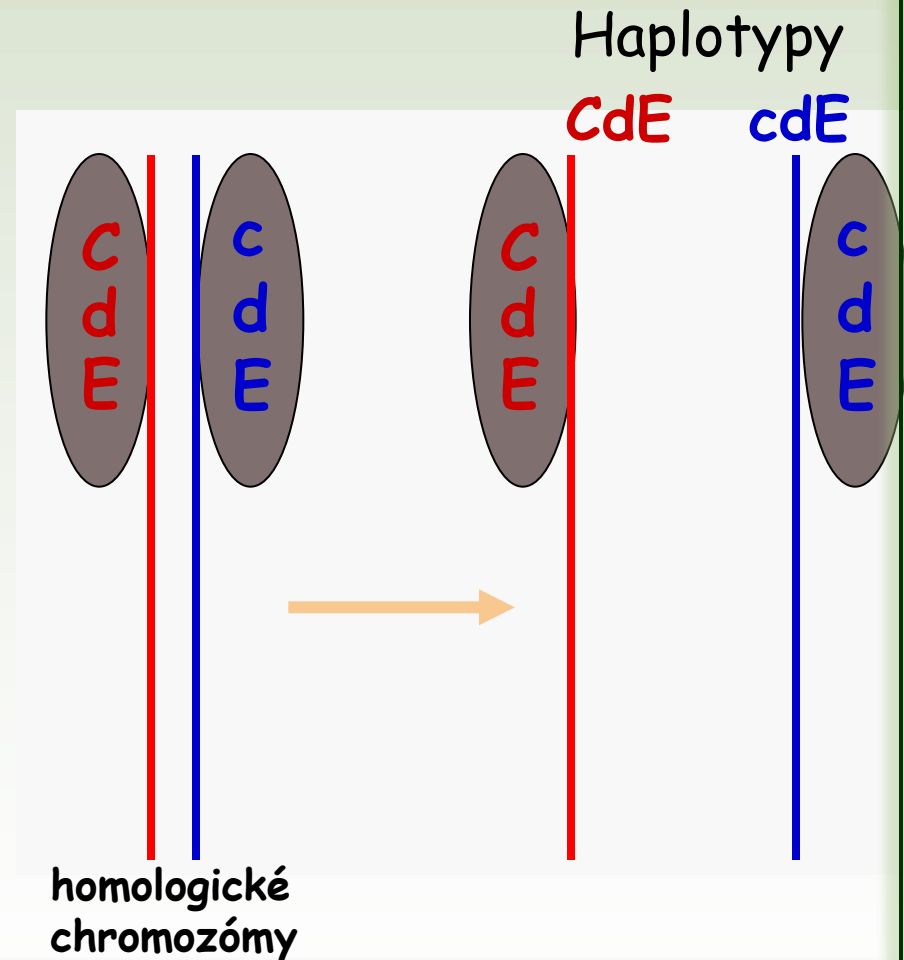
E/e záměna **alanín** → **prolín**

Krvný skupinový systém Rh

Genotyp: **CDEcde**
Fenotyp: **Rh⁺**

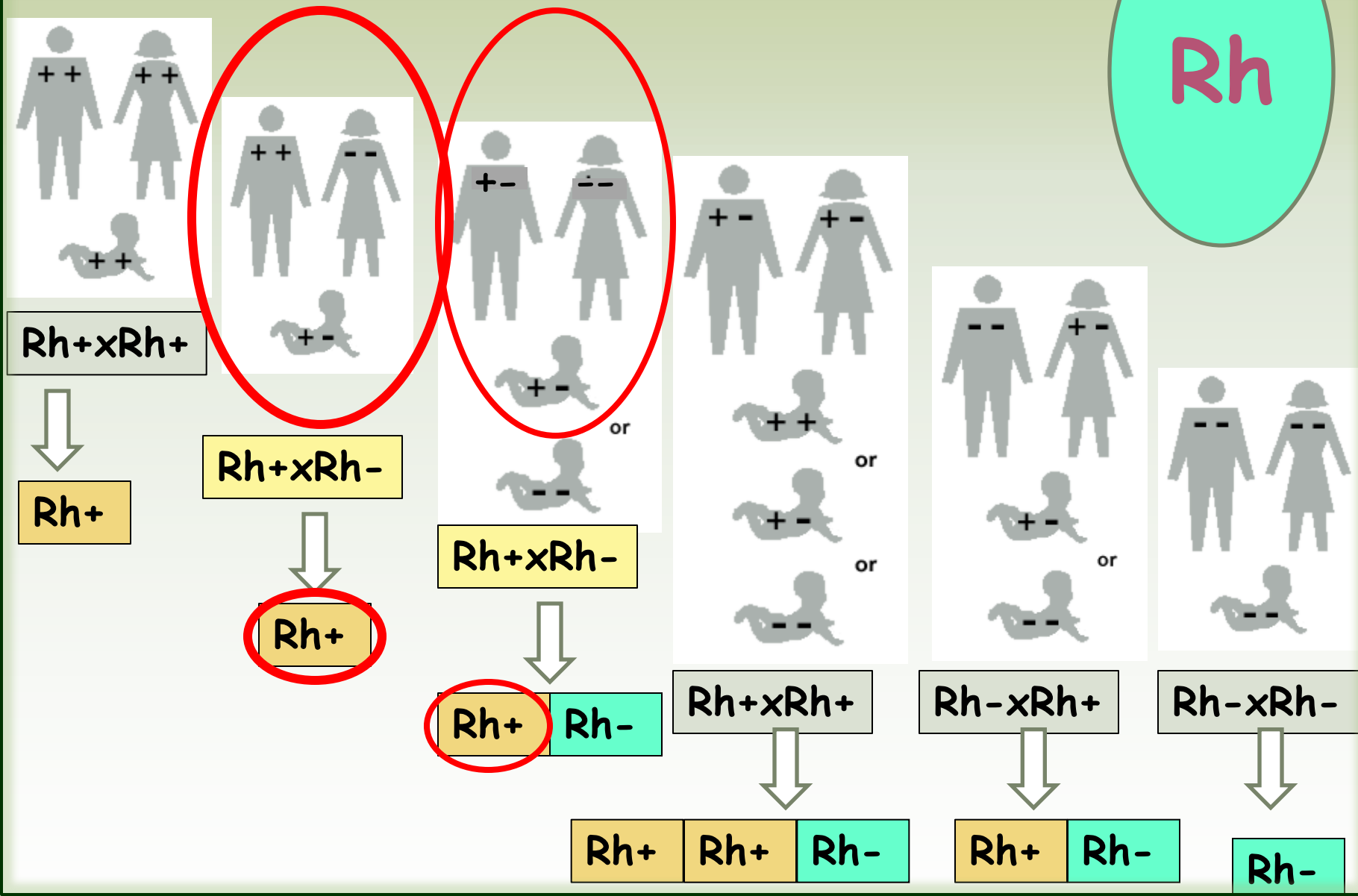


Genotyp: **CdEcdE**
Fenotyp: **Rh⁻**



Krvný skupinový systém Rh

Rh

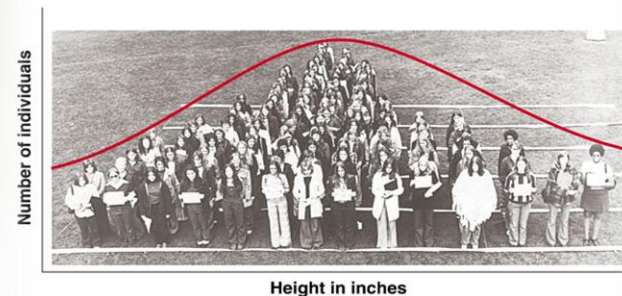


Genetika populácií

- súbor jedincov rovnakého druhu, žijú a rozmnožujú sa v určitom spoločnom prostredí (biotope)
- reprodukčné spoločenstvo jedincov, podieľ sa na spoločnom genofonde svojimi génmi v gamétach



Tobin/Dusheck, Asking About Life, 2/e
Figure 16.6



Hardy-Weinbergov zákon

zákon genetickej rovnováhy

vzt'ah medzi frekvenciou alel (p , q) a početnosťami jednotlivých genotypov (AA , Aa , aa) sa z generácie na generáciu nemení - **nemení sa genotypové zloženie**

nastáva genetická rovnováha

$$p^2(AA) + 2pq(Aa) + q^2(aa) = 1$$



		Vajíčka		
		A	a	
Spermie	A	A/A (p^2)	A/a (pq)	p
	a	A/a (pq)	a/a (q^2)	
		p	q	



Rodokmeň

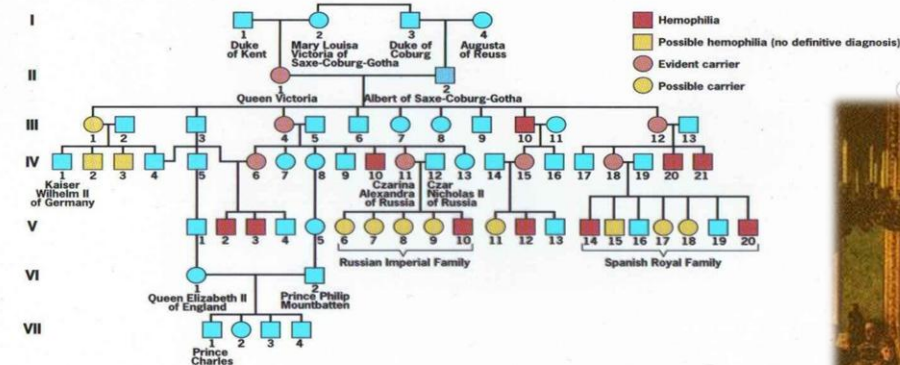
schématické znázornenie príbuzenských vzťahov v súbore jedincov s vyznačením sledovaných znakov

Typ závisí od
lokalizácie génu na autozómoch alebo X chromozóme
charakteru znaku - dominancia a recesivita

Copyright © 2003 John Wiley & Sons, Inc.

26

FIGURE 6.9b



(b)

Kráľ'ovna Viktória -prvá prenášač ka



(b)

Genealogické symboly



zdravý muž



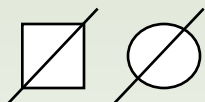
zdravá žena



postihnutý muž



postihnutá žena



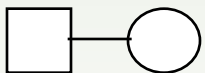
smrť jedinca



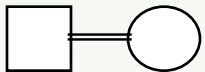
počet zdravých jedincov



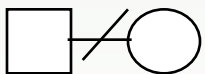
počet postihnutých jedincov



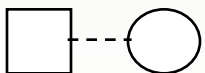
manželstvo



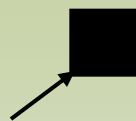
príbuzenské manželstvo



rozvedené manželstvo



partnerský vzťah



proband, propositus



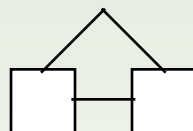
heterozygót pre autozómovo
recesívny gén (prenašač)



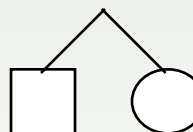
prenášačka recesívneho génu
viazaného na chromozóm X



neznáme pohlavie

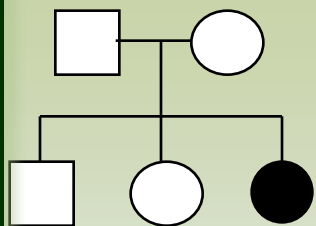


monozygotné dvojčatá

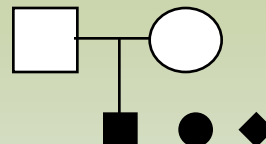


dizygotné dvojčatá

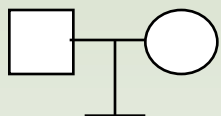
Genealogické symboly



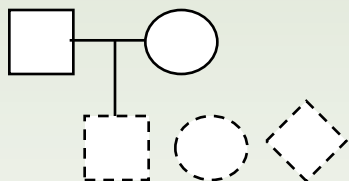
rodičia a deti
(podľa poradia)



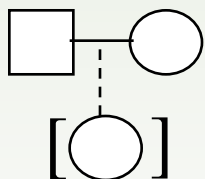
spontánny potrat,
mŕtvonarodený plod



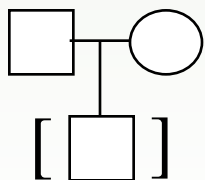
bezdetné
manželstvo



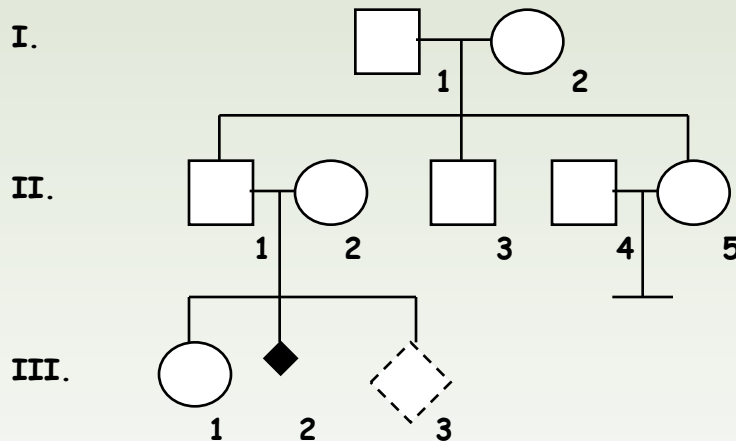
terajšie
tehotenstvo



adopcia dieťaťa
do rodiny



adopcia dieťaťa
z rodiny



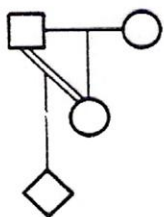
I.

II.

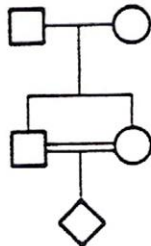
III.

trojgeneračný rodokmeň
s označením jednotlivých jedincov

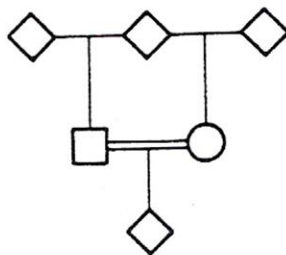
Typy príbuzenského kríženia



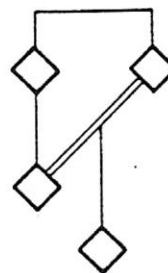
rodič-dieťa



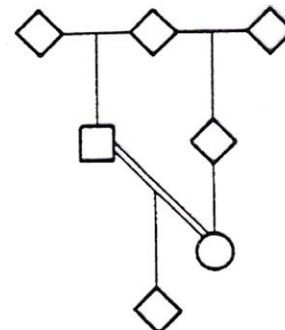
brat-sestra



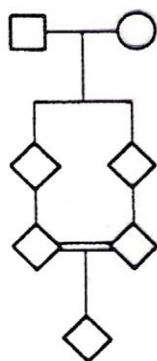
nevlastní
súrodenci



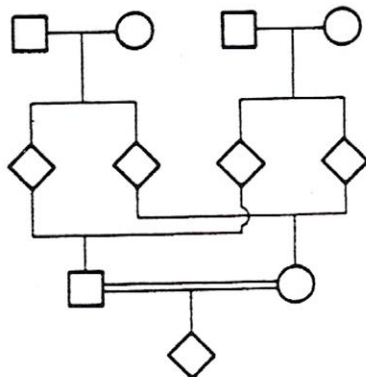
strýko-neter
teta-synovec



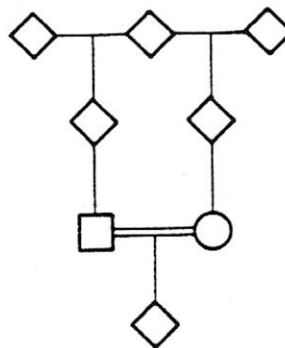
muž a dcéra
nevlastného
súrodenca



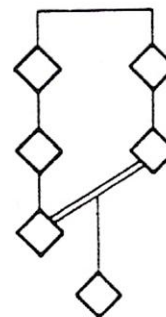
prvostupňoví
bratanec
a sesternica



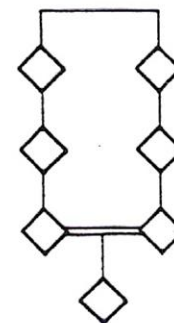
dvojnásobní
druhostupňoví
bratanec
a sesternica



nevlastní
prvostupňoví
bratanec
a sesternica



muž a dcéra
prvostupňovej
sesternice



druhostupňoví
bratanec
a sesternica

Dedičnosť viazaná na autozómy a pohlavné chromozómy

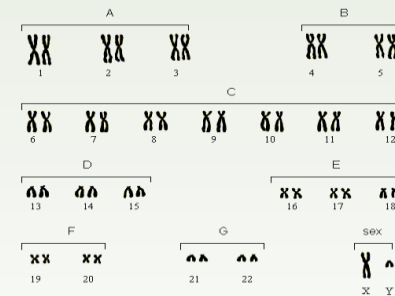
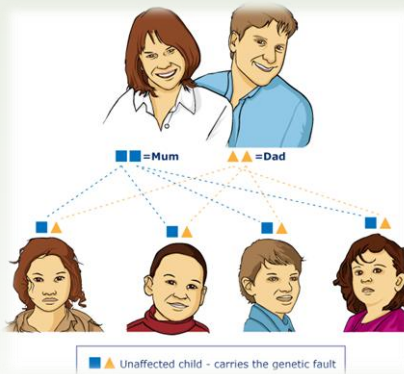
Podľa prítomnosti znaku na chromozóme
autozómová

dominantný znak - nepretržitý výskyt v generáciách po sebe

recesívny znak - vertikálny prenos alely vždy, prejav znaku iba recesívnom homozygótovi (prerušenie sledu generácií)

na X chromozóm viazaná

Podľa typu
dominantná
recesívna



Autozómovo dominantná (AD)

Autozómovo recesívna (AR)

Na X chromozóm viazaná dominantná (XD)

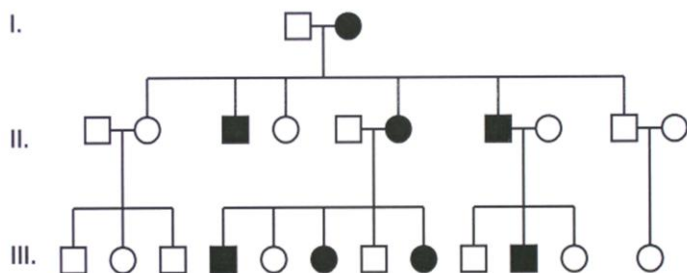
Na X chromozóm viazaná recesívna (XR)

Typy monogénovej dedičnosti

- 1/ Autozómovo dominantná (AD)
- 2/ Autozómovo recesívna (AR)
- 3/ Na X chromozóm viazaná dominantná dedičnosť (XD)
- 4/ Na X chromozóm viazaná recesívna dedičnosť (XR)

Autozómovo dominantná dedičnosť (AD)

Rodokmeň autozómovo dominantnej dedičnosti



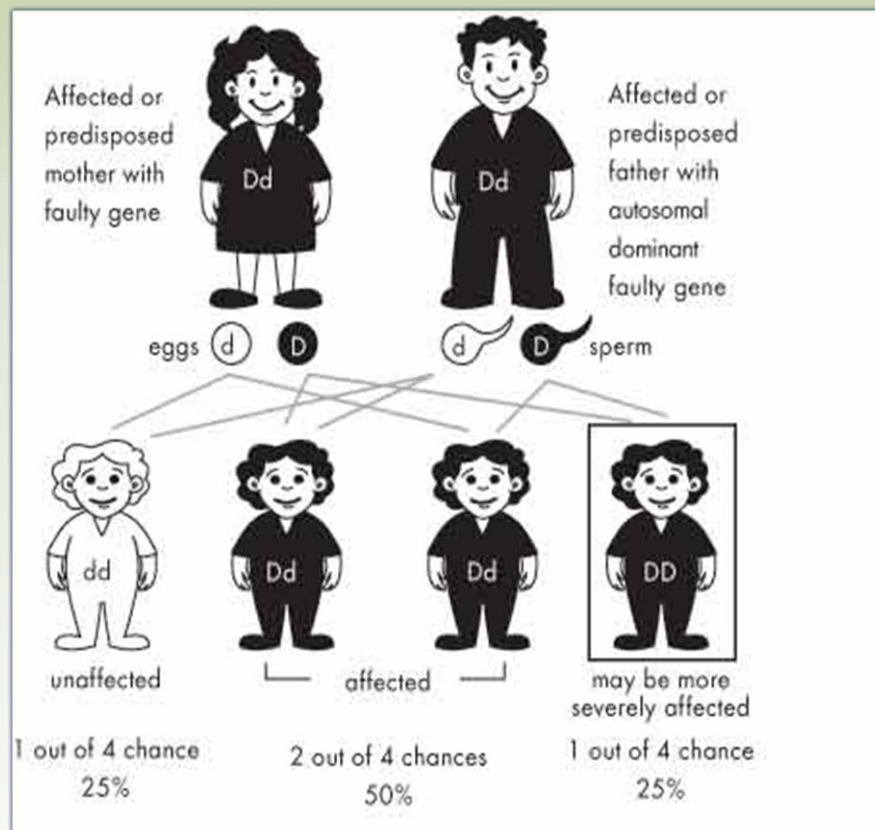
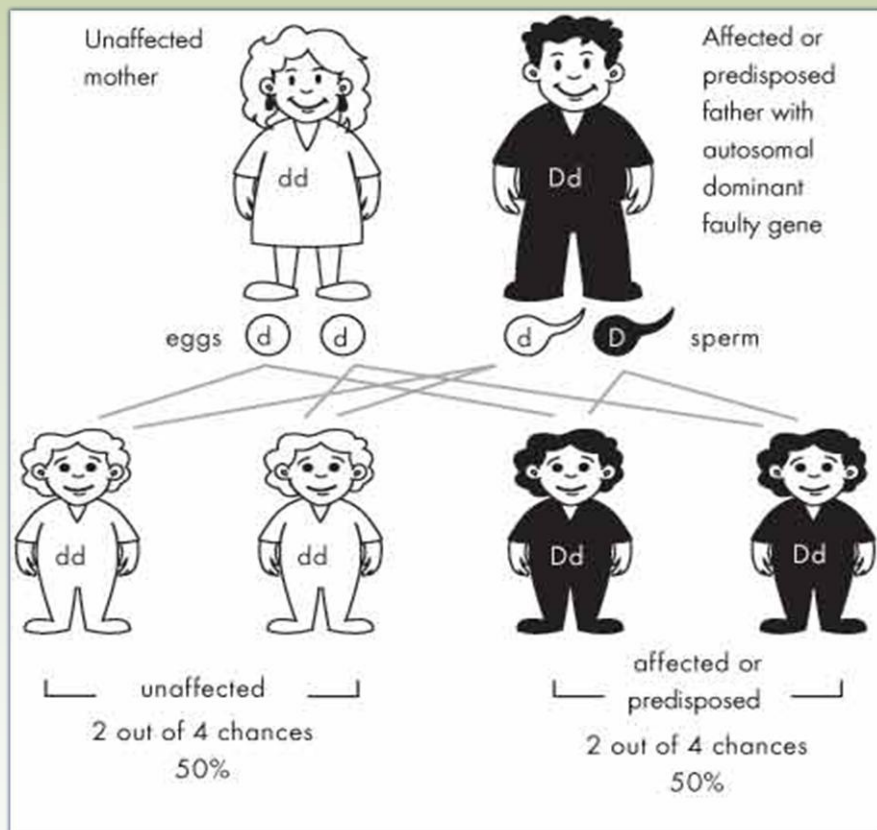
1/ Sledovaný znak sa objavuje v každej generácii, tzn. u rodičov aj detí

2/ Zdraví členovia rodiny neprenášajú chorobu na svoje potomstvo, neprejavuje sa prenášačstvo

3/ U postihnutej osoby má každé dieťa najmenej 50% pravdepodobnosť, že zdedí chorobný znak

4/ Vznik a prenos znaku nie je ovplyvnený pohlavím

AD dedičnosť



P : aa × Aa

F1: Aa, Aa, aa, aa
50% postihnutie

P : Aa × Aa

F1: AA, Aa, Aa, aa
75% postihnutie

AD dedičnosť



Achondroplázia



AD dedičnosť

Polydaktýlia



AD dedičnosť

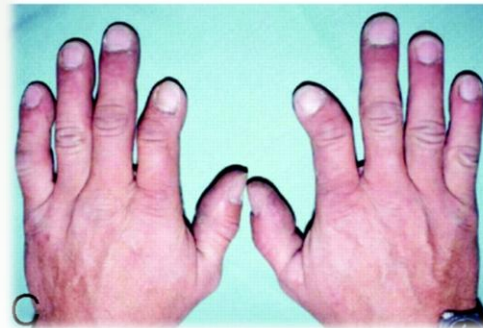
Brachydaktýlia



A



B



C



D

AD dedičnosť

Syndaktýlia



-Type I
-Common type
-2-3/10,00 newborns
-Also called zygodactyly
-2 Loci: 2q34;
3p21.31



-Type II
-Also called synpolydactyly
-HOXD13
-mutations 2q31-32



-Type III
-Connexin 43 mutations (GJA1 gene)
In Oculo-dento-digital dysplasia type
-6q21



-Type IV
-Rare
-locus



-Type V
-Rare
-HOXD13 (some cases)

AD dedičnosť

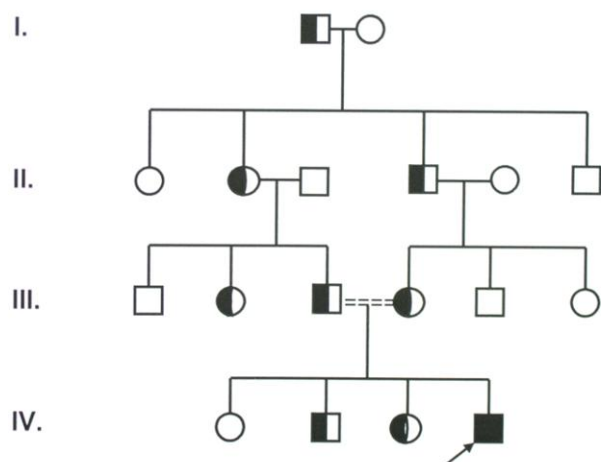


Hypertrichóza



Autozómovo recesívna dedičnosť (AR)

Rodokmeň autozómovo recesívnej dedičnosti



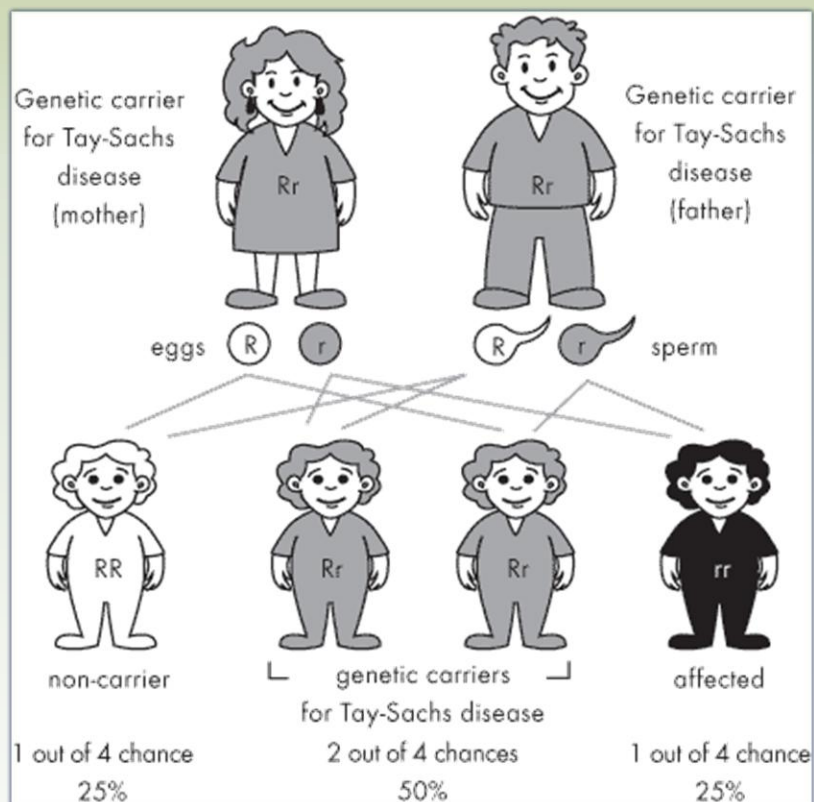
1/ Ak je jedinec postihnutý, znak sa typicky prejaví len u súrodencov, rodičia a potomkovia postihnutého jedinca sú zdraví. Takmer nikdy sa znak nevyskytuje v každej generácii

2/ Znak sa prejavuje najmenej u $\frac{1}{4}$ súrodencov probanda

3/ Predkovia postihnutého probanda môžu byť v príbuzenskom vzťahu

4/ Prenos znaku nie je ovplyvnený pohlavím

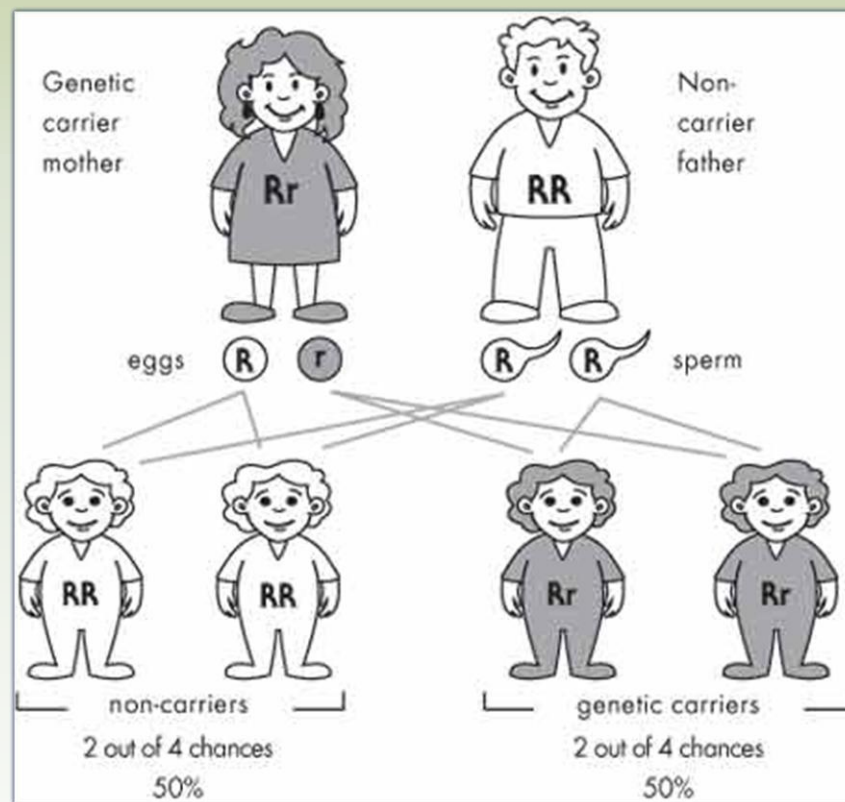
AR dedičnosť



P: $Aa \times Aa$

F1: AA , Aa , Aa , aa

25% postihnutie

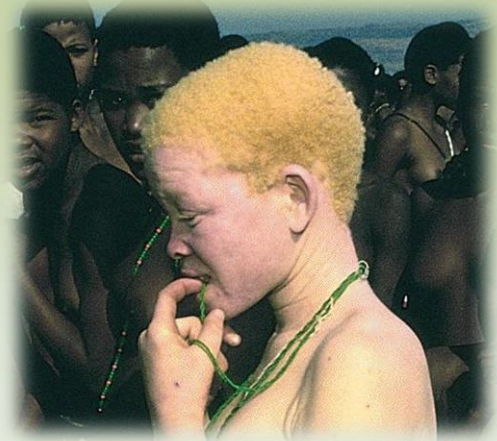


P: $Aa \times AA$

F1: AA , AA , Aa , Aa

50% prenášačstvo

AR dedičnosť



Na X-chromozóm viazané gény

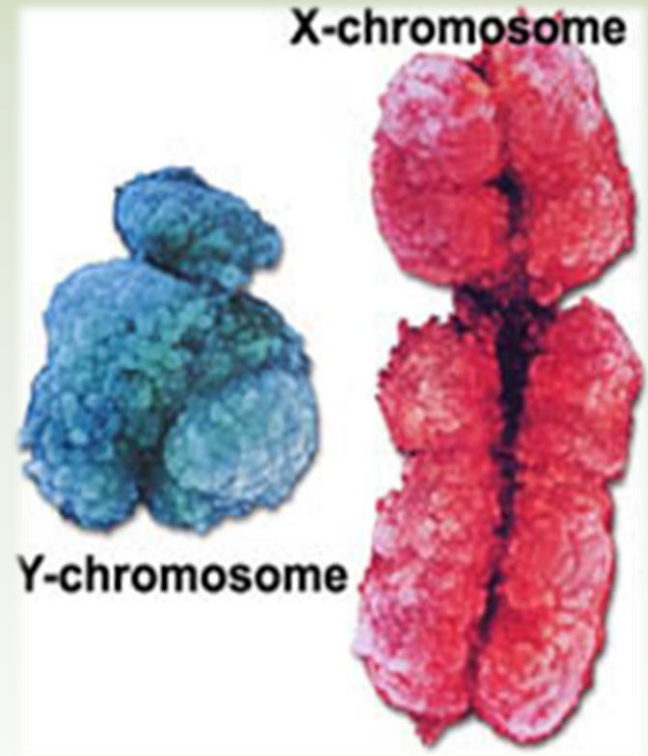
zastúpenie génov na X-chromozóme u obidvoch pohlaví
rôzne: muži - jeden X chromozóm - 2 genotypy
ženy - dva X chromozómy - 3 genotypy

alely A/a s frekvenciou $p(A)$ a $q(a)$ pre obidve pohlavia

frekvencia mužských genotypov zodpovedá frekvencii
alel, muž nemôže byť heterozygótom

frekvencia ženských genotypov je rovnaká ako pri
autozómoch

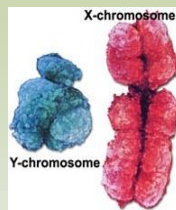
**Muž a žena sa navzájom líšia v každej jednej bunke,
tak ako sa líši X a Y chromozóm...**



...a napriek tomu sa vzájomne dobre dopĺňajú

X a Y chromozóm človeka

X chromozóm



165 Mb DNA...4 000 génov

Výrazná prevaha euchromatínu; málo heterochromatínu

V zostave XX je vždy jeden chromozóm X inaktívny a tvorí heterochromatínové teliesko, tzv. sex chromatín alebo Barrovo teliesko

Y chromozóm

60 Mb DNA...len niekoľko génov

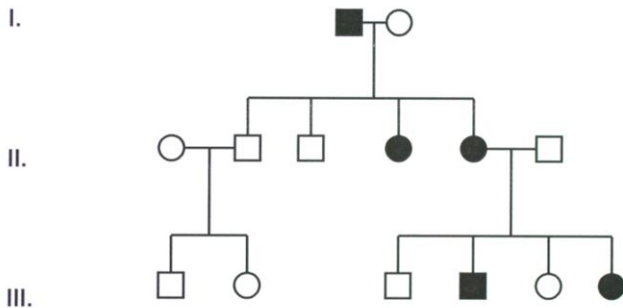
Veľký podiel heterochromatínu; repetitívne sekvencie

V zostave XY je X chromozóm vždy aktívny (euchromatín)

Pohlavie	Genotyp	Frekvencia genotypu	Rozdelenie genotypových frekvencií
muži	$X_A Y$ $X_a Y$	p q	$p + q = 1$
ženy	$X_A X_A$ $X_A X_a$ $X_a X_a$	p^2 $2pq$ q^2	$p^2 + 2pq + q^2$

Na X chromozóm viazaná dominantná dedičnosť (XD)

Rodokmeň dominantnej dedičnosti viazanej na pohlavný chromozóm X



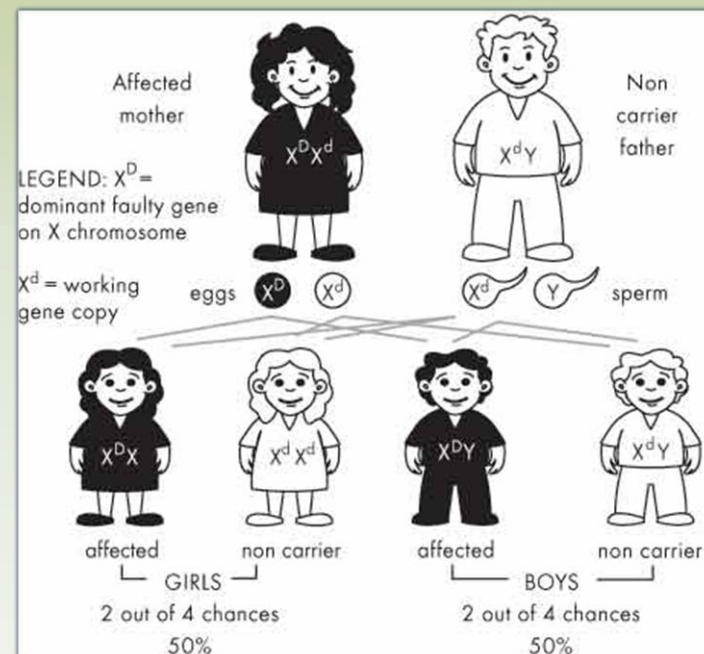
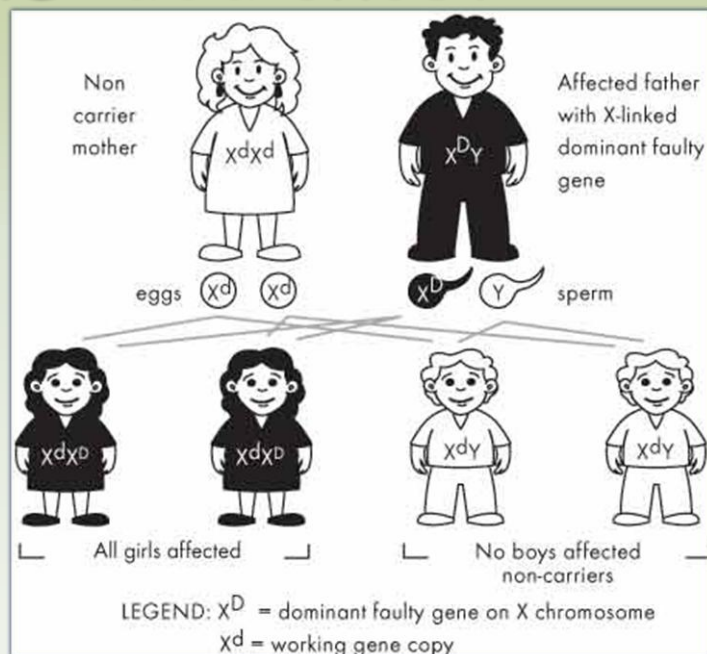
1/ Postihnutý muž má všetky dcéry choré, ale všetkých synov zdravých

2/ Postihnutá heterozygotná žena prenáša znak na $\frac{1}{2}$ svojich detí oboch pohlaví, postihnutá dominantne homozygotná žena prenáša znak na všetky svoje deti

3/ Oveľa častejšie sú postihnuté ženy ako muži

4/ Heterozygotné ženy majú miernejší priebeh ochorenia

XD dedičnost'



P: $X_a X_a$ × $X_A Y$
 zdravá♀ postihnutý♂

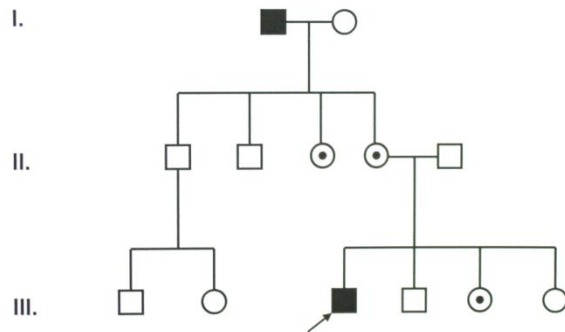
F1: $X_A X_a$ (100% postihnuté♀)
 $X_a Y$ (100% zdraví♂)

P: $X_A X_a$ × $X_a Y$
 postihnutá♀ zdravý♂

F1: $X_A X_a$ (50% postihnuté♀) $X_a X_a$ (50% zdravé♀)
 $X_A Y$ (50% postihnutí♂) $X_a Y$ (50% zdraví♂)

Na X chromozóm viazaná recesívna dedičnosť

Rodokmeň recesívnej dedičnosti viazanej na pohlavný chromozóm X



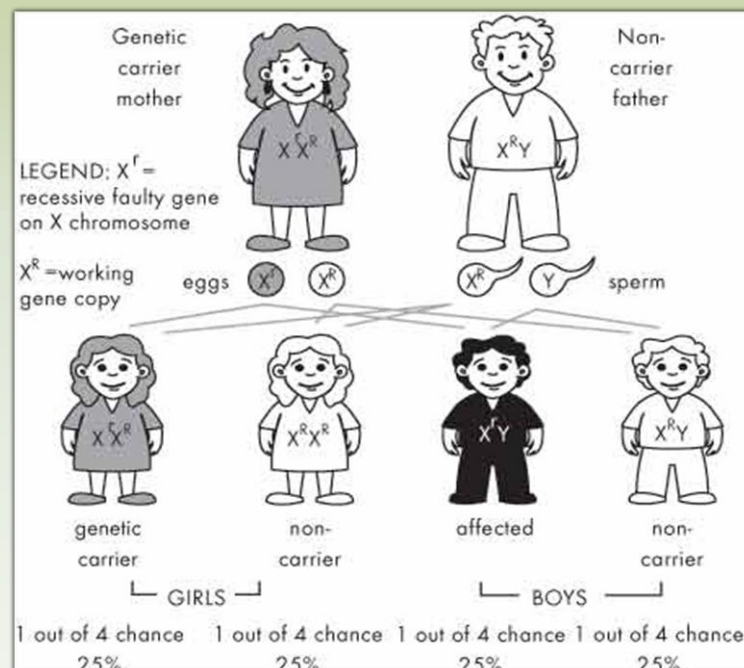
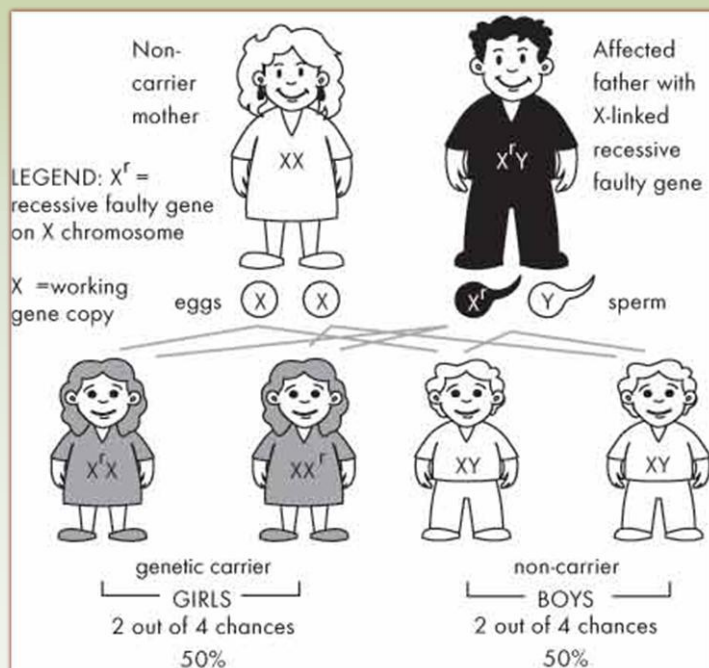
1/ Choroba sa vyskytuje oveľa častejšie u mužov, zriedkavo sa vyskytuje u žien

2/ Znak sa prenáša z postihnutého otca prostredníctvom jeho dcér, ktoré sú prenášačkami, na polovicu svojich vnukov

3/ Znak sa nikdy neprenáša priamo z otca na syna, postihnutý muž má všetkých synov zdravých

4/ Heterozygotné ženy, ktoré sú prenášačkami majú variabilnú expresivitu znaku

XR dedičnost'



P: $X_A X_A$ × $X_a Y$
 zdravá♀ postihnutý♂

F1: $X_A X_a$ (100% přenašачky♀)
 $X_A Y$ (100% zdraví♂)

P: $X_A X_a$ × $X_A Y$
 přenašачka♀ zdravý♂

F1: $X_A X_A$ (50% zdravé♀)
 $X_A X_a$ (50% přenašачky♀)
 $X_A Y$ (50% zdraví♂)
 $X_a Y$ (50% postihnutí♂)

XR - Hemofília

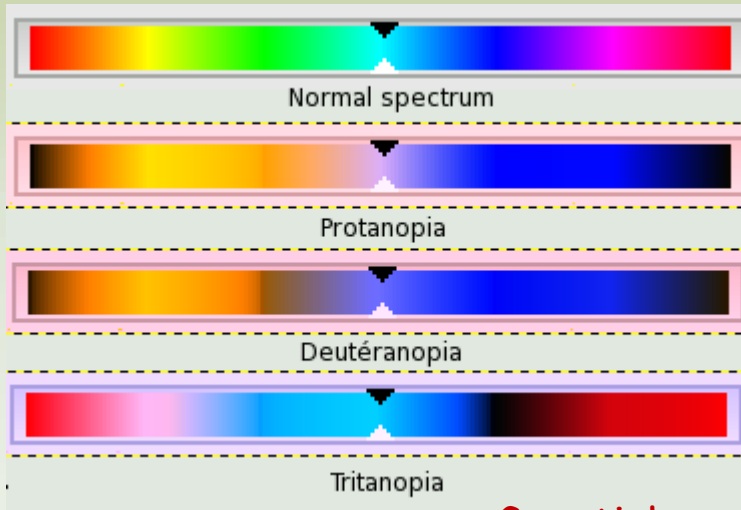


Duchennova svalová dystrofia



Mutácia génu pre dystrofín

Porucha farbocitu

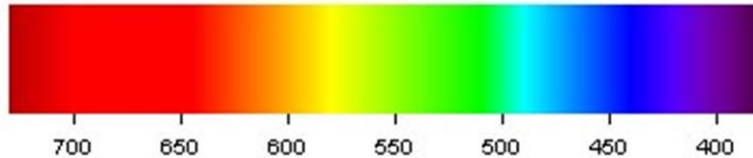


Genetická analýza tkaniva jedného oka potvrdila, že Daltonovi chýbal jeden typ fotoreceptora, ktorý detekuje zelené svetlo

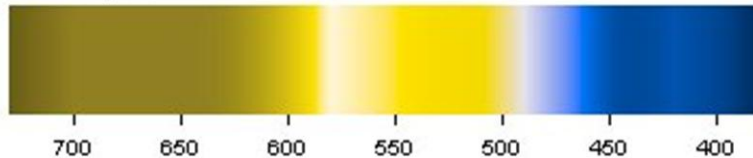
- gény štyroch bielkovín, ktoré zachytávajú fotóny viditeľného svetla na dvoch chromozómoch
- gény rodopsínu a opsínu pre modré svetlo na 7. chromozóme
- gény opsínov pre zelené a červené svetlo na X chromozóme
- nukleotidové sekvencie na 98 % totožné

Porucha farbocitu

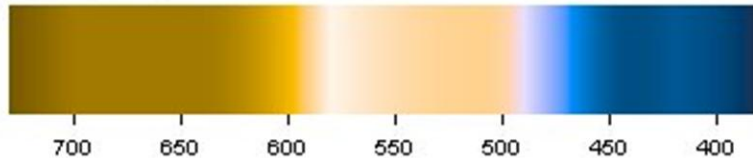
Normal



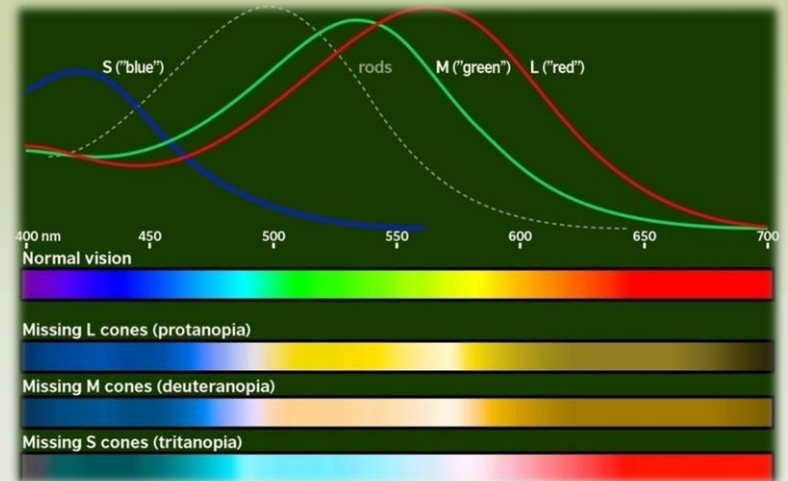
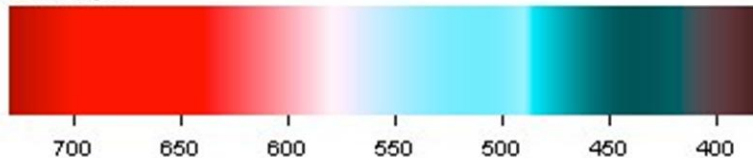
Protanopia



Deutanopia



Tritanopia



Original Image



Deuteranope Simulation



Normal vision



Simultaneous perception

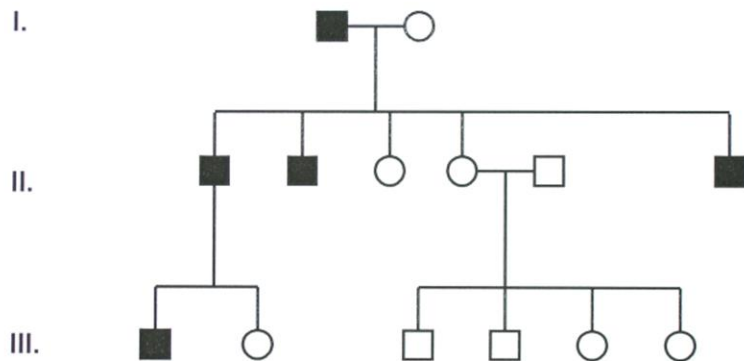


Protanopia



Na Y chromozóm viazaná dedičnosť

Rodokmeň dedičnosti viazanej na pohlavný chromozóm Y



Holandrický typ
dedičnosti

1/ Znak sa vždy prenáša priamo z otca na syna

2/ Znak sa nikdy neprejaví u dcér postihnutého jedinca



John de Lombardo

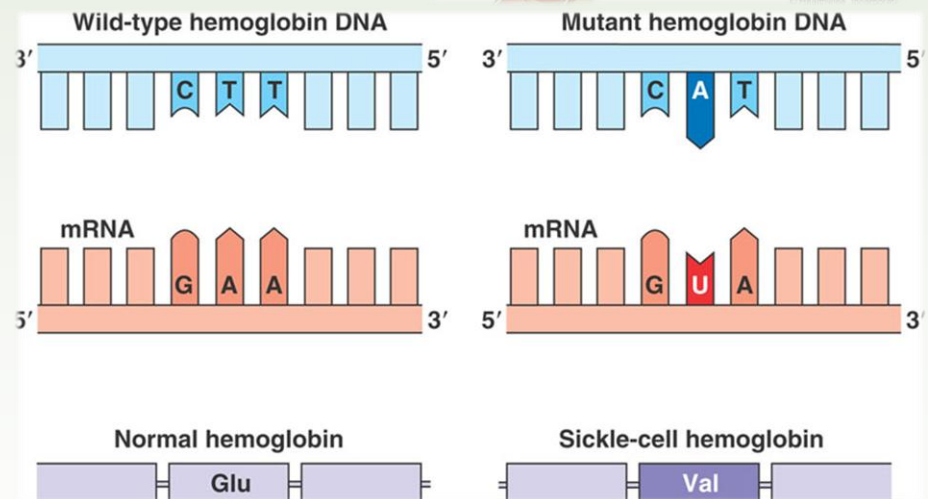
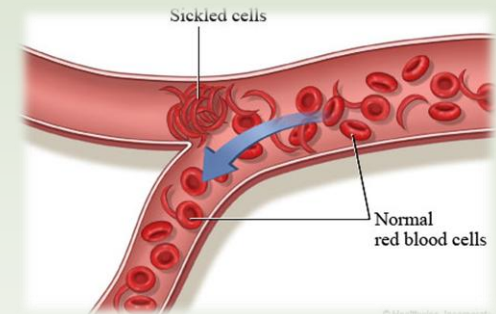
hypertrichóza ušnice

Dedičné (geneticky podmienená) choroby

patologický stav, primárnou príčinou určitá zmena v genetickej pamäti, vertikálne sa prenáša z rodičov na potomkov

Génové mutácie

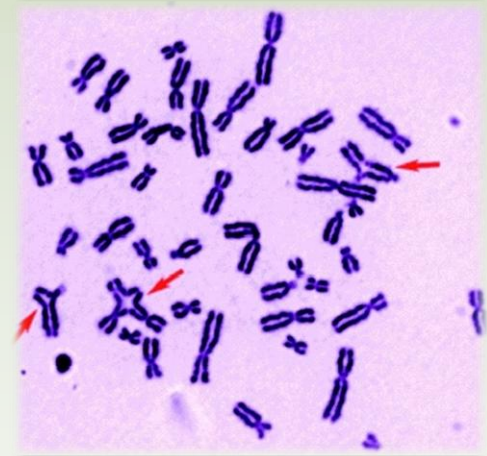
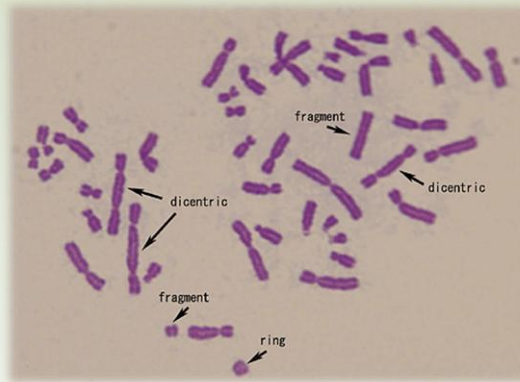
- väčšina, vznik v priebehu evolúcie
- nie sú letálne



Chromozómové mutácie (aberrácie)

postihnuté gaméty, prenos na potomkov (inv,t,del)

postihnuté somatické bunky, neprenášané na potomkov



Genómové mutácie

vznik počas gametogenézy nerozdelením chromozómov
pri meióze

najčastejšie trizómie a monozómie autozómov alebo
pohlavných chromozómov

Schéma cytogenetickej analýzy

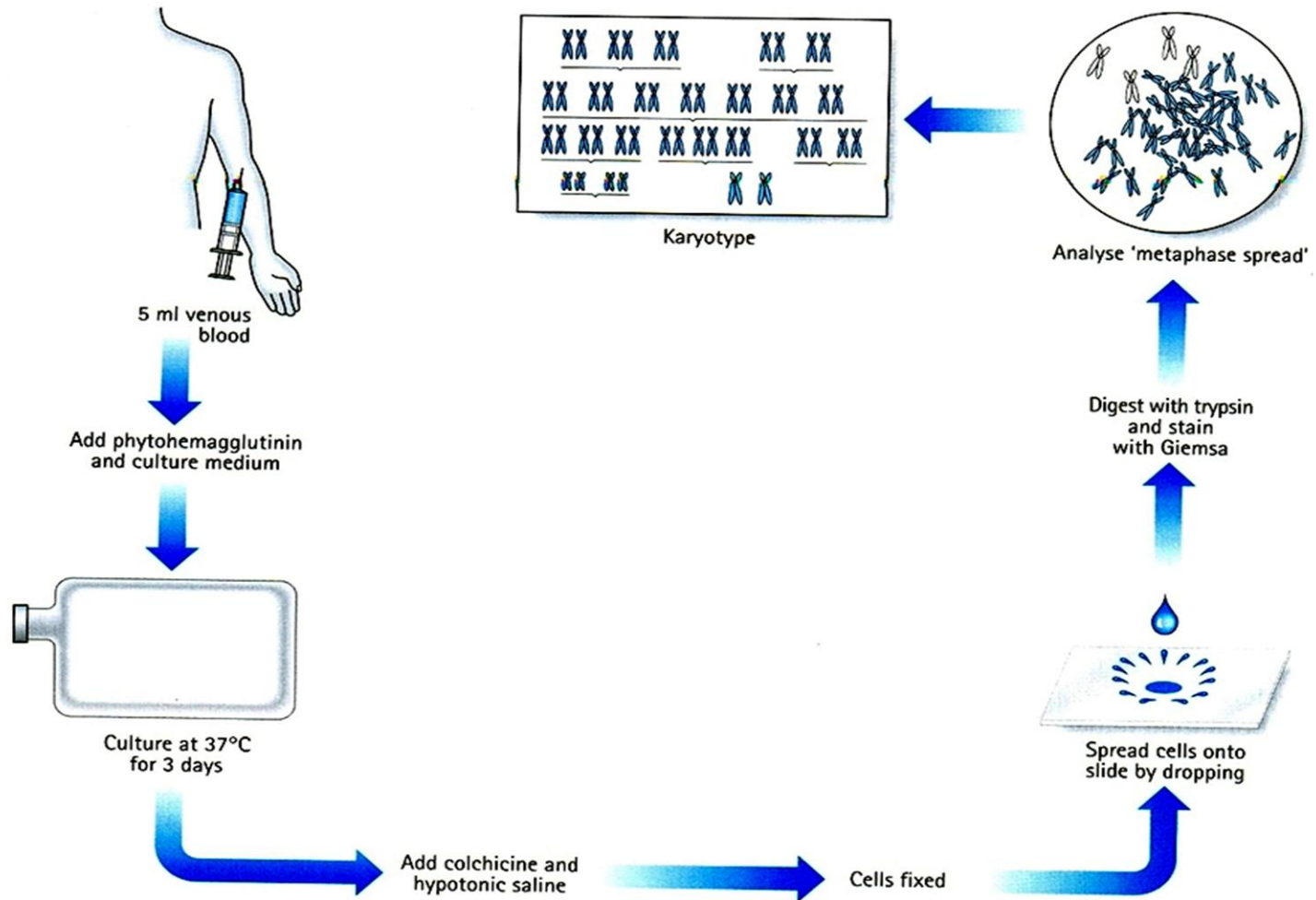


Fig. 3.4
Preparation of a karyotype.

Metódy stanovenia chromozómov

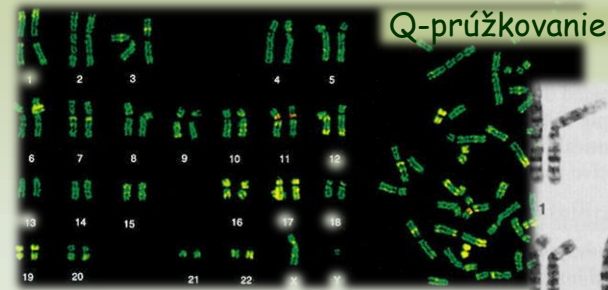
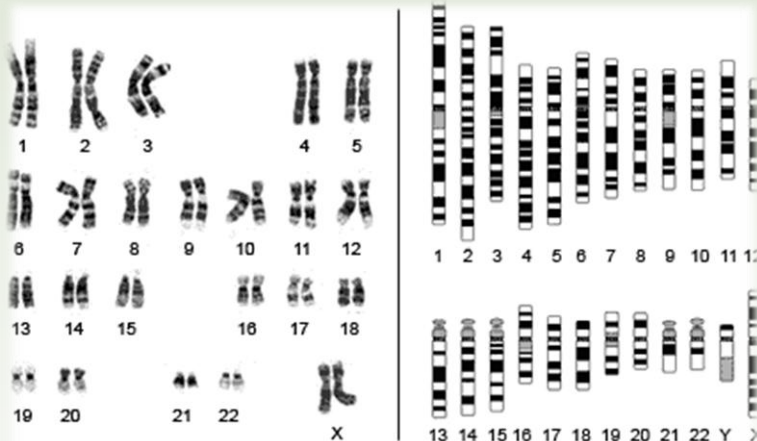
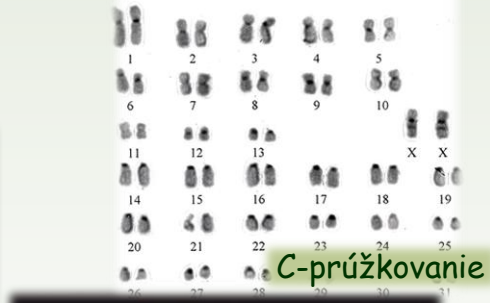
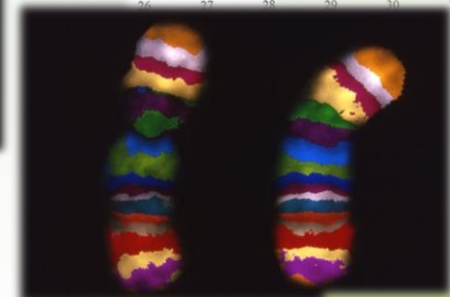


Figure 2. An R-banded karyotype of the male sea otter in question in this study (2N = 40). The chromosome pairs exhibiting consistent irregularity are indicated by arrows.

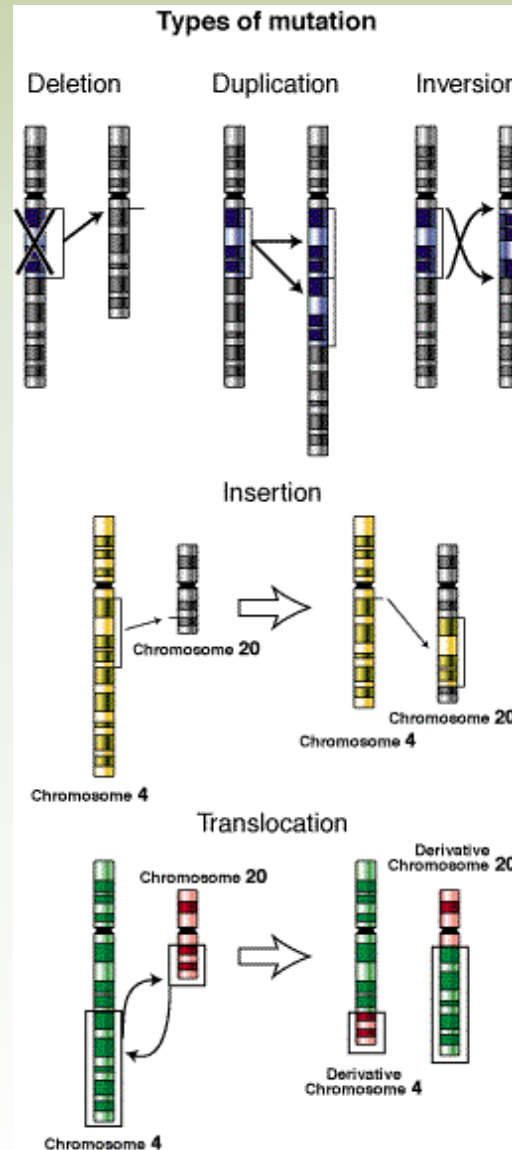


ogramu (vpravo)



Typy štruktúrnych chromozómových aberácií

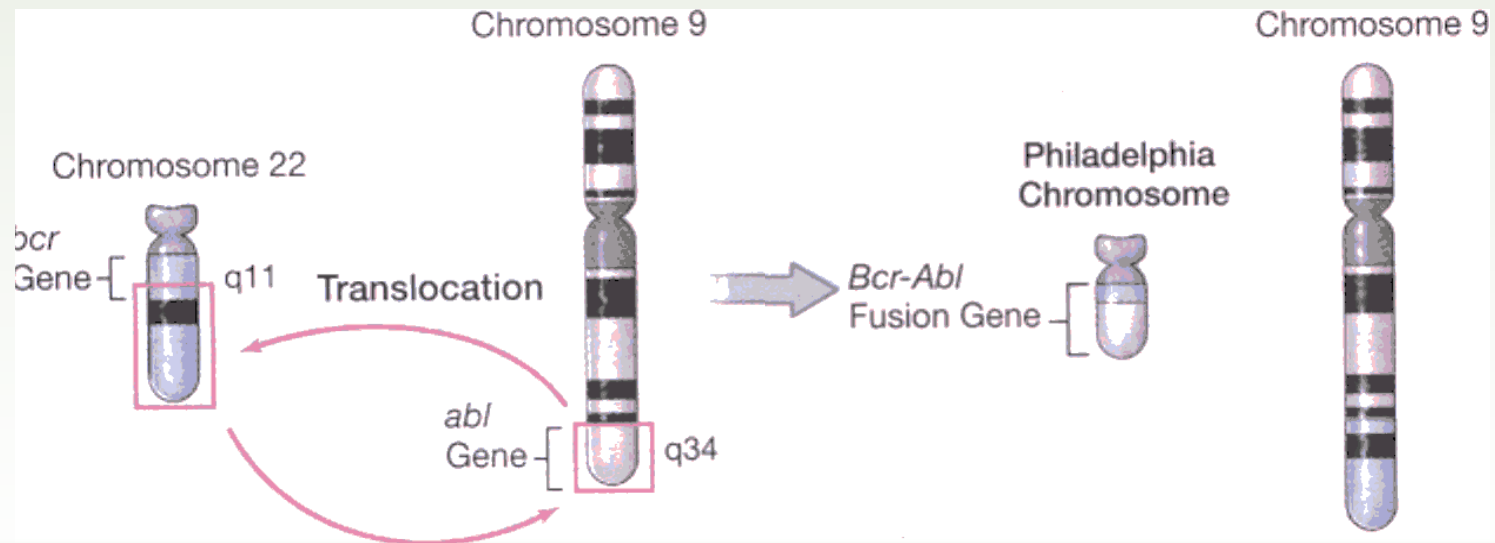
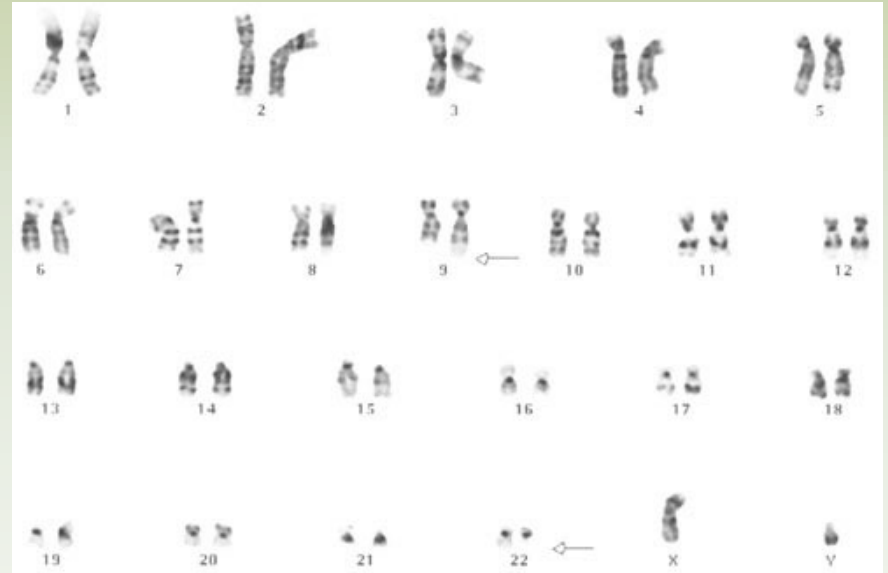
- delécia
- duplikácia
- inverzia
- inzercia
- translokácia



Štruktúrne aberácie chromozómov

Philadelphia chromozóm

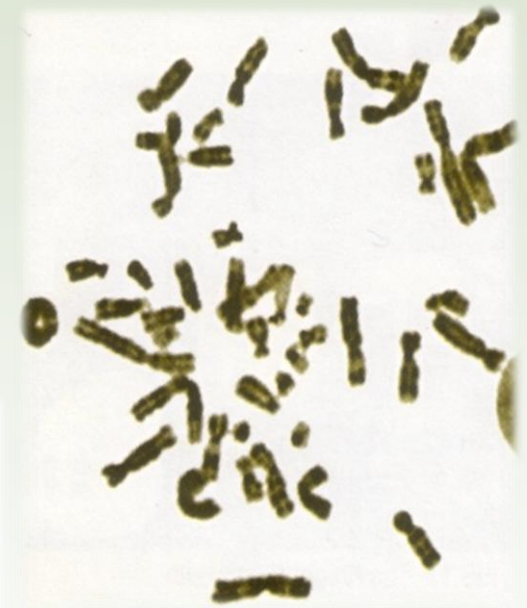
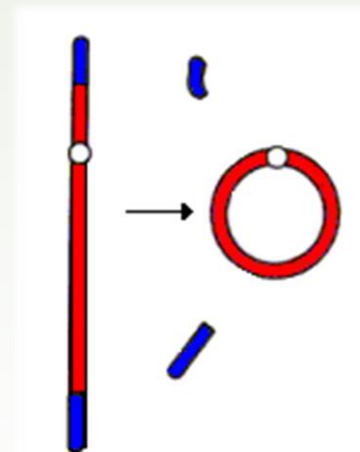
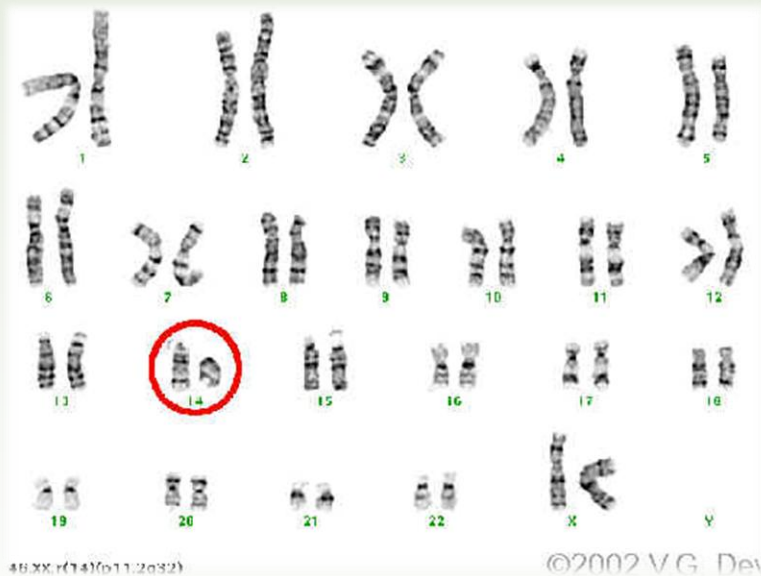
46,XY,t(9;22)(q34;q11)



Štruktúrne aberácie chromozómov

Prstencovitý chromozóm

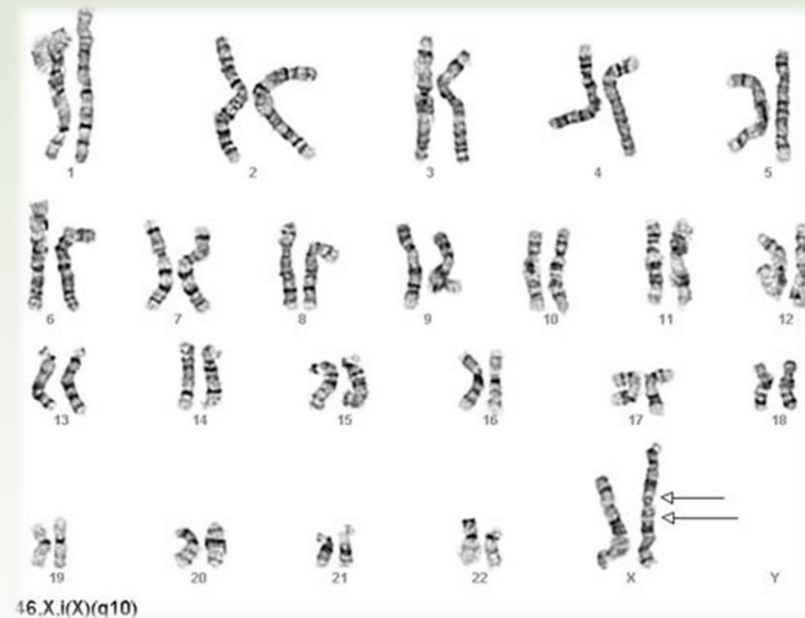
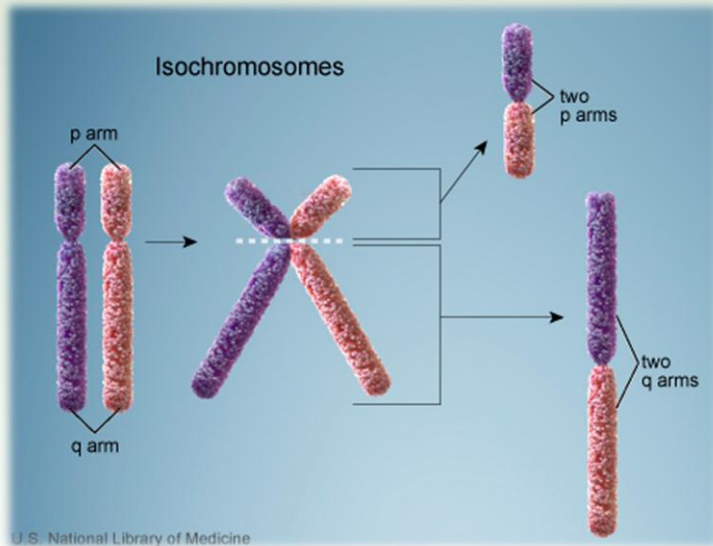
na obidvoch koncoch chromozómu zlomy a strata
koncových oblastí
zvyšok chromozómu utvorí prstenec



Štruktúrne aberácie chromozómov

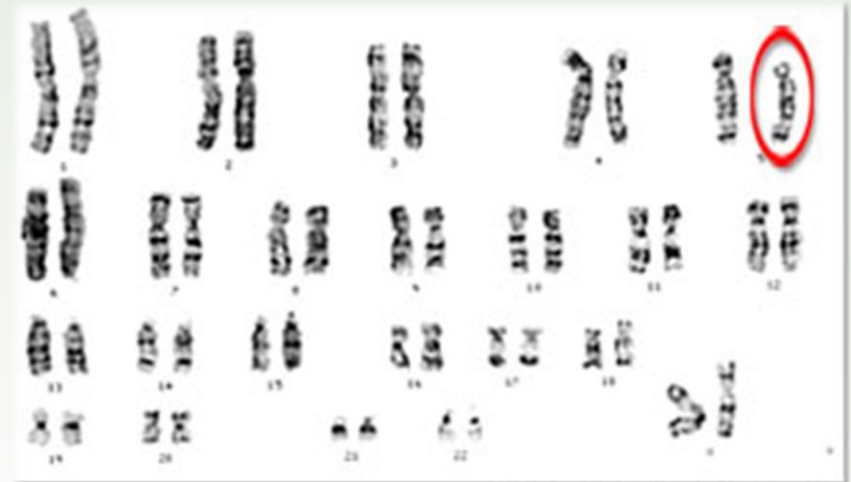
Isochromozóm

namiesto pozdĺžneho delenia nastane priečne



Štruktúrne aberácie chromozómov

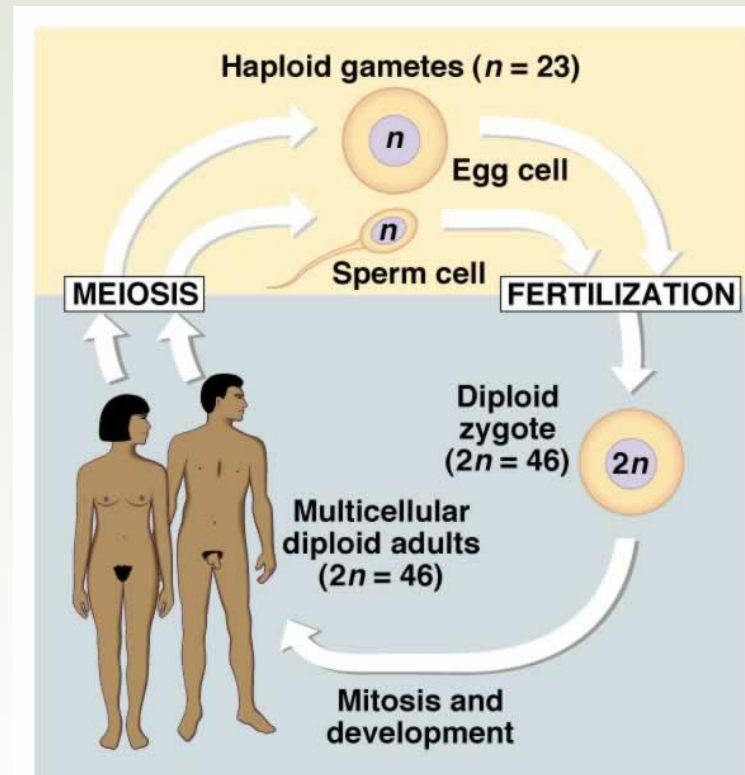
Syndróm Cri du chat (Syndróm mačacieho plaču)
(46,XX,5p- alebo 46,XY 5p-) delécia časti krátkeho
ramena chromozómu 5



Tokyo Medical University

Genómové mutácie

- rozsahom najväčšie, ovplyvňujú karyotyp jedinca zmenou počtu chromozómov alebo celého chromozómového súboru



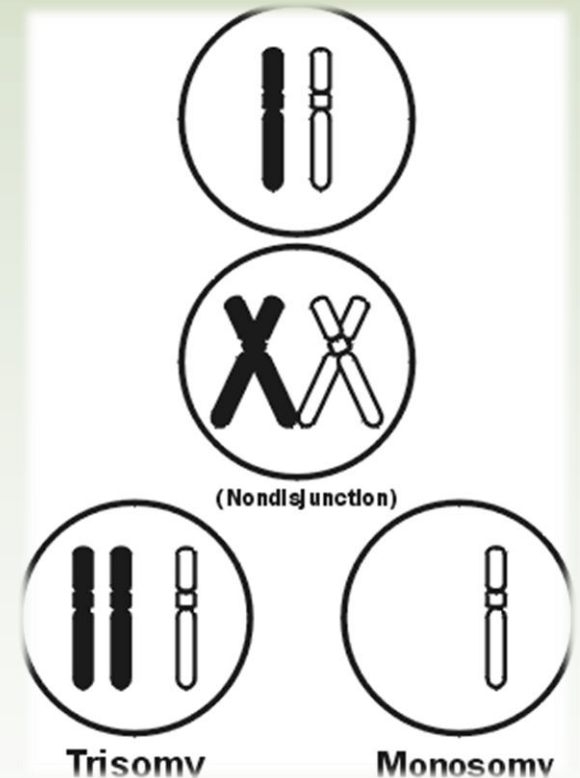
Numerické aberácie chromozómov

Aberácie autozómov a pohlavných chromozómov

Najčastejšie **monozómie** a **trizómie** jedného chromozómového páru

Chýbanie jediného autozómu alebo jeho veľkej časti je väčšinou nezlučiteľné so životom

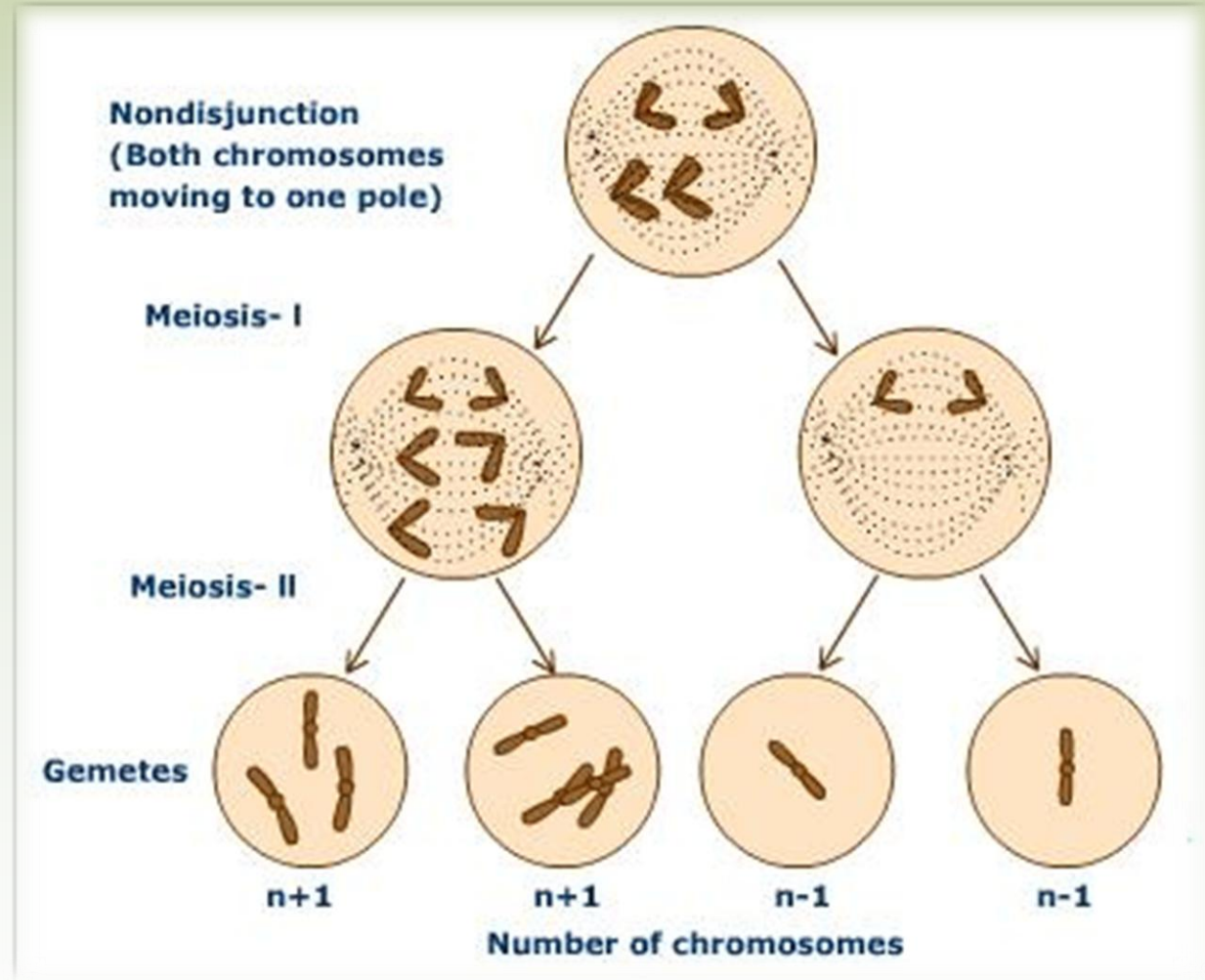
Pri X-chromozóme monozómie zlučiteľné so životom



Numerické aberácie chromozómov

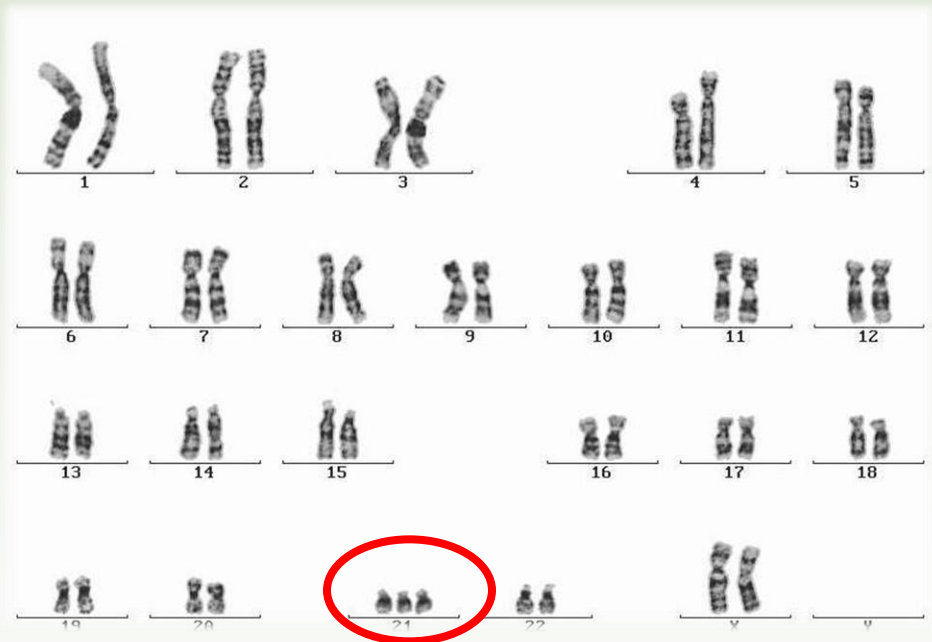
Non-disjunkcia
I. meióza

Non-disjunkcia
II. meióza



Numerické aberácie autozómov

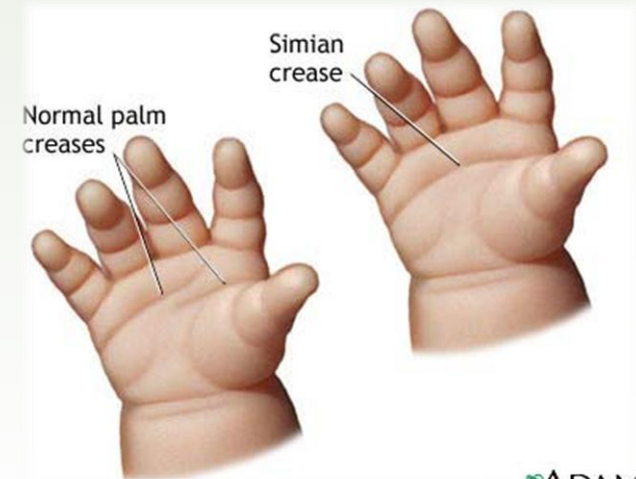
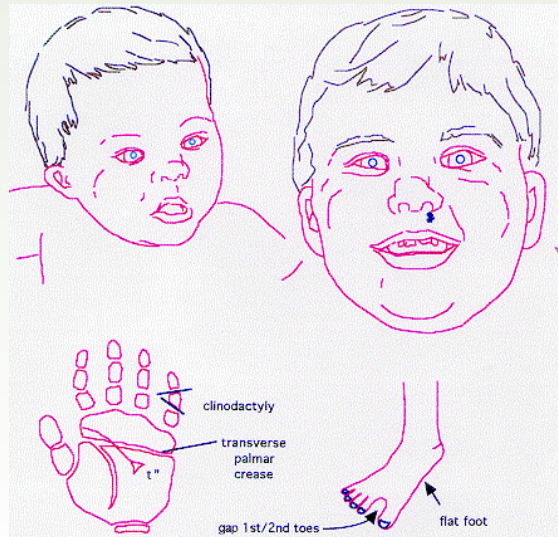
Downov syndróm trizómia 21.chromozómu
(47, XX, +21 alebo 47 XY, +21)



- incidencia je 1:800
- guľatá tvár, šikmé očné štrbiny, riasa na hornom viečku (označenie mongolizmus), široký koreň nosa



- krátke prsty, rohlíkovité malíčky, na dlani priečna opičia brázda
- časté vrodené srdcové chyby
- vždy prítomná slabomysel'nosť rôzneho stupňa
- priemerný maximálny vek 20-30 rokov



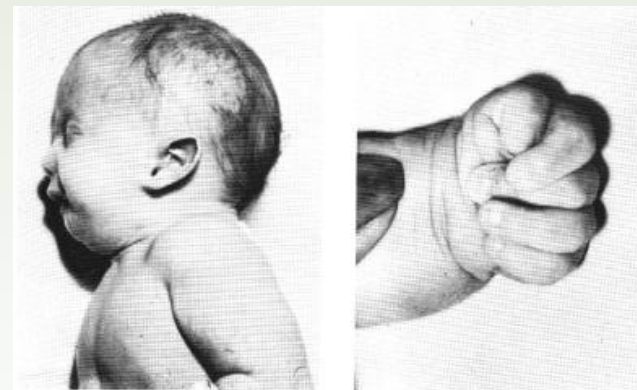


Numerické aberácie autozómov

Edwardsov syndróm trizómia 18. chromozómu (47,XX,+18 alebo 47,XY,+18)



- incidencia 1:8000
- asi 95% plodov sa spontánne potratí
- postnatálne prežívanie veľmi zlé (2 mesiace)
- typická hypertónia
- prominujúce záhlavie, nízko posadené ušnice,
- krátke sternum
- prsty rúk sú prekrížené charakteristickým spôsobom (druhý cez tretí a piaty cez štvrtý)



a.

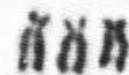
b.



16

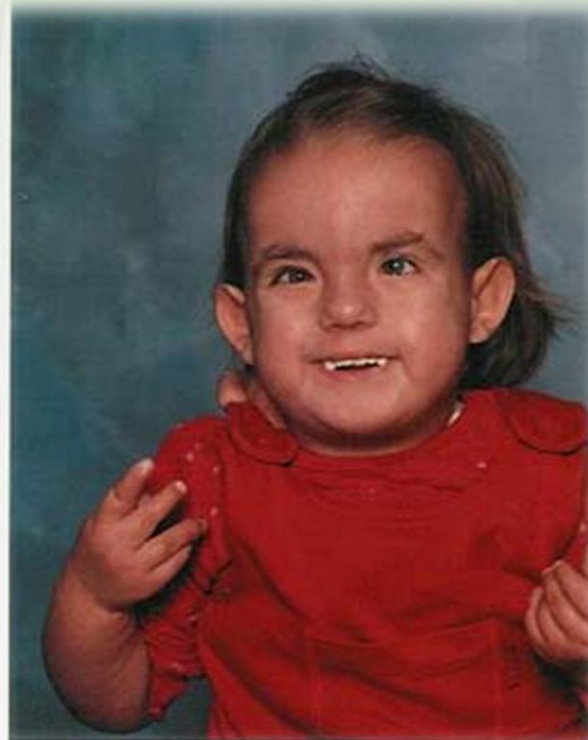


17



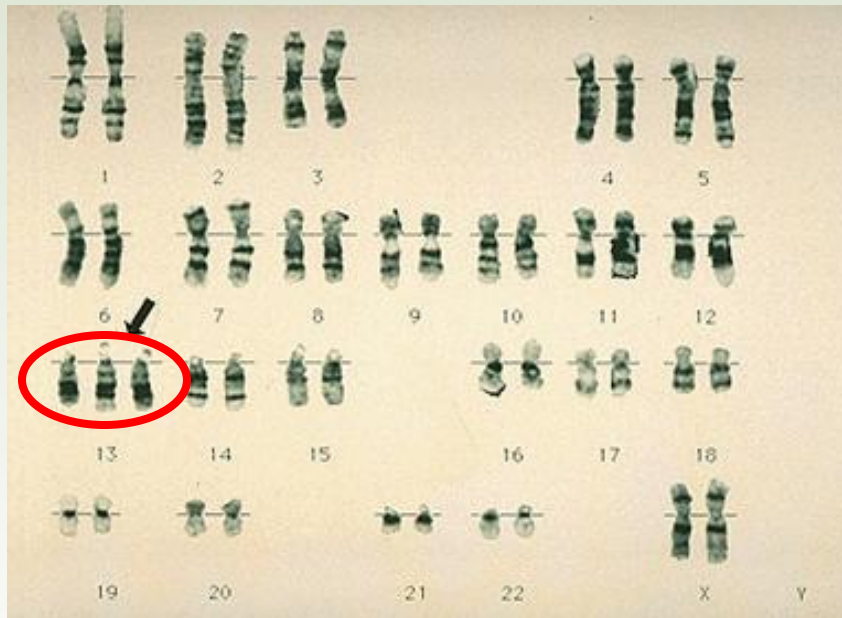
18

- výrazné opičie rýhy na dlaniach
- nechty hypoplastické
- výskyt ťažkých vrodených chýb srdca
- výrazná mentálna retardácia

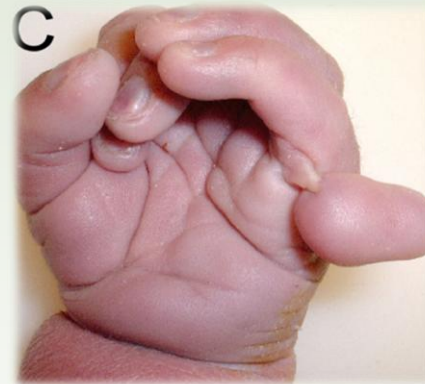


Numerické aberácie autozómov

Patauov syndróm trizómia 13. chromozómu
(47,XX,+13 alebo 47,XY,+13)

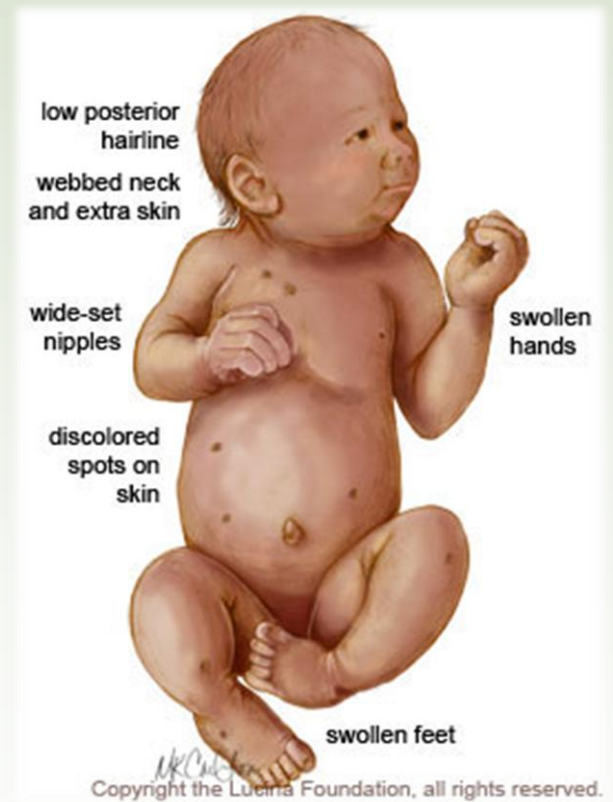


- incidencia 1:6000
- $\frac{1}{2}$ živorodených detí umrie počas prvého mesiaca
- fenotypovo ťažké anomálie CNS
- retardácia rastu
- ťažká mentálna retardácia
- mikroftalmia, malformácia ušnic, častý rázštep podnebia a pery
- na rukách aj nohách môže byť polydaktýlia



Numerické aberácie pohlavných chromozómov u žien

Turnerov syndróm monozómia X
(45, X; 45, X0)



- incidencia 1:2000
- u ženského pohlavia
- škvrny na tele
- opuch rúk a nôh
- fenotypovo pomalší rast
- degenerácia ovárií
- infantilný vzhľad
- nedostatočný vývoj prsníkov a ochlpenia
- široký hrudník
- vzdialené bradavky
- pterygium colli
- negatívny pohlavný chromatín
- nízky úpon vlasov



Numerické aberácie pohlavných chromozómov u žien

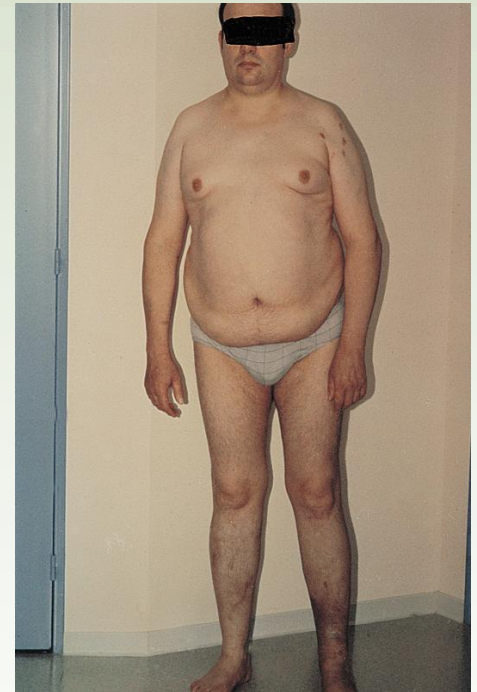
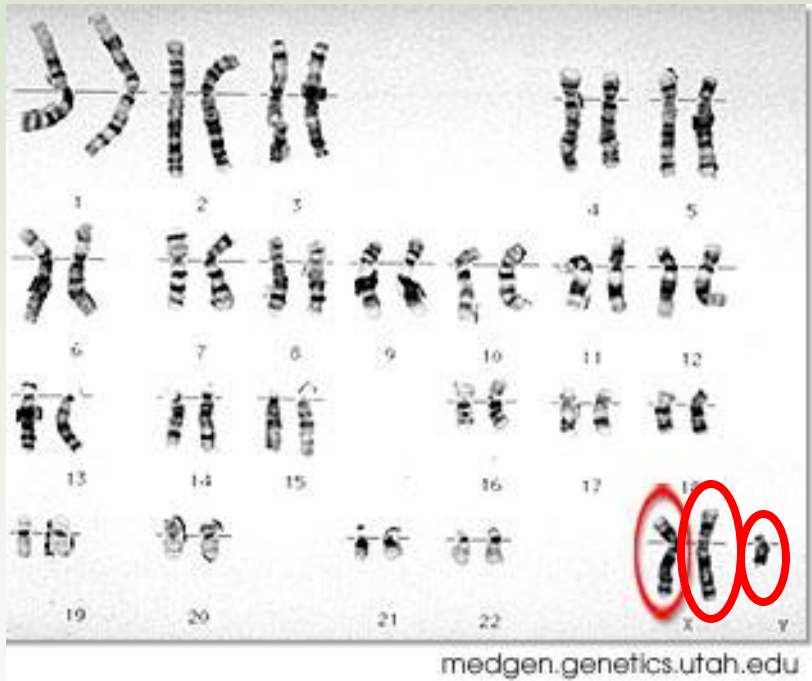
Trizómia XXX SUPERFEMALE (47,XXX)

- incidencia 1:1000 žien
- fenotypovo sa výrazne neprejavujú
- väčšina fyzicky a psychicky normálna
- vyššia priemerná výška postavy
- sexuálny vývoj normálny
- znížená inteligencia

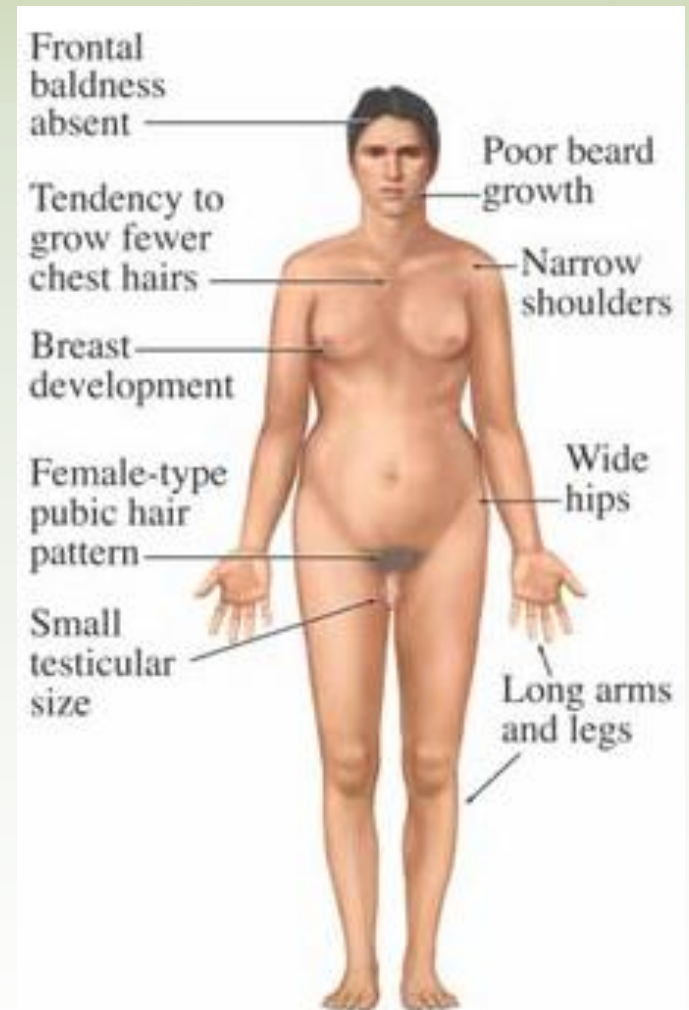


Numerické aberácie gonozómov u mužov

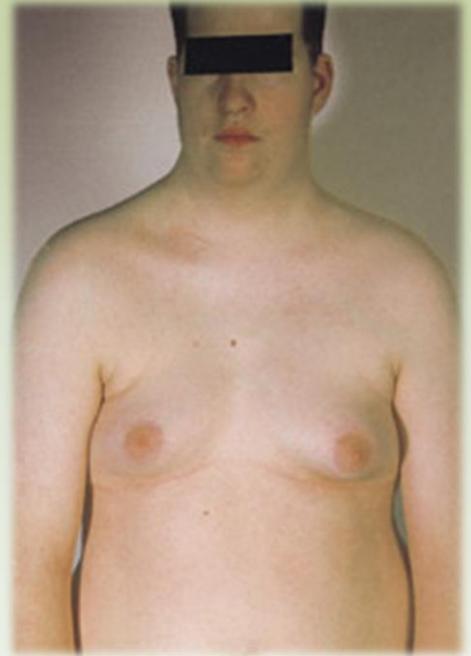
Klinefelterov syndróm (47,XXY; vzácne 48,XXX,Y, 49,XXXXY)



- incidencia 1:1000
- výskyt u mužského pohlavia
- do puberty jedinci bez príznakov
- po puberte slabý rast chĺpov brady, fúzov, hrude
- úzke ramená
- široké boky
- ženský tvar pubického ochĺpenia
- dlhé ruky a nohy



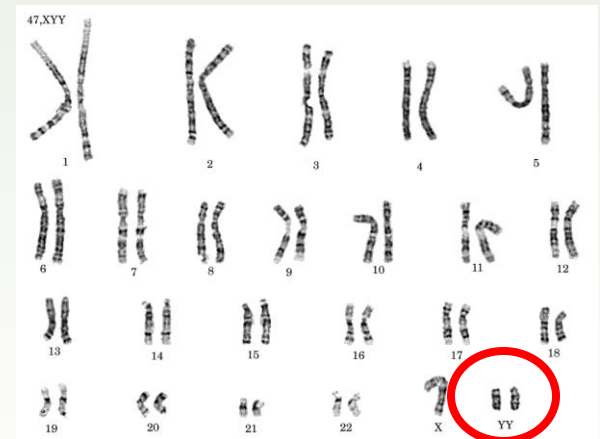
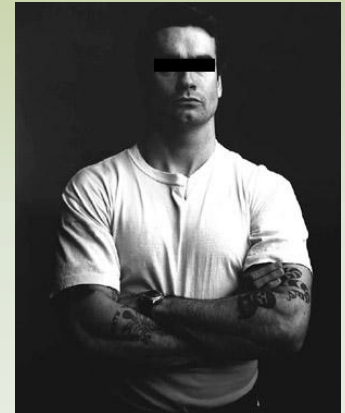
- v puberte eunuchoidné rysy, malé testes
- hyalinizované semenotvorné kanáliky
- nedostatočne vyvinuté druhotné pohlavné znaky
- obezita, gynekomastia a sterilita
- u tetrazomikov a pentazomikov psychomotorická retardácia a rôzne morfológické chyby



Numerické aberácie pohlavných chromozómov u mužov

Jacobsov syndróm (47,XYY)

- incidencia 1:1000 mužov
- môže sa prejavit' v mozaike 46,XY/47,XYY
- fenotypovo bez výrazného prejavu
- vyššia postava ako je priemer
- mierna hypotónia svalov
- tremor rúk
- väčšina má normálny pohlavný život
- časté poruchy správania, narušená komunikácia a sociálne vzťahy



Mutácie

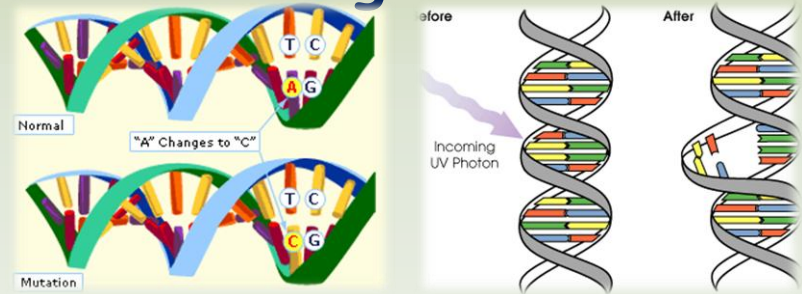
zmeny dedičného materiálu, prejavujú sa trvalou a osobitou zmenou znakov a vlastností organizmu

Rozdelenie mutácií:

a/ podľa spôsobu vzniku

spontánne – bez zásahu mutagénu

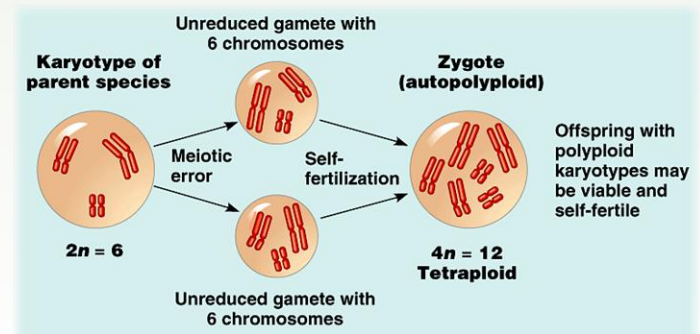
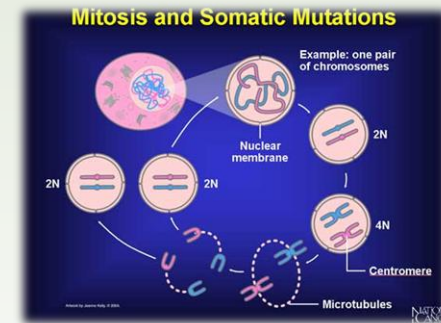
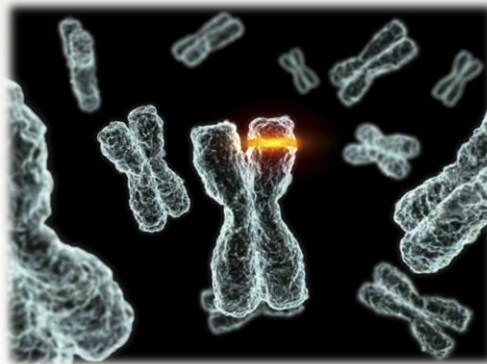
indukované – vyvolané mutagénmi



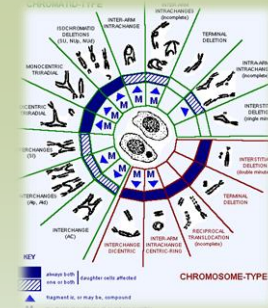
b/ podľa typu postihnutých buniek

gametické

somatické



c/ podľa zlučiteľnosti so životom
letálne
vitálne



d/ podľa typu postihnutého genetického materiálu
génové

chromozómové

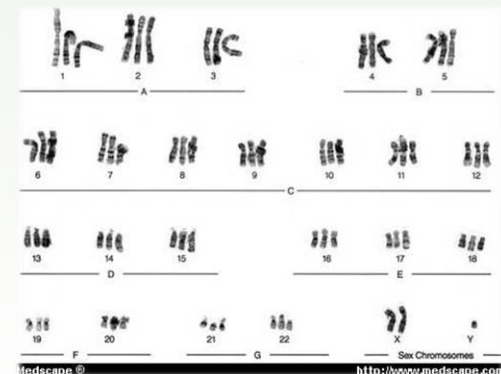
genómové - **aneuploidie** (zmena v počte

chromozómov diploidnej sady len v určitom chromozómovom páre) - **monozómie**, **trizómie** ...

- **polyploidie** (zmena v počte celej chromozómovej sady)

triploidie, **tetraploidie** ...

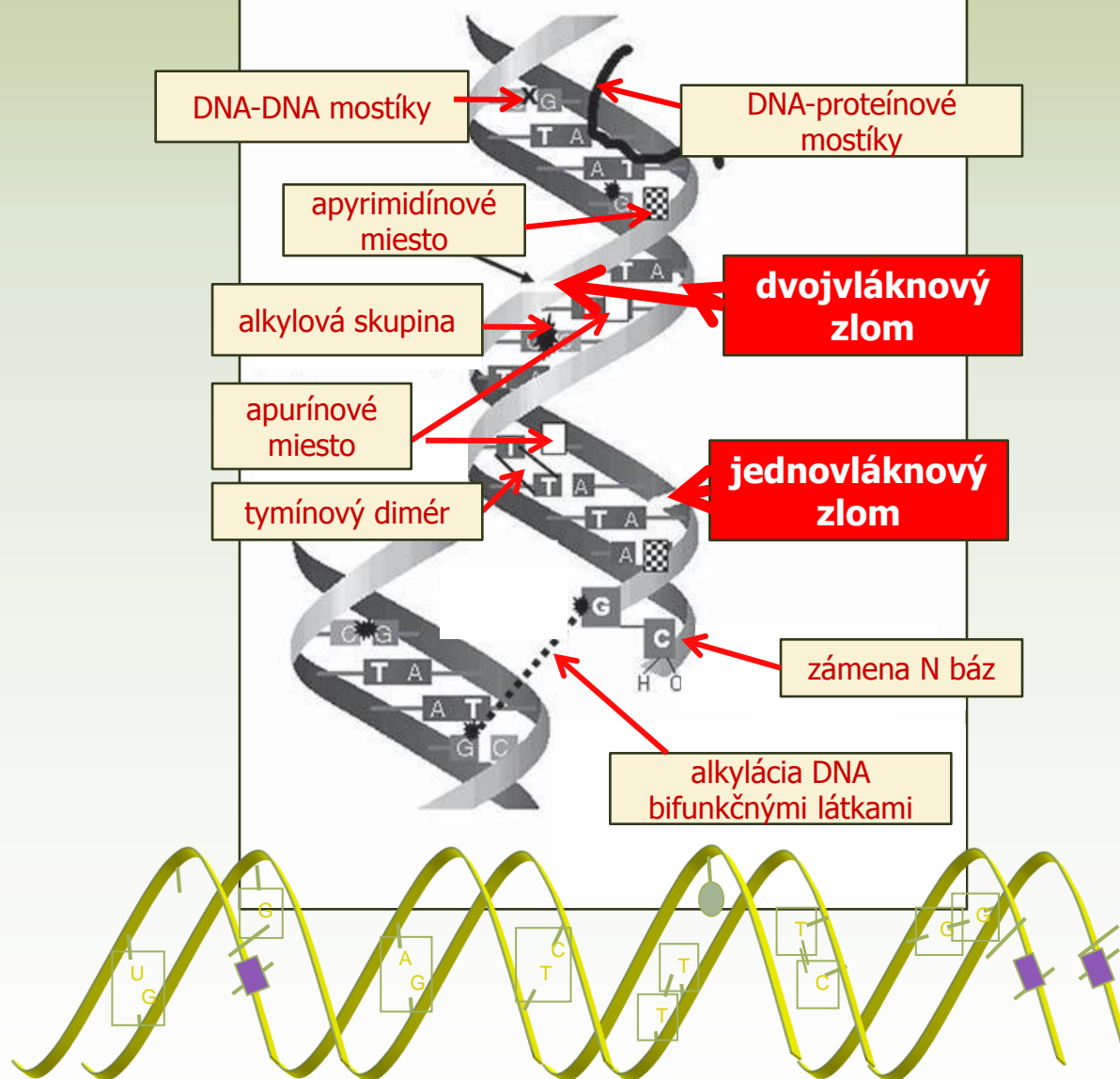
(u človeka nezlúčiteľné so životom)



Chemické, fyzikálne a biologické faktory s genotoxickými účinkami

- viac ako 100 000 organických látok a zlúčenín negatívne vplyva na zdravotný stav jedinca
- 3500 chemických látok má genotoxický účinok
- 800 látok má výrazne mutagénny účinok
- 45% populácie exponovanej chemickým látkam 3,5% karcinogénom

CIEĽOVÉ MIESTA DNA



Genotoxické látky

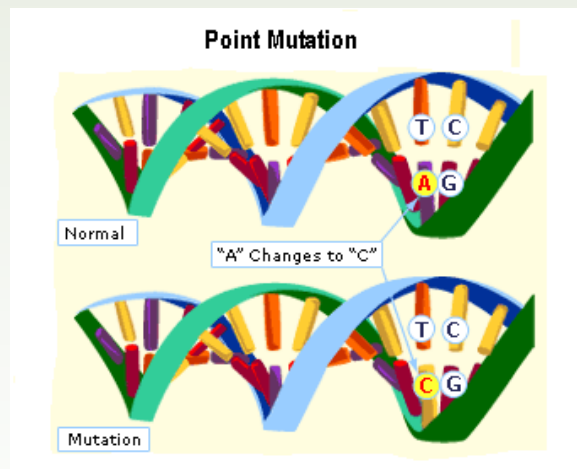
látky, ktoré spôsobujú zmeny genetického materiálu v jeho štruktúre alebo v sekvencii báz, na úrovni nukleových kyselín, génov alebo chromozómov

Rozdelenie genotoxických látok

Mutagény

Karcinogény

Teratogény



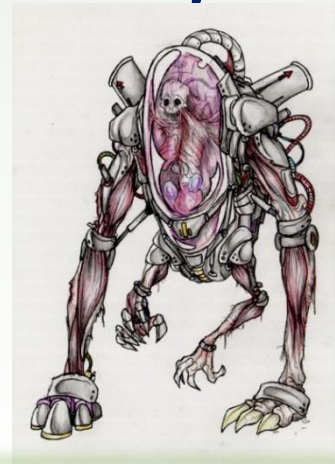
Mutagény



fyzikálne, chemické, biologické faktory,
spôsobujú v organizme zmenu genetickej informácie
priamym alebo nepriamym poškodením štruktúry DNA

- zvyšuje sa frekvencia génových zmien
- niektoré poškodzujú bunky
- prebiehajú počas celého procesu reprodukcie bunky
- vedú k vzniku nádoru

Následkom mutagénov vznikajú
indukované mutácie



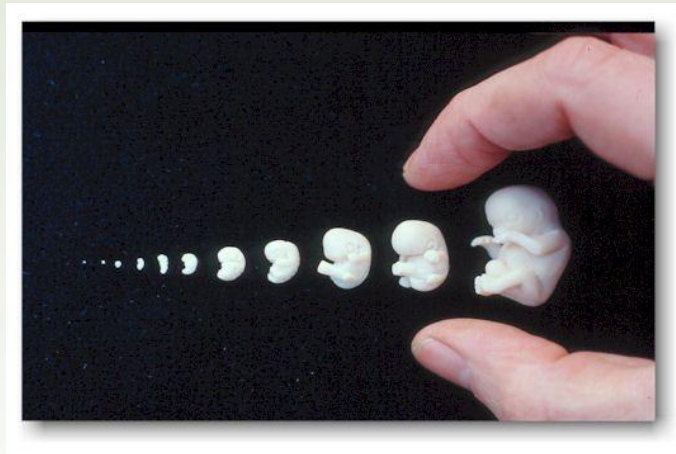
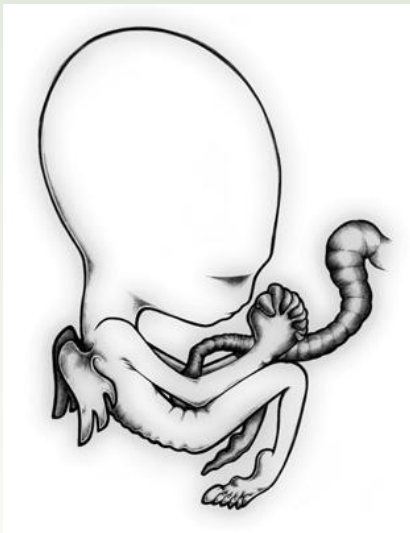
Karcinogény

chemické látky, fyzikálne faktory, modifikujú štruktúru alebo expresiu DNA génu bunky, iniciujú vznik karcinómu, alebo podporujú proces malígnej transformácie



Teratogény

faktory (IŽ, chemické látky, vírusy), zasahujú do normálneho vývoja embrya alebo plodu, zvyšujú incidenciu kongenitálnych malformácií



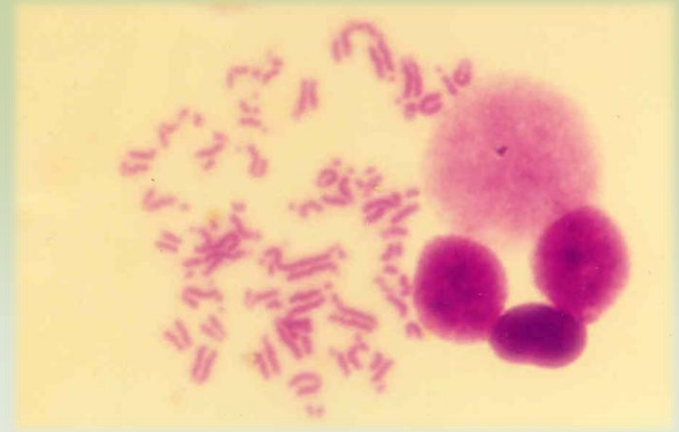
Xenobiotiká

prírodné alebo umelo syntetizované chemické látky, pre organizmus cudzie (lieky, pesticídy, alkaloidy, znečisťujúce látky, toxíny a metabolity tvorené hubami, rastlinami a zvieratami), v biotransformovanom stave
Môžu vyvolávať poškodenia DNA, poruchy replikácie môžu viesť k ireverzibilným mutáciám, vzniku nádorov a/alebo k progresii karcinómu



Klastogény

látky alebo činitele, spôsobujú
na chromozómoch zlomy



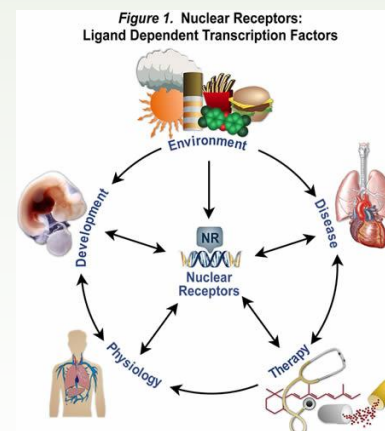
- nadpočetnosť zlomov
- strata / vzájomná prestavba genetického materiálu
- vznik SCE
- tvorba reunion komplexov medzi chromozómami, chromozómových preskupení počas mitózy, meiózy

Charakteristika mutagénov

elektrofilné látky – tvorba kovalentných väzieb s DNA
vznik adičných zlúčenín

alkylačné látky – vysoko reaktívne elektrofilné zlúčeniny,
kovalentne sa viažu na nukleofilné molekuly bunky,
chybné párovanie báz (mutácie), tvorba AP miest

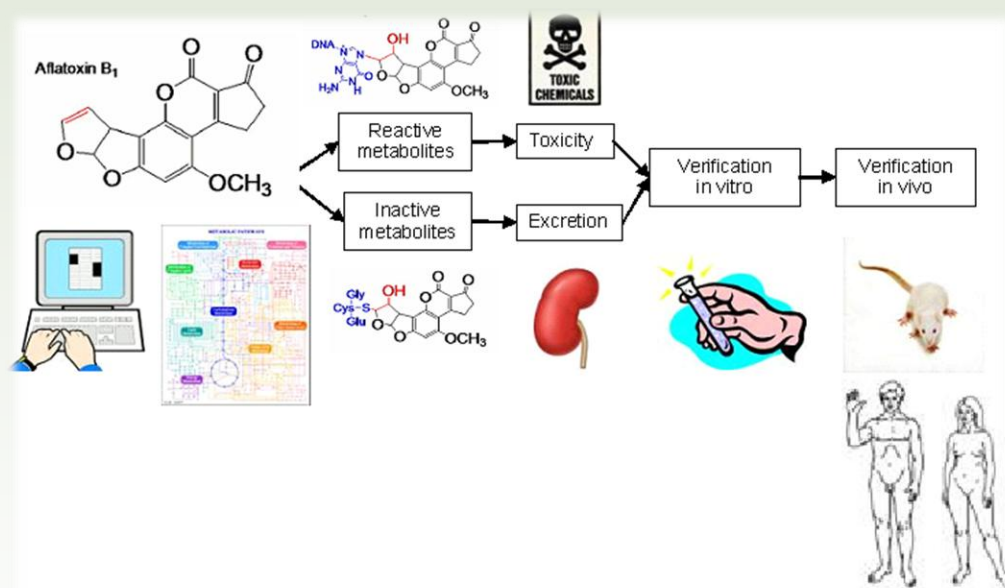
antimetabolity nukleových kyselín – priamy alebo
nepriamy zásah do metabolizmu NK



komplexné zlúčeniny – tvorba komplexov s DNA, zásah do deliacich procesov buniek – genómové mutácie

(ťažké kovy, organokovové zlúčeniny As, Hg, Cd, Cr, Ag)

alkaloidy – bázické látky rastlinného pôvodu, heterocyklicky viazaný dusík (kolchicín, vinkristín)



Účinok mutagénov na človeka



Pôsobenie

priamo - zmeny vznikajú v atómoch alebo molekulách

nepriamo - pôsobenie na molekuly vody vznik radikálov OH

herbicídy, insekticídy, fungicídy, konzervačné prípravky, chemoterapeutiká (Streptomycín), vo vyšších koncentráciách ióny niektorých kovov, organizmu vlastných (Fe, Mn)

Rozdelenie podľa ich charakteru

fyzikálne - rôzne druhy ionizačného a neionizačného žiarenia

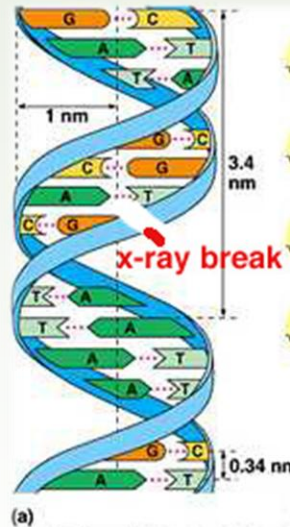
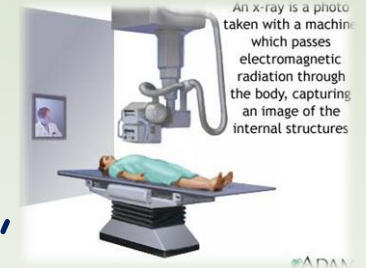
chemické - menia alebo napodobňujú štruktúru dusíkatých báz, včleňujú sa do dvojšpirály DNA

biologické - niektoré onkogénne vírusy a transponibilné elementy

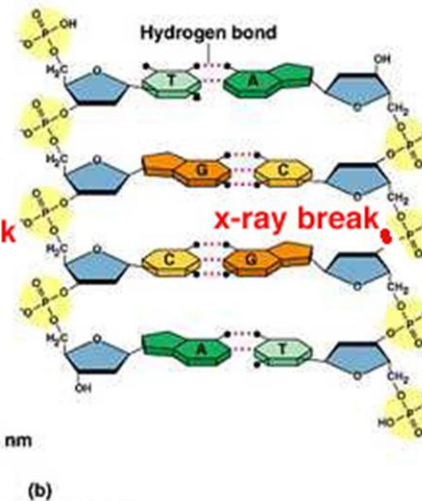
Fyzikálne mutagény

Ionizujúce žiarenie - X lúče RTG žiarenie

- vysoká energia, "vyrazenie" elektrónov z molekuly, tvorba iónov
- ióny narušujú kovalentné väzby v nukleotidoch, vznik zlomov DNA
- vysoké dávky bunky ničia
- využitie pri terapii niektorých nádorov



(a)



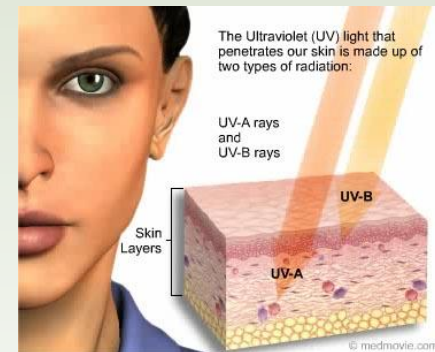
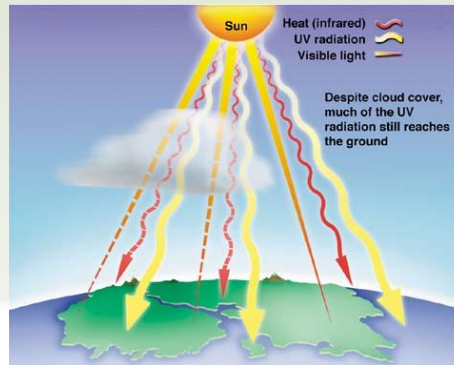
(b)



(c)

Neionizujúce žiarenie, UV žiarenie

nižšia energia, ióny sa netvoria
nepreniká do hĺbky, poškodzuje genetický
materiál buniek kože
254-260 nm - absorpčné maximum pre DNA
mutácie

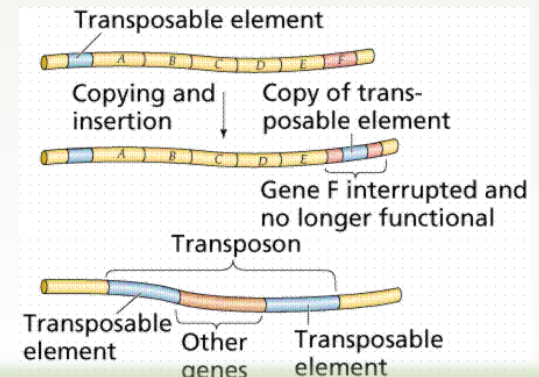
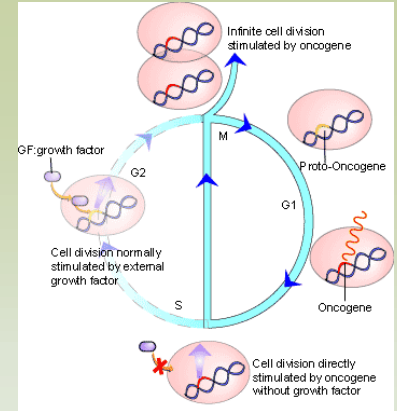


UV light causes
formation of
pyrimidine dimers



Biologické mutagény

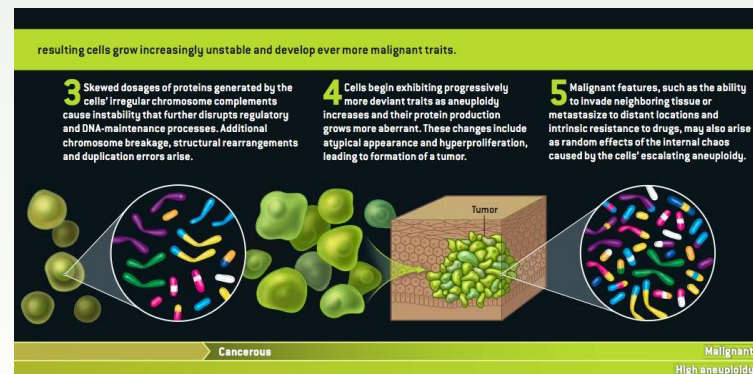
- niektoré skupiny vírusov s GI DNA alebo RNA
- **onkogénne vírusy** - schopné včleniť DNA do hostiteľského genómu na ľubovoľné miesto, gén je prerušený a nefunkčný
- **transponibilné elementy** - DNA v genóme rastlín, živočíchov a človeka niekedy jej premiestnenie v rámci bunky (tzv. „sebecká“ DNA) vznik napr. hemofílie



Karcinogény a ich účinok na človeka

genotoxické karcinogény - zvyšujú výskyt neoplázií mutagénnymi mechanizmami (PAU, nitrózamíny, ťažké kovy)

epigenetické karcinogény - zvyšujú výskyt nemutagénnymi mechanizmami (azbest, organochlórové deriváty, estrogény)



Rozdelenie karcinogénov

Podľa IARC 5 skupín

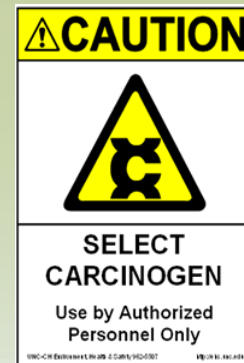
Skupina 1 - **dokázané karcinogény (n=75)**

Skupina 2A - **pravdepodobné karcinogény (n=59)**

Skupina 2B - **možné karcinogény (n=225)**

Skupina 3 - **nie je možné ich hodnotiť ako karcinogény**

Skupina 4 - **pravdepodobne nie sú karcinogény pre ľudí**



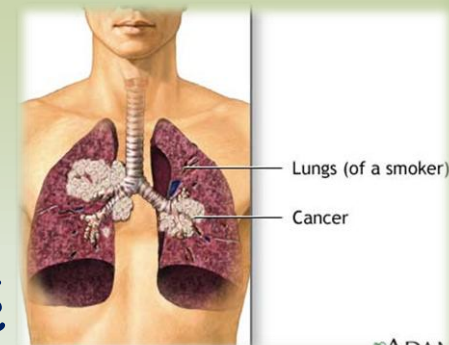
Charakteristika karcinogénov

- premena normálneho tkaniva na malígne je viacstupňový proces
- medzi expozíciou a objavením tumoru je dlhá doba latencie
- pôsobenie iniciátorov je významne zvyšované podpornými faktormi
- incidencia tumorov priamo závisí na dávke skracuje sa doba latencie
- proces karcinogenézy sa zvyšuje s procesom proliferácie buniek



Charakteristika karcinogénov

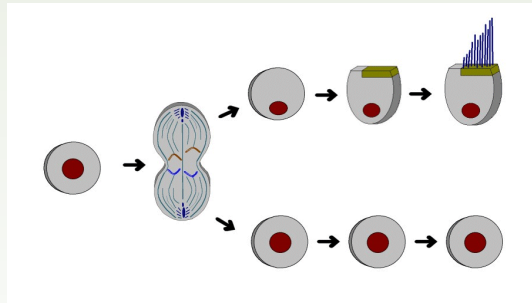
- neexistuje prahová dávka pod ktorou je karcinogén bezpečný
- sú metabolicky aktivované a detoxikované
- aktivované formy karcinogénov sú vysoko reaktívne elektrofilné látky, viazané kovalentnými väzbami medzi C-C a C-H na nukleofilné centrá NK a bielkovín, na ich rozštiepenie je potrebná značná energia



Karcinogenéza

viacstupňový proces, ktorý zahŕňa neprimeranú aktiváciu normálnych génov bunky, ktoré sa stávajú onkogénmi a inaktiváciu tumor supresorových génov

- strata funkcie génov v dôsledku mutácie, chromozómovej prestavby alebo génovej konverzie.
- prejav spontánny, alebo pôsobením exogénnych faktorov

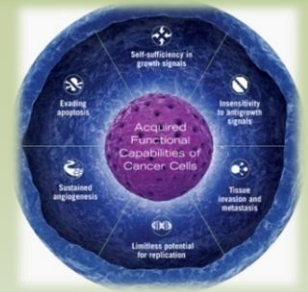


- medzi expozíciou karcinogénu a prvou manifestáciou ochorenia **indukčno-latentné obdobie** (15-25 rokov)

Karcinogénéza

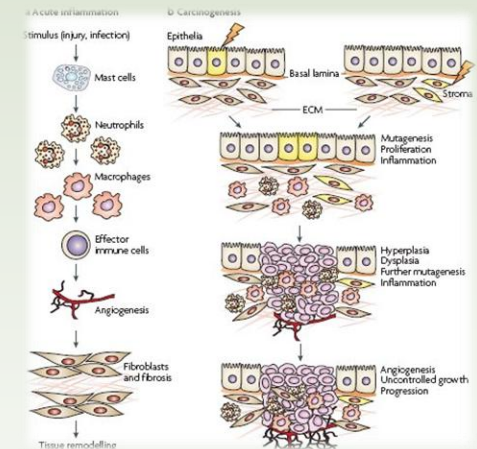
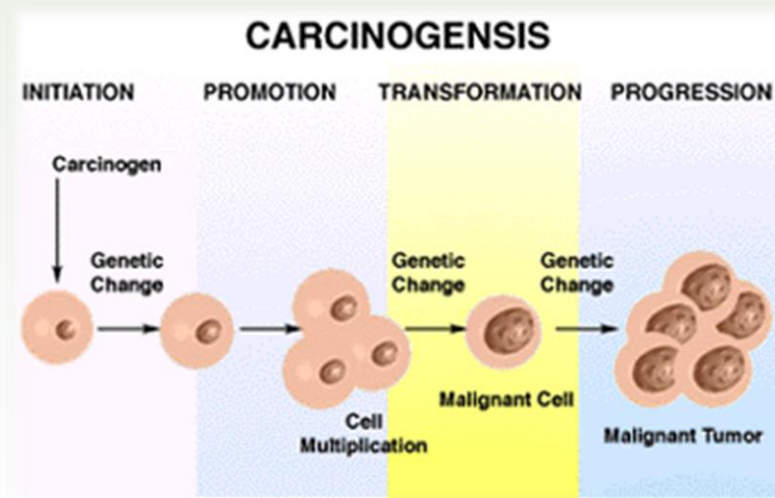
závisí od

- reparačnej schopnosti bunky
- prítomnosti endogénnych a exogénnych činiteľov,
- účinnosti imunitného systému



Stupne manifestácie

Iniciácia
Promócia
Progresia



Proces karcinogenézy

špecifické charakteristiky buniek

- schopnosť rozpúšťať bunkovú stenu
- prechádzať bunkovou membránou
- zostávať nažive v krvnom riečisku
- paralyzovať imunitný systém
- stať sa rezistentnými voči toxickým účinkom liekov a žiarenia
- schopnosť stimulovať angiogenézu

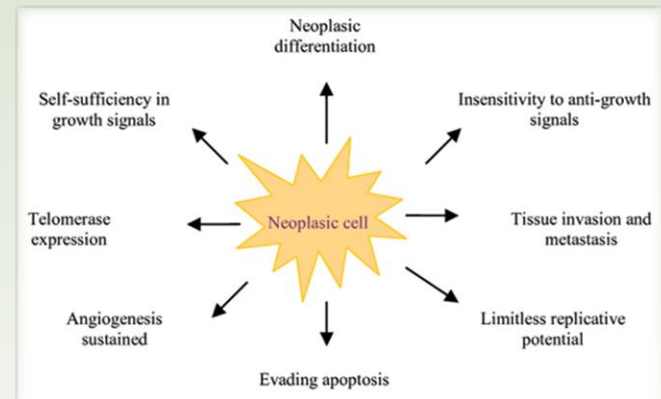


Fig. 1 – Malignant cell characteristics.

Genetická toxikológia

interdisciplinárna veda

- identifikácia mutagénneho a karcinogénneho účinku chemických, fyzikálnych a biologických agensov
- dopad na zdravie a genetický materiál človeka

Genetické monitorovanie

- monitorovanie zmien genetického materiálu za účelom zisťovania biologických dôsledkov expozície mutagénom

Biomarkery

- označenie markerov na akejkol'vek úrovni, biochemické, bunkové, tkanivové, celotelové, význam ako signály zdraviu škodlivej
- expozície, vnímavosti na chorobu, včasné znaky budúcej choroby

Rozdelenie biomarkerov

- biomarkery expozície
- biomarkery účinku
- biomarkery vnímavosti

Biomarkery expozície (dávky)

- merateľné indikátory vonkajšej dávky alebo metabolitu,
- zisťovanie jedincov s absorpciou nadmerného množstva látky
- rýchlosť poklesu-doba počas ktorej sú jedinci ovplyvňovaní expozíciou
- pomalý pokles koncentrácie-vysoká expozícia, alebo viac nízkych v dlhšom časovom období
- stanovenie metabolitov v moči, DNA aduktov, proteínových aduktov, jednoreťazcových zlomov DNA

DNA adukty

- kovalentne viazané produkty elektrofilného ataku reaktívnych metabolitov xenobiotík s nukleofilnými centrami makromolekúl
- hlavne väzba s NH-, OH- a SH- skupinami molekúl proteínov a DNA

Proteínové adukty

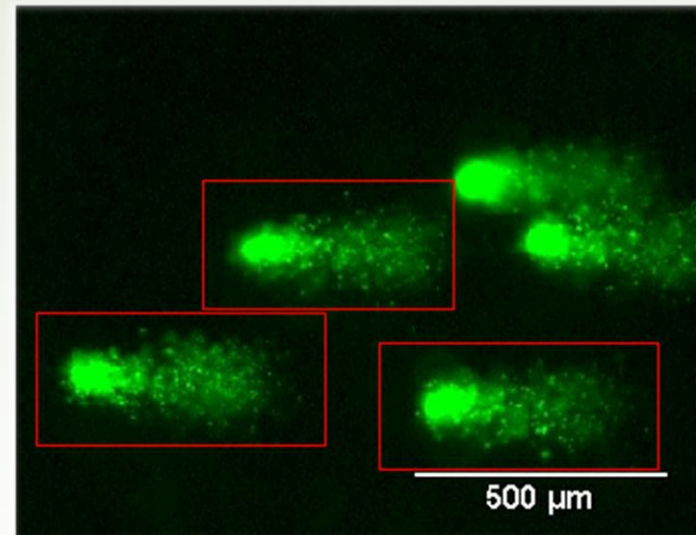
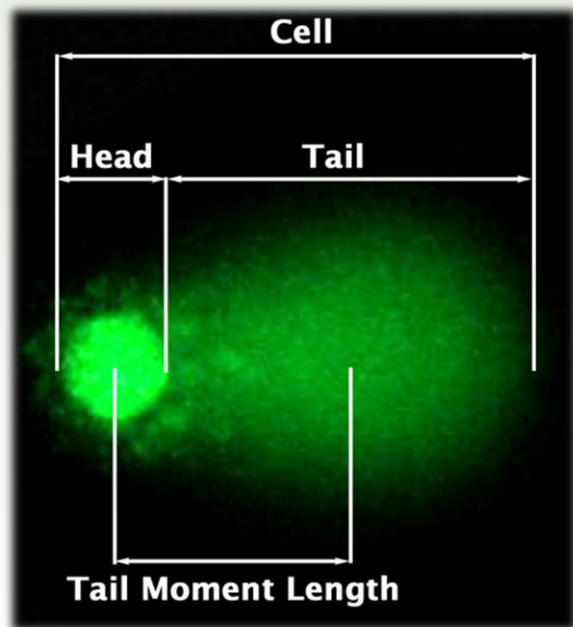
- tvoria v bunke komplex, v ktorom chemická látka je kovalentne naviazaná na proteín
- mnohé elektrofilné chemické látky alebo ich metabolity známe svojou reakciou s aminokyselinou bočného reťazca hemoglobínu a albumínu, tie sú ako makromolekuly, využíva sa ich dlhodobé prežívanie
- najčastejšie hemoglobínové adukty, menej albumínové

Jednoreťazcové zlomy DNA

- vznik SSB - pôsobením rôznych chemických látok alebo žiarenia
- metóda jednobunkovej gélovej elektroforézy **Comet assay** - **koméťový test**
- meranie stupňa uvoľnenia DNA od jadra kométy, priamo úmerný jej poškodeniu a fragmentácii vnútri bunky
- zvýšený pohyb DNA spôsobený zlomami vlákien alkalicky labilných miest a nekompletných miest excíznej reparácie
- znížený pohyb DNA spôsobený DNA-DNA prekrížením, DNA-proteínovými interakciami, prekríženia stabilizujú DNA



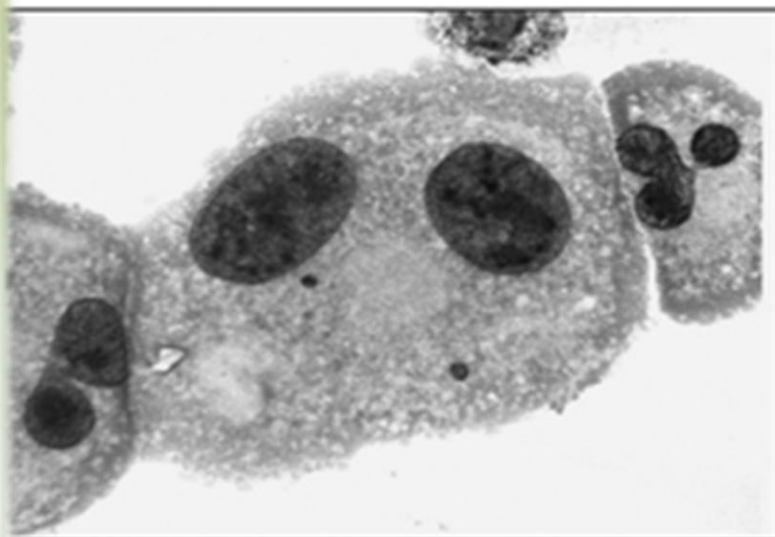
- tvar kométy slúži hodnotenie niektorých parametrov poškodenia:
 - dĺžka chvosta (TL) od centra jadra ku koncu chvosta
 - percento DNA v chvoste (TD)
 - tzv. tail moment (TM), súčinom dĺžky chvosta a percenta DNA v chvoste ($TM = TL \times TD$)



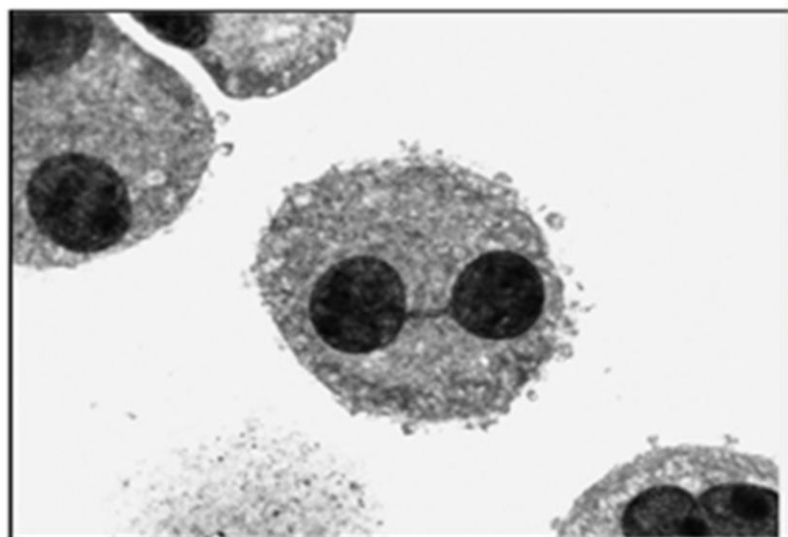
Biomarkery účinku

- merateľné indikátory stupňa poškodenia cieľového tkaniva alebo orgánu po expozícii
- ako závislé premenné v štúdiu vzťahu expozícia-choroba
- sesterské chromatidové výmeny
- mikrojadrá
- chromozómové aberácie
- mutácie v lókuse génu (HPRT)
- aktivácia onkogénov, ktoré kódujú proteíny p53 alebo p21 merané na úrovni proteínov

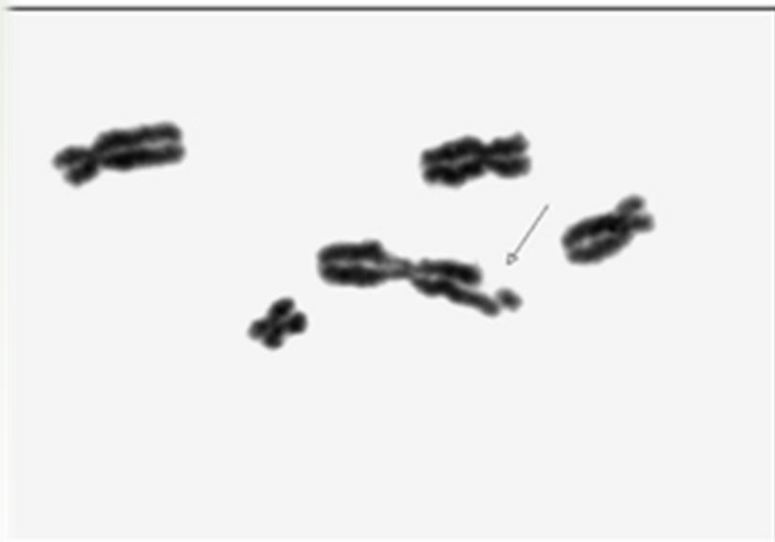
a Micronuclei



b Nucleoplasmic Bridge



c Chromatid Break

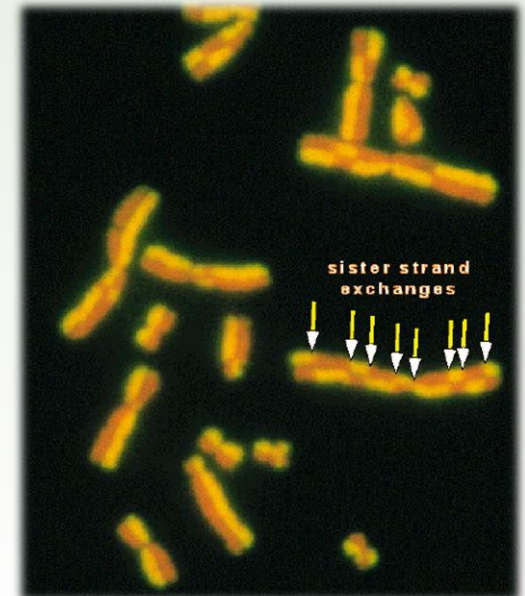
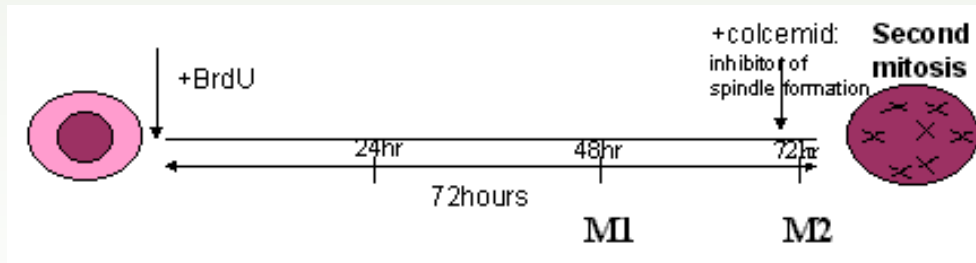


d Tetraploid Cell



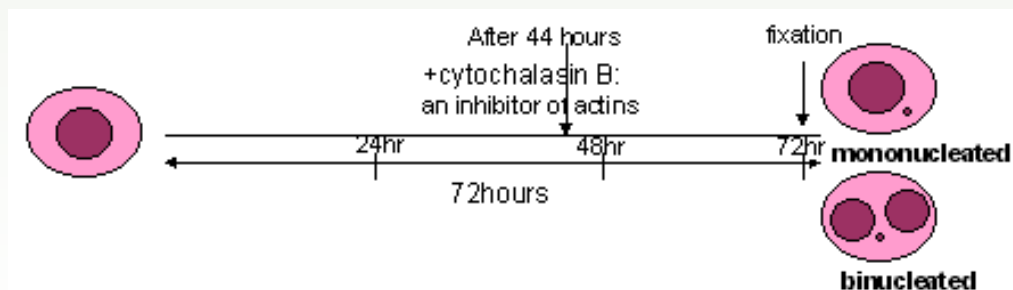
Sesterské chromatidové výmeny (SCE)

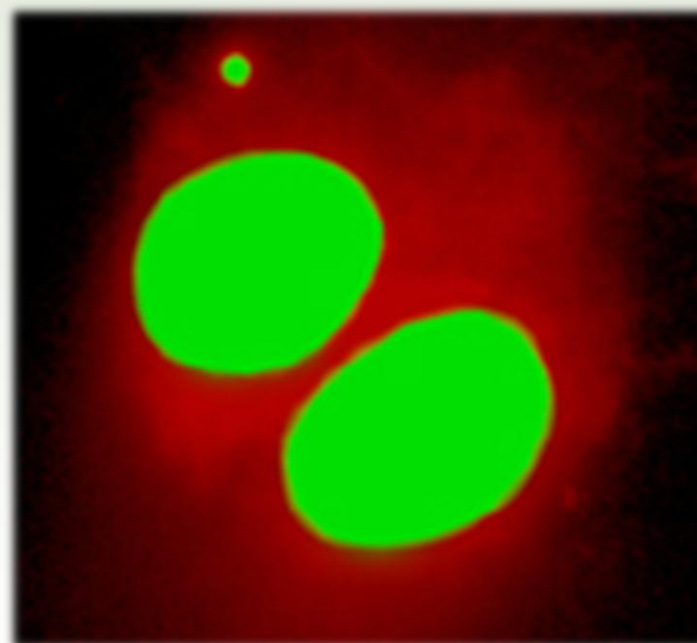
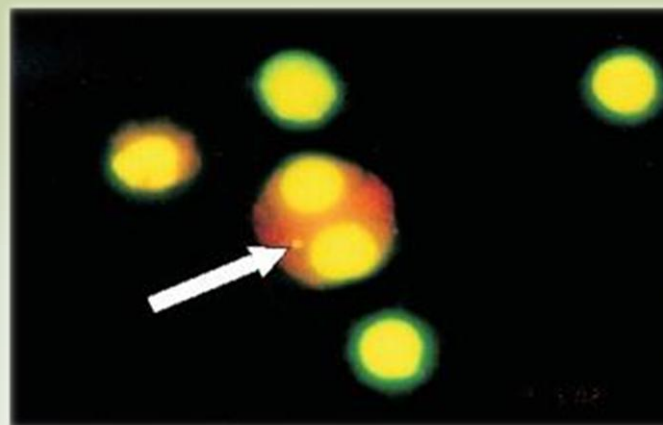
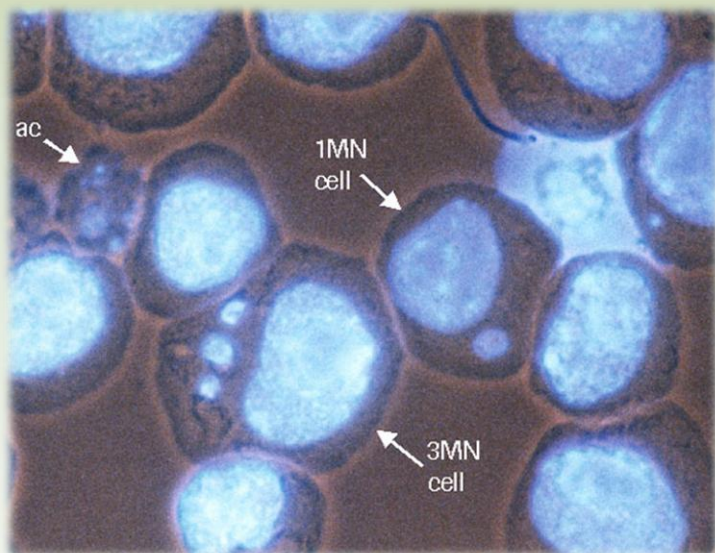
- symetrická výmena homologických chromatidových častí medzi sesterskými chromatidami jedného chromozómu
- cytologický prejav zlomu alebo prestavby DNA
- nespôsobujú zmenu morfológie chromozómu
- odraz interakcie chemickej látky s DNA



Mikrojadrový test (MN)

- frekvencia mikrojadier v stimulovaných periférnych lymfocytoch
- vznik v dôsledku chromozómových zlomov-tvorené AF, poruchou funkcie deliaceho vretienka- tvorené celým chromozómom nezačleneným do novovytvoreného jadra
- analýza lymfocytov po jednom bunkovom delení
- na identifikáciu týchto lymfocytov inhibícia cytokinézy pomocou Cytochalazínu B

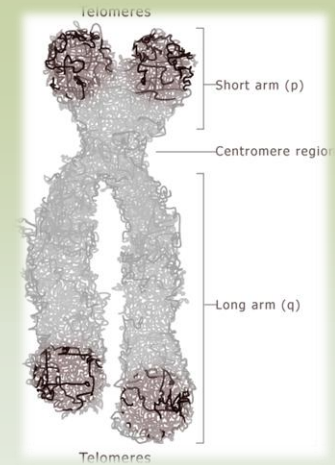




Chromozómová analýza (CALPL)

- indukované ako zlomy DNA rôznymi mutagénmi
- zlom DNA sa môže reparaovať, vznik pôvodného stavu
- neprávna reparácia, neuskutočnená reparácia-prítomnosť v metafázových bunkách
- najčastejšie v periférnych lymfocytoch
- bunky GO fázy stimulované na delenie nešpecifickým antigénom - PHA
- po 46,5 zastavenie delenia v metafáze kolcemidom v prvej mitóze

- CHA rozdelené do dvoch tried
 - chromatidový typ (CHTA)
zasiadnutá jedna chromatida
 - chromozómový typ (CHSA)
zasiadnuté obidve chromatidy
- IŽ indukuje CHSA typ - dicentrické chromozómy, inverzie, ring chromozómy v G0 alebo G1 fáze BC, tzn. pred replikáciou
- CHTA typ - zlomy a gapy tvorené počas S alebo G2 fázy, tzn. počas alebo po replikácii
- väčšina chemických mutagénov sú S-dependentné klastogény, preto produkujú CHTA typ



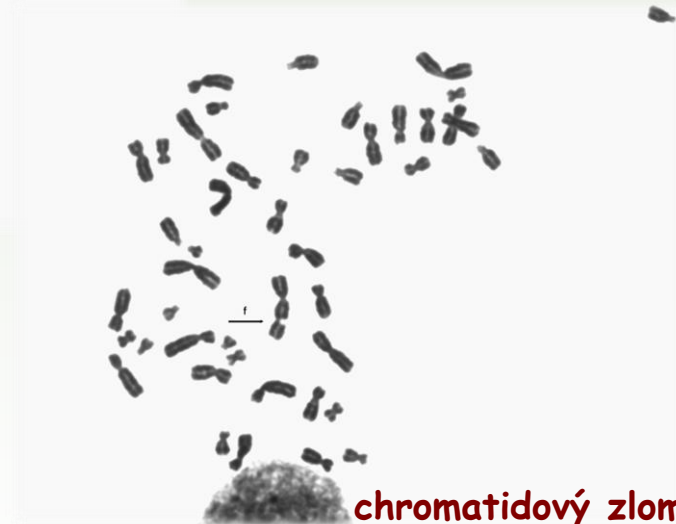
Chromatidový typ aberácií (CTA)



minute

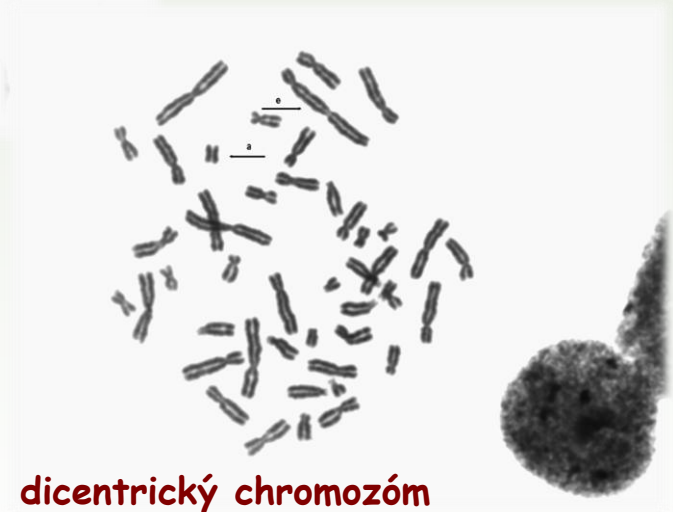
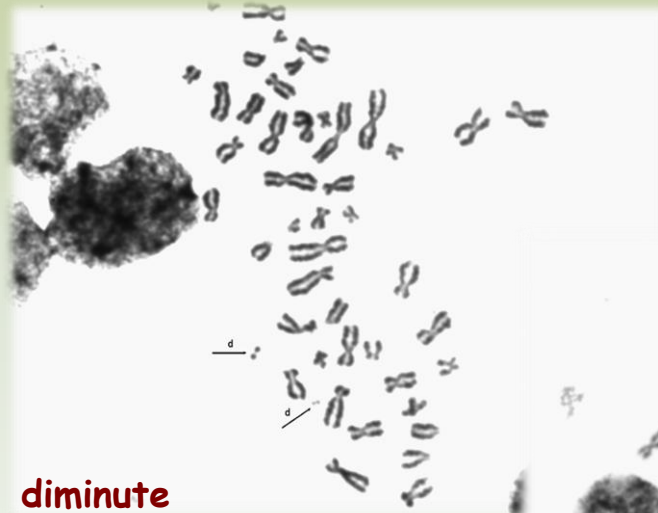


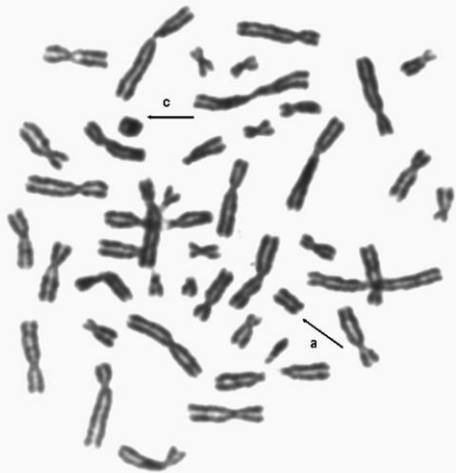
reunion komplex



chromatidový zlom

Chromozómový typ aberácií (CSA)





ring chromozóm

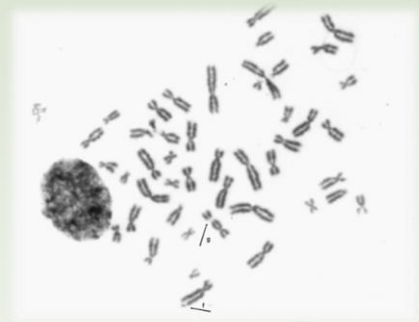


tricentrický chromozóm

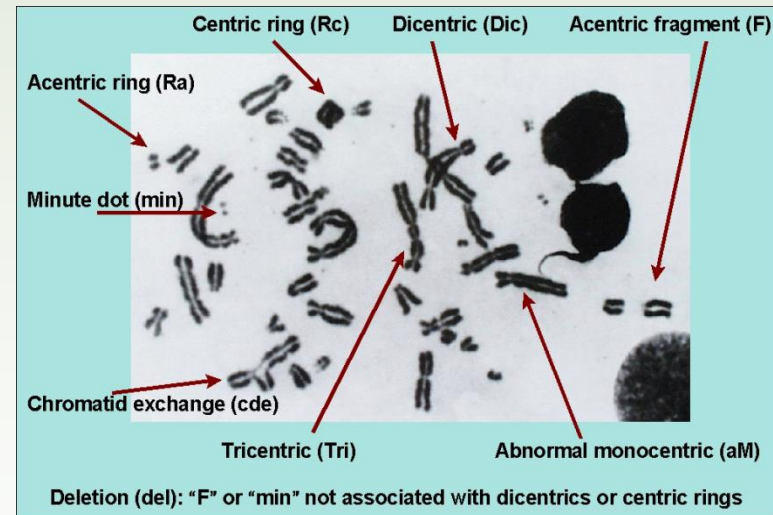
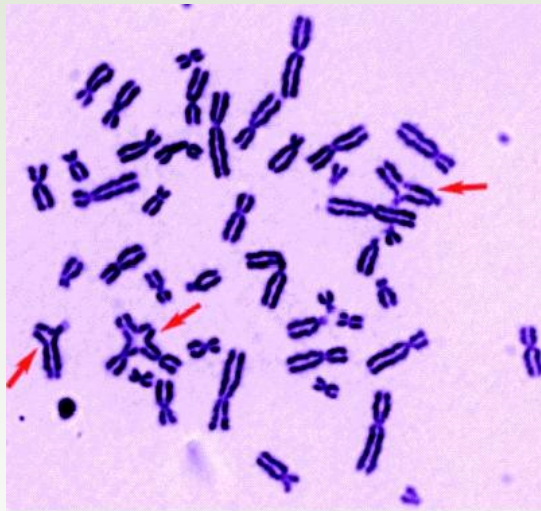
Aberantné bunky AB.B.

chromatidový zlom
chromozómový zlom

chromatidová
chromozómová výmena



Spontánna úroveň chromozómových aberácií u neprofesionálne exponovanej populácie je do 2 % aberantných buniek (AB.B.)



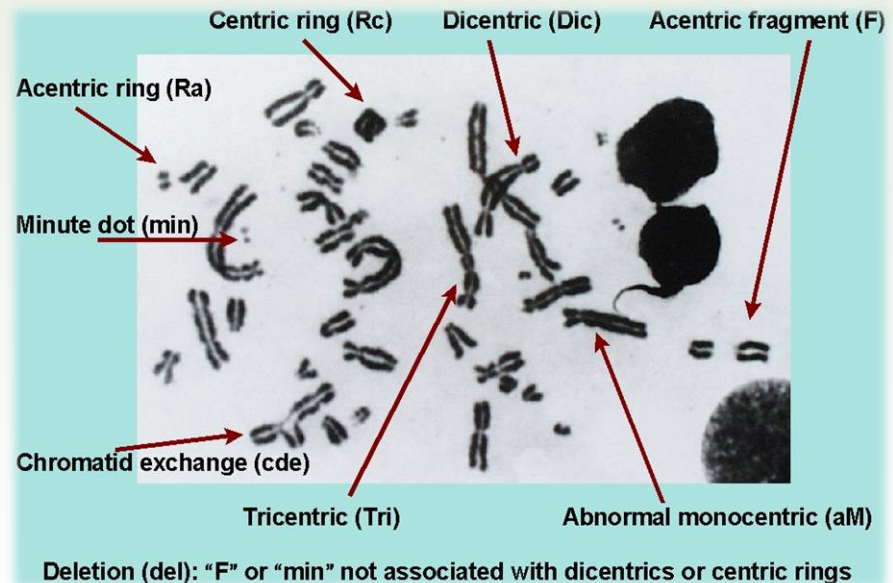
Hodnoty AB.B. 2-4%
zvýšená expozícia genotoxickým látkam



Hodnoty >4%
vysoká expozícia genotoxickým látkam

Uplatnenie cytogenetickej analýzy

- diagnostická metóda - určenie syndrómov
- diagnostika VVCH
- diagnostika nádorov (leukémia)
- prenatálna diagnostika (bunky plodu)
- hodnotenie buniek za spontánnych potratov a iných problémov reprodukcie
- hodnotenie chromozómov u rizikových profesií (mutagény)
- *in vitro* experimenty na mutagenézu nových chemikálií, liekov, prísad do potravín



Záver

- 1/3 populácie - nádorové ochorenia
- 1/5 všetkých úmrtí - na nádorové ochorenie
- 20% všetkých liečebných nákladov - na liečbu nádorov

**Zvýšená instabilita chromozómov -
jeden z významných indikátorov
možného vývoja karcinogénneho
procesu v organizme**





ĎAKUJEM ZA POZORNOST'

