

WPROWADZENIE DO MEDYCYNY MOLEKULARNEJ

MUTAGENEZA

DR N. MED. AGNIESZKA SARNECKA

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

ZMIENNOŚĆ

Występowanie dziedzicznych lub niedziedzicznych różnic wśród:

- komórek jednego organizmu (zmienność wewnątrzosobnicza),
- wśród osobników tej samej populacji (zmienność osobnicza)
- między populacjami (zmienność grupowa)

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

ZMIENNOŚĆ

1. MUTACYJNA

1.1. *mutacje genowe* (punktowe – tranzycje <A/G lub T/C>, transwersje <A/T, A/C, T/G, G/C>; delecje; inwersje; insercje = addycje)

1.2. *mutacje chromosomowe* (aberracje)

1.2.1. strukturalne (inwersje, translokacje, duplikacje, delecje = deficyjne, chromosomy koliste <chr. 4, 13, 18, X>, izochromosomy <podział poprzeczny centromeru chromosomu metafazowego-połączenie ramion p lub q)

1.2.2. liczbowe (aneuploidie : mono-, nulli-, polisomie)

1.3. *mutacje genomowe* (euploidie)

1.3.1. autopoliploidie (tri-, tetra-, pentaploidie itd., zwielokrotnienie o ten sam zestaw chromosomów)

1.3.2. allopoliploidie (amfiploidie, dwa lub więcej niehomologicznych zespołów chromosomów, w świecie roślin gatunki pszen-żyto, kapusto-rzodkiew)

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

ZMIENNOŚĆ

2. REKOMBINACYJNA

- 2.1. *rekombinacja homologiczna* (crossing-over, wymiana odcinków homologicznych między dwoma chromosomami)
- 2.2. *rekombinacja zlokalizowana* (wymiana niehomologicznych ale specyficznych fragmentów np. tworzenie przeciwciał i receptorów limfocytów T)
- 2.3. *rekombinacja transpozycyjna* (wbudowywanie transpozonów w nowe miejsca w genomie)

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

ZMIENNOŚĆ

3. FENOTYPOWA

3.1. *zmienność fluktuacyjna* - charakter ciągły np. wzrost, masa ciała, IQ, pigmentacja

3.2. *zmienność alternatywna*, skokowa - charakter nieciągły, umożliwiający określenie w jednostkach miary np. układ grupowy Rh

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MUTACJE

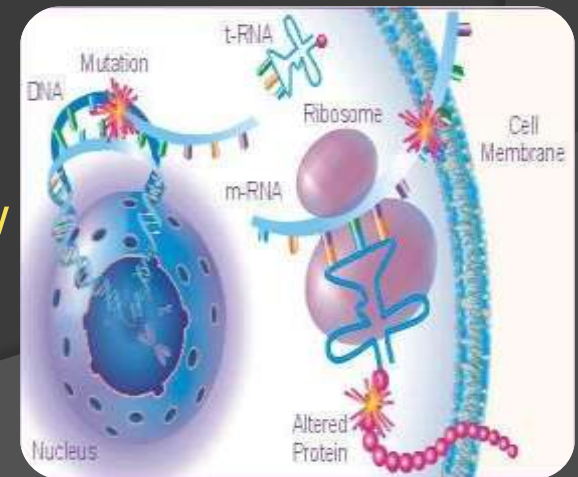
- ✓ nagłe zmiany dziedziczne zachodzące w organizmie
- ✓ genowe
- ✓ chromosomowe
- ✓ genomowe



MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MUTACJE

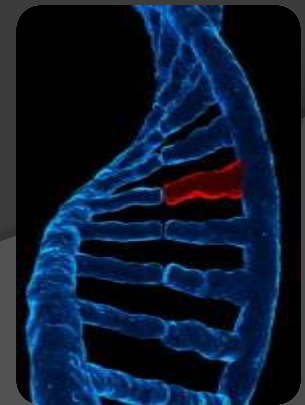
- ✓ wynik przemieszczania fragmentów DNA (transpozycja) i rearanżacji (rekombinacje, crossing-over), przypadkowych nieprawidłowości podczas włączania nukleotydów w procesie replikacji
- ✓ spontaniczne
- ✓ indukowane
- ✓ dynamiczne (niestabilne) - ekspansja tripletów
- ✓ letalne



MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MUTACJE

- ✓ nieme-brak wpływu na ekspresję genu
- ✓ zmieniające poziom ekspresji (wzrost lub zmniejszenie)
- ✓ związane z utratą lub nabyciem funkcji białka
- ✓ powodujące syntezę zmienionej struktury białka, ale o takiej samej funkcji



MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

CZYNNIKI MUTAGENNE

MUTAGENY-czynniki indukujące powstanie zmian genetycznych powyżej poziomu mutacji spontanicznych

Mogą powodować:

- Kancerogenezę
- Teratogenezę
- Śmierć komórek lub całego organizmu

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MUTAGENY CHEMICZNE

- kwas azotawy
- hydroksylamina
- związki alkilujące np. sulfonian dietylowy
- analogi zasad azotowych np. 5-bromouracyl
- barwniki akrydynowe
- wolne rodniki telnowe
- nadtlenki
- policykliczne węglowodory aromatyczne
- niektóre leki (cytostatyki <cyklofosfamid, azatiopryna, ametopteryna>, antybiotyki <aktynomycyna C i D, daunomycyna>)
- związki chemiczne występujące w produktach spożywczych np. środki konserwujące takie jak azotyn sodowy

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

Działanie mutagenów chemicznych

- Zmiany w budowie chemicznej zasad azotowych → zamiana par zasad w łańcuchu DNA
- Alkilacja → depurynizacja DNA (możliwe tranzycje lub transwersje)
- Analogi zasad azotowych → tranzycje
- Barwniki akrydynowe → interkalacja pomiędzy pary zasad azotowych w DNA, rozsunięcie (delecje, insercje, zmiany ramki odczytu)
- Wolne rodniki → rozerwanie łańcucha fosfocukrowego, znaczenie w chorobach autoimmunologicznych

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MUTAGENY FIZYCZNE

- **promieniowanie jonizujące** (promienie X, α , β , γ , promieniowanie kosmiczne, protony i neutrony emitowane podczas rozkładu pierwiastków promieniotwórczych) → uszkodzenia wiązań fosfodiesterowych (pęknięcia nici, modyfikacje zasad azotowych, uszkodzenia pentozy, sieciowanie DNA, sieciowanie białek)
- **promieniowanie niejonizujące** (promienie ultrafioletowe UVA i UVB) → wytwarzanie dimerów pirymidynowych, zwłaszcza T-T (zaburzenia w replikacji DNA, tranzycje, transwersje)

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MUTAGENY BIOLOGICZNE

- wirusy DNA (*Herpes virus, Papilloma virus, Hepatitis B i C virus*)
- Wirusy RNA (retrowirusy)

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MECHANIZMY NAPRAWY DNA

1. Enzymy biorące udział w naprawie uszkodzeń:
 - polimerazy DNA: jądrowe (α , β , δ , ϵ) oraz mitochondrialna γ
 - ligazy DNA
 - glikozylazy DNA
 - endonukleazy apurynowe i apirymidynowe
 - białka pomocnicze
 - fotoliazy DNA
 - metylotransferaza O⁶-metyloguanina-DNA (MGMT)

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MECHANIZMY NAPRAWY DNA

1. **naprawa niekompletna** – powstanie mutacji genowych lub aberracji chromosomowych, komórka może przejść na szlak apoptotyczny
2. **naprawa kompletna**
 - naprawy zachodzą w okresie przed, w trakcie lub po replikacji
 - nić DNA łącznikowego jest naprawiana szybciej niż DNA nawinięty na nukleosom
 - euchromatyna jest naprawiana szybciej od nieaktywnej transkrypcyjnie heterochromatyny

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

MECHANIZMY NAPRAWY DNA

SYSTEM NAPRAWY	SUBSTRAT
bezpośrednia rewersja uszkodzenia (DNA jądrowe i mtDNA)	alkilowane zasady azotowe
wycinanie zasad azotowych	utlenione zasady azotowe, pęknięcia jednoniciowe DNA
wycinanie nukleotydów (usuwanie większości uszkodzeń DNA)	uszkodzenia wewnątrz i międzyniciowe zaburzające konformację DNA
wycinanie błędnie sparowanych zasad azotowych	błędy replikacji, miejsca błędnego parowania po rekombinacji
rekombinacja	pęknięcia dwuniciowe

MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

POLIMORFIZMY

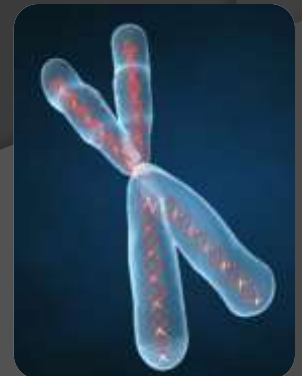
- ✓ stałe i jednoczesne występowanie w danej populacji dwu lub więcej form o odrębnych genotypach (dwu lub więcej alleli w tym samym locus), pomiędzy którymi nie ma form przejściowych
- ✓ częstość $\geq 0,01$
- ✓ zrównoważony (zbalansowany)
- ✓ nietrwały (przejściowy)
- ✓ neutralny (obojętny)



MECHANIZMY I ZASADY DZIEDZICZENIA

SPRZĘŻENIA, ASOCJACJE

- ✓ sprzężenie - relacje pomiędzy dwoma genami
- ✓ asocjacja – statystyczną możliwość współistnienia allelu



CHOROBY UWARUNKOWANE GENETYCZNIE

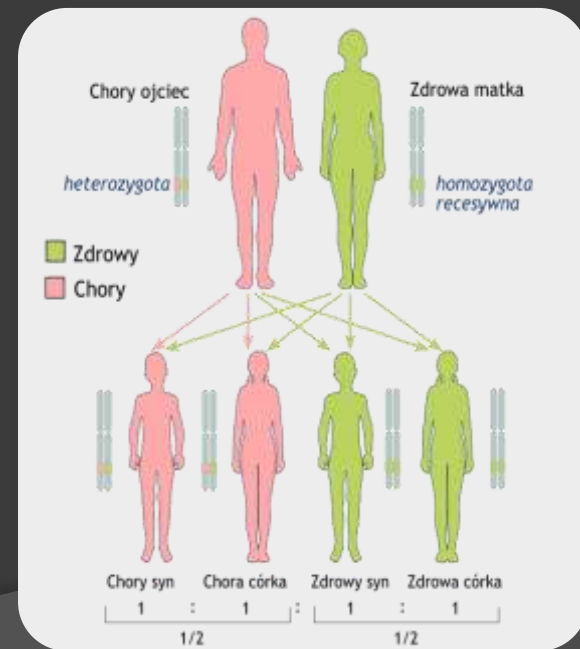
- ✓ związane z defektami genetycznymi
- zmiany pojedynczych nukleotydów
- utrata lub obecność dodatkowego chromosomu
- ✓ uwarunkowanie poligenowe (wieloczynnikowe)

CHOROBY UWARUNKOWANE GENETYCZNIE

- ✓ aberracje chromosomowe
- ✓ monogenowe
 - autosomalne dominujące
 - autosomalne recesywne
 - sprzężone z chromosomem X
- ✓ wywołane zmianami w różnych genach
- ✓ związane z powtórzeniami trójnukleotydowymi
- ✓ epigenetyczne
- ✓ mitochondrialne
- ✓ wielogenowe

CHOROBY AUTOSOMALNE DOMINUJĄCE

- ✓ achondroplazja
- ✓ zespół policystycznych nerek typu dorosłych
- ✓ dziedziczne neuropatie czuciowo-ruchowe
- ✓ rodzinna hipercholesterolemia
- ✓ dziedziczna telangiektazja krwotoczna
- ✓ zespół Marfana
- ✓ wrodzona łamliwość kości
- ✓ otoskleroza
- ✓ porfirie
- ✓ choroba von Willebranda



CHOROBY AUTOSOMALNE DOMINUJĄCE

Achondroplazja

- ✓ najczęstsza genetycznie uwarunkowana choroba układu szkieletowego (1/20 tys.-1/40 tys. żywo urodzonych noworodków)
- ✓ objawy kliniczne
 - niskorosłość
 - skrócenie kończyn
 - nadmierna lordoza lędźwiowa
 - wielkogłowie

CHOROBY AUTOSOMALNE DOMINUJĄCE

Achondroplazja

- ✓ w 80% wywiad rodzinny ujemny
- ✓ choroba powodowana przez mutację powstającą *de novo* na chromosomie 4 (od ojca) – gen receptora czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR3, 4p16)
- ✓ Osoby chore-heterozygotyczni nosiciele, homozygotyczność =niskorosłość letalna
- ✓ związek z zaawansowanym wiekiem ojca a częstością występowania achondroplazji

CHOROBY AUTOSOMALNE DOMINUJĄCE

Osteogenesis imperfecta

- ✓ zaburzenie struktury kolagenu (delikatna budowa kości związana z ich obniżoną gęstością)
- ✓ częste złamania kości i nieprawidłowe ukształtowanie kości długich
- ✓ możliwe niebieskie zabarwienie twardówek, niedosłuch o późnym początku, niskorosłość, skolioza i wiotkość więzadłowa
- ✓ częstość 1/10 tys – 1/20 tys. żywo urodzonych noworodków

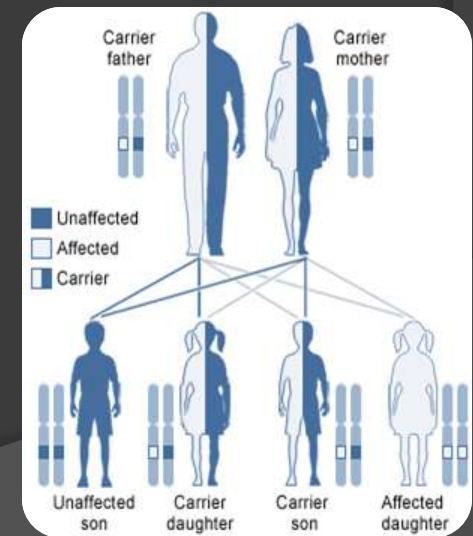
CHOROBY AUTOSOMALNE DOMINUJĄCE

Osteogenesis imperfecta

- ✓ klasyfikacja choroby na cztery typy OI (I-IV)
- ✓ typ I najłagodniejszy-pourazowe złamania kości
- ✓ typ II najcięższy, letalny już w okresie okołoporodowym
- ✓ zmiany w budowie cząsteczki kolagenu (prawidłowo 3 łańcuchy: 2COL1A1 i 1 COL1A2, w helisie co trzeci aminokwas to glicyna), lub zmniejszeniu produkcji prawidłowego kolagenu
- ✓ diagnostyka-identyfikacja mutacji, obserwacja ruchliwości i ilości prokolagenu 1 w elektroforezie

CHOROBY AUTOSOMALNE RECESYWNE

- ✓ niedobór deaminazy adenozyiny
- ✓ niedobór α 1-antytrypsyny
- ✓ wrodzony przerost nadnerczy
- ✓ mukowiscydoza
- ✓ rodzinna gorączka śródziemnomorska
- ✓ choroba Gauchera typu 1
- ✓ hemoglobinopatie
- ✓ hemochromatoza wrodzona
- ✓ mukopolisacharydoza typu 1
- ✓ fenylketonuria
- ✓ rdzeniowy zanik mięśni
- ✓ choroba Wilsona



CHOROBY AUTOSOMALNE RECESYWNE

Mukowiscydoza

- ✓ spowodowana mutacjami w genie kodującym przezbłonowy regulator przewodnictwa związany z mukowiscydozą CFTR (7q31.2)
- ✓ związana z zaburzeniami wydzielania chlorków przez komórki nabłonka różnych narządów (zwłaszcza układu oddechowego)
- ✓ częstość 1/2500 urodzeń
- ✓ średnia długość życia osób z mukowiscydozą około 30 lat
- ✓ CFTR-opatie

CHOROBY AUTOSOMALNE RECESYWNE

Fenyloketonuria

- ✓ wrodzony błąd metaboliczny zaburzający przemianę fenyloalaniny w tyrozinę
- ✓ podwyższony poziom L-fenyloalaniny skutkuje niepełnosprawnością intelektualną, a u kobiet w ciąży może prowadzić do małogłowia oraz wrodzonej wady serca płodu
- ✓ obniżenie stężenie tyrozyny u chorych nieleczonych powoduje hipopigmentację skóry i włosów
- ✓ spowodowana mutacjami w genie kodującym hydroksylazę fenyloalaniny (PAH 12q22-24)
- ✓ diagnostyka (pierwsza choroba)



CHOROBY SPRZĘŻONE Z CHROMOSOMEM X

- ✓ dystrofia mięśniowa Duchenne`a
- ✓ choroba Fabry`ego
- ✓ hemofilia
- ✓ mukopolisacharydoza typu 2
- ✓ zespół Wiskotta-Aldricha i trombocytopenia sprzężona z chromosomem X
- ✓ adrenoleukodystrofia
- ✓ zespół Alporta

CHOROBY SPRZĘŻONE Z CHROMOSOMEM X

Dystrofia mięśniowa Duchenne`a

- ✓ najczęstsza choroba nerwowo-mięśniowa
- ✓ dotyczy 1 noworodka płci męskiej na 3500 urodzeń
- ✓ pierwsze symptomy około 5 roku życia-opóźnienie rozwoju ruchowego, rzekomy przerost łydek, wyraźne osłabienie siły mięśni szkieletowych i proksymalnych
- ✓ chorzy umierają zwykle w trzeciej dekadzie życia
- ✓ zmiany w genie kodującym białko cytoszkieletu dystrofinę (DMD Xp21.2, 79 eksonów), zwykle delecje i duplikacje, mutacje *de novo* u co trzeciego chorego

CHOROBY SPRZĘŻONE Z CHROMOSOMEM X

Hemofilia

- ✓ zaburzenie układu krzepnięcia krwi
- ✓ niedobory czynników krzepnięcia
- hemofilia A-klasyczna –mutacja w genie czynnika VIII (F8, Xq28)
- hemofilia B-choroba Christmаса- mutacja w genie czynnika IX (F9 ,Xq27)
- ✓ Nadmierne krwawienia są związane z niedostateczną syntezą protrombiny
- ✓ częstość 1/4000 żywo urodzonych chłopców

CHOROBY A MUTACJE W RÓŻNYCH GENEACH

- ✓ znaczna heterogenność genetyczna-mutacje różnych genów wywołują podobny efekt fenotypowy
- ✓ choroba Hirschsprunga - częstsza u mężczyzn, w 30-40% przypadków wywołana zmianami w genie kodującym protoonkogen RET)
- ✓ kardiomiopatia przerostowa – pogrubienie ściany lewej komory ze zmniejszeniem jej jamy, wywołana mutacjami w genach kodujących białka strukturalne lub funkcjonalne sarkomeru sercowego
(np. sercowa β miozyna, sercowa troponina)
- ✓ zwyrodnienie barwnikowe siatkówki - zmiany w genach warunkujących prawidłową budowę fotoreceptorów siatkówki lub cięcie i składanie RNA
(np. gen rodopsyny RHO)

CHOROBY WYWOŁANE POWTÓRZENIAMI TRÓJNUKLEOTYDOWYMI

- ✓ większość dziedziczona w sposób autosomalny dominujący lub sprzężony z płcią
- ✓ w obrazie klinicznym obecna antycypacja
- ✓ zespół łamliwego chromosomu X - najczęstsza dziedziczna przyczyna niepełnosprawności intelektualnej, ponad 200 powtórzeń zasad CGG w genie FMR 1 (Xq27.3)
- ✓ ataksja Friedriecha - choroba autosomalna recesywna, powtórzenia zasad GAA w pierwszym intronie genu kodującego białko mitochondrialne frataksynę FRDA (9q13)
- ✓ choroba Huntingtona- progresywna choroba ośrodkowego układu nerwowego, powtórzenia CAG w eksonie 1 genu huntingtyny (HD 4p16.3)
- ✓ dystrofia miotoniczna typu 1 –ekspansja powtórzeń CTG w rejonie 3`UTR genu kodującego kinazę proteinową dystrofii miotonicznej (DMPK, 19q13.3)

CHOROBY EPIGENETYCZNE

- ✓ niewywołane mutacjami
- ✓ zmieniają obraz fenotypowy bez zmiany genotypu
- ✓ nieprawidłowa ekspresja genów spowodowana metylacją DNA lub modyfikacją struktury chromatyny
- ✓ w warunkach prawidłowych związek z inaktywacją jednego chromosomu X u kobiet lub wyciszenie pewnych genów w zależności od pochodzenia (piętnowanie rodzicielskie)
- ✓ leczenie chorób objawowe i ukierunkowane na specyficzne problemy medyczne w przebiegu choroby
- ✓ podejrzewa się, że niektóre składniki pożywek komórkowych stosowanych w trakcie zbiegów wspomaganego rozrodu mogą zwiększać ryzyko wystąpienia zespołów Angelmana lub Beckwitha-Wiedemanna u potomstwa

CHOROBY EPIGENETYCZNE

Zespół Pradera-Williego

- ✓ utrata grupy genów zlokalizowanych na chromosomie 15
- ✓ brak ekspresji genów od ojca wskutek delecji regionu, mutacji wyciszających region lub matczynej disomii uniparentalnej
- ✓ w warunkach prawidłowych wyciszenie regionu pochodzenia matczynego, ekspresja genów z chromosomu pochodzącego od ojca

CHOROBY EPIGENETYCZNE

Zespół Angelmana

- ✓ zaburzenie neuro-rozwojowe
- ✓ u większości pacjentów występuje delecja w długim ramieniu chromosomu 15
- ✓ delecja lub mutacja genu białka zaangażowanego w ubiquitynacji innych białek (UBE3A) w odmatczynej kopii

CHOROBY EPIGENETYCZNE

Zespół Beckwitha-Wiedemanna

- ✓ należy do grupy chorób przebiegających z makrosomią
- ✓ związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju guzów zarodkowych
- ✓ nieprawidłowa ekspresja genów ulegających piętnowaniu na krótkim ramieniu chromosomu 11

CHOROBY MITOCHONDRIALNE

- ✓ powodowane przez mutacje w genomie mitochondrialnym lub w genach jądrowych kodujących białka strukturalne mitochondriów
- ✓ częstość mutacji w mtDNA jest znacznie większa niż w jądrowym DNA, zaś częstość występowania chorób związanych ze zmianami w mitochondrialnym DNA to 1/8000 osób
- ✓ kategorie defektów w mtDNA:
 - duże delecje lub duplikacje
 - mutacje punktowe w genach kodujących białka lub cząsteczki RNA

CHOROBY WIELOGENOWE

- ✓ powszechne choroby wieku dorosłego będące efektem wspólnego oddziaływania różnych czynników środowiskowych i genetycznych
- ✓ strategie diagnostyczne
 - analiza sprzężeń
 - badania asocjacyjne
 - sekwencjonowanie genów-kandydatów
- ✓ choroba Alzheimera
- ✓ choroby układu sercowo-naczyniowego
- ✓ cukrzyca
- ✓ nadciśnienie tętnicze

CHOROBY WIELOGENOWE

Choroba Alzheimera

- ✓ najczęstsza przyczyna otępienia
- ✓ choruje około 12 milionów ludzi na świecie
- ✓ objawy wykazuje 25-50% osób powyżej 85 roku życia, pierwsze objawy około 65 roku życia czasem wczesny początek (40-50 lat)
- ✓ 30 – 40% wszystkich przypadków choroby to zachorowania o podłożu rodzinnym dziedziczone genetycznie
- utrata pamięci
- postępujący zanik funkcji poznawczych
- splątanie
- nadmierne pobudzenie
- halucynacje



CHOROBY WIELOGENOWE

Choroba Alzheimera

- ✓ zmiany zwyrodnieniowe komórek nerwowych
- ✓ agregaty zewnątrzkomórkowe peptydu β -amyloidu (fragment dużego błonowego prekursora β -amyloidu)
- ✓ wewnątrz komórek złogi nadmiernie ufosforylowanego białka tau
- ✓ mutacje w genach dziedziczone w sposób autosomalny dominujący
- ✓ późna forma związana z genem apolipoproteiny E
- APOE4 i APOE3 – wzrost ryzyka zapadalności; różny sposób nasilenia objawów
- APOE2 – hamowanie rozwoju choroby



CHOROBY WIELOGENOWE

Choroba Alzheimerera

- ✓ postać rodzinna o wczesnym początku:
- gen białka prekursorowego β -amyloidu (APP, chromosom 21)
- gen preseniliny 1 (PSEN 1, chromosom 14)
- gen preseniliny 2 (PSEN2, chromosom 1)
- ✓ Postać o późnym początku (częstsza)
- Allel E4 genu apolipoproteiny E (APOE)
- Polimorfizm w genie ubikwiliny 1 (UBQLN1, 9q22)

CHOROBY WIELOGENOWE

Choroby układu sercowo-naczyniowego

- ✓ złożoność problemu – miażdżycyca
- ✓ zmienność w obrębie genu apolipoproteiny E



CHOROBY WIELOGENOWE

Nadciśnienie tętnicze

- ✓ główny czynnik ryzyka rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego
- ✓ u większości chorych w obrazie klinicznym różnorodne czynniki genetyczne i środowiskowe
- ✓ monogenowe (mendlowskie) postaci nadciśnienia Tętniczego: (bardzo rzadkie)
 - zespół Liddle`a
 - pozorny nadmiar mineralokortykoidów
 - hiperaldosteronizm poddający się leczeniu glikokortykosteroidami
 - Nadciśnienie pierwotne
 - ✓ gen angiotensynogenu (substratu dla reniny)
 - ✓ gen konwertazy angiotensyny I (ACE)
 - ✓ gen receptora angiotensyny I



CHOROBY WIELOGENOWE

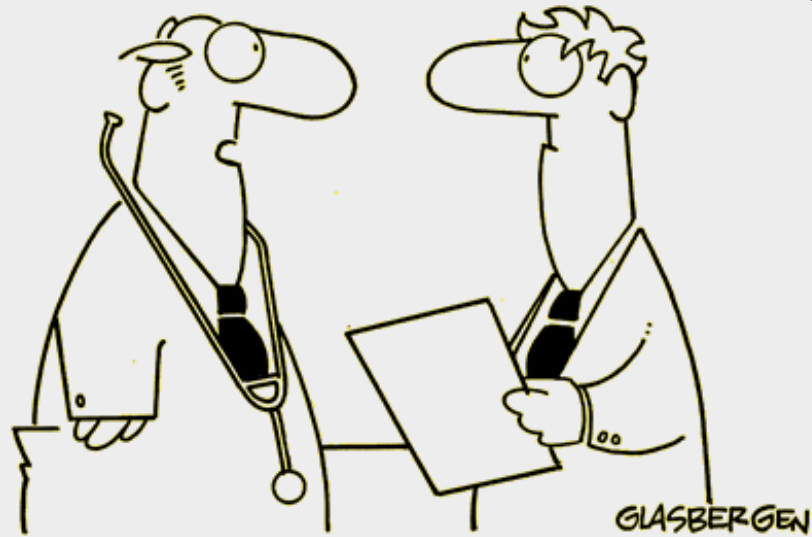
Cukrzyca

- ✓ **Typu 1** –choroba autoimmunologiczna, zmienność w regionach chromosomowych genów
 - klasy II układu zgodności tkankowej HLA (IDDM1;6p21)
 - genów insuliny (IDDM2;11p15)
- ✓ **Typu 2** – oporność tkankowa na działanie insuliny, która nie jest kompensowana zwiększoną produkcją hormonu w trzustce. Geny podatności:
 - Gen kalpajny 10
 - Geny przenośników glukozy (GLUT2, GLUT4)

Cukrzyca **MODY**-uwarunkowana autosomalnie dominująco, ujawnia się w wieku młodzieńczym (15-35 lat), przebieg podobny do typu 2

Cukrzyca **wrodzona** (PND - permanent neonatal diabetes) – ciężki defekt wydzielania insuliny w efekcie mutacji genu KCNJ11 (wrażliwa na ATP podjednostka Kir6.2 kanału potasowego)





"More and more patients are going to the Internet for medical advice. To keep my practice going, I changed my name to Dr. Google."

*I cpaudęq wł uswe to dr. coođie' „
ioi weciŃŃi ŃqłiŃŃe' to keeb wł bŃŃŃŃŃe Ńoiuđ' „
„More and more patients are going to the internet*

DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ