

# Dědičné metabolické poruchy/Genetický podklad

## Úvod

- **vrozené poruchy metabolismu** = biochemické choroby člověka; chorobné stavy, při kterých osobitý geneticky podmíněný enzymový defekt způsobuje metabolický blok s patologickými následky
- většina vrozených omylů metabolismu je vázaných na X chromozom; některé jsou AD dědičné – pravděpodobně postihují regulátory metabolických pochodů (membránové receptory a enzymy, které katalyzují kroky odvislé od množství produktu); jejich porucha vede k poškození zpětné vazby, mutace a následné změny struktury bílkovin
- mutace se mohou projevit jako enzymopatie, mohou ale ovlivnit i další mechanismy regulace
- většina metabolických chorob je způsobená **enzymovým defektem** – defektní enzym má nejčastěji **sníženou enzymovou aktivitu** v porovnání se svým normálním protějškem; někdy aktivita úplně chybí – snížená aktivita je případně následkem snížené afinity k substrátu nebo kofaktoru či instability molekuly enzymu; někdy může být přítomná **zvýšená aktivita proteinu**, prodloužený nebo zkrácený biologický poločas; jindy některé změny v sekvenci nukleotidů mohou vést k **nadměrné tvorbě plně funkčního proteinu** (porucha regulace genové exprese nebo translace) – poruchy proteinů jsou tedy jak kvalitativního, tak kvantitativního rázu
- metabolismus se uskutečňuje krok za krokem sérií reakcí, přičemž každý krok je katalyzovaný jiným enzymem; mutace jednoho enzymu metabolického procesu vede k hromadění prekursoru a snížení množství produktu; obojí může mít patologické následky
- příklady:

typ defektu	příklady postižení
defekt enzymů	PKU, galaktosémie, deficience adenosindeaminasy
defekt receptorů	testikulární feminizace, hypercholesterolémie
defekt molekulárního transportu	cystická fibróza, hypertenze
defekt struktury buněk	Duchenneova a Beckerova muskulární dystrofie
defekt homeostázy	antihemofilický globulin, imunoglobuliny
defekt regulace růstu a diferenciací	determinace pohlaví, inaktivace X chromozomu, tumor supresory
defekt mezibuněčné komunikace	inzulín, růstový hormon, diferenciací pohlaví
defekt mitochondrií	Leberova atrofie optiku

## Enzymopatie

- celkem popsáno více jak 200 poruch funkce enzymů
- **fenylketonurie (PKU), hyperfenylalaninémie (HPA)**
  - poruchy metabolismu aminokyselin
  - PKU = AR dědičná porucha metabolismu fenylalaninu s frekvencí v ČR cca 1:6000
  - projevuje se postupným rozvojem duševní zaostalosti, epilepsií a malou pigmentací
  - vysoká hladina fenylalaninu v krvi, manifestující se kyselinou fenylpyrohroznovou v moči
  - je podmíněna mutací genu pro fenylalaninhydroxylázu (PAH), která katalyzuje přeměnu fenylalaninu na tyrosin
  - fenylalanin je součástí všech bílkovin stravy a není-li pacienty s PKU metabolizován na tyrosin, hromadí se v tělních tekutinách a poškozuje myelinizaci vyvíjejících se nervových vláken
  - část fenylalaninu je fenylalaninaminotransferázou přeměněna na kyselinu fenylpyrohroznovou, která je ve zvýšené míře vylučována močí a dodává ji zápach po myšíně; v tělních tekutinách je méně tyrosinu a v organismu i méně produktů jeho metabolismu
  - projevuje se teprve po narození
  - v těhotenství je přebytek fenylalaninu plodu odváděn placentou; s prvými vypitými dávkami mléka stoupá hladina fenylalaninu v krvi novorozence
  - dietou s velmi nízkým obsahem fenylalaninu a přidavkem tyrosinu lze ovlivnit hladinu fenylalaninu v krvi a zajistit téměř normální psychomotorický vývoj dítěte
  - základem úspěšné léčby je včasné stanovení diagnózy
  - postižené děti se rodí zdravým rodičům
  - diagnózu lze stanovit screeningovým vyšetřením: 5. den života se odebírá krev; při podezření na PKU je novorozenec neodkladně hospitalizován
  - u žen s PKU je dalším kritickým obdobím života jejich mateřství; v těhotenství placenta mnohonásobně koncentruje fenylalanin v krvi plodu – pokud žena nedodrží přísnou dietu, hladina fenylalaninu poškodí vývoj plodu a to bez ohledu na jeho genotyp; důsledkem tzv. mateřské PKU jsou mentální retardace, mikrocephalie, vrozené srdeční vady
  - gen PAH byl pomocí sond mRNA izolovaných z jaterních buněk lokalizován na chromosomu 12q24.1; je dlouhý 90 kb a má 13 exonů
  - dosud bylo popsáno více než 170 různých mutací genu PAH; v ČR převládají 4, nejčastější je R408W (60 %); mutace zamění kodon 408 ve 12. exonu tak, že místo argininu (R) kóduje tryptofan (W)
    - nejvyšší četnost mutace je v Bělorusku – je proto považována za mutaci slovanskou; další nejvíce zastoupené mutace jsou R158Q (aRginin – glycin (Q)) – mutace častá ve středomoří a R261Q v 5. a

- 7. exonu
  - jiného typu je druhá nejčastější mutace IVS12nt1; postihuje 12. intron a mění sestřihové místo; mutace je nejčetnější v Dánsku
- většina osob s PKU jsou složení heterozygoti; závažnosti klinického projevu souvisí na kombinaci mutagenních alel v genomu; př. mutace R408W, IVS12nt1 a R158Q podmiňují klasickou PKU s prakticky nulovou aktivitou PAH, ale mutace R261Q podmiňuje benigní hyperfenylalaninemii (HPA); aktivita PAH je zčásti zachována a hladina fenylalaninu v krvi je podstatně nižší než u klasické PKU (méně než 1mM); psychický vývoj dětí s HPA je přiměřený i bez diety, ale plod žen s HPA bez diety v těhotenství je poškozen stejně jako plod žen s klasickou PKU
- analýza DNA umožňuje detekci heterozygotů i prenatalní vyšetření plodu heterozygotních rodičů, vyšetření plodu se provádí z buněk trofoblastu nebo plodové vody; analýzou DNA lze stanovit presymptomaticky diagnózu PKU, ale i určit závažnost onemocnění a způsob léčby
- PKU je jedním z kandidátů na genovou terapii; gen PAH byl úspěšně přenesen do myších hepatocytů
- u některých novorozenců s vyšší hladinou fenylalaninu v krvi se stav později upraví a dietu nepotřebují = tzv. tranzitorní forma PKU s opožděnou expresí genu PAH v jaterních buňkách
- u 1 – 3 % dětí není léčba dietou účinná; byla prokázána PKU podmíněná mutací genů pro syntézu kofaktoru PAH – tetrahydrobiopterinu (BH1) – pro dihydrobiopterin syntetázu a dihydropteridin reduktázu – komplikovanější léčba

## Receptory a jejich poruchy

- porucha funkce receptorů – prokázána jako jedna z příčin familiárních hyperlipidemií (**hypercholesterolémie**, FH) = zvýšená hladina cholesterolu, triglyceridů nebo obou těchto látek v plazmě; hyperlipidémie se výraznou měrou podílí na vzniku aterosklerózy a následně IM
  - tuky přijímané potravou se vstřebávají v tenkém střevě; mnohem více cholesterolu se syntetizuje de novo v játrech
  - tuky nejsou rozpustné ve vodě a v krvi a proto jsou přenášeny a distribuovány v organizmu ve vazbě s proteiny
  - lipoproteiny = kulovité útvary složené z apolipoproteinů, které solubilizují tuky a váží se specificky na receptory buněk z tuků; apolipoproteinů je 9 typů: ze střeva jsou tuky přenášeny chylomikrony (CM) do jaterních buněk a tkání
  - CM obsahují především apolipoprotein B-48; v tkáních lipázy štěpí triacylglyceroly na glycerol a mastné kyseliny, které buňky využívají jako zdroj energie
  - v jaterních buňkách jsou tuky z CM metabolizovány a spolu s cholesterolem syntetizovaným de novo inkorporovány do VLDL s apolipoproteinem B-100 a E a transportovány do tkání
  - ve tkáních lipázy odštěpují z VLDL triacylglyceroly a mění je na LDL nesoucí především cholesterol
  - LDL mohou pronikat do buněk prostřednictvím LDL receptorů na povrchu buněk
  - buňky využívají cholesterol jako prekurzor dalších metabolitů; příjem LDL LDL-receptory jaterních buněk inhibuje neosyntézu cholesterolu; při nadbytku je cholesterol přenášen z tkání do jater jako HDL
  - vázán HDL receptory jaterních buněk a metabolizován
- 
- FH = neúplně dominantně dědičná choroba se zvýšenou hladinou cholesterolu v plazmě, heterozygoti mají 7 – 15 mmol/l (norma okolo 5 mmol/l); incidence 1: 500; homozygoti mají více než 20 mmol/l a mohou být postiženi IM již v dětství a dospívání; příčinou FH jsou nejčastěji mutace **receptoru LDL** (LDLr)
  - gen LDLr je lokalizován na chromozomu 19q13.3 (má 45 kb, 18 exonů a 5,3 kb mRNA transkript), mutace v různých exonech se svým fenotypovým projevem liší; mutace mohou úplně blokovat LDLr, porušit sestřih mRNA, porušit vazbu receptoru v membráně nebo transport komplexu do cytoplazmy i jeho zpracování v lysozomech
  - jiný typ FH – podmíněna mutací genu **APOB** pro **apoB-100** (chromozom 2p23, gen je 43 kb dlouhý, má 29 exonů, 14 kb mRNA – velmi dlouhý transkript vzhledem k délce genu) • změny afinity apoB-100 k LDLr v důsledku mutace
  - zvláštní exprese genu APOB je tzv. úprava (editing) mRNA • apoB-100 je produkován v játrech • v střevních buňkách je 6666 baze transkriptu APOB genu deaminována • změnou kodonu z CAA na UAA (stop kodon) vzniká apoB-48 typický pro chylomikrony
  - jiným příkladem APOB mutace je mutace kodonu 2488, podmiňující záměnu AMK způsobující nízkou hladinu cholesterolu v krvi
  - další dědičnou změnou metabolismu tuků podmiňuje např. AR dědičná deficeience cholesteroltransferázy – přenáší cholesterol mezi různými nosiči (apolipoproteiny) • snížení hladiny HDL a zvýšení hladiny LDL a VLDL • větší riziko aterosklerózy

## Poruchy molekulárního transportu

- **cystická fibróza** (CF) = AR dědičné onemocnění a incidencí u novorozenců 1:1600 – 1: 2500
- CF postihuje funkci exokrinních žláz; nedostatečná sekrece trávicích enzymů pankreatu je příčinou zahuštění stolice a neprůchodnosti střev (mekoniiový ileus) u novorozenců a poruchy trávení u dětí; v potu je vyšší koncentrace chloridů; hlen v dýchacích cestách je vazký, obtížně se vykašlává a to je příčinou opakovaných chronických infekcí dýchacích cest a plic; muži bývají sterilní a u žen je snižena fertilita
- úmrtí ve 20-30 letech v důsledku změn plicní tkáně po opakovaných infekcích a srdeční selhání v důsledku většího odporu plicního krevního řečiště
- gen CF – CFTR – byl lokalizován na chromozomu 7q31, je exprimován v epitelálních buňkách
- produktem je protein s 1480 AMK se všemi doménami zdvojenými; CF je reálným kandidátem na genovou terapii

- 50–80 % mutací genu CFTR je podmíněno delecí 3 bazí v exonu 10, kódujícím 1.doménu vazby s ATP, mutace způsobuje delecí fenylalaninu = mutace deltaF508 podmiňuje těžkou formu CF
- CFTR je degradován již v ER a do plazmatické membrány není vůbec vestaven
- pacienti s CF jsou často složení heterozygoti
- symptomatická léčba je zaměřena na substituci exokrinní sekrece pankreatu, na zkapalnění sekretu žláz dýchacího traktu, na prevenci a terapii infekcí dýchacích cest

## Defekt struktury buněk

- **Duchennova muskulární dystrofie (DMD)** a **Beckerova muskulární dystrofie (BMD)** – X-vázaná recesivně dědičná onemocnění postihující kosterní svaly a v menší míře i sval srdeční a hladké svalstvo
- pacienti s DMD po porodu bez obtíží, v průběhu dětství se projevuje chabost svalů dolních končetin, **lýtko jsou hypertrofická** (tuková pseudohypertrofie), postižení CNS se projevuje ve snížení IQ v průměru o 20 bodů, svalová slabost se postupně zhoršuje, takže v dospívání jsou pacienti upoutáni na kolečkové křeslo a umírají do 20 let věku na selhání srdce nebo dýchání; v séru postižených je zvýšena hladina sérové kreatinkinázy; ve svalové biopsii jsou prokazatelné barevné změny struktury svalů
- u žen přenašeček je manifestace ovlivněna inaktivací X chromozomu – mohou mít mírné svalové obtíže, zvýšenou hladinu sérové kreatinkinázy a histologicky prokazatelné postižení některých svalových vláken
- DMD u žen je vzácná, postihuje ženy s karyotypy 45,X (Turnerův syndrom) event. 46,XY (testikulární feminizace) nebo s delecí krátkých ramének X –chromozomu
- BMD je mírnější, s pozdějším nástupem klinických projevů, pomalejší progresí a umožňuje dožití i vyššího věku; populační frekvence je okolo 1: 3500, z toho 10–15 % je udržována vysokou frekvencí nových mutací; třetina případů je podmíněna novými mutacemi
- gen DMD je největší známý gen u člověka – lokalizován na Xp21 – má 2,3 kb, více než 75 krátkých exonů, introny tvoří 99 % délky genu
- většina mutací je podmíněna delecemi jednoho nebo více exonů – většina těchto delecí je kumulována na 5´ konci genu a v oblasti 44-50. exonu; DMD a BMD se neliší lokalizací mutací; závažnější průběh DMD je podmíněn posunem čtecího rámce, u BMD delecce postihuje celé exony nebo tripletu a k posunu čtecího rámce nedochází
- transkript genu je mRNA delší než 11kb a produktem translace je dystrofin s 3685 AMK, dystrofin je lokalizován v cytoplazmatické membráně svalových buněk, stabilizuje membránu a ukotvuje molekuly aktinu v cytoskeletu

## Regulace diferenciacce

- mužské pohlaví je determinováno kombinací heterochromozomů XY
- v případě přítomnosti více jak jednoho X chromozomu je druhý a další X chromozom v jádře 15–16. den po oplodnění spiralizován (vytváří sex-chromatinový znak) a většina jeho genů je inaktivována, tím je kompenzována nerovnováha v počtu X chromozomů u žen a mužů
- u žen s translokací části X chromozomu na autozomy je inaktivována pouze jedna část z jeho částí – studie prokázaly X inaktivační centrum na X chromozomu
- gen je lokalizován v oblasti Xq13.2 = tzv. XIST – je 17 kb dlouhý; transkript je možné prokázat v jádrech buněk s více než jedním X chromozomem; transkript nikdy nepronikne do cytoplazmy a tedy nedochází nikdy k jeho translaci
- u determinace mužského pohlaví: gen SRY byl lokalizován do těsného sousedství pseudoautozomální části Y chromozomu, gen má 2,1kb a je vysoce konzervativní; jeho translokace na X chromozom podmiňuje nálezy 46,XX u mužů s fenotypem Klienefelterova syndromu
- SRY je homologní s non-histonovými jadernými proteiny, váže se na promotor genu pro cytochrom-P450-aromatázu, která mění testosteron na ženský hormon estradiol
- inaktivace SRY genu u embrya determinuje mužské pohlaví
- SRY protein se váže i na promotor genu Mullerovy inhibiční substance, jeho inaktivace mužského embrya vyvolá diferenciacce testis a regresi ženských orgánů
- produkt SRY genu působí jako regulátor transkripce; neobsahuje žádné introny a končí sekvencí pro polyadenilový konec mRNA

## Mitochondriální choroby

- mitochondrie obsahují cirkulární DNA (mtDNA) bez nukleozomů a jaderné membrány; energii získávají oxidativní fosforylací cukrů a tuků a předávají ji buněčnému metabolismu ve formě makroergních fosfátových vazeb ATP
- každá mitochondrie obsahuje více kopií DNA
- jde vlastně o 24. chromozom lidského genomu
- vznikají autoreplikací a v průběhu mitózy se rozcházejí do dceřiných buněk; zygota je vybavena pouze mateřskými mitochondriemi; spermie má sice jednu mitochondrii, ta je ale destruována po oplodnění
- mutace mtDNA se dědí matroklinně a jejich projevy se zvyrazňují věkem
- mutace mtDNA postihují oxidativní fosforylací a proto se projevují především ve tkáních citlivých na nedostatek energie
- **Leberova atrofie optiku**, oboustranná slepota v dospělosti
- defekty struktury a funkce mitochondrií mohou být podmíněny i mutacemi jaderné DNA a dědit se klasickým mendelovským způsobem

## Geny s dosud neznámým mechanismem působení

- **syndrom fragilního X** (fra-X), mentální retardace různého stupně; frekvence u mužů 1:1250, charakteristický vzhled obličeje – odstávající dlouhé ušní boltce, podlouhlý hrubý obličej a velká testes, fragilní místo na chromozomu X v lokalizaci Xp27.3 – gen FMR1; dědí se recesivně ve vazbě na chromozom X, 30 % žen přenašeček je mírně mentálně retardovaných, ale bez somatických změn, 20 % mužů s cytogeneticky prokazatelným fra-X jsou přenašeči bez klinických příznaků, dcery těchto přenašečů jsou zdravé, ale synové a vnuci těchto dcer mohou být mentálně postiženi = tzv. paradox Shermanové

- u zdravých mužů – přenašečů s cytogeneticky prokazatelným fra-X je počet tripletů CGG 52 – 200 = tzv. premutace, došlo-li ke zmnožení tripletů (premutaci) je velmi pravděpodobné další zmnožení tripletů a vznik plné mutace s klinickými projevy; při přenosu mutace ženami, vznik plné mutace, zmnožení tripletů CGG až na 4000 - v blízkosti popsaného fragilního místa byla objevena další sekvence CGG tripletů s možností zmnožení a projevy fragility X chromosomu a oligofrenií = tzv. FRAXE – je vzdáleno 600 kb od FRAXA (FMR1) - v genu pro myotonickou dystrofii (19q13.2-3) byl nalezen polymorfismus počtu tripletů GCT, u Kennedyho choroby (spinální a bulbární muskulární atrofie) a u spinocerebelární ataxie polymorfismus CAG tripletů; počet CAG tripletů rozhoduje o tom, kdo a kdy bude postižen Huntingtonovou chorobou (HD) – AD (4p16.3), na počátku genu pro HD (IT15) nacházíme 40 i více než 100 tripletů CAG (norma 11 – 34) - pro všechny tyto choroby platí odchylky od základních pravidel monogenní dědičnosti, při přenosu z generace na generaci dochází k anticipaci – v následných generacích se znak manifestuje časněji a ke genomickému imprintingu – při přenosu od rodiče jednoho pohlaví je manifestace časnější než při přenosu od rodiče druhého pohlaví

## Odkazy

### Související články

- Dědičné metabolické poruchy

*Další kapitoly z knihy **MASOPUST, J., PRŮŠA, R.: Patobiochemie metabolických drah:***

- **Výživa:** Energetický metabolismus a jeho poruchy • Poruchy výživy • Vyšetření stavu výživy
- **Sacharidy:** Poruchy metabolismu glukózy • Glykogenózy
- **Lipidy:** Poruchy lipidového metabolismu
- **Jiné:** Poruchy ureageneze • Porfyrie • Poruchy metabolismu kyseliny močové
- **Voda, stopové prvky a minerály:** Sodík • Draslík
- **Otázky a kazuistiky:** Poruchy metabolismu glukózy • Poruchy výživy • Voda • Acidobazická rovnováha • Bilirubin • Porfyrie • Poruchy metabolismu kyseliny močové • Glykogenózy • Poruchy metabolismu lipidů • Eikosanoidy • Dědičné poruchy metabolismu aminokyselin • Poruchy genové exprese

## Zdroj

- MASOPUST, Jaroslav a Richard PRŮŠA. *Patobiochemie metabolických drah*. 1. vydání. Praha : Univerzita Karlova, 1999. 182 s. s. 211–212. ISBN 80-238-4589-6.