

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program:

Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor:

Molekulární biologie a biochemie organismů



Veronika Aulichová

Příčiny neúplné penetrance na molekulární úrovni – na příkladu dědičných
chorob u člověka

The molecular basis of incomplete penetrance in human hereditary disorders

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel:

RNDr. Michaela Schierová, Ph.D.

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovávala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 4. 6. 2020

Podpis

Ráda bych poděkovala mé školitelce RNDr. Michaelae Schierové Ph.D. za cenné rady, které mi dávala při psaní práce a za čas, který mi věnovala.

Abstrakt

Neúplná penetrance je jev, kdy ne u všech jedinců s potenciálně patogenním genotypem se projeví typické klinické příznaky. Neúplná penetrance je poměrně rozšířený fenomén a můžeme se s ní setkat u mnoha dědičných chorob a u všech typů dědičnosti. Neúplná penetrance je vlastností genotypu, u multialelických genů mají jen některé alely sníženou penetranci. V minulosti byla míra penetrance z metodických důvodů nadhodnocena. Sekvenováním genomu zdravých lidí bylo zjištěno, že obsahuje mnoho potenciálně rizikových polymorfismů, které díky robustnosti lidského genomu neovlivňují negativně fenotyp jedince a jejich penetrance je snižena. Mezi hlavní příčiny neúplné penetrance patří typ rizikové (mutované) alely, efekt dávky alel, dále polymorfismy ovlivňující expresi genu, variace v počtu kopií (CNV) a také modifikující geny.

Klíčová slova: penetrance, modifikující geny, polymorfismy, exprese genu, efekt dávky alel, CNV, epigenetika, enviromentální faktory

Abstract

Reduced penetrance is a phenomenon when only some individuals with a potentially pathogenic genotype exhibit clinical symptoms. It is quite a widespread phenomenon and it could be observed in many heritable disorders and in all types of inheritance. Reduced penetrance is the feature of genotype, there are only some alleles with reduced penetrance in multiallelic genes. In the past, the rate of penetrance was overestimated for methodological reasons. By means of genome sequencing of healthy individuals, it was discovered that the human genome contains a large number of potentially pathogenic polymorphism which thanks to the robustness of the human genome do not negatively affect the phenotype of an individual and their penetrance is reduced. The main causes of reduced penetrance include type of risk (mutated) allele, allele dosage, polymorphisms which affect the gene expression, copy number variation, epigenetics and modifier genes.

Keywords: penetrance, modifier genes, polymorphism, gene expression, allele dosage, CNV, epigenetics, environmental factors

Obsah

Abstrakt	iii
Seznam použitých zkratk.....	v
1 Úvod.....	1
2 Rizikové mutace v populaci.....	2
3 Příčiny neúplné penetrance	3
4 Genetické testování.....	7
5 Vybraná dědičná onemocnění s neúplnou penetrancí.....	10
5.1 Huntingtonova choroba	11
5.2 Hereditární hemochromatóza	13
5.3 Syndrom dlouhého QT	15
6 Závěr	19
7 Literatura.....	20

Seznam použitých zkratk

3'UTR	3'untranslated region	3'nepřekládaná oblast
CGH	comparative genome hybridization	komparativní genomová hybridizace
CMA	chromosomal microarray analysis	mikroarrayová analýza chromozomů
CNV	copy number variation	variace v počtu kopií
EKG	electrocardiogram (ECG)	elektrokardiogram
GWAS	genome wide association study	celogenomová asociační studie
HD	Huntington disease	Huntingtonova choroba
HGMD	human gene mutation database	databáze mutací v lidských genech
HSCR	Hirschsprung disease	Hirschsprungova choroba
ChIP	chromatin immunoprecipitation	chromatinová imunoprecipitace
LHON	Leber's hereditary optic neuropathy	Leberova hereditární optická neuropatie
LQTS	long QT syndrome	syndrom dlouhého QT intervalu
MAF	minor allele frequency	frekvence nejméně zastoupené alely
MMR	mismatch repair	mismatch reparace, oprava chybného párování v DNA
mtDNA	mitochondrial DNA	mitochondriální DNA
NGS	next generation sequencing	sekvenování nové generace
ROS	reactive oxygen species	reaktivní kyslíkové radikály
RP	reduced penetrance	neúplná penetrance
s-HSCR	short-segment Hirschsprung disease	HSCR s postižením kratšího úseku střeva
SNP	single nucleotide polymorphysm	jednonukleotidový polymorfismus
TWAS	transcriptome-wide association study	transkriptomová asociační studie
VCFS	velocardiofacial syndrome	velokardiofaciální syndrom

1 Úvod

Při studiu dědičně podmíněných chorob u člověka se zjistilo, že ne u všech jedinců s rizikovou alelou se daná nemoc projeví. Podíl jedinců s rizikovým genotypem, u kterých se daná nemoc (znak) projeví, se označuje jako penetrance. Jestliže tento poměr odpovídá 100 %, je penetrance úplná, je-li podíl nosičů manifestujících znak nižší, jde o neúplnou penetranci (RP-reduced penetrance).

Neúplná penetrance je poměrně častý fenomén, což se ukazuje díky případovým studiím monogenně podmíněných nemocí, ale hlavně díky využití sekvenování nové generace (NGS). V rámci projektů ‘The 1000 Genomes Project’ aj. se masivně sekvenují genomy zdravých jedinců. Z výsledků analýz vyplývá, že jejich genomy obsahují velké množství potenciálně rizikových alel, aniž by tito jedinci trpěli zjevnými zdravotními problémy (Cooper *et al.*, 2013).

Většina starších studií dědičných chorob, zahrnutých do databáze ‘The Human Gene Mutation Database’ (HGMD, dostupné na <http://www.hgmd.cf.ac.uk>) zaměřených na odhalování rizikových alel, vycházela z analýzy jedinců s klinickými příznaky, a nemohla proto neúplnou penetranci odhalit. Odhad míry penetrance komplikuje i nedostatek informací o sekvenovaných osobách (uvádí se pouze pohlaví, etnikum, místo původu a vztah k ostatním účastníkům studie) nebo pozdní nástup nemoci (Cooper *et al.*, 2013).

Cíl práce:

Cílem bakalářské práce je představit příčiny neúplné penetrance u dědičných chorob člověka a na vybraných příkladech popsat molekulární mechanismus jejich působení.

2 Rizikové mutace v populaci

Data z projektu The 1000 Genomes project byla první dostupná celogenomová data napříč celou populací. Tato data umožnila lepší studium variací v sekvenci a základ pro studium vztahu genotypu a fenotypu (Altshuler *et al.*, 2010). Ze sekvenčních analýz lidského genomu vyplývá, že obsahuje nečekaně vysokou frekvenci polymorfismů vedoucích ke ztrátě funkce genů kódujících proteiny. MacArthur *et al.* (2012) analyzovali 185 lidských genomů z pilotní fáze projektu “the 1 000 Genomes Project“. Identifikovali 1 285 polymorfních míst vedoucích ke ztrátě genu (nonsense mutace, SNP narušující sestřihové místo, mikrolece/mikroinzerce a další). Analyzovaný vzorek reprezentoval 65 jedinců z Yoruby v Ibadanu, Nigerie, 60 jedinců z Utahu původem ze severní a západní Evropy a 30 jedinců z Pekingu a 30 z Japonska analyzovaných společně. Z těchto dat odhadli, že průměrný lidský genom obsahuje kolem 100 polymorfismů vedoucích ke ztrátě funkce s přibližně 20 geny kompletně inaktivovanými.

Další studie využívající celogenomové sekvenování s nízkým pokrytím (low-coverage whole-genome sequencing) se soustředila především na missense polymorfismy v genomu 179 jedinců. Podle této studie průměrný jedinec nese ~60 missense polymorfismů, které vážně poškozují proteinovou strukturu. Dále predikovali, že u průměrného jedince může být odhaleno více než 400 škodlivých polymorfismů a více než 2 polymorfní místa způsobující onemocnění. (Xue *et al.*, 2012).

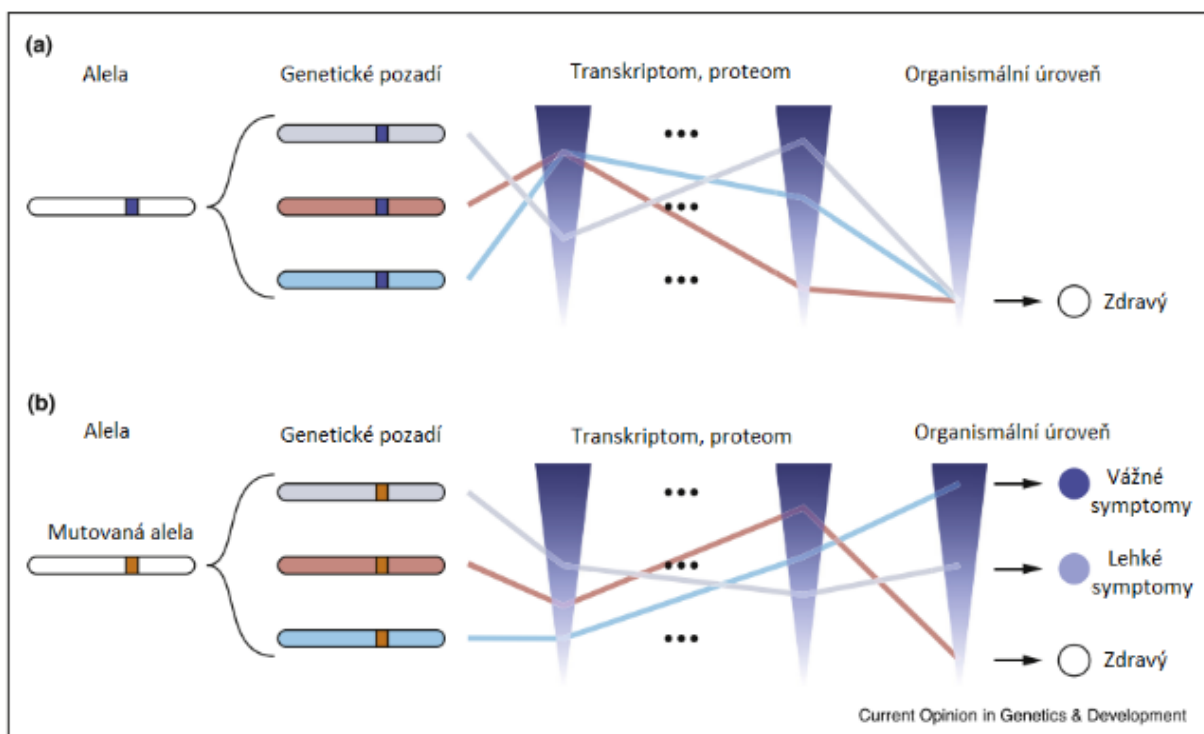
Tennesen *et al.*, (2012) se zaměřili na analýzu vzácných polymorfismů v kódujících sekvencích genomu člověka (exomová analýza). Podle autorů jsou vzácné jednonukleotidové polymorfismy (tzv. „rare variants“), označované jako MAF (MAF-minor allele frequency méně než 0,5 %) daleko početnější než běžné SNP s vyšší četností (tzv. „common variants“). Zatímco druhá skupina se úspěšně využívá při tzv. GWAS analýzách (Genome wide association studies), vzácné polymorfismy jsou spojovány s výskytem dědičně podmíněných onemocnění, narozdíl od běžných SNP mohou být přímou příčinou nemoci.

Tennesen *et al.*, (2012) zjišťovali přítomnost SNP u 2 400 osob. V kódujících oblastech genů (kódujících proteiny) našli přes 500 000 vzácných polymorfních pozic, z nichž 58 % bylo nesynonymních a více než 1,2 % SNP vedlo ke vzniku předčasného terminačního signálu. Autoři použili různé bioinformatické metody k určení možného negativního vlivu nesynonymních polymorfismů na fenotyp. Z těchto analýz vyplývá, že 74 % nesynonymních záměn poškozují funkci proteinu. Podle této studie exom průměrného jedince

obsahuje 13 600 nestandardních nukleotidů, přibližně 3 % z nich může ovlivnit funkci proteinu. Fenotypově významné SNP narušují funkci více než 300 proteinů (průměrně).

3 Příčiny neúplné penetrance

Dědičnost znaků je obvykle klasifikována jako monogenní, ovlivněna interakcí alel jednoho genu, nebo jako komplexní, ovlivněna polymorfismy a vzájemnou interakcí několika genů. Toto rozdělení je užitečné, ale velmi zjednodušené. Lidé, kteří zdědí stejnou mutovanou alelu, mají často odlišný fenotyp díky rozdílnému genetickému pozadí, znázorněno na obrázku 1. K popisu těchto rozdílů se používají termíny penetrance - jestli se očekávaný fenotyp projeví - a expresivita - jak silně se fenotyp projeví (Fournier & Schacherer, 2017).



Obrázek 1: Vliv genetického pozadí na fenotyp. Genetické pozadí – zahrnuje všechny geny v genomu (a) Alela přítomna na různém genetickém pozadí má stejný efekt na organismální úrovni, ale úroveň genové exprese a množství proteinu se může lišit. (b) Mutovaná alela má různý efekt na organismální úrovni díky odlišnému genetickému pozadí a změnám na úrovni transkriptomu nebo proteomu (Fournier & Schacherer, 2017).

Neúplná penetrance je pravděpodobně důsledkem kombinace několika různých genetických i negenetických faktorů. Mezi genetické faktory patří modifikující geny, vliv konkrétní alely, intragenové polymorfismy, CNV (copy number variation – variace v počtu kopií), polygenní dědičnost, efekt dávky alel, úroveň exprese genu, epigenetické změny a vliv pohlaví. Mezi negenetické faktory řadíme věk, životní styl jedince a vliv prostředí (Cooper *et al.*, 2013; Shawky, 2014). Příklady vlivu modifikujících genů, polymorfismů, exprese genu,

polygenní dědičnosti, pohlaví a z negenetických faktorů vliv věku a životního stylu na penetranci jsou uvedeny dále v textu.

U některých genetických onemocněních mohou některé alely daného genu vykazovat neúplnou penetranci, kdežto jiné alely téhož genu mohou být plně penetrantní. U retinoblastomu, kde zárodečná mutace v genu *RBI* činí její nositele náchylné k manifestaci onemocnění, se mutace dědí s autozomálně dominantní dědičností a s téměř úplnou penetrancí a vysokou expresivitou. Přesto se v některých rodinách projevuje neúplná penetrance. Mutované alely s RP můžeme rozdělit do dvou skupin: (1) mutace snižující množství funkčního proteinu pRB nebo (2) způsobující vznik částečně funkčního proteinu pRB. Do první skupiny můžeme zařadit mutace v promotoru, které interferují s transkripčními faktory a snižují úroveň genové exprese, a mutace sestřihového místa (splice site), kde dochází k záměně nukleotidu a odchýlení od vysoce konzervovaného sestřihového místa (AG/GT). Většina vznikající mRNA je nefunkční a postrádá exon, přesto stále kolem 10 % mRNA je správně sestřiženo a je funkční. Do druhé skupiny patří malé in-frame delece nebo bodové mutace, které mají mírnější efekt na protein – snižují jeho stabilitu a afinitu k vazbě dalších proteinů (Harbour, 2001).

Neúplná penetrance může být způsobena přítomností tzv. “střední“ mutované alely bez klinického projevu, označované jako premutace. Premutace se vyskytují hlavně u nemocí s expanzí trinukleotidových repetic, kdy určitý počet repetic u jedince znamená normální fenotyp, ale je rizikový pro jeho potomky. Mutovaná alela s repeticemi je náchylná k expanzi, a tak z generace na generaci může zdravý jedinec s premutací mít nemocné potomky, u kterých je mutovaná alela plně penetrantní (Zlotogora, 2003). Příkladem je syndrom fragilního X, kde alela genu *FMRI* (Fragile X mental retardation 1) s 50-230 tandemovými repeticemi tripletu CGG podmiňuje normální hladinu proteinu FMRP (Devys *et al.*, 1993), nebo Huntingtonova choroba, kde jsou označovány jako střední alely (intermediate alleles) genu *HTT* alely obsahující 27-35 tandemových repetic tripletu CAG (Semaka *et al.*, 2013). K Huntingtonově chorobě ještě dále v textu.

CNV jsou strukturní změny chromozomů (delece nebo duplikace), které mění počet kopií specifických oblastí DNA. Tyto chromozomové delece a duplikace jsou úseky DNA o délce 20 000 -1 000 000 bp zahrnující více genů, vykazují individuální délkovou variabilitu a liší se i prevalencí (Thapar & Cooper, 2013). U řady CNV bylo prokázáno, že zvyšují riziko vzniku schizofrenie, vývojového zpoždění, poruchy autistického spektra, a různých vrozených malformací. Kirov *et al.*, (2014) zkoumali frekvenci vybraných autozomálních CNV (38 delecí

a 32 reciprokových duplikací), považovaných za rizikové v souvislosti se schizofrenií (viz Tabulka 1) u jedinců s těmito poruchami, u zdravých kontrolních jedinců a také u jedinců vybraných z běžné populace (bez rozlišení fenotypu). Na základě frekvencí výskytu konkrétní CNV u těchto tří skupin potom určovali míru penetrance jednotlivých CNV u schizofrenie a ostatních poruch. Zjistili, že penetrance téměř všech zkoumaných CNV je vyšší u vývojového zpoždění, poruchy autistického spektra a vrozených malformací než u schizofrenie (data jsou uvedena v tabulce 1). Z toho usoudili, že CNV spojené se schizofrenií jsou vysoce rizikové, ale častěji dochází k rozvoji poruch s časným nástupem než k rozvoji schizofrenie. Hodnoty penetrance se hodně lišily mezi jednotlivými CNV. Například duplikace 16p13.11 má penetranci 2,2 % u schizofrenie, 8,4 % u ostatních poruch, celková penetrance 10,6 %. Delece 22q11.2 (VCFS delece) má penetranci 12 % u schizofrenie a 88 % u ostatních poruch, celkem 100 % (Kirov *et al.*, 2014).

Tabulka 1: Frekvence a penetrance u CNV spojených se schizofrenií.

Lokus	Frekvence %				Penetrance %		
	Kontroly	SCZ	VZ/ASD/VM	Běžná populace	SCZ	VZ/ASD/VM	Celkem
1q21.1 del	0,021	0,17	0,29	0,033	5,2	35	40
1q21.1 dup	0,038	0,13	0,2	0,45	2,9	18	21
<i>NRXN1</i> del	0,02	0,18	0,18	0,028	6,4	26	33
3q29 del	0,0014	0,082	0,061	0,0046	18	53	71
WBS dup	0,0058	0,066	0,12	0,011	6	44	50
15q13.3 del	0,28	0,59	0,81	0,3	2	11	13
Prader-Willi/Angelman dup	0,0083	0,079	0,25	0,019	4,2	54	58
15q13.3 del	0,019	0,14	0,26	0,03	4,7	355	40
16p13.11 dup	0,13	0,31	0,3	0,14	2,2	8,4	10,6
16p13.11 distal del	0,018	0,063	0,14	0,024	2,6	23	26
16p13.11 dup	0,03	0,035	0,28	0,043	8	23	34
17q12 del	0,0054	0,36	0,087	0,009	4	39	43
DiGeorge/VCFS del	0	0,29	0,54	0,024	12	88	100

Zkratky: SCZ-schizofrenie; VZ-vývojové zpoždění; ASD-poruchy autistického spektra; VM-vrozené malformace (Kirov *et al.*, 2014)

Efekt dávky alel můžeme pozorovat hlavně u autozomálně dominantních nemocí, kde většinou homozygoti mají vážnější fenotyp než heterozygoti pro danou mutovanou alelu. V případě Hirschsprungovy nemoci (HSCR), způsobující vrozenou neprůchodnost tlustého střeva způsobenou absencí inervace, v důsledku mutace sestřihového místa (IVS6+5G→A – mutace v intronu 6 na pozici +5) v genu *RET* kódujícím tyrosinkinázový receptor, se u heterozygotů projevuje neúplná penetrance, zatímco u homozygotů je plně penetrantní. Ve studii inbrední rodiny israelsko-arabského původu byli čtyři jedinci homozygoté s vážnou

formou Hirschsprungovy nemoci, jeden heterozygot se s-HSCR (short-segment HSCR – mírnější forma nemoci postihují kratší úsek střeva pod esovitou kličkou tlustého střeva) a sedm zdravých heterozygotů (Basel-Vanagaite *et al.*, 2007).

Neúplná penetrance se vyskytuje i u mitochondriálně dědičných onemocnění. U Leberovy dědičné optické neuropatie (LHON, jedna z nejčastějších dědičných optických neuropatií), kde 90 % pacientů nese jednu ze tří bodových mutací mtDNA (m.11778G>A, m.3460G>A, m.14484T>C) v genech kódujících některou z podjednotek komplexu 1 v respiračním řetězci. Pouze 50 % mužů nesoucích mutaci je postiženo, žen s mutací jen 10 % (Caporali *et al.*, 2017). Většina postižených nese mutace v homoplazmické podobě (všechny mitochondrie stejné, 100 % mutované). V případě že je jedinec heteroplazmický, pravděpodobnost projevu mutované alely je ještě nižší. Studie 17 rodokmenů s heteroplazmickou mutací m.11778F>A ukázala, že čím více je mitochondrií bez rizikových mutací, tím menší procento jedinců je postižených. U mužů s méně než 60 % mitochondrií s mutací v krvi nebyl žádný s klinickými projevy nemoci (Chinnery *et al.*, 2001).

Další vliv na míru penetrance mohou mít polymorfismy v mtDNA (mitochondriální DNA), které jsou děděny společně jako haploskupiny mtDNA. V evropské populaci mutace m.11778G>A a m.14484T>C mají vyšší penetranci v kombinaci s haploskupinou J. U mutace m.3460G>A se neukázala žádná výrazná asociace s některou z haploskupin (Torrioni *et al.*, 1997). Studie 53 rodin z jihovýchodní Asie s mutací m.11778G>A také ukázala spojitost s haploskupinami. Haploskupina B, přesněji podskupina B5a1 byla daleko častější u rodin s LHON než u kontrolních jedinců a u této podskupiny bylo také vyšší riziko ztráty zraku. Naopak haploskupina F byla výrazně méně zastoupena u rodin s mutací, což naznačuje, že by mohla mít protektivní efekt a snižovat míru penetrance mutace, ale kvůli malému počtu rodin s mutací m.11778G>A a haploskupinou F (pouze 1 rodina) nebyl výsledek této studie dostatečně statisticky signifikantní (Kaewsutthi *et al.*, 2011).

Svou roli v penetranci hraje i množství mitochondrií. Zdraví nosiči mutace mají výrazně vyšší počet kopií mtDNA a mitochondrií ve srovnání s postiženými příbuznými a kontrolními jedinci. Zvýšená mitochondriální biogeneze u nosičů může překonat patogenní efekt mitochondriální mutace (Giordano *et al.*, 2014).

Epigenetické změny zahrnují dědičné změny v genové expresi, které probíhají bez změny v sekvenci DNA a dochází k nim i v průběhu života. Patří sem metylace DNA, modifikace histonů, exprese miRNA (Shawky, 2014). Na studii jednovaječných dvojčat byl

prokázán vliv hypermetylace v genu pro serotoninový transportér (gen *SLC6A4*) na vývoj bipolární poruchy: dvojče se zvýšenou metylací mělo bipolární poruchu zatímco druhé ne (Sugawara *et al.*, 2011). Dalším příkladem vlivu epigenetických změn na penetranci je inaktivace X-chromozomu u X vázaných chorob, která může u žen výrazně měnit fenotyp. Například u chondrodysplázie punctata způsobené mutací v genu *EPB* na X chromozomu, Shirahama *et al.* (2003) ukázali příklad, kde pacientka vykazovala fenotyp této nemoci, ale její matka se stejnou mutací ne.

4 Genetické testování

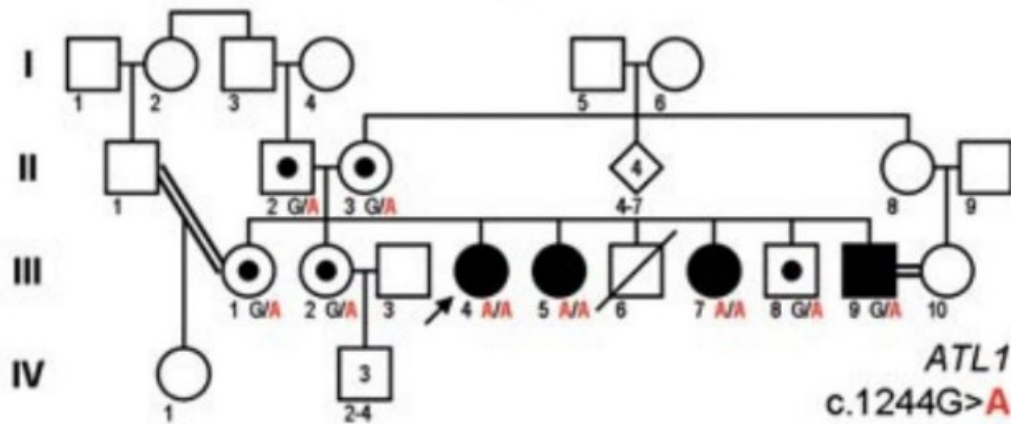
Klinické genetické testování zahrnuje novorozenecký screening, diagnostické testování a prediktivní a presymptomatické testování pro nemoci s nástupem v dospělosti a pro komplexní onemocnění. Může být prováděno pomocí celogenomového testování nebo určením genotypu pro konkrétní geny podle genetické zátěže v rodině nebo podle fenotypu jedince (Katsanis & Katsanis, 2013).

Genetické testování umožňuje zjištění rizika dědičných chorob ještě dříve, než se projeví symptomy nemoci. V případě nosičů mutovaných alel s nízkou penetrancí se však nemoc nemusí projevit. Výsledkem je velký počet falešně pozitivních výsledků (Waaen & Beutler, 2009). Přesto identifikace mutací se sníženou penetrancí u jedinců s genetickou zátěží je prospěšná. V kombinaci s konzultací s lékařem vede ke stanovení rizikových faktorů a jedinec může podstupovat preventivní opatření. To je případ mutace H483Y v genu *RBI* u již zmiňovaného hereditárního retinoblastomu (Serrano *et al.*, 2011).

Neúplná penetrance představuje problém také pro klasifikaci mutací či polymorfismů. Problémy při studiu rodokmenů se ukázaly např.: u hereditární spastické paraplegie, která patří mezi nejvíce heterogenní, geneticky podmíněné nemoci (Schüle & Schöls, 2011). V jedné ze studií zkoumali dědičnost této nemoci u rodiny pocházející z malé vesnice v Maroku.

Sestavený rodokmen (Obrázek 2) zahrnoval několik příbuzenských sňatků. V dané rodině se mezi 9 sourozenci vyskytli 4 postižení potomci, jejich rodiče i další předci byli zdraví, a proto se předpokládalo, že postižení jsou recesivní homozygoti (autozomálně recesivní typ dědičnosti). Předpoklad byl však mylný a ukázalo se, že jde o autozomálně dominantní dědičnost s mutací v genu *ATLI*, kódujícím protein atlastin, na pozici 1244G>A. Pomocí sekvenování zjistili, že 3 ze 4 postižených byli dominantní homozygoti. Heterozygoti byli: čtvrtý postižený sourozenec, 3 zdraví sourozenci a oba zdraví rodiče. Z tohoto nálezu vyplývá,

že homozygoti AA pro c.1244G>A projevují úplnou penetrancí, zatímco u heterozygotů se vyskytuje neúplná penetrance (Varga *et al.*, 2013). Na tomto příkladu se ukazuje, že bez sekvenování genomů a dalších analýz by byl špatně určen typ dědičnosti a neúplná penetrance by nebyla odhalena.

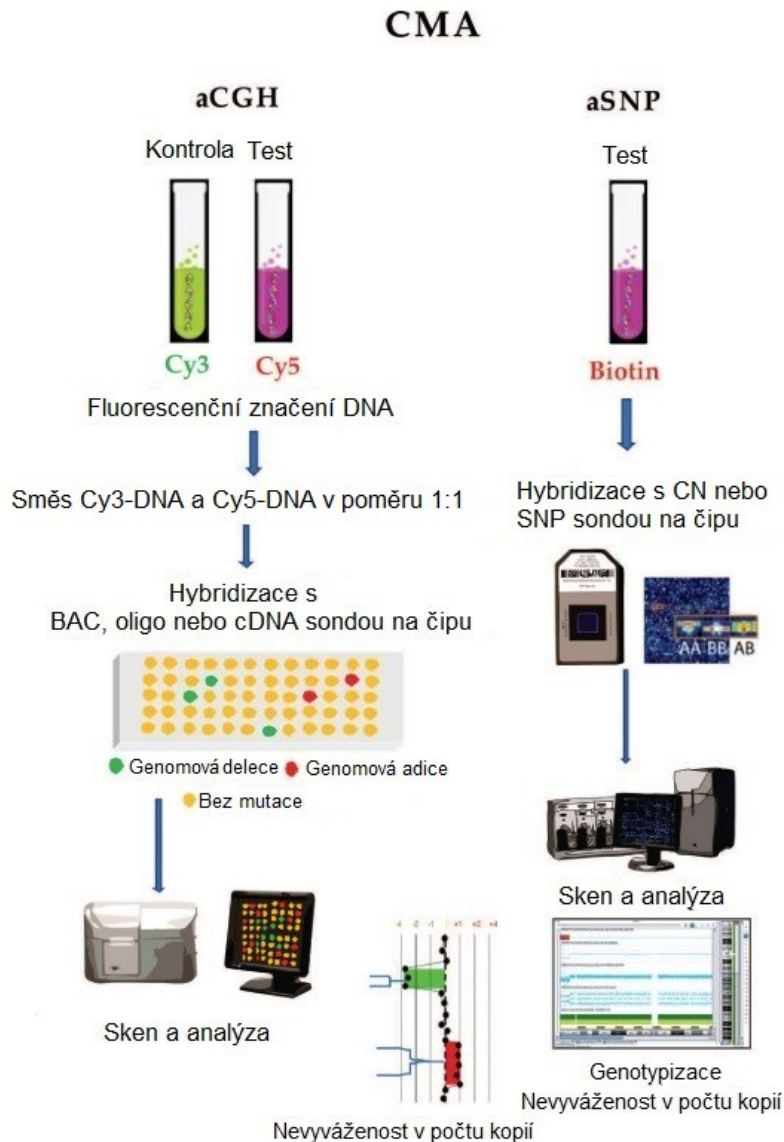


Obrázek 2: Rodokmen rodiny s výskytem hereditární spastické paraplegie. Jednou z příčin hereditární spastické paraplegie je mutace v genu *ATL1*, kódujícím protein atlastin. V genu *ATL1* je na pozici 1244 polymorfní místo G>A, které ovlivňuje frekvenci sestřihu 1. intronu. V rodokmenu jsou heterozygoti G/A zpravidla bez klinických projevů s výjimkou III/9, homozygoti A/A jsou vždy postižení. (Varga *et al.*, 2013)

Mikroarrayová analýza chromozomů (CMA – chromosomal microarray analysis) je soubor metod celogenomového screeningu, který detekuje strukturní chromozomové aberace s větším rozlišením než analýza karyotypu. Mezi CMA techniky patří CGH (comparative genomic hybridization, srovnávací genomová hybridizace) a SNP array. CGH může být zaměřena specificky na mikroleční a mikroduplikační syndromy nebo i na rozsáhlejší oblasti v závislosti na počtu a typu použitých sond. SNP array detekuje mikroleční a mikroduplikační syndromy a také dlouhé souvislé úseky homozygotity, které mohou být spojeny s inbreedingem nebo uniparentální disomií. Kromě toho mohou také detekovat triploidii a paternitu (Lo *et al.*, 2014). CMA metody jsou doporučeny jako test první úrovně pro jedince s nevysvětlitelným vývojovým zpožděním, poruchami autistického spektra a pro mnoho vrozených vývojových vad (Miller *et al.*, 2010).

Mezi lety 2013-2016 bylo provedeno 21 594 CMA testů, ty byly prováděny u 15 215 těhotenství s nízkým rizikem (kontrolní skupina), 2 791 vysoce rizikových těhotenství (plod měl strukturální malformace detekované ultrazvukem nebo magnetickou rezonancí) a u 3 588 postnatálních jedinců (pacienti s mentálním postižením, autismem a dalšími kognitivními poruchami). Maya *et al.*, (2018) se soustředili na 20 patogenních CNV se známou penetrancí. U CNV s nízkou penetrancí (>10 %) nebyl nalezen signifikantní rozdíl v jejich počtu mezi

jednotlivými vyšetřovanými skupinami. Naopak u CNV s vysokou (>40 %) a středně vysokou penetrancí (10-40 %) byl nalezen větší počet CNV u postnatálních vzorků než u prenatalních. CNV s nízkou penetrancí pravděpodobně nejsou přímou příčinou onemocnění. Autoři tedy navrhují, že CNV s nízkou penetrancí nelze považovat za patogenní a nelze je používat k predikci fenotypu (Maya *et al.*, 2018).



Obrázek 3: CMA metody. U aCGH se testovaná DNA značí fluorescenčním barvivem Cy5, zatímco kontrolní DNA Cy3. Obě značené DNA se smíchají v poměru 1:1 a hybridizují se s DNA navázanou na čipu (array). Analýzou fluorescenčního signálu lze zjistit změnu v počtu kopií určité oblasti genomu. Arraye se liší typem navázané DNA: BAC (bacterial artificial chromosome, umělý bakteriální chromozom) pokrývá oblast 170 kbp, avšak tendence je minimalizovat rozsah testované oblasti: cDNA (0,5-2 kb), PCR produkty (0,1-1,5 kb), oligonukleotidy (25-85 bp). U aSNP se testovaná DNA, značená biotinem nebo fluorescenčním barvivem, hybridizuje k DNA vázané na čipu. Pro každé polymorfní místo jsou na čipu přítomny obě varianty. Z intenzity hybridizačního signálu v daném místě čipu lze určit přítomnost SNP alely v testované DNA, případně CNV, ztrátu heterozygoty, původ mutované alely atd. (Plaza Pinto *et al.*, 2019)

5 Vybraná dědičná onemocnění s neúplnou penetrancí

Existuje velká škála onemocnění s neúplnou penetrancí. Zde jsem vybrala onemocnění, kde byly zkoumány příčiny neúplné penetrance a jsou dobře popsány. Zároveň jsou způsobena odlišným typem mutace (expanze tripletu, substituční mutace) a mají odlišnou dědičnost (autozomálně dominantní, autozomálně recesivní, X-vázaná, polygenní dědičnost).

Tabulka 2: Přehled vybraných onemocnění s RP.

Onemocnění	Dědičnost	Hlavní příčiny RP	Literatura
Retinoblastom	AD	typ mutované alely	(Harbour, 2001)
Huntingtonova choroba	AD	modif. geny	(McColgan & Tabrizi, 2018)
Hereditární hemochromatóza	AR	modif. geny, živ. styl	(Rochette <i>et al.</i> , 2010)
Syndrom fragilního X	X-vázané	premutace	(Hagerman & Hagerman, 2013)
Chondrodysplázie punctata	X-vázané	inaktivace X chr.	(Shirahama <i>et al.</i> , 2003)
Leberova hereditární optická neuropatie	mit.	haplotyp,	(Caporali <i>et al.</i> , 2017)
Schizofrenie	polygen.	CNV	(Kirov <i>et al.</i> , 2014)
Syndrom dlouhého QT intervalu	polygen.	SNP, genová exprese, pohlaví	(Giudicessi <i>et al.</i> , 2018)

Zkratky: AD- autozomálně dominantní, AR – autozomálně recesivní, mit. – mitochondriální, polygen. – polygenní, modif. geny – modifikující geny, živ. styl – životní styl

5.1 Huntingtonova choroba

Huntingtonova choroba (HD) je progresivní porucha mozku, způsobuje nekontrolovatelné pohyby, emoční problémy a ztrátu schopnosti myšlení. V západní populaci má prevalenci 10-13 jedinců na 100 000. Je to autozomálně dominantní onemocnění, způsobené mutací v genu *HTT*, který kóduje protein huntingtin. Gen se nachází na krátkém ramínku chromozomu 4, kde v exonu 1 dochází k expanzi tripletu CAG, kódujícího glutamin. U zdravých jedinců mají alely 10 až 35 repetice, zatímco u lidí s Huntingtonovou chorobou je to 40 a více repetice, při tomto počtu repetice je nemoc plně penetrantní (McColgan & Tabrizi, 2018). Alely s 36-39 repeticemi jsou rizikové a u nosičů se projevuje neúplná penetrance. Délka repetice také ovlivňuje věk nástupu nemoci.

Frekvence výskytu alel s neúplnou penetrancí je relativně velká. Podle studie, kde bylo zkoumáno 7 315 jedinců starších 18 let, náhodně vybraných z běžné populace (3 906 ze Spojených států amerických, 1 815 ze severu Skotska a 1 594 z Britské Kolumbie v Kanadě) mělo 15 jedinců (0,205 %) alely s 36-39 repeticemi a 3 jedinci (0,041 %) s více než 40 repeticemi. To znamená, že přibližně 1 ze 400 jedinců má zvýšený počet CAG repetice spojen s neúplnou penetrancí a přibližně 1 z 2 500 má plně penetrantní alelu (více než 40 repetice) (Kay *et al.*, 2016). Pravděpodobnost projevu HD u jedinců s neúplně penetrantní alelou je 63,9 % v 65 letech a 74,2 % v 75 letech života (Quarrell *et al.*, 2007).

HD je příkladem choroby, kde mají vliv na RP modifikující geny. Modifikujících genů pro HD je více. Pomocí Genome-wide association study (GWAS) byly objeveny oblasti na chromozomech, které mají vliv na věk nástupu. V GWA123 byly nalezeny oblasti na chromozomu 8, která snižovala věk nástupu, a na chromozomu 15 (gen *FANI*) s opačným efektem (Modifiers of Huntingtons Disease Consortium *et al.*, 2015). Tyto oblasti se poté objevily i v GWA12345 spolu s chromozomem 3 (*MLH1*), chr. 2 (*PMS1*), chr. 5 (*MSH3/DHFR*), chr. 7 (*PMS2*), a chr. 19 (*LIG1*) všechny obsahující geny spojené s opravou DNA. Dále stejně, jako chromozom 8 (*RRM2B/UBR5*), další modifikující geny na chr. 5 (*TCERG1*) a chr. 11 (*CCDC82*), které se nepodílí na opravách DNA (Gusella, 2019).

Pomocí transcriptome-wide association study (TWAS) bylo zjištěno, že zvýšená exprese genu *FANI* oddaluje nástup nemoci a zpomaluje její progresi. Naopak snížená exprese tohoto genu snižuje věk nástupu nemoci a zrychluje její postup. S pomocí lidských buněčných linií (U20S SEC-C, HEK293T, Phoenix Ampho) a indukovaných pluripotentních kmenových

buněk odvozených od pacientů s HD zjistili, že protein FAN1 omezuje somatickou expanzi CAG tripletu (Goold *et al.*, 2019).

Přesný mechanismus, kterým *FAN1* zabraňuje expanzi CAG, zatím není znám, ale na základě ChIP analýzy (chromatin immunoprecipitation) pravděpodobně rozeznává neobvyklé konformace a lze předpokládat, že se váže na CAG repetice nebo někde v jejich blízkosti. Gen *FAN1* (FANCD2 And FANCI Associated Nuclease 1, Fanconi associated nuclease 1) kóduje endonukleázu, která se podílí na opravách meziřetězcových křížových vazeb v DNA, při opravách závislých na homologní rekombinaci a při zablokování replikační vidlice. Ztráta tohoto genu způsobuje karyomegalickou intersticiální nefritidu, vzácné recesivní onemocnění ledvin (Goold *et al.*, 2019).

Dalším z modifikujících genů je *MSH3* (mutS homolog 3), jehož snížená exprese oddaluje věk nástupu nemoci a její progresi. Je to gen umístěný na dlouhém raménku 5. chromozomu a kóduje protein, který je součástí post-replikačního “mismatch“ opravného systému DNA (MMR). Efekt tohoto genu se zkoumal v souboru 218 jedinců vybraných z dlouhodobé studie TRACK-HD (Tabrizi *et al.*, 2009). Exon 1 genu *MSH3* obsahuje 9 bp dlouhou tandemovou repetici. Pomocí Illumina sequencing byla osekvenována oblast exonu 1 genu *MSH3* u všech 218 jedinců a dále pomocí RNA-sekvence z krve se zjišťoval vliv sekvence genu *MSH3* na jeho expresi. Alely obsahovaly kombinace 5 typů opakujících se motivů kódujících prolin nebo alanin (9 bp tandem repeats alleles). Celkem bylo pozorováno 16 *MSH3* alel (viz Tabulka 3), lišících se v sekvenci a délce od 3 po 9 repetic. Alely 6a a 3a byly v daném vzorku nejčastější (číslo značí počet repetic a písmeno výskyt alely tzn. 6a – nejčastěji se vyskytující alela s 6 repeticemi). Alela 6a se vyskytovala vůbec nejčastěji a odpovídá referenční lidské sekvenci. Alela 3a byla spojena se snížením somatické expanze, oddálením nástupu a zpomalením progresu HD, pravděpodobně díky snížení exprese *MSH3*. Vzhledem k tomu, že oblast repetic je v blízkosti vazebných domén pro proteiny MMR, je možné, že alela 3a mění funkci *MSH3* v rozpoznávání a opravách DNA (Flower *et al.*, 2019). Podle dat z TWAS zvýšená exprese *MSH3* v kortexu je spojena s rychlejší progresí nemoci (Moss *et al.*, 2017).

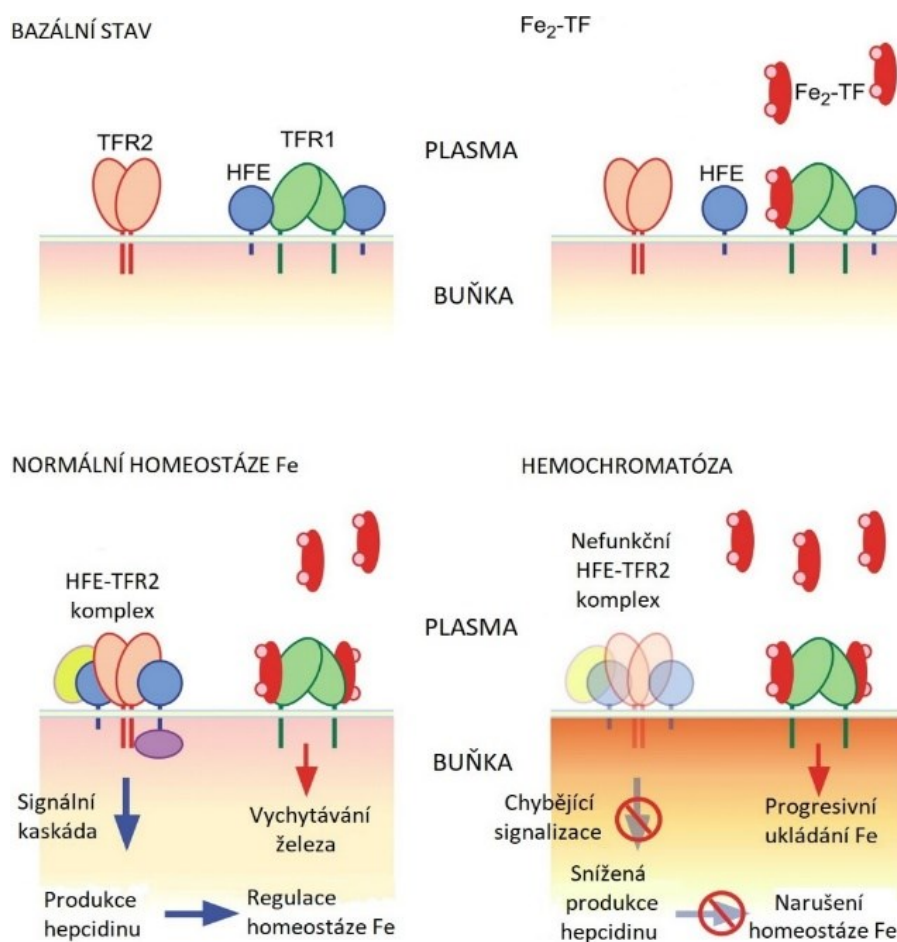
Tabulka 3: Sekvence jednotlivých alel genu *MSH3*– v závorce opakující se 9bp tandemové repetice a číslo za závorkou odpovídá počtu opakování v sekvenci (Flower et al., 2019)

<i>MSH3</i> alela	Repetitivní sekvence
3a	(GCTGCAGCG)1(GCCGCAGCG)1(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)0
3b	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)0(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)0
5a	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)1(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
5b	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)2(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)0(CCCCCAGCT)1
6a	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)2(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
6b	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)1(CCCGCAGCG)1(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
6c	(GCTGCAGCG)1(GCCGCAGCG)3(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
7a	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)2(CCCGCAGCG)1(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
7b	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)2(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)2(CCCCCAGCT)1
7c	(GCTGCAGCG)1(GCCGCAGCG)3(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)2(CCCCCAGCT)1
7d	(GCTGCAGCG)1(GCCGCAGCG)3(CCCGCAGCG)1(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
7e	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)3(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
8a	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)3(CCCGCAGCG)1(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
8b	(GCTGCAGCG)1(GCCGCAGCG)4(CCCGCAGCG)1(CCCCCAGCG)1(CCCCCAGCT)1
9a	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)1(CCCGCAGCG)0(CCCCCAGCG)5(CCCCCAGCT)1
9b	(GCTGCAGCG)2(GCCGCAGCG)3(CCCGCAGCG)1(CCCCCAGCG)2(CCCCCAGCT)1

5.2 Hereditární hemochromatóza

Hemochromatóza prvního typu je onemocnění s autozomálně recesivní dědičností, vyznačuje se zvýšenou akumulací železa v tkáních. Nejčastěji (82–90 %) je způsobeno mutací v genu *HFE* (**H**igh **F**e²⁺) kódujícím regulační protein udržující homeostázi železa, kde dochází k záměně cysteinu za tyrosin na pozici 282 (p.C282Y). Prevalence této mutace je přibližně 1 z 200 jedinců v evropské populaci (Rochette *et al.*, 2010). Funkce proteinu HFE je znázorněna na obrázku 4. Protein HFE je transmembránový a vyskytuje se v komplexu s transferrin receptorem 1 (TFR1). TFR1 může také vázat sérový transferrin s navázaným železem (Fe₂-TF). Jestliže stoupá saturace sérového transferrinu, dochází k disociaci HFE z komplexu HFE-TFR1. Uvolněný HFE se naváže na TFR2 (transferrin receptor 2). Komplex HFE-TFR2 funguje jako signální molekula a dochází ke zvýšení produkce hepcidinu, který se podílí na udržení homeostáze železa (Gao *et al.*, 2009). Homozygoti s alelou (p.C282Y) vykazují signifikantně vyšší hodnoty saturace transferrinu a sérového ferritinu v porovnání s kontrolními jedinci stejného pohlaví (Waaen *et al.*, 2005) Podle kohortové studie z roku 2018, provedené ve Velké Británii u souboru se 451 243 dobrovolníky ve věkovém rozmezí 40 až 70 let, odpovídá míra penetrance homozygotního fenotypu hodnotě 8 % (Grosse *et al.*, 2018). Možná vysvětlení nízké míry penetrance můžeme rozdělit na genetické a negenetické faktory.

Mezi genetické faktory můžeme řadit modifikující geny. Jedním z nich je gen HAMP kódující hepcidin, který zvyšuje hodnotu saturace transferrinu u jedinců s mutací v HFE genu a může vést k hemochromatóze (Jacolot *et al.*, 2004). Hepcidin snižuje koncentraci ferroportinu na buňkách exportujících železo (enterocyty ve dvanáctníku, makrofágy, hepatocyty) a tím reguluje množství železa, které se dostává do krve odkud je železo vychytáváno a hromaděno v tkáních (Sangkhae & Nemeth, 2017). Vzhledem k centrální roli hepcidinu v homeostázi železa a v patofyziologii hemochromatózy, mohou všechny geny ovlivňující transkripci nebo regulaci genu HAMP ovlivnit závažnost akumulace železa u p.C282Y homozygotů. Dále můžeme předpokládat vliv dalších genů souvisejících s metabolismem železa nebo produkcí/degradací reaktivních forem kyslíku (ROS) (Rochette *et al.*, 2010).



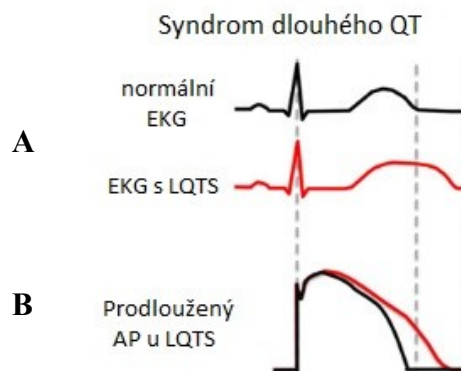
Obrázek 4: Model role HFE při regulaci hepcidinu. Vlevo nahoře-Při bazální hladině Fe se vyskytuje HFE v komplexu s TFR1, vpravo nahoře-zvýšená saturace TF železem, tím získá větší afinitu k vazbě na TFR1, dochází k rozpadu komplexu HFE-TFR1, vlevo dole-vytvoření komplexu HFE-TFR2, který funguje jako signální molekula a dochází k zvýšené produkci hepcidinu, vpravo dole-nefunkční signální molekula nedochází ke zvýšení produkce hepcidinu, zkratky: TF-transferrin, TFR-transferrin receptor (Goswami and Andrews, 2006).

Negenetickými faktory jsou věk a pohlaví. Akumulace železa v těle bývá patrná až v druhé dekádě života, protože jeho potřeba je vyšší u dětí a mladistvých. U dospělých dochází již jen k minimálním ztrátám železa, a proto u žen působí menstruace a těhotenství protektivně vzhledem k zadržování železa v těle. Dále dochází ke zhoršení v důsledku vlivu přirozeného stárnutí na určité biologické procesy (Rochette *et al.*, 2010).

Mezi nejvíce studované enviromentální faktory patří alkohol a infekce virem hepatitidy C, které jsou zároveň rizikovými faktory cirhózy jater. Na myším modelu byl prokázán negativní vliv alkoholu. Pravidelná konzumace alkoholu vedla ke snížení exprese genu kódujícího hlavní regulátor příjmu železa - hepcidin a ke zvýšení množství mRNA duodenálního ferroportinu. Efekt alkoholu je však nezávislý na *HFE* genu, ale ovlivňuje projevy nemoci (Heritage *et al.*, 2009).

5.3 Syndrom dlouhého QT

Syndrom dlouhého QT (LQTS) je genetické onemocnění charakterizované zpožděnou repolarizací komorového myokardu, prodlouženým QT intervalem na elektrokardiogramu (EKG, Obrázek 5) a zvýšeným rizikem synkopy (náhlá, krátkodobá ztráta vědomí a posturálního tonu s následnou úpravou vědomí, která je obvykle také rychlá), srdeční zástavy a náhlé srdeční smrti. LQTS je velmi závažné onemocnění: symptomatictí pacienti ponechaní bez léčby mají vysokou úmrtnost, 21 % do jednoho roku od první synkopy (Schwartz *et al.*, 2012)



Obrázek 5: syndrom dlouhého QT, (A) porovnání EKG zdravého člověka a pacienta s LQTS; (B) porovnání ventrikulárního akčního potenciálu (AP), červeně prodloužený AP u LQTS, černě normální AP (Giudicessi and Ackerman, 2013)

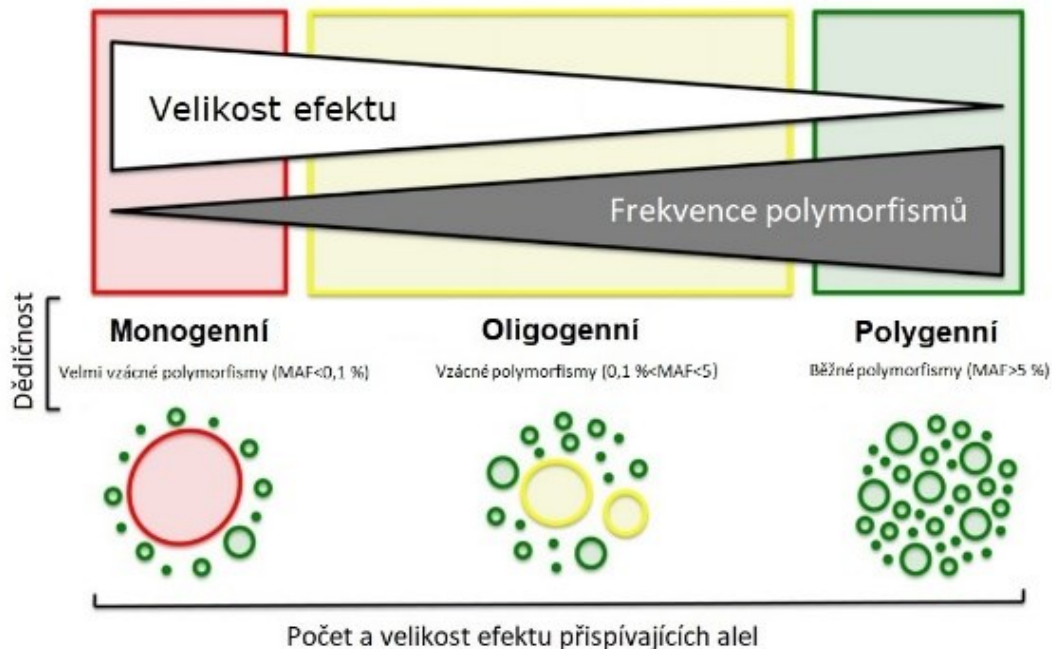
Zatím byly identifikovány 3 hlavní geny (*KCNQ1*, *KCNH2* a *SCN5A*) a 10 vedlejších spojených s LQTS, přehled v tabulce 4. Dále byly popsány ještě další 3 multisystémové poruchy, u kterých dochází k prodloužení QT intervalu a dříve byly považovány za podtypy LQTS, a to ankyrin B syndrom – dříve LQT4, Anderson-Tawil syndrom – dříve LQT7 a Timothy syndrom – dříve LQT8 (Tester & Ackerman, 2014).

Tabulka 4: Geny spojené s LQTS (Tester and Ackerman, 2014)

Gen	Lokus	Protein
Hlavní (Major)		
<i>KCNQ1</i> (LQT1)	11p15.5	I _{Ks} draselný kanál, α podjednotka (Kv7.1)
<i>KCNH2</i> (LQT2)	7q35-36	I _{Kr} draselný kanál, α podjednotka (Kv11.1)
<i>SCN5A</i> (LQT3)	3p21-p24	Sodný kanál, α podjednotka (Nav1.5)
Vedlejší (Minor)		
<i>KCNE1</i>	21q22.1	Kv7.1 – draselný kanál, β podjednotka (MinK)
<i>KCNE2</i>	21q22.1	Kv11.1 – draselný kanál, β podjednotka (MiRP1)
<i>CACNA1C</i>	12p13.3	Ca napětově řízený kanál typ-L (Ca _v 1.2)
<i>CAV3</i>	3p25	Caveolin 3
<i>SCN4B</i>	11q23.3	sodný kanál, β_4 podjednotka
<i>AKAP9</i>	7q21-q22	Yotiao
<i>SNTA1</i>	20q11.2	Syntrophin α 1
<i>KCNJ5</i>	11q24.3	draselný kanál (Kir3.4)
<i>CALM1</i>	14q32.11	Calmodulin
<i>CALM2</i>	2p21	Calmodulin

V běžné populaci je délka QT intervalu velmi variabilní a většina této variability je dána geneticky. Na délce QT intervalu se může podílet spektrum DNA polymorfismů (znázorněno na obrázku 6). Na jedné straně spektra jsou velmi vzácné mutace (minor allele frequency - MAF <0,1 %) v genech kódujících srdeční kanály, které vážně narušují repolarizaci myokardu a způsobují monogenně podmíněné LQTS. Na druhé straně jsou běžné DNA polymorfismy (MAF > 5 %) vyskytující se u běžné populace, identifikované pomocí large-scale GWAS. Tyto polymorfismy slabě narušují repolarizaci myokardu, mají minimální efekt na trvání QT intervalu. Akumulace několika těchto polymorfismů by mohla způsobit polygenní LQTS. Uprostřed spektra jsou poměrně vzácné polymorfismy (0,1 % <MAF <5 %), které mírně narušují repolarizaci myokardu (Giudicessi & Ackerman, 2013).

Data ze sekvenování exomu ukázala, že 1 z 31 jedinců v běžné populaci nese nějaký polymorfismus spojený s LQTS (Refsgaard *et al.*, 2012). V porovnání s prevalencí LQTS (1:2 000 až 1:5 000) je jasné, že tyto polymorfismy nestačí samostatně k rozvoji LQTS a potřebují další genetický nebo environmentální podnět (Giudicessi & Ackerman, 2013).



Obrázek 6: Spektrum genetických variant spojených s LQTS. MAF-minor allele frequency; monogenní - velmi vzácné varianty se silným efektem na fenotyp schopné způsobit nemoc samy, bez dalších podnětů; oligogenní – vzácné varianty s mírným efektem na fenotyp a neúplnou penetrancí, které vyžadují další podnět, aby se nemoc projevila; polygenní – běžné varianty se slabým efektem na fenotyp, které samy nezpůsobují nemoc. (Giudicessi and Ackerman, 2013)

Ve studii z roku 1992, kde zkoumali 199 členů ze 3 rodin, našli 82 nositelů mutace v některém z genů uvedených v tabulce 4 z nichž 5 (6 %) mělo normální délku QT intervalu (Vincent *et al.*, 1992). To byla jedna z prvních studií ukazující neúplnou penetraci u LQTS. Později při studiu 5 různých rodin s třígeneračním rodokmenem byla průměrná penetrance určena jako 35 %, (ze 23 nosičů patogenní alely bylo 8 klinicky postižených jedinců). Do této studie, ale byly zařazeny pouze rodiny s tzv. sporadickým LQTS, tedy pouze s jedním jedincem s klinickými příznaky nemoci (Priori *et al.*, 1999).

Vzhledem k velké rozmanitosti možných mutací a genů u LQTS existuje několik příčin RP. U mutací v genu *KCNQ1* (nejčastější varianta LQTS) byl zkoumán vliv SNPs v 3' netranslatované oblasti (3' UTR). Studie byla provedena na 84 pacientech z Academic Medical Center v Amsterdamu a výsledek byl ověřen na 84 pacientech z Mayo Clinic v Rochesteru. Gen *KCNQ1* kóduje α podjednotku draslíkového kanálu (Kv7.1), který je tvořen čtyřmi α podjednotkami. U pacientů heterozygotních pro mutaci v genu *KCNQ1* dochází ke

skládání podjednotek, které jsou produkty funkční a mutované alely, a výsledný fenotyp je závislý na vzájemném poměru jejich exprese (Amin *et al.*, 2012).

Oblast 3'UTR obsahuje místo pro navázání malých nekódujících miRNA, které posttranskripčně inhibují genovou expresi (Huntzinger & Izaurralde, 2011). Gen *KCNQ1* obsahuje 6 SNPs, ve 3'UTR a u třech z nich (rs2519184, rs8234, a rs10798) byl zkoumán jejich efekt na stabilitu a translaci mRNA. Jestliže se SNP vyskytuje v 3'UTR alely s mutací, dochází ke zkrácení QT intervalu tím, že je snížena její exprese, a tudíž i dochází ke snížení množství produktu (podjednotek Kv7.1) a snížení počtu nefunkčních kanálů. Nemoc není tak vážná nebo je nosič zcela bez klinických projevů. Naopak, je-li inhibiční SNP přítomno u funkční alely, dochází k prodloužení QT intervalu a nemoc se zhoršuje. Efekt SNPs na délku QT intervalu nebyl signifikantně rozdílný pro rozdílné mutace v genu *KCNQ1* (Amin *et al.*, 2012).

Na průběh nemoci má také vliv věk a pohlaví. To bylo zkoumáno u 533 pacientů s LQTS z International Long QT Syndrome registry (243 pacientů s mutací v genu *KCNQ1* (LQT1), 209 s mutací v genu *KCNH2* (LQT2) a 81 s mutací v genu *SCN5A* (LQT3)) (Zareba *et al.*, 2003). Výskyt srdečních příhod během dětství byl signifikantně vyšší u mužů s LQT1 než u žen s LQT1, u jedinců s LQT2 a LQT3 nebyl pozorován rozdíl mezi pohlavími. Naopak, v dospělosti ženy s LQT1 a LQT2 měly signifikantně vyšší výskyt srdečních příhod než muži. Letalita srdečních příhod byla nejvyšší u jedinců s LQT3 (19 % muži, 18 % ženy) a vyšší u mužů s LQT1 (5 %) a LQT2 (6 %) než u žen s LQT1 a LQT2 (2 % u obou). Tato zjištění ukazují, že náchylnost k srdečním příhodám se u mužů s mutací v draselném kanálu (LQT1 a LQT2) s věkem snižuje ale u žen zůstává zvýšená. Pokles výskytu srdečních příhod u mužů nemá jasné vysvětlení, ale pravděpodobně k tomu přispívají zvýšené hodnoty androgenů a snížení srdečního tepu po pubertě. Vzhledem k tomu, že nebyl rozdíl mezi pohlavím u jedinců s LQT3, tak je pravděpodobné, že pohlavní hormony stimulují funkci draselných kanálů, ale ne sodných (Zareba *et al.*, 2003).

6 Závěr

Tato práce shrnuje příčiny neúplné penetrance u dědičných chorob člověka a ukazuje robustnost lidského genomu. Neúplné penetranci nebyla dosud věnována velká pozornost, protože dědičná onemocnění byla studována převážně u jedinců vykazujících klinický fenotyp.

Neúplná penetrance je vlastností dané alely, ne fenotypu. Vyskytuje se u dominantně i recesivně podmíněných chorob, ale i u gonozomálního, mitochondriálního či polygenního typu dědičnosti. Genom člověka obsahuje nečekané množství polymorfismů vedoucích ke ztrátě funkce genů, které se však neprojeví klinicky závažnou změnou fenotypu. Studium příčin neúplné penetrance by mohlo umožnit lepší pochopení vztahu mezi genotypem a fenotypem.

7 Literatura

Altshuler, D. L. *et al.* (2010) 'A map of human genome variation from population-scale sequencing', *Nature*. Nature Publishing Group, 467(7319), pp. 1061–1073. doi: 10.1038/nature09534.

Amin, A. S. *et al.* (2012) 'Variants in the 3' untranslated region of the KCNQ1-encoded Kv7.1 potassium channel modify disease severity in patients with type 1 long QT syndrome in an allele-specific manner.', *European heart journal*, 33(6), pp. 714–23. doi: 10.1093/eurheartj/ehr473.

Basel-Vanagaite, L. *et al.* (2007) 'Allele dosage-dependent penetrance of RET proto-oncogene in an Israeli-Arab inbred family segregating Hirschsprung disease', *European Journal of Human Genetics*. Eur J Hum Genet, 15(2), pp. 242–245. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201733.

Caporali, L. *et al.* (2017) 'Incomplete penetrance in mitochondrial optic neuropathies', *Mitochondrion*. Elsevier B.V., 36, pp. 130–137. doi: 10.1016/j.mito.2017.07.004.

Chinnery, P. F. *et al.* (2001) 'Leber hereditary optic neuropathy: Does heteroplasmy influence the inheritance and expression of the G11778A mitochondrial DNA mutation?', *American Journal of Medical Genetics*. John Wiley & Sons, Ltd, 98(3), pp. 235–243. doi: 10.1002/1096-8628(20010122)98:3<235::AID-AJMG1086>3.0.CO;2-O.

Cooper, D. N. *et al.* (2013) *Where genotype is not predictive of phenotype: Towards an understanding of the molecular basis of reduced penetrance in human inherited disease*, *Human Genetics*. doi: 10.1007/s00439-013-1331-2.

Devys, D. *et al.* (1993) 'The FMR-1 protein is cytoplasmic, most abundant in neurons and appears normal in carriers of a fragile X premutation', *Nature Genetics*, 4(4), pp. 335–340. doi: 10.1038/ng0893-335.

Fournier, T. and Schacherer, J. (2017) 'Genetic backgrounds and hidden trait complexity in natural populations', *Current Opinion in Genetics & Development*. Elsevier Current Trends, 47, pp. 48–53. doi: 10.1016/J.GDE.2017.08.009.

Gao, J. *et al.* (2009) 'Interaction of the Hereditary Hemochromatosis Protein HFE with Transferrin Receptor 2 Is Required for Transferrin-Induced Hepcidin Expression', *Cell Metabolism*, 9(3), pp. 217–227. doi: 10.1016/j.cmet.2009.01.010.

- Giordano, C. *et al.* (2014) 'Efficient mitochondrial biogenesis drives incomplete penetrance in Leber's hereditary optic neuropathy', *Brain*, 137(2), pp. 335–353. doi: 10.1093/brain/awt343.
- Giudicessi, J. R. and Ackerman, M. J. (2013) 'Determinants of incomplete penetrance and variable expressivity in heritable cardiac arrhythmia syndromes', *Translational Research*. Mosby Inc., pp. 1–14. doi: 10.1016/j.trsl.2012.08.005.
- Giudicessi, J. R., Wilde, A. A. M. and Ackerman, M. J. (2018) 'The genetic architecture of long QT syndrome: A critical reappraisal', *Trends in Cardiovascular Medicine*. Elsevier Inc., pp. 453–464. doi: 10.1016/j.tcm.2018.03.003.
- Goold, R. *et al.* (2019) 'FAN1 modifies Huntington's disease progression by stabilizing the expanded HTT CAG repeat', *Human Molecular Genetics*. Oxford University Press, 28(4), pp. 650–661. doi: 10.1093/hmg/ddy375.
- Grosse, S. D. *et al.* (2018) 'Clinical penetrance in hereditary hemochromatosis: Estimates of the cumulative incidence of severe liver disease among HFE C282Y homozygotes', *Genetics in Medicine*. Nature Publishing Group, pp. 383–389. doi: 10.1038/gim.2017.121.
- Gusella, J. F. (2019) 'CAG Repeat Not Polyglutamine Length Determines Timing of Huntington's Disease Onset Article CAG Repeat Not Polyglutamine Length Determines Timing of Huntington's Disease Onset', *Cell*, 178, pp. 887-900.e14. doi: 10.1016/j.cell.2019.06.036.
- Hagerman, R. and Hagerman, P. (2013) *Review Advances in clinical and molecular understanding of the FMR1 premutation and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome*, www.thelancet.com/neurology. doi: 10.1016/S1474-4422(13)70125-X.
- Harbour, J. W. (2001) 'Molecular basis of low-penetrance retinoblastoma', *Archives of Ophthalmology*. American Medical Association, pp. 1699–1704. doi: 10.1001/archophth.119.11.1699.
- Heritage, M. L. *et al.* (2009) 'Hepcidin regulation in wild-type and Hfe knockout mice in response to alcohol consumption: Evidence for an alcohol-induced hypoxic response', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33(8), pp. 1391–1400. doi: 10.1111/j.1530-0277.2009.00969.x.
- Huntzinger, E. and Izaurralde, E. (2011) 'Gene silencing by microRNAs: Contributions of translational repression and mRNA decay', *Nature Reviews Genetics*. Nature Publishing Group,

pp. 99–110. doi: 10.1038/nrg2936.

Jacolot, S. *et al.* (2004) ‘HAMP as a modifier gene that increases the phenotypic expression of the HFE pC282Y homozygous genotype’, *Blood*, 103(7), pp. 2835–2840. doi: 10.1182/blood-2003-10-3366.

Kaewsutthi, S. *et al.* (2011) ‘Mitochondrial haplogroup background may influence Southeast Asian G11778A leber hereditary optic neuropathy’, *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, 52(7), pp. 4742–4748. doi: 10.1167/iovs.10-5816.

Katsanis, S. H. and Katsanis, N. (2013) ‘Molecular genetic testing and the future of clinical genomics’, *Nature Reviews Genetics*. Nat Rev Genet, pp. 415–426. doi: 10.1038/nrg3493.

Kay, C. *et al.* (2016) ‘Huntington disease reduced penetrance alleles occur at high frequency in the general population’, *Neurology*. Lippincott Williams and Wilkins, 87(3), pp. 282–288. doi: 10.1212/WNL.0000000000002858.

Kirov, G. *et al.* (2014) ‘The penetrance of copy number variations for schizophrenia and developmental delay’, *Biological Psychiatry*. Elsevier, 75(5), pp. 378–385. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.07.022.

Lo, J. O. *et al.* (2014) ‘Chromosomal microarray analysis and prenatal diagnosis’, *Obstetrical and Gynecological Survey*. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 613–621. doi: 10.1097/ogx.000000000000119.

MacArthur, D. G. *et al.* (2012) ‘A systematic survey of loss-of-function variants in human protein-coding genes’, *Science*. American Association for the Advancement of Science, 335(6070), pp. 823–828. doi: 10.1126/science.1215040.

Maya, I. *et al.* (2018) ‘When genotype is not predictive of phenotype: Implications for genetic counseling based on 21,594 chromosomal microarray analysis examinations’, *Genetics in Medicine*. Nature Publishing Group, 20(1), pp. 128–131. doi: 10.1038/gim.2017.89.

McColgan, P. and Tabrizi, S. J. (2018) ‘Huntington’s disease: a clinical review’, *European Journal of Neurology*, 25(1), pp. 24–34. doi: 10.1111/ene.13413.

Miller, D. T. *et al.* (2010) ‘Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies’, *American Journal of Human Genetics*, 86(5), pp. 749–764. doi:

10.1016/j.ajhg.2010.04.006.

Moss, D. J. H. *et al.* (2017) 'Identification of genetic variants associated with Huntington's disease progression: a genome-wide association study', *The Lancet Neurology*. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30161-8.

Plaza Pinto, I. *et al.* (2019) 'Cytogenomic Microarray Testing', in *Cytogenetics - Past, Present and Further Perspectives*. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.80514.

Priori, S. G., Napolitano, C. and Schwartz, P. J. (1999) 'Low penetrance in the long-QT syndrome clinical impact', *Circulation*. Lippincott Williams and Wilkins, 99(4), pp. 529–533. doi: 10.1161/01.CIR.99.4.529.

Quarrell, O. W. J. *et al.* (2007) 'Reduced penetrance alleles for Huntington's disease: a multi-centre direct observational study.', *Journal of medical genetics*. doi: 10.1136/jmg.2006.045120.

Refsgaard, L. *et al.* (2012) 'High prevalence of genetic variants previously associated with LQT syndrome in new exome data', *European Journal of Human Genetics*, 20(8), pp. 905–908. doi: 10.1038/ejhg.2012.23.

Rochette, J. *et al.* (2010) 'Factors influencing disease phenotype and penetrance in HFE haemochromatosis', *Human Genetics*, pp. 233–248. doi: 10.1007/s00439-010-0852-1.

Sangkhae, V. and Nemeth, E. (2017) 'Regulation of the Iron Homeostatic Hormone Hepcidin', *Advances in Nutrition: An International Review Journal*. Oxford University Press (OUP), 8(1), pp. 126–136. doi: 10.3945/an.116.013961.

Schüle, R. and Schöls, L. (2011) 'Genetics of hereditary spastic paraplegias', *Seminars in Neurology*, pp. 484–493. doi: 10.1055/s-0031-1299787.

Schwartz, P. J., Crotti, L. and Insolia, R. (2012) 'Long-QT Syndrome', *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, 5(4), pp. 868–877. doi: 10.1161/CIRCEP.111.962019.

Semaka, A. *et al.* (2013) 'High frequency of intermediate alleles on huntington disease-associated haplotypes in British Columbia's general population', *American Journal of Medical Genetics, Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 162(8), pp. 864–871. doi: 10.1002/ajmg.b.32193.

Serrano, C. *et al.* (2011) 'Low penetrance hereditary retinoblastoma in a family: What should we consider in the genetic counselling process and follow up?', in *Familial Cancer*. Springer, pp. 617–621. doi: 10.1007/s10689-011-9445-y.

Shawky, R. M. (2014) 'Reduced penetrance in human inherited disease', *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. No longer published by Elsevier, pp. 103–111. doi: 10.1016/j.ejmhg.2014.01.003.

Shirahama, S. *et al.* (2003) 'Skewed X-chromosome inactivation causes intra-familial phenotypic variation of an EBP mutation in a family with X-linked dominant chondrodysplasia punctata', *Human Genetics*, 112(1), pp. 78–83. doi: 10.1007/s00439-002-0844-x.

Sugawara, H. *et al.* (2011) 'Hypermethylation of serotonin transporter gene in bipolar disorder detected by epigenome analysis of discordant monozygotic twins', *Translational Psychiatry*. Nature Publishing Group, 1(7), p. e24. doi: 10.1038/tp.2011.26.

Tabrizi, S. J. *et al.* (2009) 'Biological and clinical manifestations of Huntington's disease in the longitudinal TRACK-HD study: cross-sectional analysis of baseline data', *The Lancet Neurology*. NIH Public Access, 8(9), pp. 791–801. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70170-X.

Tennessen, J. A. *et al.* (2012) 'Evolution and functional impact of rare coding variation from deep sequencing of human exomes', *Science*. American Association for the Advancement of Science, 336(6090), pp. 64–69. doi: 10.1126/science.1219240.

Tester, D. J. and Ackerman, M. J. (2014) 'Genetics of long QT syndrome', *Methodist DeBakey cardiovascular journal*. Methodist DeBakey Heart & Vascular Center, pp. 29–33. doi: 10.14797/mdcj-10-1-29.

Thapar, A. and Cooper, M. (2013) 'Copy number variation: What is it and what has it told us about child psychiatric disorders?', *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*. American Academy of Child and Adolescent Psychiatry, 52(8), pp. 772–774. doi: 10.1016/j.jaac.2013.05.013.

Torrioni, A. *et al.* (1997) 'Haplotype and phylogenetic analyses suggest that one European-specific mtDNA background plays a role in the expression of Leber hereditary optic neuropathy by increasing the penetrance of the primary mutations 11778 and 14484', *American Journal of Human Genetics*. Cell Press, 60(5), pp. 1107–1121.

Varga, R. E. *et al.* (2013) 'Do Not Trust the Pedigree: Reduced and Sex-Dependent Penetrance at a Novel Mutation Hotspot in ATL1 Blurs Autosomal Dominant Inheritance of Spastic Paraplegia', *Human Mutation*, 34(6), pp. 860–863. doi: 10.1002/humu.22309.

Waalén, J. and Beutler, E. (2009) 'Genetic Screening for Low-Penetrance Variants in Protein-

Coding Genes’, *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10(1), pp. 431–450. doi: 10.1146/annurev.genom.9.081307.164255.

Waaen, J., Nordestgaard, B. G. and Beutler, E. (2005) ‘The penetrance of hereditary hemochromatosis’, *Best Practice & Research Clinical Haematology*. Baillière Tindall, 18(2), pp. 203–220. doi: 10.1016/J.BEHA.2004.08.023.

Xue, Y. *et al.* (2012) ‘Deleterious- and disease-allele prevalence in healthy individuals: Insights from current predictions, mutation databases, and population-scale resequencing’, *American Journal of Human Genetics*. The American Society of Human Genetics, 91(6), pp. 1022–1032. doi: 10.1016/j.ajhg.2012.10.015.

Zareba, W. *et al.* (2003) ‘Modulating effects of age and gender on the clinical course of long QT syndrome by genotype’, *Journal of the American College of Cardiology*. Elsevier Inc., 42(1), pp. 103–109. doi: 10.1016/S0735-1097(03)00554-0.

Zlotogora, J. (2003) ‘Penetrance and expressivity in the molecular age’, *Genetics in Medicine*, 5(5), pp. 347–352. doi: 10.1097/01.GIM.0000086478.87623.69.