

Univerzita Karlova v Praze  
Pedagogická fakulta  
Katedra biologie a environmentálních studií

## DIPLOMOVÁ PRÁCE

Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů  
– výuka na středních školách

Prenatal diagnostics of cystic fibrosis and diseases associated  
with trinucleotide expansions  
– teaching at secondary schools

Stanislava Nováková

Vedoucí práce: RNDr. Edvard Ehler, Ph.D.  
Studijní program: Učitelství pro střední školy (N7504)  
Studijní obor: N BI Učitelství všeobecně vzdělávacích předmětů pro základní školy  
a střední školy - biologie

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzí trinukleotidů – výuka na středních školách vypracovala pod vedením vedoucího práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Praha 16. 7. 2015

.....

podpis

Tímto bych chtěla poděkovat RNDr. Edvardu Ehlerovi, Ph.D. za to, že mi svými zkušenostmi, radami i přístupem pomáhal při zpracovávání diplomové práce. Dále také děkuji vyučujícím Gymnázia Boženy Němcové v Hradci Králové a Gymnázia a SOŠ Jilemnice, kteří mi v rámci svého vyučování umožnili odpřednášet modelovou hodinu genetiky na jmenovaných školách. Mé poděkování patří i všem studentům, kteří se zúčastnili dotazníkového šetření.

## **ABSTRAKT**

Cystická fibróza a choroby s expanzemi trinukleotidů jsou závažná dědičná onemocnění, která slouží v mé diplomové práci jako modelové příklady vhodné pro výuku zajímavých témat lidské genetiky na středních školách. Pomocí vhodné metody prenatalně–genetického vyšetření je možné v rizikových rodinách určit diagnózu vyvíjejícího se plodu a stanovit odpovídající prognózu v dalším prenatalním a postnatálním vývoji.

Praktická část práce je věnována obsahové analýze učebnic biologie pro střední školy a přípravě modelové hodiny genetiky na středních školách. Cílem obsahové analýzy učebnic biologie pro střední školy bylo vyhodnocení jednotlivých učebnic dle několika předem zvolených kritérií. Cílem prezentace navržené modelové hodiny bylo na základě odpovědí získaných z dotazníků zjistit, zda se žáci vyšších ročníků středních škol zajímají o předmět genetiky, dále zjistit, co žáky na hodinách nejvíce zaujalo, případně čemu nerozuměli a co se jim zdálo být obtížné. Hodina byla vedena formou odborného semináře, metodou výuky byla přednáška.

Z vybraných učebnic biologie pro střední školy byla na základě průměrného hodnocení nejlépe vyhodnocena učebnice Biologie pro gymnázia od autorů Jelínka, J. a Zicháčka, V., která je na zkoumaných školách využívána jako studijní materiál. Z dotazovaných žáků středních škol se o genetiku zajímalo 47,6 % žáků. Ve třídě 4.A a 4.B to byla necelá polovina žáků, ve třídě sexta naopak nadpoloviční většina žáků – 73,7 %. Ve třídě 3.A a 3.B odpovědělo 52,4 % žáků nerozhodně. Nejvíce žáky zaujalo celkové pojetí prezentace a to včetně obsahu obrázků a videí. Za obtížné považovali téma chorob s expanzemi trinukleotidů a některé odborné názvy obsažené v prezentaci. Vedení hodiny formou odborného semináře se osvědčilo. Přednáška jakožto zvolená metoda výuky nikoliv.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

prenatální diagnostika, genetické poradenství, cystická fibróza, choroby s expanzemi trinukleotidů, didaktické zásady, formy a metody výuky, analýza učebnic, výuka genetiky na středních školách

## **ABSTRACT**

Cystic fibrosis and diseases associated with trinucleotide expansions are serious hereditary disease that serves in my Diploma thesis as role models suitable for teaching interesting topics of human genetics at secondary schools. By using appropriate methods of prenatal genetic treatment, it is possible to make a diagnosis of the developing fetus and to determine a corresponding prognosis in next prenatal and postnatal development in families at risk.

The practical part of the thesis is devoted to the content analysis of biology schoolbooks for secondary schools and to the preparation of a prototype class of genetics at secondary schools. The aim of the content analysis of biology schoolbooks for secondary schools is the evaluation of various textbooks according to several preselected criteria. The aim of the presentation of the proposed prototype class was to determine, based on the responses obtained from the questionnaires, whether pupils of higher grades of secondary schools are interested in the subject matter of genetics, to find out what engaged their attention the most during the lessons or what they did not understand and what they considered as difficult. The lesson was conducted as a specialized seminar, the teaching method was a lecture.

From the selected biology schoolbooks for secondary schools, *Biologie pro gymnázia* by Jelínek, J. and Zicháček, V. that is used as study material at examined schools was evaluated as the best one. In total, 47,6 % of the surveyed secondary school pupils, 47,6 % are interested in genetics. It was less than a half of the pupils in the classes 4.A and 4.B, in the sexta class it was contrarily more than a half of the pupils – 73,7 %. In the classes 3.A and 3.B, 52,4 % of pupils answered indecisively. The pupils were mostly impressed by the overall concept of the presentation including the content of images and videos. They considered as difficult the topic of diseases associated with trinucleotide expansions and some technical titles contained in the presentation. A specialized seminar as a form of leading the class proved successful. That is not true about a lecture as a teaching method.

## **KEYWORDS**

prenatal diagnostics, genetic counseling, cystic fibrosis, diseases associated with trinucleotide expansions, teaching principles, teaching forms and methods, schoolbooks analysis, teaching of genetics at secondary schools

## Obsah

1	Úvod .....	9
2	Prenatální diagnostika .....	10
3	Genetické poradenství .....	11
3.1	Poradenství pro prenatální diagnostiku.....	11
4	Metody prenatální diagnostiky .....	12
4.1	Neinvazivní metody prenatální diagnostiky .....	12
4.1.1	I. trimestrální screening .....	12
4.1.2	II. trimestrální screening.....	14
4.1.3	Ultrazvukové vyšetření v I. trimestru .....	15
4.1.4	Ultrazvukové vyšetření ve II. trimestru .....	16
4.1.5	Ultrazvukové vyšetření ve III. trimestru.....	16
4.2	Invazivní metody prenatální diagnostiky.....	17
4.2.1	Amniocentéza .....	17
4.2.2	Biopsie choria .....	18
4.2.3	Punkce pupečníku – Kordocentéza .....	19
5	Cytogenetická prenatální diagnostika.....	19
6	Cystická fibróza.....	20
6.1	Prenatální diagnostika cystické fibrózy .....	22
6.1.1	Přímá molekulárně genetická diagnostika cystické fibrózy .....	23
6.1.2	Nepřímá molekulárně genetická diagnostika cystické fibrózy.....	24
6.2	Genetické poradenství cystické fibrózy .....	25
7	Choroby vyvolané expanzemi trinukleotidů.....	26
7.1	Syndrom fragilního X chromozomu: FRAX-A .....	27
7.1.1	Prenatální diagnostika syndromu fragilního X chromozomu.....	28
7.2	Huntingtonova choroba.....	30
7.2.1	Prenatální diagnostika Huntingtonovy choroby .....	32

7.3	Myotonická dystrofie typu 1 .....	33
7.3.1	Prenatální diagnostika myotonické dystrofie .....	35
7.4	Friedreichova ataxie.....	36
7.4.1	Prenatální diagnostika Friedreichovy ataxie.....	36
8	Didaktika biologie .....	38
8.1	Didaktické zásady .....	38
8.2	Organizační formy výuky .....	40
8.3	Metody výuky .....	42
9	Metody.....	44
9.1	Obsahová analýza učebnic biologie pro střední školy .....	44
9.1.1	Vyhodnocení analýzy učebnic biologie pro střední školy.....	50
9.2	Návrh modelové hodiny genetiky na středních školách .....	50
9.2.1	Příprava modelové hodiny genetiky .....	50
9.2.2	Vyhodnocení modelové hodiny genetiky .....	54
9.3	Modelová hodina genetiky.....	55
9.3.1	Modelová hodina genetiky na Gymnáziu Boženy Němcové .....	55
9.3.2	Modelová hodina genetiky na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice .....	58
10	Výsledky.....	61
10.1	Analýza učebnic biologie pro střední školy.....	61
10.2	Modelová hodina na Gymnáziu Boženy Němcové .....	63
10.2.1	Vyhodnocení úloh obsažených v prezentaci .....	63
10.2.2	Výsledky dotazníkového šetření.....	63
10.3	Modelová hodina na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice, třída 3.A a 3.B.....	65
10.3.1	Vyhodnocení úloh obsažených v prezentaci .....	65
10.3.2	Výsledky dotazníkového šetření.....	65
10.4	Modelová hodina na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice, třída 4.A a 4.B.....	67
10.4.1	Vyhodnocení úloh obsažených v prezentaci .....	67

10.4.2	Výsledky dotazníkového šetření.....	67
11	Diskuse .....	71
12	Závěr.....	77
13	Seznam použitých informačních zdrojů .....	79
14	Seznam použitých zkratk .....	83
15	Seznam příloh.....	84



# 1 Úvod

Prenatální diagnostika, jakožto součást fetální medicíny, představuje soubor metod, kterými lze předejít narození dítěte s těžkými poruchami jak tělesného tak i duševního vývoje. Díky prenatální diagnostice a s ní spojeným genetickým poradenstvím je možné dopředu naplánovat vhodný způsob porodu a zajistit adekvátní postnatální péči o dítě narozené s některou z vrozených vývojových vad.

V teoretické části této práce se podrobněji zabývám popisem a prenatální diagnostikou cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů, konkrétně syndromu fragilního X chromozomu, Huntingtonovy choroby, myotonické dystrofie a Friedreichovy ataxie. Jedná se o velmi závažná onemocnění a jejich včasné odhalení poskytuje rodičům možnost rozhodnout se, zda-li si dítě s danou chorobou ponechají, případně zda-li těhotenství přeruší.

Praktická část práce je věnována obsahové analýze učebnic biologie pro střední školy a přípravě modelové hodiny genetiky na středních školách. Obsahové analýze bylo podrobena celkem 6 učebnic biologie pro střední školy volně dostupných v univerzitních knihovnách. Jednotlivé učebnice byly hodnoceny na základě několika předem stanovených kritérií. Modelová hodina genetiky byla prezentována před žáky třídy sexta Gymnázia Boženy Němcové v Hradci Králové a před žáky tříd 3.A, 3.B a 4.A a 4.B Gymnázia a SOŠ Jilemnice. Hodina byla vedena formou dvouhodinového odborného semináře a jako metoda výuky byla zvolena přednáška. Téma přednášky korespondovalo s názvem diplomové práce, tedy Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů. Výstupem prezentace modelové hodiny byl krátký anonymní dotazník – posttest.

Cílem obsahové analýzy učebnic biologie pro střední školy bylo vyhodnocení jednotlivých typů učebnic na základě následujících kritérií: počet stran věnovaných předmětu genetiky; odbornost textu; množství obrázků, schémat a tabulek obsažených v učebnici; zadání otázek a úkolů a jejich správná řešení; obsah návodů k laboratorním cvičením a uvedení zajímavostí. Obsah témat diplomové práce jsem jako kritérium neuvedla, jelikož mým cílem bylo ohodnotit danou učebnici na základě učiva, které se na středních školách probírá. Cílem prezentace navržené modelové hodiny bylo na základě odpovědí získaných z dotazníků zjistit, zda se žáci vyšších ročníků středních škol zajímají

o předmět genetiky jako takový, dále zjistit, co žáky na modelové hodině nejvíce zaujalo, případně čemu nerozuměli a co se jim zdálo být již příliš obtížné.

## 2 Prenatální diagnostika

Prenatální diagnostika představuje prevenci narození dětí s těžkými poruchami duševního i tělesného vývoje. V souladu s legislativou ČR prenatální diagnostika umožňuje u závažných vrozených vad a u případů mnohočetných vrozených vad předčasné ukončení gravidity. Díky prenatální diagnostice je možné s předstihem naplánovat vhodný způsob porodu a zajistit adekvátní postnatální péči o dítě narozené s vrozenou vadou. Cílem prenatální diagnostiky je tedy včasná a správná diagnostika závažných typů vrozených vad.

Počátky prenatální diagnostiky vrozených vad v České republice se datují na počátek sedmdesátých let 20. století, kdy byla prenatální genetická diagnostika po experimentálním ověření základních metod zavedena do klinické praxe. Nejprve se prenatálně diagnostikovaly vady chromozomální jako například trizomie 21. chromozomu – Downův syndrom. Se zavedením ultrazvukové diagnostiky v osmdesátých letech se začínala rozvíjet i prenatální diagnostika strukturálních vrozených vad. Metody II. trimestriálního biochemického screeningu byly zavedeny v devadesátých letech 20. století a následně po nich i metody I. trimestriálního biochemického screeningu (Šípek *et al.*, 2006).

Výskyt vrozených vývojových vad je v ČR registrován v Národním registru vrozených vad ČR za účelem sledování stavu populace.

### 3 Genetické poradenství

Genetické poradenství je obor lékařské genetiky, využívající genetických metod k řešení problematiky výskytu dědičných chorob, jejich přenosu a prevence. Na základě studia rodokmenu, znalosti dané choroby a její dědičnosti umožňuje určit riziko jejího přenosu na potomky. Geneticky riziková rodina nebo jedinec postižený vrozenou vývojovou vadou či chorobou geneticky podmíněnou nebo s její genetickou dispozicí tak dostává možnost využít nejnovějších metod genetické prevence a klinické léčby (Hájek *et al.*, 2000).

Genetické poradenství je do velké míry zaměřeno na komunikaci mezi pacientem a lékařem. Lékař–genetik, je oprávněný seznámit pacienta (rodiče) na základě jeho rodinné anamnézy a genetického vyšetření s možnými genetickými riziky pro další reprodukci a možnostmi genetické prevence. Lékař rovněž musí pacienta informovat o možnostech léčby, průběhu a prognóze vývoje vrozené vývojové vady či choroby, o sociálním uplatnění postiženého a také o ekonomických důsledcích pro rodinu. Rozhodování rodiče o volbě genetické prevence vychází z vlastního vyhodnocení získaných informací a musí být naprosto svobodné – hovoříme o tzv. nedirektivním genetickém poradenství.

#### 3.1 Poradenství pro prenatální diagnostiku

Jedná se o genetické poradenství v době, kdy je již žena těhotná. Hlavním cílem je pomocí vhodné metody prenatálně–genetického vyšetření zjistit co nejspolehlivější diagnózu vyvíjejícího se plodu a určit prognózu v dalším prenatálním a postnatálním vývoji. I přesto, že je prenatální diagnostika velmi významnou metodou genetické prevence, její spolehlivost detekce vrozených vývojových vad a chorob není stoprocentní. Dle studie NICHD (National Registry for Amniocentesis Study Group) je stále nutno počítat s možností diagnostického omylu v rozmezí od 0,2–0,6 % (Hájek *et al.*, 2000). I s touto informací musí být rodič řádně obeznámen.

## **4 Metody prenatální diagnostiky**

Identifikace vrozených vývojových vad se provádí na základě screeningu v I. trimestru, screeningu ve II. trimestru, případně pomocí invazivních vyšetření zaměřených na vyloučení chromozomálních aberací u dítěte. Bohužel každé invazivní vyšetření je zatíženo rizikem spontánního potratu. Proto jsou v první řadě prováděny testy neinvazivní, které plní podmínky screeningu. V současné době je v ČR prováděn screening prvotrimestrální kombinující vyhodnocení biochemických markerů a měření šíjového projasnění, tzv. NT diagnostika a druhotrimestrální biochemický screening (Lázníčková, 2012).

Biochemický screening se vzájemně doplňuje s ultrazvukovým screeninem, jenž zvyšuje jeho diagnostickou efektivitu.

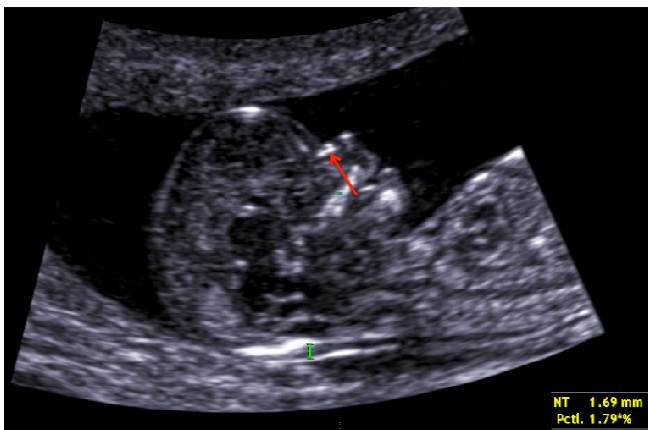
### **4.1 Neinvazivní metody prenatální diagnostiky**

Na počátku 20. století bylo zjištěno, že výskyt nejčastější chromozomální aberace – Downovy choroby souvisí s vyšším věkem matky. V 60. letech 20. století byla objevena možnost stanovení diagnózy kultivací amniocytů – epiteliálních buněk obsažených v plodové vodě. Toto vyšetření se provádělo u starších těhotných žen, nejprve nad 40 let, později nad 35 let. Na konci 80. let bylo zjištěno, že v krvi těhotných žen s plody s trizomií 21. chromozomu jsou ve srovnání s krví matek se zdravými plody změněny hodnoty některých markerů: alfa-1-fetoproteinu, nekonjugovaného estriolu a lidského choriogonadotropinu. Dle počtu vyšetřovaných markerů byl tento test nazván triple test.

#### **4.1.1 I. trimestrální screening**

Prenatální screening v prvním trimestru, označovaný jako kombinovaný test, se skládá z biochemického screeningu a ultrazvukového vyšetření. V průběhu 90. let minulého století byl zjištěn vztah mezi tloušťkou šíjového projasnění, tzv. nuchální translucencí (NT) a rizikem chromozomálních aberací. Obecně platí, že čím větší je hodnota nuchální translucence, tím vyšší je riziko výskytu chromozomálních aberací. Při hodnotě nad 2,3 mm toto riziko prudce stoupá. Dle ultrazvukového screeningu lze tyto aberace rozpoznat na základě přítomnosti či absence nosní kůstky (viz Obrázek 1, 2 a 3), přítomnosti

tricuspidální regurgitace (nedomykavost trojcípé srdeční chlopně), průtoku ductus venosus (žilní spojka ve fetálním krevním oběhu) a velikosti frontomaxilárního úhlu (úhel, který svírá linie obličeje s rovinou horní čelisti). Toto vyšetření je však časově náročné a vyžaduje přítomnost certifikovaného lékaře.



Obrázek 1: Snímek z ultrazvuku  
Zdroj: <<http://www.profema.cz>>

Zelená úsečka zobrazuje normální hodnoty NT (1,69 mm)

Červená šipka značí přítomnost nosní kůstky



Obrázek 2: Snímek z ultrazvuku  
Zdroj: <<http://www.profema.cz>>

Zelená úsečka zobrazuje abnormálně zvýšené hodnoty NT (3,13 mm)

Červená šipka značí přítomnost nosní kůstky



Obrázek 3: Snímek z ultrazvuku  
Zdroj: <<http://www.profema.cz>>

Červená šipka poukazuje na nepřítomnost nosní kůstky. Nad chybějící nosní kůstkou je vidět bílá linka, kterou je kůže na povrchu nosu plodu (u normálně přítomné nosní kůstky by byly vidět 2 bílé linky)

Hodnoty NT jsou v normálu

Ultrazvukové (nuchální translucence) a biochemické markery (free  $\beta$  hCG a PAPP-A) získané odběrem z matčiny krve jsou zadávány do specializovaného počítačového programu, který je schopen vypočítat riziko postižení plodu chromozomálními aberacemi.

Free  $\beta$  hCG je degradační produkt molekuly hCG. Výhodou stanovení free  $\beta$  hCG je, že během prvního trimestru je poměr free  $\beta$  hCG/hCG 1–4 %. Ve druhém a třetím trimestru tento poměr klesá pod 1 %.

PAPP-A patří do rodiny plazmatických proteinů asociovaných s těhotenstvím a aktivně se zapojuje do procesu růstu, diferenciace a reparace, což je pravděpodobně jeho hlavní úloha v těhotenství. K syntéze PAPP-A dochází již během 7. týdne těhotenství a pokračuje až do porodu. Jeho snížené hodnoty jsou významné pro trizomie pouze v prvním trimestru, po 14. týdnu těhotenství již není snížení hodnot PAPP-A diagnosticky důležité (Novotný *et al.*, 2011).

Kombinace I. trimestrálního biochemického screeningu a I. trimestrálního sonoscreeningu (zjištění tloušťky šíjového projasnění a přítomnosti nosní kůstky) zachytí 85–90 % postižených plodů. Celý test probíhá mezi 10.–14. týdnem těhotenství – optimální načasování pro biochemický screening je mezi 10.–11. týdnem těhotenství, sonoscreening se obvykle provádí mezi 11.–14. týdnem těhotenství (Novotný *et al.*, 2011).

#### **4.1.2 II. trimestrální screening**

Ve druhém trimestru, optimálně mezi 16.–18. týdnem těhotenství, se rutinně provádí již zmíněný triple test. Jedná se o biochemické vyšetření mateřské krve, kdy se sledují 3 markery: T-hCG, AFP a nekonjugovaný E3. Tento screening je určen k detekci trizomií, metabolických poruch a defektů kožního krytí.

T-hCG je glykoproteinový hormon, který je produkován buňkami syncytiotrofoblastu. Během těhotenství udržuje syntézu progesteronu ve žlutém tělísku, čímž přebírá funkci luteinizačního hormonu. Spolu s AFP navozuje imunologickou toleranci matky k plodu. Syntézu T-hCG lze v krvi prokázat již 8. den po koncepci. Maximálních hodnot T-hCG dosahuje v 8.–10. týdnu těhotenství. Poté jeho koncentrace klesá a od 22. týdne těhotenství zůstává na stejné hladině až do porodu. Zvýšené hodnoty T-hCG ve druhém trimestru mohou značit Downův syndrom, chorobnou změnu trofoblastu, zhoubný nádor trofoblastu,

ale i vícečetné těhotenství. Nízké hodnoty provázejí Edwardsův syndrom, také mohou znamenat zamklý potrat nebo intrauterinní smrt plodu.

AFP je glykoprotein, sloužící jako přenašeč látek nerozpustných ve vodě. K jeho syntéze dochází zhruba 29. den po početí. Syntéza probíhá nejprve v buňkách žlutého tělíska a poté v játrech. Díky tomu slouží také jako marker patologické propustnosti fetoplacentární bariéry a odráží metabolickou aktivitu plodu. Maximálních hodnot AFP dosahuje ve 30.–33. týdnu těhotenství. Zvýšené hodnoty AFP signalizují poruchy uzávěru nervové trubice (například rozštěpy páteře), hydrocefalus, pupečnickovou kýlu, hrozící potrat či mrtvý plod. Snížené hodnoty bývají typické pro Downův a Edwardsův syndrom.

Nekonjugovaný E3 je členem rodiny steroidních hormonů. Přítomnost E3 v krvi je přímo vázaná na těhotenství. Vzhledem k tomu, že jeho syntéza probíhá přes placentu, nadledvinky a játra plodu, slouží E3 jako marker metabolické aktivity fetoplacentární jednotky. Nízké hodnoty naznačují celkové neprospívání plodu a jsou spojeny se všemi trizomiemi a se Smith-Lemli-Opitzovým syndromem. Smith-Lemli-Opitzův syndrom je autozomálně recesivní onemocnění, které patří k nejčastějším vrozeným metabolickým vadám. Jedná se o poruchu biosyntézy cholesterolu, konkrétně o defekt enzymu 7-dehydrosterol reduktázy (Novotný *et al.*, 2011).

Do výpočtu rizika výskytu chromozomálních aberací se také započítává věk matky. Pokud je dle počítačového programu vypočtena pravděpodobnost výskytu chromozomální aberace nižší než 1 : 300 je obvykle doporučeno další upřesňující vyšetření, například amniocentéza.

Integrací výsledků I. a II. trimestru získáme tzv. integrovaný screening. Očekávaná senzitivita je až 95 % při 3% falešné pozitivitě (Novotný *et al.*, 2011).

#### **4.1.3 Ultrazvukové vyšetření v I. trimestru**

Ultrazvuková diagnostika je již od počátku svého vzniku nedílnou součástí prenatalního vyšetřování a její význam v oblasti porodnictví a gynekologie neustále stoupá. Spolu s dalšími metodami jakou jsou biometrie, biochemie, cytologie, DNA-analýza aj. tvoří podstatnou složku komplexu diagnostických metod.

Již na konci I. trimestru lze diagnostikovat většinu fetálních malformací, stanovit riziko aneuploidii a dalších závažných komplikací v těhotenství, které se klinicky projevují až na jeho konci (Calda *et al.*, 2010).

Ultrazvukové vyšetření hlavy a šíje plodu spolu s vyšetřením mateřských sérových markerů (free  $\beta$  hCG a PAPP-A) poskytují velké množství informací pro zjištění pravděpodobnosti výskytu aneuploidii jako jsou trizomie 21. (Downův syndrom), 18. (Edwardsův syndrom) či 13. (Patauův syndrom) chromozomu.

Toto vyšetření se provádí mezi 11.–14. týdnem těhotenství, kdy lze s vysokou přesností stanovit riziko výskytu aneuploidii a většiny fetálních vrozených vývojových vad. Těhotná žena se tak může při časném záchytu fetální anomálie svobodně a včas rozhodnout o dalším průběhu těhotenství.

#### **4.1.4 Ultrazvukové vyšetření ve II. trimestru**

Toto vyšetření probíhá mezi 18.–22. týdnem gravidity a je jedním z nejdůležitějších vyšetření v průběhu těhotenství. Cílem vyšetření je stanovit počet a vitalitu plodů (spolehlivě stanovit četnost plodů je možné až po 10. týdnu gravidity), biometrii plodu (obvod hlavy, trupu apod.), sonoanatomii plodu (vrozené vývojové vady, UV markery), množství plodové vody, lokalizaci a morfologii placenty, délku a tvar děložního hrdla (Calda *et al.*, 2010).

#### **4.1.5 Ultrazvukové vyšetření ve III. trimestru**

Ultrazvukové vyšetření ve III. trimestru se provádí v období mezi 30.–32. týdnem těhotenství. Vyšetření v tomto termínu se zaměřuje především na uložení plodu, biometrii plodu, vyšetření cílené na vrozené vývojové vady s pozdním vznikem, nebo později anatomicky rozlišitelné (hydrocephalus, některé srdeční vady nebo vady gastrointestinálního či uropoetického traktu), lokalizaci placenty a na množství plodové vody (Hájek *et al.*, 2000).



## 4.2 Invazivní metody prenatální diagnostiky

Invazivní vyšetření se nejčastěji provádí z následujících indikací: věk matky v době porodu ( $\geq 35$  let), abnormální ultrazvukový nález, abnormální biochemický screening, nosičství balancované chromozomální aberace u rodiče, předchozí gravidita s chromozomální aberací a molekulární diagnostika geneticky podmíněné choroby.

Jednotlivé invazivní metody prenatální diagnostiky se liší mírou rizika pro plod a spolehlivostí výsledku. Aplikace metody by se měla řídit individuálně, s ohledem na dané stádium těhotenství, zvážením všech rizik spojených s odběrem a zpracováním vzorku (Calda *et al.*, 2010). Mezi nejběžnější invazivní metody prenatální diagnostiky patří amniocentéza, biopsie choria a punkce pupečníku.

### 4.2.1 Amniocentéza

Získání vzorku plodové vody z amniální dutiny patří mezi základní metody prenatální diagnostiky. Poprvé byla tato metoda popsána roku 1952 Bevisem a Manem. Při amniocentéze se pod kontrolou ultrazvukem zavádí tenká jehla skrze břišní stěnu do amniové dutiny, z níž se odebírá 20–30 ml plodové vody. Amniocentéza se provádí u plodu staršího 15+1 týdnů, nejčastěji však mezi 16.–18. týdnem gravidity, kdy je celkové množství plodové vody kolem 150 ml.

Po odběru plodové vody následuje ultrazvuková kontrola srdeční aktivity plodu. Metoda je ambulantní nebo semiambulantní, kdy těhotná žena zůstává upoutána na lůžku 2–3 hodiny. Hospitalizace nutná není.

Vyšetření amniové tekutiny zahrnuje analýzu biochemických faktorů jako jsou alfa-fetoprotein a acetylcholinesterasa. Fetální buňky vyloučené do amniové tekutiny jsou kultivovány a použity pro stanovení karyotypu a pro další genetické analýzy. Kultivace buněk trvá 8–14 dní. Chromozomy získané kultivací fetálních buněk jsou pozorovány pod světelným mikroskopem. Lze tak identifikovat různé chromozomové aberace, jako jsou zlomy, translokace, trizomie apod. Dalšími molekulárními analýzami zvyšujícími úroveň detekce vrozených vad jsou například PCR nebo genotypizace (Sadler, 2011).

Riziko potratu je u amniocentézy 1 ze 100–200 odběrů. Ke ztrátě plodu většinou dochází během prvních 48 hodin, někdy však i po 2–3 týdnech (Calda *et al.*, 2010).

Slabé zakrvácení nebo částečné odtékání plodové vody se vyskytuje ve 2–4 % případů. Příčinou bývá chorioamniální separace s porušením amniální membrány. Pokud odteče příliš velké množství plodové vody a ultrazvuk detekuje absolutní anhydramnion, je zde velké riziko hypoplazie plic a deformit plodu a je nutné zvážit ukončení těhotenství (Hájek *et al.*, 2000). Dalšími možnými komplikacemi mohou být abrupce placenty či poranění plodu jehlou (velmi vzácné).

Vzhledem k výše uvedeným rizikům nelze amniocentézu provádět u každé těhotné, její aplikace se doporučuje pouze v případech, kdy je riziko výkonu nižší než riziko chromozomální aberace u plodu.

#### **4.2.2 Biopsie choria**

Odběr choriových klků je technika, kterou lze provádět již od 11. týdne gravidity. Biologickým materiálem pro cytogenetické vyšetření jsou buňky nezralé placenty, které jsou získávány biopsií provedenou transabdominálně za kontroly ultrazvuku. Odebírá se zhruba 5–30 mg choriové tkáně. Vzorek je následně očištěn od příměsi mateřské krve a kultivován nejčastěji metodou tzv. dlouhodobé kultivace, využívající fibroblastů kultivovaných z mezenchymálních buněk mezodermy. Úspěšnost chromozomového vyšetření po dlouhodobé kultivaci, která obvykle trvá 14–21 dní, je srovnatelná s vyšetřením buněk plodové vody, nicméně kvalita chromozomů je nižší (Havlíková, 2015).

Pro rychlejší analýzu je možné vzorek choriových klků zpracovat přímo v den jeho odběru a podrobit jej vyšetření metodou FISH nebo QF-PCR. Tyto metody jsou v prenatalní diagnostice využívány k vyloučení případně potvrzení nejčastějších typů chromozomálních vad jako jsou Downův syndrom, Edwardsův syndrom, Patauův syndrom, Turnerův syndrom apod. Technika FISH se také používá k odhalování chromozomálních přestaveb a mozaik. Pomocí QF-PCR je možné detekovat pohlaví plodu. Výsledky obou vyšetření jsou obvykle známy během 24–48 hodin (Novotný *et al.*, 2011).

Vzhledem k dostupnosti výsledků v časných fázích těhotenství, patří biopsie choria k nejčastěji prováděným invazivním výkonům prenatalní diagnostiky. Riziko potratu se udává kolem 0,5–1 %. Potrat je zpravidla způsoben infekčními komplikacemi a dochází k němu většinou během prvního týdne po provedení výkonu.

### 4.2.3 Punkce pupečníku – Kordocentéza

Kordocentéza je přímý odběr fetální krve z pupečníku. Punkce se provádí transabdominálně a je kontrolována ultrazvukem. V současné době představuje nejpoužívanější a nejbezpečnější metodu přístupu k fetální cirkulaci. Odběr se provádí po 20. týdnu těhotenství, kdy je pupečník pod ultrazvukem zřetelně viditelný. Dřívější odběr může být doprovázen bradykardií plodu, což může vést až k srdeční zástavě plodu. Odebírají se 3–4 ml fetální krve. Cytogenetické vyšetření je prováděno z lymfocytů fetální krve metodou 72 hodinové kultivace. Karyotyp plodu je získán během 4 dnů. Riziko spontánního potratu při punkci pupečníku je 0,8–1 % (Hájek *et al.*, 2000).

## 5 Cytogenetická prenatální diagnostika

Cytogenetická prenatální analýza neboli analýza chromozomů plodu je jedním z nejběžněji prováděných vyšetření v rámci prenatální laboratorní diagnostiky. Cytogenetická prenatální diagnostika detekuje mikroskopickou technikou změny v počtu nebo struktuře chromozomů plodu, tedy chromozomální aberace a jimi podmíněné patologické stavy.

Chromozomální aberace jsou častou příčinou vrozených vývojových vad i prenatální a perinatální morbidity a mortality. Vyskytují se přibližně u 0,6 % živě narozených dětí. Více než polovina spontánních potratů je způsobena chromozomálními aberacemi, které nejsou slučitelné s životem – tzv. letální formy chromozomálních aberací.

Dopad chromozomálních aberací na fenotyp svého nositele je různý. Některé jsou zcela bez efektu (chromozomální aberace typu inverze, balancované translokace, minoritní gonozomální mozaicismus). Polyploidie a aneuploidie většiny autozomů jsou neslučitelné s postnatálním životem. Různý typ a rozsah postižení plodu pak způsobují některé typy strukturních abnormalit, aneuploidie některých chromozomů, mozaiky, delece, duplikace, velké nebalancované translokace aj.

Cytogenetické vyšetření plodu se provádí v prvním nebo v druhém trimestru těhotenství a je založeno na úspěšné kultivaci a následné karyotypizaci buněk plodu získaných jednou z invazivních technik prenatální diagnostiky. Cílem tohoto vyšetření je sestavení karyotypu plodu a na základě podrobné analýzy chromozomů vyloučit nebo

potvrdit přítomnost chromozomální aberace, podmiňující vznik vrozené vývojové vady (Novotný *et al.*, 2011).

## 6 Cystická fibróza (OMIM 219700)

Cystická fibróza je chronické, autozomálně recesivní dědičné onemocnění, postihující především dýchací a zažívací soustavu. Jde o závažné onemocnění vyskytující se zejména u evropských populací. Obecně se udává výskyt 1 dítěte s cystickou fibrózou na 2500–4500 novorozenců. Při současné porodnosti se v České republice ročně narodí přibližně 33 nemocných dětí (Vávrová *et al.*, 2006).

Onemocnění je způsobené mutací genu CFTR, který se nachází na dlouhém raménku chromozomu 7 v oblasti lokusu 7q31. Nejčastější mutací tohoto genu je F508del, vedoucí ke ztrátě fenylalaninu na pozici 508 proteinu CFTR. Tato mutace je zastoupena v 72 % naší populace (Janková, 2008). Gen CFTR kóduje protein CFTR, který reguluje průchod iontů chloru ( $\text{Cl}^-$ ), sodíku ( $\text{Na}^+$ ) a bikarbonátu ( $\text{HCO}_3^-$ ) přes buněčnou membránu. Mutací genu CFTR vzniká defektní CFTR protein, což vede k sníženému vylučování  $\text{Cl}^-$  a naopak zvýšenému vstřebávání  $\text{Na}^+$ . To se projeví zejména v dýchacích cestách, trávicím ústrojí, v játrech a v pohlavní soustavě.

Cystická fibróza je monogenní onemocnění, kdy rozhodující vliv na vznik onemocnění mají mutace v jednom genu. Jelikož se jedná o autozomálně recesivní typ dědičnosti, platí zde klasický mendelistický štěpný poměr při křížení dvou heterozygotů (zdravých rodičů, nositelů mutace v genu cystické fibrózy). Tedy 25 % potomků je zdravých bez mutace, 50 % jsou zdraví nositelé mutace a 25 % je nemocných homozygotů. Z toho vyplývá, že v partnerství 2 rodičů, kteří jsou nositeli mutace je 25% riziko, že jejich dítě bude nemocné, 50% pravděpodobnost narození zdravých nositelů mutace a v 25 % případů dítě neponese ani jednu z mutovaných alel genu cystické fibrózy. U rodičů, nositelů mutace, se onemocnění neprojeví, jelikož nemutovaná alela svojí aktivitou vyváží nedostatečnou funkci alely mutované.

Klinické příznaky nemoci i jejich závažnost se u každého jednotlivce liší. Mezi nejběžnější symptomy CF řadíme infekce dýchacích cest, poruchy trávení způsobené nedostatečným vylučováním enzymů a bikarbonátu ze slinivky břišní, vysoký obsah soli v potu a neplodnost postihující až 98 % mužů. Neplodnost u žen s CF je méně častá. Díky

novým terapeutickým postupům se prognóza nemocných podstatně zlepšila a nemocní se dožívají mnohem vyššího věku. Udává se kolem 40–50 let. Mohou se však objevit komplikace, jako například cukrovka vázaná na CF, které průběh onemocnění zhoršují. Jejich včasné odhalení a léčba snižují negativní dopad na vývoj CF.

Diagnózu cystické fibrózy je třeba stanovit spolehlivě a co nejdříve. Diagnostickými kritérii jsou přítomnost jednoho nebo více příznaků charakteristických pro cystickou fibrózu, rodinná anamnéza, případně pozitivní výsledek novorozeneckého screeningu včetně laboratorního průkazu abnormální funkce genu/proteinu CFTR. Je-li u plodu diagnostikována mutace, musí splňovat 3 základní podmínky: obě mutace musí být patogenní, mutace musí být prokázány u obou rodičů a musí se nacházet na 2 homologních chromozomech.

Pacienti s CF se musí léčit po celý svůj život, jelikož dosud neexistuje žádná metoda, která by CF vyléčila. Cílem klasické léčby je udržet nemocného a to především jeho plíce a dýchací cesty pokud možno v co nejlepším stavu. V rodině dítěte s CF by se tedy nemělo kouřit a dítě by mělo co nejvíce času trávit na čerstvém vzduchu. Doporučují se i sportovní aktivity jako běhání a plavání. Každý nemocný je pro případ tíživé situace vybaven inhalátorem. Důležitá je také úprava jídelníčku. Strava nemocných by měla být pestrá a měla by obsahovat až o 40–50 % více kalorií než strava zdravého jedince téhož věku. Nemocným s nedostatečnou činností slinivky břišní jsou podávány pankreatické enzymy a vitamíny rozpustné v tucích. Kojenci dostávají po celý první rok svého života antibiotika. V pozdějším věku je dávka antibiotik upravena dle potřeby nemocného. Nemocní pravidelně docházejí na kontroly ke svému ošetřujícímu lékaři a sdělují mu aktuální informace ohledně svého zdravotního stavu. Na základě těchto informací pak lékař rozhoduje o dalším postupu léčby.

Naděje, že se v budoucnosti najde vhodná léčebná metoda je vysoká. Lékaři ze specializovaných CF center po celém světě komunikují se špičkovými pracovišti pro léčbu CF a jsou pravidelně informováni o nejmodernějších léčebných postupech. Moderní léčebné postupy jsou vzhledem k vysokému množství podávaných léků pokládány za agresivní, jsou však lékařsky osvědčené, a proto i hojně využívané v ČR. V současné době se pracuje na možnostech přenosu opraveného genu CFTR do buňky nemocného, případně na ošetření poškozeného genu CFTR pomocí genové terapie. Genovou terapii však budou moci podstoupit pouze pacienti, jejichž orgány nebudou již nenávratně poškozeny.

## 6.1 Prenatální diagnostika cystické fibrózy

V rodinách, v nichž se již cystická fibróza jednou vyskytla, riziko nositelství mutace genu pro CF výrazně stoupá. Z tohoto důvodu je v těchto rodinách důležité indikovat genetické poradenství a molekulárně genetickou diagnostiku. Cílem prenatálního vyšetření je vyloučení rizika narození dítěte s CF, případně určit pravděpodobnost narození zdravého dítěte.

Epidemiologickými studiemi a molekulárně genetickými metodami vyšetření naší CF populace byla u nás stanovena incidence 1 : 2736 novorozenců. Z toho vyplývá, že každý 26. jedinec je zdravým nositelem tohoto onemocnění a každé 676. manželství může být partnerstvím 2 nositelů, majících 25% riziko, že jejich dítě bude nemocné.

Principy pro prenatální diagnostiku CF jsou téměř shodné s principy platícími pro postnatální molekulárně genetickou diagnostiku této choroby. DNA plodu pro laboratorní vyšetření je izolována z buněk plodové vody získaných amniocentézou či z buněk odebraných biopsií choria. Ve výjimečných případech se provádí i kordocentéza. Rodičům se odebírá žilní krev.

Vzhledem k tomu, že se prenatální diagnostika CF využívá především v rodinách, které již mají jedno nemocné dítě, lze ji aplikovat i v případech, kdy není známa jedna nebo i obě mutace genu CFTR pomocí nepřímé vazebné analýzy. Zde se sleduje segregace mutovaných alel a k nim vázaných markerů ve vztahu k předchozímu fenotypu již nemocného dítěte. Bez možnosti klinického vyšetření nemocného dítěte není možné nepřímou diagnostiku provést. Rovněž klinická diagnóza onemocnění u vyšetřovaného, vzhledem ke kterému se nepřímá diagnostika provádí, musí být zcela jednoznačná (Vávrová *et al.*, 2006).

Pokud se na základě vyšetření prokáže vývoj plodu s CF, mají rodiče možnost svobodně se rozhodnout o přerušení těhotenství. V souladu se zákony ČR je ukončení těhotenství z genetických důvodů možné provést do 24. týdne gravidity.

Do budoucna by se vyšetření mutací genu CFTR mělo nabízet všem těhotným ženám, tedy i ženám bez rodinné anamnézy CF. Prenatální diagnostika CF by se tak stala součástí komplexní reprodukční strategie, díky níž by byla vyloučena častá dědičná onemocnění a chromozomální aberace vyskytující se v dané populaci.

### 6.1.1 Přímá molekulárně genetická diagnostika cystické fibrózy

Přímá molekulární diagnostika CF se provádí pomocí kaskádového vyšetření (postupné vylučování nejčastějších mutací) nejčastějších alel genu CFTR od 13. týdne těhotenství analýzou mikrovilárních buněk získaných biopsií choria nebo od 17. týdne těhotenství z buněk plodové vody získaných amniocentézou. Vyšetření je vhodné vykonat co nejdříve z důvodu možného přerušení těhotenství v jeho nejranějších stádiích v případě pozitivního průkazu nemocného plodu. Pokud však dojde k pozdějšímu záchytu těhotné ženy s rizikem CF, provádí se prenatální diagnostika v 17. až 18. týdnu těhotenství, kdy je již možné využít biochemické vyšetření aktivit gama-glutamyltransferázy v plodové vodě spolu s ultrazvukovým vyšetřením echogenity dutiny břišní plodu.

Neznámé mutace genu CFTR lze rovněž odhalit analýzou celé kódující sekvence genu CFTR s využitím metody přímého sekvenování, mutačně skenovacích metod (DGGE – elektroforéza v gradientovém denaturačním gelu, dHPLC – denaturační vysokotlaká kapalinová chromatografie) či DNA čipových technologií. Analýza celé kódující sekvence genu CFTR však není příliš rozšířená, jelikož u neznámých mutací často nalézáme alterace, jejichž patogenický potenciál je nejasný a také z nedostatku času jedná-li se o pokročilé stádium těhotenství.

Genetické vyšetření vždy doprovází ultrazvukové vyšetření echogenity dutiny břišní plodu a biochemické vyšetření biochemických markerů v plodové vodě. Zároveň se provádí klasické cytogenetické vyšetření k vyloučení chromozomálně podmíněných onemocnění doplněné o ultrazvukové stanovení nuchální translucence k detekci chromozomálních aneuploidií (Vávrová *et al.*, 2006).

Genetické vyšetření genu CFTR u plodu je nabízeno rodinám s 25% rizikem CF. Vyšetření se doporučuje i všem zdravým příbuzným nemocného CF. Pokud se u pokrevního příbuzného pacienta s CF prokáže, že je nositelem mutace v genu pro CF, mělo by se vyšetření provést i u jeho partnera.

Metoda přímé detekce mutací v genu CFTR je v prenatální diagnostice cystické fibrózy jednou z nejčastěji využívaných metod. Pro dosažení 100% výsledku lze tuto metodu provést ve spojení s nepřímou diagnostikou.

### 6.1.2 Nepřímá molekulárně genetická diagnostika cystické fibrózy

Nepřímá molekulární diagnostika se provádí pouze za předpokladu, kdy je možné vyšetřit DNA pacienta s CF, včetně DNA obou jeho rodičů. K nepřímé analýze mutovaných alel genu CFTR se využívá zejména intragenových STR markerů či k lokusu CFTR úzce vázaných SNP extragenových markerů. Nepřímá diagnostika pomocí extragenových SNP markerů se používá pouze v případech částečné informativity (50 %) nebo neinformativity (0 %) při přímé detekci mutací či při neinformativnosti intragenových STR polymorfizmů v genu CFTR. U intragenových STR polymorfizmů je zanedbatelné riziko rekombinace s lokusem CFTR.

Indikace nepřímé molekulárně genetické diagnostiky CF zahrnují: rodiny s 25% rizikem CF, v nichž nebyly potvrzeny obě mutace v genu CFTR; potvrzení přítomnosti intragenové delecce; charakterizaci vzácných případů uniparentální disomie mutací v genu CFTR (oba chromozomy 7 s mutací pochází pouze od 1 z rodičů); vyloučení CF u plodu na základě vyšetření jeho zdravého nebo nemocného sourozence, u něhož byla pomocí screeningu fetální hyperechogenity nalezena 1 mutace; ověření otcovství a vyloučení materiální kontaminace po odběru vzorku při amniocentéze.

Mezi metody nepřímé diagnostiky řadíme také vyšetření aktivity gastrointestinálních mikrovilárních enzymů obsažených v plodové vodě. Bylo zjištěno, že při závažné prenatální formě CF je aktivita gama-glutamyltransferázy, dále jen GGT, v plodové vodě značně snižena, minimálně pod 5. percentilem. Jelikož sníženou aktivitu GGT nalézáme i u dalších chromozomálně podmíněných vad (např. Downův syndrom), lze nejspolehlivěji toto vyšetření vyhodnotit v rodinách s 25% rizikem CF. Hladina GGT vyšší než 10. percentil v tomto případě znamená vyloučení CF a nižší než 3. percentil potvrzení CF. U rodin bez rodinné anamnézy CF představuje snížená hladina GGT v plodové vodě zvýšené riziko CF plodu. Vyšetření aktivity GGT je velmi spolehlivé a riziko chybné diagnózy je 1–2 %. Vyšetření se provádí v 17.–21. týdnu těhotenství. Aktivita GGT v plodové vodě však může být snižena i vlivem různých virových infekcí, vrozených vývojových vad apod., proto je nutné provést současně i standardní cytogenetické a ultrazvukové vyšetření (Vávrová *et al.*, 2006).



## 6.2 Genetické poradenství cystické fibrózy

Genetické poradenství CF je hlavním předpokladem pro určení výše genetického rizika CF, vhodné strategie prenatálně genetické diagnostiky a perinatální péče. Genetické poradenství by mělo být součástí každého genetického vyšetření jak v prenatálním tak i v postnatálním období. Před samotným laboratorním vyšetřením by vyšetřovaný, případně jeho rodina, měli být informováni o průběhu genetického vyšetření, jeho výhodách či nevýhodách. Na základě zjištěných informací má vyšetřovaný právo rozhodnout, zda molekulárně genetické vyšetření podstoupí či nikoliv. Pokud ano, má na základě informovaného souhlasu s genetickým vyšetřením možnost vyjádřit se k tomu, zda chce znát všechny výsledky vyšetření nebo jen jejich část, případně zda souhlasí s uchováním izolované DNA pro další vyšetření nebo s jejím využitím k dalšímu zkoumání.

Jak již bylo řečeno s genetickým vyšetřením by měla dát souhlas i probandova rodina, respektive jeho přímí příbuzní. Problém nastává v situaci, kdy sourozenec pacienta ještě není zletilý. Obecně se doporučuje analýza nosičství mutace v genu CFTR u jedinců starších 18 let. Závěry genetického poradenství jsou vyšetřovanému sdělovány ústní i písemnou formou. U nezletilých pak jejich zákonným zástupcům.

Genetické poradenství umožňuje nejen provést veškerá genetická vyšetření, ale také rozhodnout o optimální strategii prenatální genetické prevence CF v eventuálním budoucím těhotenství. Rovněž pomáhá takovýmto rodinám vyrovnat se s narozením dítěte s CF. U novorozenců s CF pak objasňuje povahu onemocnění, míru genetických rizik pro jejich děti a navrhuje optimální formu časně genetické prevence a léčby, neboť včasná léčba zvyšuje nemocným vyhlídky na lepší kvalitu života.

## 7 Choroby vyvolané expanzemi trinukleotidů

Choroby s expanzemi trinukleotidových repetit jsou způsobeny tzv. dynamickými mutacemi, pro něž je charakteristický abnormální počet opakování tandemových sekvencí jednoho nukleotidového tripletu v DNA řetězci příslušného genu. Obecně platí, že čím vyšší je počet repetit, tím je dané onemocnění závažnější a dochází k jeho časnější manifestaci. Pro dynamické mutace je typická jejich nestabilita a měnící se charakter z generace na generaci.

U onemocnění s expanzemi tripletů se v genomu nebo ve fenotypu postiženého jedince uplatňuje několik faktorů, které se jinde nevyskytují. Jedním z nich je tzv. genomický imprinting, kdy je projev mutace ovlivněn pohlavím rodiče, od něhož byla mutace zděděna. Imprinting spočívá v inaktivaci funkce genu v různých vývojových stádiích, která zůstává zachována i v dělících se somatických buňkách (Seemanová, 2002).

Dalším z faktorů je tzv. genetická anticipace, což znamená, že k dalšímu zmnožení repetit může docházet během přenosu z generace na generaci. Následkem tohoto jevu mohou mít zdraví rodiče, nesoucí podprahově zvýšený počet repetit nemocné dítě. Hovoříme, že rodiče jsou nositeli tzv. premutace, což znamená, že počet repetit u nich nepřesahuje kritické číslo k rozvoji choroby, ale je oproti normálu zvýšen a onemocnění se u nich tedy neprojeví. Jedná se o mezistupeň mezi normálním a patologickým množstvím repetit. Normální a patologická hranice počtu tripletů na sebe téměř navazují. Počet repetit představujících tento mezistupeň se liší dle toho, zda dochází k expanzi repetice v kódující či nekódující oblasti genomu. To zda k expanzi dojde v kódující či nekódující oblasti závisí nejen na délce premutace, ale také na počtu repetit, které již dané onemocnění vyvolají. Probíhá-li expanze repetice v kódující oblasti genomu, stačí ke vzniku onemocnění zmnožení pouze na několik desítek repetit a oblast premutace je tu nepatrná. Oproti tomu, pokud dochází k expanzi repetice v nekódující oblasti genomu, je oblast premutace velmi široká a k propuknutí choroby musí být repetice zmnožena stokrát až tisíckrát (Moskovská, 2012).

Mutace s následkem expanze trinukleotidů jsou zodpovědné za doposud 40 prokázaných onemocnění, z nichž většina z nich je u nás velmi vzácná (Moskovská, 2012). Mezi nejběžněji se vyskytující choroby řadíme syndrom fragilního X chromozomu, Huntingtonovu chorobu, myotonickou dystrofii a Friedreichovu ataxii.

Objev molekulární patogeneze chorob vyvolaných expanzemi trinukleotidů, jejichž klinický projev a doba nástupu klinických příznaků je závislá na dosažení určitého počtu trinukleotidů, přinesl nebyvalé možnosti v prenatalní prevenci a prediktivním vyšetření v rodinách se zvýšeným rizikem výskytu choroby.

Prediktivní molekulárně genetické vyšetřování příslušníků rizikových rodin vyžaduje nejen kvalitní diagnostické možnosti k vyšetření počtu trinukleotidů, ale také specializované genetické poradenství s odborníky z oboru psychologie a psychiatrie.

Prenatální diagnostika chorob s expanzí trinukleotidů umožňuje prevenci narození dítěte, které by mohlo být danou chorobou postiženo. Členové z rizikové rodiny jsou tomuto vyšetření podrobeni pouze tehdy, jsou-li odhodláni v případě negativní prognózy přerušit těhotenství (Hájek *et al.*, 2000).

## **7.1 Syndrom fragilního X chromozomu: FRAX-A (OMIM 300624)**

Syndrom fragilního X chromozomu, nazývaný též syndrom Martinův-Bellové, je onemocnění, jehož název byl odvozen od specifické chromozomální abnormality – fragility v subterminální části dlouhých ramen chromozomu X (pruh Xq27.3 – FRAX-A). Jedná se o onemocnění, u něhož byla prvně zjištěna spojitost s expanzí trinukleotidů a je příkladem onemocnění v nekódující oblasti genomu. Dochází zde k mutaci ve FMR1 genu a expanzi CGG tripletů. Běžně se počet tripletů CGG u zdravého člověka pohybuje v rozmezí od 5–60 repetit. Pokud se však tato sekvence opakuje více jak 200krát, vzniká chybný FMRP protein, jenž je produktem genu FMR1 a onemocnění se u daného jedince projeví. Počet opakování tripletů 60–200 tedy znamená premutaci (Moskovská, 2012).

Důsledkem mutace genu FMR1 je porucha nervového systému s následnou mentální retardací. Jelikož je toto onemocnění podmíněno dominantní X vázanou sekvencí, projevuje se zejména u chlapců, u nichž má i závažnější charakter. Onemocnění se může projevit již při narození a to rozštěpem patra, který u chlapců nebývá tak častý jako u dívek. Dalším projevem choroby je muskulární hypotonie, kterou lze pozorovat rovněž v nízkém věku dítěte. U postižených chlapců se vyvíjí řeč až kolem 5–6 roku života. Jejich řečové dovednosti jsou však velmi slabé (špatná výslovnost, chronické opakování slov apod.). Často jsou velmi hyperaktivní a nesoustředění. V pubertě se u nich může projevit agresivita doprovázená exhibicionismem. Fyzickými projevy tohoto

onemocnění jsou velká hlava, zvětšené ušní boltce, protažený obličej a zvětšená varlata. Častá je také zvýšená pohyblivost malých kloubů. Muži–přenašeči mutace mohou být i vysokoškolsky vzdělaní a ve velké míře se u nich projevuje genomický imprinting.

U postižených dívek je mentální retardace mírnější a mnohé z nich jsou schopné dokončit zvláštní školu. Ženy–přenašečky zpravidla mentální retardací netrpí a mohou být intelektuálně na velmi vysoké úrovni. Fyziologickými znaky jsou zvětšená ovaria produkující vyšší počet vajíček a nepravidelnost menstruačního cyklu. Tyto dívky obecně mívají větší počet partnerů a vzhledem k vysoké produkci vajíček je u nich zaznamenána i vysoká porodnost.

Z molekulárního hlediska dále rozlišujeme syndromy FRAX-D, FRAX-E a FRAX-F. Syndromy FRAX-D a FRAX-F jsou klinicky bezvýznamné. FRAX-E (OMIM 309548), syndrom fragilního X chromozomu E je výsledkem mutace v genu FMR2 – FRAX-E a dochází zde k expanzi CCG tripletů. Syndrom FRAX-E způsobuje pouze mírnou mentální retardaci a oproti syndromu FRAX-A se vyskytuje 25x méně častěji. Postižení nejsou nijak významně fenotypově odlišní ani nemají žádné vrozené anomálie. V České republice tento syndrom nebyl dosud diagnostikován (Seemanová, 2002).

### **7.1.1 Prenatální diagnostika syndromu fragilního X chromozomu**

Syndrom fragilního chromozomu X patří z lékařského hlediska k nejvýznamnějším chorobám podmíněným expanzí trinukleotidů. K projevu syndromu FRAX-A dochází při překročení počtu repetitivních trinukleotidů CGG nad 200. To má za následek umlčení transkripční aktivity genu FMR1 vlivem jeho hypermetylace. Pokud je počet repetitivních CGG v rozmezí 60–200 jedná se o již zmíněnou premutaci. Muži jsou klinicky nepostiženými přenašeči této premutace a riziko mentální retardace je u nich 3 % a nijak se neliší od normální populace. Riziko mentální retardace u žen s premutací je obdobné jako u mužů, ale může být změněno nerovnoměrnou genetickou inaktivací chromozomů X s premutací a bez premutace.

Počet tripletů CGG se může z generace na generaci neustále zvyšovat. Bylo zjištěno, že při počtu trinukleotidů 50–79 u ženy je riziko zvýšení tripletů v další generaci na úplnou mutaci 17–39%, při 80–99 tripletech riziko stoupá nad 89 %. Má-li žena–přenašečka premutaci s více než 100 triplety, je riziko úplné mutace u jejích dětí 100 %.

Klinický projev syndromu FRAX-A je závislý na intenzitě metylační inaktivace genu FMR1, k níž dochází v prenatalní fázi vývoje dítěte a také na délce expandovaného úseku DNA podmíněné počtem tripletů CGG.

Děti postižené syndromem FRAX-A mají vždy matku-přenašečku premutace. Pokud je nositelem premutace otec, nedochází v další generaci k nárůstu expanze tripletů CGG jak je tomu u matky. Muž s premutací bude mít zdravé syny, jelikož jim předává chromozom Y, všechny jeho dcery budou naopak nositelky premutace bez rizika postižení, neboť počet CGG repetice nepřekročí kritickou hranici pro vznik choroby. U ženy-nositelky premutace bude riziko postižení jejích dětí úměrné počtu trinukleotidů CGG převyšujícímu 50. Její synové tedy mohou zdědit plnou mutaci, kdy klinický projev syndromu bude záviset na stupni mutačního a metylačního mozaicismu (vzájemný poměr buněk s plnou mutací a buněk s premutací). U dcer s 50% rizikem nosičství premutace nebo plné mutace nelze zjistit klinickou prognózu vzhledem k možnosti nerovnoměrné inaktivace chromozomů X. Je-li žena nositelkou plné mutace je zde 100% riziko postižení jejích synů a 60% riziko postižení jejích dcer v případě, že zdědí mutovaný chromozom (Hájek *et al.*, 2000).

Prenatální vyšetření syndromu fragilního X chromozomu se provádí z DNA izolované z amniocytů plodové vody odebraných v 16.–18. týdnu těhotenství. Pohlaví plodu a detekce normálních alel se stanovuje metodou PCR. V případě podezřelého vzorku je provedena Southern blot analýza. Je-li nedostatek DNA pro Southern blot analýzu a jsou-li k dispozici všichni potřební rodinní příslušníci, lze provést nepřímou DNA diagnostiku na základě vazebné analýzy polymorfních markerů. K tomuto účelu jsou vhodné zejména markery FRAXAC1 a DXS548.

Diagnostika pomocí metody PCR je založena na předpokladu, že premutované a plně mutované alely se díky expandované CGG repetici nemohou amplifikovat. PCR vytřídí FRAX-A negativní vzorky nesoucí normální alely. Jsou to muži s jedním PCR produktem a ženy se dvěma PCR produkty. Zbylé vzorky představující muže bez amplifikačního produktu a ženy s pouze jedním amplifikačním produktem jsou podrobeny Southern blot analýze. K separaci PCR produktů je možné využít vysoce koncentrované agarózové gely, polyakrylamidové gely nebo kapilární elektroforézu (fragmentační analýza) v případě použití fluorescenčně značených primerů. PCR je vždy prováděna s použitím kontrolních vzorků.

Southern blotting slouží pro přímé určení expanze CGG repetitivní sekvence. Často se kombinuje s metylační analýzou pomocí restriktivního štěpení s metylsenzitivní restriktivní endonukleázou. Při Southern blot analýze je vhodné do analyzovaných vzorků zahrnout i pozitivní kontroly, tzn. ženu s normální alelou a s větší premutací a muže s plnou mutací (Kozák, 2015).

## 7.2 Huntingtonova choroba (OMIM 143100)

Huntingtonova choroba je autozomálně dominantní, neurodegenerativní onemocnění, které je důsledkem amplifikace CAG tripletů v IT-15 genu na 4. chromozomu. Tento gen kóduje protein huntingtin, což je polyglutaminový úsek, který se stává při počtu glutaminových zbytků vyšším než 45 nefunkčním a vlivem toho dochází k odumírání neuronů v koncovém mozku. Počet opakování CAG tripletů u zdravého člověka je 6–35. U nemocných je tento počet v rozmezí od 36–121, z čehož vyplývá, že u Huntingtonovy choroby prakticky neexistuje žádná premutace. Anticipace je častější při paternálním přenosu mutované alely.

Příznaky Huntingtonovy choroby jsou spojeny s poruchami hybnosti, behaviorálními poruchami a s kognitivním deficitem. Na počátku nemoci nemusí být některé příznaky patrné a jejich charakter a intenzita se s přibývajícím věkem mění. Rozlišujeme juvenilní, klasickou a senilní formu nemoci.

Juvenilní forma Huntingtonovy choroby je poměrně vzácná (8–10 %) a její klinické příznaky se objevují před 20. rokem života. Průměrná délka života je odhadována na 8–10 let. U mladších dětí bývají jako první příznaky pozorovány poruchy intelektu a chování. Nepozornost, deprese, agresivita, poruchy učení a psychotické příznaky jsou často chybně prisuzovány schizofrenii. Sporadicky se také mohou vyskytovat choreatické dyskineze, což jsou netypické mimovolní pohyby, ke kterým dochází náhodně na různých částech těla. Mezi další projevy nemoci patří ztuhlost a bradykineze (celkové zpomalení pohybů), dále dystonie, myoklonus (záškuby svalů) a pyramidové příznaky.

Nejběžnější formou Huntingtonovy choroby je forma klasická (90 %), objevující se mezi 35.–50. rokem života. První projevy nemoci jsou velmi mírné a lze je špatně diagnostikovat. Správnou diagnózu je možné určit až s nástupem hybných symptomů, zejména choreatických dyskinezí. Dalšími příznaky jsou dystonie a myoklonus.

S postupem nemoci postupně ubývá dyskinezí a rozvíjí se akineticko rigidní syndrom, vyznačující se akinezí (těžké, pomalé pohyby), rigiditou (ztuhlostí), třesem a poruchou stoje i chůze. Pro klasickou formu Huntingtonovy choroby jsou typické poruchy volní motoriky jako plánování pohybu, iniciace a rychlost provedení pohybu. Mezi časně neurologické příznaky patří poruchy sledovacích a sakadických očních pohybů. Běžně se také vyskytují poruchy řeči a obtíže při polykání. Pokročilejšími neurologickými symptomy jsou poruchy chůze a pyramidové příznaky. K nejzávažnějším příznakům patří inkontinence, těžká dysartrie, kachexie (celková sešlost) a těžká demence. Nemocní jsou plně závislí na péči okolních osob a nejčastěji umírají na komplikace spojené s infekčním onemocněním. Průměrná délka života je 15–20 let.

Senilní forma Huntingtonovy choroby má klinický počátek po 60. roce života a představuje zhruba 5 % všech případů. Tato forma je benigního charakteru a nemocní se dožívají průměrného věku zdravé populace. Hlavními příznaky jsou chorea (rychlé, nepravidelné pohyby na různých částech těla), některé kognitivní poruchy jako například nepozornost a z behaviorálních poruch jsou to apatie, deprese a iritabilita (Klempíř, 2007).

Diagnóza Huntingtonovy choroby se stanovuje na základě rodinné anamnézy a přítomnosti daných symptomů. Potvrzení diagnózy se provádí prostřednictvím genetických testů. Rozlišujeme testy diagnostické a prediktivní. Prediktivní testy dále dělíme na presymptomatické a prenatalní. Diagnostické testování se provádí pouze v případech důvodného klinického podezření na Huntingtonovu chorobu. Presymptomatické testování je poskytováno asymptomatickým jedincům v riziku onemocnění, kteří si přejí upřesnit, zda nesou mutaci. U prediktivního testování je žádoucí, aby byla diagnóza Huntingtonovy choroby molekulárně geneticky potvrzena i u nemocného příbuzného, jelikož v opačném případě nevylučuje negativní výsledek testu jinou autozomálně dominantní chorobu. Prenatální testování se provádí u plodu, jehož rodič je nemocný nebo pozitivně presymptomaticky testovaný (Kebrlová *et al.*, 2007).

Huntingtonova choroba patří mezi nejčastější a také nejzávažnější onemocnění, postihující zejména populace evropského původu. Celosvětově se její výskyt pohybuje kolem 5–10/100 000. Vzhledem k jejímu relativně pozdnímu nástupu, kdy je většina jedinců v produktivním věku ještě zcela bez příznaků, dochází k nepozorovatelnému přechodu mutace do další generace a nemoc tak zůstává v populaci zachována.

Kauzální terapie ani prostředky, které by dokázaly průběh Huntingtonovy choroby pozastavit nebo alespoň zpomalit doposud neexistují. Některé behaviorální a kognitivní projevy nemoci lze částečně ovlivnit farmakologicky podáváním různých antipsychotik, antidepressiv a obdobných preparátů. Poruchy řeči a polykání dokáže zmírnit zkušený logoped. K rehabilitaci motorických funkcí se využívají klasické postupy s přihlédnutím k specifickým potřebám nemocného. V posledních letech byla vypracována řada studií zaměřených na terapeutické ovlivnění Huntingtonovy choroby. Doposud však nebyl nalezen lék s prokazatelným klinickým efektem (Klempř, 2007).

### **7.2.1 Prenatální diagnostika Huntingtonovy choroby**

Roku 1983 byly poprvé identifikovány genetické markery, které jsou úzce spojeny s genem pro Huntingtonovu chorobu. Markery, které jsou s genem pro Huntingtonovu chorobu ve vazbě, jsou obvykle společně s tímto genem předávány do další generace. Z této teorie vychází tzv. vylučovací prenatální testování, jehož snahou je odhalit pravděpodobnost postižení plodu za předpokladu, že jeden z rodičů v riziku si nepřeje znát svůj genetický statut. Metodou vylučovacího prenatálního testování je nepřímá DNA analýza. Cílem vylučovacího testu je umožnit osobě v 50% riziku vyloučit možnost mít postižené dítě beze změny informace o vlastním genetickém stavu. Toto testování zahrnuje možnost ukončení gravidity, pokud je u plodu zjištěno 50% riziko a pokračování těhotenství s plodem ve velmi nízkém riziku.

Gen IT-15, jehož mutace způsobuje Huntingtonovu chorobu byl popsán roku 1993. Jedinci v riziku onemocnění tak mohou být přímo testováni. Budoucí rodiče s postižením mají možnost podstoupit tzv. definitivní prenatální testování, kdy je podkladem pro určení prognózy počet zděděných tripletů CAG od nemocného rodiče. Vzorke pro prenatální diagnostiku jsou získávány odběrem choriových klků nebo plodové vody (Běhounek, 2008).

Prenatální diagnostika tohoto autozomálně dominantního onemocnění se zpočátku zaměřovala na těhotenství, u nichž riziko vzniku poruchy pocházelo z otcovy strany, jelikož tehdejší metody neinvazivní prenatální diagnostiky nedokázaly dobře rozeznat mutované alely plodu zděděné od matky na pozadí matčiny vlastní volné DNA. K průlomu došlo až s objevem moderních technik nové generace sekvenování.



Huntingtonovu chorobu poprvé diagnostikovali González-González *et al.* (2003) pomocí QF-PCR u ženy nesoucí plod s rizikem Huntingtonovy choroby zděděné od otce. QF-PCR odhalila přítomnost dvou normálních a jedné mutované alely. Výsledky byly potvrzeny invazivními metodami. Nevýhodou této techniky je její využití omezené pouze na paternálně zděděná onemocnění (González-González *et al.*, 2003).

Bustamante-Aragones *et al.* (2008) využili k diagnostice plodu s rizikem paternálně zděděné Huntingtonovy choroby u 4 těhotných žen dinukleotidový polymorfni mikrosatelit IICADH-2. U dvou žen se potvrdila přítomnost mutantní alely zděděné od otce, u jedné se vyskytovaly jen zdravé alely a u poslední ženy se nepodařilo detekovat ani zdravou ani mutovanou alelu od otce. Až následná diagnostika buněk z choriových klků v tomto případě odhalila mutantní alelu s repeticí 114 CAG. Falešně negativní výsledek předchozí analýzy způsobila malá délka cfDNA, která neumožnila správnou detekci takto dlouhé repetice (Bustamante-Aragones *et al.*, 2008).

Při prenatalním testování na Huntingtonovu chorobu je kladen důraz na to, aby bylo provedeno pouze tehdy, pokud již byl testován rodič. Samotnému testování předchází vstupní pohovor a 2–3 konzultace žadatele s genetikem, neurologem, psychiatrem či psychologem. Podmínkou prenatalního testování je informovanost a svobodné rozhodnutí žadatele test podstoupit. Interval mezi podáním informací před testem a rozhodnutím žadatele by měl být nejméně 1 měsíc. Výsledek testu je dotyčné osobě sdělován výhradně ústně, v co nejkratším odstupu od jeho ukončení. Četnost a forma konzultací po testu se zpravidla domlouvají ještě před testem. Vyšetřovaný má právo kdykoliv naplánovaný program změnit (Kebrlová *et al.*, 2007).

### **7.3 Myotonická dystrofie typu 1 (OMIM 160900)**

Myotonická dystrofie je multisystémová autozomálně dominantní dědičná porucha, postihující kosterní i hladkou svalovinu, srdce, oči, endokrinní a centrální nervový systém. Rozlišujeme myotonickou dystrofii typu 1 (DM1), typu 2 (DM2) a samostatně také tzv. kongenitální myotonii. V této práci se budu věnovat popisu myotonické dystrofie typu 1, jelikož v případě DM2 se jedná o expanzi tetranukleotidových repetic. DM2 je klinicky podobná DM1, ale její průběh většinou bývá mírnější. Také u ní nebyla popsána závislost velikosti repetic na tíži symptomů. Kongenitální myotonie se objevuje ve 2 základních

formách – Thomsenova forma s dědičností autozomálně dominantní a Beckerova forma s dědičností autozomálně recesivní. U obou forem kongenitální myotonie dochází k poruchám chloridových kanálů (Ambler, 2004).

Myotonická dystrofie je nejčastější neuromuskulární poruchou u dospělých. Počet nemocných v Evropě se udává 4 ze 100 000. Zpravidla se jedná právě o myotonickou dystrofii typu 1 (v 98 % případů), kdy rozlišujeme její mírnou, klasickou a kongenitální formu. Mírnou formu charakterizuje šedý zákal a mírná myotonie. Příznaky klasické formy jsou svalová slabost a gonadální atrofie, myotonie s časnou kataraktou, diabetes mellitus, čelní pleš a snížená mentalita. Kongenitální forma je většinou perinatálně letální, kdy se postižení projeví již v prenatálním období (v prvním trimestru těhotenství) nadbytkem plodové vody (Seemanová, 2002). Novorozenci jsou mentálně postižení, trpí hypotonií a často také respirační insuficiencí.

K myotonické dystrofii dochází vlivem zmnožení trinukleotidů CTG v oblasti genu proteinkinázy myotonické dystrofie značeném DMPK1. Počet repetitivních tripletů CTG v normální populaci kolísá mezi 5 až 35. U mírné formy myotonické dystrofie je počet opakování CTG tripletů 50–150. Jedinci s mírnou formou myotonické dystrofie se vyznačují slabou myotonií či kataraktou a bývá u nich diagnostikována diabetes mellitus. Většina z nich o svém onemocnění neví a žije normálním plnohodnotným životem. Počet repetitivních CTG u klasické formy myotonické dystrofie se pohybuje v rozmezí 100–1500. Onemocnění se projevuje mezi 20–30 rokem života. Charakteristickými znaky choroby jsou svalová slabost a atrofie, myotonie, katarakta, srdeční poruchy a diabetes mellitus. Kognitivní poruchy jsou mírné. V pokročilejším stádiu klasické formy dystrofie mohou vést svalová slabost a myotonie bránice k respiračním obtížím. U těhotných žen s myotonickou dystrofií je vyšší riziko spontánního potratu. Pro kongenitální formu myotonické dystrofie je typický počet opakování CTG tripletů 1000/2000–4000. Mutovaná DMPK alela je v tomto případě děděná téměř vždy od matky a to pravděpodobně vlivem snížené expanze CTG tripletů ve spermiích. Pro děti s tímto postižením je charakteristický tvar horního rtu připomínající obrácené V. Většinou jsou schopné chůze, ale v některých případech se mohou objevit i progresivnější myopatie. Procento mentální retardace se udává kolem 50–60 %.

Na léčbu myotonické dystrofie bohužel doposud neexistuje žádný lék. Zdravotní péče o jedince s myotonickou dystrofií je zaměřena především na ovlivnění některých symptomů

nemoci. Vlastní myotonii lze minimálně zmírnit podáváním fenytoinu v denní dávce 200 mg. Podávání fenytoinu se však doporučuje pouze u silnějších myotonií, u mírných forem nebyl jeho efekt zaznamenán. Pacientům jsou doporučovány kondiční rehabilitace a aerobní cvičení. U pokročilejších forem myotonie jsou pak zapotřebí různé protetické pomůcky jako ortézy, dlahy apod. Důležitá je rovněž kardiologická a oftalmologická péče (Mazanec *et al.*, 2012).

Významnou roli v péči o pacienty s myotonickou dystrofií hraje genetické poradenství, jelikož riziko přenosu mutované alely do další generace je 50% pro obě pohlaví. Z generace na generaci se pak u dětí matek s myotonickou dystrofií může fenotyp dále zhoršovat. Pro potvrzení mutace je důležité genetické vyšetření všech pokrevních členů rodiny. Rodinám, v nichž je přítomnost mutace potvrzena je nabízena možnost prenatální či preimplantační diagnostiky. Základním testem pro potvrzení diagnózy je DNA analýza.

### **7.3.1 Prenatální diagnostika myotonické dystrofie**

Prenatální diagnostika myotonické dystrofie typu 1 je prováděna u členů rodiny se zátěží DM1. Ti jsou podrobeni analýze DNA extrahované z fetálních buněk získaných amniocentézou nebo biopsií choriových klků. Molekulární diagnostika spočívá v detekci patologické alely a v určení velikosti její expanze. Pro přesné určení počtu trinukleotidů v repetici ve fyziologickém a premutačním intervalu se používá metoda PCR. Syntéza alel, které obsahují více než 100 CTG trinukleotidů v repetitivní sekvenci genu DMPK1 selhává, pokud je využito klasického protokolu, v důsledku délky fragmentu a přítomnosti sekundárních struktur vlásenkovitého typu. Z tohoto důvodu je pro detekci expandovaných alel využívána modifikovaná PCR – TP-PCR, kde je přítomnost expandované alely detekována, aniž by docházelo k její syntéze (Valášková, 2015).

První diagnostika myotonické dystrofie, tedy diagnostika zmnožení CTG tripletů byla provedena pomocí metody PCR. Vzorek krve byl odebrán zdravé matce a otci postiženému myotonickou dystrofií. Pro potvrzení přítomnosti cfDNA v matčině plazmě byla provedena Y-specifická PCR, která prokázala, že je plod mužského pohlaví. Po amplifikaci specifické sekvence genu DMPK1 obsahující CTG repetice a následné elektroforéze na agarózovém gelu byla prokázána přítomnost zdravé mateřské alely a mutované alely zděděné po nemocném otci (Amicucci *et al.*, 2000).

## 7.4 Friedreichova ataxie (OMIM 229300)

Friedreichova ataxie (FRDA) je autozomálně recesivní dědičné onemocnění, jehož příčinou je zmnožení tripletů GAA v genu X25 na chromozomu 9. Gen X25 kóduje mitochondriální protein frataxin, který hraje důležitou roli při transportu železa. Mutací genu X25 dochází k poškození funkce frataxinu s následným mitochondriálním oxidativním stresem (Zumrová *et al.*, 2007). Běžný počet opakování trinukleotidů GAA u zdravého člověka je 5–33. Počet repetice 34–65 je považován za premutaci, která může v dalších generacích expandovat do plné mutace. Patologické alely obsahují 66–1700 repetice. Přibližně 98 % pacientů s FRDA je pro GAA expanzi homozygotních. Zhruba ve 2 % případů byly popsány jiné mutace genu X25. Pacienti s těmito mutacemi jsou složení heterozygoti s expanzí repetice GAA na jedné alele a bodovou mutací nebo malou delecí na druhé alele. Frekvence výskytu onemocnění v evropské populaci je 1 : 50 000 (frekvence přenašečů 1 : 120).

Friedreichova ataxie je neurodegenerativní onemocnění postihující mozkový kmen, mozeček, míchu, periferní nervy a kortex. První příznaky onemocnění jako jsou ataxie (porucha koordinace pohybů) a dysartie (porucha řeči) se začínají objevovat již mezi 5.–10. rokem života. Onemocnění je progresivní a jeho dalšími projevy jsou nystagmus (kmitavý pohyb očí), kyfoskolióza, kardiomyopatie a diabetes mellitus. Intelekt je normální. Kolem 20. roku života je již pacient plně upoután na invalidní vozík. Proto je při terapii důležitá intenzivní rehabilitace. Nemocný musí být pod neustálým dohledem neurologa, kardiologa, endokrinologa a ortopeda. Kromě rehabilitace je doporučována i terapie polyvitaminózní a nootropní či kognitivní. Lék na Friedreichovu ataxii nebyl doposud vyvinut.

### 7.4.1 Prenatální diagnostika Friedreichovy ataxie

Friedreichova ataxie se vyznačuje značnou klinickou variabilitou, léčba na ni doposud neexistuje a k dispozici je pouze symptomatická terapie. Z těchto důvodů je důležitá molekulárně genetická diagnóza a identifikace přenašečů. V současné době se ke screeningu expandovaných alel a k určení počtu opakování tripletu GAA využívají long-range PCR, TP-PCR a Southern blot analýza. DNA pro laboratorní diagnostiku je extrahována z fetálních buněk plodové vody nebo choriových klků.

Long-range PCR umožňuje amplifikaci dlouhých fragmentů DNA. Produkty PCR jsou separovány elektroforézou v agarózovém gelu a jejich velikost je vyhodnocena srovnáním s komerčně dostupnými fragmenty DNA o známé velikosti. Analyzovaný vzorek je nutné amplifikovat zároveň se vzorky standardní DNA, u niž se nepředpokládá expanze repetice GAA a se vzorky DNA pacientů s FRDA. V případě detekce produktu PCR o velikosti na rozhraní standardní/mutantní alela je vhodné provést sekvenční analýzu.

TP-PCR byla speciálně vyvinutá pro screening expandovaných alel u myotonické dystrofie, zároveň však představuje vhodnou metodu pro screening u Friedreichovy ataxie. Tato metoda je založená na využití 3 primerů (P1, P3 a P4). Fragmenty vzniklé pomocí TP-PCR jsou podrobeny fragmentární analýze, která identifikuje expanze v patogenním rozsahu. Metodou TP-PCR nelze stanovit přesný počet opakování, umožňuje však vyloučení jedinců nesoucích wild-type alely genu.

Southern blot analýza je založená na restrikci genomové DNA pomocí restrikčních enzymů. Fragmenty jsou po rozdělení v agarózovém gelu přeneseny na membránu, kde dochází k hybridizaci s radioaktivně značenou sondou. Následná autoradiografie detekuje v případě standardní DNA fragmenty o velikosti 2,4 kb, 5,6 kb a 8,2 kb. Expandované alely jsou od normálních alel rozlišeny pomocí standardů molekulové hmotnosti (Lisyová *et al.*, 2015).

Friedreichovu ataxii poprvé prenatálně diagnostikovali Wallis *et al.* (1989) pomocí DNA markeru MCT112 v rodině s již jedním dítětem postiženým FRDA. Diagnostika byla provedena u plodu matky v 18. týdnu těhotenství. Monros *et al.* (1995) využili k prenatální diagnostice FRDA tzv. flanking markerů. Zatímco spolehlivost detekce FRDA s využitím předešlých markerů dosahovala 95 %, diagnostika pomocí flanking markerů zvýšila důvěryhodnost testu téměř na 100 %.

## 8 Didaktika biologie

Didaktika biologie je vědní disciplína zabývající se obsahem vzdělávání a procesem vyučování a učení se zaměřením na jediný vyučovací předmět, biologii. Didaktika biologie využívá metody výzkumu oboru pedagogika. Obsah tohoto vzdělávacího předmětu se mění dle měnící se role učitele ve společnosti, dle požadavků společnosti na znalosti a dovednosti žáků a dle výsledků nejnovějších výzkumů z oblasti procesů učení, psychologie, sociologie apod. V současné době je největší důraz kladen zejména na aktivní roli žáka během vyučování. Co se týká rámcového učebního plánu, je výuka biologie na gymnáziích v 1. a 2. ročníku povinná, ve 3. a 4. ročníku závisí její zařazení do vyučování na rozhodnutí školy.

Vzhledem k tomu, že jedním z cílů této diplomové práce je navržení modelové hodiny genetiky na střední škole, uvedu v této kapitole základní didaktické zásady, organizační formy výuky a metody výuky, jež by bylo možné aplikovat právě v hodinách biologie.

### 8.1 Didaktické zásady

Součástí didaktické teorie jsou didaktické zásady. Didaktické zásady jsou obecné normy, jejichž dodržování vede k dosažení předem stanoveného didaktického cíle. Týkají se činnosti učitele i žáka, výběru a zpracování obsahu výuky, růstu a psychických zvláštností duševního vývoje žáků, vyučovacích metod, prostředků i organizačních forem výuky. Jejich uplatňování je nezbytnou podmínkou efektivního vyučování.

Základními didaktickými zásadami jsou (Pavlasová, 2013):

- **ZÁSADA VĚDECKOSTI:** Tato zásada klade důraz na podávání objektivně pravdivých informací, které korespondují s poznatky současné vědy. Během výuky biologie by se měly používat metody nejvíce se podobající vědeckým metodám biologie jako jsou pozorování a pokus s využitím moderního vybavení, názorných obrázků, schémat, nákresů apod.
- **ZÁSADA SROZUMITELNOSTI A PŘÍMĚŘENOSTI:** Obsah učiva i jeho rozsah a náročnost by měl odpovídat věku žáků, jejich rozumovému vývoji a doposud osvojeným vědomostem a dovednostem. Příliš snadné učivo by mohlo

žáky demotivovat zatímco příliš obtížné učivo by mohlo vést k jejich přetížení a následné rezignaci.

- **ZÁSADA SOUSTAVNOSTI A POSLOUPNOSTI:** Tato zásada vyžaduje, aby se nové poznatky opíraly o ty předcházející a zároveň se staly východiskem pro poznatky následující. Žák tak získává vědomosti v přirozeném a logickém sledu. K dodržení této zásady učitel přispívá seznámením žáka s plánem vyučovací hodiny, opakováním předešlého učiva, logicky uspořádanými zápisy na tabuli a shrnutím nového učiva v závěru hodiny.
- **ZÁSADA NÁZORNOSTI:** Využitím názorných pomůcek (obrázků, zvukových nahrávek, videonahrávek, přírodnin, zkamenělin apod.) přispíváme k snadnějšímu zapamatování probíraného učiva. Žáci si manipulací s přírodninou, případně vědeckým pokusem vytvářejí biologické představy na základě bezprostředního vnímání přírodních jevů nebo jejich zobrazení.
- **ZÁSADA SPOJENÍ TEORIE S PRAXÍ:** Tato zásada je založena na požadavku, aby žáci získávali nové poznatky na základě praxe a získané vědomosti a dovednosti dovedli využívat v běžném životě. Učitel by měl poukazovat na praktické použití probíraných témat.
- **ZÁSADA UVĚDOMĚLOSTI PŘI OSVOJOVÁNÍ POZNATKŮ:** Učitel by se měl vždy snažit přesvědčit žáky o užitečnosti daných vědomostí a dovedností. Měl by být schopen v žácích vzbudit zájem a především pocit, že je pro ně znalost probírané látky smysluplná a nezbytná. Cílem je vytvoření kladného vztahu žáků k učení. Žáci si mají poznatky osvojovat cílevědomě, organizovaně a s aktivním přístupem.
- **ZÁSADA TRVALOSTI:** Tato zásada vychází z potřeby získávat takové vědomosti a dovednosti, které si žák osvojí na delší dobu, nejlépe na celý život. K lepšímu zapamatování učitel přispívá neustálým procvičováním a opakováním. Důležitá je také pravidelná kontrola znalostí.
- **ZÁSADA RESPEKTOVÁNÍ MEZIPŘEDMĚTOVÝCH VZTAHŮ:** Tato zásada vychází ze skutečnosti, že každý nový biologický poznatek by měl být opřen o poznatky z ostatních přírodních věd.

- **ZÁSADA VÝCHOVNÉHO VYUČOVÁNÍ:** Tato zásada vychází z obecných pedagogických principů, které se týkají výchovy a vzdělávání. Výuka biologie by měla zahrnovat výchovnou složku ke splnění afektivních cílů – ovlivnění postojů a hodnot žáka.
- **ZÁSADA INDIVIDUÁLNÍHO PŘÍSTUPU K ŽÁKŮM:** Tato zásada odráží nutnost respektování psychologických a jiných individuálních potřeb každého žáka za účelem dosažení co nejlepších výsledků. Většina učebnic je koncipována pro žáky průměrně nadané, což může žáky podprůměrné nebo naopak žáky nadprůměrné značně demotivovat. Zde pak nastupuje role učitele, který má možnost nadanějším žákům zadávat náročnější úlohy, dávat jim různé úkoly navíc a může je zapojovat do různých soutěží a výzkumných aktivit. Méně nadané žáky lze aktivně zapojit do výuky alternativními úkoly využívajícími jejich potenciál.
- **ZÁSADA HYGIENY A BEZPEČNOSTI PŘI VÝUCE:** Tato zásada souvisí se zvýšeným nebezpečím během laboratorních cvičení, exkurzí, pěstitelských a chovatelských prací. Úrazům je možno předejít poučením žáků a dodržováním předem stanovených pravidel.

## 8.2 Organizační formy výuky

Organizační forma výuky je způsob uspořádání vyučovacího procesu, zahrnující prostředí výuky a způsob organizace činnosti učitele i žáků během vyučování. Organizační formy výuky dělíme dle způsobu práce učitele a žáka (frontální výuka, individualizovaná a diferencovaná výuka, skupinová a kooperativní výuka, projektová a integrovaná výuka, domácí učební práce) a dle místa, v němž výuka probíhá (vyučovací hodina, praktická cvičení, exkurze, vycházky, terénní práce, projektová výuka, odborný seminář, odborná praxe a stáž, domácí úkoly a příprava, samostudium). Podrobněji se budu věnovat pouze některým z jmenovaných forem výuky.

- **VYUČOVACÍ HODINA:** Vyučovací hodina patří k nejběžněji využívaným formám výuky na našich školách. Žák by měl být do vyučovací hodiny aktivně zapojen, měl by mít možnost manipulovat s přírodními, provádět jednoduché



experimenty apod. Struktura klasické vyučovací hodiny je následující: Zahájení hodiny (učitel se s žáky přivítá, sdělí jim téma a cíle hodiny, motivuje žáky), opakování předešlého učiva (kontrola a hodnocení vědomostí, případně kontrola domácích úkolů), probrání nové látky, zopakování a procvičení nového učiva, zadání domácí úlohy a zhodnocení hodiny (stupeň dosažení stanoveného cíle, aktivity žáků, sdělení, co se bude dít v následující hodině). Vlastní vyučovací hodině předchází příprava na hodinu, během níž si učitel musí promyslet a stanovit výukové cíle. Vycházíme z tzv. prekonceptu, tedy ze znalostí, dovedností i postojů žáků, které získali při předchozí výuce, nebo o nichž předpokládáme, že je žáci na základě svých zkušeností znají. Výukové cíle definujeme zvlášť pro všechny oblasti zamýšleného ovlivňování žáků, tedy cíle kognitivní, afektivní a psychomotorické. K realizaci výukového cíle přispějeme vhodnou volbou metody i formy výuky a výběrem učiva.

- **PRAKTICKÁ CVIČENÍ (LABORATORNÍ PRÁCE):** Laboratorní práce žákům umožňují prakticky použít, upevnit a prohloubit dosavadní osvojené vědomosti. Žáci získávají praktické dovednosti, učí se samostatně pracovat, formulovat různé hypotézy, zaznamenávat průběh experimentu, vyvozovat závěry apod. Zakládá se tak u nich vědecký způsob myšlení. Strukturu laboratorních prací můžeme shrnout do několika základních bodů. Stejně jako u vyučovací hodiny je prvním bodem zahájení. Při zahájení laboratorních prací žáky seznámíme s tématem a cílem hodiny a poučíme je o bezpečnosti práce. Po zahájení s žáky zopakujeme teoretické znalosti potřebné pro vykonání zadaného laboratorního úkolu. Pracovní postup laboratorní práce s jasnými instrukcemi žákům sdělíme nejlépe ústně a v základních bodech vypíšeme na tabuli. U složitějších úloh můžeme žákům rozdat písemné návody. Následuje vlastní provedení laboratorní práce. V závislosti na zadaném úkolu mohou žáci pracovat samostatně, ve dvojicích nebo ve skupinách. Vyučující by měl vykonávané činnosti žáků zpravidla jen přihlížet, pouze v případě potřeby žákům s některými úkony pomoci. Po dokončení laboratorní práce jsou prezentovány výsledky – porovnání výsledků mezi jednotlivými skupinami nebo jednotlivci, vyvození závěrů, pravidel, zákonů apod. Jako domácí úkol žáci vypracují protokol se všemi jeho náležitostmi. Vzor správně vypracovaného protokolu žáci obdrží od učitele. Posledním bodem je celkové zhodnocení laboratorního cvičení (splnění cílů) a úklid pracoviště. Příprava vyučujícího na

laboratorní cvičení zahrnuje stanovení výukového cíle, stanovení způsobu realizace a začlenění cvičení do výuky, dále také stanovení organizace činností žáků a určení výstupu hodiny a způsobu jeho hodnocení. Pracovní postup by si měl učitel nejlépe sám před vlastní hodinou vyzkoušet. Součástí přípravy je rovněž příprava pomůcek a pracovního materiálu.

- **EXKURZE:** Exkurze jsou významným prostředkem k propojení teoretické a praktické složky výuky. Exkurze jsou většinou jednodenní, monotematické nebo komplexní. V rámci genetických exkurzí jsou často navštěvovanými místy: nemocnice (různá léčebná centra, krevní centra apod.); laboratoře; ústavy experimentální biologie, botaniky a medicíny; různé nadace; kluby nemocných atd. Před samotnou exkurzí si vyučující musí stanovit výukový cíl a také plán exkurze (termín a místo exkurze, časová náročnost exkurze). Žáky je dobré předem seznámit s tématem exkurze. Důležité je i zajištění dopravy na místo exkurze a obstarání potřebných povolení ke vstupu. Žáci by měli mít k dispozici výukové materiály (pracovní listy, záznamové archy atd.) a informační materiály (časový plán, doprava atd.). Po dokončení exkurze následuje zhodnocení a kontrola pracovních listů nebo možné laboratorní cvičení.
- **ODBORNÝ SEMINÁŘ:** Odborný seminář je určen studentům, kteří si vyučovací předmět, v tomto případě biologii, dobrovolně zvolili ve vyšších ročnících střední školy. Seminář bývá zpravidla dvouhodinový. Jakým způsobem je odborný seminář veden závisí především na vyučujícím. Může být čistě výkladového charakteru, případně může zahrnovat přípravu na laboratorní práce, různá praktická cvičení, terénní práce apod.

### **8.3 Metody výuky**

Vyučovací metody jsou způsoby účelného uspořádání činností učitele a žáků, směřující k předem stanoveným cílům. Vhodná volba výukové metody je důležitým rozhodnutím při přípravě na vyučování. Různé metody výuky se mohou uplatňovat souběžně a ve vzájemném propojení. Efektivita výukové metody stoupá s podílem aktivního zapojení žáků do hodiny. Vyučovacími metodami jsou například výklad, přednáška, vyprávění, popis, pozorování a předvádění, pokus, rozhovor, diskuse, panelová diskuse, debata, práce

s textem, práce s informačními technologiemi, prezentace žákovských prací, didaktické hry, vytváření portfolií, brainstorming, skupinové práce, pojmové mapy a mnoho dalších. V následujícím textu rozvedu metody výuky, které lze nejčastěji uplatnit při hodinách genetiky (Pavlasová, 2013).

- **PŘEDNÁŠKA:** Přednáška je metodou výuky, která je náročnější na pozornost a vyžaduje, aby si žáci během ní sami dělali poznámky. Z tohoto důvodu se tuto metodu doporučuje využívat především ve vyšších ročnících středních škol v rámci volitelných předmětů na různá odborná témata. Do přednášky je nutné vkládat krátké oddechové přestávky. Prostor na kladení otázek je ponechán na konec přednášky.
- **VÝKLAD:** Výklad lze nejlépe využít, uvádíme-li žáky do nové problematiky. Jedná se o slovní monolog, kdy je komunikace ze strany učitele k žákům jednosměrná, bez jejich přímé účasti. Vykládané učivo musí mít logickou strukturu a má být přiměřené aktuálnímu stavu žáku co do času i náročnosti. Vyučující si během výuky může průběžně ověřovat, zda žáci nové učivo pochopili. Otázky žáci mohou oproti přednášce klást kdykoliv během vyučovací hodiny. U výkladu je důležité dodržovat všechny didaktické zásady. Učitel by měl se svými žáky udržovat oční kontakt, mluvit jasně a srozumitelně, netlumit jejich aktivitu a využívat co nejvíce názorných pomůcek.
- **POZOROVÁNÍ A PŘEDVÁDĚNÍ:** Cílem pozorování a předvádění není jen popis předmětů a skutečností, ale i vypořádání a rozumové vysvětlení pozorovaných jevů. Pozorování může být prosté nebo komparativní, kdy žáci porovnávají rozdíly. Předměty a jevy předvádí učitel, žáci ho jen pozorují a do průběhu dění nijak nezasahují. Důležitá je vhodná volba výukových pomůcek.
- **POKUS:** Pokus je určen k praktickému ověření teoretických znalostí. Pokus může provádět učitel i žáci. Jednodušší pokusy je možné zařadit přímo do vyučovací hodiny, složitější je lepší vykonávat v rámci laboratorního cvičení. Časová náročnost pokusu je různá. Některý může trvat několik minut, jiný zase několik dní až týdnů. V tomto případě vyhodnocujeme výsledky pokusu až v následujících vyučujících hodinách.

- **PREZENTACE ŽÁKOVSKÝCH PRACÍ:** Žákovskými pracemi rozumíme různé referáty, seminární a závěrečné práce apod. Každá žákovská práce by měla mít jasnou strukturu. Učitel by měl trvat na využití více informačních zdrojů a na jejich řádné citaci. Během prezentace žákovské práce vyučující pokládá žákovi kontrolní otázky. Úroveň odpovědí na kladené otázky následně zahrne do celkové klasifikace. Z žákovské práce by mělo jasně vyplynout, zda žák danému tématu porozuměl a jaký zaujal k řešenému problému postoj.

## 9 Metody

Předmětem praktické části této diplomové práce jsou analýza učebnic biologie pro střední školy a návrh modelové hodiny genetiky pro střední školy. Cílem analýzy učebnic biologie je jejich obsahová analýza a vzájemné porovnání na základě několika zvolených kritérií. Dále vyhodnocení nejlepší učebnice určené k výuce na středních školách. Výsledky hodnocení jsou zaznamenány do Tabulky 2. Navrženou modelovou hodinu genetiky jsem prezentovala na šestiletém Gymnáziu Boženy Němcové v Hradci Králové a dále v několika třídách Gymnázia a SOŠ Jilemnice. Modelová hodina byla vedena formou dvouhodinového odborného semináře na téma Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů. Příprava na modelovou hodinu je uvedena v Tabulce 1. Výstupem prezentace modelové hodiny byl krátký anonymní škálovací dotazník, jehož výsledky jsou zaneseny do Tabulek 3, 4 a 5.

### 9.1 Obsahová analýza učebnic biologie pro střední školy

Cílem této kapitoly je podrobná analýza vybraných učebnic biologie pro střední školy a jejich vzájemné porovnání nejen z hlediska obsahu témat týkajících se této diplomové práce, ale i z hlediska předmětu genetiky obecně.

Podstatnou část kapitoly věnuji podrobnému popisu jednotlivých učebnic. Uvádím zde, jakým způsobem je daná učebnice členěna, jaké obsahuje kapitoly (zejména zda-li obsahuje samostatnou kapitolu Genetika nebo zda hovoří o genetice jen obecně v rámci jiných kapitol), pro jaké typy středních škol je učebnice určena, jestli je dostatečně vybavena obrazovými materiály apod. a v neposlední řadě do jaké míry jsou v učebnici

rozvedena témata související s touto diplomovou prací. Na konci kapitoly jsou zmíněna kritéria zvolená pro vyhodnocení učebnic. Výsledky hodnocení jsou shrnuty v Tabulce 2.

Obsahové analýze bylo podrobena celkem 6 učebnic biologie pro střední školy. Tyto učebnice jsou zpravidla volně dostupné ve všech univerzitních knihovnách.

### **1) JELÍNEK, J., ZICHÁČEK, V. (1998): Biologie pro gymnázia. Nakladatelství Olomouc. ISBN 80-7182-050-4**

Učebnice Biologie pro gymnázia je rozdělena do 2 částí: teoretické a praktické. Objemnější část představuje část praktická, která je systematicky rozdělená do několika základních okruhů, které svým obsahem odpovídají učebním osnovám čtyřletého gymnázia a vyšším ročníkům víceletých gymnázií. Kromě textu je tato část doplněna o pérové kresby a barevné obrazové přílohy. Praktická část je zpracována po kapitolách a zahrnuje definice důležitých pojmů, otázky, doplňovačky, dvou a čtyřvariantní testy, metodické návody k praktickým cvičením a správná řešení zadaných úkolů. Studentům tak umožňuje ověřit si své teoretické znalosti a učitelům usnadňuje realizaci již osvědčených praktických cvičení.

Díky svému ucelenému obsahu je tato učebnice vyhledávanou pomůckou nejen pro studenty gymnázia, ale také pro studenty jiných typů středních škol, kteří se připravují k přijímacím zkouškám na školy, na nichž je biologie jedním z hlavních vyučujících předmětů.

Co do obsahu témat, která jsou předmětem této diplomové práce, učebnice bohužel neobsahuje prakticky žádné informace, týkající se prenatalní diagnostiky, cystické fibrózy ani chorob s expanzí trinukleotidů. Pouze v části pojednávající o vývoji dítěte před narozením se krátce hovoří o těhotenství (od zárodečného období až po porod), nicméně o vyšetřeních v jeho průběhu zde není zmínka. Oproti tomu kapitola Úvod do studia obecné genetiky je velmi dobře rozepsaná, zahrnuje 26 stran čistého textu v teoretické části a sérii několika poměrně složitých testů v praktické části. V teoretické části jsou uvedeny důležité informace týkající se dědičnosti (molekulární základy dědičnosti, dědičnost mnohobuněčného organismu, dědičnost kvalitativních a kvantitativních znaků, dědičnost a pohlaví, mimojaderná dědičnost), genetického kódu, genů (exprese genu, transkripce a translace genu), genetiky prokaryotické a eukaryotické buňky, genetické proměnlivosti a genetiky populací (genofond populace, selekce, genetický posun, inbreeding). Poměrná

část textu je také věnována podrobnému popisu jednotlivých typů mutací (genové mutace, chromozomové mutace, geonomové mutace, spontánní mutace a indukované mutace). U jednotlivých typů mutací však nejsou uvedeny příklady onemocnění, které dané mutace způsobují. Některé choroby jsou sice zmíněny v samostatné kapitole Příklady genetických chorob člověka (galaktosemie, Klinefelterův syndrom, Turnerův syndrom a Downův syndrom), jejich popis je ale velmi stručný.

I přesto, že kniha nezmiňuje prenatální diagnostiku ani ostatní mnou zvolená témata, z hlediska přípravy na vysokou školu ji hodnotím velmi pozitivně. Studentům, kteří se chtějí genetice věnovat podrobněji, bych ještě doporučila dokoupení doplňujících studijních materiálů. Vynikající jsou například testové otázky z genetiky ke studiu na vysokých školách.

## **2) NOVOTNÝ, I., HRUŠKA, M. (1995): Biologie člověka pro gymnázia. Praha: Nakladatelství učebnic Fortuna. ISBN 80-7168-234-9**

Učebnice Biologie člověka byla vypracována dle platných učebních osnov pro čtyřletá gymnázia. Kniha je zaměřena zejména na anatomii a fyziologii člověka. Podrobně se věnuje popisu základních životních mechanismů, jako jsou mechanismy homeostatické, obranné imunitní a ochranné protistresové. Rozšířeny jsou navíc části textu, které se týkají nově se rozvíjejících moderních oborů – oboru imunologie, fyziologie a patofyziologie oběhové soustavy a neurologie. Dostatek místa je ponechán klasickým kapitolám jako jsou například jednotlivé soustavy lidského těla. Za zmínku také stojí kapitola s názvem Zdraví a zdravý způsob života.

Učebnice vychází z tradiční výuky předmětu biologie člověka na našich gymnáziích jak z hlediska obsahu, tak rozsahu. Náročností textu učebnice nepřesahuje míru dnes obvyklou v zahraničních učebnicích tohoto typu.

Z hlediska genetiky i témat diplomové práce je tato učebnice nevyhovující. V kapitole Rozmnožování se autoři zmiňují pouze o pohlavních chromozomech a redukčním dělení – meióze. Ze základních pojmů je zde velmi stručně popsán význam slov genotyp, fenotyp a variabilita. V kapitole Genetické choroby jsou popsány hemofilie a Downův syndrom. Vznik genetické choroby autoři zjednodušeně vysvětlují jako patologickou změnu genetické informace, která se předává z rodičů na děti a na niž mají vliv různé faktory

prostředí či chybné redukční dělení zárodečných buněk. Pojmy jako mutace, dědičnost apod. zde uvedeny nejsou. Co se týká prenatální diagnostiky, učebnice obsahuje kapitolu Žena v těhotenství, v níž je krátký odstavec o lékařském dohledu ženy v době těhotenství. Studentům, kteří plánují studovat genetiku a jí podobné obory, tuto učebnici jako studijní materiál nedoporučuji.

### **3) KOČÁREK, E. (2010): Biologie člověka 1. Praha: Nakladatelství Scientia. ISBN 978-80-86960-47-0**

Učebnice Biologie člověka 1 podává ucelený výklad středoškolského učiva biologie člověka z hlediska nejnovějších moderních poznatků. Navíc je doplněna rozšiřujícími texty, které jsou určeny především pro budoucí studenty medicíny, farmacie a biologie, popřípadě pro stávající studenty středních a vyšších zdravotnických škol. Učebnice dokumentuje pokroky léčebných postupů a vývoj medicínského a biologického poznání. Upozorňuje také na některé závažné etické a společenské problémy, jenž s probíraným učivem úzce souvisí. Autor se ve své učebnici snaží se svými čtenáři co nejvíce komunikovat (pasáže tištěné malými písmeny) a přimět je tak k zamyšlení a diskusi nad danými tématy. Biologie člověka 1 je vybavena bohatými barevnými obrázky a schémata.

Na Biologii člověka 1 přímo navazuje učebnice Biologie člověka 2, obsahující praktický přehled témat probíraných v Biologii člověka 1. Jako doplňující studijní materiály sám autor doporučuje učebnici Biologie buněk a Genetika od nakladatelství Scientia.

Těhotenství je v této učebnici věnována poměrně velká kapitola a to v části nazvané Reprodukce a ontogeneze. Z metod prenatální diagnostiky je zde zmíněno ultrazvukové vyšetření plodu. Ultrazvuk je tu popsán nejen jako neinvazivní nástroj ke sledování průběhu těhotenství, ale také jako důležitý prostředek určený ke zjištění případných vrozených vývojových vad. Autor také hovoří o nepříznivém působení teratogenních faktorů v období od 4.–8. týdne těhotenství, které mají z následků narození dětí s těžkými vývojovými vadami jako jsou poruchy nervové trubice, srdeční vady či nedokonalý vývin některých končetin. Kromě pravidelných návštěv gravidní ženy u gynekologa učebnice více informací o prenatální diagnostice neobsahuje. Genetice v knize není věnována žádná samostatná kapitola, pouze v části Stavba lidské buňky se v souvislosti s buněčným jádrem hovoří o jaderném genomu a chromozomech. Jak jsem však již poznamenala v předešlém

odstavci, autor žáky odkazuje na samostatně vydanou učebnici Genetika. O ostatních tématech diplomové práce zde hovořeno není.

**4) KOČÁREK, E. (2010): Biologie člověka 2. Praha: Nakladatelství Scientia. ISBN 978-80-86960-48-7**

Tato učebnice byla vydána jako praktický doplněk k učebnici Biologie člověka 1. Obsahuje shrnutí ke všem tematickým celkům probíraným v předešlé učebnici a je doplněna o články související s ochranou zdraví a první pomocí. Každá kapitola začíná souhrnem učiva a končí modelovými testovými otázkami, s jejichž pomocí si žáci mohou ověřit své znalosti z teoretické části. Správné odpovědi jsou uvedeny na konci učebnice. Obrázky a schémata jsou do učebního textu zařazeny v omezené míře a slouží většinou jen jako doprovod zdravotnických pasáží. Učebnice je vhodnou pomůckou k přípravě k přijímacím zkouškám na vysoké či vyšší odborné školy.

Oproti Biologii člověka 1 je Biologie člověka 2 rozšířena o informace týkající se těhotenství, plánovaného rodičovství a potratů. Autor zdůrazňuje význam správné životosprávy a upozorňuje na některá infekční onemocnění, která mohou v průběhu těhotenství negativně ovlivnit vývin plodu a vyvolat závažné vrozené vady. Několik odstavců je také věnováno asistované reprodukci. Oblasti genetiky zde není věnována žádná kapitola.

Co do obsahu ostatních témat diplomové práce je v této učebnici jako v jediné popsána cystická fibróza, která je tu nazývána chorobou slaného potu. Autor zde popisuje, jakým způsobem dochází ke vzniku onemocnění CF, léčebné postupy, kterými lze příznaky cystické fibrózy zmírnit a rovněž budoucnost léčby CF za pomoci genové terapie.

**5) CIBIS, N., DOBLER, H. J., LAUER, V., MEYER, R., SCHMALE, E., STRECKER, H. (1996): Člověk. Učebnice biologie člověka pro gymnázia a další střední školy. Přeložil: Linc Rudolf. Praha: Scientia spol. s.r.o., pedagogické nakladatelství. ISBN 80-7183-031-3**

V porovnání s předešlými učebnicemi se v tomto případě nejedná o klasické pojetí středoškolské učebnice. Informace, které jsou obsažené v textu i v barevných ilustracích a schématech nemají jen výukový cíl, ale mají u studentů vzbudit zájem klást si otázky



přírodovědného charakteru. Kniha nepředstavuje pouze celkový pohled na biologii člověka, ale zabývá se i širším spektrem otázek a problémů, které jsou s lidským životem spjaté. Jednotlivé kapitoly jsou vypracovány tak, aby na nich žák mohl pracovat samostatně, případně aby je mohl diskutovat se svým učitelem. Cílem této učebnice tedy není jen získání teoretických znalostí, ale zejména jejich využití v praxi.

Ačkoli byla učebnice vydána roku 1996 je v ní obsaženo mnohem více informací o těhotenství, prenatální diagnostice a obecné genetice než v některých stávajících učebnicích biologie pro střední školy. Svědčí o tom samostatná kapitola s názvem Dědičnost čítající 27 stránek. Kapitola je na svoji dobu pojata velmi moderně. Obsahuje nejen podrobný popis základních genetických pojmů, ale také velmi zajímavé články ze života obyčejných lidí, historické dopisy či návody na genetické experimenty (například křížení *Drosophila melanogaster*). Za zmínku také stojí obsah kapitol Genová chirurgie a Šlechtitelství. V podkapitole Změny v genetickém vybavení se pojednává o mutacích. Jsou zde uvedeny jednotlivé typy mutací a také syndromy, které způsobují. Zmíněny jsou Downův syndrom, Turnerův a Klinefelterův syndrom. V téže kapitole se nacházejí poznatky týkající se prenatální diagnostiky, konkrétně v podkapitole Je možné vrozené choroby rozpoznat včas? Popsána je zde amniocentéza a také sonografie/ultrazvuk. Těhotenství (popsané od nidace zárodku do děložní sliznice až po porod) pak představuje samostatnou kapitolu. Cystická fibróza a choroby s expanzemi trinukleotidů v této učebnici uvedeny nejsou.

**6) NEČÁSEK, J. (1993): Genetika. Praha: Nakladatelství Scientia, s.r.o. ISBN 80-85827-04-2**

Tuto knížku zde uvádím z důvodu, že se jedná o vhodný doplňující studijní materiál k předmětu biologie člověka. Pro studenty hlásící se k přijímacím zkouškám na vysoké či vyšší odborné školy s přírodovědným zaměřením je tato učebnice dobrou volbou.

Kniha je rozčleněna do 15 základních kapitol, které jsou doplněné několika perokresbami a schémata. V kapitole číslo 1 se čtenář nejprve seznámí s náplní předmětu genetiky. V kapitolách 2–6 nalezneme základní informace týkající se genů a dědičnosti. Kapitoly 7–11 pojednávají o genetice populací a evolučních procesech. Poznatky molekulární genetiky jsou obsaženy v kapitolách 8–10. V kapitolách 9–15 je přehled způsobů aplikace genetiky v průmyslové mikrobiologii, v zemědělství a v medicíně. Na

konci knížky jsou vypracovány otázky a úkoly k probíraným tématům, bohužel bez správných odpovědí. Obsah témat diplomové práce v této učebnici zmíněn není.

### **9.1.1 Vyhodnocení analýzy učebnic biologie pro střední školy**

Základními kritérii, která jsem zvolila pro vyhodnocení jednotlivých typů učebnic biologie pro střední školy jsou: počet stran věnovaných předmětu genetika; odbornost textu; množství obrázků, schémat a tabulek obsažených v učebnici; zadání otázek a úkolů a jejich správná řešení; obsah návodu k laboratorním cvičením a různých zajímavostí, které přímo souvisejí s danou kapitolou. Každé kritérium je ohodnoceno známkou v rozmezí 1 až 5, kde 1 znamená nejlepší, 3 průměr a 5 nejhorší. Výsledky jsem zaznamenala do Tabulky 2. Je zde uvedeno průměrné hodnocení dané učebnice a také její pořadí ve srovnání s ostatními učebnicemi.

Obsah témat této diplomové práce jako kritérium neuvádím, jelikož mým cílem je porovnání jednotlivých typů učebnic na základě učiva, které se na středních školách probírá. Do jaké míry jsou daná témata v učebnici zmíněna či nikoliv je uvedeno v části Obsahová analýza učebnic biologie pro střední školy.

## **9.2 Návrh modelové hodiny genetiky na středních školách**

Cílem této kapitoly je návrh modelové hodiny genetiky na středních školách. Středními školami v nichž jsem modelovou hodinu prezentovala bylo Gymnázium Boženy Němcové v Hradci Králové a Gymnázium a SOŠ Jilemnice. Výstup z této hodiny představoval krátký škálovací dotazník – posttest.

### **9.2.1 Příprava modelové hodiny genetiky**

Před vlastním návrhem modelové hodiny genetiky bylo za potřebí zvolit si vhodné didaktické prostředky a metody, které budou nezbytné pro dosažení předem stanovených výukových cílů.

Z organizačních forem výuky připadaly v úvahu klasická vyučovací hodina nebo odborný seminář. Vzhledem k faktu, že jsem měla vyučovat studenty vyšších ročníků, kteří

si zapsali předmět Seminář z biologie a mnozí z nich si zvolili Biologii jako volitelný předmět, rozhodla jsem se vést modelovou hodinu formou odborného semináře. Rovněž čas, který mi byl na daných školách na prezentaci vymezen spíše odpovídal časovému plánu semináře.

U metod výuky jsem se rozhodovala mezi přednáškou a výkladem. Zde byla opět rozhodujícím faktorem skupina studentů, které jsem měla vyučovat. Celkem jednoznačně jsem si za metodu výuky vybrala přednášku už jen kvůli faktu, že právě přednáška se často využívá ve vyšších ročnících středních škol v rámci volitelných předmětů. Přednášku jsem vypracovala jako prezentaci v programu Microsoft Office PowerPoint.

Volba tématu přednášky korespondovala s názvem mé diplomové práce, tedy Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů.

Při stanovení výukových cílů jsem vycházela z prekonceptu, tedy ze znalostí, dovedností i postojů žáků, které získali v předchozích vyučovacích hodinách. Potřebné informace mi poskytlí sami vyučující. Mou snahou bylo formulovat výukové cíle pro všechny oblasti zamýšleného ovlivňování žáků, to znamená cíle kognitivní, afektivní i psychomotorické. Abych dosáhla předem stanovených didaktických cílů, snažila jsem se držet základních didaktických zásad.

Výstupem z modelové hodiny mohl být test nebo dotazník. Vzhledem k časové náročnosti přednášky jsem nakonec zvolila jednoduchý škálovací dotazník. Příprava na modelovou hodinu genetiky je shrnuta v Tabulce 1.

*Tabulka 1: Příprava na hodinu*

<b>Třída</b>	Dle školy na níž bylo prezentováno
<b>Téma hodiny</b>	Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů
<b>Cíle hodiny</b>	<b>Kognitivní cíle:</b> Žáci popíší: Jednotlivé metody prenatální diagnostiky (neinvazivní i invazivní); metody molekulárně genetické diagnostiky CF; příznaky CF

Žáci definují: Pojmy – prenatalní, screening, transabdominální, premutace, atd.

Žáci charakterizují: Kombinovaný test a triple test; biochemický screening a ultrazvukový screening; příznaky CF; expanze trinukleotidů

Žáci vyjmenují: Neinvazivní a invazivní metody prenatalní diagnostiky; alespoň 2 choroby s expanzí trinukleotidů

Žáci vysvětlí: Význam genetického poradenství; v jakých případech se aplikují metody invazivní prenatalní diagnostiky; jakým způsobem se diagnostikuje CF; co znamená genomický imprinting a genetická anticipace

Žáci uvedou: Jaká vyšetření se provádí v I.–III. trimestru těhotenství; příklady biochemických markerů, jejichž hladiny se stanovují v kombinovaném testu a v triple testu; postup symptomatické léčby CF; jaké jsou vyhlídky nemocných s CF; alespoň 1 metodu diagnostiky chorob s expanzemi trinukleotidů

Žáci uvedou vztah mezi: Prenatalní diagnostikou a genetickým poradenstvím

Žáci rozdělí (zařadí): Jednotlivé druhy metod prenatalní diagnostiky k příslušným týdnům těhotenství

Žáci shrnou: Všechny metody prenatalní diagnostiky

Žáci uvedou klady a zápory: Jednotlivých invazivních metod prenatalní diagnostiky

**Afektivní cíle:**

Žáci si vybudují kladný vztah k lidem postiženým cystickou fibrózou (zmínka o Klubu nemocných cystickou fibrózou), případně jednou z chorob vyvolaných expanzí trinukleotidů

**Psychomotorické cíle:**

– nevymezeny

<b>Prekoncept</b>	<p>Informace o předchozích znalostech, dovednostech a postojích žáků získané od vyučujícího, který na mou prezentaci dohlížel</p> <p>Dotazy kladené žákům na začátku hodiny na zvolené téma přednášky</p>
<b>Pomůcky</b>	<p>Obrázky a video obsažené v prezentaci; ukázka knih Prenatální a perinatální laboratorní diagnostika od Novotného <i>et al.</i> (2011), Cystická fibróza od Vávrové <i>et al.</i> (2006) a Základy prenatální diagnostiky od Hájka <i>et al.</i> (2000)</p>
<b>Rozpis výukových aktivit</b>	<p><b>Úvod:</b> Zápis do třídní knihy (provede vyučující); přivítání se s žáky; představení; sdělení tématu a náplně hodiny (informovat žáky o samostatném zápisu poznámek a o rozdání dotazníku ke konci druhé hodiny); sdělení cílů hodiny; kladení dotazů na zvolené téma přednášky</p> <p>Vymezený čas ..... 5 min.</p> <p><b>Přednáška:</b></p> <p>Rozeslání výše uvedených knih</p> <p>Prenatální diagnostika ..... 15 min.</p> <p>Cystická fibróza ..... 15 min.</p> <p>Práce žáků na úlohách zadaných v prezentaci ..... 10 min.</p> <p>Uvedení správného řešení úloh ..... 5 min.</p> <p>Choroby s expanzemi trinukleotidů ..... 10 min.</p> <p>Video ČT na téma Cystická fibróza ..... 15 min.</p> <p>(video nebude z časových důvodů puštěno celé)</p>

	<p><b>Závěr hodiny:</b></p> <p>Prostor na kladení dotazů, diskuse ..... 10 min.</p> <p>Rozdání dotazníků a ponechání času na jejich vyplnění .... 5 min.</p> <p>Poděkování a rozloučení se se studenty</p>
<b>Poznámky</b>	Domluvení se s vyučujícím na hodnocení vypracovaných úloh
<b>Přílohy</b>	Vytištěná PPT prezentace; vytištěné dotazníky

### 9.2.2 Vyhodnocení modelové hodiny genetiky

Výstupem modelové hodiny genetiky bylo dotazníkové šetření. Dotazníkové šetření představoval krátký Dotazník k přednášce na téma Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů. V úvodu studenty seznamuji s důvodem dotazníkového šetření a zdůrazňuji, že jeho vyplnění je anonymní. Žáci mohou pouze uvést, zda se jedná o dívku či chlapce a jaký je jejich věk. Rovněž jsem žákům ještě před jeho rozdáním podala upřesňující informace k jednotlivým otázkám. Na vyplnění dotazníku měli žáci celkem 5 minut.

Dotazník obsahoval 5 následujících otázek:

**Otázka č. 1:** O genetiku se zajímám / baví mě.

**Otázka č. 2:** Přednáška pro mne byla přínosná, dozvěděl/a jsem se něco nového.

**Otázka č. 3:** Zadáání úloh bylo obtížné.

**Otázka č. 4:** Na přednášce se mi nejvíce líbilo:

**Otázka č. 5:** V obsahu přednášky mi nebylo jasné / nerozuměl/a jsem:

U prvních třech otázek měl student dle pětibodové hodnotící škály, kde 1 znamená naprosto souhlasím, 2 souhlasím, 3 těžko říci, 4 nesouhlasím a 5 naprosto nesouhlasím, zaškrtnout tu možnost, která se nejvíce blížila jeho názoru.

## **9.3 Modelová hodina genetiky**

### **9.3.1 Modelová hodina genetiky na Gymnáziu Boženy Němcové**

Navržená modelová hodina genetiky na téma Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů byla na Gymnáziu Boženy Němcové prezentována před vybranými žáky posledního ročníku šestiletého studia. Tito žáci si v kvintě zvolili Biologii jako volitelný předmět a v sextě si ještě navíc zapsali předmět Seminář z biologie, který je na této škole rovněž dobrovolný. Jednalo se tedy o žáky, kteří se o biologii vážně zajímají a většina z nich ji plánuje studovat i v rámci svého vysokoškolského studia.

Doba, která mi byla na prezentaci modelové hodiny vyučujícím vymezena byla 2 hodiny. Původní návrh zněl 1 hodina, nicméně vzhledem k časové náročnosti prezentace, k obsahu úkolů, obrázků a videí by takováto hodina nebyla proveditelná.

Modelová hodina byla vedena formou odborného semináře. Metodou výuky byla přednáška.

#### **Účastníci průzkumu:**

Žáci třídy sexta studující na šestiletém Gymnáziu Boženy Němcové v Hradci Králové

– jedná se o žáky, kteří si dobrovolně zapsali Biologii jako volitelný předmět v posledních 2 ročnících gymnázia. V sextě si navíc tito studenti připsali předmět Seminář z biologie, který je rovněž dobrovolný.

**Počet žáků účastnících se průzkumu:** 19 (z toho 14 dívek a 5 chlapců)

**Věk žáků účastnících se průzkumu:** 18–19 let

**Adresa školy:** Gymnázium Boženy Němcové

Pospíšilova třída 324/7

500 03 Hradec Králové 3

### **Způsob sběru dat:**

Sběr dat byl proveden na Gymnáziu Boženy Němcové v Hradci Králové, kdy byl žákům sexty 5 minut před koncem dvouhodinového semináře rozdán k vyplnění anonymní Dotazník k přednášce. Získala jsem tak celkem 19 dotazníků.

### **Vyhodnocení dat:**

Data získaná vyplněním celkem 19 dotazníků jsem zaznamenala do Tabulky 3.

### **Výuka biologie/genetiky na Gymnáziu Boženy Němcové v Hradci Králové**

Gymnázium Boženy Němcové v Hradci Králové je státní školou se dvěma typy studia – čtyřletým a šestiletým. Škola má celkem 507 studentů (17 tříd), které vyučuje 45 interních učitelů a 2 externí učitelé. Škola klade důraz na vlastní volbu studentů rozšířenou nabídkou volitelných předmětů. V předposledním ročníku si žáci vybírají 3 předměty (6 hodin) a v posledním ročníku mají celkem 4 předměty (11 hodin).

Vyučovací předmět biologie zahrnuje celý vzdělávací obor Biologie z RVP ZV a G a integruje některé výstupy ze vzdělávacího oboru Člověk a zdraví, Výchova ke zdraví, část oboru Geologie (mineralogie, petrografie, pedologie, historický vývoj Země a organismů). V předmětu biologie je integrováno průřezové téma Environmentální výchova z RVP GV.

Povinný předmět Biologie je v jednotlivých ročnících nižšího gymnázia vyučován s hodinovou dotací 2 – 2, na vyšším gymnáziu 3 – 2 – 3 – 0, a to v prvním ročníku čtyřletého a v tercii šestiletého studia jako 3 nedělené hodiny týdně, ve druhém ročníku čtyřletého studia a v kvartě šestiletého studia jako 2 nedělené hodiny týdně, ve třetím ročníku čtyřletého studia a v kvintě šestiletého studia jako 2 nedělené hodiny týdně. Ve třetím ročníku (kvintě) jsou 2 hodiny (jedenkrát za 14 dní) vyčleněny na laboratorní a praktická cvičení – třída je rozdělena na dvě skupiny, které se pravidelně střídají. Na nižším gymnáziu jsou laboratorní práce či praktická cvičení nepravidelná. Obsah výuky je strukturován tak, aby byl shodný v paralelních třídách čtyřletého i šestiletého studia. Pro výuku jsou k dispozici odborná učebna a laboratoř.

Na povinný předmět Biologie navazuje volitelný předmět Biologie volitelná, která je povinně dvouletá, s dotací hodin 0 – 0 - 2 – 3, a volitelný předmět Seminář z biologie (pro



4. ročník čtyřletého studia, sexty v šestiletém studiu) s dotací 3 hodiny týdně. V obou těchto předmětech mohou být zařazovány nepravidelné laboratorní práce a praktická cvičení.

Maturitní zkoušku mohou studenti skládat i bez absolvování volitelných předmětů Biologie volitelná nebo Seminář z biologie.

V rámci tematického plánu získaného od vyučujícího uvedu pouze tematické celky, které přímo souvisejí s předmětem Genetika.

### **Biologie základní, tedy povinná pro všechny studenty: 3. ročník čtyřletého studia/kvinta šestiletého studia**

Měsíc duben: Tematické celky – genetika (definice), gen, znak, genetický kód + praktická cvičení, uložení genetické informace, chromozomy, od genu ke znaku, Mendelovy zákony + praktická cvičení. Hodinová dotace 8 hodin.

Měsíc květen: Tematické celky – gonozomální dědičnost, variabilita organismů, mutace. Hodinová dotace 6 hodin.

Měsíc červen: Tematické celky – vrozené vývojové vady člověka, genetika populací + praktická cvičení. Hodinová dotace 6 hodin.

Podle hodinové dotace pro 3. ročník čtyřletého studia (kvintu šestiletého studia) jsou 2 nedělené hodiny biologie týdně ještě doplněné o pravidelné laboratorní práce a praktická cvičení, viz výše.

### **Biologie volitelná: 3. ročník čtyřletého studia/kvinta šestiletého studia**

Měsíc květen: Tematické celky – Mendelistická dědičnost (4 hodiny + praktická cvičení), gonozomální dědičnost (2 hodiny + praktická cvičení).

Měsíc červen: Tematické celky – variabilita organismů a mutace (4 hodiny), genetika populací (2 hodiny).

### **Biologie volitelná: 4. ročník čtyřletého studia/sexta šestiletého studia**

Měsíc září: Tematické celky – mitóza a meióza (probírané v rámci tematického celku Buňka)

Měsíc leden: Populační genetický výzkum – laboratorní práce (6 hodin)

Měsíc duben: V tomto měsíci jsou probírána maturitní témata volená dle potřeb studentů

Měsíc květen: Individuální konzultace maturitních témat

V rámci předmětu Biologie volitelná, která je povinně dvouletá, mohou být zařazeny nepravidelné laboratorní práce a praktická cvičení. Řazení tematických celků a jejich hodinové dotace nejsou pro vyučujícího závazné a mohou být upravovány podle konkrétní situace v průběhu výuky.

### **9.3.2 Modelová hodina genetiky na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice**

Na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice byla navržená modelová hodina genetiky prezentována před vybranými žáky 3.A a 3.B a žáky 4.A a 4.B čtyřletého studia v rámci dvouhodinového biologického semináře.

Žáci 3.A a 3.B mají předmět Biologie ještě povinný. Část žáků z obou tříd si navíc zapsala volitelný předmět Seminář biologie. Seminář navštěvují obě třídy společně. Vzhledem k faktu, že je tematický celek genetiky vyučován až ve čtvrtém ročníku čtyřletého studia, musela být navržená modelová hodina mírně upravena, zejména co se týkalo uvedených úloh obsažených v prezentaci. Původních 10 minut vymezených pro výpočet příkladů a dalších 5 minut určených k jejich vyřešení bylo vypuštěno. Zbýlý čas byl vyplněn videem a větším prostorem pro kladení dotazů.

Žáci 4.A a 4.B před nimiž byla modelová hodina prezentována byli žáci, kteří si ve 3. ročníku zapsali volitelný předmět Seminář biologie a ve 4. ročníku předmět Biologie. Žáci 4.A i 4.B opět absolvují hodiny biologického semináře společně. Navržená modelová hodina byla u těchto tříd vedena stejným způsobem jako u studentů Gymnázia Boženy Němcové.

Organizační formou výuky pro všechny třídy byl opět odborný seminář, metodou výuky přednáška.

**Účastníci průzkumu:**

Žáci tříd 3.A, 3.B a 4.A a 4.B studující na čtyřletém Gymnáziu a SOŠ Jilemnice. Žáci 3.A a 3.B mají Biologii ještě povinnou, žáci 4.A a 4.B si ji zapsali jako volitelný předmět. Všichni studenti si navíc zapsali předmět Seminář biologie.

**Počet žáků účastnících se průzkumu:**

**3.A a 3.B:** celkem 21 žáků (13 chlapců a 8 dívek)

**4.A a 4.B:** 23 žáků (8 chlapců a 15 dívek)

**Věk žáků účastnících se průzkumu:**

**3.A a 3.B:** 17–18 let

**4.A a 4.B:** 18–19 let

**Adresa školy:** Gymnázium a SOŠ Jilemnice

Tkalcovská 460

514 01 Jilemnice

**Způsob sběru dat:**

Sběr dat byl proveden na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice, kdy byl žákům tříd 3.A, 3.B a 4.A a 4.B pět minut před koncem druhé vyučovací hodiny rozdán k vyplnění anonymní Dotazník k přednášce. Získala jsem tak celkem 44 dotazníků.

**Vyhodnocení dat:**

Data získaná vyplněním celkem 44 dotazníků jsem zaznamenala do Tabulek 4 a 5.

## Výuka biologie na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice

Gymnázium a střední odborná škola Jilemnice je rozděleno na nižší a vyšší stupeň osmiletého gymnázia, čtyřleté gymnázium a gymnázium se sportovní přípravou. Střední odborná škola zahrnuje obory informační technologie a veřejnoprávní činnost. Gymnázium a SOŠ Jilemnice čítá celkem 340 studentů, rozdělených v 18 třídách, kdy 319 studentů jsou žáky gymnázia a 21 studentů střední odborné školy.

Vzhledem k tomu, že jsem vyučovala na čtyřletém gymnáziu, budu se věnovat popisu výuky biologie pouze u tohoto typu studia. Předmět Biologie zahrnuje kompletní vzdělávací obsah vzdělávacího oboru Biologie (RVP GV, vzdělávací oblast Člověk a příroda), tematický okruh Problematika vztahů organismů a prostředí, dílčí části tematického okruhu Člověk a životní prostředí a tematické okruhy Zdravý způsob života a péče o zdraví, Rizika ohrožující zdraví a Změny v životě člověka a jejich reflexe. Zdůrazněna jsou především témata obecně biologická, ekologická a fyziologická. Témata taxonomická jsou naopak redukována. Součástí předmětu Biologie jsou laboratorní cvičení bez samostatného hodnocení. Laboratorní práce probíhají v biologické laboratoři, v níž jsou žákům k dispozici monokulární a binokulární mikroskopy, stereoskopické lupy a CCD kamera s televizí. Hlavní metodou výuky je výklad s ukázkami přírodnin, videí, obrázků apod., doplněný tematickými diskusemi, referáty studentů, případně exkurzemi.

V prvním ročníku čtyřletého gymnázia je předmět Biologie vyučován s hodinovou dotací 2 hodiny týdně. Tematickými celky jsou obecná biologie, biologie rostlin a hub. Hodinová dotace Biologie ve druhém ročníku jsou rovněž 2 hodiny týdně. Tematickými celky jsou Protozoa, bezobratlí a biologie živočichů. Hodinová dotace Biologie pro třetí ročník jsou opět 2 hodiny týdně. Tematickým celkem je biologie člověka. V posledním ročníku čtyřletého gymnázia je předmět Biologie volitelný, hodinová dotace je tedy 0+2 hodin týdně. Tematickými okruhy jsou obecná biologie a genetika, vznik a vývoj živých soustav, ekologie a neživá příroda.

Hodiny biologie probíhají jednak v hlavních třídách jednotlivých ročníků a rovněž ve specializované posluchárně přírodních věd, vybavené videem, projektorem, interaktivní tabulí a počítačem s připojením k internetu.

Volitelný předmět Seminář biologie si žáci mohou zapsat ve 3. a 4. ročníku. Hodinové dotace pro oba ročníky jsou 0+2. Biologický seminář je zaměřen na prohloubení a rozšíření učiva. Je určen především žákům, kteří chtějí biologii dále studovat na vysoké škole. Ve 4.

ročníku je seminář orientován zejména na přípravu k přijímacím zkouškám na vysokou školu a na intenzivnější opakování k maturitě. Seminář biologie se vyučuje v učebně biologie a v biologické laboratoři. Tematickými celky Semináře biologie ve 3. ročníku jsou obecná biologie, biologie virů, biologie bakterií, biologie protist, biologie hub a biologie rostlin. Součástí semináře jsou také laboratorní cvičení a exkurze. Tematickými celky semináře ve 4. ročníku jsou biologie živočichů, biologie člověka, genetika a ekologie. Zapojena jsou opět laboratorní cvičení a exkurze. Učivem genetiky jsou genetické výzkumy – genealogie, genetické choroby člověka a genové inženýrství.

## 10 Výsledky

### 10.1 Analýza učebnic biologie pro střední školy

#### MATERIÁL:

Analyzováno bylo celkem 6 učebnic biologie pro střední školy:

**Učebnice č. 1:** JELÍNEK, J., ZICHÁČEK, V. (1998): Biologie pro gymnázia. Nakladatelství Olomouc. ISBN 80-7182-050-4

**Učebnice č. 2:** NOVOTNÝ, I., HRUŠKA, M. (1995): Biologie člověka pro gymnázia. Praha: Nakladatelství učebnic Fortuna. ISBN 80-7168-234-9

**Učebnice č. 3:** KOČÁREK, E. (2010): Biologie člověka 1. Praha: Nakladatelství Scientia. ISBN 978-80-86960-47-0

**Učebnice č. 4:** KOČÁREK, E. (2010): Biologie člověka 2. Praha: Nakladatelství Scientia. ISBN 978-80-86960-48-7

**Učebnice č. 5:** CIBIS, N., DOBLER, H. J., LAUER, V., MEYER, R., SCHMALE, E., STRECKER, H. (1996): Člověk. Učebnice biologie člověka pro gymnázia a další střední školy. Přeložil: Linc Rudolf. Praha: Scientia spol. s.r.o., pedagogické nakladatelství. ISBN 80-7183-031-3

**Učebnice č. 6:** NEČÁSEK, J. (1993): Genetika. Praha: Nakladatelství Scientia, s.r.o. ISBN 80-85827-04-2

Následující tabulka obsahuje hodnocení jmenovaných učebnic biologie pro středních školy. Každá z učebnic byla dle každého ze 7 zvolených kritérií ohodnocena známkou v rozmezí od 1–5, kde 1 znamená nejlepší a 5 nejhorší. Na konci tabulky je uvedena průměrná známka přiřazená dané učebnici a také její pořadí ve srovnání s ostatními učebnicemi.

*Tabulka 2: Hodnocení jednotlivých učebnic dle zvolených kritérií*

KRITÉRIUM	NÁZEV UČEBNICE					
	Učebnice č. 1	Učebnice č. 2	Učebnice č. 3	Učebnice č. 4	Učebnice č. 5	Učebnice č. 6
Počet stran věnovaných genetice	1	5	4	4	1	1
Odbornost	1	2	1	1	1	1
Obrázky a tabulky	1	3	1	4	1	4
Otázky a úkoly	1	3	3	1	3	1
Řešení otázek a úkolů	1	5	5	1	5	5
Návody k laboratorním pracím	1	5	5	5	4	5
Zajímavosti	3	5	1	4	2	3
<b>PRŮMĚRNÉ HODNOCENÍ</b>	1,285	4	2,857	2,857	2,428	2,857
<b>POŘADÍ UČEBNICE</b>	1.	4.	3.	3.	2.	3.

Dle předem zvolených kritérií byla jako nejlepší vyhodnocena Učebnice č. 1, tedy učebnice Biologie pro gymnázia od autorů Jelínka, J. a Zicháčka, V. Tato učebnice splňuje téměř všechna kritéria, vyjma kritéria Zajímavosti. Druhou nejlépe hodnocenou učebnicí je Učebnice č. 5 od autorů Cibis *et al.*, jejímiž nedostatky jsou především absence řešení k otázkám a úkolům uvedeným v textu a nedostatek návodů k laboratorním pracím. Učebnice č. 3, 4 a 6 dosáhly stejného průměru hodnocení 2,857. Žádná z těchto učebnic neobsahuje návody k laboratorním pracím a kromě Učebnice č. 4 ani správná řešení k zadaným otázkám a úkolům. Počet stran věnovaných předmětu genetika je u Učebnic č.

3 a 4 velmi nízký. Učebnice č. 6 je přímo věnovaná genetice, proto ji s ostatními učebnicemi nelze v tomto ohledu srovnávat. Nejhuře byla ohodnocena Učebnice č. 2 od autorů Novotného, I. a Hrušky, M. s průměrem 4. Tato učebnice neobsahuje správná řešení k otázkám a úkolům, žádné návody k laboratorním cvičením ani žádné zajímavosti. Počet stran věnovaných genetice je nedostatečný.

## **10.2 Modelová hodina na Gymnáziu Boženy Němcové**

Všechny výsledky úloh obsažených v prezentaci i výsledky dotazníkového šetření byly zaokrouhlovány na jedno desetinné místo.

### **10.2.1 Vyhodnocení úloh obsažených v prezentaci**

Po domluvě s vyučujícím jsme se rozhodli udělit každému žákovi, který oba příklady v požadovaném limitu 10 min. správně vypočítá, známku 1 za každou z úloh. Ti, kteří příklad nevypočítají hodnoceni nebudou.

**Zadání úlohy č. 1:** Dle kombinačního čtverce určete jaký bude výsledek křížení 2 heterozygotních rodičů (zdravých rodičů, nositelů mutace v genu pro CF).

Správně na tuto úlohu odpovědělo 15 z 19 žáků, tedy 78,9 % žáků.

**Zadání úlohy č. 2:** Odvod'te četnost zdravých nositelů mutovaného genu CF v obecné populaci dle Hardyho-Weinbergova zákona, víte-li, že výskyt CF v ČR byl stanoven na 1 : 2736 novorozenců.

Správně na tuto úlohu odpovědělo 11 z 19 žáků, tedy 57,9 % žáků.

### **10.2.2 Výsledky dotazníkového šetření**

#### **MATERIÁL:**

Následující tabulka shrnuje vyhodnocení 19 dotazníků, které byly vyplněny žáky šestiletého gymnázia. Pro přehled uvádím celá znění všech 5 otázek:

**Otázka č. 1:** O genetiku se zajímám / baví mě.

**Otázka č. 2:** Přednáška pro mne byla přínosná, dozvěděl/a jsem se něco nového.

**Otázka č. 3:** Zadání úloh bylo obtížné.

**Otázka č. 4:** Na přednášce se mi nejvíce líbilo:

**Otázka č. 5:** V obsahu přednášky mi nebylo jasné / nerozuměl/a jsem:

*Tabulka 3: Vyhodnocení dotazníkového šetření*

	Otázka č. 1	Otázka č. 2	Otázka č. 3	Otázka č. 4	Otázka č. 5
<b>Naprosto souhlasím</b>	6	3	0	–	–
<b>Souhlasím</b>	8	12	4	–	–
<b>Těžko říci</b>	2	4	2	–	–
<b>Nesouhlasím</b>	3	0	9	–	–
<b>Naprosto nesouhlasím</b>	0	0	4	–	–

**Otázka č. 1:** Na otázku číslo jedna, zda se žáci o genetiku zajímají / baví je odpovědělo 6 studentů naprosto souhlasím, 8 studentů souhlasím, 2 těžko říci, 3 nesouhlasím a žádný naprosto nesouhlasím. Celkem tedy 31,6 % naprosto souhlasím, 42,1 % souhlasím, 10,5 % těžko říci a 15,8 % nesouhlasím.

**Otázka č. 2:** Na otázku číslo dva, zda pro žáky byla přednáška přínosná a dozvěděli se něco nového odpověděli 3 žáci naprosto souhlasím, 12 žáků souhlasím a 4 žáci těžko říci. Žádný z žáků nesouhlasil ani naprosto nesouhlasil. Celkem tedy 15,8 % naprosto souhlasím, 63,2 % souhlasím a 21,1 % těžko říci.

**Otázka č. 3:** Obtížnost úloh obsažených v prezentaci vyhodnotilo 0 žáků naprosto souhlasím, 4 žáci souhlasím, 2 žáci těžko říci, 9 žáků nesouhlasím a 4 žáci naprosto nesouhlasím. Celkem tedy 21,1 % souhlasím, 10,5 % těžko říci, 47,4 % nesouhlasím a 21,1 % naprosto nesouhlasím.

**Otázka č. 4:** U otázky, co se žákům na přednášce nejvíce líbilo, většina žáků kladně zhodnotila přítomnost obrázků a videa v prezentaci. Zvolené téma dle uvedených odpovědí žáky zaujalo a přineslo jim mnoho nových informací.



**Otázka č. 5:** U otázky číslo pět jako negativní hodnotili někteří žáci odbornost textu. Zdál se jim být příliš obtížný a mnoha pojmům a termínům nerozuměli, zejména těm, obsaženým v tématu chorob s expanzemi trinukleotidů. Bylo zde i několik připomínek týkajících se mého přednesu. Někteří z žáků uvedli, že by přednášející měla více dodržovat oční kontakt se studenty a více hovořit dle svých vlastních slov nikoliv dle textu z prezentace.

## **10.3 Modelová hodina na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice, třída 3.A a 3.B**

### **10.3.1 Vyhodnocení úloh obsažených v prezentaci**

Vzhledem k tomu, že se jednalo o studenty, kteří ještě genetiku neměli a dle vyučující s nimi některá témata byla probírána pouze okrajově v rámci jiné studijní látky, nebylo možné zadané úlohy hodnotit. Dle přání vyučující nebyla provedena ani ukázka výpočtu v prezentaci / na tabuli.

### **10.3.2 Výsledky dotazníkového šetření**

#### MATERIÁL:

Následující tabulka shrnuje vyhodnocení celkem 21 dotazníků, které byly vyplněny žáky 3.A a 3.B jilemnického gymnázia. Znění všech 5 otázek:

**Otázka č. 1:** O genetiku se zajímám / baví mě.

**Otázka č. 2:** Přednáška pro mne byla přínosná, dozvěděl/a jsem se něco nového.

**Otázka č. 3:** Zadaní úloh bylo obtížné.

**Otázka č. 4:** Na přednášce se mi nejvíce líbilo:

**Otázka č. 5:** V obsahu přednášky mi nebylo jasné / nerozuměl/a jsem:

*Tabulka 4: Vyhodnocení dotazníkového šetření*

	Otázka č. 1	Otázka č. 2	Otázka č. 3	Otázka č. 4	Otázka č. 5
<b>Naprosto souhlasím</b>	2	7	–	–	–
<b>Souhlasím</b>	3	12	–	–	–
<b>Těžko říci</b>	11	0	–	–	–
<b>Nesouhlasím</b>	3	2	–	–	–
<b>Naprosto nesouhlasím</b>	2	0	–	–	–

**Otázka č. 1:** Na otázku číslo jedna, zda se žáci o genetiku zajímají / baví je odpověděli 2 studenti naprosto souhlasím, 3 studenti souhlasím, 11 těžko říci, 3 nesouhlasím a 2 naprosto nesouhlasím. Celkem tedy 9,5 % naprosto souhlasím, 14,3 % souhlasím, 52,4 % těžko říci, 14,3 % nesouhlasím a 9,5 % naprosto nesouhlasím.

**Otázka č. 2:** Na otázku číslo dva, zda pro žáky byla přednáška přínosná a dozvěděli se něco nového odpovědělo 7 žáků naprosto souhlasím, 12 žáků souhlasím, 0 žáků těžko říci, 2 nesouhlasím a žádný z žáků naprosto nesouhlasím. Celkem tedy 33,3 % naprosto souhlasím, 57,1 % souhlasím a 9,5 % nesouhlasím.

**Otázka č. 3:** Obtížnost úloh obsažených v prezentaci nebyla z výše uvedených důvodů hodnocena

**Otázka č. 4:** Z uvedených odpovědí se studentům na přednášce nejvíce líbilo video pouštěné k tématu cystická fibróza. Většina z žáků rovněž uvedla, že se jim zamlouvalo celkové zpracování prezentace a to včetně obrázků. S formou přednesu a s přístupem přenášející byli studenti spokojeni. Přestože předmět genetiky ještě se svou vyučující neprobírali, nová látka pro ně byla srozumitelná a dle vysvětlení přednášejícího pochopitelná. Za přínosné studenti považovali získání mnoha nových informací a vysvětlení pojmů, se kterými se doposud ještě nesetkali. Pouze 2 odpovědi zněly konkrétně a to zjištění informace, že se vrozené vývojové vady dají určit prenatálně a dá se tak předcházet narození dítěte s VVV.

**Otázka č. 5:** K otázce číslo pět, co žákům nebylo v obsahu přednášky jasné se pouze několik z nich vyjádřilo, že nerozumělo několika odborným výrazům. Většina studentů však odpověděla, že i když pro ně byly některé pojmy nové, byly jim následně přednášející

srozumitelně vysvětleny. Za obtížné považovali rovněž téma chorob s expanzí trinukleotidů.

## **10.4 Modelová hodina na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice, třída 4.A a 4.B**

### **10.4.1 Vyhodnocení úloh obsažených v prezentaci**

S vyučujícím bylo dohodnuto, že ohodnocení známkou 1 budou pouze ti žáci, kteří správně vypočítají obě zadané úlohy. Ostatním nebude udělena žádná známka.

**Zadání úlohy č. 1:** Dle kombinačního čtverce určete jaký bude výsledek křížení 2 heterozygotních rodičů (zdravých rodičů, nositelů mutace v genu pro CF).

Správně na tuto úlohu odpovědělo 14 z 23 žáků, tedy 60,9 % žáků.

**Zadání úlohy č. 2:** Odvoďte četnost zdravých nositelů mutovaného genu CF v obecné populaci dle Hardyho-Weinbergova zákona, víte-li, že výskyt CF v ČR byl stanoven na 1 : 2736 novorozenců.

Správně na tuto úlohu odpovědělo 10 z 23 žáků, tedy 43,5 % žáků.

### **10.4.2 Výsledky dotazníkového šetření**

#### MATERIÁL:

Následující tabulka shrnuje vyhodnocení 23 dotazníků, které byly vyplněny žáky 4.A a 4.B jilemnického gymnázia. Celá znění všech 5 otázek:

**Otázka č. 1:** O genetiku se zajímám / baví mě.

**Otázka č. 2:** Přednáška pro mne byla přínosná, dozvěděl/a jsem se něco nového.

**Otázka č. 3:** Zadání úloh bylo obtížné.

**Otázka č. 4:** Na přednášce se mi nejvíce líbilo:

**Otázka č. 5:** V obsahu přednášky mi nebylo jasné / nerozuměl/a jsem:

Tabulka 5: Vyhodnocení dotazníkového šetření

	Otázka č. 1	Otázka č. 2	Otázka č. 3	Otázka č. 4	Otázka č. 5
<b>Naprosto souhlasím</b>	4	5	3	–	–
<b>Souhlasím</b>	7	13	8	–	–
<b>Těžko říci</b>	5	2	0	–	–
<b>Nesouhlasím</b>	4	2	8	–	–
<b>Naprosto nesouhlasím</b>	3	1	4	–	–

**Otázka č. 1:** Na otázku číslo jedna, zda se žáci o genetiku zajímají / baví je odpověděli 4 studenti naprosto souhlasím, 7 studentů souhlasím, 5 těžko říci, 4 nesouhlasím a 3 naprosto nesouhlasím. Celkem tedy 17,4 % naprosto souhlasím, 30,4 % souhlasím, 21,7 % těžko říci, 17,4 % nesouhlasím a 13 % naprosto nesouhlasím.

**Otázka č. 2:** Na otázku číslo dva, zda pro žáky byla přednáška přínosná a dozvěděli se něco nového odpovědělo 5 žáků naprosto souhlasím, 13 žáků souhlasím, 2 žáci těžko říci, 2 nesouhlasím a 1 naprosto nesouhlasím. Celkem tedy 21,7 % naprosto souhlasím, 56,5 % souhlasím, 8,7 % těžko říci, 8,7 % nesouhlasím a 4,3 % naprosto nesouhlasím.

**Otázka č. 3:** Obtížnost úloh obsažených v prezentaci vyhodnotili 3 žáci naprosto souhlasím, 8 žáků souhlasím, žádný těžko říci, 8 žáků nesouhlasím a 4 žáci naprosto nesouhlasím. Celkem tedy 13 % naprosto souhlasím, 34,8 % souhlasím, 34,8 % nesouhlasím a 17,4 % naprosto nesouhlasím.

**Otázka č. 4:** Na otázku, co se žákům na přednášce nejvíce líbilo, studenti nejčastěji odpovídali: video, obrázky a prezentace jako taková. Poznatky získané z přednášky studenti ohodnotili jako přínosné. Získali mnoho nových informací a osvojili si řadu nových pojmů.

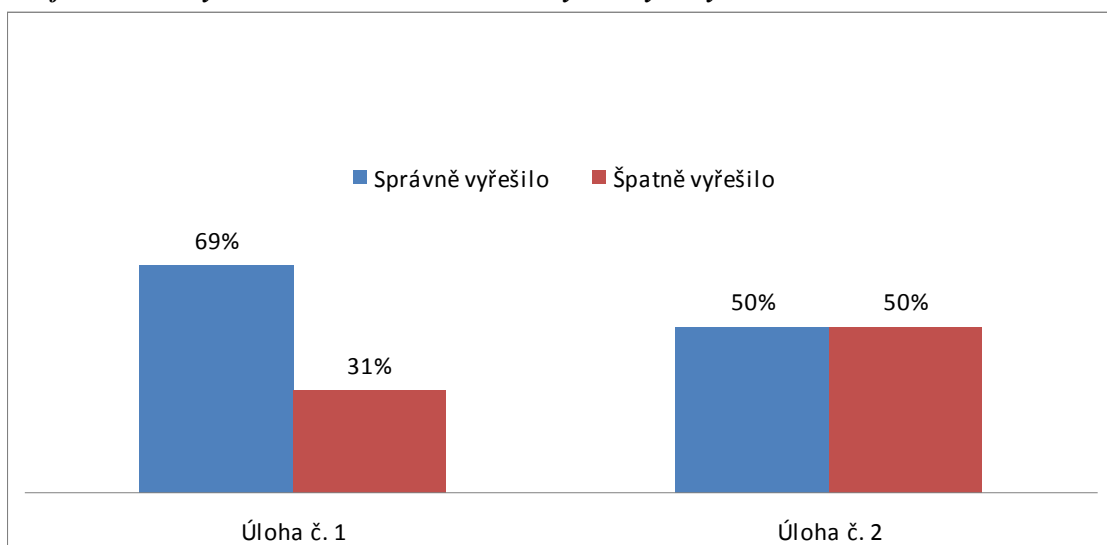
**Otázka č. 5:** K otázce číslo pět, co žákům nebylo v obsahu přednášky jasné, případně čemu nerozuměli bylo stejně jako u předešlých tříd téma chorob s expanzemi trinukleotidů. Téma již pro studenty bylo příliš odborné a obsahovalo příliš mnoho neznámých výrazů, metody detekce expandovaných alel nevyjímaje. S názvy chorob vyvolaných expanzemi trinukleotidů se studenti doposud nesetkali.

**Celkové vyhodnocení úloh obsažených v prezentaci:**

**Úloha č. 1** – Celkem správně vyřešilo 69 % žáků z celkového počtu 42 žáků tříd sexty a 4.A a 4.B, viz Graf 1.

**Úloha č. 2** – Celkem správně vyřešilo 50 % žáků z celkového počtu 42 žáků tříd sexty a 4.A a 4.B, viz Graf 1.

*Graf 1: Celkové vyhodnocení úloh č. 1 a č. 2 řešených žáky sexty a 4.A a 4.B*



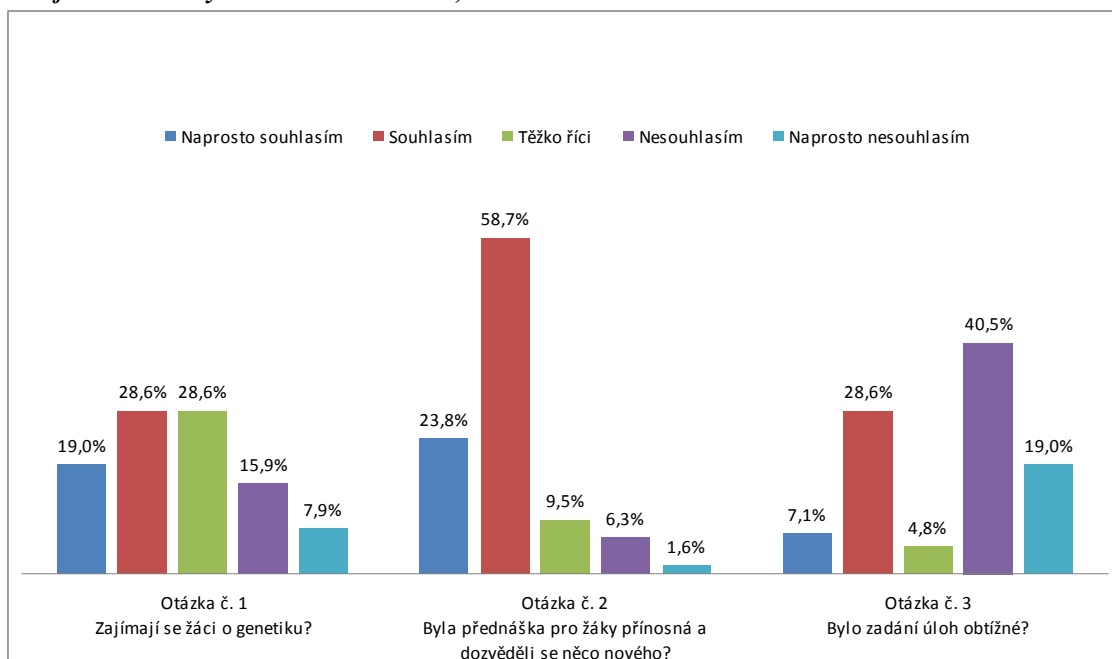
### Celkové vyhodnocení otázek č. 1, 2 a 3 obsažených v dotazníku:

**Otázka č. 1:** Na otázku č. 1, zda se žáci o genetiku zajímají, odpovědělo 19 % naprosto souhlasím, 28,6 % souhlasím, 28,6 % těžko říci, 15,9 % nesouhlasím a 7,9 % naprosto nesouhlasím z celkového počtu 63 žáků tříd sexta, 3.A a 3.B a 4.A a 4.B, viz Graf 2.

**Otázka č. 2:** Na otázku, zda byla přednáška pro žáky přínosná a dozvěděli se něco nového, odpovědělo 23,8 % naprosto souhlasím, 58,7 % souhlasím, 9,5 % těžko říci, 6,3 % nesouhlasím a 1,6 % naprosto nesouhlasím z celkového počtu 63 žáků tříd sexta, 3.A a 3.B a 4.A a 4.B, viz Graf 2.

**Otázka č. 3:** Na otázku, zda bylo zadání úloh obtížné, odpovědělo 7,1 % naprosto souhlasím, 28,6 % souhlasím, 4,8 % těžko říci, 40,5 % nesouhlasím a 19 % naprosto nesouhlasím z celkového počtu 42 žáků tříd sexta a 4.A a 4. B, viz Graf 2.

**Graf 2: Celkové vyhodnocení otázek č. 1, 2 a 3**



## 11 Diskuse

Předmětem praktické části diplomové práce byly obsahová analýza učebnic biologie pro střední školy a návrh a následná prezentace modelové hodiny genetiky na středních školách.

Obsahové analýze jsem podrobila celkem 6 učebnic volně dostupných v univerzitních knihovnách. Jednotlivé učebnice jsem porovnávala mezi sebou navzájem a to co do obsahu témat diplomové práce a také co do obsahu předmětu genetiky jako takové. U každé z učebnic se dále zabývám jejím členěním, obsahem kapitol, obsahem obrazových materiálů a schémat, zjišťuji pro jaké typy škol je učebnice určena atd. Z obsahové analýzy vyplývá, že nejlépe hodnocenými učebnicemi co se týká obsahu předmětu genetiky, jsou Učebnice č. 1 Biologie pro gymnázia od autorů Jelínka, J. a Zicháčka, V., Učebnice č. 5 Člověk. Učebnice biologie člověka pro gymnázia a další střední školy od Cibise, N. a kolektiv a Učebnice č. 6 Genetika od Nečasů, J. Poslední jmenovanou učebnici, která je přímo věnovaná genetice, jsem však v práci uvedla pouze jako doplněk k přípravě studentů na přijímací zkoušky na vysokou či vyšší odbornou školu s přírodovědným zaměřením, proto jí nelze s ostatními učebnicemi v tomto ohledu srovnávat. V učebnici autorů Jelínka, J. a Zicháčka, V. je genetice věnována samostatná kapitola Úvod do studia obecné genetiky, která čítá 26 stran textu a dále sérii několika poměrně složitých testových otázek. Témata diplomové práce tato učebnice nezahrnuje, nicméně k výuce pro střední školy ji hodnotím jako nejlepší z uvedených učebnic. Na gymnáziích, na nichž byla prezentována modelová hodina genetiky je rovněž tato učebnice využívána jako studijní materiál. Učebnice od Cibise, N. a kolektivu je o 2 roky staršího vydání než učebnice předešlá, nicméně obsahem předmětu genetiky je také vyhovující. Je zde samostatná kapitola nazvaná Dědičnost a obsahuje 27 stran textu. Velmi zajímavá je i kapitola Genová chirurgie. Ani na jednom z gymnázií jsem se s touto učebnicí nesešla, nicméně si myslím, že její využití by jistě mělo své opodstatnění. Učebnice je pojata velmi moderně a zároveň také netradičně, kdy se autoři snaží se svými čtenáři více komunikovat a více než na teorii kladou důraz na využití získaných znalostí v praxi. Z témat diplomové práce je zde zmíněna prenatální diagnostika a s ní související sonografie a dále amniocentéza. Ostatní učebnice již hodnotím z hlediska obsahu předmětu genetiky i témat diplomové práce negativně. Žádná z učebnic neobsahuje samostatnou kapitolu, věnující se genetice, pouze v některých kapitolách jsou uvedeny některé základní pojmy, jako chromozomy,

meióza apod. Překvapením pro mě byla Učebnice č. 4 Biologie člověka 2 od Kočárka, E., v níž byla jako v jediné zmíněna cystická fibróza. Bohužel předmětu genetika zde opět není věnována jediná kapitola.

Jednotlivé učebnice biologie pro střední školy jsem ohodnotila známkami 1–5, kde 1 je nejlepší a 5 nejhorší, na základě následujících kritérií: počet stran věnovaných předmětu genetika; odbornost textu; množství obrázků, schémat a tabulek obsažených v učebnici; zadání otázek a úkolů a jejich správná řešení; obsah návodů k laboratorním cvičením a obsah zajímavostí. Obsahu genetiky v jednotlivých učebnicích jsem se již věnovala v předchozím odstavci. Odbornost jednotlivých učebnic jsem u všech učebnic kromě Učebnice č. 2 Biologie člověka pro gymnázia od autorů Novotného, I. a Hrušky, M., ohodnotila známkou 1. Co do obsahu obrázků a tabulek vyšly nejhůře Učebnice č. 4 a č. 6. U těchto učebnic se to však dalo předpokládat, jelikož obě učebnice jsou učebnicemi doplňkovými. Otázky a úkoly jsou zařazené do všech 6 učebnic, nicméně pouze v Učebnicích č. 1 a 4 jsou k nim uvedeny i příslušné odpovědi. Návody k praktickým cvičením obsahuje pouze Učebnice č. 1. Kritérium zajímavosti nejlépe splnila Učebnice č. 3, Biologie člověka 1 od Kočárka, E. Na základě průměrného hodnocení byla nejlépe vyhodnocena Učebnice č. 1 od autorů Jelínka, J. a Zicháčka, V. Sama tuto učebnici využívám a jsem s ní velmi spokojena. Nejhůře byla ohodnocena Učebnice č. 2 od autorů Novotného, I. a Hrušky, M.

Navržená modelová hodina genetiky byla prezentována před žáky třídy sexta Gymnázia Boženy Němcové v Hradci Králové a před žáky tříd 3.A, 3.B a 4.A a 4.B Gymnázia a SOŠ Jilemnice. K dosažení předem stanovených výukových cílů bylo zapotřebí zvolit si vhodné didaktické prostředky a metody. Při jejich výběru jsem vycházela zejména ze skupiny studentů, před nimiž měla být modelová hodina prezentována. Vzhledem k tomu, že se jednalo o žáky vyšších ročníků středních škol, zvolila jsem jako organizační formu výuky odborný seminář. Rovněž čas, který mi byl na daných školách na prezentaci vymezen, odpovídal časovému plánu semináře. Z vybraných metod výuky jsem se celkem jednoznačně rozhodla pro přednášku. Předpokládala jsem, že pro žáky ve věku 17–19 let nebude obsah přednášky tolik náročný na pozornost a také, že tito žáci budou schopni vést si samostatně poznámky. Jak jsem později zjistila, s vedením poznámek měli někteří žáci obtíže. Na druhou stranu, přednáška nebyla vyučujícími nijak hodnocena, takže to pravděpodobně většina žáků nepokládala za důležité. Téma přednášky



odpovídalo tématu diplomové práce, tedy Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzí trinukleotidů. Presentaci jsem vypracovala v programu Microsoft Office PowerPoint. Mým cílem bylo vytvořit danou prezentaci tak, aby byla pro žáky pokud možno co nejvíce srozumitelná a neobsahovala příliš mnoho obtížných výrazů. Téma expanzí trinukleotidů je však samo o sobě dosti obtížné, snažila jsem se jej tedy zkrátit na minimum. Výstupem modelové hodiny byl anonymní posttest, skládající se z 5 otázek. Na první 3 otázky žáci odpovídali dle uvedené hodnotící škály, poslední 2 otázky jsem nechala otevřené.

Jako první jsem navrženou modelovou hodinu genetiky prezentovala na Gymnáziu Boženy Němcové v Hradci Králové před žáky třídy sexta. Tito žáci si Biologii zvolili jako volitelný předmět a navíc si ještě zapsali předmět Seminář z biologie. Dle informací od vyučujícího již genetiku probírali a měli by tak některé pojmy obsažené v prezentaci znát. Hodina probíhala formou dvouhodinového odborného semináře. Dle dohody s vyučujícím jsem prezentaci odpřednášela bez přestávky. Časový plán, který jsem měla vymezený na jednotlivé části prezentace, byl bohužel narušen již na počátku hodiny, kdy jsme se zdrželi s přihlášením do počítače a také se zápisem do elektronické třídní knihy. Rovněž čas, který měli žáci na vyřešení úloh, byl mírně překročen. Následkem toho jsem se rozhodla pro zkrácení doby videa. Výsledky řešených úloh mi byly vyučujícím sděleny až po konci přednášky. Na úlohu č. 1 správně odpovědělo 78,9 % žáků a na úlohu č. 2 57,9 % žáků. Takovýto výsledek jsem očekávala, jelikož úloha č. 1 se týkala mendelistické dědičnosti, která představuje jeden ze základů výuky genetiky na středních školách. Úloha č. 2 byla poněkud obtížnější, nicméně žáci třídy sexta již měli princip Hardyho-Weinbergova zákona znát. Jak jsem později zjistila, mnozí z nich si nevybavili ani základní vzorec pro výpočet. S tím úzce souvisí i odpověď žáků na otázku č. 3 z dotazníku k přednášce, v níž se žáků ptám, zda bylo zadání úloh obtížné. Největší procento žáků – 47,4 % na tuto otázku odpovědělo nesouhlasím a 21,1 % naprosto nesouhlasím. Většina žáků tedy úlohy za obtížné nepovažovala. Z dotazníkového šetření dále vyplynulo, že 73,7 % žáků z celé třídy se o genetiku zajímá a baví je. Odpovědi na otázku č. 2, zda byla přednáška pro studenty přínosná, byly velice pozitivní. Naprostá většina žáků souhlasila, pouze 21,1 % žáků odpovědělo těžko říci. Na prezentaci žáky nejvíce zaujala přítomnost obrázků a videa. Rovněž téma přednášky většina shledala za přínosné. Negativně hodnotili někteří žáci obtížnost textu, zejména pak obtížnost tématu chorob s expanzí trinukleotidů, s nímž se většina žáků dle mého zjištění na počátku hodiny nikdy nesešla. Několik studentů mělo

připomínky k mému přednesu. Stěžovali si nedostatečný oční kontakt a přílišné čtení textu přímo z prezentace. V tomto ohledu s žáky plně souhlasím. Vinu přikládám nervozitě, jelikož se jednalo o první prezentaci navržené modelové hodiny. Negativně hodnotím přístup žáků ke kladení dotazů k přednášce, kterých bylo velice málo. S největší pravděpodobností žáci nevěděli na co se ptát, jelikož si většina z nich nedělala žádné poznámky.

V pořadí druhá modelová hodina genetiky byla prezentována na Gymnáziu a SOŠ Jilemnice před žáky tříd 4.A a 4.B. Opět šlo o žáky, kteří si Biologii zvolili jako volitelný předmět a dále si zapsali předmět Seminář biologie. Na přednášku mi byly vyučující vymezeny 2 hodiny. Přednáška byla vedena stejným způsobem jako na Gymnáziu Boženy Němcové. Časově však byla tato prezentace zvládnuta mnohem lépe, jelikož vyučující již byla na svém počítači přihlášená a zápis do třídní knihy také netrval dlouho. Video jsem tedy žákům mohla spustit dle časového plánu. Výsledky řešených úloh jsem se od vyučující opět dozvěděla až po skončení semináře. Úlohu č. 1 správně vyřešilo 60,9 % žáků a úlohu č. 2 43,5 % žáků. Vzhledem k faktu, že tito žáci již genetiku se svou vyučující měli, očekávala jsem úspěšnost vyřešení úloh o něco vyšší. Dle odpovědí z dotazníku, zda bylo zadání úloh obtížné, odpovědělo 47,8 % souhlasím a 52,2 % nesouhlasím. Odpovědi jsou tedy dosti vyrovnané a přibližně odpovídají i výsledkům vypočtených úloh. O genetiku se v této smíšené třídě zajímá téměř polovina dotazovaných studentů, dost velké procento žáků – 21,7 % bylo v tomto ohledu nerozhodných. Jako přínosnou hodinu shledalo 78,2 % žáků. 13 % žáků hodinu za přínosnou nepovažovalo. Vzhledem k tomu, že se žáci 4.A a 4.B dle odpovědí na otázku č. 1 o genetiku tolik nezajímají, považuji tento výsledek ještě za dobrý. Stejně jako ve třídě sexta Gymnázia Boženy Němcové se žákům na přednášce nejvíce líbilo video. Kladně také ohodnotili přítomnost obrázků a prezentaci jako takovou. Ve srovnání se sextou hradeckého gymnázia byli celkově tito žáci z přednášky více nadšení. Domnívám se, že jelikož se jedná o menší město, žáci zde nejsou na praktikanty tolik zvyklí a rádi uvítají nějakou změnu. Oproti tomu Hradec Králové je univerzitní město a praxi na Gymnáziu Boženy Němcové vykonává nespočet studentů. Prezentace tedy není pro tyto žáky ničím novým, dokonce se odvažují tvrdit, že jsou tím již mírně otráveni. Za obtížné žáci opět považovali choroby s expanzemi trinukleotidů. Některé výrazy již byly příliš odborné a ani po jejich vysvětlení téma žákům nebylo jasné. Prenatální diagnostika pak zaujala více dívky než chlapce.

Během diskuse mi položily některé z dívek několik dotazů, týkajících se právě tohoto tématu, zejména pak invazivních metod prenatální diagnostiky.

Poslední, v pořadí tedy třetí modelovou hodinu genetiky jsem prezentovala opět na jilemnickém gymnáziu, tentokrát před žáky 3.A a 3.B. Tito žáci měli Biologii ještě povinnou a Seminář biologie si zapsali jako volitelný předmět. V tomto případě musela být modelová hodina částečně upravena, jelikož tito žáci se svou vyučující ještě genetiku neprobírali. Text prezentace zůstal stejný. Změna spočívala ve vynechání početních úloh a jejich nahrazení videem a větším prostorem pro kladení dotazů. Vzhledem k tomu, že tito žáci ještě genetiku neměli, nebyly odpovědi na otázku, zda-li se žáci o genetiku zajímají a baví je nikterak překvapivé. Více jak polovina žáků odpověděla, že těžko říci. 23,8 % souhlasím a 23,8 % nesouhlasím. Dle diskuse jsem usoudila, že žáky přednáška zaujala, což potvrdily i odpovědi na otázku č. 2, kde více jak 90 % shledalo přednášku za přínosnou. Nejvíce se žákům těchto tříd opět líbilo video na téma cystická fibróza. Zamlouvalo se jim i celkové zpracování prezentace a to včetně obrázků. Téma přednášky, vyjma expanzí trinukleotidů, žáci považovali za srozumitelné a celkem snadno pochopitelné. Jediným vysvětlením může být fakt, že jsem téměř polovinu prezentace odpřednášela dle svých vlastních slov, jelikož vyučující nešel zprovoznit počítač. Na poslední otázku, čemu žáci v přednášce nerozuměli, většina odpověděla, že několika odborným názvům, které jim však dle jejich slov byly následně objasněny.

Porovná-li výsledky získané z dotazníků od žáků 4.A, 4.B a 3.A a 3.B, jsou jednoznačně velmi odlišné. Jak se dalo předpokládat, žáci 3.A a 3.B, kteří ještě genetiku neprobírali, přirozeně ještě nemohli vědět, zda-li je genetika jednou bude zajímat. Z tohoto důvodu jich více jak polovina odpověděla nerozhodně. To, že někteří žáci na otázku, zda je genetika baví odpověděli souhlasím, lze přisoudit skutečnosti, že se jim vypracovaná prezentace skutečně líbila a považovali ji za přínosnou. Ve 4.A a 4.B se o genetiku zajímala téměř polovina žáků. Opět poměrně velké procento studentů bylo v tomto směru nerozhodných. 78,2 % žáků však považovalo prezentaci za přínosnou, což považuji za velmi dobrý výsledek. Ani výsledky 4.A a 4.B a třídy sexty hradeckého gymnázia si nebyly příliš podobné. Co se týká hodnocení obtížnosti úloh, většina žáků třídy sexta je za těžké nepovažovala, zatímco u žáků 4.A a 4.B to bylo velmi nerozhodné – 47,8 % je za obtížné považovalo a 52,2 % nikoliv. S těmito odpověďmi korespondovaly i výsledky řešených úloh, kdy žáci hradeckého gymnázia dosáhli většího procenta úspěšnosti.

Celkově byla úloha č. 2 pro žáky obou tříd složitější. Tyto výsledky pravděpodobně souvisí s odpověďmi na otázku č. 1, kde 73,7 % žáků hradeckého gymnázia odpovědělo, že se o genetiku zajímá, zatímco u tříd 4.A a 4.B to nebyla ani polovina. Co měly všechny třídy společné, byly odpovědi na otázku č. 2, kde naprostá většina všech tázaných žáků odpověděla, že hodinu považuje za přínosnou a dozvěděli se v ní mnoho nových informací.

Celkově tedy byla navržená modelová hodina genetiky žáky přijata velmi pozitivně. Kladně ohodnotili celkové zpracování prezentace a to včetně obrázků a přiloženého videa. Téma prezentace, vyjma prenatalní diagnostiky chorob s expanzemi trinukleotidů, žáky zaujalo a shledali jej za přínosné. Původně jsem zamýšlela téma chorob s expanzemi trinukleotidů vynechat, nicméně jelikož je součástí této diplomové práce, rozhodla jsem se jej zmínit alespoň okrajově. Úlohy obsažené v prezentaci žákům z větší části nepřípadaly obtížné, někteří dokonce poznamenali, že by úloh mohlo být více. Z časových důvodů jsem bohužel více úloh do prezentace vložit nemohla. Pokud bych tak chtěla učinit, bylo by nutné zkrátit obsah přednášky. Vedení hodiny formou odborného semináře se mi osvědčilo, a to nejen vzhledem ke skupině žáků, před nimiž jsem hodinu prezentovala, ale i vzhledem k času, který mi byl vyučujícími na prezentaci vymezen. Jako metodu výuky jsem zvolila přednášku. Přednáška je náročnější na pozornost a vyžaduje, aby si žáci během ní sami dělali poznámky. Do přednášky je dále nutné vkládat krátké oddechové přestávky. Bohužel, vzhledem k časové náročnosti prezentace žákům přestávka poskytnuta nebyla a žáci se již ke konci hodiny na prezentaci nesoustředili. Poznámky si vedlo pouze několik žáků. Některým žákům pravděpodobně zápis činil obtíže a zbylí žáci jej považovali za zbytečný, jelikož hodina nebyla vyučujícími hodnocena. Z těchto důvodů bych do budoucna volila jinou metodu výuky, například výklad, kde je vykládané učivo přiměřené aktuálnímu stavu žáků co do času i náročnosti.

## 12 Závěr

V praktické části diplomové práce jsem se zabývala obsahovou analýzou učebnic biologie pro střední školy a návrhem modelové hodiny genetiky na středních školách.

Cílem obsahové analýzy učebnic biologie pro střední školy bylo vyhodnocení jednotlivých typů učebnic na základě následujících kritérií: počet stran věnovaných předmětu genetika; odbornost textu; množství obrázků, schémat a tabulek obsažených v učebnici; zadání otázek a úkolů a jejich správná řešení; obsah návodů k laboratorním cvičením a uvedení zajímavostí. Na základě průměrného hodnocení známkami 1–5, kde 1 je nejlepší a 5 nejhorší byla nejlépe vyhodnocena učebnice Biologie pro gymnázia od autorů Jelínka, J. a Zicháčka, V.

Cílem prezentace navržené modelové hodiny bylo na základě odpovědí získaných z dotazníků k prezentaci modelové hodiny na téma Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů zjistit, zda-li se žáci vyšších ročníků středních škol zajímají o předmět genetiky jako takový, dále co žáky na navržené modelové hodině nejvíce zaujalo, případně čemu nerozuměli a co se jim zdálo být již příliš obtížné. Požadovaných výsledků jsem dosáhla vyhodnocením celkem 63 dotazníků vyplněných žáky třídy sexta Gymnázia Boženy Němcové v Hradci Králové a tříd 3.A, 3.B a 4.A a 4.B Gymnázia a SOŠ Jilemnice.

Z výsledků vyplývá, že ve třídách 4.A a 4.B genetika zajímá necelou polovinu dotazovaných žáků. Naopak v sextě hradeckého gymnázia se o genetiku zajímá 73,7 % žáků. Ve třídách 3.A a 3.B na toto otázku odpovědělo 52,4 % žáků těžko říci a to zejména z důvodu, že tito žáci ještě genetiku se svou vyučující neprobírali. Ze stejného důvodu žáci 3.A a 3.B nehodnotili otázku č. 3, týkající se obtížnosti zadaných úloh. Zatímco žáci sexty úlohy obsažené v prezentaci z větší části za obtížné nepovažovali, hodnocení žáků 4.A a 4.B bylo velmi vyrovnané – zhruba polovina žáků úlohy za obtížné považovala a zhruba polovina nikoliv. S těmito odpověďmi úzce souvisí výsledné procento úspěšnosti vypočtených úloh, kde si žáci třídy sexty vedli o něco lépe. Co měly všechny třídy společné, byly odpovědi na otázku č. 2, kde naprostá většina všech tázaných žáků odpověděla, že hodinu považuje za přínosnou a dozvěděli se v ní mnoho nových informací. Nejvíce na modelové hodině většinu žáků zaujalo video na téma Cystická fibróza. Dále kladně zhodnotili celkové zpracování prezentace a to včetně obsažených obrázků. Za obtížné naprostá většina žáků považovala téma chorob s expanzemi trinukleotidů. Toto

téma již obsahovalo velké množství odborných výrazů, kterým žáci nerozuměli a s nimiž se doposud neseťkali.

Z celkového počtu 63 žáků tříd sexta, 3.A a 3.B a 4.A a 4.B se o genetiku zajímá necelá polovina. Jako přínosnou modelovou hodinu shledalo 82,5 % všech dotazovaných žáků. Na otázku, zda bylo zadání úloh obtížné odpovědělo 59,5 % z celkového počtu 42 žáků tříd sexta a 4.A a 4.B, že nikoliv. Z toho úlohu č. 1 správně vyřešilo 69 % žáků a úlohu č. 2 50 % žáků.

V závěru mohu říci, že navržená modelová hodina genetiky byla žáky přijata velmi pozitivně. I přestože se o genetiku zajímala sotva polovina dotazovaných žáků, většina z nich přednášku ohodnotila kladně a shledala ji za přínosnou. Vedení hodiny formou odborného semináře se ukázalo být výhodné a to nejen vzhledem ke skupině žáků, před nimiž byla modelová hodina prezentována, ale i vzhledem k času, který mi byl vyučujícími na prezentaci vymezen. Samotná prezentace byla poměrně časově náročná. Žákům tak během přednášky nemohla být poskytnuta oddechová přestávka, následkem čehož se již žáci ke konci hodiny na prezentaci nesoustředili. Přednáška se tedy jako metoda výuky neosvědčila.

### 13 Seznam použitých informačních zdrojů

- AMBLER, Z. (2004): Myotonická dystrofie. *Neurologie pro praxi*, č. 3, str. 142–145
- AMICUCCI, P., GENNARELLI, M., NOVELLI, G., DALLAPICCOLA, B. (2000): Prenatal diagnosis of myotonic dystrophy using fetal DNA obtained from maternal plasma. *Clinical Chemistry*. 46: 301–302
- BĚHOUNEK, J. (2008): Využití vybraných koncepčních modelů ošetrovatelství u klienta s dg. Huntingtonova nemoc. Bakalářská práce, vedoucí MUDr. Jana Židovská, CSc. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové
- BUSTAMANTE-ARAGONES, A., TRUJILLO-TIEBAS, M. J., GALLEGU-MERLO, J., RODRÍGUEZ DE ALBA, M., GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, C., CANTALAPIEDRA, D., AYUSO, C., RAMOS, C. (2008): Prenatal diagnosis of Huntington disease in maternal plasma: direct and indirect study. *European Journal of Neurology*. 15: 1338–1344
- CALDA, P., BŘEŠŤÁK, M., FISCHEROVÁ, D. (2010): Ultrazvuková diagnostika v těhotenství a gynekologii. Praha: Aprofema. ISBN 978-80-903706-2-3
- CIBIS, N., DOBLER, H. J., LAUER, V., MEYER, R., SCHMALE, E., STRECKER, H. (1996): Člověk. Učebnice biologie člověka pro gymnázia a další střední školy. Přeložil: Linc Rudolf. Praha: Scientia spol. s.r.o., pedagogické nakladatelství. ISBN 80-7183-031-3
- GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, M. C., TRUJILLO, M.J., RODRÍGUEZ DE ALBA, M., RAMOS, C. (2003): Early Huntington disease prenatal diagnosis by maternal semiquantitative fluorescent-PCR. *Neurology*. 60: 1214–1215
- HÁJEK, Z., KULOVANÝ, E., MACEK, M. (2000): Základy prenatální diagnostiky. Praha: Grada Publishing, spol. s.r.o. ISBN 80-7169-391-X
- HAVLÍKOVÁ, P. (2015): Laboratorní příručka, verze 6. Cytogenetická laboratoř, Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice, Hradec Králové.
- JANKOVÁ, I. (2008): Cystická fibróza. Bakalářská práce, vedoucí MUDr. Alena Holčíková, Ph.D. Brno: Masarykova univerzita, Lékařská fakulta.
- JELÍNEK, J., ZICHÁČEK, V. (1998): Biologie pro gymnázia. Nakladatelství Olomouc. ISBN 80-7182-050-4

KEBRLOVÁ, V., ŽIDOVSKÁ, J. (2007): Návrh směrnice pro správnou laboratorní praxi pro molekulárně genetické vyšetřování Huntingtonovy choroby.

KLEMPÍŘ, J. (2007): Huntingtonova nemoc: analýza souvislostí mezi klinickými, funkčními a morfometrickými nálezy. Dizertační práce, školitel doc. MUDr. Jan Roth, Csc. Praha: Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Neurologická klinika.

KOČÁREK, E. (2010): Biologie člověka 1. Praha: Nakladatelství Scientia. ISBN 978-80-86960-47-0

KOČÁREK, E. (2010): Biologie člověka 2. Praha: Nakladatelství Scientia. ISBN 978-80-86960-48-7

KOZÁK, L. (2015): Směrnice pro správnou laboratorní praxi při molekulárně genetickém vyšetření u syndromu fragilního X chromozomu. Brno: Fakultní nemocnice, Centrum molekulární biologie a genové terapie.

LÁZNIČKOVÁ, L. (2012): Předcházíme potratům z eugenických důvodů. Nejmenší z nás, Sborník příspěvků interdisciplinární konference o právní ochraně osob před narozením, str. 207–214. Moravská Ostrava, Občanské sdružení Bios. ISBN 978-80-260-3195-6

LISYOVÁ, J., CHANDOGA, J., BÖHMER, D. (2015): Friedreichova ataxia – Molekulárno-genetický přístup. Bratislava: Nemocnica Staré Mesto, Ústav lekárskej biologie, genetiky a klinického genetiky LF UK a UNB.

MAZANEC, R., MUŠOVÁ, Z. (2012): Myotonické dystrofie. Neurologie pro praxi, 13(4), str. 183–187

MONROS, E., SMEYERS, P., RAMOS, M. A., PRIETO, F., PALAU, F. (1995): Prenatal diagnosis of Friedreich ataxia: improved accuracy by using new genetic flanking markers. Prenatal Diag. 15: 551–554

MOSKOVSKÁ, K. (2012): Vyhledávání repetitivní DNA z nukleotidových sekvencí. Bakalářská práce, vedoucí Ing. Vladimíra Kubicová. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství.

NAVRÁTIL, R. (2014): Neinvazivní prenatální diagnostika monogenních onemocnění. Bakalářská práce, vedoucí Mgr. Diana Grochová, Ph.D. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta.



- NEČÁSEK, J. (1993): Genetika. Praha: Nakladatelství Scientia, s.r.o. ISBN 80-85827-04-2
- NOVOTNÝ, D., ADAM, T., ADAMOVÁ, K., ROUBALOVÁ, L., FELLNEROVÁ, I. (2011): Prenatální a perinatální laboratorní diagnostika. Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-2913-7
- NOVOTNÝ, I., HRUŠKA, M. (1995): Biologie člověka pro gymnázia. Praha: Nakladatelství učebnic Fortuna. ISBN 80-7168-234-9
- PAVLASOVÁ, L. (2013): Didaktika biologie. Předmět pro navazující magisterské studium, studijní program Učitelství pro střední školy (N7504), Pedagogická fakulta UK v Praze
- SADLER, T.W. (2011): Langmanova lékařská embryologie. Praha: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-2640-3
- SEEMANOVÁ, E. (2002): Syndromy a onemocnění z mutací typu zmnožení trinukleotidů. Časopis lékařů českých, ročník 141, č. 16, str. 503–507
- STUHLÍKOVÁ, P. (2012): Tvorba metodické příručky pro výuku vybraných kapitol genetiky na gymnáziích. Diplomová práce, vedoucí RNDr. Pavel Lízal, Ph.D. Brno: Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta.
- ŠÍPEK, A., GREGOR, V., HORÁČEK, J., SVĚTICOVÁ, K., MAŠÁTOVÁ, D. (2006): Prenatální diagnostika vrozených vad v České republice – týdny těhotenství při diagnostice. Česká gynekologie, ročník 71, č. 3, str. 189–194
- VALÁŠKOVÁ, I. (2015): Myotonická dystrofie typu 1. Brno: FN, Oddělení lékařské genetiky. Prezentace dostupná z: <<http://www.molekulara.cz>>
- VÁVROVÁ, V. A KOLEKTIV (2006): Cystická fibróza. Praha: Grada Publishing, a.s. ISBN 80-247-0531-1
- VÁVROVÁ, V., BARTOŠOVÁ, J. A KOLEKTIV CF CENTRA FN MOTOL (2009): Cystická fibróza – příručka pro nemocné a jejich rodiče, 2. doplněné vydání. Příbram: PBtisk. ISBN 978-80-7431-000-3
- WALLIS, J., SHAW, J., WILKES, D., FARRALL, M., WILLIAMSON, R., CHAMBERLAIN, S., SKARE, J. C., MILUNSKY, A. (1989): Prenatal diagnosis of Friedreich ataxia. Am. J. Med. Genet. 34: 458–461

ZUMROVÁ, A., MUŠOVÁ, Z., KOŠŤÁLOVÁ, E., APLTOVÁ, L., KŘEPELOVÁ, A.,  
PADĚROVÁ, K. (2007): Autosomálně recesivní a X-vázané ataxie. *Neurologie pro praxi*,  
8(5), str. 272–276

## 14 Seznam použitých zkratk

**AFP** – alfa-1-fetoprotein

**CAG** – cytosin, adenin, guanin

**CF** – cystická fibróza

**CffDNA** – cell free fetal deoxyribonucleic acid – volná fetální DNA

**CFTR** – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator – regulátor transmembránové vodivosti iontů

**CTG** – cytosin, thymín, guanin

**DMPK** – dystrophia myotonica-protein kinase – proteinkináza myotonické dystrofie

**DNA** – deoxyribonucleic acid – deoxyribonukleová kyselina

**E3** – nekonjugovaný estriol

**F508del** – delece 3 bp v pozici 1652 až 1655 v exonu 10 (delece fenylalaninu v kodonu 508)

**FISH** – fluorescence in situ hybridization – fluorescenční in situ hybridizace

**Free  $\beta$  hCG** – volná podjednotka lidského choriogonadotropinu

**kb** – kilo base pairs – tisíc párů bází

**PAPP-A** – pregnancy associated plasma protein A – plazmatický specifický těhotenský protein A

**PCR** – polymerase chain reaction – polymerázová řetězová reakce

**QF-PCR** – quantitative fluorescent PCR – kvantitativní fluorescenční PCR

**SNP** – single nucleotide polymorphism – jednonukleotidové polymorfizmy – existence několika přirozených variant (alel) zasahujících jediný nukleotid

**STR** – short tandem repeats – mikrosatelity – krátké tandemově se opakující úseky DNA složené ze 2–6 párů bází


**T-hCG** – lidský choriogonadotropin

**TP-PCR** – triplet repeat primed PCR

## **15 Seznam příloh**

Příloha 1 – Prezentace v programu Microsoft Office PowerPoint 2003 na téma Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů

Příloha 2 – Dotazník k přenáše



# PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA CYSTICKÉ FIBRÓZY A CHOROB S EXPANZEMI TRINUKLEOTIDŮ

Bc. Stanislava Nováková

## PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA

- Soubor metod, umožňujících diagnostiku vrozených vývojových vad (VVV) u dosud nenarozeného jedince

GENETICKÉ PORADENSTVÍ – určení rizika narození dítěte s VVV na základě studia rodokmenu, znalosti choroby a dědičnosti choroby

- komunikace mezi pacientem a lékařem

## METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

- NEINVAZIVNÍ – screeningové metody (biochemické vyšetření krevního séra matky, ultrazvukové vyšetření)
- INVAZIVNÍ – cílené metody (amniocentéza, biopsie choria, kordocentéza)

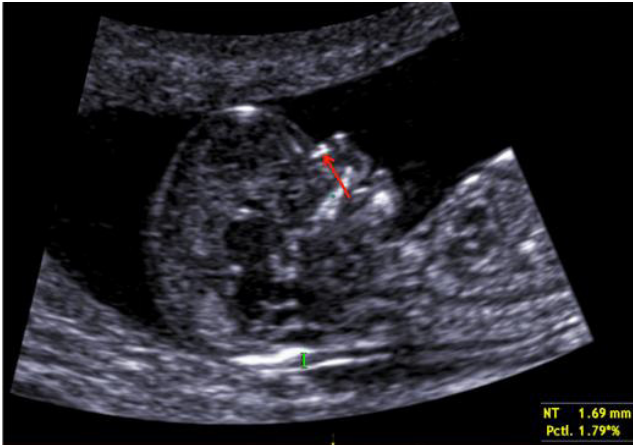
## NEINVAZIVNÍ METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

### • I. TRIMESTRÁLNÍ SCREENING

KOMBINOVANÝ TEST – biochemický screening + ultrazvukový screening

- Biochemický screening – stanovení hladin biochemických markerů free  $\beta$  hCG a PAPP-A
- Ultrazvukový screening – měření šíjového projasnění, přítomnost nosní kůstky, velikost frontomaxilárního úhlu, průtok ductus venosus





Normální nález šíjového  
projasnění

Přítomnost nosní kůstky



Absence nosní kůstky

- detekce VVV, především trizomií
- kombinovaný test se provádí mezi 10.-14. týdnem těhotenství
- zachycení 85-90 % postižených plodů





- II. TRIMESTRÁLNÍ SCREENING

TRIPLE TEST – stanovení hladin

3 biochemických markerů:

lidského choriogonadotropinu, alfa-1 fetoproteinu, nekonjugovaného estriolu E3

- detekce trizomií, metabolických poruch, defektů kožního krytí
- probíhá mezi 16.-18. týdnem těhotenství
- spolu s výsledky z I. trimestru je očekávaná senzitivita až 95 %

- ULTRAZVUKOVÉ VYŠETŘENÍ VE II. TRIMESTRU

- 18.-22. týden těhotenství
- stanovení počtu, vitality, biometrie a sonoanatomie plodu, množství plodové vody, lokalizace placenty atd.

- ULTRAZVUKOVÉ VYŠETŘENÍ VE III. TRIMESTRU

- 30.-32. týden těhotenství
- uložení a biometrie plodu, VVV s pozdním vznikem, množství plodové vody





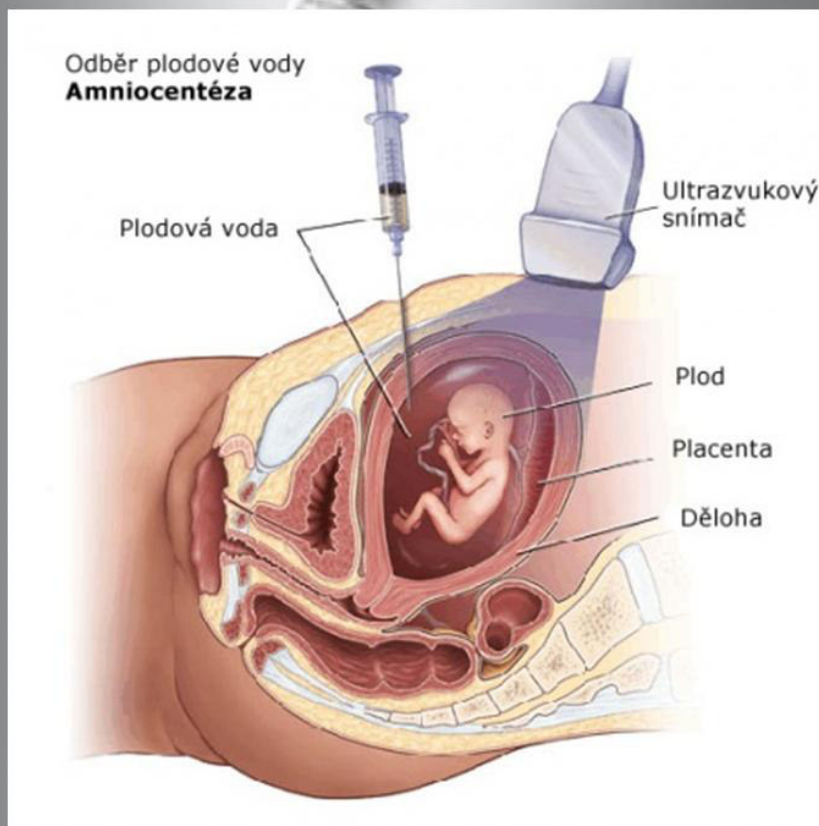
## INVAZIVNÍ METODY PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKY

INDIKACE: vysoký věk matky, abnormální ultrazvukový a biochemický nálezn, nosičství chromozomální aberace u rodiče, předchozí gravidita s VVV aj.

- odběr biologického materiálu pro účely cytogenetického vyšetření plodu
- možné riziko potratu

### • AMNIOCENTÉZA

- transabdominální odběr 20-30 ml plodové vody
- provádí se mezi 16.-18. týdnem gravidity
- kultivace buněk s následnou genetickou analýzou
- riziko potratu 1 ze 100-200 odběrů



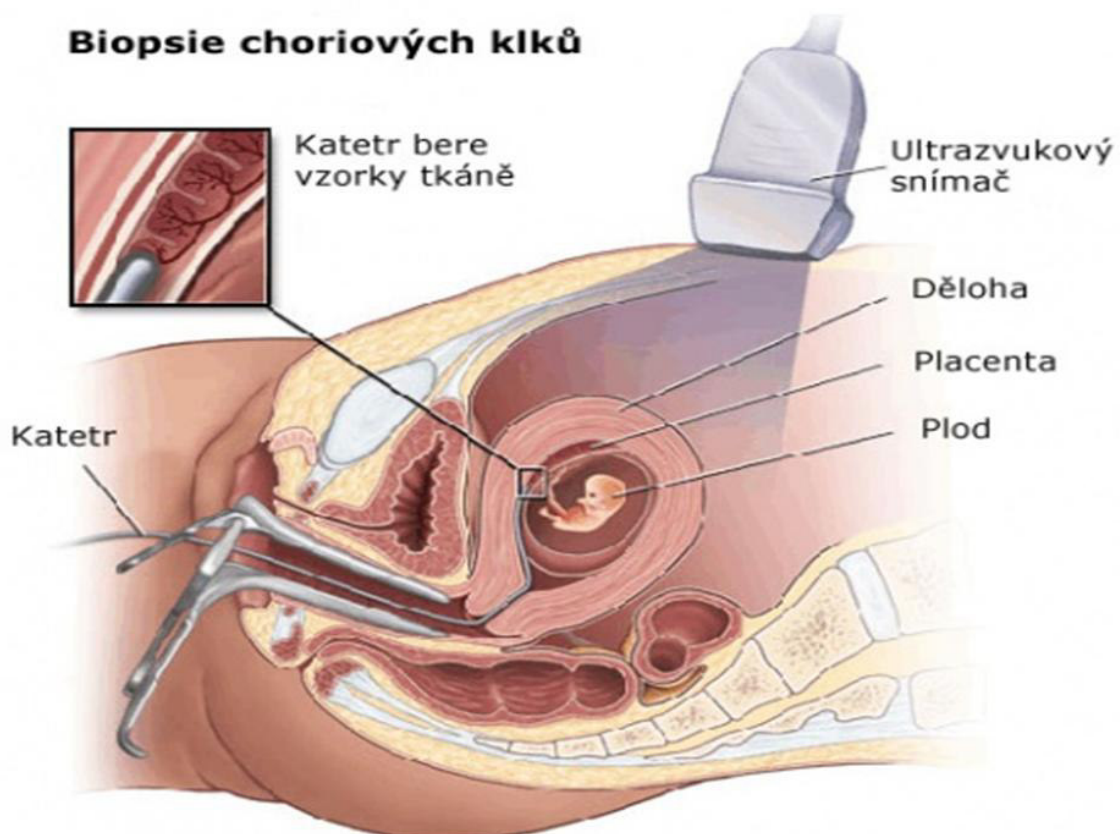
## • BIOPSIE CHORIA

- transabdominální odběr choriových klků
- provádí se od 11. týdne gravidity
- riziko potratu 0,5–1 %

### ZPRACOVÁNÍ VZORKU:

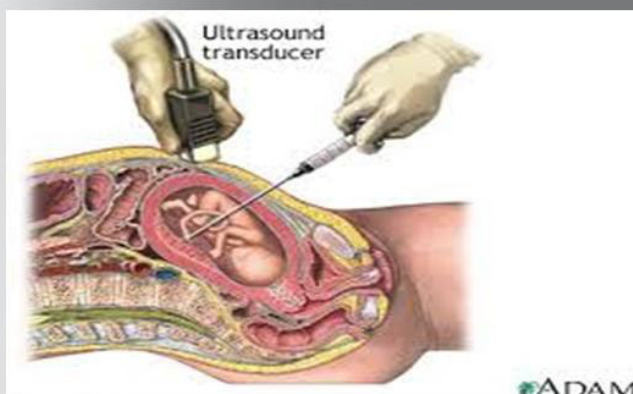
- přímé zpracování
- dlouhodobá kultivace buněk

## Biopsie choriových klků



## • KORDOCENTÉZA

- transabdominální odběr fetální krve z pupečnicku
- provádí se po 20. týdnu těhotenství
- riziko potratu 0,8-1 %





# CYSTICKÁ FIBRÓZA

- chronické, autozomálně recesivní dědičné onemocnění, postihující především dýchací a zažívací soustavu
  - v ČR se ročně narodí 33 dětí s CF
  - onemocnění je způsobené mutací genu CFTR na chromozomu 7
  - gen CFTR kóduje protein CFTR, regulující průchod iontů chloru ( $\text{Cl}^-$ ), sodíku ( $\text{Na}^+$ ) a bikarbonátu ( $\text{HCO}_3^-$ ) přes buněčnou membránu
- 
- mutací genu CFTR vzniká defektní protein CFTR, což vede k sníženému vylučování  $\text{Cl}^-$  a zvýšenému vstřebávání  $\text{Na}^+$
  - monogenní onemocnění
  - platí zde klasický mendelistický štěpný poměr při křížení 2 heterozygotů



ÚKOL č. 1: Dle kombinačního čtverce určete jaký bude výsledek křížení 2 heterozygotních rodičů (zdravých rodičů, nositelů mutace v genu pro CF)

ÚKOL č. 2: Odvoďte četnost zdravých nositelů mutovaného genu CF v obecné populaci dle Hardyho-Weinbergova zákona, víte-li, že výskyt CF v ČR byl stanoven na 1 : 2736 novorozenců

- **PŘÍZNAKY CF:** infekce dýchacích cest, poruchy trávení, vysoký obsah solí v potu, neplodnost
- **LÉČBA:** doposud neexistuje žádná metoda, která by CF vyléčila => důležité je udržet plíce, dýchací cesty a zažívací soustavu nemocného v co nejlepším stavu (pobyť na čerstvém vzduchu, sport, úprava jídelníčku, podávání pankreatických enzymů, vitamínů a antibiotik)



- BUDOUCNOST:
  - přenos opraveného genu CFTR do buňky nemocného
  - ošetření poškozeného genu CFTR pomocí genové terapie



## PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA CYSTICKÉ FIBRÓZY

- cílem je vyloučení rizika narození dítěte s CF, případně určení pravděpodobnosti narození zdravého dítěte
- genetické vyšetření je nabízeno rodinám s 25% rizikem CF
- možnost přerušení těhotenství do 24. týdne gravidity



- PŘÍMÁ MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA CF

- kaskádové vyšetření nejčastějších alel genu CFTR od 13. týdne těhotenství (biopsie choria) nebo od 17. týdne těhotenství (amniocentéza)
- genetické vyšetření je doprovázeno ultrazvukovým vyšetřením a biochemickým vyšetřením

- NEPŘÍMÁ MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA CF

- provádí se pouze v případech, kdy je možné vyšetřit DNA pacienta s CF včetně DNA obou jeho rodičů
- využití intragenových STR markerů nebo k lokusu CFTR úzce vázaných SNP extragenových markerů
- vyšetření aktivity gastrointestinálních mikrovilárních enzymů obsažených v plodové vodě



## GENETICKÉ PORADENSTVÍ CYSTICKÉ FIBRÓZY

- genetické poradenství CF je hlavním předpokladem pro určení výše genetického rizika CF, vhodné strategie prenatálně genetické diagnostiky a perinatální péče
- informace o průběhu genetického vyšetření
- dává pacientovi možnost rozhodnout se vyšetření podstoupit či nikoliv
- vyrovnání se s možností narození dítěte s CF
- u novorozenců s CF objasňuje povahu onemocnění, navrhuje optimální formu léčby

### VIDEO:

- <http://www.ceskatelevize.cz/ivysilani/1096060107-klic/214562221700003>



# Řešení úkolů:

## ÚKOL č. 1:

	A	a
A	AA	Aa
a	Aa	aa

Kombinační čtverec  
znázorňující křížení 2  
heterozygotů

Genotypový štěpný poměr je 1:2:1, tedy AA:Aa:aa

25 % zdravých potomků bez mutace – AA

50 % zdravých nositelů mutace – Aa

25 % nemocných potomků – aa

## ÚKOL č. 2:

Incidence choroby je 1 : 2736 novorozenců

Výpočet:

Hardy-Weinbergův zákon:  $p^2 + 2pq + q^2 = 1$

$P^2$  = frekvence zdravých jedinců


$2pq$  = frekvence zdravých přenašečů

$q^2$  = frekvence nemocných

a zároveň:  $p + q = 1$

$p$  = frekvence zdravé alely

$q$  = frekvence mutované alely



Jedná se o autozomálně recesivní onemocnění,  
tzn. incidence choroby u novorozenců (recesivních  
homozygotů) =  $1/2736 = q^2$ ,  $q = 0,01912$  (frekvence  
mutované alely v populaci)

$p + q = 1$ , pak  $p = 1 - 0,01912 = 0,98088$  (frekvence  
normální alely v populaci)

Frekvence zdravých přenašečů:

$2pq = 2 \times 0,98088 \times 0,01912 = 0,0375$ , tedy přibližně  
1/26 → každý 26. jedinec je zdravým nositelem  
mutace genu CF

## CHOROBY S EXPANZEMI TRINUKLEOTIDŮ

- způsobeny dynamickými mutacemi
- zmnožení počtu trinukleotidů do stovek až tisíců opakování
- původní proteinový produkt se stává nefunkčním
- uplatnění genomického imprintingu a genetické anticipace

## PREMUTACE:

- počet repetic nepřesahuje kritické číslo k rozvoji choroby
- mezistupeň mezi normálním a patologickým množstvím repetic
- doposud prokázáno kolem 40 druhů onemocnění

Nejběžnější choroby: syndrom fragilního X chromozomu; Huntingtonova choroba; myotonická dystrofie; Friedreichova ataxie

## PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA CHOROB S EXPANZEMI TRINUKLEOTIDŮ

- genetické vyšetření příslušníků rizikových rodin
- vyšetření počtu trinukleotidů
- specializované genetické poradenství
- prevence narození dítěte postiženého danou chorobou





- PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA SYNDROMU FRAGILNÍHO X CHROMOZOMU

- mutace v genu FMR1, expanze CGG tripletů
- počet repetice CGG u zdravého jedince 5-60, abnormální počet více jak 200
- DNA získaná amniocentézou
- detekce normálních alel metodou PCR
- přímé určení expanze CGG repetitivní sekvence pomocí Southern blot analýzy

- PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA HUNTINGTONOVY CHOROBY

- amplifikace CAG tripletů v IT-15 genu
- běžný počet opakování CAG tripletů 6-35, chorobný počet 36-121
- DNA získaná odběrem choriových klků nebo plodové vody
- „vylučovací prenatální testování“
- „definitivní prenatální testování“



- PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA  
MYOTONICKÉ DYSTROFIE

- zmnožení tripletů CTG v genu DMPK1
- běžný počet opakování 5-35, chorobný 50-4000 (dle formy onemocnění)
- DNA získaná amniocentézou nebo biopsií choriových klků
- detekce expandované alely pomocí TP-PCR

- PRENATÁLNÍ DIAGNOSTIKA  
FRIEDREICHOVY ATAXIE

- zmnožení tripletů GAA v genu X25
- běžný počet opakování 5-33, chorobný 66-1700
- DNA extrahována z buněk plodové vody nebo choriových klků
- screening expandovaných alel pomocí long-range PCR, TP-PCR a Southern blot analýzy

## Příloha 2

# DOTAZNÍK K PŘEDNÁŠCE

**TÉMA:** Prenatální diagnostika cystické fibrózy a chorob s expanzemi trinukleotidů

Milí studenti,

obracím se na Vás s žádostí o vyplnění krátkého dotazníku, který poslouží jako podklad pro mou diplomovou práci. Účast ve výzkumu je anonymní. Předem děkuji za Váš čas a spolupráci.

Jsem: žena  muž  (označte prosím křížkem)

Věk:

Název školy / ročník:

Datum:

Na škále od 1-5, prosím zaškrtněte možnost, která se nejvíce blíží Vašemu názoru.

Vysvětlení hodnotící škály:

- 1 naprosto souhlasím
  - 2 souhlasím
  - 3 těžko říci
  - 4 nesouhlasím
  - 5 naprosto nesouhlasím
- 

Otázka č. 1: O genetiku se zajímám / baví mě.

1  2  3  4  5

Otázka č. 2: Přednáška pro mne byla přínosná, dozvěděl/a jsem se něco nového.

1  2  3  4  5

Otázka č. 3: Zadání úloh bylo obtížné.

1  2  3  4  5

Otázka č. 4: Na přednášce se mi nejvíce líbilo:

Otázka č. 5: V obsahu přednášky mi nebylo jasné / nerozuměl/a jsem: